



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA  
Facultad de Ciencias de la Salud



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS  
PROGRAMA DE DOCTORADO: AVANCES EN MEDICINA INTERNA

# **NIVELES DE BIOLÓGICOS: EFICACIA E INMUNOGENICIDAD DEL TRATAMIENTO PARA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL**

Doctorando: D. Daniel Ceballos Santos

Directora de Tesis: Dra. D<sup>a</sup>. María Dolores Fiuza Pérez

**La Directora**

**El Doctorando**

Las Palmas de Gran Canaria  
24 de septiembre de 2015





UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS  
DE GRAN CANARIA

Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas

Anexo I

**D. JUAN RAMÓN HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, SECRETARIO  
DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
QUIRÚRGICAS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE  
GRAN CANARIA,**

**CERTIFICA**

Que el Consejo Ordinario de Departamento de Doctores en su sesión de fecha 7 de octubre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "NIVELES DE BIOLÓGICOS: EFICACIA E INMUNOGENICIDAD DEL TRATAMIENTO PARA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL", presentada por el/la doctorando/a, Don Daniel Sebastián Ceballos Santos y dirigida por la doctora Doña María Dolores Fiuza Pérez.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a siete de octubre de dos mil quince.





A Sushi, por una década de cariño incondicional



## I. AGRADECIMIENTOS



Al someter a la consideración del tribunal el presente trabajo de investigación para obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía, quiero manifestar mi profundo agradecimiento a todas las personas que han hecho posible su realización. La redacción de este documento ha supuesto una gran inversión de tiempo y energía; no en vano, sólo la redacción del texto abarca 65.134 palabras en el texto principal, sin incluir referencias. Por ello, no he podido dedicar a mi familia todo ese tiempo y esa energía que sé que necesitan, y sobre todo, merecen. Vaya en primer lugar para mi esposa Blanca y para mis hijos Carlos y Jaime un profundísimo agradecimiento por su paciencia y su resignación conmigo.

En segundo lugar tengo que agradecer desde el fondo de mi corazón a mi madre, mi tío y mis abuelos la educación de familia humilde que me proporcionaron. Sé que vieron colmadas sus aspiraciones cuando vieron que pude estudiar la carrera universitaria que quería, conseguir la plaza de formación especializada de médico interno residente que quería, trabajar en el centro hospitalario que quería y ahora, desarrollar esta tesis doctoral.

En tercer lugar, soy el profesional que mi hospital formó, y también tengo que agradecer a mis maestros la dedicación y el cariño que pusieron en dicha formación. A Cayetano Guerra Manrique de Lara le agradezco la humanidad y la cercanía en su trato y su gestión, su enorme sabiduría como clínico que le ha hecho ser referencia para muchos de nosotros, y la confianza que siempre puso en mí y que demostró entre otras ocasiones proponiéndome como tutor de docencia MIR en 2004. A Enrique Ortiz García le agradezco el rigor en el trabajo y el gran cariño en el trato, su franca y sincera apuesta por la asistencia sanitaria pública con equidad y con justicia, y su confianza y apoyo para que yo pudiera desarrollar este proyecto. A Juan Cabrera Cabrera le agradezco la honestidad en la labor asistencial y la camaradería con el equipo, su firme apuesta por la docencia de pre- y post-grado, y la cercanía hacia todos de alguien de tanta referencia en investigación de alto nivel y que ha alcanzado el Decanato de la Facultad de Ciencias de la Salud. A los demás miembros de la sección que me precedieron o me siguieron en la formación de especialista les agradezco lo mucho que he aprendido y sigo aprendiendo laboral y personalmente, además del ánimo, la comprensión y las facilidades que me han dado para la consecución de este proyecto.

A las personas que más estrechamente han colaborado en el diseño del proyecto, su aprobación, la recogida de datos y la interpretación de los mismos: a Octavio Jiménez Ramos, por el decidido apoyo de la Dirección del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín para la realización del proyecto; a Luisa María García Vega y Natividad Domínguez Quintana, por su ayuda en el

CEIC para la compleja y burocrática fase de aprobación por la AEMPS y el SCS; a Nuria Pérez Higuera, por su imprescindible apoyo como coordinadora de investigación de Aparato Digestivo para el reclutamiento de los pacientes; a todo el personal del Hospital de Día Polivalente, por las extracciones analíticas, algunas de ellas muy dificultosas, y la recopilación de muchos de los datos; a Yaiza Herrera Ojeda, por su ayuda en la gestión del ingente número de datos obtenidos como *Data-Manager* de Aparato Digestivo; al personal del Servicio de Archivos, por su colaboración crítica en la recopilación de datos; a Moisés Pérez León, por el apoyo del Servicio de Farmacia para los cruciales aspectos farmacológicos del proyecto; a Inmaculada Alarcón Torres y Gregorio Muelas Martín, por la enorme colaboración del Servicio de Análisis Clínicos para la medición de los niveles de fármacos y de anticuerpos, y en las tareas burocráticas de citación de los pacientes para las extracciones; a José Carlos Rodríguez Gallego, María Teresa Martínez de Saavedra Álvarez, y especialmente al trabajo de Carmen Acevedo Gil y todo el personal del Servicio de Inmunología, por la ayuda para las determinaciones de citocinas; a Miguel Ángel García Bello, por la colaboración de la Unidad de Investigación para el diseño de la base de datos y la interpretación estadística de la misma; y por supuesto, a María Dolores Fiuza Pérez, directora de este trabajo de investigación, por su constante apoyo, orientación y entusiasmo en todo momento, inasequible al desaliento.

El presente proyecto de investigación ha sido merecedor de la beca de la Sociedad Canaria de Aparato Digestivo en su edición 2014, la beca “González Jaraba” del Ilustrísimo Colegio Oficial de Médicos de Las Palmas en su edición 2014 y de una de las becas de “Ayudas a la Investigación Médica” de la Fundación DISA en su edición 2015, que han permitido financiar el desarrollo del mismo.



Sociedad Canaria de  
Patología Digestiva.

Beca 2014.



Ilustre Colegio Oficial de  
Médicos de Las Palmas.

Beca “González Jaraba”  
2014.



Fundación DISA.

Ayuda a la Investigación  
Médica 2015.

Las Palmas de Gran Canaria, jueves 24 de septiembre de 2015





## II. GLOSARIO DE TÉRMINOS



ADA.....	Adalimumab
AEMPS.....	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
AGA.....	American Gastroenterology Association
ANA.....	Anticuerpo antinuclear
Anti-TNF $\alpha$ .....	Anticuerpo monoclonal frente al factor de necrosis tumoral alfa
AR.....	Artritis reumatoide
ASCA.....	Anticuerpo anti-Saccharomyces cerevisiae
AZA.....	Azatioprina
BCG.....	Vacuna del bacilo de Calmette-Guerin
CDAI.....	Crohn Disease Activity Index
CDR.....	Regiones hipervariables
CEIC.....	Comité de Ética en Investigación Clínica
Células NK.....	Células natural killer
CsA.....	Ciclosporina A
CU.....	Colitis ulcerosa
DM.....	Diabetes mellitus
EC.....	Enfermedad de Crohn
ECCO.....	European Crohn's and Colitis Organization
EII.....	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
ELISA.....	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMA.....	European Medicines Agency
Fab.....	Fragment antigen binding
Fc.....	Fragment complement activating
Fc $\gamma$ R.....	Receptor $\gamma$ del fragmento Fc
FcRn.....	Receptor neonatal del fragmento Fc
Fc $\epsilon$ R.....	Receptor $\epsilon$ del fragmento Fc
FDA.....	Food and Drugs Agency
FW.....	Regiones framework
GETECCU.....	Grupo Español de Trabajo en EC y CU
GGT.....	Gamma-glutamyl-transpeptidasa

GOT	Glutámico-oxalato transaminasa
GPT	Glutámico-piruvato transaminasa
HPLC	High pressure liquid chromatography
HRF	Factor de restricción homólogo
HRP	Peroxidasa de rábano
HSP	Heat shock proteins
IBDQ	Inflammatory Bowel Disease Questionnaire
IFN $\gamma$	Interferon $\gamma$
IFX	Infliximab
IMM	Inmunomoduladores/Inmunosupresores
LES	Lupus eritematoso sistémico
MAC	Complejo de ataque a la membrana
MALT	Tejido linfoide asociado a las mucosas
MTX	Metotrexato
NF $\kappa$ B	Nuclear Factor $\kappa$ B
NOD	Nuclear oligomerisation domains
OTIS	Organization for Teratology Information Specialists
pANCA	Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (patrón perinuclear).
PCR	Proteína C reactiva
PDAI	Pouch Disease Activity Index
PMN	Polimorfonucleares
PPAR $\gamma$	Peroxisome proliferator activated receptor $\gamma$
PPD	Intradermoreacción con tuberculina (Mantoux)
RIA	Radio-immuno-assay
RMN	Resonancia magnética nuclear
SCS	Servicio Canario de la Salud
TBC	Tuberculosis
TLR	Toll-like receptors
TMDD	Target mediated drug disposition
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
USE	Ultrasonografía endoscópica

VCM ..... Volumen corpuscular medio  
VHB..... Virus de hepatitis B  
VHC..... Virus de hepatitis C  
VSG..... Velocidad de sedimentación globular



### III. ÍNDICE



## 1. CONTENIDO

I.	AGRADECIMIENTOS.....	IX
II.	GLOSARIO DE TÉRMINOS .....	XV
III.	ÍNDICE.....	XXI
	1. Contenido.....	XXIII
	2. Tablas .....	XXVII
	3. Ilustraciones .....	XXVIII
IV.	INTRODUCCIÓN.....	1
	1. Prólogo.....	3
	2. Inmunidad y Autoinmunidad .....	12
	2.1 Inmunoglobulinas .....	18
	2.2 Complemento .....	23
	2.3 Interleucinas .....	28
	2.4 Patogenia de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal .....	30
	3. Infliximab y enfermedad de Crohn.....	35
	3.1 Patrón inflamatorio .....	37
	3.2 Patrón fistulizante .....	37
	3.3 Ausencia de respuesta a Infliximab .....	39
	3.4 Pérdida de respuesta a Infliximab .....	40
	4. Infliximab y colitis ulcerosa.....	41
	4.1 Estudios pivotaes en colitis ulcerosa .....	43
	4.2 Series abiertas.....	45
	4.3 Revisiones sistemáticas .....	47
	4.4 Corticodependencia.....	47
	4.5 Reservoiritis.....	49
	4.6 Impacto de Infliximab en resultados postquirúrgicos .....	49
	5. Adalimumab y enfermedad de Crohn.....	50
	5.1 Patrón inflamatorio .....	52

5.2	Patrón fistulizante .....	56
5.3	Pérdida de respuesta a Adalimumab.....	56
6.	Adalimumab y colitis ulcerosa .....	57
7.	Seguridad en los tratamientos biológicos .....	59
7.1	Inmunogenicidad de Infliximab .....	61
7.2	Inmunogenicidad de Adalimumab .....	64
7.3	Infecciones .....	65
7.4	Neoplasias.....	70
7.5	Otros eventos adversos.....	72
7.6	Gestación .....	73
8.	Predictores de respuesta clínica .....	79
8.1	Enfermedad de Crohn .....	79
8.2	Colitis ulcerosa .....	82
9.	Farmacología de los tratamientos biológicos .....	83
9.1	Metabolismo de los anticuerpos monoclonales .....	84
9.2	Variabilidad farmacocinética.....	88
V.	JUSTIFICACIÓN.....	93
VI.	OBJETIVOS.....	99
1.	Principal .....	101
2.	Secundarios .....	101
VII.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	105
1.	Tipo de estudio.....	107
1.1	Población de estudio .....	107
2.	Fuente de información.....	108
3.	Recogida de datos .....	110
3.1	Variables demográficas .....	110
3.2	Variables hematológicas.....	110
3.3	Variables bioquímicas.....	111
3.4	Variables inmunológicas.....	113

3.5	Variables genéticas .....	114
3.6	Variables clínicas de puntuación de actividad .....	116
3.7	Variables de calidad de vida .....	118
3.8	Variables farmacológicas.....	119
3.9	Variables de adherencia a tratamientos .....	121
4.	Estudio estadístico .....	122
5.	Aspectos éticos .....	124
5.1	Consentimiento informado.....	124
5.2	Comunicación de reacciones adversas .....	125
VIII.	RESULTADOS .....	129
1.	Descripción demográfica de la serie .....	131
1.1	Subgrupo Enfermedad de Crohn.....	135
1.2	Subgrupo Colitis Ulcerosa .....	137
2.	Patrón de Montreal.....	141
3.	Hematología .....	144
3.1	Serie blanca.....	144
3.2	Serie roja .....	147
3.3	Plaquetas y VSG .....	147
4.	Bioquímica.....	149
5.	Inmunología.....	153
6.	Genética .....	160
7.	Actividad clínica.....	161
7.1	Subgrupo Enfermedad de Crohn.....	161
7.2	Subgrupo Colitis Ulcerosa .....	162
8.	Calidad de vida.....	163
9.	Adherencia a tratamientos.....	165
10.	Niveles de biológicos.....	166
10.1	Niveles y variables demográficas .....	167
10.2	Niveles y PCR .....	174

	10.3 Niveles y Calprotectina .....	176
	10.4 Niveles y Albúmina .....	177
	10.5 Niveles, Citocinas e Inmunogenicidad .....	178
	10.6 Niveles y Genotipo .....	182
	10.7 Niveles y Calidad de Vida .....	182
IX.	DISCUSIÓN .....	185
	1. Demografía y patrón de montreal .....	187
	2. Analíticas .....	193
	3. Genética .....	199
	4. Clínica, Calidad de Vida y Adherencia .....	199
	5. Niveles de biológicos .....	202
X.	CONCLUSIONES .....	207
XI.	ANEXOS .....	211
	1. Informe de la Dirección del Hospital .....	213
	2. Consentimiento Informado .....	214
	3. Cuaderno de recogida de datos .....	217
	4. Comunicación <i>on-line</i> de Efectos adversos .....	228
	5. Clasificación de la AEMPS .....	229
	6. Dictamen del CEIC de referencia .....	232
	7. Resolución del Servicio Canario de la Salud .....	234
	8. Conformidad de la Dirección Gerencia .....	237
	9. Cuestionario CDAI .....	238
	10. Cuestionario Harvey-Bradshaw .....	239
	11. Cuestionario Truelove-Witts .....	240
	12. Cuestionario Mayo .....	241
	13. Cuestionario Morisky-Green-Levine .....	242
XII.	BIBLIOGRAFÍA .....	245
	1. Referencias generales .....	247
	2. Referencias específicas .....	247

## 2. TABLAS

Tabla I: Unidades de medida y valores de referencia .....	109
Tabla II: Características demográficas basales .....	131
Tabla III: Características demográficas al inicio del anti-TNF $\alpha$ .....	133
Tabla IV: Tiempos de evolución de la EII.....	134
Tabla V: Características demográficas basales de EC .....	135
Tabla VI: Características demográficas al inicio del biológico en EC.....	136
Tabla VII: Características demográficas basales de CU .....	138
Tabla VIII: Características demográficas al inicio del biológico en CU ..	139
Tabla IX: Clasificación de Montreal de casos con EC.....	141
Tabla X: Clasificación de Montreal de casos con CU .....	143
Tabla XI: Hematimetría pico/valle de la serie completa .....	144
Tabla XII: Serie blanca pico/valle de EC .....	145
Tabla XIII: Serie blanca con/sin IMM pico/valle en EC.....	145
Tabla XIV: Serie blanca pico/valle con/sin IMM en EC .....	146
Tabla XV: Serie blanca pico/valle de CU .....	146
Tabla XVI: Serie roja pico/valle de EC .....	147
Tabla XVII: Serie roja pico/valle de CU.....	147
Tabla XVIII: Plaquetas y VSG pico/valle de EC .....	148
Tabla XIX: Plaquetas y VSG pico/valle de CU .....	148
Tabla XX: Plaquetas y VSG pico/valle con/sin IMM de EC.....	148
Tabla XXI: Bioquímica pico/valle de la serie completa.....	149
Tabla XXII: Bioquímica pico/valle de EC.....	150
Tabla XXIII: Bioquímica pico/valle de CU .....	150
Tabla XXIV: Bioquímica con/sin IMM pico/valle en EC .....	151
Tabla XXV: Reactantes de fase aguda pico/valle con/sin IMM en EC...	152
Tabla XXVI: Inmunología pico/valle de la serie completa .....	153

Tabla XXVII: Inmunología pico/valle de EC .....	155
Tabla XXVIII: Inmunología pico/valle de CU .....	156
Tabla XXIX: Inmunología con/sin IMM pico/valle en EC .....	157
Tabla XXX: Inmunología pico/valle con/sin IMM en EC .....	158
Tabla XXXI: Genotipado FcγRIIIA.....	160
Tabla XXXII: Índices de actividad de la EC.....	161
Tabla XXXIII: Índices de actividad con/sin IMM de la EC .....	161
Tabla XXXIV: Índices de actividad de la CU .....	162
Tabla XXXV: Puntuación IBDQ pico/valle de la serie completa .....	163
Tabla XXXVI: Puntuación IBDQ pico/valle de EC .....	164
Tabla XXXVII: Puntuación IBDQ pico/valle de CU.....	164
Tabla XXXVIII: Test de Morisky de la serie completa y EC vs CU .....	165
Tabla XXXIX: Test de Morisky de la serie completa y IFX vs ADA .....	165

### 3. ILUSTRACIONES

Ilustración 1: TNF $\alpha$ en el escenario de la mucosa intestinal.....	4
Ilustración 2: Estructura básica de una inmunoglobulina .....	19
Ilustración 3: Vías de activación del complemento .....	24
Ilustración 4: Perfil de citocinas en la EII .....	32
Ilustración 5: Degradación y recirculación intracelular .....	86
Ilustración 6: Comportamiento de EC (debut e inicio de biológico).....	142
Ilustración 7: Afectación perianal (debut e inicio de biológico).....	142
Ilustración 8: Medias e IC 95% de los niveles pico y valle de IFX.....	166
Ilustración 9: Media e IC 95% de los niveles pico y valle de ADA.....	166
Ilustración 10: Niveles pico, valle y delta de ADA según sexo .....	167
Ilustración 11: Niveles pico, valle y delta de IFX según sexo.....	167
Ilustración 12: Correlación entre peso y nivel pico de IFX .....	168

Ilustración 13: Correlación entre peso y delta de IFX .....	168
Ilustración 14: Correlación entre peso y nivel pico de ADA .....	169
Ilustración 15: Correlación entre peso y nivel pico de ADA (nivel >5)....	169
Ilustración 16: Correlación entre edad y nivel pico de ADA .....	170
Ilustración 17: Correlación entre edad y nivel valle de ADA .....	170
Ilustración 18: Correlación entre tiempo de exposición y delta de ADA.	170
Ilustración 19: Niveles de IFX y de ADA según tabaquismo .....	171
Ilustración 20: Niveles de IFX y de ADA según antecedentes de EII.....	172
Ilustración 21: Niveles pico, valle y delta de IFX según intensificación..	172
Ilustración 22: Función de supervivencia del evento "Intensificación" ...	173
Ilustración 23: Función de supervivencia según diagnóstico .....	173
Ilustración 24: Niveles pico y valle de IFX según PCR .....	175
Ilustración 25: Niveles pico y valle de ADA según PCR.....	175
Ilustración 26: Correlación entre niveles valle de IFX y albúmina.....	177
Ilustración 27: Correlación entre niveles valle de ADA y albúmina .....	177
Ilustración 28: Correlaciones entre niveles de ADA y de IL-6 .....	178
Ilustración 29: Correlaciones entre niveles de IFX y de IL-6.....	178
Ilustración 30: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por IMM.....	179
Ilustración 31: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por anticuerpo .	180
Ilustración 32: Curva ROC de anti-IFX según nivel valle de IFX.....	180
Ilustración 33: Curva ROC de anti-ADA según nivel de ADA .....	181
Ilustración 34: Curvas ROC de calprotectina y <i>cut-off</i> de IFX y ADA.....	181
Ilustración 35: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por genotipo ....	182
Ilustración 36: Correlaciones entre IBDQ y niveles pico y valle de IFX..	183
Ilustración 37: Niveles pico, valle y delta de IFX según IBDQ .....	183



## IV. INTRODUCCIÓN



## 1. PRÓLOGO

Bajo el concepto de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) se designa a un grupo de enfermedades de etiología no bien conocida caracterizadas por la presencia de lesiones inflamatorias de patogenia autoinmune en la pared del tubo digestivo. Este proceso inflamatorio se asocia a manifestaciones clínicas muy heterogéneas y proteiformes que suelen presentarse de manera intermitente, aunque con persistencia insidiosa en el largo plazo. La cronicidad en la evolución clínica de la EII se basa en la alternancia de periodos de inactividad, denominados generalmente remisión, y periodos de actividad inflamatoria de diferente intensidad y comportamiento clínico intra- e interindividual, que se denominan brotes, recidivas o recurrencias.

Los síntomas dependen de la extensión y localización topográfica del segmento del tubo digestivo afectado, el comportamiento y grado de intensidad inflamatoria, y de la eventual presencia de complicaciones o afectación extraintestinal<sup>1</sup>.

Se pueden reconocer tres enfermedades en el contexto patológico descrito: enfermedad de Crohn (EC), colitis ulcerosa (CU) y colitis indeterminada, mucho menos prevalente que las dos anteriores. La incidencia de estas patologías ha aumentado en las últimas décadas, presumiblemente por fenómenos ambientales sobre una población predispuestas genéticamente, y la previsión de incidencia para la EC en el año 2010 era de 18 casos por 100.000 habitantes en España. Se desarrollan en este momento proyectos epidemiológicos de ámbito nacional para conocer en profundidad la incidencia y prevalencia de la EII.

La patogenia parece estar mediada por la inmunidad, con una disregulación de la respuesta inmune del huésped frente a la flora bacteriana saprófita, así como frente a otros posibles antígenos de la luz intestinal en sujetos susceptibles desde el punto de vista genético<sup>2</sup>. En este proceso inflamatorio, el factor de necrosis tumoral alfa ( $TNF\alpha$ , Ilustración 1) juega un papel clave<sup>3</sup>. Desde 1998 se dispone de fármacos que neutralizan la actividad del  $TNF\alpha$ , aprobados en enfermedades reumatológicas, dermatológicas y digestivas, como la EII. Estos fármacos se conocen con el nombre genérico de medicamentos biológicos.

Se entiende por fármaco biológico aquella sustancia producida a partir de un organismo vivo o de sus productos incluyéndose en esta categoría anticuerpos, interleucinas y vacunas, entre otros productos farmacoterapéuticos.

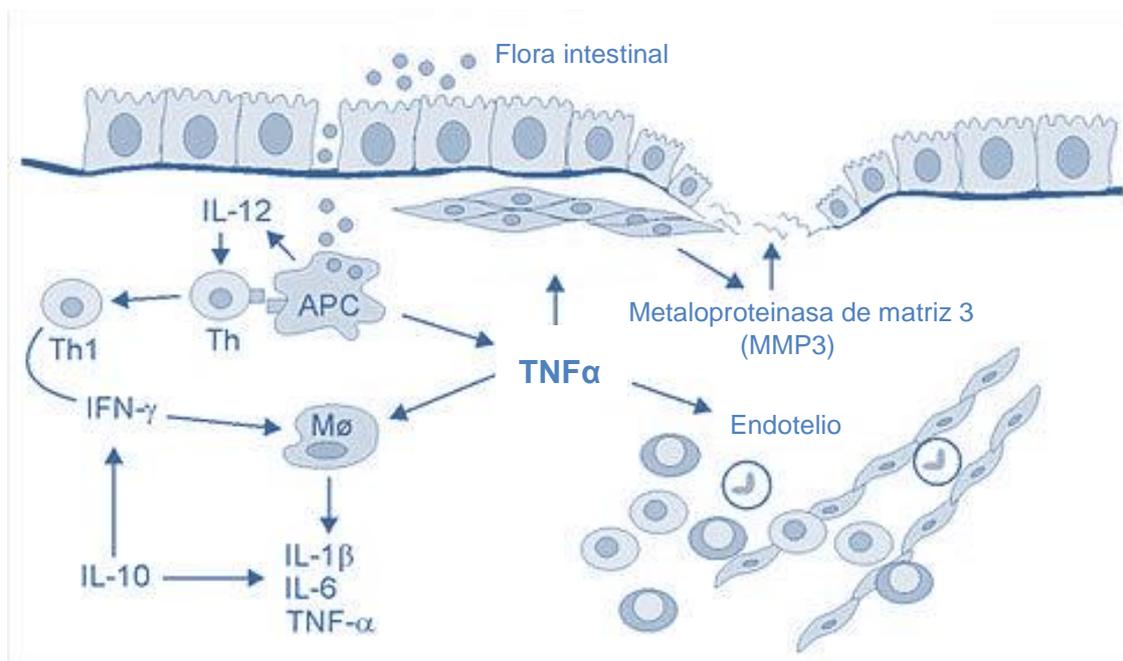


Ilustración 1: TNF $\alpha$  en el escenario de la mucosa intestinal

En los últimos 15 años la introducción de los biológicos ha supuesto un cambio significativo en el manejo y los resultados terapéuticos en la EII. Si bien es cierto que de momento no hay tratamiento curativo para estas patologías, sí se dispone de fármacos que controlan la actividad inflamatoria y consiguen un alto porcentaje de remisiones clínicas, endoscópicas e incluso histológicas. El empleo escalonado de esteroides e inmunosupresores (IMM) no había supuesto un cambio en la historia natural de la EII, pero la llegada de los biológicos ha permitido el ahorro de fármacos con perfil de seguridad comprometido, la disminución de las necesidades quirúrgicas y de hospitalización y la mejora en los parámetros relacionados con la calidad de vida.

Es pronto para poder determinar el subgrupo de pacientes con EII especialmente agresiva en los que utilizar precozmente los biológicos en la estrecha ventana terapéutica en la que la modificación de la historia natural de la EII sea significativa. Las lagunas en el conocimiento que tenemos sobre la EC y la CU no lo permiten por el momento. Además hay incógnitas sobre la utilidad en el largo plazo y los efectos secundarios de su empleo indefinido.

La naturaleza de los agentes anti-TNF $\alpha$  y la aparición de diversos problemas de toxicidad en los ensayos pivotaes que permitieron la aprobación de su uso por las agencias de medicamentos en EE.UU. (FDA, del inglés *Food and Drugs Agency*) y la Unión Europea (EMA, del inglés *European Medicines*

Agency), además de en la posterior práctica clínica y los registros de seguridad, han planteado dudas razonables sobre la seguridad de estas terapias. No obstante, la propia enfermedad de base y otras medicaciones concomitantes habitualmente empleadas constituyen importantes sesgos a la hora de atribuir los eventos adversos a la medicación biológica anti-TNF $\alpha$ . Los dos fármacos aprobados para EII son el infliximab (anticuerpo IgG1 recombinante quimérico humano-murino frente a TNF $\alpha$ ) y el adalimumab (anticuerpo IgG1 recombinante humano frente a TNF $\alpha$ ).

Entre las patologías que deben ser consideradas al evaluar el perfil de seguridad de los fármacos biológicos se cuentan las infecciones oportunistas, especialmente la reactivación de tuberculosis (TBC) latente, los fenómenos de autoinmunidad y la aparición de neoplasias, en particular de procesos linfoproliferativos. En menor medida se han descrito otros eventos adversos relacionados con manifestaciones cutáneas, cardiológicas, neurológicas y hepáticas.

Los anticuerpos anti-TNF $\alpha$  son efectivos en la inducción de la remisión en la EC como en la CU, así como el mantenimiento de la remisión de las mismas. Sin embargo, debemos tener en cuenta una probabilidad de un 30% de ausencia de respuesta primaria, a la que se une con el prolongado empleo del fármaco una creciente probabilidad de fallo secundario<sup>4</sup>, presumiblemente debido a la inmunogenicidad del fármaco, aunque sin poder descartar un cambio en el perfil inmunológico de la enfermedad que pudiera dejar obsoleta la diana del TNF $\alpha$ .

Muchos pacientes son tratados durante años con remisión clínica sostenida. Sin embargo, el papel de la monitorización de los niveles séricos de IFX (infliximab) y ADA (adalimumab) así como de los anticuerpos frente a estos fármacos durante el tratamiento de mantenimiento permanece poco aclarado.

La inmunogenicidad de los biológicos en EII sugiere que los pacientes desarrollan anticuerpos frente a estas inmunoglobulinas, especialmente cuando se administran de manera episódica<sup>5</sup>. Sin embargo, incluso en tratamientos programados no episódicos, del 6 al 15% de los pacientes desarrollan anticuerpos contra el fármaco<sup>6,7</sup>. Esta formación de anticuerpos es tan temprana como del 60% de los pacientes en el primer año de tratamiento<sup>8</sup>, el 90% de todos los pacientes que acaban desarrollando anticuerpos a lo largo de los 4 primeros años de la terapia.

La correlación entre las reacciones infusionales y los anticuerpos es evidente y existen estudios que han demostrado niveles de IFX significativamente inferiores en pacientes con anticuerpos, probablemente debido a un aclaramiento incrementado del fármaco<sup>9,10,11</sup>. La formación de anticuerpos y los bajos

niveles de IFX se relacionan con pérdida de respuesta<sup>12,13</sup>. Sin embargo, es difícil establecer una clara correlación entre eficacia clínica e IFX en términos de curación mucosa y anticuerpos frente al fármaco. Además, el éxito del tratamiento parece depender más de los niveles del fármaco que de los niveles de anticuerpo antifármaco, por lo que se ha sugerido por Van de Casteele<sup>14</sup> que los primeros tienen un valor predictivo muy potente para la inducción de la respuesta.

Por último, existen anticuerpos transitorios, probablemente anti-alotipo, que no parecen tener impacto en la respuesta, aunque su significado clínico no está establecido, y que pueden eliminarse aumentando la dosis del biológico. La aparición de anticuerpos y su impacto en la situación clínica del paciente es un fenómeno dinámico. Consecuencia de ello, el 54% de los pacientes que presentan anticuerpos no han perdido aún la respuesta clínica, el 30% presentan de forma simultánea la pérdida de respuesta y los anticuerpos, y el restante 16% presentan pérdida de respuesta sin presencia de anticuerpos. Los datos sobre niveles de ADA y anticuerpos frente a éste son aún menos conocidos debido a la más reciente introducción de dicho biológico en el arsenal terapéutico.

Los anticuerpos anti-biológico tienden a desaparecer lentamente una vez interrumpido el tratamiento, aunque en algunos estudios con detección de alta sensibilidad mediante radio-inmuno-ensayo permanecían positivos hasta 4 años después de la interrupción. No está establecido el efecto de la persistencia de los mismos en el caso de reiniciar el biológico. Por otro lado, la combinación de tratamientos IMM a una monoterapia con fármaco biológico puede disminuir e incluso hacer desaparecer los anticuerpos anti-biológico<sup>15</sup>, y consecuentemente aumentar el nivel sérico del fármaco y mejorar la eficacia clínica. Además, existen individuos de la población general no expuestos previamente a tratamiento biológico pero con anticuerpos frente a la fracción murina del IFX<sup>16</sup> que pueden presentar reacción cruzada y por tanto disminuir la eficacia y la seguridad del tratamiento.

El papel de la monitorización del nivel sérico del biológico y de los anticuerpos frente al fármaco en la práctica clínica se encuentra todavía en debate. El nivel de evidencia es bajo debido al limitado número de estudios con cohortes pequeñas, diseños retrospectivos y diferentes aproximaciones metodológicas<sup>17</sup>. Además, existen varios métodos de determinación de los niveles de fármaco (ELISA, RIA, HPLC).

La técnica de ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) es con diferencia la más empleada por su sencillez metodológica en la mayoría de los estudios. No obstante, presenta importantes limitaciones causadas de falsos negati-

vos de la técnica, como la formación de inmunocomplejos por la presencia de fármaco circulante que da resultados no concluyentes hasta en el 50% de los estudios. Además, no se detectan anticuerpos tipo IgG4 que son los mayoritarios en caso de inmunizaciones prolongadas, ni anticuerpos anti-idiotípicos (contra el fragmento Fab', la parte del anti-TNF $\alpha$  que se une al TNF $\alpha$ ). También pueden obtenerse falsos positivos por otras proteínas que se unen de forma inespecífica (complemento, factor reumatoide, o anticuerpos anti-alotípicos contra el fragmento Fc', que no bloquean la unión del biológico con el TNF $\alpha$ ).

El RIA (del inglés, *Radio-Immuno-Assay*: radio-inmuno-ensayo) tiene mayor sensibilidad y especificidad, pero su uso está limitado por el empleo de radioisótopos.

Por último la HPLC (del inglés *High Pressure Liquid Chromatography*: cromatografía líquida de alta presión) es una técnica que reproduce de una manera más fidedigna las condiciones *in vivo* y no emplea radioisótopos, aunque precisa de una instalación de laboratorio tecnológicamente más compleja que hace que su empleo en el seno de la práctica clínica no esté extendido.

Los estudios comparativos realizados entre los métodos citados no permitan emplear cualquiera de ellos de forma indistinta<sup>18</sup>, por lo que en la actualidad se mantiene el método ELISA como el más común aunque con sus reconocidas limitaciones: falsos positivos por otras proteínas que se unen a los anticuerpos anti-TNF $\alpha$ , ausencia de información sobre la funcionalidad de los anticuerpos anti-TNF $\alpha$  y falta de discriminación en los tipos de anticuerpos anti-idiotipo o anti-alotipo presentes. Dado que aunque ambos interfieren en la unión del fármaco con su diana, cabría esperar que lo hagan de distintas formas y por tanto con diferente impacto clínico.

A los datos de los niveles de fármaco en suero se unen dos particularidades adicionales de estos tratamientos biológicos que les confieren un aclaramiento diferente a tratamientos de síntesis química convencional: por un lado su inmunogenicidad, dependiente de la sensibilización de linfocitos B y producción de respuesta humoral mediada por anticuerpos<sup>19</sup>, y por otro lado su catabolismo específico proteolítico en el retículo endoplasmático.

Respecto a la inmunogenicidad, los biológicos anti-TNF $\alpha$  son proteínas de gran tamaño que actúan como antígenos induciendo la formación de anticuerpos. En el caso del IFX hasta en el 20% de expuestos y en el de ADA en alrededor del 10%. El tratamiento de mantenimiento, el uso de IMM simultáneamente y la predisposición individual pueden afectar a la formación de estos anticuerpos. Un reciente metaanálisis de Nanda<sup>20</sup> pone en evidencia un riesgo relativo del 3,2 (IC 95%: 2,0-4,9, p<0,0001) para la pérdida de respuesta clínica

en pacientes con EII tratados con biológicos y con anticuerpos anti-fármaco presentes, disminuyendo los niveles circulantes de fármaco y aumentando su aclaramiento. Además, la presencia de anticuerpos frente al fármaco está claramente relacionada con un aumento en el riesgo relativo de reacciones adversas de 3,97 (IC 95%: 2,36-6,67,  $p < 0,001$ )<sup>21</sup>.

Respecto al catabolismo de las inmunoglobulinas, el aclaramiento de los biológicos depende en gran medida del catabolismo proteico tras la endocitosis mediada por receptor en el retículo endoplasmático. De los diferentes receptores, FcRn es esencial para mantener la homeostasis de las inmunoglobulinas y la albúmina<sup>22</sup>, aumentando considerablemente su vida media: las proteínas unidas a este receptor e incorporadas a un endosoma de pH 6 son protegidas (y liberadas posteriormente en la superficie celular a un pH más fisiológico), mientras que las unidas al receptor Fc $\gamma$ R son degradadas en el retículo endoplasmático. Además, el receptor FcRn tiene mayor afinidad por las inmunoglobulinas humanas que por las de otras especies, lo que hace que la vida media de las inmunoglobulinas murinas sea de tan solo 1-2 días, de los biológicos quiméricos como IFX de 10-14 días y de los biológicos humanizados como ADA de hasta 20 días.

Existen polimorfismos ya identificados (alelos V y F) en alguno de los genes que codifican este receptor de baja afinidad Fc $\gamma$ R y asociados a la respuesta clínica a los fármacos biológicos en la EC como el identificado por Louis<sup>23</sup>. El gen FCGR3A que codifica el receptor Fc $\gamma$ R11A y que se encuentra en el brazo largo del cromosoma 1 (1q23) presenta polimorfismos en la posición +4985 (G  $\rightarrow$  T) del sexto exón. El alotipo V corresponde a una valina en la posición 158, con mayor afinidad por las inmunoglobulinas IgG1 (como los biológicos) que el alotipo F, que corresponde a una fenilalanina en dicha posición, lo que disminuiría su aclaramiento en menor medida. Por ello, condiciones genéticas individuales se unirían al ya complejo escenario de la absorción, distribución y aclaramiento de los biológicos y, por ende, a la respuesta clínica y analítica.

Existen lógicas diferencias farmacológicas entre los dos biológicos aprobados por las agencias reguladoras para su uso en EII. La absorción depende de la vía de administración. En el caso de IFX la administración es intravenosa, la distribución central es inmediata, es menos inmunogénica y presenta menor inter-variabilidad. En el caso del ADA la administración es subcutánea, depende del drenaje linfático, la fracción absorbida es variable, es más inmunogénica y la concentración máxima se alcanza días más tarde<sup>24</sup>.

A partir del conocimiento de estas diferencias se han podido poner en evidencia datos farmacocinéticos de ambos fármacos para las diferentes indicaciones de EC y CU.

De la evidencia publicada hasta el momento, muy heterogénea y sin patrón oro de comparación, se han sugerido niveles valle de corte para el IFX que permiten predecir la respuesta sostenida en EC ( $> 4 \mu\text{g/mL}$ ) y la ausencia de respuesta ( $< 1,9 \mu\text{g/mL}$ ), así como el éxito terapéutico en CU ( $> 2 \mu\text{g/mL}$ ). También disponemos de datos análogos para ADA en EC en la predicción de la respuesta sostenida ( $> 8,1 \mu\text{g/mL}$ ) y la ausencia de respuesta ( $< 5,05 \mu\text{g/mL}$ ) en el análisis aportado por Chiu<sup>25</sup>. Sin embargo, no está establecida claramente la ventana terapéutica ni el punto de corte de positividad para los anticuerpos anti-biológico, así como tampoco si la medición en otros momentos distintos del “valle” de fármaco, inmediatamente antes de la siguiente administración para minimizar las interferencias fármaco-anticuerpo en la medición, podría ser más apropiada.

Cuando un paciente inicia tratamiento biológico el análisis de los niveles del fármaco en semana 14 se ha recomendado con objeto de establecer el control en la fase de inducción y tomar decisiones para aumentar la dosis en caso de respuesta pobre, pero esta recomendación no forma parte de ninguna guía clínica de manejo de la EII. En situaciones de pérdida de respuesta, que ocurren hasta en el 70% de pacientes en tratamiento con IFX con el paso del tiempo, el análisis de los niveles séricos de IFX y de anticuerpos anti IFX puede ayudar en la decisión de intensificar el tratamiento o cambiar a otro fármaco<sup>26</sup>. Sin embargo el valor de la monitorización del fármaco ha sido cuestionado en esta situación en algunos estudios que han informado de que los anticuerpos anti fármaco no siempre conducen a una respuesta disminuida tras dosis incrementadas de IFX. Las observaciones de que el estatus de anticuerpos anti fármaco puede ser transitorio hasta en el 28% de los pacientes positivos podría explicar la dificultad de interpretar estos datos. La discontinuación del biológico en pacientes con EII con respuesta sostenida y remisión endoscópica ha sido abordada en el ensayo STORI<sup>27</sup>. Bajos niveles séricos de IFX han sido propuestos como uno de los marcadores predictivos para remisión sostenida después de la retirada de IFX en estos pacientes. El análisis podría ser de gran utilidad para identificar pacientes candidatos a la interrupción o desintensificación del tratamiento con biológicos.

Sin embargo, un elemento de crucial importancia en la efectividad, que no eficacia, del tratamiento y no abordado hasta el momento en esta exposición es la adherencia y el cumplimiento del mismo. En el caso que nos ocupa, acudir a

las citas programadas para la infusión de IFX, y recoger la medicación y auto-administrársela en el caso de ADA es el obvio primer paso para que el tratamiento pueda tener éxito. No es habitual la medición de la cumplimentación de tratamientos parenterales ambulatorios, como los biológicos para la EII. El test más comúnmente empleado es el clásico Morisky-Green-Levine<sup>28</sup>, consistente en un cuestionario de 4 preguntas que comprueba olvidos de medicación, seguimiento de horarios y abandonos relacionados con la situación clínica favorable o desfavorable. Modificaciones no validadas pudieran adaptar este cuestionario a tratamientos parenterales con particularidades distintas a los tratamientos orales para los que se diseñó el test.

Los estudios de farmacocinética-farmacodinámica disponibles considerando variables del paciente y de la enfermedad proveen de una mayor información que explique la variabilidad interindividual para metabolizar anticuerpos anti-TNF $\alpha$ . Los factores que parecen tener impacto en la farmacocinética son la presencia de anticuerpos anti-biológico (menor nivel sérico de fármaco, aclaramiento aumentado, peor resultado clínico), el uso de terapia inmunosupresora simultánea (reducción en la formación de anticuerpos anti-biológico, mayor nivel sérico de fármaco, aclaramiento disminuido, mejor resultado clínico), altos niveles basales de TNF $\alpha$  (disminución de nivel sérico de fármaco por aumento de su aclaramiento), bajos niveles de albúmina, (aclaramiento aumentado, peor resultado clínico), alto nivel de PCR (aclaramiento aumentado), masa corporal (altos volúmenes corporales incrementan el aclaramiento) y el sexo (los varones tienen mayor aclaramiento). Basándonos en lo anterior, a mayor actividad inflamatoria (alto nivel de TNF $\alpha$ , alto nivel de PCR, pérdida de fármaco a la luz intestinal) se requiere de una mayor dosis de fármaco para conseguir respuesta clínica.

Las estrategias en la prevención de la pérdida de respuesta pasarían entonces por la administración programada (no episódica) de los fármacos biológicos, la administración concomitante de un inmunosupresor para disminuir la inmunogenicidad propia, y la monitorización de los niveles para individualizar el tratamiento en la búsqueda de la mínima concentración útil. En este sentido, el conocimiento del metabolismo y del aclaramiento plasmático mediante modelos predictivos puede ser de enorme utilidad.

La generación de algoritmos de decisión terapéutica para la optimización de la dosis mejoraría el perfil de seguridad y de eficacia de los biológicos junto con la contribución en la sostenibilidad de los sistemas de salud, disminuyendo el coste económico de la toma de decisiones tardías y empíricas basadas en la intensificación de la terapia en la mayoría de los casos. En un reciente estudio de Steenholdt<sup>29</sup>, el coste medio por paciente de la toma de decisiones basada

en algoritmos fundamentados en niveles de fármaco fue de 6.038€ frente a 9.178€ de la intensificación rutinaria ante fallo secundario de la actual práctica clínica habitual, un coste 34% menor ( $p < 0.001$ ) con tasas de respuesta clínica similares (58% vs 53% respectivamente,  $p = 0,8$ ).

En el manejo terapéutico de los pacientes con EC, la decisión más importante es definir el momento óptimo de inicio de la terapia biológica, una vez se han alcanzado las indicaciones establecidas en las fichas técnicas de los productos y en las guías de práctica clínica<sup>30</sup>. La estrategia "*top-down*" ha ido ganando peso como modelo para el tratamiento de la EC debido al impacto en términos de eficacia y seguridad de los anticuerpos anti-TNF $\alpha$ , pero no ha alcanzado consenso debido al sobretratamiento de aquellos pacientes que pudieran no necesitar alcanzar escalones elevados de la pirámide terapéutica<sup>31</sup>.

Desde este planteamiento, más que un tratamiento secuencial y escalonado basado en el manejo convencional "*step-up*" que comience en tratamientos de menor eficacia como los salicilatos, hasta alcanzar terapias de mayor potencia como los anticuerpos anti-TNF $\alpha$ , añadiendo cada nuevo tratamiento cuando existe falta de respuesta o toxicidad a la anterior, deberíamos invertir la pirámide terapéutica de forma que se iniciase con los tratamientos más eficaces disponibles más precozmente en el curso evolutivo de la enfermedad.

De esta forma, se podría alcanzar el objetivo de cambiar la historia natural del proceso y prevenir complicaciones derivadas del deterioro de los segmentos intestinales afectados. Este esquema puede aplicarse también a la enfermedad fistulizante<sup>32</sup>, una de las expresiones patológicas más incapacitantes de la enfermedad dado que una vez que la fístula se hace compleja, transesfinteriana o asocia la afectación de vísceras huecas vecinas como la vejiga o la vagina, las probabilidades de cierre completo de la misma disminuyen de forma notable.

La estrategia "*top-down*" tiene como principal argumento el que el uso precoz y más agresivo de los anticuerpos anti-TNF $\alpha$  conduce a una mayor respuesta en la inducción de la remisión, más rápida, libre de esteroides y con un mantenimiento de la remisión mejor que el obtenido con la estrategia tradicional, ahorrando además daño orgánico potencialmente irreversible. En un estudio de D'Haens<sup>33</sup> se consiguió demostrar la mejoría evolutiva y la reducción de la necesidad de esteroides tras un año de seguimiento, con evidencia de curación mucosa a los dos años en aquellos pacientes que recibieron precozmente IFX y terapia combinada con azatioprina (AZA), estrategia denominada "*top-down*" frente a los pacientes tratados inicialmente con esteroides, y posteriormente en función de evolución clínica, con AZA o IFX, denominada "*step-up*".

La generalización de esta práctica clínica se enfrenta al hecho ya conocido de que aproximadamente la mitad de los pacientes no tendrán un curso clínico agresivo y por tanto se sobretratarían innecesariamente en la primera de las estrategias.

Sin duda la aplicación del "top-down" podría ser apropiada en individuos de alto riesgo. Por ello es crucial identificar elementos predictores de respuesta precisos en EII. Un reciente estudio francés de Beaugerie<sup>34</sup> sugiere que los pacientes menores de 40 años en el debut de la enfermedad, los que precisan tratamiento esteroideo en el momento del diagnóstico, y los que presentan enfermedad perianal tienen un especial riesgo de desarrollar una enfermedad con un curso evolutivo más incapacitante si están presentes dos o más de estos factores de riesgo. Esto también podría permitir la identificación de aquellos pacientes que podrían beneficiarse de un tratamiento más precoz con terapias biológicas con anticuerpos anti-TNF $\alpha$ .

Por otra parte hay pocos análisis<sup>35</sup> que demuestren evidencias coste-eficacia a largo plazo de la terapia con IFX en EC asumiendo una reducción significativa de las tasas de hospitalizaciones y cirugía.

La incertidumbre de los modelos estimados y su extrapolación a horizontes temporales más amplios podría conducirnos a conclusiones erróneas. Las propuestas de terapia indefinida sin fecha de interrupción, considerando los datos de inmunogenicidad, seguridad, eficacia a 1 año y el potencial de estos fármacos para disminuir los costes directos e indirectos pueden evaluarse en la actualidad. Sin embargo, permanecen todavía demasiadas variables sin respuesta de cara a establecer recomendaciones definitivas.

## 2. INMUNIDAD Y AUTOINMUNIDAD

En el medio ambiente existe una gran variedad de microorganismos patógenos. La supervivencia del individuo no estaría asegurada si no dispusiera de mecanismos capaces de erradicar a los microorganismos o de impedir su crecimiento, una vez que lograsen atravesar las barreras externas cutáneas y mucosas<sup>36</sup>. Hay dos grandes tipos de mecanismos inmunes, aquellos que integran la denominada inmunidad natural, no adaptativa o inespecífica, y aquellos integrados en la denominada inmunidad adaptativa, adquirida o específica<sup>37</sup>.

El primer tipo se halla presente en diversos grados en animales invertebrados. Se trata de una serie de elementos moleculares como reactantes de fase aguda, como la PCR, las colectinas y defensinas<sup>38</sup>, el complemento, el

interferón y otras citocinas, además de elementos celulares como células fagocíticas mononucleares, PMN (polimorfonucleares) y células NK (del inglés, *natural killer*: asesinas naturales)<sup>39</sup>. Estos elementos están dotados de distintos grados de poder microbicida o microbiostático, directo o indirecto. Todos ellos carecen de capacidad de reconocimiento específico y se hallan siempre presentes dispuestos a actuar. También su aparición efectiva es inducible con gran rapidez, aunque su actuación no implica un incremento de su eficacia en actuaciones siguientes.

La evolución de las especies determinó que en los animales vertebrados apareciera y se sumara al sistema inespecífico descrito otro mucho más complejo y eficaz que permite al huésped disponer de células y moléculas extraordinariamente específicas para cada una de las múltiples sustancias y microorganismos patógenos del medio ambiente<sup>40</sup>. Este sistema específico se basa en los linfocitos como responsables de la respuesta inmune adaptativa<sup>41</sup>.

Estas células disponen de un mecanismo de reordenación genética muy particular que les permite adquirir a lo largo de su desarrollo receptores específicos para cada una de los múltiples antígenos del medio<sup>42</sup>. Estos receptores se hallan distribuidos clonalmente y permiten que los linfocitos que los expresan se unan al antígeno para el que son específicos<sup>43</sup> de forma análoga a una inmunoglobulina<sup>44</sup>. Tras el primer contacto con el antígeno, la respuesta inmune no se produce inmediatamente sino que debe transcurrir un periodo de varios días, durante el cual los linfocitos específicos que se unieron al antígeno proliferan y amplifican su número.

Cierto tipo de linfocitos además experimenta cambios madurativos que conduce a la secreción de anticuerpos, moléculas específicas para el antígeno estimulante. En otro tipo de linfocitos aparece el desarrollo de actividad citolítica contra las células en cuya membrana se halla el antígeno. Y en otros, aparece la liberación de factores que activan las células fagocíticas, aumentando su capacidad bactericida.

Los anticuerpos, al unirse al antígeno, también desencadenan cascadas de mecanismos inflamatorios inespecíficos, promoviendo la fagocitosis y la activación del complemento, que tiene actividad lítica sobre las membranas diéna<sup>45</sup>.

La expansión del número de linfocitos específicos que ocurre durante la respuesta primaria conduce a que todo el clon se comporte como células de memoria, de forma que cuando el huésped entre en contacto nuevamente con el mismo antígeno en sucesivas ocasiones vuelva a repetirse el mismo fenómeno inmune pero con mayor intensidad y rapidez<sup>46</sup>. La especificidad, la me-

moria, el carácter adaptativo y la mayor afinidad en la unión antígeno-anticuerpo con el paso el tiempo<sup>47</sup> son las características clave de la respuesta inmune adquirida.

Esta gran diversidad de reconocimientos y de mecanismos efectores requiere una significativa complejidad estructural celular y reguladora. Aunque no están estructuradas en forma de tejidos fijos<sup>48</sup>, como sucede en la mayoría de los sistemas del organismo, las células que componen el sistema inmunitario se hallan en estrecho contacto a través de moléculas como inmunoglobulinas, interleucinas, complejos antígeno-anticuerpo, factores solubles colaboradores o supresores, o bien mediante contacto célula-célula.

La libertad de movimiento de que gozan los linfocitos les confiere dos ventajas fundamentales: por una parte permite que los linfocitos se comuniquen a cierta distancia a través de moléculas que actúan como portadoras de información; por otra parte, otra ventaja reside en el hecho de que al no ser permanentes los contactos intercelulares, todo linfocito puede contactar con diversos tipos de linfocitos y con las células accesorias como los monocitos-macrófagos o células dendríticas, dependiendo de las circunstancias y de la presencia de un estímulo inmunogénico. Esta libertad de los linfocitos de conectar entre sí constituye la base estructural que posibilita que el sistema inmunitario posea un alto grado de ductilidad y regulación<sup>49</sup>.

Un aspecto fundamental del sistema inmunitario es que los linfocitos, a lo largo de su desarrollo, simultáneamente a la adquisición de los receptores para responder en forma específica frente a los múltiples y variados antígenos procedentes de agentes patógenos y sustancias presentes en el medio ambiente exterior, deben aprender a mantener una falta de respuesta o estado de tolerancia para los componentes del propio organismo<sup>50</sup>. De lo contrario, serían los propios tejidos del huésped los que resultarían afectados, como ocurre en las enfermedades autoinmunes.

Las enfermedades autoinmunes son la consecuencia patológica de una respuesta inmune contra componentes del propio huésped. Esto significa que en todos los individuos se hallan presentes células linfocitarias capaces de reconocer autoantígenos, si bien los clones potencialmente más peligrosos se encuentran bajo un estricto control<sup>51</sup>. Dicho control y autotolerancia depende de mecanismos de delección clonal por eliminación y de anergia clonal por inactivación que las células T y B específicas contra autoantígenos experimentan durante su desarrollo en los órganos linfoides primarios, mecanismos que pueden también operar en la periferia con los linfocitos T y B.

La falta de respuesta a ciertos autoantígenos puede deberse también a ignorancia clonal. En ocasiones, los autoantígenos se hayan en sitios biológicamente no accesibles para el sistema inmunitario, o bien no son presentados apropiadamente a las células T. La alteración de estos mecanismos de control puede dar origen a un estado de autoinmunidad patológica y la generación de una enfermedad autoinmune, en cuya base se encuentra la etiopatogenia de la EII, así como condiciones patológicas reumatológicas y dermatológicas.

Para cualquier enfermedad autoinmune se desconocen los factores etiopatogénicos concretos que causan la rotura de los mecanismos de auto-tolerancia<sup>52</sup>. Pueden ser enfermedades monogénicas, aunque habitualmente son poligénicas<sup>53</sup> y multifactoriales, dado que en su desarrollo interviene tanto una predisposición genética fundamentada en más de un sistema génico, como factores no genéticos o ambientales<sup>54</sup>.

La participación de factores genéticos se basa en tres aspectos: una mayor incidencia en algunas razas o etnias de ciertas enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide (AR)<sup>55</sup>, lupus eritematoso sistémico (LES)<sup>56</sup> o diabetes mellitus tipo 1 (DM1)<sup>57</sup>, y una mayor frecuencia de una enfermedad autoinmune determinada entre los familiares de pacientes con dicha enfermedad. Las diferencias sustanciales entre gemelos monocigóticos y dicigóticos en la concordancia para padecer una determinada enfermedad autoinmune como LES, AR o DM1 apoya la intensidad de la carga genética. Por último, la asociación entre ciertos alelos del sistema HLA y determinados procesos autoinmunes, como el HLA-B27 y la espondilitis anquilosante, y HLA-DR4 de los subtipos Dw4, Dw14, así como DR1 en AR demuestran esta asociación.

Las asociaciones citadas tienen un carácter incompleto, y solo una pequeña fracción de los individuos que presentan un determinado alelo HLA desarrollan la enfermedad con la que dicho alelo se asocia. Estos datos indican que en el desarrollo de las afecciones autoinmunes desempeñan un papel esencial los factores genéticos y que estos dependen no solo del sistema HLA sino también de otros factores todavía no definidos. También las hormonas sexuales femeninas, por razones y mecanismos poco aclarados, favorecen la aparición de enfermedades autoinmunes. Existe un notable predominio de la mayoría de estas enfermedades en las mujeres sobre los varones<sup>58</sup>. La relación mujer/varón puede llegar a ser de 50:1 en la tiroiditis de Hashimoto, la cirrosis biliar primaria y la hepatitis autoinmune; de 9:1 en el LES, el síndrome de Sjögren y la enfermedad de Graves, y de 4:1 en la DM1 y la AR.

Entre los factores ambientales potencialmente “gatillo” de estos procesos de base inmune destacan los agentes infecciosos<sup>59</sup>. Son varios los mecanismos por los que podrían actuar como iniciadores de la aparición de una enfer-

medad autoinmune: pueden funcionar como superantígenos<sup>60</sup> mediante activación policlonal de linfocitos T o B, lo que además puede determinar una gran liberación de citocinas que rescaten a determinadas clonas autorreactivas de su estado de anergia funcional y también promover una respuesta antígeno-dirigida en parte de estos clones. También pueden causar la modificación de un autoantígeno, creándose un neoantígeno capaz de desencadenar una respuesta que actuaría sobre el autoantígeno. Es posible que una célula infectada por un virus exprese proteínas víricas que desencadenen una respuesta convencional. Dicha respuesta, al destruir las células infectadas, puede determinar liberación de autoantígenos que en un individuo genéticamente predispuesto sean capaces de inducir una respuesta contra ellos. Los virus que infectan a las propias células linfocitarias podrían destruir o alterar la función de determinadas subpoblaciones de linfocitos con función reguladora de la respuesta inmune. También los anticuerpos y linfocitos T generados en una respuesta inmune contra componentes de un agente infeccioso pueden reaccionar en forma cruzada con ciertos componentes del propio huésped, al presentar estos últimos ciertos epítomos compartidos con el componente microbiano. Este fenómeno de reactividad cruzada entre componentes de un huésped y componentes de un agente infeccioso suele denominarse mimetismo molecular<sup>61</sup>. Por último, los anticuerpos contra un germen pueden inducir una respuesta contra su idiotipo, y es posible que estos anticuerpos anti-idiotipo, al constituir una imagen interna del antígeno microbiano, se unan a las mismas estructuras a las que se adhiere el germen para infectar el organismo, lo que representaría una forma más sutil de mimetismo molecular. El papel del mimetismo molecular<sup>62</sup> se halló en primer lugar en la fiebre reumática, con autoanticuerpos contra el tejido cardíaco que reaccionan también con antígenos de *Streptococcus*.

El paradigma del mimetismo molecular ocurre en aquellas moléculas con un amplio grado de similitud, situación que se cumple con las moléculas filogenéticamente muy conservadas. Mecanismos de este tipo podrían estar en la base de la respuesta autoinmune frente a ciertos componentes nucleares muy conservados, como es el caso de los antígenos reconocidos por los autoanticuerpos antinucleares<sup>63</sup>.

Un tipo de proteínas filogenéticamente muy conservadas que hoy en día despiertan gran interés como posibles diana de una respuesta autoinmune a través de un mecanismo de mimetismo molecular lo constituyen las denominadas proteínas del estrés o del choque térmico (HSP, del inglés *heat shock proteins*)<sup>64</sup>. Son proteínas producidas por todas las células, procariontas y eucariotas, desde las bacterias hasta células eucariotas de animales en respuesta a situaciones de estrés por estímulos adversos, como el calor, y que actúan con-

cediendo protección a la célula que sufre tal estrés orgánico. El grado de similitud entre las HSP homólogas de distintas especies alcanza hasta el 50% en la comparación entre la HSP 70 de *Escherichia coli* y la humana<sup>65</sup>. Las HSP se unen temporalmente a muy diversas proteínas, actuando como complejos macromoleculares con componentes propios muy diversos, lo que unido a su capacidad de traslocarse entre los distintos compartimentos celulares, citoplasma, mitocondria y núcleo, durante el estrés, las convierte en candidatas para ser diana de una respuesta autoinmune.

Por ejemplo, la artritis por adyuvante de la rata, similar a la AR humana, puede transferirse mediante la administración de linfocitos T específicos contra un epítipo de la HSP 65 kD de *Mycobacterium tuberculosis*, una bacteria que forma parte del adyuvante completo de Freund, que es el agente inductor de esta enfermedad experimental. En la cepa de ratones NOD (del inglés, *nuclear oligomerisation domains*) diabéticos no obesos que desarrollan DM1 de forma espontánea se detecta material reactivo con anticuerpos anti-HSP 65 de micobacterias unos 2 meses antes del inicio de la diabetes, mientras que 2 semanas después se produce una seroconversión mediante detección de anticuerpos contra la HSP 65 murina propia. Finalmente, en el suero de pacientes con LES, AR y EC<sup>66</sup> se pueden detectar anticuerpos contra diversas HSP microbianas.

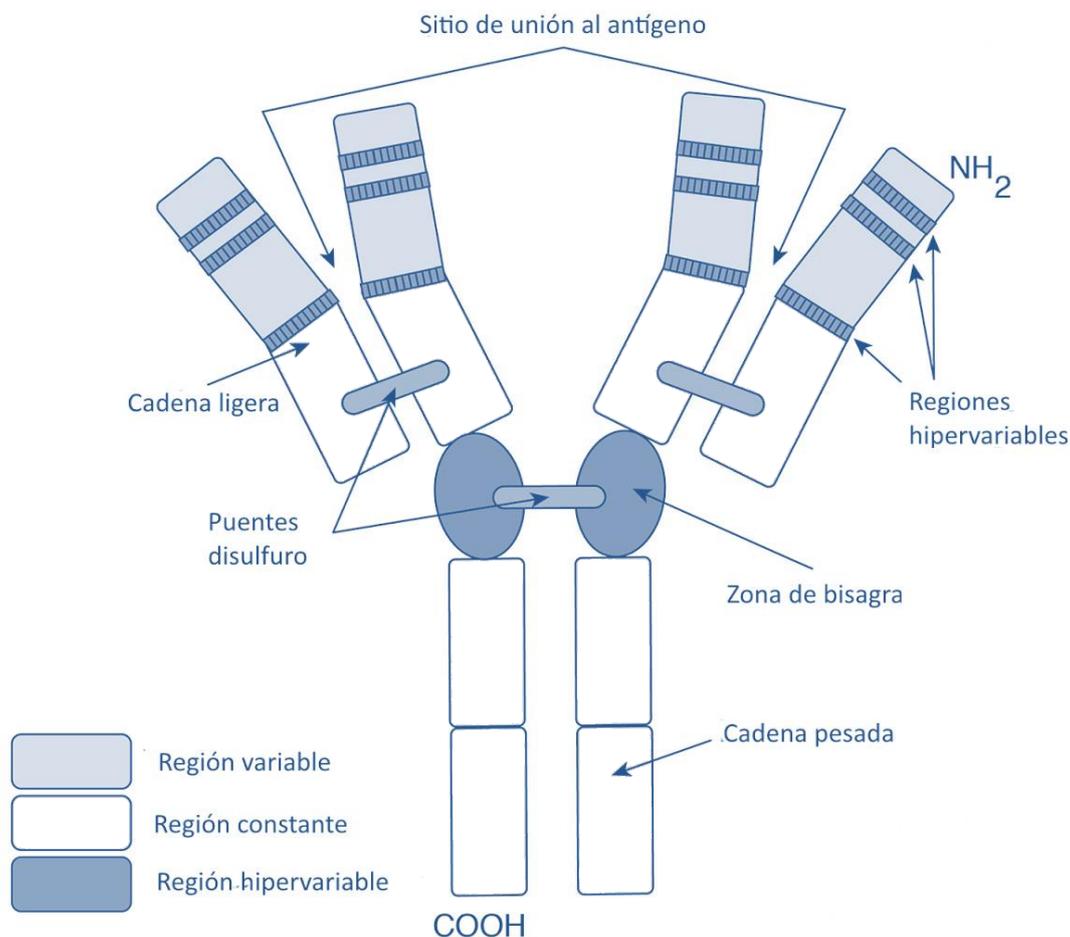
También sustancias químicas del medio ambiente pueden actuar como iniciadores de una enfermedad autoinmune<sup>67</sup>. Ciertos fármacos, como la hidralazina y la procainamida, inducen la aparición de LES y autoanticuerpos antihistonas, un tipo de anticuerpo antinuclear. También la  $\alpha$ -metildopa induce la formación de autoanticuerpos IgG contra los hematíes y puede causar anemia hemolítica autoinmune<sup>68</sup>. Ciertos anestésicos como halotano y ácido tienílico para inducir la formación de autoanticuerpos contra el citocromo P<sub>450</sub> y la aparición secundaria de hepatopatía. También el cloruro mercuríco induce en ratas y ciertas cepas de ratones la aparición de anticuerpos antinucleares y un cuadro similar al LES que incluye nefritis por depósito de inmunocomplejos. Uno de los mecanismos de acción puede ser que la sustancia química actúe modificando un antígeno propio y que dicho neoantígeno desencadene una respuesta que actúa contra el autoantígeno, como en el caso de la  $\alpha$ -metildopa y la inducción de autoanticuerpos IgG antieritrocitarios.

## 2.1 INMUNOGLOBULINAS

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas con gran heterogeneidad sintetizadas por los linfocitos B que tienen la propiedad de unirse de forma específica a otras moléculas denominadas antígenos. La heterogeneidad es debida a la enorme diversidad de las regiones variables (regiones V) que forman el sitio de unión al antígeno y de las que depende la especificidad antigénica. El repertorio de potenciales anticuerpos diferentes que puede desarrollar un individuo en un momento dado es potencialmente superior a un millón<sup>69</sup>.

Todas las inmunoglobulinas presentan un patrón estructural común (Ilustración 2) consistente en una unidad básica de cuatro cadenas: dos cadenas pesadas idénticas (o cadenas H, del inglés *heavy*) y dos cadenas ligeras también idénticas (o cadenas L, del inglés *light*), unidas entre sí por diversos enlaces disulfuro entre las dos cadenas H, y cada cadena H con una cadena L. La molécula adopta la configuración espacial en forma de "Y"<sup>70</sup>. Cada brazo de la "Y" está formado por la mitad de cada cadena H y una cadena L entera, y el tronco está formado por la mitad de las dos cadenas H<sup>71</sup>. Los brazos de la "Y" están dotados de cierto grado de movilidad, y la zona de las cadenas H sobre la que giran se denomina región bisagra y se corresponde con la zona por donde esas cadenas H se unen entre sí mediante los enlaces disulfuro citados<sup>72</sup>.

Hay cinco clases distintas de inmunoglobulinas<sup>73</sup>, IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, de mayor a menor concentración sérica, con cuatro subclases de IgG (IgG<sub>1-4</sub>) y dos subclases de IgA (IgA<sub>1-2</sub>). Estas clases y subclases están determinadas por las diferentes clases y subclases de cadenas H, las cuales se designan con la correspondiente letra griega minúscula  $\gamma_{1-4}$ ,  $\alpha_{1-2}$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ . Solo hay dos tipos de cadenas ligeras, designadas  $k$  y  $\lambda$ . Por tanto, cada clase y subclase de inmunoglobulina puede ser bien de tipo  $k$ , bien de tipo  $\lambda$ . En humanos la proporción de inmunoglobulina de tipo  $k$  es mayor que la de tipo  $\lambda$ , en una relación aproximada de 60:40. Las clases y subclases de inmunoglobulina difieren no solo en la estructura primaria formada por la secuencia de aminoácidos de sus cadenas H, sino también en el grado de polimerización de la estructura básica, formando dímeros en el caso de la IgA y pentámeros en el caso de la IgM, en el número de enlaces disulfuro entre cadenas H, y en el grado y tipo de glicosilación. Las concentraciones séricas de IgG, IgA e IgM son significativas, mientras que las de IgD e IgE son mucho menores. La diversidad estructural de las inmunoglobulinas se refleja también en su heterogeneidad electroforética.



**Ilustración 2: Estructura básica de una inmunoglobulina**

*Adaptado de Francisco Luis Alda*

Las enzimas proteolíticas papaína y pepsina rompen los anticuerpos IgG por la zona bisagra<sup>74</sup>. La papaína lo hace en el residuo 224, proporcionando tres fragmentos de los cuales dos de ellos son idénticos y denominados Fab (del inglés, *antigen binding* o fragmento que contiene el sitio de unión al antígeno). Cada uno de ellos corresponde a cada uno de los "brazos" de la "Y", mientras que el tercer fragmento denominado Fc corresponde al tronco de la "Y". La pepsina escinde las cadenas en las posiciones 234 y 333 con lo que se generan dos fragmentos, uno denominado F(ab')<sub>2</sub>, que corresponde a dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro, y otro, el pFc', que corresponde a la mitad del fragmento Fc.

Los primeros 110 aminoácidos (extremo aminoterminal) de cada cadena H y L varían notablemente de una inmunoglobulina a otra, por lo que se denominan región variable (VH para las cadenas H y VL para las cadenas L). El resto de cada cadena H y L constituye la región constante (CH para las cadenas

H, y CL para las cadenas L) porque su secuencia de aminoácidos es idéntica para todas las cadenas H de la misma clase y subclase y para todas las cadenas L del mismo tipo<sup>75</sup>. El sitio de unión al antígeno se localiza en la conjunción de las regiones VH y VL y determina la especificidad de cada inmunoglobulina para la unión a su antígeno correspondiente<sup>76</sup>. Cada inmunoglobulina es divalente, pues tiene dos sitios de unión al antígeno idénticos, que pueden unirse simultáneamente a dos moléculas de antígeno idénticos.

En las regiones CH, principalmente de la región Fc, es donde se hallan localizadas las cadenas de hidratos de carbono cuya proporción y tipos varían de una clase a otra. No se conoce la función de las cadenas glucídicas<sup>77</sup>, pero podría ser clave en el reconocimiento por los receptores de membrana y tener implicaciones patológicas pues en la AR, la TBC y la EC hay un aumento de IgG sin galactosa (agalactosil-IgG).

Dentro de las regiones VH y VL se distinguen regiones hipervariables denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR) porque están implicadas en el contacto íntimo con el antígeno<sup>78</sup>, y regiones intermedias denominadas regiones de entramado o regiones FW (del inglés *framework*). En cada región VH y VL hay tres CDR (CDR1, CDR2, CDR3) y cuatro regiones de entramado (FW1, FW2, FW3, FW4). Por la homología de las secuencias de aminoácidos, las regiones VH y VL pueden agruparse en subgrupos o familias<sup>79</sup>.

La función primaria de las inmunoglobulinas es la de unirse de forma específica a su antígeno correspondiente, función que radica en la conjunción de las regiones VH-VL<sup>80</sup>. El sitio de unión al antígeno es una cavidad o hendidura dentro de la cual encaja de forma complementaria la superficie del epítipo, la región de la molécula antigénica a la que se une, y que las paredes de la cavidad que establecen contactos directos con el antígeno son las regiones hipervariables o CDR, particularmente la CDR3, de ambas regiones VH y VL<sup>81</sup>. Aunque las regiones FW no contactan con el antígeno, su integridad es esencial para mantener la configuración tridimensional e integridad del sitio de unión.

Por otro lado, el extremo Fc es responsable de una serie de reacciones moleculares y celulares, denominadas funciones efectoras, que tienen gran trascendencia biológica porque determinan las consecuencias que tendrá para el organismo la unión del anticuerpo con el antígeno, y para la destrucción o eliminación de éste<sup>82</sup>. Dichas funciones efectoras<sup>83</sup> incluyen la capacidad de activar el complemento; de unirse a la membrana de otras células como monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos y otras células, incluidos los propios linfocitos B y T a través de su fijación a receptores para el

Fc presentes en su membrana; de atravesar la placenta; y de unirse a ciertas proteínas microbianas.

Hay diferencias entre las distintas clases y subclases de las inmunoglobulinas en cuanto a su capacidad de presentar estas propiedades. La simple unión de un anticuerpo a su antígeno puede en muchos casos ser efectiva para neutralizar la patogenicidad de un germen o una toxina microbiana, pero en general resultaría poco eficaz para destruir a los gérmenes portadores del antígeno si dicha unión no provocara la activación del complemento, el cual desencadena potentes reacciones inflamatorias y determina la lisis del germen y su fagocitosis por las células fagocíticas. Además, el anticuerpo se une por su extremo Fc a la membrana de las células fagocíticas<sup>84</sup>, lo que promueve la endocitosis de la molécula antigénica y la eventual fagocitosis del germen sobre el que se encuentre el antígeno.

Las moléculas que promueven la fagocitosis de una partícula se denominan opsoninas. Los anticuerpos y ciertos fragmentos de componentes del complemento (C3b) son las opsoninas más potentes. Los anticuerpos fijadores de complemento (IgM, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub>) son opsonizantes de forma indirecta al estimular la producción de C3b. Además, su extremo Fc se une a receptores Fc de la membrana de las células fagocíticas por lo que son opsonizantes de forma directa como ocurre con la IgG. También los receptores Fc activan células NK que destruyen dianas cubiertas con anticuerpos<sup>85</sup>. Estos mecanismos efectores de los anticuerpos que sirven para provocar la destrucción de un germen son los mismos que usan los autoanticuerpos patogénicos para producir lesiones en las enfermedades autoinmunes<sup>86</sup>. Si el anticuerpo es capaz de unirse con alta afinidad a receptores Fc presentes en la membrana de los basófilos y mastocitos, como ocurre con la IgE, la unión con el antígeno de la IgE fijada sobre esas células causara su degranulación y la consiguiente reacción de hipersensibilidad inmediata.

Actualmente se conoce con gran detalle la estructura genética y proteica de los receptores Fc de la IgG (Fc $\gamma$ R)<sup>77</sup> y de la IgE (Fc $\epsilon$ R)<sup>87</sup>. Hay tres tipos de Fc $\gamma$ R (CD16, CD32, CD64) y dos tipos de Fc $\epsilon$ R, uno de alta afinidad (Fc $\epsilon$ RI), presente en los mastocitos y basófilos, y otro de baja afinidad (Fc $\epsilon$ RII o CD23) que se expresa en los linfocitos B y otras células. Los tres Fc $\gamma$ R y el Fc $\epsilon$ RI forman una familia molecular muy compleja con varias isoformas. Todos estos receptores se caracterizan porque son potentes moléculas transductoras de señales activadoras para las células que los expresan tras su unión con las inmunoglobulinas al unirse estas a su antígeno.

La IgG es la predominante en el suero y el espacio extravascular<sup>88</sup>. Difunde bien a través de las membranas y es la predominante en las secreciones internas (sinovial, pleural, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso), así como la única inmunoglobulina que atraviesa la placenta. Los anticuerpos IgG son los que predominan en la respuesta secundaria de anticuerpos. Hay cuatro subclases, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, e IgG<sub>4</sub>, cuyas proporciones en el suero son de 66%, 23%, 7% y 4%, respectivamente. Estas subclases difieren en el número de enlaces disulfuro de la zona bisagra que unen las dos cadenas H, el cual oscila desde 2 en la IgG<sub>1</sub>, hasta 15 en la IgG<sub>3</sub>, y en su grado de unión a los receptores Fc de la IgG. Todas ellas, excepto la IgG<sub>4</sub>, activan el complemento por la vía clásica cuando se unen al antígeno.

La IgA es la inmunoglobulina mayoritariamente producida por el tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)<sup>89</sup>, y la que predomina en las secreciones externas (calostro y leche, saliva, árbol traqueobronquial, secreciones digestivas y flujo vaginal)<sup>90</sup>. La IgA sérica es en gran parte monomérica, pero también puede ser dimérica o incluso polimérica. Su dimerización, al igual que la pentamerización de la IgM, se logra gracias a la cadena J<sup>91</sup>, un polipéptido de 137 aminoácidos con 8 cisteínas sintetizado por las propias células secretoras de anticuerpos, que forma enlaces disulfuro con la penúltima cisteína carboxiterminal de las cadenas  $\gamma$  y  $\alpha$ . La IgA dimérica de las secreciones con cadena J aparece unida a la pieza de transporte o componente secretor, una proteína de unos 80 kD. Esta proteína es en realidad la parte extracelular escindida por proteólisis de un receptor de membrana de gran afinidad por los extremos Fc de las inmunoglobulinas polimerizadas que contengan cadena J como la IgA e IgM.

Este receptor tiene un peso molecular de 100 kD, es sintetizado por las células epiteliales de los territorios mucosos y se expresa abundantemente en la membrana apical de las células epiteliales. Una vez que dicho receptor se ha unido a las inmunoglobulinas sintetizadas por las células B de la submucosa, el conjunto es endocitado y transportado dentro de la vesícula endocítica por el interior de la célula mediante transcitosis hasta alcanzar la membrana apical, momento en que se rompe el receptor, liberándose a la luz la inmunoglobulina unida al componente secretor. Este proceso ocurre especialmente con la IgA<sup>92</sup>.

Hay dos subclases de IgA, IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>. En el suero predomina la primera, mientras que en la IgA secretada se encuentran ambas subclases. La presencia del componente secretor en la IgA secretada le concede resistencia a las enzimas proteolíticas, lo que es ventajoso para actuar en las secreciones externas, donde protege a las mucosas frente a la adhesión de los gérmenes pa-

tógenos, actuando probablemente también como barrera química contra alérgenos alimentarios. La IgA puede activar el complemento por la vía alternativa.

Los anticuerpos IgM son los primeros en aparecer en la filogenia y en la ontogenia, así como los que se producen durante la respuesta primaria de anticuerpos. Constituye un pentámero de la unidad básica estructural de las inmunoglobulinas, por lo que es decavalente en cuanto a sitios de unión al antígeno, concediéndole gran eficacia como anticuerpo aglutinante de las partículas portadoras del antígeno como gérmenes o hematíes. Las aglutininas naturales, anticuerpos presentes en el suero sin mediar inmunización previa conocida, como las isoaglutininas contra los grupos sanguíneos, son de clase IgM. Su elevado peso molecular de 970 kD provoca que esta inmunoglobulina sea exclusivamente intravascular. Parte de la IgM humana puede ser hexamérica cuando no interviene la cadena J como en la IgA, en lugar de pentamérica<sup>91</sup>. Ambas isoformas son eficaces aglutininas y potentes activadoras del complemento cuando se unen al antígeno.

## 2.2 COMPLEMENTO

Se denomina complemento a un complejo sistema multiproteico con más de 30 componentes, en su mayoría proteínas plasmáticas, cuyas funciones principales son la defensa frente a la infección por microorganismos y la eliminación del torrente sanguíneo de los inmunocomplejos circulantes formados por la unión de antígenos y anticuerpos<sup>93</sup>.

El complemento es uno de los mecanismos efectores más importantes de la respuesta inmune natural. Cuando una partícula extraña o un microorganismo penetra en el organismo provoca la activación del complemento<sup>94</sup>. El resultado de su activación y posterior amplificación es que se depositan grandes cantidades de algunos componentes del complemento sobre las partículas responsables de la activación, lo que determina su destrucción por lisis si se trata de un organismo celular o su eliminación por las células del sistema fagocítico<sup>95</sup>. Dicha activación se puede conseguir por dos vías diferentes, denominadas clásica y alternativa<sup>96</sup>.

La vía clásica de activación se inicia generalmente por la formación de inmunocomplejos, mientras que la vía alternativa constituye una vía de activación independiente del reconocimiento del agente activador por anticuerpos, constituyendo un elemento de la inmunidad innata que no requiere el desarrollo de una respuesta específica. Ambas vías están organizadas de manera que

tras su activación funcionan como sistemas de amplificación en cascada (Ilustración 3). Su característica principal común es la formación de una enzima, la C3-convertasa, capaz de activar el C3, que es el componente mayoritario y más importante del sistema del complemento.

Un sistema efector tan potente como el complemento requiere una regulación precisa que evite una activación descontrolada que resulte perjudicial para el organismo<sup>97</sup>. Esta regulación garantiza la efectividad de la activación del complemento contra agentes extraños mientras protege a las células del huésped del daño accidental que tal activación podría provocar.

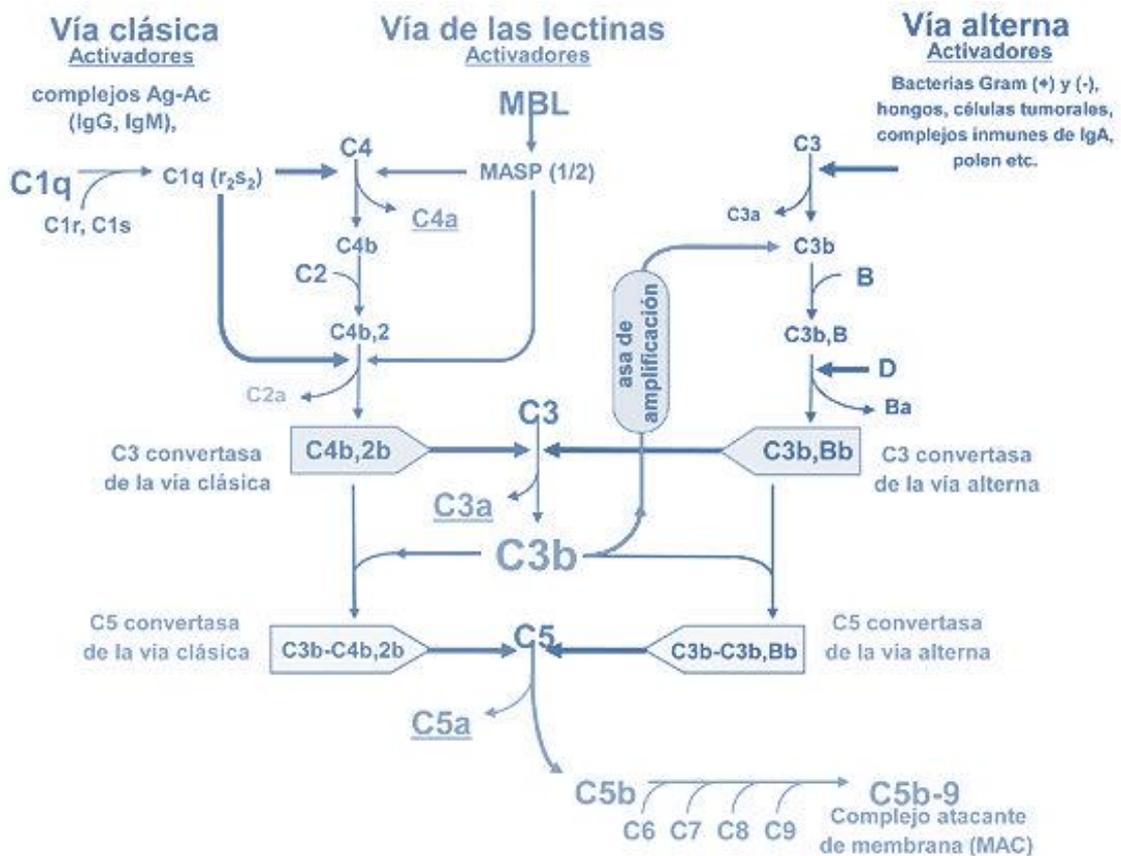


Ilustración 3: Vías de activación del complemento

Adaptado de "Trasplante al Día", Sociedad Española de Trasplante

La vía clásica la forman los componentes C1, C4, C2 y C3. El C1 es la molécula responsable de la activación de la vía clásica<sup>98</sup>. Depende de su interacción con los inmunocomplejos o agregados que contienen IgG o IgM. También puede activarse en ausencia de anticuerpos por muchos tipos de bacterias, virus y células infectadas por virus, lípido A, lipopolisacáridos y enzimas lisosomales. El C1 está compuesto por una molécula de unión, C1q, y las

proenzimas C1r y C1s. El C1q posee seis regiones globulares que interactúan con las moléculas de anticuerpo en los inmunocomplejos. De esta forma, el C1q reconoce antígenos densamente cargados de IgG y no es activado de forma inespecífica por la IgG monomérica circulante. El hecho fundamental en la activación del C1 es la conversión de las proenzimas C1r y C1s a proteasas activas. El C1 activado es capaz de activar al C4 y al C2 por proteólisis limitada. La molécula de C4 es activada liberando un pequeño fragmento denominado C4a, que es una de las anafilatoxinas del complemento. El fragmento C4b posee un grupo tioéster muy reactivo que le permite unirse de forma covalente a las moléculas de su entorno. Aunque el proceso de unión de C4 es muy ineficaz ya que solo el 5% del C4 disponible queda unido, éste es un paso de amplificación, pues cada molécula de C1s consigue dejar unidas más de 30 a 40 moléculas de C4b. Éste, a diferencia del C4 nativo, posee un sitio de unión para el C2. A su vez, C2 unido al C4b es escindido por el C1s a C2b y C2a, formándose la C3-convertasa de la vía clásica C4b-2a con el centro activo en C2a y con especificidad para C3. La C3-convertasa es una enzima muy lábil cuya actividad disminuye un 3% cada segundo, pero consigue activar numerosas moléculas de C3, liberando un péptido de 74 aminoácidos llamado C3a, que es otra potente anafilatoxina. Al igual que ocurre con C4b, el fragmento mayor C3b es capaz de unirse de forma covalente a las moléculas del entorno. Algunas moléculas de C3b se unen de modo covalente al C4b, unido a su vez al activador, formándose un complejo covalente activador-C3b-C4b-2a. Este complejo se denomina C5-convertasa. Los dímeros covalentes C4b-C3b poseen alta afinidad por C5. Tras la unión, la hidrólisis proteolítica de C5 por esta convertasa produce una nueva anafilatoxina C5a, de enorme potencia biológica, y un fragmento mayor C5b, que es el iniciador de la fase lítica del complemento.

La vía alternativa está formada por los componentes C3, factor B y factor D, y por las proteínas reguladoras factores H e I, junto con la properdina<sup>99</sup>. Esta vía constituye un sistema de reconocimiento de sustancias extrañas que no requiere anticuerpos. El proceso de activación se basa en las características estructurales especiales de C3. Entre los activadores típicos de la vía alternativa se incluyen bacterias, hongos, virus, células infectadas, algunas líneas celulares tumorales, hematíes de pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna, inmunocomplejos y polen. De forma natural, una pequeña cantidad de C3 hidroliza de manera espontánea su enlace tioéster sin necesidad de activación. Esto genera moléculas de C3 capaz de combinarse con el factor B, que así unido es reconocido y escindido por el factor D a Bb, produciéndose la C3-convertasa de iniciación con su centro catalítico en Bb. La formación de esta enzima es el comienzo de la activación de la vía alternativa. La C3-convertasa inicial es capaz de hidrolizar C3 a C3b, que se unirá de forma constante, aun-

que en muy baja cuantía, a toda célula, inmunocomplejo o partícula. Una vez fijado el C3b, se le unirá el factor B, que será nuevamente activado por el factor D a Bb, formándose una C3-convertasa más estable capaz de producir gran número de moléculas de C3b. La properdina tiene capacidad de unirse a esta enzima, formándose una convertasa con mayor vida media. Como el producto de esta enzima es de nuevo C3b, se van a formar nuevas moléculas de enzima al asociarse a nuevas moléculas de factor B. El resultado es una enorme ampliación de la activación, depositándose gran número de moléculas de C3b. Este se une indiscriminadamente a todas las partículas y células, incluyendo las propias del huésped. Sin embargo, la vía alternativa se activa de forma específica sobre determinados sustratos. Esto se consigue gracias a un conjunto de proteínas reguladoras que inactivan selectivamente el C3b sobre las células propias, pero no sobre los gérmenes patógenos u otros activadores. Son sustancias activadoras de la vía alternativa todas aquellas que impiden que las proteínas reguladoras actúen sobre el C3b fijado. La activación de la vía alternativa produce la unión covalente de gran cantidad de moléculas de C3b sobre el activador, lo que permite su fagocitosis y el inicio de la activación de la fase lítica.

El complemento no es estrictamente un sistema que deba ser activado, pues ambas vías están activadas constantemente *in vivo* aunque con baja intensidad. Los activadores aceleran o disparan la activación, superando el riguroso control del conjunto de las proteínas reguladoras presentes en plasma y en la membrana de diversos tipos celulares<sup>100</sup>. La activación del complejo C1 se halla bajo el control del C1-inhibidor (C1-Inh), que interacciona reversiblemente con el C1 no activado y así impide la activación espontánea de la proenzima C1r. Además, el C1-Inh se une de forma covalente con las formas proteicas activadas de C1r y C1s, bloqueando su centro activo y formando complejos C1-Inh-C1r-C1s-C1-Inh que se separan de C1q. La determinación clínica de estos complejos es un indicador útil de la activación de la vía clásica. El efecto inhibitorio del C1-Inh es habitualmente superado por los activadores de la vía clásica y, en particular, por los inmunocomplejos. Las actividades mediadoras de procesos inflamatorios de las anafilatoxinas C3a, C4a y C5a son rápidamente controladas en sangre por la carboxipeptidasa N, que elimina la arginina carboxiterminal de estos fragmentos<sup>101</sup>. Esta arginina es esencial para la actividad de C3a y C4a, pero la C5a, exenta de arginina terminal, mantiene todavía una considerable actividad quimiotáctica. El DAF (CD55) y la MCP (CD46) son dos proteínas que actúan como reguladores intrínsecos de la activación del complemento sobre la propia célula en la que están presentes, evitando la formación de la C3-convertasa sobre la membrana<sup>102</sup>. Su importancia como proteí-

nas "protectoras" se refleja en que ambas se expresan sobre la mayoría de las células del organismo.

La presencia de MCP y DAF explica por qué las células propias no son dañadas durante la activación continua de bajo nivel de la vía alternativa. En partículas o microorganismos extraños que no poseen estos reguladores la vía alternativa es amplificada rápidamente y el agente extraño es eliminado.

La fase lítica comienza con la rotura del C5, catalizada por la C5-convertasa<sup>103</sup>, en los fragmentos C5a y C5b, siendo este último el núcleo del ensamblaje del complejo de ataque a la membrana (MAC). El C5b asociado a la membrana a través de los dímeros C3b-C3b o C4b-C3b, actúa de receptor de C6. Una vez incorporado éste, el complejo C5b-C6 permanece unido débilmente a C3b hasta el momento en que se incorpora C7. En este momento el complejo trimolecular C5b-C6-C7 se vuelve anfifílico, generándose un sitio hidrófobo en la molécula de C7 que le permite anclarse fuertemente en la bicapa lipídica formando oligómeros. La siguiente molécula que se incorpora al MAC es C8. El complejo C5b-C6-C7-C8 tiende a agregarse dentro de la membrana formando estructuras que la debilitan y la vuelven permeable a solutos de pequeño tamaño y al agua. Si el número de agregados de este complejo es grande puede provocar la lisis celular. Este complejo es un receptor para C9, que determina su inserción en membrana, su polimerización, y la agregación de nuevos complejos que amplifican las lesiones que se producen. El resultado final es la formación de un canal o poro transmembrana que permite el libre intercambio de agua y provoca la lisis de la célula afectada<sup>104</sup>.

El tamaño de los poros formados es muy heterogéneo dependiendo de la densidad del MAC, del tipo de célula y de la disponibilidad de C9. El ensamblaje del MAC se halla bajo el control de inhibidores plasmáticos y de inhibidores presentes en las membranas. Los inhibidores solubles, como la proteína S, uniéndose a los complejos C5b-C6-C7, evitan la lisis accidental de células próximas al lugar de activación. Además, impiden un consumo inútil de C9. Los inhibidores de membrana, como el factor de restricción homólogo (HRF o C8bp) o la protectina (CD59)<sup>102</sup>, protegen a la célula sobre la que se encuentran al interferir en las inserciones de C8 y de C9. Ambos inhibidores de membrana protegen de la lisis solo si las proteínas del complemento que está activándose pertenecen a la misma especie, lo que se denomina fenómeno de la restricción homóloga.

Los inmunocomplejos precipitan *in vitro*, pero *in vivo* el complemento impide que esto ocurra<sup>105</sup>. La incorporación de componentes del complemento impide la formación de agregados grandes e insolubles en un proceso denominado inhibición de la inmunoprecipitación. Si por alguna razón patológica los

inmunocomplejos llegan a precipitar, en particular en el riñón o en los pulmones, el complemento es capaz de solubilizar los complejos precipitados, disgregándolos y produciendo una intensa reacción inflamatoria.

El componente fundamental responsable de estos fenómenos es el C3b que, al unirse de forma covalente a los anticuerpos que forman el inmunocomplejo, los mantiene solubles. El C3b sobre los inmunocomplejos es reconocido por el receptor CR1 presente en la superficie de varios tipos celulares sanguíneos, fundamentalmente hematíes y PMN. La captación de inmunocomplejos mediada por CR1 es llevada a cabo principalmente por los hematíes, debido a que el CR1 sobre estas células representa más del 90% del CR1 presente en las células sanguíneas. Además, el CR1 se distribuye sobre la membrana del hematíe en agrupaciones, lo que facilita su interacción con el C3b, y no en forma de monómeros dispersos como ocurre sobre los PMN.

Estudios *in vivo* han mostrado que durante el paso de los hematíes por el hígado o el bazo, los inmunocomplejos en su superficie son transferidos específicamente a células del sistema mononuclear fagocítico en estos órganos, que se encargan de su eliminación. La importancia del sistema del complemento en la eliminación de los inmunocomplejos circulantes se refleja en la elevada frecuencia con que el déficit de componentes iniciales del complemento se asocia a enfermedades debidas o mediadas por inmunocomplejos circulantes. La presencia de un complemento intacto y funcional es de hecho un sistema de protección frente a posibles procesos autoinmunes.

## 2.3 INTERLEUCINAS

Cuando los linfocitos T y los monocitos y macrófagos son estimulados por un antígeno producen una amplia variedad de mediadores proteicos solubles que actúan dirigiendo su propia actividad celular así como la de otras células con las que entran en contacto. Tales mediadores resultan esenciales para la regulación de la amplitud, la duración y el tipo de respuesta inmune, así como la intensidad y la naturaleza de la inflamación local y sistémica que dicha respuesta provoca. Estas moléculas, que pueden ser producidas por muchos tipos celulares, además de por linfocitos, monocitos-macrófagos y leucocitos, se denominan de forma genérica citocinas, mediadores proteicos producidos por células que regulan la actividad de éstas y otras células<sup>106</sup>.

Las citocinas pueden considerarse como un tipo de hormona polipeptídica<sup>107</sup> con un peso molecular bajo (inferior a 80 kD) que en general actúan de

forma autocrina o paracrina, aunque a veces pueden circular por la sangre y actuar de forma endocrina como IL-6 o el propio  $\text{TNF}\alpha$ . Su producción ocurre de forma transitoria durante la activación celular en respuesta a un estímulo. Se unen a receptores específicos de membrana cuya expresión suele ser también un fenómeno transitorio durante la activación celular en respuesta al estímulo<sup>108</sup>. Son pleiotrópicas, pues ejercen múltiples efectos al actuar sobre diversos tipos celulares en los que inducen distintos efectos<sup>109</sup>.

Entre las citocinas proinflamatorias se encuentran IL-1, IL-6,  $\text{TNF}\alpha$  e IL-8. Comparten muchos de sus múltiples efectos y una puede inducir la producción de las otras en determinadas células, produciéndose de forma coordinada por los monocitos-macrófagos en respuesta a diversos estímulos como antígenos, lectinas, endotoxinas, inmunocomplejos y muramil-dipéptidos. También son producidas por otros tipos celulares como las células endoteliales y los fibroblastos y, en el caso de IL-6 y el  $\text{TNF}\beta$ , también por los linfocitos T tras su activación antigénica.

Las múltiples actividades de estas citocinas pueden dividirse en mediación de la inflamación local y sistémica, activación linfocitaria, y promoción de la hematopoyesis, mediante la producción de factores estimulantes de colonias hematopoyéticas o bien al potenciar la respuesta de dichos progenitores a la IL-3. El  $\text{TNF}\alpha$  es el principal mediador inflamatorio responsable del shock endotóxico y del shock tóxico causado por exotoxinas. En cuanto a los efectos de estas citocinas sobre la activación linfocitaria, tanto la IL-1 como el  $\text{TNF}\alpha$  y la IL-6 actúan proporcionando señales secundarias para promover la proliferación de los linfocitos T en respuesta al estímulo antigénico dependiente de IL-2. La IL-6 promueve también la diferenciación de los linfocitos T citotóxicos a partir tanto de timocitos como de linfocitos T maduros. El  $\text{TNF}\alpha$  y el  $\text{TNF}\beta$  inducen la proliferación de los linfocitos B activados, y la IL-6 promueve la diferenciación de los linfocitos B activados hacia células secretoras de anticuerpos.

Las células plasmáticas del mieloma utilizan la IL-6 como factor de crecimiento autocrino. Una excesiva producción de IL-6 está implicada en la patogenia de la enfermedad de Castleman y en enfermedades autoinmunes con gran producción de gammaglobulinas como la AR.

Por su parte, IL-8 forma parte de una familia de quimiocinas producida por una gran variedad de células en respuesta a estímulos exógenos como endotoxinas o virus, o endógenos como las citocinas IL-1 y  $\text{TNF}\alpha$ , y se caracteriza por tener un efecto quimiotáctico sobre distintos leucocitos y otras células como fibroblastos, en las que determinan un incremento de su adhesión a las células endoteliales y su activación. Tienen un bajo peso molecular y se divide en dos

subfamilias,  $\alpha$  y  $\beta$ , basándose en criterios estructurales y en la localización cromosómica (cromosomas 4 y 17 respectivamente). IL-8 forma parte de la subfamilia  $\alpha$  y es producida por monocitos-macrófagos, neutrófilos, fibroblastos, células endoteliales y linfocitos T, y es un potente factor quimiotáctico para los neutrófilos, basófilos y una pequeña población de linfocitos T CD4+ y CD8+. En los neutrófilos causa su activación y aumenta la expresión de integrinas  $\beta_2$ , lo que determina su adhesión al endotelio facilitando su diapédesis y extravasación. No provoca fiebre ni induce reactantes de fase aguda, aunque sí provoca neutrofilia. Se detecta en la circulación de pacientes con enfermedades inflamatorias y traumatismos extensos en los focos inflamatorios de diversas enfermedades, como en la sinovial de la AR y las lesiones psoriásicas.

Entre las citocinas antiinflamatorias destaca IL-10, con potentes propiedades inhibitoras sobre unas células y estimulantes sobre otras. Es producida por los linfocitos T activados, así como por otros muchos tipos celulares como células B activadas y macrófagos. Es una de las citocinas producidas por clones de células T CD4+ y de tipo Th2. Inhibe la proliferación de las células responsables de la respuesta inmunológica de tipo Th1 y de su secreción de citocinas, así como la secreción procedente de células NK, la secreción de citocinas proinflamatorias como IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8 por los monocitos-macrófagos, y la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II por los monocitos-macrófagos y su función de presentación antigénica. Sin embargo, ejerce efectos estimulantes sobre los linfocitos B, promoviendo su proliferación y maduración hacia células secretoras de inmunoglobulinas y también puede tener efectos promotores del crecimiento de los mastocitos.

Por último, IL-12 es una citocina heterodimérica formada por la unión covalente de dos cadenas de peso molecular 40 y 35 kD producida sobre todo por monocitos-macrófagos en respuesta a bacterias, productos bacterianos o parásitos, aunque también puede ser producida por linfocitos B activados. Tiene efectos sobre los linfocitos T y células NK, promoviendo la activación, la proliferación y la secreción de citocinas, particularmente interferón  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Es una citocina imprescindible para que se genere una respuesta inmunológica de tipo Th1. Por el contrario, la IL-10 y la IL-4 producidas por las células Th2 ejercen efectos negativos sobre su producción.

## 2.4 PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTestinal

En la luz intestinal existe un complejo y delicado ecosistema en el que coexisten un número colosal de bacterias comensales y simbióticas de en torno a

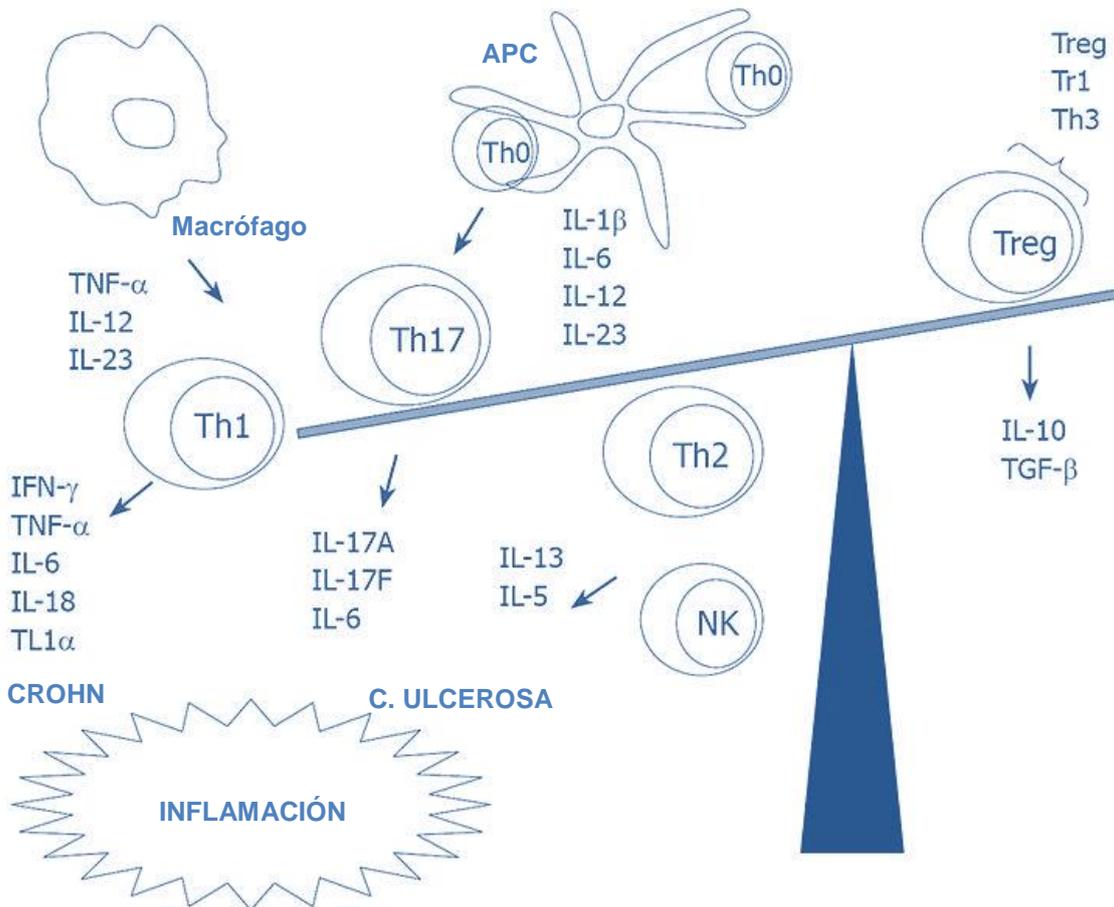
cien billones de unidades formadoras de colonias en cada mililitro de heces<sup>110</sup>. Esta flora es enormemente diversa y comparte la luz junto con otros elementos extraños como elementos de la dieta y aditivos de la misma<sup>111</sup>. La relación entre ellos y las células intestinales del huésped es compleja y está intensamente regulada<sup>112</sup>.

El contacto con el medio desde el mismo canal del parto durante el nacimiento provoca una colonización inicial del intestino con bacterias vaginales y fecales<sup>113</sup> particular para cada individuo y que permanecerá muy constante a lo largo de la vida. Además, existe una circulación entero-mamaria de bacterias simbióticas viables en el interior de macrófagos especialmente dirigidos hacia los conductos galactóforos que podría ser muy relevante en el papel de lactancia materna en la constitución de la microbiota<sup>114</sup>.

La flora se beneficia de un ecosistema estable con temperatura sin variaciones significativas y una corriente continua de nutrientes en la luz intestinal que cubre las necesidades metabólicas. También el huésped se beneficia de la capacidad metabólica de la microbiota intestinal para sintetizar sustancias como vitaminas K y ácido fólico, y de la síntesis de ácidos grasos de cadena corta como el ácido butírico a partir de desechos de la dieta no digeridos o absorbidos, lo que desde el punto de vista metabólico y antiinflamatorio es crucial para el trofismo de los colonocitos. Entre la microbiota colónica y los restos de alimentos no absorbidos, que pueden alcanzar hasta un 20% del peso de la dieta ingerida, existe una importante actividad metabólica con producción de sustratos que no son aportados en la alimentación y que ejercen un papel fisiológico crucial.

La fermentación de los carbohidratos no absorbidos produce, además de gases como CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> que colaboran en la motilidad colónica, ácidos grasos de cadena corta como el acético, propiónico y el fundamental butírico, y ácido láctico. Estos ejercen numerosas actividades metabólicas tales como detoxificación de xenobióticos, acetilación de histonas, síntesis de moco y absorción de sodio. Además, en la EII la síntesis de ácidos grasos de cadena corta mediante fermentación de los carbohidratos de la dieta<sup>115,116</sup>, los prebióticos, disminuye el pH intraluminal<sup>117</sup>. Este cambio en el ecosistema facilita el crecimiento de lactobacilos, bifidobacterias, estreptococos, *E. coli*, y bacterias no patógenas incluidas en el grupo de los denominados probióticos, hechos demostrados también incluso en individuos sanos<sup>118</sup>. Estos carbohidratos han mostrado claramente su efecto antiinflamatorio sobre en la EC colónica<sup>119</sup> y especialmente en la prevención de la reservoritis<sup>120</sup>.

Los ácidos grasos de cadena corta ejercen un papel antiinflamatorio por sí mismos mediante la inactivación del factor de transcripción NFκB<sup>121</sup>, lo que disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias como el TNFα, la IL-6 y la IL-1β. Además, la microflora puede ejercer cambios favorables sobre ácidos grasos de la dieta no absorbidos, cuya cantidad puede alcanzar los 8 gramos al día en condiciones normales. De esta forma, el ácido linoleico con potencial poder proinflamatorio por ser precursor de leucotrienos y prostaglandinas de la serie 2 y tromboxanos de la serie 4, es transformado por estas bacterias en ácido linoleico conjugado<sup>122</sup>. Este compuesto tiene acción antiinflamatoria a través de la activación de PPARγ (*peroxisome proliferator activated receptor*) que también inhibe la activación del NFκB.



**Ilustración 4: Perfil de citocinas en la EII**  
 Adaptado de *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4280-8.

Por último, la colonización de la flora comensal y simbiótica ocupa nichos ecológicos que en otra situación ocuparían procariotas patógenas, manteniendo así la integridad de la barrera mucosa intestinal y su delicada homeostasis

inmunológica<sup>123</sup>. De hecho, en los animales de experimentación libres de gérmenes comensales se producen alteraciones histológicas y funcionales<sup>124</sup>, menor infiltrado leucocitario de la lámina propia y menor número y densidad de las placas de Peyer<sup>125</sup>, lo que compromete la capacidad funcional de un MALT funcionalmente deficitario<sup>126</sup>.

Paralelamente, el huésped desarrolla mecanismos específicos de reconocimiento que se activan mediante moléculas propias de las bacterias, hongos y virus como los lipopolisacáridos, los peptidoglicanos, el muramil-dipéptido y las flagelinas<sup>127</sup>. Entre los mecanismos de reconocimiento se cuentan los TLR (*toll-like receptors*) en la membrana celular y los NOD<sup>128</sup> intracelulares, necesarios para el inicio de la respuesta inmune innata. Los TLR<sup>129</sup> también actúan como el nexo entre el sistema inmune innato y el adaptativo mediante respuestas diferenciadas de las células dendríticas, las principales células presentadoras de antígeno<sup>130</sup>. A pesar de que la activación de estos receptores conduce a la liberación de citocinas<sup>131</sup>, los antígenos bacterianos no solo son bien tolerados por el MALT, sino que son esenciales para adaptarlo a las bacterias saprófitas, comensales y simbióticas y generar tolerancia a ellas<sup>132</sup>.

El mecanismo por el que se adquiere y se mantiene esta tolerancia inmunológica en el tubo digestivo es muy complejo<sup>133</sup>. Algunas bacterias pueden modificar los antígenos específicos de los TLR de forma que no sean reconocidos como inmunogénicos<sup>134</sup>. Una característica importante de las bacterias comensales es su incapacidad para atravesar la barrera mucosa intestinal para evitar la rápida inducción de fagocitosis que provocaría esta invasión en el sistema inmune innato.

Mientras que un individuo sano el sistema inmune parece tolerar e ignorar la presencia en la luz de la flora intestinal, en individuos con fallos en la tolerancia inmunológica se pueden producir fenómenos patogénicos que parecen estar en la base de los acontecimientos que sustentan la EII. En individuos genéticamente predispuestos el sistema inmune adaptativo reacciona de forma exagerada frente a las bacterias no patógenas del intestino<sup>135</sup>. La mayor intensidad de zonas intestinales afectadas en la EII ocurre en el íleon distal y en el colon, los segmentos con mayor densidad bacteriana. Los antibióticos de amplio espectro modulan la inflamación intestinal, especialmente en el íleon<sup>136</sup>. También la derivación quirúrgica del contenido intestinal<sup>137</sup> disminuye la probabilidad de recurrencia de la EC en el intestino distal excluido del tránsito<sup>138</sup>. Por último, los ratones *knock-out* para IL-10<sup>139</sup> y también las ratas transgénicas para HLA-B27<sup>140</sup> en condiciones libres de gérmenes, no desarrollan inflamación patológica.

En los pacientes con EII se ha observado la existencia de trastornos en la composición cuantitativa y cualitativa de la microbiota, lo que se denomina disbiosis, junto con cambio en los mecanismos regulatorios inmunológicos innatos y adquiridos<sup>141</sup>. De esta forma, la presencia de *Bacteroides spp.*, *Escherichia coli* y *Enterobacterium spp.* y otras enterobacterias adheridas a la mucosa del intestino o incluso intramucosas, en lugar de lactobacilos y bifidobacterias, es mayor en pacientes con EC que en controles sanos<sup>142</sup>. La disbiosis y el sobrecrecimiento bacteriano se asocian al desarrollo de inflamación en el reservorio ileoanal tras la colectomía en la CU.

No obstante, esta reactividad exacerbada del sistema inmune adaptativo y la pérdida de tolerancia no se ha podido asociar a un defecto primario en la función linfocitaria. En realidad, esta excesiva actividad frente a antígenos no patógenos parece deberse a variantes o polimorfismos genéticos en los sistemas de reconocimiento TLR y NOD<sup>143</sup> en el sistema inmune innato, y no tanto a la función de las células presentadoras de antígeno<sup>144</sup>. Estas alteraciones, especialmente las que ocurren en NOD2<sup>145</sup>, se asocian también en la EC a un mayor déficit en la síntesis de sustancias bactericidas como las defensinas<sup>146</sup>.

Los hallazgos microbiológicos que relacionan la disbiosis o el exceso de bacterias adheridas a la mucosa del intestino con la EII están relacionados con el colon. De hecho, el intestino delgado y el colon son órganos con una diferente relación entre el sistema inmune y la microbiota. Mientras en el colon, la flora comensal y simbiótica juega el papel fundamental fisiológico descrito, en el intestino delgado se despliegan diversos mecanismos físicos y químicos para eliminar o seleccionar la carga antigénica. La válvula ileocecal es el mecanismo anatómico que separa ambos escenarios, protegiendo al íleon de la alta carga bacteriana cecal, tan innecesaria y potencialmente perjudicial en la luz del íleon como idónea en la luz del colon. Los polimorfismos que afectan a NOD2 se asocian con el fenotipo estenosante de la EC ileal y un aumento significativo de la carga bacteriana intraluminal. Las diferencias entre el intestino delgado y el colon en relación al ecosistema intestinal y los mecanismos por los que se produce inflamación pueden ser distintas.

El intestino delgado es un órgano que pretende que su luz contenga el menor número de bacterias, mientras el colon necesita las bacterias para su normal fisiología y mantenerse libre de inflamación.

### 3. INFLIXIMAB Y ENFERMEDAD DE CROHN

El tratamiento de los pacientes con EC ha cambiado sustancialmente en las dos décadas pasadas en términos de eficacia, de seguridad y de mejora en la calidad de vida. La introducción en el arsenal terapéutico para EC del IFX, el primer agente biológico para este escenario clínico en 1998, junto con la aparición posterior de otros agentes biológicos para la misma diana terapéutica, han supuesto hitos en el manejo terapéutico de la EII. El conocimiento acumulado sobre este eficaz grupo terapéutico avanza continuamente y ha cambiado nuestra capacidad de control sobre el deletéreo curso natural de la enfermedad.

La EC es una situación inflamatoria de intensidad oscilante, aunque crónica, que puede prolongarse toda la vida, y que afecta de forma preferente al tracto gastrointestinal. Aunque la etiología inicial y la fisiopatología permanecen sin aclarar completamente, parece ser el resultado de una disfunción en la estimulación inmune que conlleva una pérdida de la tolerancia esperable a la microflora saprófita intestinal en individuos particularmente susceptibles desde el punto de vista genético. No obstante, se desconoce qué gatillos ambientales inician dicha pérdida de tolerancia en los mencionados individuos predispuestos.

Desde el punto de vista clínico se caracteriza por crisis recurrentes, denominados comúnmente "brotos", que alternan con periodos de inactividad pero no desaparición o curación de la enfermedad, denominada comúnmente "remisión". Gran parte del conocimiento sobre la historia natural está basada en estudios poblacionales. Un gran estudio multicéntrico de Munkholm en Escandinavia puso en evidencia que un año después del diagnóstico de la EC, el 55% de pacientes se encontraban en remisión, el 15% de los pacientes tenían enfermedad leve y alrededor del 30% de los pacientes tenían enfermedad moderada a grave<sup>147</sup>.

Además, la EC tiene una afectación inflamación transmural en la pared gastrointestinal, lo que puede provocar la aparición de complicaciones graves como formación de abscesos, perforación, estenosis con obstrucción del tránsito y, por todo ello, una significativa merma en la calidad de vida. Adicionalmente a este escenario clínico de pacientes afectados desde edad joven por una enfermedad crónica incurable de evolución insidiosa, errática e impredecible se une el hecho de que más del 80% de todos los pacientes con afectación ileal requerirán cirugía relacionada con la enfermedad a lo largo de la vida<sup>148</sup>.

Por todo ello, herramientas terapéuticas eficaces en la dirección del cambio de la evolución natural de la EC, como los fármacos biológicos, son de utilidad incuestionable con independencia de las tasas de respuesta y remisión conseguidas en los ensayos clínicos pivotaes que han permitido su aprobación por las agencias evaluadoras para las indicaciones aprobadas de prescripción, y en los resultados logrados en las series de práctica clínica comunicadas y publicadas posteriormente. El empleo sistemático del IFX y del resto de biológicos ha permitido diseñar guías de recomendación avanzadas disponibles tanto en Europa (*ECCO Consensus Crohn Disease Guidelines: Current Management*) como en Estados Unidos (*AGA Guidelines in fistulizing perianal disease*)<sup>149,150</sup>.

IFX (Remicade<sup>®</sup>, Remsima<sup>®</sup>, Inflectra<sup>®</sup>) es un anticuerpo monoclonal de tipo IgG1 compuesto aproximadamente de un 75% de peso molecular derivado de secuencia proteica humana y un 25% de secuencia murina, con una alta especificidad y afinidad por el TNF $\alpha$ . Además de indicaciones en Reumatología y Dermatología, está disponible para el tratamiento de pacientes adultos y pediátricos de EC luminal con actividad inflamatoria moderada a grave, y EC fistulizante que hayan respondido inadecuadamente al tratamiento convencional para la mismo con antibioterapia e inmunosupresión de primer nivel.

El TNF $\alpha$  que bloquea el IFX tiene diversas acciones biológicas implicadas en la etiopatogenia de la EII, al menos en las fases iniciales desde el punto de vista inmunológico de su evolución. Existe numerosa evidencia científica de su papel crucial en la EC. Por ejemplo, los niveles fecales de TNF $\alpha$  están significativamente elevados y se relacionan de forma directa con la intensidad inflamatoria de la enfermedad.

IFX neutraliza la actividad del TNF $\alpha$  mediante el bloqueo de los homotrímeros solubles en sangre además de la fijación a sus receptores en la membrana celular, aunque su mecanismo de acción más probable implica también la destrucción de células efectoras activas mediante la promoción de la apoptosis de las mismas<sup>151</sup>. El tratamiento con IFX reduce notablemente la actividad endoscópica, denominada recientemente "curación mucosa", y evaluada como objetivo terapéutico más relevante que la remisión clínica o el control sin empleo de esteroides. También mejora la actividad histológica en la afectación ileocolónica por EC. El régimen de inducción convencional es de 0, 2 y 6 semanas y el de mantenimiento de cada 8 semanas<sup>152,153</sup>.

### 3.1 PATRÓN INFLAMATORIO

El estudio de Targan<sup>154</sup> publicado en 1997 demostró la utilidad de IFX en EC. Constituyó un ensayo clínico multicéntrico doble ciego controlado con placebo en el que pacientes con EC luminal moderada a grave recibieron una única dosis de IFX endovenosa de 5, 10 o 20 mg/kg o placebo. El objetivo primario que se evaluó fue la respuesta clínica a las 4 semanas de la infusión, definiéndose ésta como una reducción del índice de actividad de la EC, medido mediante la puntuación CDAI, de 70 puntos o más. Los resultados demostraron que aunque todas las dosis se asociaron con una significativa mejoría clínica, la dosis de 5 mg/kg fue la más eficaz con un 81% frente al 17% de los que recibieron placebo ( $p < 0,001$ ). Además, las tasas de remisión definidas como un valor del CDAI  $< 150$  puntos fueron del 33% frente al 4% en el brazo placebo ( $p < 0,005$ ).

El beneficio del tratamiento de mantenimiento con IFX fue evaluado en el ensayo clínico ACCENT I (*A Crohn's disease clinical trial evaluating infliximab in a new long-term treatment regimen*)<sup>155</sup>. Los pacientes recibieron inicialmente IFX en dosis de 5 mg/kg en semana 0, y fue evaluada la presencia de respuesta medida con una reducción de 70 puntos en el CDAI en la semana 2. En caso de presentar respuesta fueron posteriormente aleatorizados en tres brazos de estudio para recibir IFX a dosis de 5 mg/kg, de 10 mg/kg o placebo a las semanas 2, 6 y posteriormente cada 8 semanas hasta la semana 54 de seguimiento, simulando el régimen de inducción y mantenimiento estándar.

Al finalizar el estudio, el 14% de los pacientes en el brazo de placebo estaba en remisión frente al 28% en el grupo de IFX 5 mg/kg, y el 38% en el grupo de IFX 10 mg/kg. Las diferencias de eficacia entre el placebo y las dos cohortes de IFX fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,007$  y  $p < 0,001$ , respectivamente). Sin embargo, no hubo diferencia significativa en las tasas de remisión entre los dos grupos de IFX. Este estudio demostró que aquellos pacientes que respondían a una dosis inicial de 5 mg/kg de IFX tenían más probabilidades de alcanzar y mantener la remisión.

### 3.2 PATRÓN FISTULIZANTE

El tratamiento de las fístulas perianales asociadas a EC depende de su localización, complejidad o gravedad, además de la historia quirúrgica previa. La mayoría de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos han tenido fístu-

las perianales en relación a su EC<sup>156</sup>. De hecho, en el ensayo inicial de inducción con IFX en enfermedad fistulizante, hasta el 90% de los pacientes tenían fístulas perianales<sup>157</sup>.

Estudios controlados han demostrado que una inducción convencional con IFX a dosis de 5 mg/kg administrado en 3 dosis en el régimen de inducción estándar a las 0, 2, y 6 semanas es efectivo en la reducción del número de fístulas con débito o activas en pacientes con EC, e incluso en el cierre de todas ellas. El tratamiento de mantenimiento con 5 mg/kg cada 8 semanas consigue disminuir o retrasar la pérdida de respuesta<sup>158</sup>.

Existen dos ensayos multicéntricos doble ciego y controlados con placebo con el objetivo primario definido en el control de la EC fistulizante tratada con IFX<sup>159</sup>. El estudio inicial sobre fístulas con un anticuerpo frente al TNF $\alpha$  evaluó los efectos a corto plazo de IFX sobre el débito de las fístulas. Se aleatorizaron un total de 94 pacientes en tres brazos de estudio para recibir IFX a dosis de 5 mg/kg, de 10 mg/kg o placebo, administrando las infusiones a las 0, 2 y 6 semanas. El objetivo primario fue alcanzar un 50% de reducción en el número de fístulas con débito activo. Una fístula fue considerada con actividad si se podía identificar material purulento con solo una suave presión sobre el trayecto de la misma. Los resultados mostraron una tasa de respuesta del 68% en el brazo de 5 mg/kg de IFX comparado con sólo el 26% en el brazo placebo. En el 55% de los pacientes que recibieron IFX 5 mg/kg se evidenció un cierre de la totalidad de las fístulas inicialmente identificadas inicialmente, aunque presentaban una alta probabilidad de reactivación tras la finalización de la inducción convencional con el biológico.

Este primer estudio llevó al posterior ensayo ACCENT II (*A Crohn's disease clinical trial evaluating infliximab in a new long-term treatment regimen in patients with fistulizing Crohn's disease II*)<sup>160</sup> que evaluó si la interrupción del débito procedente de las fístulas podría persistir en el largo plazo administrando IFX cada 8 semanas como tratamiento de mantenimiento. Los pacientes que tenían fístulas activas y respondieron favorablemente a las tres dosis iniciales en las semanas 0, 2, y 6 se aleatorizaron para recibir IFX o placebo cada 8 semanas. Después de 54 semanas de seguimiento, el 36% de los pacientes en el brazo de IFX mantuvo el cierre completo de las fístulas frente al 19% en el brazo placebo (p 0,009).

Desafortunadamente, no hay ensayos que evalúen la eficacia de diferentes tratamientos en el manejo de la EC fistulosa. Además, tampoco hay estudios que comparen la eficacia del tratamiento quirúrgico aislado frente a la combinación de cirugía y tratamiento médico convencional con antibióticos e

IMM. Sin embargo, sí está publicado el resultado de un estudio de Regueiro con 32 pacientes con EC fistulizante perianal que evaluó la eficacia de IFX en monoterapia frente a IFX coadyuvante a la colocación de setones por cirugía<sup>161</sup>. La respuesta se definió como el cierre completo y la interrupción del débito de la fístula. Los pacientes examinados quirúrgicamente bajo anestesia y con colocación de setones previamente a recibir IFX tuvieron una respuesta inicial del 100% frente al 82% de los pacientes que recibieron sólo IFX. Por otro lado, los pacientes que en tratamiento combinado quirúrgico-biológico también presentaron una menor tasa de recurrencia del 44% y más tardíamente de 13,5 meses frente al grupo de monoterapia con IFX, con recurrencia del 79% y tan precozmente como a los 3,6 meses.

Desde los ensayos iniciales descritos previamente con IFX, hace quince años, se ha desarrollado más en profundidad la estrategia terapéutica de abordaje para la EC fistulizante. La evidencia actual indica que la mayoría de los pacientes con enfermedad fistulosa precisan tratamiento de mantenimiento y no episódico porque, aunque la inducción con anticuerpos frente al TNF $\alpha$  logre la interrupción del débito de las fístulas, la reaparición del drenaje es la norma al cesar el tratamiento.

Después de un año de mantenimiento con IFX la inflamación puede desaparecer pero el cierre completo o la desaparición de los trayectos fistulosos es excepcional, como suele evidenciarse por resonancia magnética nuclear (RMN)<sup>162</sup> o ultrasonografía endoscópica (USE)<sup>163</sup>, persistiendo el tejido fibroso que sustenta el trayecto. Existen estudios retrospectivos y series prospectivas, aunque de pequeño tamaño, que han demostrado que el manejo puede ser optimizado mediante algún estudio de imagen como los descritos que sirva de guía para la terapia combinada médica y quirúrgica de estos pacientes.

### 3.3 AUSENCIA DE RESPUESTA A INFLIXIMAB

IFX es un agente eficaz y la mayoría de los pacientes responden inicialmente al tratamiento. Sin embargo, hay subgrupos de pacientes con menor probabilidad de respuesta inicial a un biológico, lo que se denomina fallo primario. Diversos factores predictores se han asociado con este fallo primario al biológico anti-TNF $\alpha$ . Los pacientes fumadores tienen menores probabilidades de respuesta a IFX como se demostró en el estudio retrospectivo de Parsi<sup>164</sup>, con una notable disminución en la probabilidad de respuesta del 22% frente al 73% ( $p < 0,001$ ) y también respuestas de menor duración. El 6% de los pacientes fu-

madores tuvieron una respuesta prolongada mayor de 2 meses frente al 59% de los no fumadores ( $p < 0,001$ ).

No hay datos predictivos sobre sexo o raza, pero la edad sí parece influir en la eficacia del tratamiento, como se publicó por Vermeire<sup>165</sup>. Los pacientes de mayor edad tienen peor respuesta a IFX con un *odds ratio* de 0,791 (IC 95% 0,0947-0,995,  $p = 0,018$ ). En el mismo trabajo se evidenció que los individuos con ileitis aislada y los que tenían cirugía previa de su enfermedad también respondían peor al biológico.

Los pacientes con patrón estenosante también parecen tener más probabilidad de fallo primario<sup>166</sup>.

Los datos enumerados no implican que los tratamientos biológicos no puedan emplearse en EC con estos factores predictores presentes, pero sí que ante algunos escenarios clínicos, los riesgos podrían no superar unos beneficios esperados más escasos.

Precisamente el uso de biomarcadores como herramientas de selección de subgrupos de pacientes con mayor probabilidad de respuesta a biológicos es el elemento que sustenta la terapia individualizada. Algunos estudios realizados hasta la fecha señalan la PCR, el NF $\kappa$ B p65<sup>167</sup> y los niveles séricos de anticuerpo frente al TNF $\alpha$ <sup>168</sup> como predictores potenciales. Aunque algunos marcadores han mostrado buena correlación con la respuesta clínica aún no están generalizado su empleo en la práctica clínica habitual para predecir la respuesta individual.

### 3.4 PÉRDIDA DE RESPUESTA A INFLIXIMAB

Existe controversia respecto a la estrategia adecuada tras la pérdida de respuesta a IFX tras una evolución clínica inicialmente favorable con el tratamiento, lo que se denomina fallo secundario. Se asume que los pacientes inicialmente respondedores que han perdido dicha respuesta con el tiempo presumiblemente pierden la misma debido al desarrollo de anticuerpos frente a IFX. En ausencia de ensayos controlados que aporten evidencia, existe publicada por Menachem una cohorte observacional de respondedores a IFX con fallo secundario durante la terapia de mantenimiento que fueron tratados posteriormente con una dosis de 10 mg/kg<sup>169</sup>. Cuando se incrementó la dosis de IFX ocurrió un descenso en términos absolutos del índice de Harvey-Bradshaw en 4,7 puntos, sugiriendo cierto beneficio con la dosis intensificada.

Análogamente, un análisis *post-hoc* de Rutgeerts sobre los datos del ensayo ACCENT I comparando estrategias de tratamiento episódico frente al programado en condiciones similares a las de la práctica clínica<sup>170</sup> demostró que en un subgrupo de pacientes que perdió respuesta a las infusiones programadas de 5 mg/kg de IFX, el 90% de los mismos recuperó la respuesta después de aumentar la dosis a 10 mg/kg. De hecho, en torno al 80% de los pacientes que perdieron respuesta a un régimen programado de 10 mg/kg pudieron ser controlados incrementándola incluso a 15 mg/kg.

Los resultados de un análisis de modelos de decisión no basada en niveles de biológicos publicado por Kaplan<sup>171</sup> que simulaba dos cohortes de pacientes con EC que presentaban pérdida de respuesta a IFX puede arrojar algo de luz sobre la estrategia óptima en el fallo secundario. Una de las cohortes aumentó la dosis a 10 mg/kg, y en la otra los pacientes fueron tratados con ADA. Los resultados apoyan que la dosis intensificada de IFX podría proporcionar mejores índices de calidad de vida a largo plazo comparados con el cambio a ADA, pero a un coste económico considerable. Estos resultados sugieren una eficacia más baja con una segunda línea de tratamiento con anticuerpos anti-TNF $\alpha$  después del fallo de la primera línea, dato corroborado en múltiples publicaciones y en la propia experiencia clínica.

#### 4. INFLIXIMAB Y COLITIS ULCEROSA

A pesar de la aparente semejanza etiológica, clínica y terapéutica de la CU con la EC, aquella tiene unas características propias que en múltiples ocasiones han provocado que el avance en su conocimiento, tanto en la etiopatogenia como fundamentalmente en el tratamiento, haya ido a remolque de los análogos en EC<sup>172</sup>. Es posible que la causa de este retraso en la incorporación de nuevos tratamientos haya sido consecuencia de la limitación del arsenal terapéutico en la EC, lo que añadía premura a la aparición de nuevas herramientas terapéuticas, de estar localizada la CU exclusivamente en el colon lo que permite un control directo con colonoscopia, y fundamentalmente de la posibilidad curativa con la resección quirúrgica, inaccesible en la EC.

Las terapias biológicas no han sido una excepción a lo anterior, y la indicación de empleo del IFX en CU no fue aprobada hasta 6 años después respecto a la EC como primer biológico. IFX es un fármaco eficaz en el tratamiento de la CU y los algoritmos de manejo de la enfermedad de la ECCO y GETEC-CU<sup>173</sup> lo sitúan en la inducción de la remisión en la CU moderada a grave, así

como en el mantenimiento de pacientes corticodependientes y corticorresistentes. Existen además estudios comparativos entre IFX y ciclosporina A (CsA) con similares resultados en el corto plazo y favorables a IFX en el largo plazo por menor probabilidad de recidiva, lo que mejora el arsenal terapéutico de cara a la toma de decisiones. Además, al igual que ha ocurrido con la EC, en el futuro se adelantará el tratamiento precoz de las terapias biológicas en determinados casos de CU para intentar prevenir complicaciones posteriores y no perder la "ventana de oportunidad".

Son muchas las razones que han influido en que un fármaco que ha demostrado una eficacia tan alta para la EC como hemos visto previamente haya tardado tanto en emplearse en la CU.

La primera razón de este retraso se debe a los diferentes perfiles inmunológicos de cada enfermedad. En ambas enfermedades se produce un desequilibrio entre las citocinas proinflamatorias y las antiinflamatorias<sup>174</sup>. Sin embargo, la CU se consideraba desde el punto de vista inmunológico una enfermedad con respuesta tipo Th2, con un papel más relevante de IL-10 e IL-5 y menor de TNF $\alpha$  e IL-12<sup>175</sup>. Frente a lo anterior, la EC se ha asociado a una respuesta inmunológica de tipo Th1 en la que TNF $\alpha$  desempeña un papel claramente predominante (Ilustración 4). Estas evidencias retrasaron la investigación de la eventual eficacia de los biológicos anti-TNF $\alpha$  en la CU. No obstante, estudios posteriores demostraron que TNF $\alpha$  podía tener relevancia en la etiopatogenia de la CU, justificando así el empleo de las terapias anti-TNF $\alpha$  en esta patología<sup>176,177</sup>.

La segunda razón es que la revolución terapéutica que supuso la terapia biológica en la EC dada la ausencia de alternativas, excepción hecha de la cirugía, no tenía el mismo escenario en la CU grave refractaria a esteroides, donde la CsA era un tratamiento de primera línea a pesar de la discreta evidencia científica que la sustenta incluso hoy día. En el estudio prospectivo, aleatorio y controlado con placebo en CU grave refractaria a esteroides publicado por Lichtiger<sup>178</sup> incluyó solamente 20 pacientes porque tuvo que interrumpirse prematuramente por consideraciones éticas debido a los muy favorables resultados preliminares a favor de CsA. En dicho estudio se observó una remisión clínica con CsA del 80 frente al 0% con placebo. Posteriormente se han publicado numerosas series abiertas, la mayoría retrospectivas, que han confirmado la eficacia del fármaco. Todos estos datos están incluidos en una revisión sistemática española<sup>179</sup> que concluye que el fármaco es eficaz en aproximadamente el 70% de los pacientes. En una revisión Cochrane publicada de 2005, aunque basada sólo en 2 estudios, concluye que la evidencia en la CU

es limitada y que hay que valorar e individualizar su empleo debido a los probables efectos secundarios, especialmente la nefrotoxicidad<sup>180</sup>.

La tercera razón fue el lento reclutamiento del primer ensayo clínico multicéntrico doble ciego controlado con placebo<sup>181</sup>, que tenía planeada la inclusión de 60 pacientes y solo incluyó finalmente a 11. Los resultados mostraron una tendencia a una mejor respuesta en los pacientes tratados con IFX (50% frente a 0% en los tratados con placebo). En el año siguiente se publicaron otras series abiertas<sup>182,183,184</sup> con resultados alentadores sobre la eficacia de IFX en CU refractaria a esteroides, aunque la gran heterogeneidad en los diseños no permitió elaborar conclusiones firmes. A pesar de que en las primeras series abiertas de pacientes con CU corticorresistente, como las realizadas en el año 2001 sobre 6 pacientes por el grupo austríaco de Kaser<sup>185</sup> o sobre 8 pacientes en Rochester por Chey<sup>186</sup>, las dudas sobre la eficacia de IFX en la CU no desaparecieron después de la publicación del primer ensayo clínico aleatorizado que comparaba IFX a dosis de 5 mg/kg en las semanas 0 y 2 con placebo en pacientes con CU moderada a grave corticorresistente<sup>187</sup>. En este estudio multicéntrico realizado sobre 43 pacientes en varios centros de Alemania y del Reino Unido no se encontraron diferencias entre los pacientes tratados con IFX y los tratados con placebo respecto a la eficacia clínica y la endoscópica en la semana 6 ni tampoco en la mejoría de la calidad de vida. Probablemente algunas limitaciones del estudio, fundamentalmente el bajo número de infusiones de fármaco administradas, una evaluación de eficacia demasiado precoz, la gran heterogeneidad de la definición de corticorresistencia y la exclusión de pacientes muy graves pudo provocar la relativamente alta respuesta a placebo, con hasta un 30% de remisión endoscópica, y sesgar así los resultados.

#### 4.1 ESTUDIOS PIVOTALES EN COLITIS ULCEROSA

Finalmente, un estudio multicéntrico controlado, aleatorizado y doble ciego realizado en países escandinavos, que comparaba IFX con placebo fue el que aportó la evidencia suficiente hacia el empleo de IFX en CU refractaria a esteroides<sup>188</sup> y que abrió la puerta a ensayos pivotaes con el objeto de la aprobación de la indicación por las respectivas agencias reguladoras. En ese estudio de Jarnerot se incluyeron 45 pacientes con CU moderada a grave medida según el índice de Seo con valores superiores a 150 puntos y con fracaso a tratamiento previo con esteroides. Los pacientes se aleatorizaron a recibir una única dosis de IFX de 4 o 5 mg/kg o bien placebo, y fueron seguidos posteriormente durante tres meses. El objetivo principal fue evaluar la proporción de

pacientes que precisaban colectomía o que fallecían en dicho periodo. Aunque el seguimiento era considerablemente corto, un 67% de los pacientes tratados con placebo fueron colectomizados en comparación con el 29% de los tratados con IFX ( $p < 0,017$ ). No se registró ningún fallecimiento en el periodo de seguimiento, siendo la probabilidad de evitar la colectomía al finalizar el estudio del 78% en los pacientes tratados con IFX y solo del 33% en el grupo placebo ( $p < 0,01$ ). No obstante, se suscitaron varias dudas como la utilidad del cotratamiento con IMM, o la eficacia con un periodo de seguimiento mayor<sup>189</sup>. Resultados recientes sobre este aspecto en la extensión a dos años de Gustavsson del estudio escandinavo citado muestran que precisan colectomía en dicho periodo el 46% de los pacientes tratados con IFX y el 76% de los tratados con placebo ( $p < 0,01$ )<sup>190</sup>.

Los estudios ACT aportan la mayor cantidad de información sobre el empleo de IFX en CU. Se trata de dos estudios de diseño muy similar, multicéntricos, aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo, que finalmente fueron publicados juntos por Rutgeerts<sup>191</sup>. El ACT1 incluyó pacientes con CU moderada a grave tanto clínicamente, con un índice de Mayo entre 6 y 12 puntos, como endoscópicamente, con un *subscore* endoscópico de Mayo de 2 o superior, refractarios a esteroides o IMM. En el estudio ACT2 se incluyeron también pacientes refractarios a aminosalicilatos. Los pacientes en ambos estudios fueron aleatorizados para recibir 5 mg/kg de IFX, 10 mg/kg de IFX o placebo en un régimen de inducción estándar en las semanas 0, 2 y 6 semanas, y de mantenimiento cada 8 semanas hasta la semana 54 en el ACT1 y solamente hasta la semana 30 en el ACT2, siendo el objetivo principal en ambos la respuesta clínica a la semana 8, definida como un descenso en el índice de Mayo de al menos 3 puntos, junto con un *subscore* endoscópico menor de 2. Otros objetivos secundarios fueron la respuesta clínica en la semana 30, la remisión clínica definida como índice de Mayo de 2 o inferior en las semanas 8 y 30, y la curación mucosa en esas mismas semanas.

Los resultados de ambos estudios fueron muy similares. En el ACT1 la respuesta clínica en la semana 8 fue del 65% en los pacientes tratados con IFX y del 37% en los tratados con placebo ( $p < 0,01$ ), en la semana 54 la respuesta clínica se mantenía en el 51% de los tratados con IFX y en el 19,8% de los tratados con placebo ( $p < 0,01$ ). Respecto a la remisión tanto en la semana 8 como en la 54 se observó un 35% entre los pacientes que recibieron fármaco y un 16% entre los que recibieron placebo ( $p < 0,01$ ). En el ACT2 las cifras de respuesta clínica para IFX y placebo en la semana 8 fueron del 57% y del 30% ( $p < 0,01$ ) respectivamente. En la semana 30 la respuesta fue del 54% y del 26% ( $p < 0,01$ ) respectivamente. También se observó en semana 8 una remisión con

IFX del 35% frente al 5,7% del placebo ( $p < 0,01$ ), al igual que en semana 30, donde las cifras alcanzadas respectivamente eran del 35% frente al 11% ( $p < 0,01$ ).

En lo que respecta a la curación mucosa también se observaron diferencias significativas a favor de IFX tanto en ACT1 como en ACT2. A pesar de que en ambos estudios se observó un mayor número de pacientes en remisión sin esteroides entre los que recibían el biológico, se debe aclarar que en ninguno de los dos estudios el porcentaje de pacientes en remisión sin esteroides a medio o largo plazo superaba el 25%. En ningún caso se observaron diferencias entre los pacientes que recibían 5 o 10 mg/kg de IFX.

Los autores concluyeron que IFX era un fármaco eficaz y seguro para inducir y mantener la respuesta clínica y la remisión, así como para minimizar el empleo de esteroides, en pacientes con CU activa moderada a grave refractaria a tratamientos de primera línea. A pesar de que los estudios ACT han aportado datos significativos también han recibido críticas, al haber generado incógnitas como el hecho de no saber si con esos criterios de inclusión estaban incluyendo pacientes realmente corticorresistentes, pues además de que la respuesta a placebo parece alta, solamente el 60% de los pacientes tenía una PCR elevada. En este estudio tampoco parece claro el valor añadido de los IMM concomitantes<sup>192</sup>. Posteriormente se han publicado por Feagan<sup>193</sup> y Reinsch<sup>194</sup> otros estudios derivados de los ACT en los que datos obtenidos más reveladores son, respectivamente, que el tratamiento con IFX mejora la calidad de vida en los pacientes con CU, y que los pacientes que alcanzaron la remisión presentaron una mayor productividad laboral.

## 4.2 SERIES ABIERTAS

En los últimos años se han publicado series abiertas que han añadido datos de interés sobre el empleo de IFX en la práctica clínica habitual. En un estudio multicéntrico italiano publicado por Kohn<sup>195</sup> que incluyó a 83 pacientes, el porcentaje de los mismos que consiguen evitar la colectomía tanto en el corto como en el largo plazo superó el 80%. No obstante, este estudio adolece de posibles sesgos desde el punto de vista metodológico pues incluye pacientes tanto prospectivamente como también retrospectivamente, así como una gran heterogeneidad en el número de dosis de IFX recibidas.

En otro estudio retrospectivo británico de Jakobovits<sup>196</sup> sobre 30 pacientes corticorresistentes graves, de los que además 11 de ellos habían recibido pre-

viamente CsA, y con una media de seguimiento de 13 meses y un número de infusiones muy heterogéneo, se observó que IFX evitó la colectomía tan solo en menos del 50% de los pacientes, y que el riesgo de colectomía en estos pacientes fue mayor cuanto más temprana era la edad de diagnóstico.

En otro estudio multicéntrico escocés retrospectivo de Lees<sup>197</sup> sobre 39 pacientes también corticorresistentes y con una media de seguimiento de 200 días se consiguió evitar la colectomía en el 66% de ellos, siendo factores de mal pronóstico la hipoalbuminemia y una elevada PCR.

Al igual que en la EC, el grupo belga de Leuven aporta datos significativos en la publicación por Ferrante<sup>198</sup> de los 100 primeros pacientes con CU tratados con IFX. Esta serie constituye un grupo de pacientes en su gran mayoría no corticorresistentes, por lo que podría asumirse que la escalada progresiva de tratamiento hasta alcanzar el fármaco biológico es precoz. Además, más del 60% de los pacientes tenían tratamiento IMM concomitante, y la gran mayoría continuaron con IFX de mantenimiento en la pauta estándar cada 8 semanas. En una media de seguimiento de 30 meses, el 65% de los pacientes incluidos presentó una respuesta clínica favorable, y solo el 11% requirieron colectomía. De esta forma, se concluyó que el empleo de IMM como cotratamiento pareció no influir en la respuesta clínica, y que los pacientes con presencia de pANCA y ausencia de ASCA presentaron peor respuesta.

En una reciente serie española de González-Lama<sup>199</sup> que incluyó a 47 pacientes con una media de seguimiento de 5 meses, la tasa de colectomía fue tan baja como del 10,7%, la respuesta clínica superior al 80%, y a pesar de analizar varios factores como PCR y cotratamiento IMM, el único factor que pareció influir en la respuesta al tratamiento fue la extensión topográfica de la enfermedad.

En cuanto a los resultados en el largo plazo, probablemente la serie que más datos aporta es el estudio británico de Russo<sup>200</sup> con 38 pacientes que recibieron IFX en la pauta estándar de inducción, además de tratamiento de mantenimiento cada 8 semanas, con una media de seguimiento de 15 meses. En ella, el 73% de los pacientes tuvo respuesta a largo plazo, el 55% estuvo en remisión y se observó una tasa de colectomía del 18%. Una de las características de este estudio fue que la gran mayoría de los pacientes estaban recibiendo tratamiento concomitante con IMM.

### 4.3 REVISIONES SISTEMÁTICAS

Existen dos revisiones sistemáticas que analizan la eficacia de IFX en la CU. La realizada por Gisbert<sup>201</sup> incluye ensayos clínicos aleatorizados (7 estudios) y estudios no controlados (27 estudios). En dicha revisión se evidencia que en el corto plazo la media de respuesta a IFX de los 34 estudios fue del 68% (IC 95% 65-71%) y la remisión del 40% (IC 95% 36-44%), mientras que en el largo plazo se describe una respuesta al fármaco en el 53% de los pacientes (IC 95% 49-56%) y una remisión en el 39% (IC 95% 35-42%). En el análisis de los 5 estudios controlados por placebo se describe una tasa de respuesta a corto plazo del 65% (IC 95% 61-69%) en los pacientes con IFX y del 33% (IC 95% 27-38%) de respuesta al placebo, con un *odds ratio* de 3,6 (IC 95% 2,67-4,95,  $p < 0,001$ ) y una tasa de remisión del 33% (IC 95% 29-37%) en los tratados con IFX y del 10% (IC 95% 6,4-14%) en los tratados con placebo con un *odds ratio* de 4,56 (IC 95% 1,98-10,5,  $p < 0,001$ ). En el largo plazo se observa una respuesta y una remisión respectivamente del 53% (IC 95% 49-58%) y del 33% (IC 95% 29-37%) en los pacientes tratados con IFX y del 24% (IC 95% 19-29%) y del 14% (IC 95% 9-18%) en los pacientes tratados con placebo, con un *odds ratio* de 3,4 (IC 95% 2,52-4,59,  $p < 0,001$ ) para la respuesta y de 2,72 (IC 95% 1,92-3,83,  $p < 0,001$ ) para la remisión.

La otra revisión de la librería Cochrane y publicada por Lawson<sup>202</sup> sólo incluye los mismos 7 ensayos clínicos aleatorizados previamente citados. En ella solamente se evalúa la inducción con IFX, y se concluyó que en pacientes con CU moderada a grave refractarios a la terapia convencional con esteroides e IMM, tres dosis de IFX de 5 mg/kg en semanas 0, 2 y 6 son más efectivas que el placebo para alcanzar la remisión clínica, con un RR de 3,22 (IC 95% 2,18-4,76), conseguir la remisión endoscópica, con un RR de 1,88 (IC 95% 1,54-2,28), y lograr la respuesta clínica, con un RR de 1,99 (IC 95% 1,65-2,41) tan pronto como a las 8 semanas. También se concluyó que una única infusión de IFX era más efectiva que el placebo para reducir la probabilidad de colectomía en los siguiente 90 días a la infusión, con un RR de 0,44 (IC 95% 0,22-0,87).

### 4.4 CORTICODEPENDENCIA

Existen pocos estudios que evalúen la eficacia de IFX en la CU corticodependiente. El grupo alemán de Ochsenkuhn<sup>203</sup> realizó un ensayo clínico con 13 pacientes en el que se comparó IFX con esteroides en pacientes con CU no

corticorresistentes, observándose una adecuada respuesta al IFX. Sin embargo, a pesar de no cumplir los pacientes criterios estrictos de corticodependencia, ese ha sido el primer ensayo realizado en pacientes no refractarios a esteroides.

De hecho, el primer estudio que evaluó la eficacia del fármaco en una situación estricta de corticodependencia fue el estudio italiano de Armuzzi<sup>204</sup> que incluyó a 20 pacientes y los dividió en dos grupos. Los pacientes del grupo A recibieron inducción estándar con 5 mg/kg de IFX en semanas 0, 2 y 6, y después tratamiento de mantenimiento también estándar con 5 mg/kg de IFX cada 8 semanas. Los pacientes del grupo B recibieron metilprednisolona en dosis de 0,7 a 1 mg/kg/día durante una semana, realizando un descenso posterior escalonado de los esteroides hasta la dosis mínima necesaria para encontrarse libres de síntomas, como se suele hacer en la práctica clínica habitual. Con una media de seguimiento de casi 10 meses se alcanzó la remisión en el 90% de los pacientes del grupo A y en el 80% del grupo B, concluyendo los autores que IFX es eficaz en el tratamiento de la CU corticodependiente.

En el segundo estudio realizado por el grupo griego de Gavalas<sup>205</sup> se incluyó a 16 pacientes con CU y se comparó IFX de inducción y mantenimiento en las dosis habituales previamente descritas frente a metilprednisolona en dosis de inicio de 0,8 a 1 mg/kg/día y con descenso posterior escalonado. Aunque se observó respuesta en ambos grupos, los efectos adversos atribuibles a los esteroides se presentaron en casi todos los pacientes del brazo metilprednisolona.

Estos estudios tienen tres limitaciones: la falta de evaluación endoscópica para corroborar si los pacientes alcanzaban la curación mucosa, la ausencia de datos acerca de un intento previo de tratamiento IMM para corticodependencia, y los aspectos éticos relativos al empleo de altas dosis de esteroides en pacientes corticodependientes conocidos.

En un estudio español de Barreiro<sup>206</sup> abierto y prospectivo en el que se evaluó la eficacia clínica y endoscópica del tratamiento con IFX se incluyó a 17 pacientes con CU corticodependientes, todos ellos refractarios o intolerantes a AZA. Los resultados mostraron una remisión clínica y endoscópica en más del 50% de los pacientes con un seguimiento de dos años.

## 4.5 RESERVORITIS

La reservoritis o *pouchitis* es una inflamación del reservorio ileoanal, denominado *pouch* en la literatura anglosajona, y es una complicación frecuente que ocurre entre el 10% y el 50% de los pacientes con CU a los que se les ha practicado una proctocolectomía total reconstruyendo el tránsito intestinal con una anastomosis ileoanal con el citado reservorio.

Las publicaciones sobre el uso de IFX en reservoritis son escasas, aunque los resultados son positivos. La primera serie publicada por Viscido<sup>207</sup> incluyó a 7 pacientes con reservoritis complicada con fístula. Después de descartar que se tratase de EC recibieron inducción con 3 dosis de IFX en pauta estándar de 5 mg/kg en semanas 0, 2 y 6, además de inmunosupresión concomitante con AZA a las dosis habituales de 2-2,5 mg/kg/día. En el seguimiento a semana 10, seis pacientes presentaron respuesta clínica completa, cinco cierre completo de las fístulas y todos ellos un descenso en el índice de actividad específico de la reservoritis, PDAI.

Otro estudio de Calabrese<sup>208</sup> incluyó 10 pacientes con reservoritis que recibieron tratamiento con 3 dosis de IFX y fueron evaluados a través de cápsula endoscópica. En dicho estudio, 9 pacientes presentaron remisión clínica medida a través del PDAI tras el tratamiento y 8 pacientes mostraron una total desaparición de la actividad endoscópica tanto después de la conclusión del régimen de inducción como a los 6 meses de seguimiento.

## 4.6 IMPACTO DE INFLIXIMAB EN RESULTADOS POSTQUIRÚRGICOS

Existe discusión respecto a si el tratamiento con IFX en pacientes con CU que finalmente requieren colectomía puede resultar deletéreo sobre los resultados quirúrgicos. La causa de esta controversia es la publicación de algunos estudios retrospectivos que asocian el empleo de IFX con un mayor número de complicaciones postquirúrgicas.

En el estudio realizado en la Clínica Mayo por Selvasekar<sup>209</sup> se compararon 47 pacientes que recibieron IFX y que posteriormente fueron colectomizados con 254 pacientes colectomizados que no recibieron IFX previamente. La conclusión es que no hubo diferencias respecto a mortalidad y morbilidad postquirúrgica entre ambos grupos, salvo complicaciones en el reservorio ( $p < 0,01$ ) y complicaciones infecciosas ( $p < 0,01$ ) en el grupo de pacientes que recibió IFX.

En otro estudio realizado en Cleveland por Mor<sup>210</sup> se evaluaron las colectomías entre los años 2000 y 2006 y se observó un mayor riesgo de complicaciones postquirúrgicas y sepsis en los pacientes que habían recibido IFX. Además, los pacientes que recibieron IFX tuvieron más riesgo de que la intervención requiera tres tiempos quirúrgicos, con colectomía subtotal, proctectomía más construcción del reservorio, y reconstrucción del tránsito, en lugar de dos tiempos.

No obstante, existen otros estudios publicados que no han confirmado estos hallazgos. En un estudio de Schluender<sup>211</sup> que comparó 17 pacientes colectomizados que habían recibido IFX con otros 134 pacientes que no lo habían recibido no se observaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a las complicaciones postquirúrgicas. En dicho estudio se observó que las complicaciones eran más frecuentes en los pacientes que recibieron tratamiento secuencial con CsA y posteriormente IFX tras el fracaso de la primera línea de rescate.

En otras dos series publicadas, una en Boston de Kunitake<sup>212</sup> y otra en Leuven de Ferrante<sup>213</sup>, tampoco se observaron mayores complicaciones postquirúrgicas ni infecciosas en los pacientes que previamente habían recibido IFX, poniendo en evidencia además en el segundo estudio un mayor porcentaje de infecciones en los pacientes que recibían tratamiento esteroideo.

En la discusión de ambas publicaciones se explica que solo se incluyeron pacientes que recibieron IFX en las 12 semanas previas a la cirugía, mientras que en los previamente publicados como los de la Clínica Mayo y Cleveland se incluían todos los pacientes previamente tratados con IFX con independencia del momento del tratamiento. Teniendo en cuenta que el efecto sostenido del biológico difícilmente superaría las 12 semanas, es posible que otros factores pudiesen haber influido en los resultados obtenidos en los pacientes tratados con IFX en los estudios citados con impacto negativo del biológico sobre la intervención quirúrgica.

## 5. ADALIMUMAB Y ENFERMEDAD DE CROHN

ADA es el segundo anti-TNF $\alpha$  aprobado para el tratamiento de la EC. Es un anticuerpo monoclonal recombinante de tipo IgG1, completamente humano y de administración subcutánea. Se une con alta afinidad y especificidad al TNF $\alpha$ , tanto frente el expresado sobre membrana celular como frente al homotrímero del plasma, bloqueando su interacción con los receptores p55 (TNF-RI) y p75 (TNF-RII) del TNF $\alpha$  en la superficie celular<sup>214</sup>. Además, modula la expre-

sión de moléculas de adhesión también inducidas por  $TNF\alpha$  como ELAM-1, VCAM-1, e ICAM-1, e inhibe la producción de citocinas proinflamatorias, induciendo la apoptosis de linfocitos T y monocitos activados<sup>215</sup>.

ADA, al igual que IFX, ha demostrado su efecto en la inducción y el mantenimiento de la remisión de la EC en pacientes *naïve* a anti- $TNF\alpha$ , disminuyendo las necesidades de esteroides, las hospitalizaciones, los tratamientos quirúrgicos y mejorando la calidad de vida de los pacientes. Además, constituye una opción de tratamiento para aquellos pacientes que desarrollan un fallo secundario a IFX por intolerancia o pérdida de respuesta, que puede alcanzar hasta un tercio de los pacientes tratados durante el primer año<sup>155</sup>. ADA supone un importante avance sobre los tratamientos clásicos al constituir una segunda alternativa dentro de los fármacos biológicos disponibles. Un beneficio adicional pero no menor respecto a IFX es su fácil administración, que logra que el propio paciente pueda inyectarse el fármaco de forma subcutánea.

Su indicación principal es la EC moderada a grave refractaria a tratamientos previos con esteroides e IMM, o bien con intolerancia o contraindicaciones para ellos. Sin embargo, en ciertos pacientes con elementos predictores de gravedad o agresividad se puede indicar como tratamiento precoz de primera elección<sup>216</sup>.

En pacientes con EC, las concentraciones de ADA son proporcionales a las dosis iniciales recibidas, tal y como se demostró en el estudio CLASSIC I<sup>217</sup>. La pauta de 160/80 mg consigue con mayor rapidez una respuesta significativa cuando se compara con la dosis 80/40 o el placebo. La dosis de inducción de 160 mg seguida de 80 mg en la semana 2 presenta unas concentraciones plasmáticas del fármaco en torno a 12  $\mu\text{g/ml}$ , manteniéndose estables durante un periodo de 2 semanas, mientras que la dosis de inducción de 80 mg seguida de 40 mg en la semana 2 presenta concentraciones plasmáticas de ADA de aproximadamente 5,5  $\mu\text{g/ml}$ . El tratamiento concomitante con IMM tiopurínicos como AZA o 6-mercaptopurina no pareció inducir cambios significativos en la concentración sérica.

Los niveles de ADA con una dosis estándar de mantenimiento de 40 mg en semanas alternas es de aproximadamente 7  $\mu\text{g/ml}$ , alcanzando los 11  $\mu\text{g/ml}$  con la pauta semanal. Estas concentraciones diferentes del fármaco pueden explicar la efectividad ligeramente mayor del tratamiento con la pauta semanal, aunque las tasas de respuesta entre ambas dosis no difieren de forma significativa. La biodisponibilidad absoluta de una dosis subcutánea de 40 mg de ADA es del 64%, con una semivida de eliminación de 2 semanas, en un rango de 10 a 20 días.

## 5.1 PATRÓN INFLAMATORIO

ADA ha demostrado eficacia en la inducción de la remisión del brote de EC y en el mantenimiento de la misma, tanto en el grupo de pacientes no tratados previamente con anti-TNF $\alpha$ , como en el grupo tratado con IFX que ha desarrollado intolerancia o pérdida de respuesta al fármaco. IFX y ADA presentan resultados de eficacia similares en la inducción y en el mantenimiento de la EC, por lo que las guías de recomendaciones de ECCO los colocan en similar nivel de evidencia y de elección terapéutica para el uso de biológicos en la EII. Dado que no existen estudios comparativos entre los dos fármacos, las conclusiones se han establecido a partir de la comparación de los resultados de estudios individuales, con todas las limitaciones metodológicas que ello supone, si bien aún queda por definir entre otros elementos la significación farmacológica que puedan tener las vías de administración, subcutánea para ADA e intravenosa para IFX y la consecuente diferente inmunogenicidad que ello supone.

La evidencia para la utilización de ADA en la EC procede de los resultados de cinco ensayos clínicos controlados y aleatorizados que sirvieron para su aprobación por las agencia reguladora estadounidense FDA y la EMA europea: el estudio de inducción CLASSIC I, los estudios de mantenimiento CLASSIC II, CHARM y ADHERE, y el estudio GAIN donde se valoró específicamente la respuesta a ADA de pacientes con EC moderada a grave con fallo secundario por intolerancia o pérdida de respuesta al IFX empleado previamente. En todos los estudios, ADA fue superior en conseguir la remisión frente a placebo sin influir de manera significativa la utilización de IMM. ADA demostró en los estudios CLASSIC I y II la capacidad de inducir y mantener remisión en los pacientes con EC moderada a grave que no habían recibido tratamiento previo con otros anti-TNF $\alpha$ , manteniendo la remisión de los pacientes que habían respondido inicialmente tras 56 semanas de tratamiento en el 79% con pauta de ADA 40 mg cada dos semanas y en el 83% con pauta de ADA 40 mg semanal. El estudio CHARM demostró la eficacia de ADA en la inducción y en el mantenimiento de la remisión clínica de pacientes con EC moderada a grave con independencia del factor de exposición previa a otros agentes anti-TNF $\alpha$ . Además, la fase abierta de dicho estudio confirmó la eficacia de ADA en la inducción de la remisión, obteniéndose unas cifras de respuesta clínica definida como una disminución del CDAI en al menos 70 puntos en el 60% de pacientes, si bien es cierto que los datos no fueron controlados.

En primer lugar, respecto a la inducción en pacientes naïve a anti-TNF $\alpha$ , el estudio CLASSIC I<sup>217</sup> fue un ensayo clínico aleatorizado doble ciego contro-

lado con placebo para determinación de dosis. Se analizó la respuesta a ADA en 299 pacientes con EC activa luminal y brote moderado a grave identificado mediante una puntuación con la puntuación CDAI mayor de 220 puntos. Ningún paciente incluido había recibido previamente tratamiento con biológico anti-TNF $\alpha$ . Los pacientes fueron aleatorizados de forma ciega para recibir dos administraciones en semanas 0 y 2 de placebo o de ADA en tres diferentes pautas de dosificación de 40/20 mg, 80/40 mg o 160/80 mg. El principal objetivo del estudio era medir la tasa de remisión a las 4 semanas, definida como una puntuación CDAI menor de 150 puntos. Los porcentajes de remisión a las 4 semanas en el grupo de pacientes tratados con ADA a dosis de 40/20 mg, 80/40 mg y 160/80 mg fueron respectivamente del 18% (p 0,36), 24% (p 0,06) y 36% (p 0,001), frente al 12% del grupo placebo. Se observó además una respuesta lineal a la dosis recibida, presentando para las dosis más altas del fármaco unos índices de respuesta clínica, definida como una disminución de la puntuación CDAI en al menos 70 puntos en el 59% de pacientes. Con estos resultados el régimen de 160/80 mg de ADA demostró ser superior a placebo para inducir remisión en pacientes con EC moderada a grave *naïve* a fármacos biológicos anti-TNF $\alpha$ .

En segundo lugar, respecto al mantenimiento tanto en *naïve* como en tratados previamente con IFX, el estudio CLASSIC II<sup>218</sup> fue un ensayo clínico multicéntrico aleatorizado controlado con placebo realizado sobre los 276 pacientes que completaron el tratamiento de inducción en el estudio previo CLASSIC I. Todos los pacientes recibieron una dosis conocida de 40 mg de ADA en la semana 0, que correspondía a la finalización del estudio CLASSIC I y a la vez al inicio del estudio CLASSIC II, además de en semana 2. Posteriormente, los 55 pacientes en remisión en las semanas 0 y 4 fueron aleatorizados en tres grupos de tratamiento con placebo, 40 mg de ADA cada 2 semanas y 40 mg de ADA cada semana durante un seguimiento de 56 semanas. Al finalizar el seguimiento, un 79% de los pacientes tratados con 40 mg cada semana y hasta un 83% de los tratados con 40 mg cada semana se encontraban en remisión clínica, frente al 44% de los tratados con placebo (p<0,05). De los 204 pacientes que no alcanzaron la remisión en las semanas 0 y 4 y que recibieron una dosis abierta de 40 mg de ADA cada 2 semanas, incrementándose dicha dosificación a semanal en condiciones de ausencia de respuesta clínica, finalmente alcanzaron la remisión clínica a las 56 semanas de seguimiento un 46%.

El estudio CHARM<sup>219</sup> fue un ensayo aleatorizado doble ciego controlado con placebo en el que 854 pacientes recibieron una dosis de ADA de 80 mg en semana 0 y 40 mg en semana 2, alcanzando en torno a un 60% de pacientes respuesta clínica, definida como una disminución de la puntuación CDAI en al

menos 70 puntos en semana 4. Los pacientes fueron posteriormente aleatorizados en tres grupos de tratamiento de mantenimiento con 40 mg de ADA cada dos semanas, cada semana y placebo, evaluando cifras de remisión clínica definidas como puntuaciones CDAI menores de 150 puntos en las semanas 26 y 56 de seguimiento. La remisión clínica alcanzada en cada grupo de tratamiento, respectivamente del 36% y del 41%, resultó significativamente más elevada que el 12% obtenido en el grupo placebo ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de ADA.

La duración de la enfermedad y el tratamiento previo con anti-TNF $\alpha$  fueron factores que influyeron en la probabilidad de obtener la remisión clínica. Además, los pacientes que no habían recibido previamente IFX presentaron cifras de remisión clínica del 48% frente al 34% de los expuestos anteriormente a anti-TNF $\alpha$ , aunque de nuevo sin significación estadística. Por otra parte, un subanálisis del CHARM publicado por Schreiber<sup>220</sup> mostró cifras de remisión y respuesta del 59% en el subgrupo de pacientes con una enfermedad de menos de 2 años de duración, en los que el tratamiento se había utilizado de manera precoz.

Un resultado de gran importancia por el ahorro de efectos deletéreos es que el tratamiento con ADA disminuyó la necesidad de esteroides, evidenciándose al final del estudio una proporción de pacientes en remisión sin esteroides en el grupo tratado del 29% frente al 5% del grupo placebo. El tratamiento de mantenimiento con ADA se relacionó además con una mejoría en los niveles de calidad de vida y con la disminución de las necesidades de hospitalización y cirugía<sup>221,222</sup>.

Una extensión a largo plazo del estudio CHARM es el estudio ADHERE<sup>223</sup>, en el que los pacientes eran tratados de manera abierta dos años adicionales, después de la finalización de las 56 semanas del primero de los ensayos clínicos, con 40 mg de ADA cada dos semanas o semanalmente en el subgrupo de pacientes que recibía esa pauta de mantenimiento en el CHARM o que perdían respuesta en algún momento del seguimiento. Los resultados del estudio ADHERE mostraron que un 83% de pacientes tratados con ADA en remisión clínica al final del estudio CHARM la mantuvieron a lo largo de los 3 años completos de tratamiento y seguimiento, siendo las cifras de remisión sin esteroides entre los pacientes tratados durante este tiempo las más altas y con elevados niveles de calidad de vida<sup>224,225</sup>.

Respecto a la eficacia de ADA tras fallo secundario de IFX, ADA es capaz de inducir remisión clínica con una frecuencia tres veces mayor que placebo en pacientes con pérdida de respuesta o intolerancia a IFX. En el estudio GAIN<sup>226</sup>,

los pacientes con fracaso previo a tratamiento con IFX obtuvieron eficacia en el cambio de biológico anti-TNF $\alpha$  a ADA y también en el estudio CHARM, aunque sin significación estadística, se observó una remisión clínica del 48% en los pacientes *naïve* a biológicos frente al 34% de los pacientes con fallo secundario a IFX.

Existen varias series no controladas y con un pequeño número de pacientes incluidos<sup>227,228,229,230,231,232</sup> en las que se demuestra que ADA es eficaz en la remisión de pacientes con EC y fallo secundario a IFX por pérdida de respuesta o intolerancia al primer agente anti-TNF $\alpha$  empleado. Sin embargo, el citado ensayo clínico GAIN<sup>226</sup> fue el primer estudio aleatorizado doble ciego y controlado con placebo diseñado específicamente para valorar de forma objetiva la eficacia del tratamiento con ADA en este grupo concreto de pacientes no *naïve*. Consistió en un ensayo de inducción de 4 semanas de duración que incluyó a 325 pacientes con EC moderada a grave y fallo secundario de IFX por intolerancia o pérdida de respuesta previa. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir inducción estándar de con 160 mg de ADA en semana 0 y 80 mg en semana 2, o bien placebo en ambas administraciones. Los resultados de remisión clínica a las 4 semanas fueron del 21% en el grupo tratado con ADA y del 7% en el grupo placebo ( $p < 0,001$ ).

Al comparar los resultados de remisión clínica en EC alcanzados con ADA en los principales ensayos pivotaes reseñados, y teniendo en cuenta la variable "tratamiento previo con otro anti-TNF $\alpha$ ", el grupo de pacientes tratados previamente presentó tasas más bajas de respuesta respecto al grupo *naïve*. Aunque en ninguno de los casos las diferencias son estadísticamente significativas, se observa una disminución de un 8% a un 15% en la eficacia de ADA para conseguir remisión en los pacientes que han sido tratados previamente con otro anti-TNF $\alpha$ <sup>217,219,226</sup>. Esto es congruente con una pérdida de eficacia en sucesivos intentos de bloquear la misma diana terapéutica que también ocurre en otras enfermedades análogas como AR o psoriasis.

De esta manera, los pacientes con fallo secundario a IFX pueden beneficiarse del tratamiento con ADA. Incluso en el fallo primario, la administración de ADA puede lograr respuesta clínica en un 50-68% de los pacientes, con disminuciones de la puntuación CDAI en al menos 70 puntos, si bien es cierto que las series publicadas incluyen pocos pacientes y no están controladas con placebo<sup>228,230</sup>.

## 5.2 PATRÓN FISTULIZANTE

El estudio CHARM<sup>219</sup> fue diseñado para analizar la respuesta de ADA en la EC luminal activa, constituyendo solo un objetivo secundario la medición de eficacia del tratamiento sobre la enfermedad fistulizante. No obstante, dado el elevado número de pacientes con patrón fistulizante incluidos en el estudio, con 117 reclutados, y el prolongado tiempo de seguimiento, las principales conclusiones sobre el efecto de ADA en la EC fistulosa proceden de este ensayo clínico.

El tratamiento con ADA consiguió el cierre completo de fístulas en semana 26 en el 30% de casos y en semana 56 en el 33%, frente al 13% en el grupo tratado con placebo en ambas semanas. El 100% de los pacientes con cierre completo de fístulas en la semana 26 lo mantuvieron en la semana 56, con cifras en dicha semana similares a las obtenidas en pacientes tratados con IFX en el estudio ACCENT II<sup>160</sup> en la semana 54. De manera análoga a la enfermedad luminal, el tratamiento concomitante con IMM o el tratamiento previo con otro anti-TNF $\alpha$  no influyeron de manera significativa en los resultados.

Una vez alcanzado el cierre de las fístulas, el tratamiento de mantenimiento con ADA permitió el mantenimiento de la quiescencia en la actividad fistulizante. En el estudio ADHERE, todos los pacientes con cicatrización de fístulas al finalizar el CHARM fueron tratados con la pauta de ADA recibida a la finalización del primer ensayo, consiguiendo el mantenimiento del cierre de fístulas en el 90% de ellos<sup>233</sup>.

## 5.3 PÉRDIDA DE RESPUESTA A ADALIMUMAB

Los dos ensayos aleatorizados de mantenimiento de ADA, el CLASSIC II y el CHARM, obtuvieron mejores cifras de respuesta y mayores niveles de concentración sérica del biológico en el grupo tratado con la dosis semanal de 40 mg de ADA, aunque las diferencias de efecto clínico conseguidas con las diferentes pautas no fueron estadísticamente significativas. No obstante, en el 36% de los pacientes del CHARM y en el 31% de los pacientes del CLASSIC II que habían iniciado el estudio con 40 mg de ADA cada dos semanas, se necesitó con el paso del tiempo una intensificación de la dosis a 40 mg semanal por pérdida de eficacia<sup>218,219</sup>.

En otras publicaciones de series procedentes de diferente grupos que han recopilado la experiencia clínica con ADA se ha observado la necesidad de un incremento de dosis a 40 mg semanal que se asocia con el tiempo de tratamiento, observándose con una frecuencia aproximada del 25% de casos a los 6 meses de tratamiento y hasta alcanzar cifras cercanas al 60% a los 2 años del mismo<sup>232,234,235</sup>. Dado que numerosos pacientes con fallo secundario a IFX experimentan posteriormente fallo secundario a ADA, comprender mejor este fenómeno de pérdida de respuesta es crucial para mantener bajo control a la enfermedad, teniendo en cuenta además el limitado arsenal terapéutico y que solo recientemente se ha incorporado al mismo el vedolizumab, otro fármaco biológico aunque con diana terapéutica distinta.

## 6. ADALIMUMAB Y COLITIS ULCEROSA

ADA se ha incorporado recientemente al arsenal terapéutico del tratamiento de la CU, por lo que los datos de este biológico anti-TNF $\alpha$  en esta indicación son lógicamente menos numerosos. En abril de 2012 se aprobó por la agencia reguladora europea EMA para el tratamiento de pacientes con CU de moderada a grave con una respuesta inadecuada a los tratamientos convencionales.

Los estudios pivotaes que han evaluado la eficacia del ADA para esta indicación son el ULTRA 1 y el ULTRA 2 (*Ulcerative colitis Long-Term Remission maintenance with Adalimumab*) tanto para la inducción de la remisión como para el tratamiento de mantenimiento. Previamente a dichos estudios se había comunicado por Barreiro<sup>236</sup> su empleo en CU en casos clínicos aislados, además de en series abiertas no controladas y con bajo número de pacientes refractarios o intolerantes a IFX<sup>237,238</sup>, donde se demostraban eficacias del 40% tras dos dosis de inducción, ahorrando colectomías en el corto y medio plazo hasta 42 semanas. Otra serie de similares características publicada por Afif<sup>239</sup> incluía algunos pacientes *naïve* a uso de anti-TNF $\alpha$ , con una eficacia del 50% en el seguimiento hasta 24 semanas.

El estudio ULTRA 1<sup>240</sup> fue un ensayo clínico aleatorizado doble ciego controlado con placebo que incluyó una primera fase de 8 semanas en la que se evaluó respuesta a la inducción, y posteriormente un seguimiento de hasta 52 semanas. El estudio ULTRA 2<sup>241</sup> tuvo un diseño similar con una fase de inducción y posteriormente otra de mantenimiento durante 52 semanas. La diferen-

cia entre estos estudios consistió en que la fase de mantenimiento fue abierta en el ULTRA 1 y ciega en el ULTRA 2.

El estudio ULTRA 1 incluyó a pacientes con CU de moderada a grave sin respuesta al tratamiento con esteroides e IMM y naïve a biológicos que fueron aleatorizados a tres brazos de tratamiento con inducción de ADA en dos pautas diferentes de dosificación de 160 mg en semana 0 y 80 mg en semana 2, y 80 mg en semana 0 y 40 mg en semana 2, además de un tercer grupo tratado con placebo. El mantenimiento tras la inducción de ADA se realizó con 40 mg cada dos semanas. El objetivo primario que se evaluó fue el porcentaje de pacientes que alcanzó la remisión clínica en semana 8. Este porcentaje fue del 18,5% en el grupo que recibió la dosis más alta de ADA, significativamente mayor que el 9,2% del placebo ( $p$  0,031), aunque similar desde el punto de vista de significación estadística al 10% del grupo que recibió la dosis baja de ADA.

A diferencia del ULTRA 1, el estudio ULTRA 2 incluyó un 40% de pacientes que habían recibido previamente tratamiento anti-TNF $\alpha$ . En este estudio se excluyó la rama de tratamiento con la dosis baja de ADA, por lo que los pacientes se aleatorizaron en un grupo de 160 mg de ADA en semana 0 y 80 mg en semana 2, y posteriormente 40 mg cada 2 semanas, o bien en otro grupo tratado con placebo bisemanal durante 52 semanas. El objetivo primario evaluó el porcentaje de pacientes que logró la remisión clínica en semana 8, que fue del 16,5% en el grupo tratado con ADA, significativamente superior que el 9,3% del placebo ( $p$  0,019). Estas diferencias se mantuvieron en el seguimiento hasta semana 52, respectivamente con tasas de remisión del 17,3% frente al 8,5% ( $p$  0,004).

Las tasas de remisión alcanzadas con ADA resultaron significativamente más altas en los pacientes naïve a los anti-TNF $\alpha$  respecto a los que ya habían recibido previamente tratamiento con estos fármacos. En este mismo sentido, en los naïve a los anti-TNF $\alpha$  el porcentaje de pacientes que alcanzó la remisión clínica en la semana 8 entre los tratados con ADA fue del 21,3% frente al 11% de los que recibieron placebo, y en la semana 52 del 22% frente al 12,4%, respectivamente. Sin embargo, en el grupo de pacientes en los que había fracasado previamente al tratamiento anti-TNF $\alpha$ , en la semana 8 el porcentaje que alcanzó la remisión en el grupo tratado con ADA fue del 9,2%, similar desde el punto de vista de significación estadística al 6,9% del placebo. Solo se observaron diferencias en el mantenimiento con el biológico, con resultados del 10,2% frente al 3%, respectivamente ( $p$  0,03). También en la consecución de los objetivos secundarios de respuesta clínica y cicatrización mucosa, ADA resultó más eficaz que placebo en el grupo de pacientes que no habían estado expuestos previamente a anti-TNF $\alpha$ . Sin embargo, no hubo diferencias signifi-

cativas entre el grupo tratado con ADA y el tratado con placebo en el logro de la respuesta clínica y en la inducción de la cicatrización mucosa en los que había fracasado previamente el tratamiento con anti-TNF $\alpha$ .

Los autores de estos estudios pivotaes a partir de los que se aprobó el uso comercial de ADA en CU concluyeron que el fármaco a la dosis de inducción de 160/80 mg seguidos de 40 mg cada 2 semanas en el mantenimiento, la misma dosificación aprobada para EC, es eficaz en el tratamiento de la CU. No obstante, se desconoce si una dosis más alta de ADA en la inducción habría permitido obtener mejores resultados.

Tampoco se ha evaluado si una dosis más elevada en el mantenimiento, por ejemplo 40 mg/semana, se habría asociado con una mayor respuesta. De hecho, se están desarrollando en la actualidad varios ensayos clínicos para evaluar esa posibilidad tanto en la inducción como en el mantenimiento. La razón por la que la dosis de mantenimiento de 40 mg semanal no se ensayó en CU fue que el estudio de esta dosis en EC no mostró diferencias entre las de mantenimiento de 40 mg cada 2 semanas y 40 mg cada semana.

Diversos estudios observacionales realizados con datos de práctica clínica habitual han mostrado la efectividad del ADA en los pacientes con CU, con respuestas superiores a las mostradas en los estudios principales.

Por último, no está bien establecido el posible beneficio del cotratamiento simultáneo con fármacos IMM durante el mantenimiento. Recientemente se ha publicado por Reenaers<sup>242</sup> un estudio retrospectivo, aunque en pacientes con EC, cuyos resultados sugieren que el tratamiento combinado durante los 6 primeros meses mejora la respuesta al ADA y disminuye la necesidad de aumento de la dosificación del tratamiento en el largo plazo.

## 7. SEGURIDAD EN LOS TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

La propia naturaleza de los biológicos anti-TNF $\alpha$  y la aparición de diversos problemas de toxicidad han planteado dudas razonables sobre su seguridad. No obstante, probablemente hay más de un factor implicado en esta cuestión, como las medicaciones concomitantes, especialmente IMM y esteroides, así como la propia evolución de la EII de base.

Entre las patologías que debemos considerar al evaluar la seguridad de la terapia biológica están las infecciones oportunistas, y especialmente la reactivi-

vación de TBC latente, los fenómenos de autoinmunidad, y también la aparición de neoplasias, especialmente los procesos linfoproliferativos.

Los efectos adversos observados durante la administración de IFX incluyen reacciones infusionales, reacciones de hipersensibilidad retardada, formación de anticuerpos antiquméricos humanos, formación de anticuerpos anti-nucleares y anti-DNA de doble cadena y más raramente la aparición de lupus inducido por drogas (*lupus-like*). Existe también un incremento de la tasa absoluta de infección, y ocasionalmente la aparición de infecciones graves que incluyen neumonías, TBC, infección por *Pneumocystis jiroveci* (antiguo *carinii*), listeriosis, histoplasmosis, coccidiomicosis o aspergilosis.

Precisamente por el riesgo de reactivación de TBC latente se recomienda de forma obligatoria la realización de test cutáneos con PPD previamente al inicio del tratamiento, obligando a hacer dos test en aquellos pacientes inmunodeprimidos para soslayar los falsos negativos que pudiera provocar la anergia cutánea debida a dicha inmunosupresión o bien a emplear determinaciones de IFN $\gamma$  que emplean antígenos del *Mycobacterium*.

Las estrategias disponibles para evitar o controlar las reacciones se basan fundamentalmente en la terapia programada en lugar de la terapia episódica o a demanda, la medicación previa a la infusión del biológico con hidrocortisona y antihistamínicos, y los IMM concomitantes, que disminuyan la inmunogenicidad, todo ello unido a una administración cuidadosamente monitorizada por personal especialmente cualificado para ello.

Por otro lado, ADA se emplea desde hace más de una década en diferentes ensayos clínicos y su uso comercial para EC está autorizado por la FDA y la EMA desde 2007 y desde 2012 para CU. Tiene un perfil adecuado de seguridad y tolerancia en las diferentes entidades patológicas para las que está aprobado su empleo como AR, espondilitis anquilosante y psoriasis. El perfil de seguridad de ADA para la EC, según las conclusiones publicadas en un reciente metaanálisis es comparable con el de IFX, sin observarse diferencias con placebo para el desarrollo de infecciones, neoplasias o muertes<sup>243,244</sup>.

Además, la amplia experiencia clínica ha formado una gran base de datos donde se incluyen los eventos adversos relacionados con la seguridad en los principales ensayos realizados con ADA en EC. El análisis de seguridad publicado por Colombel<sup>245</sup> con los pacientes incluidos, progresivamente mayor, muestra una incidencia de efectos adversos similar o incluso menor que placebo. La publicación de resultados de estudios de registro específicamente diseñados para la observación de eventos adversos en el seguimiento a largo plazo, PYRAMID para EC y LEGACY para CU, ampliarán notablemente los datos

hasta el momento. El desarrollo de neoplasias y de infecciones por gérmenes oportunistas en el grupo de pacientes tratados con ADA es menor del 2% y la incidencia de TBC menor del 0,1%.

## 7.1 INMUNOGENICIDAD DE INFLIXIMAB

Existe controversia respecto a la manera más eficaz de usar los anticuerpos frente al  $\text{TNF}\alpha$ . El empleo de IFX a largo plazo se ha asociado con pérdida de respuesta progresivamente más frecuente y con reacciones alérgicas, atribuibles ambos hechos al desarrollo de anticuerpos frente al IFX. Esto abre un debate respecto a la estrategia más apropiada para minimizar su aparición de dichos anticuerpos.

La administración de cualquiera de los dos agentes anti- $\text{TNF}\alpha$ , especialmente IFX debido a su 25% de peso molecular de origen murino, conduce al desarrollo de anticuerpos contra estas proteínas que el sistema inmune identifica correctamente como exógenas. La presencia de estos anticuerpos oscila desde el 6% al 15% de los pacientes<sup>12</sup>, y parece ser la base de la aparición de reacciones infusionales, el desarrollo de fenómenos de autoinmunidad y la pérdida de eficacia del tratamiento en el largo plazo<sup>246</sup>.

Las reacciones infusionales son poco frecuentes, apareciendo en el 5% al 10% de las infusiones, y el manejo de las mismas es sencillo con antihistamínicos y esteroides de vida media corta como hidrocortisona, por lo que es excepcional la suspensión definitiva del uso del anti- $\text{TNF}\alpha$  por este motivo. La premedicación con hidrocortisona, el uso concomitante de IMM y la administración programada y no episódica o a demanda del tratamiento de mantenimiento con el biológico genera un menor número de anticuerpos anti-IFX y de reacciones infusionales<sup>247</sup>. Un estudio francés de Lamireau<sup>248</sup> multicéntrico y retrospectivo que incluyó 88 niños demostró una tasa global de reacción infusional en el estudio del 22% durante el seguimiento, siendo los síntomas típicos de la misma disnea, dolor torácico, rubor y urticaria.

Las reacciones a la infusión se dividen en agudas y tardías. Ambos tipos de reacciones pueden tener diferente gravedad en función del estado general del paciente y los síntomas y signos acompañantes.

Las reacciones agudas ocurren en las primeras 24 horas de la infusión, y con mayor frecuencia en las primeras 4 horas, y suelen ser de tipo no anafiláctico y no mediadas por IgE. Los síntomas incluyen sudoración, taquicardia, sensación de opresión torácica, disnea y *rash* cutáneo. La asociación de bron-

coespasmo y urticaria sugeriría la presencia de una verdadera reacción tipo anafiláctico y la reinfusión del fármaco y el subsiguiente tratamiento de mantenimiento con el mismo no serían posibles. La mayoría de los pacientes con una reacción aguda pueden tratarse sin suspender la infusión del IFX. En general con la interrupción temporal o la disminución de la velocidad de infusión, suero-terapia, antihistamínicos y esteroides se consiguen controlar los síntomas. En casos excepcionales en los que se presenta una verdadera reacción de tipo anafiláctico se debe suspender la infusión y monitorizar los signos vitales, además de los tratamientos descritos previamente, siendo opcional el empleo de adrenalina. En estos casos está indicado el cambio al otro anti-TNF $\alpha$  sin fracción murina, como ADA.

Las reacciones tardías ocurren en los 14 días siguientes a la infusión, principalmente entre los días 5 y 7, y se caracterizan por eritema cutáneo, dolor muscular y articular, astenia y ocasionalmente fiebre. Se trata de reacciones inmunes mediadas por inmunocomplejos como los que caracterizan la "enfermedad del suero", aunque sin lesión asociada en órganos diana. No hay un protocolo para el tratamiento de las reacciones tardías. Dado que están basadas en la aparición de complejos inmunes solubles, y que estos podrían disminuirse con el incremento en la cantidad del antígeno que los provoca, se pueden solucionar aumentando la dosis de IFX, o disminuyendo el intervalo entre las sucesivas infusiones. Sin embargo no hay datos publicados que evalúen la eficacia esta estrategia, y el tratamiento de estas reacciones se basa en la disminución de la velocidad de infusión con lo que se reduce la formación de inmunocomplejos y la premedicación con antihistamínicos y esteroides de vida media corta.

Datos procedentes de subanálisis de ensayos clínicos y de estudios prospectivos de cohortes han mostrado que la terapia con IFX episódica o no programada provoca la aparición más frecuente de anticuerpos anti-IFX que el tratamiento programado. También la administración concomitante de IMM en terapias combinadas junto con las infusiones de IFX programadas disminuye los efectos adversos consecuencia de la inmunogenicidad.

Las tasas de formación de anticuerpos anti-IFX con el tratamiento episódico son aproximadamente del 25-30%<sup>249,250</sup>. Sin embargo, los pacientes que reciben terapia de mantenimiento programadas cada 8 semanas tienen tasas de anticuerpos inferiores al 5%. Maser<sup>251</sup> evaluó 105 pacientes con EC que recibieron 5 mg/kg de IFX tanto como mantenimiento programado como de forma episódica. Se midieron tanto los anticuerpos anti-IFX como los niveles séricos de IFX a lo largo del tratamiento, con un seguimiento medio de 23 meses. Los resultados mostraron que tras una media de 14 infusiones, los pacien-

tes con infusiones episódicas tuvieron una concentración de anticuerpos anti-IFX del 39%, mayor que el 16% de aquellos que recibieron terapia programada. Los niveles de estos anticuerpos preinfusionales se han relacionado de una manera inversamente proporcional con la duración de la respuesta clínica<sup>252</sup>, y la terapia episódica también se asoció a tasas más altas de reacciones infusionales. De forma esperable, los índices de remisión clínica fueron también mayores en los individuos con concentraciones mayores de IFX sérico. La estratificación por la presencia o ausencia de inmunosupresión concomitante demostró que el cotratamiento con IMM parece proteger del desarrollo de anticuerpos anti-IFX en el grupo episódico, pero no tanto en el grupo que recibió terapia programada. Existe un potencial sesgo consecuencia de subanálisis *post-hoc* de pequeños grupos en el seno de un estudio observacional, por lo que los resultados no deben generalizarse.

No obstante, otro estudio de Schnitzler<sup>253</sup> con una cohorte mucho más numerosa de 614 pacientes con EC tratados con IFX apuntaló los hallazgos mostrados por Maser. Los pacientes fueron seguidos prospectivamente durante una media de 55 meses tras administrar IFX de forma programada y episódica. El análisis de subgrupos de pacientes recibiendo o no IMM sugirió un beneficio mayor de la inmunosupresión en el grupo con terapia episódica, dada la ausencia de diferencias en la aparición de reacciones infusionales, duración de la respuesta y tasas de remisión clínica con el tratamiento de mantenimiento con y sin IMM.

Este mismo equipo investigador había mostrado previamente datos en una publicación de Van Assche<sup>254</sup> que sugerían que los pacientes pudieran requerir la asociación con IMM sólo durante los primeros 6 meses para proteger contra la inmunogenicidad. En este pequeño ensayo controlado, 80 pacientes tratados con IFX fueron seguidos prospectivamente recibiendo todos ellos inmunosupresión concomitante durante los primeros 6 meses. Además, los pacientes fueron aleatorizados para continuar con IMM o no. El objetivo primario fue detectar diferencias en la pérdida de respuesta o en la necesidad de intensificación de tratamiento entre ambos grupos de pacientes. Al final del seguimiento no hubo diferencias significativas en la evolución clínica, pero el brazo de retirada de IMM tuvo menores niveles séricos de IFX a lo largo del tratamiento y mayor título de anticuerpos anti-IFX. Esto sugiere que quizá la terapia inmunosupresora sólo sería necesaria durante los 6 primeros meses.

No obstante, datos publicados posteriormente han sugerido la ampliación del intervalo útil de la terapia combinada biológico-inmunosupresor hasta los 12 meses. Sin embargo, en un segundo análisis *post-hoc* del programa de desarrollo de IFX realizado por Lichtenstein<sup>255</sup> no había ventajas aparentes en la

eficacia clínica, en los estudios ACT 1 y 2 o en el ACCENT I para los pacientes con inmunosupresión concomitante.

No se ha encontrado relación entre el desarrollo de anticuerpos anti-IFX y otros factores como el sexo, el estatus de fumador del paciente, la localización de la enfermedad o el uso de otros tratamientos coadyuvantes como salicilatos o esteroides. De acuerdo con la aparición excepcional, pero de gran impacto clínico, de efectos adversos consecuencia de la administración en el largo plazo de múltiples IMM, incluyendo las descritas previamente como infecciones graves, linfomas no-Hodgkin, o el linfoma hepatoesplénico de células T, los resultados de amplios ensayos como SONIC<sup>256</sup> y COMMIT podrían ser relevantes en la práctica clínica en la toma de decisiones sobre la idoneidad y duración de terapias combinadas.

## 7.2 INMUNOGENICIDAD DE ADALIMUMAB

En los distintos ensayos clínicos realizados, los pacientes con EC tratados con ADA presentan una baja incidencia de anticuerpos anti-ADA, con cifras del 0,7 en el estudio CLASSIC I y del 2,6% en el estudio CLASSIC II. La incidencia de estos anticuerpos en los estudios realizados en AR es mayor, situándose en torno al 5,5%, siendo más frecuente en los pacientes en monoterapia con ADA por la conocida disminución de la inmunogenicidad de los biológicos en presencia de cotratamiento inmunosupresor, bien con agentes tiopurínicos o bien con metotrexato (MTX).

Mientras que el desarrollo de inmunogenicidad durante el tratamiento con IFX se ha relacionado con el incremento del riesgo de reacciones infusionales y la pérdida de efecto del tratamiento<sup>250</sup>, no está claro en qué medida los anticuerpos anti-ADA puedan comprometer la eficacia y el mantenimiento de la respuesta en los pacientes con EC, aunque en una serie con bajo número de pacientes publicada por West<sup>257</sup> sí se describen cifras más altas de anticuerpos anti-ADA de hasta el 17% y su relación con el fracaso al tratamiento.

Las reacciones cutáneas en el sitio de la inyección aparecen con el ADA en forma de dolor local, eritema, sensación urente y prurito. Estos síntomas aparecen principalmente durante la pauta de inducción, cuando las dosis son más altas. Se han descrito reacciones similares con otros biológicos subcutáneos con dianas terapéuticas diferentes, por lo que podrían ser reacciones inherentes a la administración subcutánea de moléculas de peso elevado o de ciertos excipientes.

El uso de IFX y ADA provoca apoptosis celular y libera a la circulación cantidades relevantes de ADN y otros componentes intracelulares. Esta liberación provoca la activación de fenómenos autoinmunes y la formación de anticuerpos, especialmente contra el factor nuclear (ANA) y anti-DNA<sup>258</sup>. La presencia de ANA se ha detectado hasta en el 56,7% de los pacientes tratados con IFX, incluso un año después de la última infusión, y se asocia principalmente con el sexo femenino y las manifestaciones cutáneas. No obstante, la relevancia clínica de estos fenómenos autoinmunes es muy limitada. En una serie de 125 pacientes, solamente dos pacientes manifestaron un cuadro de *lupus-like* y en ninguno de ellos se verificó daño tisular<sup>259</sup>. Recientemente se ha publicado un caso de pericarditis con ANA y anti-DNA positivos en un paciente con EC en tratamiento con IFX durante 8 meses y que respondió a la interrupción del fármaco<sup>260</sup>. Tampoco la presencia de ANA y anti-DNA está asociada al desarrollo de otros autoanticuerpos tanto órgano-específicos como no órgano-específicos<sup>261</sup>.

### 7.3 INFECCIONES

Las infecciones son el evento adverso más frecuente en pacientes con EC y CU bajo tratamiento anti-TNF $\alpha$ . La aparición de infecciones depende de diversos factores entre los que se cuenta el estado general provocado por la propia EII de base, los fármacos empleados en su tratamiento, especialmente esteroides, el nivel de nutrición y también las posibles complicaciones postquirúrgicas<sup>262</sup>. Las infecciones son la segunda causa de muerte en pacientes con EC y CU<sup>263</sup>.

En los ensayos clínicos pivotaes<sup>155,160</sup> se detectó que aproximadamente un tercio de los pacientes tratados sufrieron alguna infección, resultados congruentes con los datos publicados sobre el empleo de biológicos en Reumatología<sup>264</sup>. El bloqueo de los receptores del TNF $\alpha$  producido por IFX y ADA, junto con la inducción de apoptosis celular, son factores esenciales en la respuesta inmune a las infecciones, especialmente en casos de patógenos intracelulares, entre los que se cuenta la TBC<sup>265</sup>.

La tasa de infecciones en pacientes con EC y CU tratados con IFX alcanza hasta el 52% según el registro de seguridad de Centocor, propietario de la patente. El hecho de que estos pacientes tengan una enfermedad basal potencialmente debilitante, junto con el eventual empleo de otras terapias inmunomoduladoras, especialmente esteroides e IMM, genera una significativa confusión a la hora de atribuir el peso relativo a cada factor promotor de eventos in-

fecciosos. El registro de seguridad TREAT de pacientes con EC bajo tratamiento con IFX evidencia un número de infecciones graves del doble en el grupo tratado con IFX respecto a los controles no tratados con biológico anti-TNF $\alpha$ . Sin embargo, en el análisis de factores independientes<sup>266</sup>, el uso de esteroides, el uso de analgésicos opioides y la propia gravedad de la EII son los únicos factores independientes de riesgo de infecciones graves. Resultados similares se han publicado en el ámbito de Reumatología y en seguimiento a largo plazo de series con gran número de pacientes incluidos<sup>267,268,269</sup>. También el registro europeo ENCORE confirma que las infecciones graves son más frecuentes en el grupo de pacientes con EC tratados con IFX, aunque sin mostrar significación estadística.

La mayoría de las infecciones interesan al tracto respiratorio o urinario y son de carácter leve. No obstante, los casos de infecciones graves incluyen neumonía, sepsis, TBC, infecciones por hongos e infecciones oportunistas. El *odds ratio* de infecciones graves bajo IFX varía de 2,0<sup>270</sup> a 4,4<sup>271</sup>. Por ello es recomendable emplear los fármacos anti-TNF $\alpha$  con precaución en pacientes con sospecha de infección activa o en casos de infección crónica o recidivante. En los pacientes con EC se debe investigar la posibilidad de infección perianal o intraabdominal latente y proceder al drenaje de abscesos o administrar antibióticos en aquellos casos indicados antes de comenzar el tratamiento biológico<sup>272</sup>.

La TBC es la infección más directamente relacionada con la terapia anti-TNF $\alpha$  y plantea una serie de retos en cuanto a su manejo profiláctico y terapéutico. En 2001, al inicio de la incorporación de las terapias biológicas en EC y CU, ya se habían detectado hasta 70 casos de TBC en una población tratada de 147.000 pacientes con EC y AR. Estas cifras suponían una elevada incidencia de 48 casos por 100.000 pacientes, cuando la cifra estimada para la población sin esas patologías ni tratamientos era de tan solo 20 por 100.000<sup>273</sup>. Estos resultados se elevaron aún más en estudios de población española con AR tratados con IFX, donde el riesgo relativo de TBC para esa población era de 19,9<sup>274</sup>. También en una serie de pacientes reumatológicos en Suecia el riesgo de TBC era cuatro veces superior al riesgo de la población sana<sup>275</sup>. No obstante, no hay casos de TBC descritos en el registro TREAT ni en el estudio de la Clínica Mayo sobre 500 pacientes con EC tratados con IFX<sup>266,268</sup> por lo que las incidencias pueden variar según los distintos grupos poblacionales referenciados, influyendo tanto la localización geográfica como la prevalencia previa de la infección, o los hábitos y conductas socio-sanitarias de la población general.

En la infección por *Mycobacterium tuberculosis* el TNF $\alpha$  es indispensable para la defensa inmune contra el patógeno<sup>276,277</sup> y para el desarrollo y mante-

nimiento del granuloma, clave para limitar la extensión de la infección aunque la mantenga indefinidamente latente<sup>278</sup>. En este grupo de población, que puede llegar a ser un tercio de la población mundial, el tratamiento con anti-TNF $\alpha$  produce potencialmente la reactivación de la enfermedad latente por la liberación de los bacilos acantonados en los citados granulomas. Esta nueva infección activa ocurre habitualmente en los tres primeros meses de tratamiento con anti-TNF $\alpha$  y tiene una notable expresión extra-pulmonar o se presenta como enfermedad diseminada<sup>279,280</sup>.

Aunque hay menos datos de reactivación de TBC con ADA, es probable que la incidencia sea similar a la de IFX debido a su idéntico mecanismo de acción. Los casos descritos en la literatura así como las referencias de reumatología<sup>281</sup> y del estudio CHARM<sup>219</sup> confirman esta inferencia.

Todos estos datos obligaron a incrementar las medidas de profilaxis para disminuir el riesgo de reactivación de TBC. Actualmente es obligatorio el cribado de infección latente por TBC previamente al inicio del tratamiento anti-TNF $\alpha$ . Los pacientes con un cribado positivo deben hacer tratamiento profiláctico con un tuberculostático, generalmente isoniazida asociada a vitamina B6, aunque dicha profilaxis no excluya completamente la posibilidad de la reactivación de la TBC citada<sup>282</sup>. Se han publicado múltiples estrategias de prevención, todas ellas basadas en una anamnesis dirigida a la búsqueda de contactos de TBC antiguos, grupos de riesgo y poblaciones o regiones con mayor incidencia. Es indispensable realizar una radiografía de tórax en dos proyecciones y al menos un test cutáneo de tuberculina. Para evitar un falso negativo consecuencia de la anergia cutánea, especialmente presente con fármacos IMM, especialmente esteroides, y un estado nutricional deficiente, se recomienda en estos casos realizar una segunda reacción cutánea denominada *booster*<sup>283</sup>. En estos individuos inmunodeprimidos también puede emplearse como test de cribado el Quantiferon, que consiste en una determinación de IFN $\gamma$  que emplea antígenos del *Mycobacterium* que no están presentes en la vacuna con *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) por lo que tiene una gran especificidad en sujetos previamente vacunados. Sin embargo, no mejora los resultados de un test cutáneo de tuberculina positivo.

La recomendación en los pacientes con resultado positivo es iniciar tratamiento isoniazida durante 6 a 9 meses, no empezando el biológico anti-TNF $\alpha$  hasta no haber concluido al menos el primer mes de tratamiento quimioprofiláctico. Otras alternativas son rifampicina u otros tuberculostáticos combinados con diferentes esquemas posológicos. En caso de TBC activa durante el tratamiento con anti-TNF $\alpha$  debe suspenderse la administración del biológico e ini-

ciar de inmediato tratamiento específico para TBC. El fármaco biológico no deberá reintroducirse hasta que la infección no esté completamente controlada.

La introducción del cribado previo y de la quimioprofilaxis ha disminuido significativamente la incidencia de TBC<sup>284,285</sup>. En la amplia experiencia del grupo de Leuven publicada por Fidler<sup>286</sup> se siguió a un grupo de 734 pacientes con EC y CU tratados con IFX durante un periodo de 14 años, diagnosticándose solo dos casos de TBC en pacientes con cribado previo negativo, y ningún caso nuevo entre los 16 pacientes con prueba cutánea de tuberculina positiva y quimioprofilaxis realizada.

Respecto a otras infecciones oportunistas, el uso más frecuente de IMM y biológicos en el tratamiento de EC y CU ha aumentado la frecuencia de las mismas, de las que el 26% son infecciones por herpesvirus<sup>287</sup>. Las infecciones oportunistas están provocadas por gérmenes poco habituales en situaciones de inmunocompetencia o bien son infecciones clínicamente graves producidas por patógenos que usualmente producen una enfermedad de carácter leve.

Las causas que aumentan la incidencia de estas infecciones dependen probablemente de múltiples factores, desde la propia situación de la EII de base y el empleo de tratamientos, así como cirugías recientes, estados nutricionales deficitarios y condiciones higiénico-sanitarias particulares. Un reciente estudio de factores de riesgo de infecciones oportunistas en 100 pacientes con EC y CU determinó que el uso de esteroides, IMM e IFX se relacionaba con un mayor riesgo de infecciones, y que este riesgo aumentaba cuando se usaban de forma combinada. El *odds ratio* para infecciones oportunistas empleando un solo fármaco de los citados es de 2,9, y se eleva a 14,5 cuando se combinan dos o más. La edad superior a 50 años también es otro factor de riesgo para este tipo de infecciones<sup>271</sup>.

Se han descrito casos de primoinfección o reactivación de herpesvirus en pacientes con EII inmunosuprimidos con agentes tiopurínicos<sup>288,289</sup> y esta particularidad es consecuencia de la inducción de apoptosis de linfocitos T que provocan AZA y 6-mercaptopurina. No obstante, es llamativo que en pacientes con AR tratados con IFX no se haya detectado reactivación de herpesvirus<sup>290</sup>. El mayor riesgo con biológicos anti-TNF $\alpha$  es la reactivación de infecciones intracelulares, micobacterias descrita previamente y de otras infecciones que dependen la actividad de los macrófagos<sup>291</sup>.

*Listeria monocytogenes* es una bacteria Gram positiva intracelular que afecta a pacientes inmunodeprimidos, incluyendo niños, ancianos, trasplantados y gestantes. La resistencia innata a este patógeno está mediada por TNF $\alpha$  por lo que el tratamiento con anti-TNF $\alpha$ , y presumiblemente el empleo de otros

inmunodepresores, favorece la infección por esta bacteria. Hay casos descritos en Reumatología<sup>292</sup>, EC<sup>293</sup> y pacientes pediátricos con EII<sup>294</sup>. Los síntomas suelen aparecer pocos días después de la administración del biológico, frecuentemente con bacteriemia y meningoencefalitis, asociada o no a la presencia de abscesos cerebrales. *Listeria monocytogenes* es sensible a ampicilina, aminoglucósidos y trimetropim-sulfametoxazol, antibióticos no empleados generalmente como primera opción en cuadros graves o sepsis, por lo que se añade el riesgo de la pérdida de un valioso tiempo antes de iniciar un tratamiento eficaz con riesgo de complicaciones neurológicas y muerte.

También se han descrito infecciones invasivas por hongos secundarias al uso de biológicos anti-TNF $\alpha$  que incluyen candidiasis<sup>295</sup>, histoplasmosis<sup>268,296,297</sup>, coccidiomicosis<sup>295</sup>, aspergilosis pulmonar<sup>298</sup>, *Nocardia*<sup>160</sup>, esporotricosis<sup>299</sup> y *Pneumocystis jirovecii*<sup>300,301,302</sup>. En general las infecciones por estos hongos aparecen en pacientes que están en cotratamiento combinado con IMM. No hay vacunas para prevenirlas, y la profilaxis primaria no está indicada excepto en casos de CU tratada con ciclosporina mediante el uso de trimetropim-sulfametoxazol. Recientemente se ha planteado el uso de reacción en cadena de polimerasa para determinar la colonización por *Pneumocystis* en lavado de cavidad bucal en pacientes con EII grave o fulminante y también en pacientes con comorbilidades relevantes en los que podría ser útil la quimioprofilaxis de la infección antes del tratamiento con biológicos o IMM<sup>303</sup>.

Por último, y respecto a infecciones crónicas virales, También antes de comenzar el tratamiento con biológicos anti-TNF $\alpha$  es prudente determinar la serología de hepatitis B (VHB)<sup>304</sup> y C (VHC). La inmunodepresión especialmente relevante en lo que respecta al control de infecciones intracelulares como las virales que estos fármacos provocan facilitaría la replicación y la reactivación de la enfermedad hepática crónica<sup>305</sup> con desarrollo de insuficiencia hepática o fallo hepático fulminante<sup>306</sup>. La detección previa de infecciones no conocidas permitiría tratamiento precoz con los antivirales apropiados y la vacunación para VHB en los casos de serologías negativas. Dado que los nuevos antivirales de acción directa han relegado el uso de interferón en el tratamiento de la VHC, es menos importante actualmente la posibilidad de este fármaco de empeorar la EII. Respecto al efecto de los biológicos anti-TNF $\alpha$  sobre VHC, no está determinado aunque parece que no modifica evolución de la infección.

## 7.4 NEOPLASIAS

Existe numerosa información sobre la aparición de procesos linfoproliferativos en la EC, y su relación con la medicación inmunosupresora, especialmente IMM tiopurínicos, y con los biológicos anti-TNF $\alpha$ . No obstante, los datos son contradictorios y los seguimientos no son prolongados, por lo que las conclusiones pudieran no ser definitivas.

En pacientes con AR se ha observado un aumento del riesgo de desarrollar linfomas y otros tipos de neoplasias linfoproliferativas como leucemia y mieloma múltiple. Sin embargo, clásicamente se ha relacionado con la propia actividad inflamatoria crónica de la artritis<sup>307</sup>, el uso de IMM como tiopurinas y MTX, y también con biológicos anti-TNF $\alpha$ <sup>308,309</sup> como IFX, etanercept y ADA. Los resultados no son definitivos, pero la evidencia sugiere que el riesgo de linfoma podría aumentar en pacientes con AR tratados con anti-TNF $\alpha$ <sup>281</sup>. En un estudio sobre 18.572 pacientes con AR<sup>310</sup>, la incidencia global de linfoma se situó en 1,9, aumentando a 2,6 con el empleo de IFX. A pesar de esas sutiles diferencias iniciales, otro estudio sueco comparando dos cohortes de pacientes con AR, puso en evidencia un riesgo de linfoma del triple en el grupo tratado con anti-TNF $\alpha$  respecto a la población general. No obstante, dicho riesgo elevado era similar al de los pacientes con AR sin tratamiento biológico.

El amplio estudio de Lewis<sup>311</sup> con 6.605 pacientes con EC, 10.391 con CU y 60.506 controles sanos no mostró aumento de linfomas Hodgkin y no-Hodgkin respecto a la población general, detectándose una posible asociación con el uso de IMM tiopurínicos. Otro amplio estudio sueco publicado por Askling<sup>312</sup> sobre riesgo de neoplasias hematológicas en pacientes con EII incluyó 47.679 pacientes evidenció un leve incremento del riesgo de linfoma en EC y un aumento significativo del riesgo de leucemia mieloide en CU. Posteriormente, el metaanálisis de Kandiel<sup>313</sup> evaluó el riesgo de desarrollar linfoma entre la población con EII tratados con IMM tiopurínicos, observándose 11 nuevos casos de linfoma, lo que supuso un riesgo cuatro veces mayor que el esperado y presumiblemente relacionado con los tratamientos o con la propia actividad de la EII de base.

El riesgo de linfoma también ha sido determinado en pacientes con EII tratados con biológicos anti-TNF $\alpha$  con escasos resultados. En el registro TREAT<sup>266</sup> la incidencia de linfoma en el grupo tratado con IFX fue de 0,65 por 1.000 pacientes año frente a 0,57 en el grupo sin exposición a IFX. En el estudio sueco de Ljung<sup>269</sup> referenciado previamente en relación con las infecciones y realizado sobre 217 pacientes con EII tratados con IFX se diagnosticaron tres

casos de linfoma, lo que supuso una incidencia anual de 1,5% que contrastaba con la incidencia de 0,015% de la población general. Todos estos datos estiman una incidencia de linfoma en pacientes tratados con IFX que debiera estar entre 0,6 a 2 casos por 1.000 pacientes-año<sup>272</sup>.

Respecto a otras neoplasias en pacientes tratados con biológicos anti-TNF $\alpha$ , el estudio multicéntrico italiano de Biancone<sup>314</sup> que incluyó un total de 808 pacientes con EC en un grupo de 404 pacientes tratados con IFX y otro análogo pero sin tratamiento biológico, y con un amplio seguimiento de 5 años, mostró similares resultados respecto a la incidencia de neoplasias. En el grupo tratado con IFX se diagnosticaron 9 neoplasias nuevas (2,2%) mientras en el grupo sin IFX, el número de neoplasias fue de 7 (1,7%), sin significación estadística. El grupo belga de Leuven<sup>286</sup> publicó también sus resultados de seguridad de IFX analizando los resultados del tratamiento en un periodo de 14 años en dos grupos de pacientes, 734 tratados con IFX y 666 que no recibieron el biológico. Se demostró la aparición de 23 nuevas neoplasias en el grupo tratado con IFX, incluyendo 8 neoplasias cutáneas de tipo no melanoma, frente a 42 neoplasias, 5 de ellas cutáneas, en el grupo sin biológico, sin diferencias significativas entre los dos grupos.

Mención aparte merece la aparición de linfoma hepatoesplénico de células T, casi exclusivamente en pacientes con EC y especialmente varones adolescentes. Este raro linfoma parece relacionarse con los IMM y el tratamiento biológico anti-TNF $\alpha$ , con muy mal pronóstico a pesar de quimioterapia o trasplante de médula ósea. Los síntomas de sospecha son la presencia de hepatoesplenomegalia, dolor abdominal, fiebre, astenia y pérdida ponderal. Puede incluso remedar clínicamente una hepatitis autoinmune, aunque desafortunadamente con un pronóstico ominoso<sup>315</sup>. No suelen presentarse adenopatías periféricas, y en la analítica es frecuente la aparición de anemia, trombopenia y alteración de enzimas hepáticos. Este linfoma se describió por primera vez en 1990, tras lo cual se han comunicado centenares de casos<sup>316,317,318</sup>. De todos ellos solo una mínima parte han aparecido en pacientes tratados con anti-TNF $\alpha$ , aunque en 16 de ellos el motivo de tratamiento era la EII. Salvo un paciente que tenía AR y había recibido tratamiento con ADA, sin IMM tiopurínicos asociados, en todos los demás casos existía tratamiento combinado de IFX con AZA o 6-mercaptopurina. Dado que este tipo de linfoma no está descrito en la literatura dermatológica ni reumatológica donde se emplean biológicos anti-TNF $\alpha$ , salvo el caso citado previamente, pero que no emplean IMM tiopurínicos, se ha sugerido la importancia de esta última medicación en la etiopatogenia de este tumor. Probablemente el uso de anti-TNF $\alpha$  como monoterapia pueda ayudar a resolver este problema de seguridad relevante.

## 7.5 OTROS EVENTOS ADVERSOS

A pesar de la eficacia de los biológicos anti-TNF $\alpha$  en el tratamiento de la psoriasis, se han descrito casos de aparición de psoriasis paradójica o reacciones psoriasiformes en pacientes tratados con motivo de otras enfermedades<sup>319,320</sup>. No se conoce cuál puede ser el mecanismo de aparición de las lesiones, aunque se ha sugerido que la causa última pudiera ser un desbalance entre el TNF $\alpha$  y el IFN $\gamma$  de las células dendríticas cutáneas<sup>321</sup>. El tratamiento debe individualizarse según la gravedad de la reacción, iniciándose con medicación tópica y llegando en algunos casos a tener que retirar el anti-TNF $\alpha$ .

Respecto a la relación entre anti-TNF $\alpha$  e insuficiencia cardiaca congestiva, la presencia de niveles altos de TNF $\alpha$  en dicha patología y el hecho de la relación directamente proporcional de dichos niveles con la gravedad del fallo, llevó a plantear el tratamiento de estos pacientes con anti-TNF $\alpha$ . Los resultados de un estudio con IFX a dosis de 10 mg/kg fueron contrarios a la hipótesis inicial<sup>322</sup>. Una nueva revisión de la FDA sobre casos de insuficiencia cardiaca congestiva en pacientes tratados con anti-TNF $\alpha$ <sup>323</sup> confirmó 47 casos de los que 38 eran el primer episodio y los otros 9, una recidiva de episodios previos. Inicialmente, casi todos los pacientes habían recibido el biológico por enfermedad reumatológica y en la mitad de los casos no había factores de riesgo cardiovascular. De los 38 pacientes citados, 10 eran menores de 50 años, y tras suspender el IFX, todos mejoraron de sus síntomas cardiológicos excepto un caso de fallecimiento. También se han detectado casos en pacientes tratados con ADA<sup>281</sup> con una incidencia de 3 casos por 1.000 pacientes-año. Aunque todos estos pacientes también recibieron el biológico por enfermedad reumatológica, y se debe considerar la posibilidad de que la enfermedad de base tenga un efecto significativo, hay también casos descritos en EII. A la vista de estos resultados, la ficha técnica de ambos productos biológicos recogió la advertencia de seguridad y se deben tomar precauciones de cara a evitar el desencadenamiento o la reactivación de una insuficiencia cardiaca en pacientes susceptibles o con antecedentes de fallo cardíaco previo. En estas condiciones deben considerarse otras alternativas a la terapia anti-TNF $\alpha$ .

También el tratamiento biológico anti-TNF $\alpha$ , con independencia de la indicación reumatológica<sup>324</sup>, dermatológica<sup>325</sup> o digestiva<sup>326</sup> para su uso, se ha asociado con la posible aparición de enfermedades desmielinizantes, incluyendo esclerosis múltiple<sup>327</sup> y neuritis óptica<sup>328,329</sup>. Tanto la EC como la CU tienen un discreto mayor riesgo de enfermedades desmielinizantes<sup>330</sup> independientemente del tratamiento recibido, aunque la asociación con EC es mayor en pa-

cientes que no han sido tratados con IMM tiopurínicos. También ha sido descrito un número relevante de enfermedades desmielinizantes tras tratamiento con IFX<sup>331</sup>, ADA<sup>281</sup> y otros anti-TNF $\alpha$  no aprobados para EII y sí para otras enfermedades, y debe descartarse esta complicación ante la aparición de síntomas neurológicos<sup>332</sup> como parestesias, disestesias, debilidad muscular, inestabilidad, confusión y alteraciones visuales. La exploración mediante RMN cerebral es la técnica de elección para la confirmación del diagnóstico. Esta complicación suele mejorar o incluso desaparecer con la interrupción del biológico, aunque queda pendiente aclarar si la incidencia elevada en el grupo de pacientes con EII es similar entre los que reciben anti-TNF $\alpha$  y los que no.

Por último, las alteraciones hepáticas relacionadas con el tratamiento biológico anti-TNF $\alpha$ , diferentes de la reactivación de infecciones crónicas virales ya citadas incluyen afectación parenquimatosa tipo hepatitis aguda predominantemente colestásica<sup>333</sup> con diferentes grados de intensidad<sup>334</sup>. En general, la elevación de las transaminasas suele ser leve a moderada<sup>335</sup> y revierte al interrumpir el biológico. No suele acompañarse de manifestaciones clínicas ni de signos de insuficiencia hepática. Solo si los valores de transaminasas superan 5 veces el límite superior de la normalidad estaría indicada la interrupción del fármaco. También es cierto que muchos pacientes reciben de forma simultánea otras terapias potencialmente hepatotóxicas, especialmente IMM tiopurínicos, por lo que debe discernirse razonablemente el fármaco potencialmente causante antes de indicar la retirada empírica del biológico<sup>336</sup>.

## 7.6 GESTACIÓN

IFX está clasificado por la FDA como un agente clase B durante la gestación, lo que implica que no se ha demostrado riesgo para el feto en animales durante el primer trimestre y que no hay estudios controlados en mujeres embarazadas ni animales que demuestren este riesgo.

Teóricamente, la estructura quimérica del IFX, que contiene una región constante de inmunoglobulina humana G1, permite una baja transferencia transplacentaria del fármaco durante el primer trimestre<sup>337</sup>. No obstante, subclases de IgG pasan fácilmente al feto durante el segundo y tercer trimestres mediante un transporte activo basado en el receptor Fc, lo que podría cuestionar la seguridad del IFX administrado después de la vigésima semana de gestación. Afortunadamente, los datos disponibles, aunque limitados, sugieren que el tratamiento de la gestante con IFX no se asocia con evolución desfavorable de la gestación o riesgos para el recién nacido<sup>338,339</sup>.

Los dos mayores registros de seguimiento son el *TREAT Registry (Crohn's Therapy Resource Evaluation and Assessment Tool)*<sup>340</sup> y el *Infliximab Safety Database*<sup>341</sup> mantenido por Centocor. El *TREAT Registry* es una base de datos multicéntrica prospectiva constantemente actualizada de pacientes con EC que evalúa los resultados de seguridad de diversos tratamientos incluyendo terapias biológicas, aunque con la importante limitación de la información voluntaria de los efectos secundarios, lo que podría sesgar sus resultados en origen. Los pacientes pueden o no ser tratados con IFX. De los 5.807 pacientes incluidos, se documentaron 66 embarazos, 36 con exposición directa materna previa a IFX. No ocurrieron malformaciones fetales en ningún caso y las tasas de aborto (11,1% frente al 7,1%) y de complicaciones neonatales (8,3% frente a 7,1%) no fueron significativamente diferentes entre gestantes tratadas y gestantes *naïve* para IFX. En el grupo tratado con IFX era mayor la probabilidad de padecer enfermedad de moderada a grave, por lo que el empleo de esteroides e IMM, significativamente mayor, pudiera constituir un factor de confusión.

Existen múltiples casos publicados en la literatura de empleo de IFX durante la gestación (la mayoría con neonatos vivos<sup>342,343</sup> y sanos), pero escasas series con suficiente número de pacientes, lo que limita en su conjunto las conclusiones obtenidas de los datos. El primer estudio con uso deliberado de IFX a la dosis de 5 mg/kg durante el embarazo para la inducción y el mantenimiento de la remisión en EC data de 2005 y fue publicado por Mahadevan<sup>344</sup>. El resto de las exposiciones previas al biológico se debían a terapia de rescate en pacientes gravemente enfermas o bien a uso en una gestación aún inadvertida.

Dicho estudio constituyó un retrospectivo multicéntrico que incluyó diez mujeres con EC y un total de dieciocho embarazos, los diez casos índices y los posteriores en el seguimiento. Una paciente tenía antecedentes de un aborto terapéutico y otro espontáneo, y otra paciente había tenido un neonato muerto. Ocho de las pacientes recibían terapia de mantenimiento durante el embarazo, pero una de ellas decidió interrumpir la terapia una vez que se conoció la gestación, aunque debió reiniciarla por recidiva sintomática. De las dos pacientes *naïve* restantes, una inició IFX durante el tercer trimestre por un brote grave y la otra durante el primer trimestre por corticodependencia pero sin cumplimiento del mantenimiento posteriormente. Todos los embarazos concluyeron con un neonato vivo, sin malformaciones congénitas, retraso de crecimiento intrauterino o retraso ponderoestatural en un seguimiento medio de seis meses. Ocho de los embarazos finalizaron con cesárea, la mitad por enfermedad perianal, dos por enfermedad activa, uno por parto pretérmino y el último por cesárea previa. Hubo tres neonatos pretérmino y un neonato con bajo peso al nacer.

Por último, se registraron dos enfermedades perinatales, una ictericia y una úlcera gástrica, sin relación aparente con el uso de IFX, y tres infecciones maternas, una de vías respiratorias, una de tracto urinario y una vaginal por levaduras y estreptococos del grupo B.

En otro estudio, comunicado en forma de abstract por Schnitzler<sup>345</sup>, de uso deliberado de IFX durante el embarazo con 12 mujeres incluidas con exposición al fármaco desde al menos tres meses antes de la concepción y con indicación de continuar el tratamiento para mantener la remisión, se interrumpió el IFX a los seis meses de embarazo. Se registraron siete partos de neonatos sanos a término, una paciente tuvo dos embarazos consecutivos con un aborto a la semana 36 de gestación y un segundo neonato prematuro en la semana 34, sin definirse ni la causa del aborto ni la presencia o ausencia de anomalías congénitas, y otra paciente tuvo un parto de un neonato sano aunque prematuro en la semana 28, habiendo tenido un brote de actividad en la semana 9 de gestación. Todas las pacientes excepto dos, que perdieron respuesta y cambiaron la terapia por ADA, continuaron en tratamiento de mantenimiento con IFX.

La base de datos de seguridad de IFX es un registro retrospectivo mantenido por Centocor, propietario de la patente, de nuevo también a partir de informes voluntarios de efectos secundarios asociados con IFX<sup>346</sup> en las indicaciones para EC y AR. Existe cierto solapamiento entre los efectos secundarios informados en el registro TREAT con la base de datos de Centocor. A partir de esta última fuente de datos se conoce la exposición de 146 embarazos a IFX en cualquier momento del embarazo desde 3 meses antes de la concepción desde octubre de 1998 a octubre de 2002. También se incluye la exposición indirecta al fármaco por tratamiento del cónyuge de la gestante. Los resultados de la gestación están disponibles en 96 mujeres, el 85% de las cuales recibió el fármaco como tratamiento para la EC y en otras 10 gestantes adicionales expuestas indirectamente a través de su cónyuge. El 7% de las gestantes recibió IFX antes de los 3 últimos meses previos a la concepción, el 26% lo recibió dentro de dichos 3 meses previos, el 29% durante esos tres meses citados además de en el primer trimestre del embarazo, y el 31% sólo durante el primer trimestre. Solo en el 7% de casos se desconocía con exactitud la pauta por la cual la gestación quedó expuesta al fármaco. Los responsables del registro informaron que no existían diferencias entre los resultados observados en las mujeres tratadas respecto a la población general, con 68 nacidos vivos de 64 gestaciones, incluyendo cuatro parejas de gemelos. Además se registraron 14 abortos espontáneos, 8 de ellos antes de la semana 10, uno en la semana 15, uno en la semana 20, un neonato muerto en la semana 27 y tres sin precisar la

fecha de la pérdida de la gestación, además de 18 abortos terapéuticos, sin informe de anomalías congénitas de los fetos en esta base de datos.

Entre las alteraciones registradas se observaron cinco neonatos nacidos vivos pero con complicaciones: un neonato pretérmino de 24 semanas que falleció poco tiempo después de nacer por hemorragia intracraneal y pulmonar; una tetralogía de Fallot que se intervino quirúrgicamente y con buen estado al año de vida; una gestante que había sido ingresada al inicio del embarazo y tratada con esteroides, antibióticos, AZA y nutrición parenteral que tuvo un neonato con ictericia asociada a distrés respiratorio, aunque sin aparentes alteraciones congénitas y con buena evolución a los 9 meses de seguimiento; una malrotación intestinal asociada a leflunomida, un inmunosupresor contraindicado durante la gestación; y un par de gemelos diagnosticados de hipotiroidismo y retraso en el desarrollo, sin datos del seguimiento posterior. En lo que respecta a las malformaciones descritas, las que afectan al corazón tienen una incidencia de 1/100 nacidos vivos, y concretamente la tetralogía de Fallot de 1/2.000, y la malrotación intestinal tiene una incidencia de 1/500 nacidos vivos, por lo que es difícil poder atribuir su aparición sólo a la exposición al fármaco.

Los resultados globales se compararon con dos cohortes históricas, los resultados gestacionales de la población caucásica de Estados Unidos entre 1976 y 1996, y un registro escocés de pacientes con EC entre 1967 y 1986. El registro estadounidense evidenció un 67% de neonatos vivos, un 17% de abortos espontáneos y un 16% de abortos terapéuticos, lo que no fue diferente de manera significativa de los resultados del registro comunicado por Centocor, con datos del 66,7%, 14,6% y 18,7%, respectivamente.

IFX tiene capacidad de paso transplacentario como el resto de inmunoglobulinas. La IgG es transportada precozmente a través de la placenta mediante proteínas ligadoras de inmunoglobulinas ya al final del primer trimestre, si bien es cierto que la eficacia de este transporte es inicialmente baja. A medida que el embarazo avanza, el paso de inmunoglobulinas maternas se vuelve tan efectivo que alcanza mayores concentraciones en el suero fetal que en el materno. Dado que el 57% de los abortos espontáneos del registro de Centocor son anteriores a la semana 10, es probable que se deban más a la propia actividad de la EII de base que al paso del fármaco a través de la placenta.

El caso de una madre de 32 años de edad en tratamiento con IFX publicado por Vasiliauskas<sup>347</sup> puede ilustrar con más detalle el paso del anti-TNF $\alpha$  a través de la placenta. La paciente padecía EC con patrón inflamatorio que afectaba el tracto digestivo superior, al íleon y al colon, y además era intolerante a tiopurinas. En los dos embarazos anteriores había presentado brotes cortico-

resistentes que complicaron los respectivos partos. Finalmente, IFX a una dosis de 5 mg/kg había conseguido el control de la EC, aunque posteriormente precisó una escalada de dosis hasta 10mg/kg. Durante su tercer embarazo recibió 5 infusiones de IFX cada 6 a 8 semanas, con la última infusión dos semanas antes del parto vaginal de un neonato sano a la semana 41 de gestación. Los niveles séricos de IFX seis semanas después del parto fueron de 40 µg/mL y 39,5 µg/mL en suero materno y neonatal respectivamente, no detectándose IFX en leche materna en las diversas muestras analizadas. Esas cifras en el neonato eran relevantes desde el punto de vista terapéutico, aunque el estudio posterior demostró una adecuada maduración del sistema inmunológico, con subpoblaciones de linfocitos B y T, niveles de IgA, IgM e IgG, respuesta linfoproliferativa *in vitro* a mitóticos inespecíficos y respuesta a vacunación estándar. A lo largo de los seis meses posteriores se apreció un descenso lento aunque paulatino de los niveles séricos neonatales del fármaco, a pesar de nuevas infusiones en la madre, por lo que se concluyó que la lactancia era razonablemente segura y el fármaco había pasado previamente por el mecanismo placentario antes referido. El lento descenso del título del biológico puede explicarse además por un bajo aclaramiento sérico común a todas las inmunoglobulinas en los recién nacidos.

En otro estudio posterior de Mahadevan<sup>348</sup> sobre 5 gestantes con EII se analizaron los niveles de IFX en el sexto mes de embarazo y en muestras maternas, neonatales y de cordón umbilical al nacimiento. La media de tiempo entre el nacimiento y la última dosis del anti-TNF $\alpha$  fue de 30 días, con un rango de 2 a 91 días, siendo detectable en los niños hasta los seis meses de vida.

En cuanto a la seguridad de ADA durante el embarazo, también es considerado de categoría B según la FDA, sin teratogenicidad demostrada en animales de experimentación y con información limitada en humanos. Los datos sobre su uso en la gestación son más limitados que los de IFX debido a su más reciente aparición en el arsenal terapéutico, a pesar de lo cual ya se han publicado casos aislados de pacientes con EC tratados exitosamente con ADA durante el embarazo.

En el primer caso publicado por Vesga<sup>349</sup>, una mujer de 34 años con EC ileocolónica y perianal de larga evolución con actividad grave en el momento de la concepción presentó intolerancia a tiopurínicos y perdió respuesta a IFX por lo que se empleó ADA desde un mes antes de la concepción. La paciente recibió 38 dosis de 40 mg semanalmente con una mejora discreta de la EC en el tercer trimestre, acompañada de reducción de las dosis de esteroides. Se practicó una cesárea en la semana 38 debido a la enfermedad perianal, sin eviden-

ciarse complicaciones y con un neonato sano hasta los seis meses de seguimiento, incluyendo lactancia durante el tratamiento con el fármaco biológico.

En el segundo caso publicado por Mishkin<sup>350</sup>, una mujer de 35 años con EC ileocolónica y colectomía subtotal con anastomosis ileorrectal y múltiples intolerancias y ausencias de respuesta a farmacoterapia previa, entre la que se encontraba IFX, rechazó el uso de MTX indicado para control de un nuevo brote de actividad. Recibió 80 mg de ADA como dosis inicial y posteriormente 40 mg a semanas alternas con buen resultado, y siete meses después de iniciar el tratamiento con ADA quedó embarazada. Precisó ingreso hospitalario en semana 20 por dolor abdominal y fiebre atribuidas a brote de actividad que se trató con esteroides. Tuvo un parto a término por vía vaginal con un neonato sano a los seis meses de seguimiento, incluyendo lactancia durante el tratamiento con el fármaco biológico.

En el tercer caso publicado por Coburn<sup>351</sup>, una mujer de 34 años con EC activa sobre un reservorio ileoanal practicado previamente por diagnóstico de CU y con resistencia a múltiples tratamientos incluidos budesonida y prednisona oral, además de una reacción infusional previa a IFX, presentó brote de actividad que coincidió con diagnóstico de gestación de 6 semanas. En semana 17 presentó intensificación de la clínica por la que se prescribieron esteroides a dosis plenas sin respuesta, por lo que comenzó tratamiento en semana 20 con AZA y ADA 80 mg iniciales y 40 mg a semanas alternas, con buena respuesta al tratamiento biológico e inmunosupresor combinado. Logró entrar en remisión sin esteroides en semana 32, dando a luz a un neonato sano de 2,9 kg de peso en la semana 38. En el seguimiento a un año ambos se encontraban sanos.

Por otro lado, el grupo OTIS (*Organization for Teratology Information Specialists*) ha presentado resultados del seguimiento realizado durante el embarazo y tras el primer año postparto del grupo de gestantes expuestas directamente a ADA por diferentes entidades patológicas de base autoinmune, y con información disponible sobre seguridad con datos tranquilizadores respecto a su empleo durante el embarazo<sup>352</sup>. La proporción de embarazos que concluyó con aborto espontáneo o neonato muerto fue comparable entre ambos grupos expuestos a ADA y dos grupos control pareados con la correspondiente enfermedad y controles sanos.

## 8. PREDICTORES DE RESPUESTA CLÍNICA

Como consecuencia de que tanto en la EC como en la CU existen pacientes sin una respuesta completa a biológicos anti-TNF $\alpha$ , el escalón terapéutico más eficaz, es crucial identificar factores predictores de respuesta que permitan seleccionar el subgrupo de pacientes que más beneficio potencial pueda obtener de dicho tratamiento y también evitar la exposición a una medicación con potenciales efectos adversos graves para pacientes que no obtendrán beneficio alguno o que éste será muy limitado.

Es compleja la adecuada valoración de la información publicada acerca de los factores predictores de respuesta clínica o endoscópica por diversas causas, como la gran heterogeneidad de pacientes tratados, la variabilidad de la gravedad de la enfermedad y los índices de valoración usados, los diferentes criterios de inclusión en los estudios y los conceptos de respuesta y remisión clínica, y por último las diferentes pautas posológicas utilizadas, como el cotratamiento con IMM tiopurínicos o MTX, el diferente número de infusiones y el régimen de mantenimiento utilizado, pero sobre todo, por el escaso número de estudios prospectivos diseñados específicamente con ese objetivo.

A pesar de estas dificultades se puede concluir que el perfil inmunológico con pANCA positivo y ASCA negativo, y el tabaquismo activo son factores predictores de mala respuesta. Por otro lado, la presencia de inflamación activa, usualmente identificada por niveles elevados de marcadores biológicos como PCR o calprotectina, es predictora de respuesta favorable tanto para las terapias biológicas como para esteroides<sup>353</sup> y CsA<sup>354</sup>. Los datos disponibles para otras variables potencialmente útiles en la predicción de evolución o respuesta a tratamientos son controvertidos, y no sirven en la actualidad para seleccionar subgrupos de pacientes para manejo terapéutico diferenciado.

### 8.1 ENFERMEDAD DE CROHN

A pesar de los datos de eficacia de los biológicos anti-TNF $\alpha$  mostrados previamente, un número significativo de pacientes presenta ausencia de respuesta o pérdida de la misma durante el tratamiento de mantenimiento para la EC con dichos fármacos, junto con la presencia de efectos adversos potencialmente graves asociados a su empleo. Por ello es fundamental disponer de predictores que nos permitan seleccionar al subgrupo de pacientes con mayor

beneficio potencial del empleo de los biológicos<sup>252</sup>. Disponemos de varios estudios específicamente diseñados para la valoración de estas variables predictoras en la EC<sup>355,356</sup>.

Respecto a los posibles factores predictores genéticos, dado el papel central del TNF $\alpha$  en el proceso de inflamación, se han valorado los polimorfismos en los genes que codifican el TNF $\alpha$  y su receptor como variables predictoras de respuesta<sup>357,358</sup>. Algunos autores han sugerido una asociación entre los polimorfismos en el locus de la linfotoxina A y la respuesta a IFX, que sin embargo no se corroboraron en posteriores estudios<sup>359</sup>.

Los polimorfismos en el sistema Fas/Fas ligando y caspasa-9 se han relacionado también con la respuesta a IFX en la EC luminal y fistulizante. La asociación de mayor potencia estadística es la encontrada por Hlavaty<sup>360</sup> entre el genotipo 843TT del Fas ligando y la ausencia de respuesta al tratamiento. Además, en un estudio de casos y controles publicado por Ogura<sup>361</sup> se evidenció que la delección de la región LRR del gen NOD2/CARD15 se asociaba con un incremento en la actividad de las células mononucleares NF $\kappa$ B en la lámina propia, lo que podía alterar la producción de TNF $\alpha$  y por consiguiente la respuesta al biológico. Sin embargo, no se ha demostrado una asociación entre el genotipo NOD2/CARD15 y la respuesta al tratamiento anti-TNF $\alpha$ <sup>362,363</sup>.

También se ha valorado por Louis<sup>364</sup> la asociación entre el polimorfismo FCGR3A del gen que codifica el receptor Fc $\gamma$ R11A expresado en macrófagos y células NK, e involucrado en la respuesta citotóxica mediada por anticuerpos y en el catabolismo de las inmunoglobulinas, observándose que pacientes con dicho genotipo presentaban mejor eficacia en respuesta al tratamiento anti-TNF $\alpha$ .

Por último, dada la conocida inducción de la apoptosis en pacientes afectados de EC, se ha demostrado por Van den Brande<sup>365</sup> la capacidad de predicción de respuesta al biológico con el incremento de la captación colónica del marcador isotópico <sup>99</sup>mTc-anexina V, como marcador de apoptosis.

Entre los factores epidemiológicos y demográficos explorados, el consumo de tabaco ha sido identificado como un factor predictivo independiente de respuesta al tratamiento con IFX<sup>252,366</sup>, pero no con ADA<sup>217,218</sup>, demostrándose una correlación negativa entre el hábito tabáquico y la respuesta a dichos fármacos en varios estudios<sup>164,165</sup>, aunque esta relación no ha sido confirmada en otras investigaciones<sup>367,368</sup>.

Por otro lado, la relación entre la edad y la respuesta a IFX está en discusión pues un estudio prospectivo de Laharie<sup>369</sup> con gran número de pacientes

demonstró que la edad avanzada se asociaba de manera significativa con una menor respuesta al fármaco, y sin embargo en otros estudios se ha objetivado una ausencia de correlación entre la edad y la respuesta a este biológico<sup>164,165,367,368</sup>. No está claro el motivo por el que los pacientes más jóvenes pudieran tener una mejor respuesta al anti-TNF $\alpha$ , y aunque obviamente tienen un menor tiempo de evolución de la EII, tampoco la duración de la misma se ha identificado como un predictor independiente de respuesta clínica<sup>355</sup>.

Respecto a los factores relacionados con las características de la EII, la controversia en la literatura no permite identificar predictores. No está claro si la extensión topográfica de la inflamación influye en la respuesta al tratamiento. Se ha demostrado mejor respuesta en pacientes con afectación colónica exclusiva en algunos estudios<sup>369</sup>, aunque no en otros<sup>165,370</sup>. Además, tanto la presencia de ileítis aislada como la de estenosis intestinales<sup>165</sup> se han relacionado de manera inversa en algunos estudios con la respuesta a IFX. Se han descrito mayores tasas de remisión a largo plazo en los pacientes con afectación luminal tras la administración de la pauta estándar de inducción con IFX respecto a los pacientes con afectación perianal en los que se objetivan recaídas precoces tras la retirada del fármaco después de la inducción en un estudio publicado por Domènech<sup>371</sup>. Sin embargo, en otros estudios se han observado respuestas más eficaces y prolongadas en los pacientes con afectación fistulosa<sup>367,368</sup>. Otros trabajos asocian la resección o reparación quirúrgica de la fístula previa al tratamiento biológico con mejores tasas de respuesta, como el publicado por Luna-Chadid<sup>372</sup> y sin embargo, otras series identifican los antecedentes de cirugía con tasas menores de respuesta a IFX, como la de Orlando<sup>368</sup>. También se han observado mejores tasas de cierre de fístulas con IFX en los pacientes con fístulas externas respecto a las internas, así como de las perianales respecto a las rectovaginales, como en el trabajo publicado por Parsi<sup>373</sup>. Por último, la coexistencia de un trastorno depresivo mayor se asocia con menor respuesta a IFX y con la necesidad de retratamiento precoz, tal y como publicó Persoons<sup>374</sup>, lo que pudiera explicarse por mecanismos psicosomáticos.

Desde el punto de vista analítico, tras el descubrimiento del papel central de TNF $\alpha$  en la etiopatogenia de la EC se supuso que la respuesta a IFX debía depender de la intensidad de la inflamación y por tanto de las concentraciones pretratamiento de TNF $\alpha$ . Éstas se han relacionado de manera inversa con la respuesta a IFX en algunos estudios, aunque estos resultados no han sido corroborados en otras series<sup>168,246,375</sup>. Además, las concentraciones preinfusión de otros mediadores inflamatorios tampoco han mostrado una asociación con la respuesta a la terapia a pesar de que los pacientes no respondedores pre-

sentan niveles más altos de IL-1 $\beta$  e IL-6, como en el trabajo alemán publicado por Andus<sup>375</sup>.

Los niveles de PCR no están influenciados por el empleo de fármacos antiinflamatorios ni IMM, lo que conduce a que sus eventuales variaciones sean fiel reflejo de las fluctuaciones en la inflamación subyacente de la EII. Las concentraciones pretratamiento son significativamente superiores en los pacientes con respuesta a la terapia, lo que ha sido confirmado en estudios aleatorizados controlados con placebo, y aplicados no sólo al tratamiento con IFX, sino también con ADA<sup>217,218,376,377</sup>. La dificultad estriba en el punto de corte de PCR adecuado para seleccionar a los pacientes candidatos óptimos a recibir tratamiento, que oscila en diferentes estudios entre 5 y 10 mg/L. Además, se ha comprobado que un número significativo de pacientes con niveles normales de PCR también responden al tratamiento<sup>252</sup>.

Los niveles de calprotectina fecal son un buen predictor de respuesta en el estudio publicado por Roseth<sup>378</sup> mientras que los niveles séricos de albúmina no lo han demostrado<sup>164,165</sup>.

Finalmente, la presencia de diferentes marcadores serológicos se ha asociado con distintas formas clínicas de EII<sup>379</sup>. Dado que estos anticuerpos son marcadores de mecanismos de inflamación diferenciados, también podrían ser predictores de respuesta<sup>380</sup>. De hecho los pacientes con la combinación de pANCA+/ASCA-, al igual que sucede en los pacientes con CU, son los que presentan respuestas menos favorables<sup>355</sup>.

## 8.2 COLITIS ULCEROSA

Al igual que en la EC, un subgrupo de pacientes no responden adecuadamente al IFX por lo que es importante identificar factores predictores de respuesta para seleccionar aquellos pacientes que más se puedan beneficiar del tratamiento, evitando así la administración de medicación con potenciales eventos adversos graves a pacientes que no obtendrán beneficio de la misma<sup>202</sup>. Sólo hay dos estudios específicamente diseñados con el objetivo de valorar factores predictores de respuesta en pacientes con CU<sup>199,381</sup>.

Respecto a factores epidemiológicos, existe controversia en la literatura publicada sobre el impacto de la edad en la respuesta a anti-TNF $\alpha$ . Algunos estudios sugieren una mejor respuesta en pacientes en edad pediátrica con respecto a la edad adulta no confirmados por otros estudios<sup>355,381,382,383,384</sup>. Una revisión sistemática de Gisbert<sup>201</sup> ha encontrado diferencias significativas, aun-

que contradictorias, con una mejor respuesta a corto plazo en edad pediátrica y sin embargo una mejor respuesta a largo plazo en edad adulta. Además, pocos estudios incluyen ambos tipos de poblaciones de forma simultánea por lo que es difícil obtener conclusiones a este respecto.

En relación a la indicación de uso de IFX, la evidencia disponible sobre la indicación del tratamiento con IFX por corticorresistencia o por corticodependencia y la respuesta al mismo es controvertida. El metaanálisis previamente citado<sup>201</sup> no encuentra diferencias estadísticamente significativas al respecto. El estudio ACT1 relaciona una mejor respuesta a IFX con la corticorresistencia, junto con otros estudios, pero estos hallazgos no se confirmaron en el ensayo ACT2. Respecto al cotratamiento con otra medicación, ni los resultados obtenidos en la revisión sistemática ni en los ensayos ACT1 y ACT2 publicados por Rutgeerts<sup>191</sup> demostraron diferencias significativas en las tasas de respuesta a IFX en los pacientes con tratamiento inmunosupresor concomitante. No obstante, algunas series de casos como la de Kugathasan<sup>381</sup> sí mostraron una mejor respuesta en los pacientes en cotratamiento con IMM tiopurínicos.

Por último, desde el punto de vista serológico, la presencia de diferentes marcadores se ha asociado con diversos patrones de respuesta inflamatoria y un perfil particular de producción de citocinas, lo que provoca distintos mecanismos de inflamación y, por consiguiente podría justificar una distinta respuesta a IFX. De hecho los pacientes con la combinación de pANCA+/ASCA-, al igual que sucede en EC, parecen ser los de respuesta clínica precoz menos favorable a IFX<sup>194,198,199</sup>.

Otros factores han sido evaluados como posibles predictores de respuesta clínica precoz, definida a las cuatro semanas tras la infusión de IFX si esta fue en administración única, o tras 10 semanas en pacientes en tratamiento de inducción con las tres dosis estándar en las semanas 0, 2 y 6. Ni el sexo, ni el tiempo de evolución de la patología hasta que se administra por primera vez el tratamiento, ni los niveles de PCR previos a la infusión, ni los hallazgos endoscópicos e histológicos previos al tratamiento han mostrados asociación de manera significativa con la presencia de una respuesta clínica precoz<sup>194,198,199,252</sup>.

## 9. FARMACOLOGÍA DE LOS TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Desde el año 2000 los análisis farmacocinéticos se han incrementado a medida que dicha población crecía, especialmente en lo que respecta a los anticuerpos monoclonales como los biológicos anti-TNF $\alpha$ <sup>385,386</sup>. La mayor canti-

dad de datos disponibles proviene de pacientes con enfermedades reumatológicas, debido a la más temprana introducción de generaciones sucesivas de biológicos en dichas entidades patológicas, los iniciales quiméricos humanos y murinos de administración intravenosa como IFX, los humanos de administración subcutánea como el ADA, o las moléculas de síntesis como el fragmento Fab pegilado de administración subcutánea como el certolizumab.

La farmacocinética de los biológicos anti-TNF $\alpha$  administrados por vía intravenosa se describe frecuentemente empleando un modelo bicompartimental<sup>387,388,389</sup>. De hecho, dos compartimentos suelen ser suficientes para describir la farmacocinética de los anticuerpos monoclonales si la influencia de su diana antigénica no se tiene en cuenta<sup>390</sup>. De forma más específica, los modelos bicompartimentales se emplean para describir la farmacocinética de IFX<sup>391</sup> y ADA<sup>392,393</sup> entre otros biológicos.

A pesar de ello, la farmacocinética de muchos anticuerpos monoclonales administrados por vía subcutánea se describe usando un modelo monocompartimental, como el caso nuevamente de ADA<sup>394</sup>. No obstante, algunos estudios usan modelos bicompartimentales para describir los anticuerpos monoclonales administrados por vía subcutánea, como golimumab, tocilizumab y certolizumab, aunque estos estudios se benefician de datos combinados de ambas rutas intravenosa y subcutánea. La ausencia de identificación de parámetros compartimentales periféricos puede ser el resultado de la rápida fase de distribución comparada con la fase de absorción. Por ejemplo, el golimumab subcutáneo tiene una semivida de distribución de 2,3 días y de absorción de 5,3 días.

## 9.1 METABOLISMO DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES

Inicialmente los anticuerpos monoclonales fueron desarrollados para ser administrados por vía intravenosa, aunque posteriormente la investigación farmacéutica consiguió anticuerpos que podían ser administrados por vía subcutánea. El mecanismo de absorción que sigue a la administración subcutánea no se conoce completamente, aunque se ha sugerido que la absorción sistémica ocurre por difusión de IgG a través de vasos sanguíneos y por convección a través de vasos linfáticos<sup>395</sup>.

Dado que el flujo a través de los vasos linfáticos es lento, habitualmente la absorción dura varios días, además con una notable variabilidad interindividual. La cinética de absorción tras la administración subcutánea se suele describir usando una constante de primer orden denominada  $k_a$ . Esta constante se ha

estimado entre 0,15 y 0,30/día para la mayoría de indicaciones clínicas de los biológicos anti-TNF $\alpha$ . Para certolizumab, esta cinética de absorción es similar a la de los anticuerpos IgG completos. La biodisponibilidad absoluta de los monoclonales se encuentra entre el 50 y el 75%, llegando a alcanzar el 80% para el certolizumab.

Los volúmenes centrales de distribución son similares para todos los anticuerpos incluyendo certolizumab. Estos volúmenes son bajos y del entorno de 3 a 4 litros. Dado el enorme peso molecular aproximadamente de 150 kD y su carácter hidrofílico, los anticuerpos monoclonales muestran una baja penetración tisular y suelen quedar confinados a los vasos linfáticos y sanguíneos. Sin embargo, tienen capacidad de penetrar en las células mediante endocitosis, especialmente en las células endoteliales o mediante endocitosis mediada por receptores Fc $\gamma$ R<sup>77</sup> expresados en la membrana de células del sistema inmune.

Además FcRn<sup>22</sup> es responsable de la transcitosis de anticuerpos y podría explicar su penetración en ciertos tejidos. No obstante, esta interpretación de los bajos volúmenes de distribución para IgG y su confinamiento en vasos sanguíneos, linfáticos e intersticio podría ser una inferencia excesiva. De hecho, recientes estudios con datos farmacocinéticos fisiológicos sugieren que los compartimentos central y periférico de los modelos bicompartimentales no deberían considerarse como espacios sanguíneo e intersticial respectivamente, sino como dos grupos distintos de tejidos con cinéticas similares o no similares al plasma<sup>390</sup>. Además, la eliminación no específica puede relacionarse no sólo con anticuerpos no ligados, sino también con complejos antígeno-anticuerpo. Por ejemplo, omalizumab bloquea IgE circulante y puede detectarse un incremento en los niveles séricos de IgE total en pacientes tratados con omalizumab a pesar de una disminución de los niveles séricos de IgE no ligada<sup>396</sup>. Esto podría deberse a la recirculación de complejos antígenos-anticuerpos IgE-omalizumab mediante la citada vía del FcRn.

Respecto a la eliminación, los fármacos de pequeño tamaño son depurados mediante excreción renal o biliar, y mediante catabolismo principalmente hepático. Sin embargo, las inmunoglobulinas y muchas proteínas no siguen estas vías de eliminación. De hecho, el tamaño tanto de las inmunoglobulinas completas como también del certolizumab pegilado limita su filtración glomerular. La eliminación de la IgG incluye dos vías diferentes: una de eliminación específica y otra de eliminación no específica intracelular. El aclaramiento total de cualquier anticuerpo es la suma de la eliminación lineal no específica y de la eliminación no lineal específica.

La eliminación no específica no se conoce en profundidad, aunque se sabe que la IgG es aclarada principalmente por catabolismo intracelular después de su captación. Los mecanismos de esta captación incluyen endocitosis después de la unión de la región Fab al antígeno en la superficie celular o bien mediante la unión de la región Fc a los receptores  $Fc\gamma R$  expresados en la membrana de células del sistema inmune<sup>397,398</sup>. Si en una célula se expresa en membrana el receptor FcRn, la captación se sigue de unión de la región Fc del anticuerpo a dicho receptor a un pH ácido menor de 6,5. Después, el anticuerpo es protegido de la degradación lisosomal y dirigido a las membranas apical o basolateral, donde es liberado cuando el endosoma retorna a un pH neutro de en torno a 7,4 correspondiente a los fluidos extracelulares de dichas membranas, como se observa en la Ilustración 5. La recirculación de inmunoglobulinas mediada por FcRn explica su larga vida media comparada con otras proteínas. El receptor FcRn puede saturarse con concentraciones de IgG elevadas como en el caso de tratamientos con inmunoglobulina policlonal<sup>399</sup>, pero no a las dosis habituales de los anticuerpos monoclonales. Esto permite que la eliminación no específica sea un fenómeno lineal.

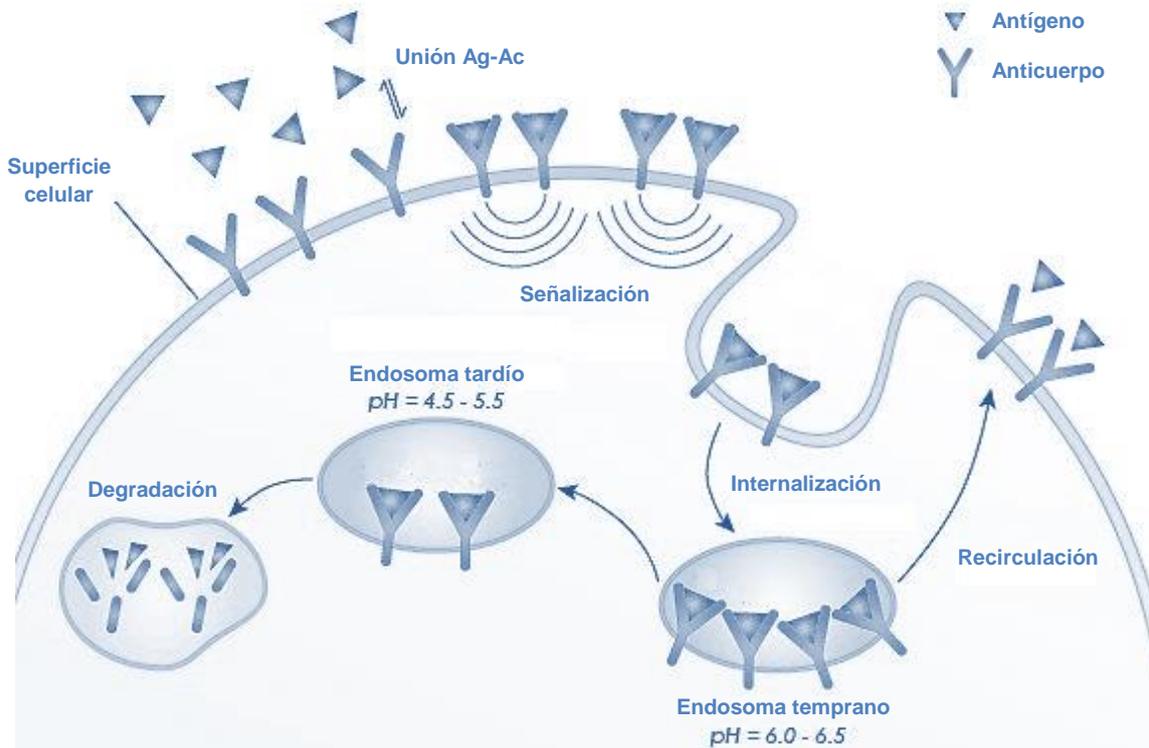


Ilustración 5: Degradación y recirculación intracelular

La eliminación específica depende de la unión del anticuerpo con su antígeno diana, formando inmunocomplejos que son eliminados por el sistema inmune por mecanismos que incluyen la actividad del complemento. La tasa de eliminación de estos inmunocomplejos difiere del aclaramiento del anticuerpo libre y del antígeno diana no unido. La cinética conjunta de anticuerpos y antígenos se describe usando modelos de disponibilidad de fármaco mediada por diana (TMDD, del inglés *target mediated drug disposition*), que tiene en cuenta la naturaleza no lineal del aclaramiento de fármacos cuando este aclaramiento depende de la renovación de su antígeno diana<sup>400,401</sup>.

Los modelos TMDD han mostrado ser adecuados para la cuantificación de la naturaleza no lineal del aclaramiento de anticuerpos mediado por su antígeno<sup>402</sup>. Esta eliminación de anticuerpos mediada por antígeno depende de numerosos parámetros que incluyen la renovación de dicho antígeno diana, el carácter reversible y saturable de la unión del anticuerpo a su antígeno diana, y la tasa de eliminación de los inmunocomplejos formados. El aclaramiento mediado por antígeno se incrementa de forma directa con la cantidad del mismo.

Estos modelos que se emplearon inicialmente para describir la unión de anticuerpos a proteínas expresadas sobre la superficie celular<sup>403</sup>, se han extendido también para los anticuerpos que bloquean moléculas circulantes<sup>396</sup>. A pesar de todo ello, la tasa de renovación del antígeno diana habitualmente se desconoce. En esos casos, que son la mayoría, los modelos TMDD se deben aproximar mediante modelos farmacocinéticos que incluyen variables de aclaramiento lineales y no lineales como la cinética de Michaelis-Menten<sup>404</sup>.

En AR el aclaramiento varía de 0,22 a 0,72 l/día con una semivida de eliminación cercana a las tres semanas, excepto para certolizumab e IFX que tienen semividas de 12 y 9 días, respectivamente. Sin embargo la semivida de IFX en espondilitis anquilosante<sup>405,406</sup> y EII<sup>407</sup> es de 14 a 16 días. Esta variabilidad en distintas enfermedades probablemente es consecuencia de las diferencias en el reemplazo de la carga antigénica diana, diferente en cada enfermedad. A pesar de ello, las diferencias en las semividas de certolizumab y los otros anticuerpos pueden explicarse por la diferente estructura molecular, pero las diferencias en las semividas de IFX en distintas indicaciones clínicas es más compleja de dilucidar.

## 9.2 VARIABILIDAD FARMACOCINÉTICA

La farmacocinética de los biológicos presenta una alta variabilidad interindividual<sup>387</sup> con desviaciones de entre el 12 y el 97% para el volumen central de distribución y de entre el 17 y 44% para el aclaramiento. Se han encontrado diversas variables asociadas con la notable variabilidad de estos parámetros.

El tamaño corporal, medido como peso o como superficie corporal, y el sexo son dos factores demográficos habitualmente asociados a la farmacocinética de los biológicos. En general, el volumen de distribución y el aclaramiento se incrementa con el tamaño corporal, y es mayor en los hombres que en las mujeres. Un incremento en el peso corporal de 50 a 90 kg multiplica por dos el volumen central de distribución de IFX<sup>391</sup> y de golimumab<sup>408</sup>. El aclaramiento de ADA<sup>394</sup> es un 40% superior en hombres que en mujeres. Esta influencia del tamaño corporal justificaría el ajuste de la dosis de biológico, cuestión difícil en las administraciones subcutáneas de jeringas precargadas con una dosis estándar. Sin embargo, no se han elaborado recomendaciones sobre ajuste de dosis en función del sexo. Es de esperar que los efectos beneficiosos de un eventual ajuste de dosis fuesen más útiles en los biológicos con eliminación no lineal.

Respecto a la carga antigénica, dado que el aclaramiento dependiente del antígeno, se incrementa con la cuantía del mismo. La ausencia de eliminación no lineal se puede explicar por una saturación continua de los antígenos diana. Por ejemplo, los niveles séricos de TNF $\alpha$  en AR<sup>409</sup> rondan los 0,0012 mg/l, un valor de 50 a 700 veces inferior que las concentraciones valle de IFX<sup>391</sup>, en torno a 1,5mg/l, o ADA<sup>410</sup> con 4-8mg/l. Aunque los niveles séricos de TNF $\alpha$  son solo una parte de la carga total de TNF $\alpha$ , la eliminación no lineal aparece en concentraciones muy bajas del biológico y puede no ser observada en las concentraciones terapéuticas habituales.

Dado que el nivel de TNF $\alpha$  circulante se incrementa en procesos inflamatorios respecto a individuos sanos, el aclaramiento de un biológico anti-TNF $\alpha$  es mayor en dichas situaciones de inflamación. Los estudios de evaluación de dosis de biológico anti-TNF $\alpha$  mostraron un incremento en la semivida y una disminución en el aclaramiento con dosis crecientes, fenómeno especialmente evidente en situaciones de inflamación activa. Este incremento de la semivida alcanza un máximo con dosis altas del biológico, probablemente como consecuencia de la saturación del aclaramiento mediado por antígeno. De hecho, en AR la semivida de IFX<sup>411</sup> tiene un valor estable para dosis entre 1 y 5mg/kg

mientras que la semivida de ADA<sup>392</sup> es estable para dosis de entre 0,25 a 5 mg/kg.

La propia inflamación parece ser un factor que influye en la farmacocinética. Dos estudios publicados por Bendtzen<sup>412</sup> y Wolbink<sup>413</sup> han mostrado una relación inversa entre los niveles de PCR con la concentración valle de IFX, y una relación directa con el aclaramiento del fármaco. Un incremento de PCR de 0,1 a 14 mg/l se asoció con una semivida de eliminación de IFX de 14 a 8 días<sup>391</sup>. Dado que la producción de TNF $\alpha$  suele preceder a la producción de PCR<sup>414</sup>, los niveles de PCR pueden considerarse como un marcador indirecto de los niveles de TNF $\alpha$ . Por ello, pacientes con una inflamación significativa pueden tener aclaramientos elevados de IFX como consecuencia de su captura por TNF $\alpha$ . El hecho de que la inflamación sistémica sea mayor en AR que en espondilitis anquilosante<sup>415</sup> podría explicar por qué el nivel de PCR no tiene influencia en el aclaramiento de IFX en la segunda de las enfermedades. No hay evidencia publicada de esta influencia en los otros biológicos anti-TNF $\alpha$ .

Dado que los biológicos no tienen excreción renal ni biliar, su farmacocinética no debe modificarse por medicación concomitante. Sin embargo, la farmacocinética de IFX y ADA sí está influenciada por cotratamiento inmunosupresor por tiopurinas o MTX. Los IMM actúan como fármacos antiinflamatorios, lo que puede disminuir de una manera significativa los niveles de TNF $\alpha$  y por lo tanto, disminuir el fenómeno del aclaramiento mediado por antígeno.

Un aspecto crucial que interviene en la farmacocinética es el carácter exógeno de los biológicos y por tanto su carácter inmunogénico que puede conducir a la síntesis de anticuerpos dirigidos contra ellos<sup>416</sup>. Este riesgo es mayor en los biológicos quiméricos con fragmentos murinos como IFX, pero no está ausente ni siquiera en los anticuerpos humanos como ADA. La presencia de estos anticuerpos antifármaco se asocia con concentraciones menores de IFX<sup>417,418</sup>, y de ADA<sup>419</sup>, de forma similar a la de otros biológicos anti-TNF $\alpha$ .

Debido a esta disminución en los niveles de biológicos, el desarrollo de anticuerpos es una de las principales causas de pérdida de respuesta a IFX<sup>250</sup> y ADA<sup>257</sup>. En el 30% de los pacientes los anticuerpos frente a los biológicos son transitorios, pudiendo aparecer en cualquier momento del tratamiento, desaparecer espontáneamente, y no tener significado clínico<sup>420</sup>. La proporción de pacientes que desarrollan anticuerpos es del 8 al 75% dependiendo de diversos factores. Entre ellos se cuentan la inmunogenicidad del biológico, mayor con IFX, las técnicas de detección más modernas que han incrementado el riesgo esperado de inmunización para ADA desde el 17% en EII<sup>250</sup> hasta más del 50%<sup>421</sup> en AR, la exposición al biológico pues concentraciones bajas de IFX se

asocian con un riesgo incrementado de desarrollar anticuerpos, y el cotratamiento inmunosupresor consecuencia de la disminución de la inflamación y de la disminución de la inmunogenicidad.

La disminución de concentración de biológico en presencia de anticuerpo anti-biológico es consecuencia de un incremento en el aclaramiento. De hecho, numerosos estudios farmacocinéticos han mostrado que IFX<sup>422</sup>, de forma análoga a golimumab y certolizumab, incrementan su aclaramiento de 3 a 4 veces en presencia de anticuerpos anti-biológico. Además, el aclaramiento mediado por estos anticuerpos es no lineal. La farmacocinética de ADA en presencia de anticuerpos es muy similar a la cinética TMDD<sup>423,424</sup>.

No existen elementos predictores que permitan establecer el riesgo individual inmunogénico de un paciente para la formación de anticuerpos frente al biológico anti-TNF $\alpha$ .

Por último, se ha observado una relación inversa entre los niveles séricos de albúmina y el aclaramiento de IFX en la EII. Tanto la albumina como la IgG quedan protegidas del catabolismo proteico por el FcRn, aunque este fenómeno no es competitivo. Por ello, bajos niveles de albúmina pudieran ser consecuencia de una actividad FcRn disminuida y por lo tanto conducir a una disminución de la recirculación de IFX<sup>425</sup>. No obstante, no se debe interpretar la albúmina como un fiel indicador de la actividad FcRn debido a las variaciones de su producción en situaciones patológicas.





## V. JUSTIFICACIÓN



Si bien es cierto que la EII no es una enfermedad autoinmune *per se*, la pérdida de tolerancia a antígenos microbianos que en condiciones normales y ausencia de enfermedad constituyen la microflora intestinal parece ser la base de la patogenia<sup>2</sup>. Especialmente afectados parecen los mecanismos asociados a la inmunidad natural, no adaptativa o inespecífica, como la pérdida de células de Paneth y su producción de defensinas<sup>146</sup>.

Este trastorno inmunológico provoca una inflamación crónica incurable y descontrolada en la pared del tubo digestivo que finalmente conduce a fibrosis y pérdida de función, entre otras complicaciones. Esta inflamación conduce además a una significativa pérdida de calidad de vida como consecuencia no solo de la persistencia de síntomas, sino también de la percepción de cronicidad por el paciente<sup>193, 222, 224, 225, 467</sup>.

Aunque se desconocen los mecanismos íntimos etiológicos, la cascada inflamatoria e inmunológica consecuencia de la etiología se conoce cada vez más profundamente, y no permanece estable a lo largo de la evolución de la EII, sino que a lo largo del tiempo cambia de perfil y por lo tanto de dianas terapéuticas eficaces. La investigación de estas dianas terapéuticas, cada vez más selectivas, permiten interrumpir los procesos que conducen a la inflamación, entre las cuales destaca TNF $\alpha$  por su papel nuclear como citocina proinflamatoria y los biológicos monoclonales dirigidos contra él.

Los anti-TNF $\alpha$  suponían, hasta la llegada a mitad de 2015 de una nueva generación de bloqueadores de integrinas como el vedolizumab, con mejor perfil de seguridad que la generación previa del natalizumab, los únicos biológicos indicados en EII. Esto ha supuesto hasta el momento una importante limitación terapéutica en tratamientos de alto nivel, que se precisan emplear en un significativo porcentaje de pacientes especialmente graves o con evolución insidiosa.

La variabilidad farmacológica de los biológicos constituidos por inmunoglobulinas es particularmente elevada desde el punto de vista interindividual e incluso intraindividual, lo que hace complejo el conocimiento de los mecanismos de pérdida de eficacia. A ello se une la particularidad del catabolismo proteico, que depende de receptores de membrana de la familia del FcRn, entre los que destaca Fc $\gamma$ R, y que modulan la lisis lisosomal o la recirculación hacia la membrana de las inmunoglobulinas endógenas, y por ende, de las exógenas como los biológicos<sup>453</sup>. El descubrimiento de diferentes alelos en el locus de Fc $\gamma$ R y con distintas afinidades por el fragmento Fc podría explicar una diferente vida media de las inmunoglobulinas endógenas, y por lo tanto, una diferente exposición y eficacia de los biológicos<sup>364</sup>.

Recientemente se ha incorporado la capacidad de medición de los niveles séricos de los biológicos anti-TNF $\alpha$ . Cómo puede la medición de niveles ayudar a la monitorización de la terapia está todavía en discusión. Sin embargo, conocer los factores que pueden influir en los niveles de los fármacos, en la inmunogenicidad de la terapia y la aparición de anticuerpos frente a los biológicos anti-TNF $\alpha$ , y en el perfil inmunológico de la EII podría arrojar algo de luz a este complejo escenario terapéutico de alto impacto clínico y psicológico sobre los pacientes.

La monitorización de IFX y ADA para el control de la actividad de la EII y la optimización del tratamiento no está estandarizada, aunque los datos publicados hasta el momento sugieren que tienen una implicación relevante en los resultados de la terapia. Los niveles de biológicos anti-TNF $\alpha$  y anticuerpos anti-biológicos pueden relacionarse con remisión/respuesta, pérdida de respuesta, efectos secundarios o reacciones alérgicas, y se ha demostrado que los anticuerpos pueden aumentar casi 3 veces el aclaramiento de los biológicos. Además, la farmacocinética y farmacodinámica puede diferir entre pacientes con EC y pacientes con CU.

La presencia de estos anticuerpos anti-biológico, especialmente frente a IFX por su componente murino, oscila entre el 6 y el 15%, y es relevante en la aparición de reacciones a la infusión y la pérdida de eficacia a largo plazo. Estas reacciones ocurren en el 5-10% de las infusiones y se pueden prevenir con medicación concomitante y con ciertos esquemas programados en tratamiento de mantenimiento.

Los algoritmos en fallos secundarios (tras un inicio de terapia con resultados positivos) a fármacos biológicos operan bajo tres posibles situaciones: fracaso por inmunogenicidad (anticuerpos positivos, niveles de biológico bajos), fracaso por razones farmacocinéticas o de biodisponibilidad (anticuerpos negativos, niveles de biológico bajos) o fracaso por razones farmacodinámicas (anticuerpos negativos, niveles de biológico normales).

La identificación y clasificación de los pacientes en estas categorías podría permitir elaborar propuestas de estrategias de optimización de los tratamientos basadas en niveles de biológico y anticuerpos anti-biológico: cambiar de biológico dentro de la misma clase, aumentar la dosis del mismo, o cambiar de clase de fármaco, respectivamente para las tres condiciones citadas<sup>29</sup>. Además, se abrirían otras opciones de cotratamiento con IMM para la modificación del perfil de anticuerpos anti-biológico y la optimización de la terapia en pacientes con el biológico anti-TNF $\alpha$  intensificado en dosis o frecuentación, que implica un impacto económico aún por evaluar con detalle.

Finalmente, el perfil inmunológico de la EII cambia con el paso del tiempo, por lo que las dianas terapéuticas útiles al debut de la enfermedad pudieran no ser útiles con el paso del tiempo y con el deterioro de los tejidos afectados, la aparición de fibrosis y la pérdida de función. Esto supone un nuevo concepto de ventana terapéutica de oportunidad para cada biológico, con independencia de la inmunogenicidad descrita previamente.

Analizar pormenorizadamente los periodos relevantes en la EII puede ayudar a identificar subgrupos de pacientes con pronósticos diferenciados. Existen cuatro fechas significativas para cada paciente, tres de ellas constitutivas y una eventual: la fecha de nacimiento, la fecha de debut de la EII, la fecha de inicio del biológico, y eventualmente la fecha de la primera intensificación del biológico. Respecto a esas fechas se pueden calcular diferentes tiempos que podían teóricamente tener un impacto en los resultados: la edad de debut (diferencia entre la fecha de nacimiento y la fecha de debut), el tiempo hasta la instauración del biológico o tiempo *naïve* (diferencia entre la fecha de inicio del biológico y la fecha de debut de la EII), el tiempo hasta la primera intensificación de la terapia (diferencia entre la fecha de primera intensificación si la hubiera y la fecha de inicio del biológico), el tiempo total de exposición al biológico (diferencia entre la fecha de evaluación del paciente en el estudio y la fecha de inicio del biológico) y el tiempo total de evolución de la EII (diferencia entre la fecha de evaluación del paciente en el estudio y la fecha de debut de la EII). Conocer cómo influyen estos periodos sobre la respuesta al tratamiento también permitiría identificar subgrupos de pacientes e individualizar la terapia de los mismos.

Para todo ello se diseñó un estudio que mediante una técnica ELISA midiera los niveles de los biológicos indicados para EII en el nivel más alto posible (pico) y en el nivel más bajo (valle), además de determinar coincidiendo con dichos momentos la eficacia del tratamiento medida mediante índices de puntuación clínicos (CDAI y Harvey-Bradshaw para EC y Truelove-Witts modificado e índice de Mayo parcial para CU), variables analíticas (VSG, PCR, calprotectina fecal) e índices de puntuación de adherencia y correcta cumplimentación del tratamiento (Morisky-Green-Levine). Adicionalmente se determinó coincidiendo con el nivel valle el nivel de anticuerpos anti-biológicos, la serología autoinmune y el genotipado de los alelos del gen  $Fc\gamma R$ .



## VI. OBJETIVOS



## 1. PRINCIPAL

- Confirmar en nuestro hospital que los niveles de IFX y ADA, los fármacos biológicos anti-TNF $\alpha$  disponibles para EII, se relacionan de forma directamente proporcional con la eficacia del tratamiento, y encontrar el punto de corte para cada uno de los fármacos que discriminen la eficacia clínica.

## 2. SECUNDARIOS

- Evaluar la situación clínica y analítica de la cohorte de pacientes con EII en tratamiento activo con fármacos biológicos.
- Confirmar que los niveles de anticuerpos frente a los fármacos biológicos se relacionan de forma inversamente proporcional con la eficacia de las terapias, y encontrar un punto de corte de ineficacia para el nivel de los mismos.
- Identificar covariables demográficas, de laboratorio o de cotratamientos que puedan influir en los niveles de los fármacos biológicos.
- Evaluar transversalmente el título de anticuerpos frente a los tratamientos biológicos (anti-IFX y anti-ADA). La presencia de estos anticuerpos, especialmente frente a IFX por su componente murino, oscila entre el 6 y el 15% y es clave en la aparición de reacciones a la infusión y la pérdida de eficacia a largo plazo. Estas reacciones ocurren en el 5-10% de las infusiones y se pueden prevenir con medicación concomitante y con ciertos esquemas de terapia de mantenimiento<sup>426</sup>.
- Establecer *cut-off* o puntos de corte adecuados para biológicos y anticuerpos anti-biológicos y asociarlos a respuesta clínica y analítica.
- Evaluar transversalmente el título de ANA, anti-DNA de doble cadena y anti-Histonas asociados con la presencia de un síndrome *lupus-like*<sup>427</sup> o de otras manifestaciones autoinmunes<sup>428</sup>. La apoptosis producida por el tratamiento libera a la circulación cantidades significativas de DNA y otros componentes celulares que provoca la aparición de estos anticuerpos<sup>429</sup>. La presencia de ANA se ha determinado hasta en el 56,8% de los pacientes tratados incluso un año después de la última infusión.

- Evaluar transversalmente los polimorfismos del gen  $Fc\gamma R$  implicado en el aclaramiento en el retículo endoplasmático de la albúmina y las inmunoglobulinas, y eventualmente asociados a la respuesta a los fármacos biológicos.
- Evaluar transversalmente la adherencia y cumplimentación de los pacientes con EII.





## VII. MATERIAL Y MÉTODOS



## 1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio prospectivo postautorización observacional en un único centro para determinar transversalmente los niveles de fármacos biológicos IFX y ADA.

### 1.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyeron pacientes con EII en tratamiento activo con IFX (Remicade<sup>®</sup>, Remsima<sup>®</sup>, Inflectra<sup>®</sup>) o ADA (Humira<sup>®</sup>) que hubieran completado al menos la dosis de inducción de las dos terapias en estudio y en seguimiento por la consulta monográfica de EII del servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

Esta dosis estándar de inducción fue de 5 mg/kg peso en semana 0, semana 2 y semana 6 para IFX y de 160mg, 80 mg y 40 mg en semana 0, semana 2 y semana 4, respectivamente, para ADA.

No se incluyeron pacientes que hubieran suspendido posteriormente la terapia ni aquellos pacientes que la hubieran iniciado en un plazo de tiempo inferior de 5 a 7 semividas de los respectivos fármacos, por no haber alcanzado niveles suficientemente estables.

Los criterios de inclusión fueron:

- Paciente mayor de 18 años.
- Paciente en condiciones de dar su consentimiento para participar en el estudio.
- Tratamiento indicado para EII, o bien por otra condición patológica pero en pacientes afectos además de forma concomitante de EII.
- Administración de dosis de inducción del biológico según ficha técnica.
- Tratamiento activo en el momento de la inclusión en el estudio.
- Duración del tratamiento superior a 5-7 semividas del biológico prescrito.

Los criterios de exclusión fueron:

- Paciente menor de 18 años.
- Paciente sin condiciones de dar su consentimiento para participar en el estudio o bien que no desean participar en el mismo.
- Tratamiento biológico indicado en pacientes sin EII.
- Administración de dosis de inducción de fármacos distinta de la ficha técnica.

- Tratamiento inactivo en el momento de la inclusión en el estudio.
- Duración del tratamiento inferior a 5-7 semividas del biológico prescrito.

No se calculó tamaño muestral puesto que el objetivo del estudio fue evaluar a toda la población de los pacientes con EII en tratamiento activo. Se estimó un número máximo de pacientes a incluir de 160 pacientes con EII bajo tratamiento biológico en el Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, de los que finalmente fueron incluidos 96 con un 40% de excluidos por los criterios previamente expuestos.

## 2. FUENTE DE INFORMACIÓN

La información del estudio se obtuvo mediante dos visitas al hospital denominadas “pico” y “valle”. La visita “pico” coincidió en los pacientes en tratamiento con IFX con la finalización de la infusión intravenosa del biológico, y en los pacientes en tratamiento con ADA, con el quinto día después de la administración subcutánea del biológico. La visita “valle” coincidió en ambos casos con el día de la administración de la siguiente dosis de biológico, inmediatamente antes de la administración.

En ambas visitas se determinó la eficacia del tratamiento mediante la medición de la situación clínica por las puntuaciones de actividad CDAI y Harvey-Bradshaw para los pacientes con EC y puntuaciones de actividad Truelove-Witts modificado e índice de Mayo parcial para los pacientes con CU. La eficacia del tratamiento se determinó además mediante otros parámetros objetivos analíticos en ambas visitas de forma pareada, con VSG, PCR y calprotectina.

Además de la eficacia clínica y analítica, en las visitas descritas se determinó una puntuación de adherencia y correcta cumplimentación del tratamiento mediante el test de Morisky-Green-Levine.

Adicionalmente se determinó coincidiendo con la visita “valle” el nivel de anticuerpos anti-biológico, disminuyendo así la interferencia en la medición por el método ELISA con mayores niveles de fármaco en la visita “pico”, la serología autoinmune con ANA, Anti-DNA y Anti-Histonas, y el genotipado de los alelos del gen  $Fc\gamma R$  mediante el estudio de ADN con reacción en cadena de polimerasa, amplificación del gen y determinación de los alelos V y F.

El resto de la información relevante en lo que respecta a datos demográficos y epidemiológicos sobre la EII se obtuvo de la historia clínica.

Las unidades de medida y valores de referencia de todos los resultados que se expresan a continuación se detallan en la siguiente tabla:

Tabla I: Unidades de medida y valores de referencia

Variable	Unidad medida	Valor normal	Variable	Unidad medida	Valor normal
Edad de debut	años	-	Tiempo hasta intensificación	meses	-
Tiempo hasta iniciar biológico	meses	-	Tiempo total de exposición	años	-
Leucocitos	10 <sup>3</sup> /mL	3,0-12,0	Hematíes	10 <sup>6</sup> /mL	4,0-5,5
Neutrófilos	10 <sup>3</sup> /mL	1,5-10,0	VCM	fL	80-98
Linfocitos	10 <sup>3</sup> /mL	1,5-4,5	Hematocrito	%	39-54
Basófilos	10 <sup>3</sup> /mL	0,0-0,2	Plaquetas	10 <sup>3</sup> /mL	120-450
Eosinófilos	10 <sup>3</sup> /mL	0,0-0,05	VSG	mm/h	0-20
Monocitos	10 <sup>3</sup> /mL	0,15-1,2			
Creatinina	mg/dL	0,6-1,17	Proteínas totales	g/dL	6,4-8,3
GOT	U/L	< 41	Albúmina	g/dL	3,5-5,0
GPT	U/L	< 40	PCR	mg/L	< 5
GGT	U/L	8-61	Calprotectina	mg/Kg	< 50
IgG	mg/dL	700-1600	IL-1b	pg/mL	-
IgA	mg/dL	70-400	IL-6	pg/mL	-
IgM	mg/dL	40-230	IL-8	pg/mL	-
C3c	mg/dL	90-180	IL-10	pg/mL	-
C4	mg/dL	10-40	IL-12	pg/mL	-
Factor reumatoide	UI/mL	< 14	TNF $\alpha$	pg/mL	-
ANA	Título	< 1:80	Anti-Histonas	UA/mL	< 10
Anti-DNA	UA/mL	< 50			
Truelove-Witts	puntos	< 11	CDAI	puntos	< 150
Mayo	puntos	< 3	Harvey-Bradshaw	puntos	< 5
IBDQ	puntos	> 209			
IFX "valle"	$\mu$ g/mL	$\geq$ 1,5	Anti-IFX	UA/mL	$\leq$ 2,0
ADA "valle"	$\mu$ g/mL	$\geq$ 0,8	Anti-ADA	UA/mL	$\leq$ 3,5

## 3. RECOGIDA DE DATOS

### 3.1 VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Entre las variables demográficas recogidas se evaluaron la edad, el sexo, la talla, el peso, datos sobre tabaquismo (fumador activo, no fumador, exfumador; número de cigarrillos/día, fecha de abandono de hábito), la presencia de antecedentes familiares de EII, el tratamiento inmunosupresor concomitante y las fechas de las visitas “pico” y “valle”.

Además se recogieron detalles sobre la fecha de diagnóstico de EII, el diagnóstico de EC o de CU, la fecha de inicio del biológico, el patrón de Montreal al diagnóstico y al inicio del biológico, la presencia de afectación perianal y de complicaciones extraintestinales (oro-cutáneas, osteoarticulares, oculares, hematológicas, vasculares, hepatobiliares, otras) al diagnóstico y al inicio del biológico; el motivo principal de inicio del biológico; la dosis de inducción prescrita así como la dosis de mantenimiento posterior; y por último todos y cada uno de los cambios de pauta de dosis y frecuentación programada del tratamiento (intensificaciones, desintensificaciones, suspensiones y reinicios) así como la fecha en la que dichos cambios ocurrieron.

### 3.2 VARIABLES HEMATOLÓGICAS

Respecto a las variables hematológicas, se realizó a los pacientes un hemograma completo con resultados de leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, basófilos, eosinófilos, monocitos, hematíes, VCM, hematocrito y plaquetas, así como una VSG. El hemograma completo contiene datos que pueden aproximar indirectamente la intensidad de la inflamación, como las cifras elevadas de leucocitos, neutrófilos y plaquetas.

La VSG cuantifica la velocidad con la que los hematíes sedimentan en un tubo capilar. La presencia de reactantes de fase aguda acelera dicha velocidad, aunque la VSG depende también de otros numerosos factores entre los que se cuentan el número y el tamaño de los hematíes<sup>430</sup>. Por ello, la presencia simultánea de anemia afecta indirectamente a sus niveles, y supone una limitación notable para la interpretación de este parámetro en la práctica como indicador

de inflamación aguda. También se ha descrito una elevación de la VSG con la edad, tabaquismo o algunos tratamientos como los salicilatos<sup>431</sup>.

Comparada con la PCR, existe una mayor demora desde que se produce el evento inflamatorio agudo hasta que se puede detectar la elevación la VSG, consecuencia de su corta vida media de la PCR. De igual modo, el descenso de la VSG también requiere un periodo relativamente prolongado de varios días hasta recuperar niveles normales tras la resolución del proceso inflamatorio causante<sup>432</sup>. A pesar de estas limitaciones, la VSG dispone de la ventaja de su sencillez de determinación, su disponibilidad y su reducido coste.

### 3.3 VARIABLES BIOQUÍMICAS

Respecto a las variables bioquímicas, se recogieron datos de creatinina, GOT, GPT, GGT, proteínas totales, albúmina, y factor reumatoide, así como PCR y calprotectina fecal. Hay controversia en la literatura sobre el papel de la albúmina como marcador pronóstico de la EII, pero sí afecta al transporte de inmunoglobulinas mediado por Fc $\gamma$ RIIA y queda claro que tanto ella como el factor reumatoide pueden contribuir a alteraciones en las determinaciones por ELISA de los niveles de biológicos anti-TNF $\alpha$ , por lo que parece imprescindible conocer estos datos.

La PCR fue la primera proteína reactante de fase aguda descrita<sup>433</sup>. Normalmente se sintetiza en el hígado en cantidades menores a 1 mg/l. Sin embargo, como consecuencia de un estímulo "de fase aguda", habitualmente un proceso inflamatorio, los hepatocitos son estimulados mediante TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 para incrementar rápidamente la síntesis de PCR<sup>357,377,434,435</sup>.

Elevaciones discretas de PCR entre 10 y 40 mg/l se describen habitualmente en procesos inflamatorios leves o en infecciones de origen viral, mientras que procesos inflamatorios más graves o infecciones bacterianas se asocian con elevaciones más significativas entre 50 y 200 mg/l. Por último, concentraciones superiores a 200-250 mg/l se han descrito en pacientes con procesos patológicos muy graves o bien con grandes quemaduras<sup>436</sup>. La PCR tiene una vida media corta de 19 horas en comparación con otros reactantes de fase aguda, por lo que se eleva precozmente tras el comienzo del proceso inflamatorio y también disminuye con celeridad tras la resolución del mismo. Esta propiedad la hace apropiada para estimar la evolución de la actividad del proceso patológico causal a lo largo del tiempo. Su determinación es sencilla, no depende de ingesta alimentaria, sus concentraciones no tienen ritmo circadiano, y

no se ve influida por medicación concomitante diferente del tratamiento para el proceso patológico subyacente. Sin embargo, la síntesis de PCR se puede ver afectada por diversos procesos que causen una insuficiencia hepatocelular, y sus cifras tienden a aumentar con la edad, presumiblemente por el mayor número de procesos patógenos subclínicos<sup>437</sup>.

En lo que respecta a la calprotectina, es una proteína de 36 kD que está presente en el citoplasma de los neutrófilos, representando el 60% de las proteínas citosólicas de los granulocitos<sup>438</sup>. Por ello, la presencia de calprotectina en heces es directamente proporcional a la migración de los neutrófilos hacia el tracto intestinal<sup>377</sup> y se ha descrito una estrecha correlación entre la concentración de calprotectina fecal y la excreción leucocitaria cuantificada mediante <sup>111</sup>Indio<sup>439</sup>. Pertenece a la familia de las lipocalinas, proteínas de estructura tridimensional compleja capaces de unirse y transportar moléculas hidrofóbicas. Muy diversas enfermedades digestivas entre las que se encuentra la EII<sup>440</sup> presentan una mayor eliminación de leucocitos por las heces<sup>441</sup>. De hecho, la cuantificación de leucocitos marcados con <sup>111</sup>Indio en heces ha sido empleada clásicamente como prueba de referencia para medir el grado de actividad de la EII. Esta técnica ha caído en desuso por su exposición a radiación ionizante y por la necesidad de la recogida de heces durante un tiempo prolongado. Tiene la ventaja teórica de disponer de una mayor especificidad para el diagnóstico de las enfermedades gastrointestinales al no elevarse en otros procesos de localización extradigestiva<sup>357,377,442</sup>. Además, su alta correlación con las lesiones mucosas puede evitar la necesidad de realizar una exploración endoscópica con intención de medir directamente la actividad de la enfermedad<sup>443,444</sup> puesto que la calprotectina puede estimarla fielmente.

La calprotectina tiene la ventaja de poseer una excelente estabilidad en heces a temperatura ambiente y durante periodos tan largos como una semana<sup>445</sup>. Su cuantificación se realiza mediante una sencilla técnica de ELISA con la que se obtienen unos valores que se consideran normales si son menores de 50 mg/l, aunque algunos estudios han recomendado otros puntos de corte más elevados (entre 60 y 100 mg/l) al evidenciar que estos son más precisos<sup>446</sup>. Se necesita una única muestra de heces y de cuantía tan escasa como 5 g para una determinación suficientemente fiable. Todas estas características permiten que la muestra de heces pueda ser obtenida por el propio paciente en su domicilio y remitida a su hospital o a un centro de referencia relativamente alejado, donde podrán ser congeladas y almacenadas hasta su procesamiento definitivo<sup>438,441</sup>.

Una desventaja de la calprotectina fecal es que su posible elevación tras la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos<sup>447,448</sup> o inhibidores de la bomba

de protones<sup>449</sup>, y su variación intraindividual con la edad<sup>450</sup>. Por otra parte, existe controversia sobre la homogeneidad del nivel de calprotectina entre diferentes deposiciones de un mismo individuo, demostrándose en algunos estudios variabilidad considerable entre las determinaciones realizadas incluso en la misma muestra fecal, o en diferentes muestras de un mismo paciente obtenidas en días sucesivos<sup>451</sup>, diferencias que pueden ser debidas a cambios en la dieta o en la actividad física<sup>452</sup>.

### 3.4 VARIABLES INMUNOLÓGICAS

Respecto a las variables inmunológicas, se determinaron las más relevantes de las citadas previamente y eventualmente relacionadas con los niveles de biológicos anti-TNF $\alpha$ . La mayor parte de las inmunoglobulinas séricas se localizan en las fracciones gamma y beta del proteinograma electroforético sérico (sobre acetato de celulosa o agarosa). La fracción gamma está integrada en su mayor parte por IgG, y a su vez, la mayor parte de la IgG se halla en esta fracción. La fracción beta contiene muchas otras proteínas además de IgA, IgM, IgD e IgE y parte de IgG. Para la dosificación de IgG, IgA e IgM en suero se emplearon métodos de inmunodifusión radial simple.

En la medición del complemento, la determinación más habitual mediante inmunodifusión radial simple es la medición de C3 y C4. Su aumento puede ocurrir en todas las situaciones que impliquen un incremento de reactivos de fase aguda como durante la inflamación. Su disminución también podría traducir un excesivo consumo por activación tanto de la vía clásica por inmunocomplejos como también de la vía alternativa.

Dado que los procesos de patogenia autoinmune y los tratamientos biológicos empleados para los mismos pueden presentar autoanticuerpos con diversas especificidades, puede ser interesante la cuantificación de los mismos. Los ANA<sup>63</sup> son autoanticuerpos dirigidos contra una gran variedad de estructuras intranucleares como DNA, RNA, desoxirribonucleoproteínas, histonas y otras proteínas nucleares distintas de las histonas. El método de elección para la dosificación sistemática de los ANA es la inmunofluorescencia indirecta.

No sólo es necesario averiguar la máxima dilución a la que son positivos en el suero, sino también consignar los patrones de tinción, puesto que son sugestivos de diferentes estructuras antigénicas, lo cual tiene interés clínico al orientar en el diagnóstico diferencial. Entre estos patrones de tinción se distingue el homogéneo o difusa en todo el núcleo, que refleja probablemente una

mezcla de anticuerpos dirigidos contra desoxirribonucleoproteínas, histonas y DNA; el de reborde o refuerzo periférico, en el que la tinción del núcleo se intensifica en su periferia y que traduce la presencia de anticuerpos contra DNA de doble cadena; el moteado, que refleja anticuerpos contra antígenos a los que genéricamente se ha denominado "antígenos nucleares extraíbles" (ENA) porque se pueden extraer del núcleo en soluciones salinas isotónicas; y el nuclear, en el que sólo se observan teñidos los nucléolos, lo que revela la presencia de anticuerpos contra RNA nuclear.

Además, los anticuerpos anti-DNA pueden estar dirigidos contra DNA de cadena única (desnaturalizado), contra DNA de doble cadena (nativo), o contra antígenos del DNA presentes en ambos tipos. Si los ANA tienen un título significativo superior a 1:50 se debe investigar las distintas especificidades de los anticuerpos antinucleares como anti-DNA, anti-Sm y anti-RNPn y anti-Ro (SS-A) y anti-ha (SS-B) guiándose por el patrón de tinción de los ANA y de la orientación clínica concreta.

Por otro lado, aunque es imprescindible para el diagnóstico de la AR, los autoanticuerpos frente al fragmento Fc de la IgG, denominado factor reumatoide, pueden estar presente en otros muchos procesos patológicos de patogenia autoinmune a títulos bajos. El método usado más comúnmente detecta anticuerpos de clase IgM.

Además, se determinaron los niveles de las 6 citocinas más relevantes: IL-12p70, TNF $\alpha$ , IL-8, IL-10, IL-6, IL1B, con objeto de cuantificar las moléculas de señalización entre leucocitos que pudieran traducir más sensiblemente la intensidad del proceso inflamatorio así como correlacionarlas tanto con los niveles de biológico anti-TNF $\alpha$ , como con las puntuaciones clínicas, de calidad de vida, y con los reactantes de fase aguda séricos y fecales.

### 3.5 VARIABLES GENÉTICAS

Respecto a las variables genéticas, se determinó el genotipo de los pacientes para el gen del Fc $\gamma$ RIIIA. Los receptores  $\gamma$  del fragmento Fc' funcionan como receptores celulares de membrana para las IgG y se encuentran en la superficie de células NK, monocitos, mastocitos y neutrófilos, jugando un papel clave en el sistema inmunológico.

En los humanos existen tres tipos principales de Fc $\gamma$ R, el tipo I de alta afinidad y los tipos II y III de baja afinidad<sup>453</sup>. Se unen a su antígeno IgG desencadenando respuestas inhibitorias o activadoras en el interior de la célula<sup>454</sup>.

Los receptores Fc $\gamma$ RII están codificados por los genes FCGR2A, 2B y 2C, mientras que los receptores Fc $\gamma$ RIII están codificados por los genes FCGR3A y 3B, genes localizados en el *cluster* 1q23.3. Los receptores Fc $\gamma$ RIII tipo A y tipo B son diferentes en su unión a la superficie celular y en su patrón de expresión. El Fc $\gamma$ RIIIA tiene una región transmembrana y se expresa en células NK, mientras que Fc $\gamma$ RIIIB se une a la membrana celular mediante un ancla de glicofosfo-inositol y se expresa en neutrófilos principalmente<sup>455</sup>. Ambos son genes parálogos separados por un evento de duplicación de 82 kb e idénticos en un 98% de la secuencia.

La variabilidad alélica de Fc $\gamma$ RIIIA se ha asociado con diversas enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico<sup>456</sup>, la AR<sup>457</sup> y otras enfermedades no órgano-específicas<sup>458</sup>, además de respuestas clínicas y biológicas diferentes para el biológico rituximab en linfomas no-Hodgkin<sup>459,460</sup>.

Existen polimorfismos identificados en los genes codificantes y asociados a la respuesta clínica a los fármacos biológicos<sup>23</sup>. El gen FCGR3A presenta polimorfismos en la posición +4985 (G  $\rightarrow$  T) del sexto exón. El alotipo Fc $\gamma$ RIIIA-158V corresponde a una valina en la posición 158 de la cadena, con mayor afinidad por las inmunoglobulinas IgG1 como los biológicos que el alotipo Fc $\gamma$ RIIIA-158F que corresponde a una fenilalanina en la citada posición. Esto genera diferentes afinidades en la unión con las inmunoglobulinas, y por tanto con los biológicos anti-TNF $\alpha$ , y en consecuencia, modificaciones de su farmacología. Las células NK de sujetos homocigotos para el alotipo V presentan una mayor citotoxicidad mediada por anticuerpos, presumiblemente por una mayor afinidad del receptor con el fragmento Fc' de las inmunoglobulinas, lo que pudiera mejorar la eficacia de los tratamientos biológicos.

Para analizar el SNP de Fc $\gamma$ RIIIA se analizó en el DNA la secuencia correspondiente a la posición 158 de la proteína, donde hay una valina que es codificada por un triplete de nucleótidos (en este caso sería GTC, o CAG en la cadena complementaria de DNA). El cambio en el triplete GTC de G por T, o en el caso de la cadena complementaria en el triplete CAG de C por A, tiene como resultado en la traducción a proteína un cambio de aminoácido de valina a fenilalanina (TTC o AAG, según la cadena de DNA explorada). En resumen, en la técnica que utilizada por nuestro laboratorio, el cambio viene definido como que C se sustituye por A en el triplete CAG que codifica la valina. Por ello los genotipos vienen expresados como CC/CA/AA, de forma análoga a VV/VF/FF, más comunes en la literatura publicada<sup>364</sup>.

### 3.6 VARIABLES CLÍNICAS DE PUNTUACIÓN DE ACTIVIDAD

En EC la correlación entre la actividad clínica y la endoscópica puede ser débil. La evaluación de la actividad clínica ha sido relevante en los estudios pivotaes de tratamiento, pero se ha descrito la presencia de lesiones endoscópicas persistentes en casos de remisión clínica, lo que cuestiona la validez de estos sistemas de puntuación. La evaluación de la actividad de la EC y la monitorización de la respuesta al tratamiento requiere establecer instrumentos aplicables y reproducibles basados en índices clínicos y endoscópicos. El desarrollo de sistemas de puntuación que reflejen de forma fidedigna la actividad de la EC es difícil y complejo por la naturaleza heterogénea de la enfermedad.

Pese a que han transcurrido 3 décadas desde su diseño, el índice de Best o CDAI sigue siendo el más utilizado en los ensayos clínicos controlados<sup>461</sup>. Incluye ocho variables, siete de ellas clínicas (número de deposiciones, dolor abdominal, estado general, presencia de manifestaciones extraintestinales, ingesta de antidiarreicos, masa abdominal, peso) y solo un parámetro analítico (hematocrito). Por ello es un índice más de gravedad clínica que de actividad inflamatoria.

La puntuación final obtenida establece una gradación numérica de la enfermedad que permite discernir pequeños cambios dentro de una misma categoría, algo de lo que adolecen los índices cualitativos. Entre las críticas recibidas por el CDAI está su elevada subjetividad y por ello su elevada variabilidad interobservador. Se ha observado que la puntuación asignada a un mismo caso por distintos facultativos puede tener significativas oscilaciones. Además, la cuantificación de la EC por el CDAI precisa de 7 días y resulta poco simple para ser aplicada al enfermo ingresado o grave. Como variables objetivas, no incluye la VSG, la PCR ni la albúmina, que podrían ser relevantes para cuantificar la actividad inflamatoria. El dolor abdominal y el estado general, datos demasiado subjetivos y por lo tanto mal cuantificables, tienen un peso del 39% del valor de la ecuación. Además, los corticoides por su efecto euforizante en muchos pacientes y astringente, producen mejorías en este índice incluso sin modificar la actividad de la enfermedad, lo que les favorece en las comparaciones con otros tratamientos.

El índice Harvey-Bradshaw<sup>462</sup> es más práctico y fácil de usar, es de frecuente uso en la práctica clínica y se basa en cinco variables subjetivas y clínicas: estado general, dolor abdominal, número de heces líquidas diarias, presencia de masa abdominal y número de complicaciones. Solo se utilizan 5 variables del CDAI, excluyendo el uso de antidiarreico, hematocrito y variación

del peso. Evalúa los parámetros en las 24 horas precedentes por lo que es fácil, rápido y permite el control ambulatorio, aunque lo hace menos seguro pues puede cambiar de un día a otro. Fue diseñado de forma prospectiva con una muestra de 112 pacientes y tiene una buena correlación positiva con el CDAI, pues una puntuación en el índice de Harvey-Bradshaw igual o superior a 7 puntos tiene una probabilidad del 94% de tener un CDAI superior a 150 puntos.

La monitorización adecuada de la CU incluye la evaluación clínica, endoscópica e histológica<sup>463</sup>; de lo que dependerán las decisiones terapéuticas oportunas. Dentro de los índices utilizados para estratificar la enfermedad podemos diferenciar entre los clínico-biológicos, los endoscópicos y los histológicos. Además, hay índices mixtos que incluyen variables de dos o más categorías. El índice clínico-biológico más conocido es el de Truelove y Witts<sup>464</sup>, un índice cualitativo que diferencia entre enfermedad inactiva y brote leve, moderado o grave y fue diseñado para evaluar la respuesta al tratamiento esteroideo.

El índice se basa en seis criterios sencillos y de cálculo fácil: número de deposiciones por día, sangrado en la deposición, temperatura corporal, frecuencia cardíaca, hemoglobina y VSG. De acuerdo a criterios establecidos se define la enfermedad como leve, moderada o severa. La remisión clínica se define como 1 o 2 deposiciones por día sin sangrado, ausencia de fiebre, ausencia de taquicardia y normalización de la hemoglobina y la sedimentación. La principal desventaja de este índice es que no valora la extensión de las lesiones, por lo que en algunos casos de formas de afectación distal, especialmente en la proctitis, no es aplicable de forma fidedigna.

Respecto al índice de Mayo, fue desarrollado con posterioridad. El índice tiene tres variables clínicas y una endoscópica: frecuencia de las deposiciones (rango de 0-3), sangrado rectal (rango de 0-3), rectosigmoidoscopia flexible (rango de 0-3) y estado general del paciente (PGA: *Physician global assessment*) con rango de 0-3. La puntuación total varía de 0 a 12 puntos. La remisión completa se definió como resolución de todos los síntomas con todos los subpuntuaciones en cero. Más recientemente la remisión se ha extendido a una puntuación endoscópica y de sangrado rectal igual a cero, con puntuación  $\leq 1$  en frecuencia de deposiciones y en estado global general, o también, como puntaje total  $\leq 2$  puntos y con todas las variables  $\leq 1$  punto. Se ha definido cicatrización mucosa como una subpuntuación endoscópica  $\leq 1$  punto.

Ni el índice de Mayo ni las definiciones de remisión y de respuesta han sido validados. A pesar de esta falta de validación y consenso en las definiciones, estas han tenido adecuada correlación con los índices de calidad de vida

IBDQ y SF-36. Los estudios que analizan la concordancia inter-observador de diferentes índices concluyen que es el índice más reproducible, siendo mayor la correlación entre endoscopistas expertos<sup>465,466</sup>. La concordancia entre diferentes índices es excelente, incluso aplicada a las diferentes categorías de actividad leve, moderada o grave.

### 3.7 VARIABLES DE CALIDAD DE VIDA

Los instrumentos que valoran la repercusión de la EII sobre la calidad de vida se han incorporado en los últimos años como nuevas formas de medida de la actividad de la enfermedad y de la eficacia de los tratamientos<sup>467</sup>. El estudio de la calidad de vida relacionada con la salud tiene implicaciones clínicas y sanitarias.

La mejoría en la calidad de vida se ha incluido como objetivo terapéutico secundario en numerosos ensayos clínicos. El *Inflammatory Bowel Disease Questionnaire* (IBDQ) es el cuestionario más utilizado para la medición de la calidad de vida en la EII<sup>468,469</sup>, es específico para la misma, auto-administrado y constituido por 32 ítems distribuidos en 4 dimensiones: síntomas intestinales, síntomas sistémicos, función emocional y función social. El rango de la puntuación global del IBDQ abarca de 32 a 224 puntos. Existe una versión más amplia desarrollada por los mismos autores para pacientes ambulatorios y contiene 36 ítems<sup>470</sup>, que ha sido la empleada en el presente estudio.

El IBDQ ha sido traducido y validado a diferentes idiomas, entre ellos el castellano<sup>471</sup>, estando disponible en nuestro idioma la versión de 36 ítems del IBDQ que se ha empleado. La presencia o no de actividad de la enfermedad se relaciona con la afectación de la calidad de vida. En la EC y en la CU, tanto el índice IBDQ como sus 5 dimensiones de forma individualizada se puntúan de forma significativamente peor durante los brotes de actividad inflamatorias que durante las épocas de remisión clínica<sup>472</sup>. Además, durante los brotes se deterioran principalmente las dimensiones que valoran los síntomas digestivos como la diarrea o el dolor abdominal, y los síntomas sistémicos como la astenia o la fatigabilidad, mientras que la función social está menos limitada. Sin embargo, durante los periodos de remisión mejoran todas las dimensiones, aunque persiste con mayor afección la dimensión de los síntomas sistémicos.

Se ha documentado que el IBDQ es un instrumento de medida que refleja rápidamente los cambios en la calidad de vida de los pacientes. El valor de corte para remisión es de más de 168 puntos y el de respuesta parcial es de una

mejora de 27 puntos o más<sup>473</sup>. Recientemente se ha desarrollado una versión simplificada del IBDQ, con nueve ítems, con adecuado poder de discriminación entre recidiva clínica y remisión, tanto en la CU como en la EC y una buena correlación con los índices endoscópicos<sup>474,475</sup>.

### 3.8 VARIABLES FARMACOLÓGICAS

Los niveles de biológico-anti-TNF $\alpha$  se determinaron mediante un inmunoensayo ELISA para la determinación cuantitativa de IFX, ADA y anticuerpos frente a IFX y ADA<sup>250</sup>.

Se empleó en este ELISA el kit comercial Promonitor<sup>®</sup>, validado clínicamente en diferentes patologías<sup>476,477</sup>. La especificidad clínica es muy elevada, y posee una sensibilidad clínica óptima para la mayoría de aplicaciones<sup>478</sup>. Este kit utiliza fragmentos recombinantes F(ab')<sub>2</sub> humanos contra el biológico anti-TNF $\alpha$ , al contrario de otros test comerciales que utilizan anticuerpos policlonales o incluso anti-especie para la detección del fármaco. Los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> permiten una detección específica sin reacciones cruzadas entre fármacos anti-TNF $\alpha$ .

El fragmento F(ab')<sub>2</sub> se ha diseñado de manera que no compita con el TNF $\alpha$  por la unión al biológico que mide. Promonitor<sup>®</sup> mide la biodisponibilidad del biológico, o sea, la fracción de fármaco libre en la circulación sistémica. Aunque es posible que el ensayo detecte biológico unido a TNF $\alpha$ , esta contribución es despreciable ya que la concentración máxima de TNF $\alpha$  circulante se encuentra en el rango de picogramos por mililitro, al menos tres órdenes de magnitud por debajo de las concentraciones típicas de fármaco anti-TNF $\alpha$  en sangre (entre ng/mL y  $\mu$ g/mL).

Las tiras ELISA se suministran pretapizadas con un fragmento F(ab')<sub>2</sub> humano recombinante unido a TNF $\alpha$  humano recombinante. Este formato garantiza que la estructura homotrimérica del TNF $\alpha$  no se altere y que el biológico anti-TNF $\alpha$  reconozca el TNF $\alpha$  de manera consistente. Durante el ensayo se añaden los calibradores prediluidos, los controles y las muestras de los pacientes a pocillos separados. El biológico presente en las muestras se une al TNF $\alpha$  pre-inmovilizado en la placa.

Tras la incubación, la fracción de IFX no unida se lava, y el fármaco se detecta mediante unión al fragmento F(ab')<sub>2</sub> anti-biológico marcado con HRP (peroxidasa de rábano). Una segunda incubación permite que el fragmento

F(ab')<sub>2</sub> anti-biológico se una al biológico. Tras un segundo paso de lavado se retira el exceso de HRP-F(ab')<sub>2</sub> y la actividad de HRP en la placa se mide mediante un sustrato cromogénico en un espectrofotómetro. La señal obtenida es proporcional a la cantidad de fármaco presente en la muestra del paciente.

En lo que respecta a la arquitectura del inmunoensayo para la cuantificación de anticuerpos anti-biológico, está ampliamente reconocida y validada para el cribado de anticuerpos frente fármacos biológicos como los monoclonales anti-TNF $\alpha$ <sup>479</sup>. El ensayo proporciona una elevada especificidad y muestra valores de sensibilidad clínica adecuados.

Promonitor<sup>®</sup> anti-biológico mide los anticuerpos de unión al biológico anti-TNF $\alpha$  libres. El ensayo de tipo puente no detecta inmunocomplejos que puedan haberse formado entre el fármaco anti-TNF $\alpha$  y los anticuerpos anti-biológico. Se sabe que todos los anticuerpos detectados anti-IFX y anti-ADA son anticuerpos neutralizantes anti-idiotipo<sup>480</sup>, y que por lo tanto tienen un gran impacto en la clínica. Este hecho implica que para la monitorización de anticuerpos en rutina clínica, no es necesario recurrir a otras técnicas capaces de detectar únicamente anticuerpos neutralizantes, sino que un ensayo basado en ELISA es suficiente para proporcionar información clínicamente útil. Los anticuerpos anti-alotipo frente a epítomos distintos del idiotipo no alteran la actividad clínica del biológico y no son detectados en el ELISA que se empleó<sup>24</sup>.

Las tiras ELISA se suministran pretapizadas con el biológico diana. El ensayo de tipo puente utiliza los dos brazos de las IgG de tipo 1, 2 y 3 para entrecruzar el anti-TNF $\alpha$  unido a la placa. Durante el ensayo se añaden los calibradores prediluidos, controles y las muestras de los pacientes a pocillos separados. Tras una primera incubación, los anticuerpos anti-biológico presentes en la muestra se unirán al biológico previamente inmovilizado en la placa. La fracción de muestra no unida se lavará y los anticuerpos anti-biológico se detectan mediante unión a un conjugado de IFX marcado con HRP. Una segunda incubación permite que el biológico marcado se una a los anticuerpos anti-biológico inmovilizados en el pocillo. Tras un segundo paso de lavado se retira el exceso de conjugado y la actividad de HRP en la placa se mide mediante un sustrato cromogénico en un espectrofotómetro. La señal obtenida es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra del paciente.

### 3.9 VARIABLES DE ADHERENCIA A TRATAMIENTOS

El incumplimiento farmacoterapéutico constituye un importante problema asistencial que puede afectar a la salud de los pacientes, y es una de las posibles causas del fracaso de los tratamientos. Cada fármaco que se comercializa ha necesitado un gran esfuerzo e inversión, que puede resultar en vano si el enfermo no lo utiliza como debe<sup>481</sup>. La falta de cumplimiento de la prescripción terapéutica es un fenómeno común, sobre todo en procesos crónicos, y en ocasiones las razones que conducen a esta conducta son difíciles de dilucidar y se basan en el complejo comportamiento humano<sup>482</sup>.

Actualmente, el incumplimiento del tratamiento farmacológico es la causa del fracaso de muchos tratamientos y conlleva serios problemas en calidad de vida, costes para los sistemas de salud y, sobre todo, contribuye a que no se consigan resultados clínicos positivos. Para facilitar la valoración del cumplimiento, se dispone de una serie de métodos apoyados en la entrevista clínica en los que de forma directa se le pregunta al enfermo sobre su cumplimiento.

Estos procedimientos son métodos muy fiables si el paciente se confiesa mal cumplidor y, por tanto, poseen un alto valor predictivo positivo. No obstante, al comparar este método con otros más exactos, se observa que hay un número importante de enfermos que mienten cuando dicen que toman toda la medicación, lo que confiere a los métodos indirectos un bajo valor predictivo negativo<sup>483</sup>.

Uno de estos métodos, y que se empleó en el presente proyecto, está validado para diversas enfermedades crónicas y fue desarrollado originalmente por Morisky, Green y Levine<sup>484</sup> para valorar el cumplimiento de la medicación en pacientes con hipertensión arterial. Desde que el test fue introducido se ha usado en la valoración del cumplimiento terapéutico en diferentes enfermedades<sup>485,486,487,488,489</sup>.

Consiste en una serie de 4 preguntas de contraste con respuesta dicotómica sí/no, que refleja la conducta del enfermo respecto al cumplimiento. Se pretende valorar si el enfermo adopta actitudes correctas con relación con el tratamiento para su enfermedad asumiendo que si las actitudes son incorrectas, el paciente es incumplidor. Presenta la ventaja de que proporciona información sobre las causas del incumplimiento. Las preguntas, que se deben realizar idealmente entremezcladas con la conversación y de forma cordial, son las siguientes:

1. ¿Olvida alguna vez tomar los medicamentos para tratar su enfermedad?
2. ¿Toma los medicamentos a las horas indicadas?

3. Cuando se encuentra bien, ¿deja de tomar la medicación?
4. Si alguna vez le sienta mal, ¿deja usted de tomarla?

El paciente es considerado como cumplidor si se responde de forma correcta a las cuatro preguntas, es decir, No/Sí/No/No. Existe otra variante, en la cual se modifica la segunda pregunta para permitir que la respuesta correcta sea "no", y de esta forma se consigue que para ser cumplidor haya que responder a las 4 preguntas de la misma forma: No/No/No/No. La pregunta en esta variante del test es: ¿Olvida tomar los medicamentos a las horas indicadas?

Este método se diseñó para tratamientos ambulatorios por vía oral, y aunque no permite definir la adherencia a tratamientos ambulatorios subcutáneos, sí permite identificar la adherencia de pacientes crónicos a otros tratamientos por vía oral de significativa importancia, como por ejemplo los IMM tiopurínicos.

## 4. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Todas las variables anteriormente descritas fueron introducidas debidamente identificando al sujeto del que procedían en una base de datos creada *ad hoc* con el programa Access versión 2010 para Windows, indexada por código diferente al número de historia, manteniendo así la anonimización.

Para realizar el análisis estadístico de los datos se utilizó la versión 15.0 del programa SPSS. El nivel de significación estadística se estableció para una  $\alpha = 0.05$ .

Desde el punto de vista descriptivo, las variables cuantitativas se trataron analizando los índices de centralización y dispersión media aritmética y desviación típica. Las variables cualitativas se trataron analizando la frecuencia absoluta de la aparición de cada una de las categorías así como las frecuencias relativas.

En las variables cuantitativas, si la prueba de significación de Shapiro-Wilks fue inferior a 0,05 se empleó en la descripción la mediana, junto al rango intercuartílico (percentil 25 y percentil 75) y el mínimo y máximo. Para comparar las diferencias de medias se utilizó la comparación de Wilcoxon, ya que las variables no seguían una distribución normal y los datos estaban apareados. Asimismo, se utilizaron para las comparaciones los intervalos de confianza de las medias al 95%. Para contrastar las correlaciones de las variables continuas se empleó la rho de Spearman.

En la comparación de variables nominales en muestras relacionadas se empleó el test de McNemar en caso de variables con dos niveles, el test de homogeneidad marginal cuando hubo más de dos niveles, y en caso de que una de las variables fuese ordinal, se utilizó el test lineal. En tablas 2x2 se calcularon los OR con sus intervalos de confianza al 95%

El cálculo de los puntos de corte de los niveles de biológicos y de calprotectina se estimó mediante curvas ROC.

Se construyó un modelo de regresión logística para conocer los factores que aumentan o disminuyen la probabilidad de que se produzca la intensificación del biológico. Para establecer dicho pronóstico se fijó un punto de corte del 0,50. La variable dependiente fue la intensificación, variable dicotómica que solo puede tomar valores 0 (no) o 1 (sí). Las variables independientes incluidas en el modelo fueron el sexo (hombre/mujer), la gravedad al inicio del biológico (leve/moderada/grave), la afectación perianal (sí/no), el cotratamiento con IMM (sí/no), el título de ANA (positivo/negativo), el genotipado (AA, CA y CC), la edad de debut (<30 años/≥ 30años, o los estratos de Montreal A1, A2, y A3), el tiempo *naïve* al biológico (<63 meses/≥63 meses), el anticuerpo anti-biológico (positivo/negativo) y el diagnóstico (EC/CU). Se analizaron 93 casos perdiendo un 3,1% (n=3), siendo el ajuste global del modelo del 79,6%. Se muestran los OR ajustados por todas las variables incluidas en el modelo, con sus intervalos de confianza al 95%.

Se construyó un modelo de Cox de riesgo proporcional para conocer la relación entre el tiempo libre hasta la intensificación y las variables estudiadas. La variable independiente fue el tiempo hasta la intensificación y las variables independientes incluidas en el modelo fueron el sexo (hombre/mujer), la gravedad al inicio del biológico (leve/moderada/grave), la afectación perianal (sí/no), el cotratamiento con IMM (sí/no), el título de ANA (positivo/negativo), el genotipado (AA, CA y CC), la edad de debut (<30 años/≥ 30años, o los estratos de Montreal A1, A2, y A3), el tiempo *naïve* al biológico (<63 meses/≥63 meses), el anticuerpo anti-biológico (positivo/negativo) y el diagnóstico (EC/CU). Se incluyeron 80 casos (83,3%) y se perdieron 16 (16,7%). Un total de 22 casos (22,9%) presentaron el evento y se censuraron 58 (60,4%). El ajuste global del modelo fue significativo ( $p=0,010$ ).

## 5. ASPECTOS ÉTICOS

El presente proyecto de investigación se desarrolló bajo los preceptos de la Declaración de Helsinki sobre investigación biomédica y sucesivas (Tokio, Venecia, Hong Kong, Somerset West, Edimburgo, Washington, Tokio, Seúl y Fortaleza) y las normas de buena práctica clínica en investigación, así como cumpliendo la orden ministerial SAS/3470/2009 relativa a realización de estudios observacionales.

Dado el diseño observacional descrito previamente, sólo se desarrolló fuera de la práctica clínica habitual por parte de los pacientes la cumplimentación de dos cuestionarios clínicos (CDAI y Harvey-Bradshaw para los pacientes con EC y Truelove-Witts modificado e índice de Mayo parcial para los pacientes con CU), uno de adherencia al tratamiento (Morisky-Green-Levine), y dos analíticas. No se previó por tanto ningún riesgo inherente a la participación en el estudio para los pacientes incluidos ni ninguna modificación o interferencia en la práctica clínica y la asistencia sanitaria de los sujetos participantes.

El protocolo del estudio fue valorado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación Clínica del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.

El protocolo del estudio fue clasificado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, siguiendo en todo momento el procedimiento legalmente establecido.

Se solicitó invariablemente como primer paso de la investigación el consentimiento informado de los pacientes tras la oportuna explicación del estudio mediante la hoja de información y la explicación verbal complementaria, suficientes, y se veló durante el desarrollo de la investigación por la privacidad y confidencialidad de los datos recabados en aplicación de la legislación vigente en dicha materia, especialmente la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre y Real Decreto 1720/2007 de 21 de diciembre.

### 5.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

La propuesta de participación en el estudio a un paciente se inició siempre con la entrega de un documento escrito denominado "hoja de información al paciente" que contenía la información relevante, necesaria y suficiente para que se pudiera decidir la participación en el estudio, en cumplimiento de la Ley 41/2002 de 14 de Noviembre "Básica reguladora de la autonomía del paciente

y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica".

El investigador además debió informar al paciente sobre la naturaleza voluntaria de su participación y que no suponía ningún cambio en su tratamiento ni menoscabo en su atención médica respecto a la que recibirían en caso de no participar. Dado que la participación en el estudio fue completamente voluntaria, los candidatos a participar pudieron negarse a ello. Asimismo, pudieron retirarse del estudio en cualquier momento sin que de ello se derivase ningún perjuicio ni pérdida de los beneficios sanitarios a los que tenía derecho.

El equipo investigador contestó a las dudas y preguntas suscitadas por la "hoja de información" y de acuerdo con la normativa vigente obtuvo el consentimiento informado por escrito. Los investigadores conservan dicho consentimiento informado firmado en un archivo de acceso restringido, junto con los cuadernos de recogida de datos.

El equipo médico responsable controló la EII y su evolución durante todo el estudio como habitualmente se hubiera hecho en caso de no participar. Se explicó específicamente que las conclusiones de este estudio podrían mejorar el conocimiento de la EC y la CU, así como de los tratamientos para las mismas.

Con el fin de garantizar la confidencialidad de los datos del estudio, solo tienen acceso a los mismos, el investigador y su equipo de colaboradores, el CEIC citado y las autoridades sanitarias pertinentes. Siguiendo la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, Protección de datos de carácter personal y el RD 1720/2007 de 21 de diciembre y el resto de legislación aplicable, todos los datos recogidos en el transcurso del estudio han sido tratados de forma estrictamente confidencial y serán utilizados únicamente para la valoración del estudio, sin desvelar en ningún momento los datos de su identificación. Todas las personas que forman parte del equipo investigador han estado y están obligadas a mantener el secreto profesional.

## 5.2 COMUNICACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS

Respecto a la recogida de datos de seguridad, no consta en los objetivos el análisis de seguridad de los fármacos biológicos dado el corto seguimiento de pacientes de hasta 2 semanas en el caso de pacientes bajo tratamiento con ADA y hasta 8 semanas bajo tratamiento con IFX. Este corto seguimiento impide en la práctica un estudio cuyo objetivo incluya variables de seguridad.

No obstante lo anterior, a lo largo del estudio se examinará sistemáticamente a cada sujeto en busca de indicios clínicos y signos analíticos de acontecimientos adversos.

Un acontecimiento adverso es cualquier episodio médico perjudicial que se produce en un paciente o en un sujeto participante en una investigación clínica que ha recibido un producto farmacéutico y que no tiene que tener necesariamente una relación causal con dicho tratamiento. Por consiguiente, un acontecimiento adverso puede ser un signo desfavorable e involuntario, incluido un resultado analítico anormal, síntoma o enfermedad asociados en el tiempo al uso de un medicamento en investigación, se considere o no que existe una relación causal entre el acontecimiento y el uso del producto.

Dicho acontecimiento se puede producir como consecuencia del uso del fármaco tal como se indica en el protocolo de investigación o en la ficha técnica, o deberse a una sobredosis accidental o intencionada, abuso del fármaco o retirada del fármaco. Todo deterioro de un proceso o enfermedad preexistente se considera un acontecimiento adverso. El empeoramiento de la gravedad de un acontecimiento adverso ya comunicado debe notificarse como un acontecimiento adverso nuevo. Los resultados anómalos de los análisis y los cambios de las constantes vitales solamente se consideran acontecimientos adversos si dan lugar al abandono del estudio, necesitan una intervención médica terapéutica o el investigador los considera acontecimientos adversos.

Un procedimiento o intervención quirúrgica previstos que estén programados para realizarse durante el estudio no se considerarán acontecimientos adversos si el procedimiento o intervención se realizan por un proceso preexistente y ya habían sido previstos antes de la entrada en el estudio. Sin embargo, si el proceso preexistente se deteriora inesperadamente durante el estudio o la intervención quirúrgica se realiza antes de lo previsto, el deterioro del proceso por el que se realiza la intervención o procedimiento se considerará un acontecimiento adverso.

Si un acontecimiento adverso cumple cualquiera de los criterios siguientes, deberá comunicarse a Farmacovigilancia como acontecimiento adverso grave antes de transcurridas 24 horas desde que llegue a conocimiento del equipo investigador:

- Muerte del sujeto (acontecimiento que termina con la muerte del sujeto).
- Amenaza para la vida (acontecimiento que en opinión del equipo investigador, habría producido la muerte de manera inmediata si no se hubiera realizado una intervención médica).

- Hospitalización o prolongación de una hospitalización (acontecimiento que es motivo de ingreso en el hospital de cualquier duración o que prolonga la estancia hospitalaria del sujeto).
- Anomalía congénita (anomalía detectada en el nacimiento o posteriormente, o cualquier anomalía que provoca la muerte fetal).
- Discapacidad o incapacidad persistente o importante (acontecimiento que deriva en un proceso que altera considerablemente las actividades de la vida diaria de un sujeto del estudio).
- Acontecimiento médico importante que precisa una intervención médica o quirúrgica para prevenir un desenlace grave (acontecimiento médico importante que puede no ser potencialmente mortal de manera inmediata ni terminar en la muerte u hospitalización, pero que según el criterio médico, puede poner en peligro al sujeto y precisar intervención médica o quirúrgica para prevenir cualquiera de los desenlaces que se han enumerado previamente).

El equipo investigador evaluó y registró con detalle todo acontecimiento adverso, indicando la fecha de comienzo, diagnóstico del acontecimiento de conocerse, signos y síntomas, intensidad de los mismos, evolución en el tiempo con fecha de terminación de haberla, relación del acontecimiento adverso con el fármaco del estudio, y cualquier medida tomada. Se recogerán todos los acontecimientos adversos desde el momento en que el sujeto firme el consentimiento informado específico del estudio hasta la conclusión del mismo.

En caso de un acontecimiento adverso, esté asociado o no con el fármaco del estudio, el equipo investigador lo notificará en un plazo máximo inferior a 15 días naturales desde su conocimiento al Centro de Farmacovigilancia e Información Terapéutica de Canarias acreditado por el Ministerio de Sanidad como parte del Sistema Español de Farmacovigilancia mediante la cumplimentación del formulario *on-line* específicamente establecido en la página web de dicho organismo (<http://www.farmacovigilanciacanarias.org/notificaciones.html>) y equivalente a la denominada "tarjeta amarilla" de la AEMPS. Esta comunicación se realizará en un plazo de 24 horas desde su conocimiento para el caso de acontecimientos adversos graves.



## VIII. RESULTADOS



## 1. DESCRIPCIÓN DEMOGRÁFICA DE LA SERIE

La serie incluye un total de 96 pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión y no cumplieron ninguno de los criterios de exclusión. Las características demográficas del total de la serie se muestran en la Tabla II. Un 61.5% eran varones (n=59). El 27,1% (n=26) eran fumadores activos, el 26% (n=25) eran exfumadores y el 46,9% (n=45) no habían sido nunca fumadores. El 21,1% (n=20) presentaban antecedentes familiares de primer grado (padres, hijos) o de segundo grado (hermanos, abuelos, nietos).

Tabla II: Características demográficas basales

	n	%
<b>Sexo (n=96)</b>		
Varón	59	61,5%
Mujer	37	38,5%
<b>Diagnóstico (n=96)</b>		
EC	84	87,5%
CU	12	12,5%
<b>Tabaquismo (n=96)</b>		
Fumadores	26	27,1%
Exfumadores	25	26%
No fumadores	45	46,9%
<b>Gravedad al debut de la EII (n=93)</b>		
Leve	1	1,1%
Moderada	62	66,7%
Grave	30	32,3%
<b>Antecedentes familiares de EII (n=95)</b>		
Sí	20	21,1%
No	75	78,9%
<b>Complicaciones extraintestinales al debut de la EII (n=88)</b>		
Sí	13	14,8%
No	75	85,2%

Respecto al diagnóstico, el 87,5% (n=84) de la serie tiene diagnóstico de EC y el 12,5% (n=12) de CU. La gravedad de la enfermedad al diagnóstico era leve en el 1,1% (n=1), moderada en el 66,7% (n=62) y grave en el 32,3% (n=30). En el momento del diagnóstico, presentaban complicaciones extraintestinales (orocutáneas, osteoarticulares, oculares, hematológicas, vasculares o hepatobiliares) el 14,8% (n=13).

Respecto al momento de inicio del biológico anti-TNF $\alpha$  en estudio, las características demográficas del total de la serie se muestran en la Tabla III. La gravedad de la enfermedad era moderada en el 69,1% de los casos (n=65) y grave en el restante 30,9% (n=29), no existiendo casos leves. El principal motivo por el que se indicó el biológico fue enfermedad luminal refractaria a IMM en el 49% (n=47), intolerancia a IMM en el 28,1% (n=27), debut grave de la enfermedad en el 8,3% (n=8), fallo secundario a un biológico anti-TNF $\alpha$  empleado previamente en el 8,3% (n=8), enfermedad perianal refractaria a IMM en el 5,2% (n=5) y como terapia "puente" para IMM en el 1% (n=1).

La dosis de inducción de 160/80 mg de ADA se empleó en el 51% (n=49) y la dosis de 80/40 mg en el 3,1% (n=3), respectivamente el 94,2% y 5,8% del grupo de pacientes tratados con ADA. Todos los tratamientos con IFX (n=44) emplearon la dosis de inducción de 5 mg/Kg en semanas 0, 2 y 6, constituyendo el 45,8% del total de la serie. La distribución del tipo de biológico según diagnóstico no fue homogénea (p 0,006), con un 83,3% de IFX y 16,7% de ADA en CU y un 40,5% de IFX y un 59,5% de ADA en EC. El 27,1% (n=26) de los casos tenían cotratamiento IMM (en el 96,2% AZA y en el 3,8% MTX) y el 23,3% (n=20) tenía complicaciones extraintestinales.

A lo largo de la evolución del tratamiento anti-TNF $\alpha$  se ha precisado intensificar el biológico en un 22,9% (n=22) de los casos, y se ha debido interrumpir temporalmente el fármaco en un 9,4% (n=9) reiniciándolo con posterioridad todos ellos.

Los tiempos de evolución fundamentales relacionados con la enfermedad y con el tratamiento se pueden observar en la Tabla IV y son la edad al debut de la EII, el tiempo de evolución de la EII hasta que se administró el primer biológico anti-TNF $\alpha$ , el tiempo hasta la primera intensificación del tratamiento, el tiempo de exposición al biológico, y el tiempo total de evolución de la EII.

Tabla III: Características demográficas al inicio del anti-TNF $\alpha$ 

	n	%
<b>Gravedad al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=94)</b>		
Leve	0	0%
Moderada	65	69,1%
Grave	29	30,9%
<b>Indicación principal de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=96)</b>		
Enfermedad luminal refractaria a IMM	47	49%
Intolerancia a IMM	27	28,1%
Brote grave de debut	8	8,3%
Fallo a biológico previo	8	8,3%
Enfermedad perianal refractaria a IMM	5	5,2%
Puente a inmunosupresión	1	1%
<b>Dosis de inducción de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=96)</b>		
ADA 160/80 mg	49	51%
ADA 80/40 mg	3	3,1%
IFX 5 mg/Kg	44	45,8%
<b>Cotratamiento inmunosupresor (n=96)</b>		
Sí	26	27,1%
No	70	72,9%
<b>Complicaciones extraintestinales al inicio del anti-TNF<math>\alpha</math> (n=86)</b>		
Sí	20	23,8%
No	66	76,2%
<b>Intensificaciones de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=96)</b>		
Sí	22	22,9%
No	74	77,1%
<b>Interrupciones temporales de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=96)</b>		
Sí	9	9,4%
No	87	90,6%

Tabla IV: Tiempos de evolución de la EII

Tiempos de evolución	Media (IC 95%)		
	Serie completa (n=96)	EC (n=84)	CU (n=12)
Edad de debut de la EII	29,90 años (p25 20,25, p75 37,75)	29,96 años (IC 95% 27,20-32,72)	29,50 años (IC 95% 24,08-34,91)
Tiempo hasta el biológico	86,26 meses (p25 16,0, p75 132,5)	85,61 meses (IC 95% 67,80-103,43)	90,75 meses (IC 95% 47,82-133,67)
Tiempo hasta intensificación	36,31 meses (IC 95% 25,02-47,61)	44,37 meses (IC 95% 31,27-57,47)	14,83 meses (IC 95% 1,97-27,69)
Tiempo de exposición	56,52 meses (p25 33,25, p75 79,0)	58,46 meses (IC 95% 51,80-65,12)	42,91 meses (IC 95% 29,06-56,76)
Tiempo de evolución de la EII	11,47 años (p25 6, p75 16)	11,60 años (IC 95% 9,98-13,22)	10,58 años (IC 95% 6,96-14,20)

Respecto a la serie completa de casos, la media de edad de debut fue de 29,90 años, la media de tiempo de evolución de la EII hasta la prescripción y dispensación del primer biológico fue de 86,26 meses, la media de tiempo hasta la primera intensificación de la terapia (n=22) fue de 36,31 meses, la media de tiempo de exposición al biológico fue de 56,52 meses y el tiempo total de evolución de la EII fue de 11,47 años.

Respecto a los casos con EC, la media de edad de debut fue de 29,96 años, la media de tiempo de evolución de la EC hasta la prescripción y dispensación del primer biológico fue de 85,61 meses, la media de tiempo hasta la primera intensificación de la terapia (n=16) fue de 44,37, la media de tiempo de exposición al biológico fue de 58,46 meses y el tiempo total de evolución de la EC fue de 11,60 años.

Respecto a los casos con CU, la media de edad de debut fue de 29,50 años, la media de tiempo de evolución de la CU hasta la prescripción y dispensación del primer biológico fue de 90,75 meses, la media de tiempo hasta la primera intensificación de la terapia (n=6) fue de 14,83 meses, la media de tiempo de exposición al biológico fue de 42,91 meses y el tiempo total de evolución de la CU fue de 10,58 años.

No hubo diferencias significativas entre EC y CU en ninguno de los tiempos de evolución descritos salvo en el tiempo de intensificación, menor en CU.

## 1.1 SUBGRUPO ENFERMEDAD DE CROHN

Las características demográficas del subgrupo de casos diagnosticados de EC se muestran en la Tabla V.

Tabla V: Características demográficas basales de EC

	n	%
<b>Sexo (n=84)</b>		
Varón	53	63,1%
Mujer	31	36,9%
<b>Tabaquismo (n=84)</b>		
Fumadores	26	31%
Exfumadores	23	27,4%
No fumadores	35	41,7%
<b>Gravedad al debut de la EII (n=81)</b>		
Leve	1	1,2%
Moderada	51	63%
Grave	29	35,8%
<b>Antecedentes familiares de EII (n=83)</b>		
Sí	16	19,3%
No	67	80,7%
<b>Complicaciones extraintestinales al debut de la EII (n=84)</b>		
Sí	12	14,3%
No	72	85,7%
<b>Enfermedad perianal al debut de la EII (n=84)</b>		
Sí	12	14,3%
No	72	85,7%

Un 63,1% eran varones (n=53). El 31% (n=26) eran fumadores activos, el 27,4% (n=23) eran exfumadores y el 41,7% (n=35) no habían sido nunca fumadores. El 19,3% (n=16) presentaban antecedentes familiares de primer grado (padres, hijos) o de segundo grado (hermanos, abuelos, nietos).

Tabla VI: Características demográficas al inicio del biológico en EC

	n	%
<b>Gravedad al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=82)</b>		
Leve	0	0%
Moderada	59	72%
Grave	23	28%
<b>Indicación principal de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=84)</b>		
Enfermedad luminal refractaria a IMM	45	53,6%
Intolerancia a IMM	20	23,8%
Brote grave de debut	7	8,3%
Fallo a biológico previo	6	7,1%
Enfermedad perianal refractaria a IMM	5	6%
Puente a inmunosupresión	1	1,2%
<b>Complicaciones extraintestinales al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=82)</b>		
Sí	19	23,2%
No	63	76,8%
<b>Enfermedad perianal al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=83)</b>		
Sí	20	24,1%
No	63	75,9%
<b>Dosis de inducción de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=84)</b>		
ADA 160/80 mg	49	58,3%
ADA 80/40 mg	1	1,2%
IFX 5 mg/Kg	34	40,5%
<b>Cotratamiento inmunosupresor (n=84)</b>		
Sí	25	29,8%
No	59	70,2%
<b>Intensificaciones de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=84)</b>		
Sí	16	19%
No	68	81%
<b>Interrupciones temporales de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=84)</b>		
Sí	8	9,5%
No	76	90,5%

La gravedad de la enfermedad al diagnóstico era de leve en el 1,2% (n=1), moderada en el 63% (n=51) y grave en el 35,8% (n=29). En el momento del diagnóstico, presentaban complicaciones extraintestinales (orocutáneas, osteoarticulares, oculares, hematológicas, vasculares o hepatobiliares) el 14,3% (n=12). El 14,3% (n=12) de los casos presentaban enfermedad perianal ya en el debut de la EII.

Respecto al momento de inicio del biológico anti-TNF $\alpha$  en estudio, las características demográficas de los pacientes con EC se muestran en la Tabla VI. La gravedad de la enfermedad era moderada en el 72% de los casos (n=59) y grave en el restante 28% (n=23), no existiendo casos leves. El 24,1% (n=20) de los casos presentaban enfermedad perianal en dicho momento evolutivo de la EC, mientras que los casos con complicaciones extraintestinales alcanzaban el 23,2% (n =19).

El principal motivo por el que se indicó el biológico fue enfermedad luminal refractaria a IMM en el 53,6% (n=45), intolerancia a IMM en el 23,8% (n=20), debut grave de la enfermedad en el 8,3% (n=7), fallo secundario a un biológico anti-TNF $\alpha$  previo en el 7,1% (n=6), enfermedad perianal refractaria a IMM en el 6% (n=5) y como terapia "puente" para IMM en el 1,2% (n=1). La dosis de inducción de 160/80 mg de ADA se empleó en el 58,3% (n=49) y la dosis de 80/40 mg en el 1,2% (n=1), respectivamente el 98% y 2% del grupo de pacientes tratados con ADA. Todos los tratamientos con IFX (n=34) emplearon la dosis de inducción de 5 mg/Kg en semanas 0, 2 y 6, constituyendo el 40,5% del total de la serie de casos con EC. El 29,8% (n=25) de los casos tenían co-tratamiento IMM.

A lo largo de la evolución del tratamiento anti-TNF $\alpha$  se ha precisado intensificar el biológico en un 19% (n=16) de los casos, y se ha debido interrumpir temporalmente el fármaco en un 9,5% (n=8), reiniciándolo con posterioridad.

## 1.2 SUBGRUPO COLITIS ULCEROSA

Las características demográficas del subgrupo de casos diagnosticados de CU se muestran en la Tabla VII. Un 50% eran varones (n=6). No había fumadores activos, mientras que el 16,7% (n=2) eran exfumadores y el 83,3% (n=10) no habían sido nunca fumadores. El 33,3% (n=4) presentaban antecedentes familiares de primer grado (padres, hijos) o de segundo grado (hermanos, abuelos, nietos).

Tabla VII: Características demográficas basales de CU

	n	%
<b>Sexo (n=12)</b>		
Varón	6	50%
Mujer	6	50%
<b>Tabaquismo (n=12)</b>		
Fumadores	0	0%
Exfumadores	2	16,7%
No fumadores	10	83,3%
<b>Gravedad al debut de la EII (n=12)</b>		
Leve	0	0%
Moderada	11	91,7%
Grave	1	8,3%
<b>Antecedentes familiares de EII (n=12)</b>		
Sí	4	33,3%
No	8	66,7%
<b>Complicaciones extraintestinales al debut de la EII (n=4)</b>		
Sí	1	25%
No	3	75%

La gravedad de la enfermedad al diagnóstico era moderada en el 91,7% (n=11) y grave en el 8,3% (n=1), no existiendo casos leves al debut entre los pacientes con CU. En el momento del diagnóstico, presentaban complicaciones extraintestinales (orocutáneas, osteoarticulares, oculares, hematológicas, vasculares o hepatobiliares) el 25% (n=1).

Respecto al momento de inicio del biológico anti-TNF $\alpha$  en estudio, las características demográficas del total de la serie se muestran en la Tabla VIII. La gravedad de la enfermedad era moderada en el 50% de los casos (n=6) y grave en el restante 50% (n=6), no existiendo casos leves.

Tabla VIII: Características demográficas al inicio del biológico en CU

	n	%
<b>Gravedad al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=12)</b>		
Leve	0	0%
Moderada	6	50%
Grave	6	50%
<b>Indicación principal de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=12)</b>		
Enfermedad luminal refractaria a IMM	2	16,7%
Intolerancia a inmunosupresión	7	58,3%
Brote grave de debut	1	8,3%
Fallo a biológico previo	2	16,7%
Enfermedad perianal refractaria a IMM	-	-
Puente a inmunosupresión	0	0%
<b>Complicaciones extraintestinales al inicio del biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=4)</b>		
Sí	1	25%
No	3	75%
<b>Dosis de inducción de biológico anti-TNF<math>\alpha</math> (n=12)</b>		
ADA 160/80 mg	0	0%
ADA 80/40 mg	2	16,7%
IFX 5 mg/Kg	10	83,3%
<b>Cotratamiento inmunosupresor (n=12)</b>		
Sí	1	8,3%
No	11	91,7%
<b>Intensificaciones de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=12)</b>		
Sí	6	50%
No	6	50%
<b>Interrupciones temporales de tratamiento anti-TNF<math>\alpha</math> (n=12)</b>		
Sí	1	8,3%
No	11	91,7%

El principal motivo por el que se indicó el biológico fue intolerancia a IMM en el 58,3% (n=7), enfermedad luminal refractaria a IMM en el 16,7% (n=2), fallo secundario a un biológico anti-TNF $\alpha$  empleado previamente en el 16,7% (n=2) y debut grave de la enfermedad en el 8,3% (n=1). Los casos con manifestaciones extraintestinales eran del 25% (n=1) en este momento evolutivo de la CU.

La dosis de inducción de 160/80 mg de ADA no se empleó en ningún caso con CU, mientras que la dosis de 80/40 mg se empleó en el 16,7% (n=2). Todos los tratamientos con IFX (n=10) emplearon la dosis de inducción de 5 mg/Kg en las semanas 0, 2 y 6, constituyendo el 83,3% del total de la serie de casos con CU. El 8,3% (n=1) de los casos tenían cotratamiento IMM. A lo largo de la evolución del tratamiento anti-TNF $\alpha$  se ha precisado intensificar el biológico hasta en un 50% (n=6) de los casos, y se ha debido interrumpir temporalmente el fármaco en un 8,3% (n=1), reiniciándolo con posterioridad en todos los casos.

## 2. PATRÓN DE MONTREAL

Respecto a la clasificación de la EII según el patrón de Montreal, los resultados se muestran para EC y CU respectivamente en la Tabla IX y en la Tabla X.

Tabla IX: Clasificación de Montreal de casos con EC

	n	%	n	%	p
<b>Edad de debut (n=84)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
A1 (<16 años)	7	8,3%			
A2 (16-40 años)	61	72,6%			
A3 (>40 años)	16	19%			
<b>Localización (n=84)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
L1 (ileal)	48	57,1%	48	57,1%	0,223
L2 (colónica)	14	16,7%	12	14,3%	
L3 (ileon+colon)	19	22,6%	18	21,4%	
L4 (tramos altos)	3	3,6%	6	7,1%	
<b>Comportamiento (n=84)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
B1 (inflamatorio)	46	54,8%	33	39,3%	<b>0,002</b>
B2 (estenosante)	30	35,7%	36	42,9%	
B3 (penetrante)	8	9,5%	15	17,9%	
<b>Enfermedad perianal (n=84)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
p (sí)	12	14,3%	20	24,1%	<b>0,008</b>
(no)	72	85,7%	64	75,9%	

La edad de debut de la EC fue inferior a 16 años en el 8,3% de los casos (n=7), de entre 16 y 40 años en el 72,6% (n=61) y mayor de 40 años en el 19% (n=16). Respecto a la localización topográfica de la afectación inflamatoria, en el debut la afectación era ileal en el 57,1% de los casos (n=48), colónica en el 16,7% (n=14), ileocolónica en el 22,6% (n=19), y la afectación de tramos digestivos altos se presentaba en el 3,6% (n=3). Esta afectación topográfica al inicio del biológico TNF $\alpha$  era ileal en el 57,1% (n=48), colónica en el 14,3% (n=12), ileocolónica en el 21,4% (n=18) y en el tracto digestivo superior en el 7,1%

(n=6). Respecto al comportamiento de la EC, en el debut presentan un patrón inflamatorio no estenosante ni penetrante en el 54,8% de los casos (n=46), estenosante en el 35,7% (n=30) y penetrante en el 9,5% (n=8), mientras que al inicio del anti-TNF $\alpha$  el comportamiento era inflamatorio en el 39,3% (n=33), estenosante en el 42,9% (n=36) y penetrante en el 17,9% (n=15), con diferencias estadísticamente significativas (p=0,002) mostradas en la Ilustración 6.

Por último, respecto a la enfermedad perianal, el 14,3% (n=12) de los casos presentaban enfermedad perianal en el debut de la EC, mientras que al inicio del tratamiento biológico era del 24,1% (n=20), con diferencias estadísticamente significativas (p=0,008) como se observa en la Ilustración 7.

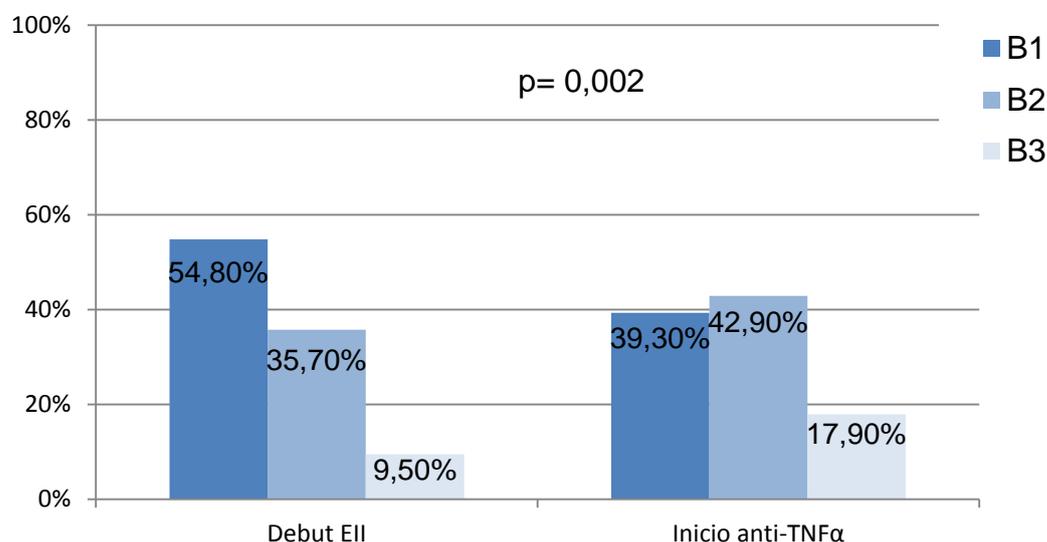


Ilustración 6: Comportamiento de EC (debut e inicio de biológico).

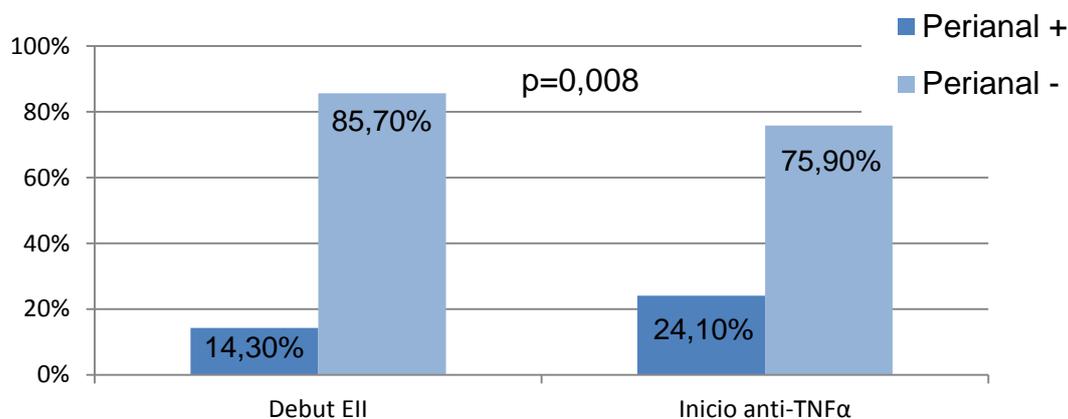


Ilustración 7: Afectación perianal (debut e inicio de biológico).

En la CU la localización topográfica de la afectación inflamatoria en el debut fue rectal aislada en el 16,7% de los casos (n=2), colitis izquierda distal al ángulo esplénico en el 58,3% (n=7) y afectación completa o pancolitis en el 25% (n=3), mientras que al inicio del biológico fue rectal en el 8,3% (n=1), colitis izquierda en el 58,3% (n=7) y pancolitis en el 33,3% (n=4).

Respecto a la intensidad inflamatoria, la gravedad de la enfermedad al diagnóstico era moderada en el 91,7% (n=11) y grave en el 8,3% (n=1), no existiendo casos leves al debut entre los pacientes con CU. Al inicio del tratamiento anti-TNF $\alpha$ , la gravedad de la enfermedad era moderada en el 50% de los casos (n=6) y grave en el restante 50% (n=6), no existiendo casos leves.

Ninguna de las diferencias descritas alcanzó la significación estadística.

**Tabla X: Clasificación de Montreal de casos con CU**

	n	%	n	%	p
<b>Localización (n=12)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
E1 (proctitis)	2	16,7%	1	8,3%	0,368
E2 (colitis izquierda)	7	58,3%	7	58,3%	
E3 (pancolitis)	3	25%	4	33,3%	
<b>Gravedad (n=12)</b>	<b>Debut</b>		<b>Inicio biológico</b>		
S1 (leve)	0	0%	0	0%	0,063
S2 (moderada)	11	91,7%	6	50%	
S3 (grave)	1	8,3%	6	50%	

### 3. HEMATOLOGÍA

Se analizó un hemograma completo a los pacientes en las visitas “pico” y “valle”, coincidiendo con el máximo y el mínimo teóricos del nivel de biológico anti-TNF $\alpha$  administrado. Los resultados de la serie completa de casos se muestran en la Tabla XI, junto con el análisis estadístico de dichas diferencias “pico-valle”, significativas para todas las variables de la serie blanca.

Tabla XI: Hematimetría pico/valle de la serie completa

Hemograma (n=96)	Media $\pm$ DT		p
	Pico	Valle	
Leucocitos	7,91 $\pm$ 2,321	7,51 $\pm$ 2,084	<b>0,043</b>
Neutrófilos	5,45 $\pm$ 2,043	4,44 $\pm$ 1,668	<b>&lt;0,001</b>
Linfocitos	1,79 $\pm$ 0,814	2,16 $\pm$ 0,826	<b>&lt;0,001</b>
Basófilos	0,04 $\pm$ 0,026	0,05 $\pm$ 0,025	<b>0,005</b>
Eosinófilos	0,16 $\pm$ 0,172	0,23 $\pm$ 0,203	<b>&lt;0,001</b>
Monocitos	0,47 $\pm$ 0,307	0,64 $\pm$ 0,243	<b>&lt;0,001</b>
Hematíes	4,57 $\pm$ 0,482	4,57 $\pm$ 0,503	0,608
VCM	89,90 $\pm$ 6,305	89,8 $\pm$ 6,324	0,214
Hematocrito	40,98 $\pm$ 4,249	40,88 $\pm$ 4,301	0,548
Plaquetas	299,64 $\pm$ 93,400	299,15 $\pm$ 94,965	0,678
VSG	10,51 $\pm$ 9,600	8,09 $\pm$ 6,934	<b>0,002</b>

#### 3.1 SERIE BLANCA

Los resultados de serie blanca en EC se muestran en la Tabla XII. El análisis estadístico “pico-valle” muestra diferencias significativas para todos los ítems de la serie blanca, salvo el número total de leucocitos.

Tabla XII: Serie blanca pico/valle de EC

Hemograma (n=84)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Leucocitos	7,88±2,237	7,56±1,996	0,107
Neutrófilos	5,38±2,043	4,52±1,653	<b>0,001</b>
Linfocitos	1,81±0,798	2,14±0,825	<b>0,001</b>
Basófilos	0,04±0,025	0,05±0,026	<b>0,010</b>
Eosinófilos	0,16±0,160	0,21±0,159	<b>&lt;0,001</b>
Monocitos	0,49±0,294	0,64±0,238	<b>&lt;0,001</b>

Los resultados estratificados por la variable inmunosupresión activa en pacientes con EC se muestran en la Tabla XIII, comparándose los resultados “pico” y “valle” de cada variable de forma pareada en un mismo paciente, aunque estratificando los pacientes en función de si estaban sometidos a cotratamiento IMM asociado a anti-TNF $\alpha$  o solo en monoterapia anti-TNF $\alpha$ .

Tabla XIII: Serie blanca con/sin IMM pico/valle en EC

Serie Blanca	Media ±DT					
	IMM+ (n=25)		p	IMM- (n=59)		p
	Pico	Valle		Pico	Valle	
Leu	7,09±2,175	6,92±1,923	0,788	8,22±2,194	7,83±1,980	0,101
Neu	5,18±2,116	4,38±1,760	0,076	5,47±2,023	4,58±1,617	<b>0,004</b>
Linf	1,33±0,414	1,72±0,654	<b>0,001</b>	2,02±0,834	2,32±0,829	<b>0,039</b>
Bas	0,03±0,021	0,05±0,024	<b>0,036</b>	0,04±0,026	0,05±0,027	0,082
Eos	0,10±0,079	0,16±0,092	<b>0,009</b>	0,19±0,179	0,23±0,177	<b>0,009</b>
Mon	0,44±0,331	0,60±0,209	<b>0,002</b>	0,51±0,277	0,66±0,249	<b>&lt;0,001</b>

Para los pacientes en cotratamiento anti-TNF $\alpha$  e IMM (n=25), las diferencias estadísticamente significativas quedaron circunscritas a los Linfocitos, Basófilos, Eosinófilos y Monocitos.

Para los pacientes en monoterapia biológica anti-TNF $\alpha$  sin IMM (n=59), las diferencias estadísticamente significativas se evidenciaron en Neutrófilos, Linfocitos, Eosinófilos y Monocitos.

La comparación entre los resultados “pico” con y sin cotratamiento IMM y los resultados “valle” con y sin IMM se observan en la Tabla XIV. Las diferencias estadísticamente significativas se circunscriben en los resultados “pico” a Leucocitos y Linfocitos y en los resultados “valle” también a Leucocitos y Linfocitos.

Tabla XIV: Serie blanca pico/valle con/sin IMM en EC

Hemograma	Pico (n=75)		Media ±DT	Valle (n=75)		p
	IMM+	IMM-	p	IMM+	IMM-	
Leucocitos	7,09±2,175	8,22±2,194	<b>0,035</b>	6,92±1,923	7,83±1,980	<b>0,044</b>
Neutrófilos	5,18±2,116	5,47±2,023	0,475	4,38±1,760	4,58±1,617	0,522
Linfocitos	1,33±0,414	2,02±0,834	<b>&lt;0,001</b>	1,72±0,654	2,32±0,829	<b>0,001</b>
Basófilos	0,03±0,021	0,04±0,26	0,337	0,05±0,24	0,05±0,27	0,876
Eosinófilos	0,10±0,079	0,19±0,179	0,085	0,16±0,092	0,23±0,177	0,120
Monocitos	0,44±0,331	0,51±0,277	0,093	0,60±0,209	0,66±0,249	0,525

Por otro lado, los resultados de la serie blanca en CU se muestran en la Tabla XV. En este subgrupo no se han estratificado los datos por el cotratamiento IMM porque solo un paciente del total de CU (n=12) recibía cotratamiento. El análisis estadístico comparado pareado “pico-valle” muestra diferencias significativas en Neutrófilos, Linfocitos, Eosinófilos y Monocitos.

Tabla XV: Serie blanca pico/valle de CU

Hemograma (n=12)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Leucocitos	8,09±2,950	7,20±2,702	0,239
Neutrófilos	5,94±2,066	3,89±1,744	<b>0,005</b>
Linfocitos	1,63±0,940	2,30±0,859	<b>0,028</b>
Basófilos	0,04±0,031	0,05±0,015	0,213
Eosinófilos	0,16±0,251	0,36±0,374	<b>0,012</b>
Monocitos	0,32±0,369	0,60±0,284	<b>0,003</b>

### 3.2 SERIE ROJA

Los resultados de la serie roja del hemograma desagregados por diagnóstico se muestran en la Tabla XVI para EC y en la Tabla XVII para CU.

En ninguna de las tres variables analizadas, Hematíes, VCM y Hematocrito, se han demostrado diferencias “pico-valle” estadísticamente significativas, tal y como ocurrió con los resultados agregados de la serie completa mostrados en la Tabla XI.

Tabla XVI: Serie roja pico/valle de EC

Hemograma (n=84)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Hematíes	4,57±0,471	4,55±0,491	0,235
VCM	90,11±6,627	89,96±6,640	0,127
Hematocrito	41,02±4,195	40,76±4,263	0,218

Tabla XVII: Serie roja pico/valle de CU

Hemograma (n=12)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Hematíes	4,61±0,573	4,71±0,583	0,084
VCM	88,47±3,054	88,68±3,342	0,783
Hematocrito	40,75±4,801	41,68±4,667	0,136

### 3.3 PLAQUETAS Y VSG

Los resultados de Plaquetas y VSG desagregados por diagnósticos se muestran en la Tabla XVIII para EC y en la Tabla XIX para CU.

En el caso de la EC, solo la VSG mostró diferencias estadísticamente significativas en el análisis “pico-valle”.

En el caso de la CU, ninguna de las dos variables mostró diferencias estadísticamente significativas y no se realizó estratificación de los resultados por el cotratamiento IMM debido al bajo número de pacientes (n=1) en dicho estrato.

Tabla XVIII: Plaquetas y VSG pico/valle de EC

		Media ±DT		p
Hemograma (n=84)		Pico	Valle	
Plaquetas		299,19±91,407	300,73±95,587	0,347
VSG		10,37±9,691	7,92±7,042	<b>0,001</b>

Tabla XIX: Plaquetas y VSG pico/valle de CU

		Media ±DT		p
Hemograma (n=12)		Pico	Valle	
Plaquetas		302,75±110,826	288,08±93,760	0,209
VSG		11,50±9,298	9,33±6,257	0,609

Los resultados estratificados por la variable inmunosupresión activa en los pacientes con EC se muestran en la Tabla XX, donde se evidencian diferencias estadísticamente significativas solo para la VSG en pacientes sin cotratamiento IMM.

Tabla XX: Plaquetas y VSG pico/valle con/sin IMM de EC

Hemograma	IMM+ (n=25)		p	IMM- (n=59)		p
	Pico	Valle		Pico	Valle	
Plaquetas	257,44 ±71,418	250,28 ±72,664	0,737	316,88 ±93,683	322,10 ±96,585	0,149
VSG	7,09 ±7,292	5,24 ±5,069	0,054	11,64 ±10,250	9,05 ±7,480	<b>0,012</b>

## 4. BIOQUÍMICA

Se analizó una bioquímica básica además de reactantes de fase aguda a los pacientes en las visitas “pico” y “valle”, coincidiendo con el máximo y el mínimo teóricos del nivel de biológico anti-TNF $\alpha$  administrado. Los resultados de la serie completa de casos se muestran en la Tabla XXI.

Respecto a la bioquímica, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas solo en las Proteínas totales y la Albúmina.

Respecto a los reactantes de fase aguda, tanto la PCR como la Calprotectina fecal mostraron diferencias “pico-valle” estadísticamente significativas.

Tabla XXI: Bioquímica pico/valle de la serie completa

Bioquímica	Media $\pm$ DT		p
	Pico	Valle	
Creatinina	0,86 $\pm$ 0,247	0,85 $\pm$ 0,205	0,514
GOT	20,05 $\pm$ 9,820	18,89 $\pm$ 9,085	0,166
GPT	19,17 $\pm$ 12,479	19,38 $\pm$ 15,171	0,182
GGT	20,53 $\pm$ 18,749	19,69 $\pm$ 14,526	0,383
Proteínas totales	6,96 $\pm$ 0,594	7,06 $\pm$ 0,572	<b>0,027</b>
Albúmina	4,05 $\pm$ 0,464	4,26 $\pm$ 0,509	<b>&lt;0,001</b>
Reactantes de fase aguda	Pico	Valle	
PCR	6,33 $\pm$ 10,506	7,62 $\pm$ 13,424	<b>0,004</b>
Calprotectina	483,32 $\pm$ 411,118	567,92 $\pm$ 427,920	<b>0,026</b>

Los resultados desagregados por diagnósticos se muestran en la Tabla XXII para la EC y en la Tabla XXIII para la CU.

En el caso de la EC, la Albúmina y la PCR mostraron diferencias estadísticamente significativas.

En el caso de la CU, mostraron diferencias estadísticamente significativas solo las Proteínas totales y la Albúmina.

Tabla XXII: Bioquímica pico/valle de EC

Bioquímica	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Creatinina	0,86±0,252	0,85±0,207	0,759
GOT	20,43±10,191	19,28±9,633	0,162
GPT	19,49±13,012	19,82±16,039	0,162
GGT	21,44±19,585	20,40±15,041	0,732
Proteínas totales	6,99±0,595	7,09±0,594	0,121
Albúmina	4,08±0,484	4,27±0,530	<b>&lt;0,001</b>
<b>Reactantes de fase aguda</b>			
PCR	6,34±10,742	7,67±14,013	<b>0,007</b>
Calprotectina	489,94±413,503	575,18±429,754	0,063

Tabla XXIII: Bioquímica pico/valle de CU

Bioquímica	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Creatinina	0,84±0,218	0,87±0,201	0,305
GOT	17,18±5,913	16,25±2,221	0,789
GPT	16,92±7,891	16,25±5,864	0,844
GGT	13,73±8,344	14,83±9,331	0,084
Proteínas totales	6,78±0,578	7,08±0,400	<b>0,023</b>
Albúmina	3,89±0,243	4,18±0,325	<b>0,007</b>
<b>Reactantes de fase aguda</b>			
PCR	6,23±9,112	7,30±8,632	0,347
Calprotectina	437,01±410,209	510,59±430,940	0,128

Los resultados estratificados por el cotratamiento IMM en el grupo de pacientes con EC se muestran en la Tabla XXIV, donde se evidencia que no hubo diferencias estadísticamente significativas en ninguna variable en el subgrupo de pacientes bajo cotratamiento con IMM y anti-TNF $\alpha$ .

Sin embargo, en el subgrupo de pacientes en monoterapia anti-TNF $\alpha$  se evidenciaron diferencias en Proteínas Totales, Albúmina, PCR, y Calprotectina.

Tabla XXIV: Bioquímica con/sin IMM pico/valle en EC

Bioquímica	IMM+		Media ±DT	IMM-		p
	Pico	Valle	p	Pico	Valle	
Creatinina	0,89 ±0,233	0,89 ±0,247	0,454	0,85 ±0,260	0,83 ±0,186	0,583
GOT	21,50 ±7,437	20,38 ±5,282	0,275	20,00 ±11,146	18,83 ±10,928	0,376
GPT	19,42 ±11,313	18,40 ±8,751	0,703	19,53 ±13,733	20,42 ±18,309	0,140
GGT	23,54 ±21,956	20,83 ±13,014	0,806	20,57 ±18,652	20,22 ±15,893	0,812
Proteínas totales	6,91 ±0,514	6,90 ±0,445	0,745	7,02 ±0,626	7,13 ±0,638	<b>0,040</b>
Albúmina	4,17 ±0,426	4,31 ±0,502	0,770	4,04 ±0,504	4,26 ±0,546	<b>&lt;0,001</b>
Bioquímica	Pico	Valle		Pico	Valle	
PCR	2,83 ±3,602	4,54 ±7,431	0,161	7,77 ±12,280	8,99 ±15,878	<b>0,023</b>
Calprotectina	418,84 ±417,345	463,84 ±433,596	0,758	522,14 ±411,669	626,72 ±422,039	<b>0,050</b>

Los resultados de los reactantes de fase aguda estratificados por el cotratamiento IMM se muestran en la Tabla XXV, comparándose los resultados “pico” y “valle” de cada variable de forma pareada en un mismo paciente, aunque separando los pacientes en función de si estaban sometidos a cotratamiento IMM asociado a anti-TNF $\alpha$  o solo en monoterapia anti-TNF $\alpha$ .

En dichos resultados se observan diferencias estadísticamente significativas solo en la PCR tanto en las comparaciones “pico” como en las “valle”.

Tabla XXV: Reactantes de fase aguda pico/valle con/sin IMM en EC

Bioquímica	Pico		Media ±DT	Valle		p
	IMM+	IMM-	p	IMM+	IMM-	
PCR	2,83 ±3,602	7,77 ±12,280	<b>0,006</b>	4,54 ±7,431	8,99 ±15,878	<b>0,023</b>
Calprotectina	418,84 ±417,345	522,14 ±411,669	0,278	463 ±433,596	626,72 ±422,039	0,130

## 5. INMUNOLOGÍA

Se analizó una compleja batería de determinaciones para cuantificar la situación inmunológica de los pacientes en las visitas “pico” y “valle”, coincidiendo con el máximo y el mínimo teóricos del nivel de biológico anti-TNF $\alpha$  administrado. Los resultados de la serie completa de casos se muestran en la Tabla XXVI.

Tabla XXVI: Inmunología pico/valle de la serie completa

	Media $\pm$ DT		p
<b>Inmunoglobulinas (n=95)</b>	<b>Pico</b>	<b>Valle</b>	
IgG	1277,86 $\pm$ 297,998	1363,26 $\pm$ 311,426	<0,001
IgA	332,15 $\pm$ 156,313	353,52 $\pm$ 166,892	<0,001
IgM	164,56 $\pm$ 84,609	177,98 $\pm$ 86,858	0,001
<b>Complemento</b>	<b>Pico (n=95)</b>	<b>Valle (n=96)</b>	
C3c	120,17 $\pm$ 25,117	141,28 $\pm$ 35,590	<0,001
C4	25,41 $\pm$ 8,717	29,48 $\pm$ 13,254	<0,001
<b>Citocinas (n=95)</b>	<b>Pico</b>	<b>Valle</b>	
IL-1b	0,62 $\pm$ 0,540	0,53 $\pm$ 0,633	0,269
IL-6	4,09 $\pm$ 4,964	5,08 $\pm$ 5,035	<0,001
IL-8	13,93 $\pm$ 10,747	14,05 $\pm$ 9,083	0,260
IL-10	0,93 $\pm$ 2,186	0,74 $\pm$ 1,860	0,022
IL-12	0,45 $\pm$ 0,556	0,50 $\pm$ 0,656	0,530
TNF $\alpha$	1,42 $\pm$ 1,041	1,46 $\pm$ 1,124	0,464
<b>Autoinmunidad</b>	<b>Pico</b>	<b>Valle</b>	
Factor reumatoide	11,03 $\pm$ 0,972 (n=25)	11,14 $\pm$ 1,018 (n=23)	0,779
ANA		45,7% >1:80	
Anti-DNA		2,1% > 50 U	
Anti-histona		41,7% > 10 U	

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de inmunoglobulinas G, IgA e IgM.

También las diferencias en los niveles de complemento C3c y C4 se mostraron estadísticamente significativas.

Respecto a los niveles de las citocinas más significativas evaluadas se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la IL-6 y en la IL-10.

Por último, respecto a las variables relacionadas con la autoinmunidad, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el Factor Reumatoide, el único parámetro evaluado de forma pareada en las visitas “pico” y “valle”.

Los resultados desagregados por diagnósticos se muestran en la Tabla XXVII para EC y en la Tabla XXVIII para CU.

En el caso de la EC, se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de inmunoglobulinas G, IgA e IgM.

También fueron estadísticamente significativas las diferencias entre las determinaciones “pico” y “valle” en los niveles de complemento C3c y C4.

Respecto a los niveles de citocinas, solo la IL-6 mostró diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre las determinaciones “pico” y “valle”.

En el caso de la CU, se observaron diferencias significativas en la IgA y la IgM.

Las diferencias en los niveles de complemento C3c y C4 también fueron estadísticamente significativas.

Por último, la IL-6 y la IL-10 mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XXVII: Inmunología pico/valle de EC

Inmunoglobulinas (n=83)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
IgG	1274,58±294,032	1362,05±313,683	<0,001
IgA	332,01±159,954	351,53±169,903	<0,001
IgM	164,76±85,282	175,77±85,999	0,024
<b>Complemento (n=84)</b>			
C3c	120,82±25,853	141,93±36,772	<0,001
C4	25,51±7,978	29,45±12,671	<0,001
<b>Citocinas (n=83)</b>			
IL-1b	0,64±0,552	0,55±0,652	0,240
IL-6	4,39±5,118	5,26±5,227	0,004
IL-8	14,29±11,009	14,22±8,434	0,292
IL-10	0,70±1,586	0,60±1,420	0,123
IL-12	0,46±0,568	0,50±0,671	0,666
TNF $\alpha$	1,49±1,063	1,54±1,164	0,421
<b>Autoinmunidad</b>			
Factor reumatoide	10,99±0,972 (n=24)	11,17±1,035 (n=22)	0,779
ANA		43,8% > 1:80	
Anti-DNA		2,4% > 50 U	
Anti-histona		39,3% > 10 U	

Tabla XXVIII: Inmunología pico/valle de CU

Inmunoglobulinas (n=12)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
IgG	1300,58±337,241	1371,67±308,540	0,109
IgA	333,08±134,427	367,33±150,294	<b>0,004</b>
IgM	163,16±83,398	193,23±95,114	<b>0,005</b>
<b>Complemento (n=12)</b>			
C3c	115,67±19,578	136,71±26,653	<b>0,002</b>
C4	24,70±13,196	29,68±17,484	<b>0,010</b>
<b>Citocinas (n=12)</b>			
IL-1b	0,43±0,429	0,42±0,492	0,878
IL-6	2,05±3,181	3,84±3,322	<b>0,013</b>
IL-8	11,45±8,717	12,88±13,156	0,695
IL-10	2,52±4,350	1,67±3,669	<b>0,033</b>
IL-12	0,37±0,481	0,48±0,568	0,612
TNF $\alpha$	0,94±0,743	0,92±0,567	0,533
<b>Autoinmunidad</b>			
Factor reumatoide	12,00 (n=1)	10,60 (n=1)	-
ANA		58,3% > 1:80	
Anti-DNA		0% > 50 U	
Anti-histona		41,7% > 10 U	

Los resultados estratificados por el cotratamiento IMM en el grupo de pacientes con EC se muestran en la Tabla XXIX, donde se evidencia que las únicas diferencias significativas en el grupo de pacientes en cotratamiento con IMM y anti-TNF $\alpha$  fueron en C3c, C4 e IL-10.

En el grupo en monoterapia anti-TNF $\alpha$  se evidenciaron diferencias en la IgG, IgA, IgM, C3c, C4 e IL-6.

Tabla XXIX: Inmunología con/sin IMM pico/valle en EC

Inmunoglobulinas	Media $\pm$ DT		p	Media $\pm$ DT		p
	IMM+ (n=24)			IMM- (n=59)		
	Pico	Valle		Pico	Valle	
IgG	1160,13 $\pm$ 257,229	1231,04 $\pm$ 291,537	0,284	1321,14 $\pm$ 297,263	1418,52 $\pm$ 308,212	<0,001
IgA	318,72 $\pm$ 183,092	316,89 $\pm$ 170,351	0,253	337,42 $\pm$ 150,916	366,46 $\pm$ 168,987	0,001
IgM	162,81 $\pm$ 82,733	175,69 $\pm$ 85,522	0,568	165,55 $\pm$ 86,982	175,81 $\pm$ 86,948	0,029
<b>Complemento</b>						
C3c	116,20 $\pm$ 31,106	130,68 $\pm$ 29,687	0,010	122,69 $\pm$ 23,427	146,70 $\pm$ 38,634	<0,001
C4	23,25 $\pm$ 7,692	25,89 $\pm$ 9,785	0,030	26,44 $\pm$ 7,971	30,97 $\pm$ 13,502	<0,001
<b>Citocinas</b>						
IL-1b	0,60 $\pm$ 0,596	0,61 $\pm$ 0,911	0,808	0,66 $\pm$ 0,537	0,53 $\pm$ 0,519	0,118
IL-6	3,14 $\pm$ 4,190	3,57 $\pm$ 2,828	0,161	4,90 $\pm$ 5,399	5,94 $\pm$ 5,814	0,011
IL-8	14,34 $\pm$ 16,520	11,83 $\pm$ 8,431	0,927	14,26 $\pm$ 7,944	15,19 $\pm$ 8,311	0,195
IL-10	1,18 $\pm$ 2,827	1,01 $\pm$ 2,552	0,046	0,50 $\pm$ 0,505	0,44 $\pm$ 0,418	0,492
IL-12	0,44 $\pm$ 0,457	0,52 $\pm$ 0,886	0,740	0,47 $\pm$ 0,611	0,49 $\pm$ 0,570	0,643
TNF $\alpha$	1,48 $\pm$ 1,207	1,56 $\pm$ 1,426	0,475	1,50 $\pm$ 1,010	1,54 $\pm$ 1,053	0,595
<b>Auto-inmunidad</b>						
FR	10,66 $\pm$ 0,434 (n=5)	11,15 $\pm$ 0,818 (n=8)	0,197	11,08 $\pm$ 1,061 (n=19)	11,18 $\pm$ 1,171 (n=14)	0,371
ANA		39,1%			45,7%	
Anti-DNA		0%			3,4%	
Anti-histona		40,0%			39,0%	

Tabla XXX: Inmunología pico/valle con/sin IMM en EC

Inmunoglobulinas	Media $\pm$ DT					
	Pico		p	Valle		p
	IMM+	IMM-		IMM+	IMM-	
IgG	1160,13 $\pm$ 257,229	1321,14 $\pm$ 297,263	<b>0,028</b>	1231,04 $\pm$ 291,537	1418,52 $\pm$ 308,212	<b>0,006</b>
IgA	318,72 $\pm$ 183,092	337,42 $\pm$ 150,916	0,366	316,89 $\pm$ 170,351	366,46 $\pm$ 168,987	0,142
IgM	162,81 $\pm$ 82,733	165,55 $\pm$ 86,982	0,756	175,69 $\pm$ 85,522	175,81 $\pm$ 86,948	0,917
<b>Complemento</b>						
C3c	116,20 $\pm$ 31,106	122,69 $\pm$ 23,427	0,204	130,68 $\pm$ 29,687	146,70 $\pm$ 38,634	<b>0,049</b>
C4	23,25 $\pm$ 7,692	26,44 $\pm$ 7,971	0,402	25,89 $\pm$ 9,785	30,97 $\pm$ 13,502	0,070
<b>Citocinas</b>						
IL-1b	0,60 $\pm$ 0,596	0,66 $\pm$ 0,537	0,519	0,61 $\pm$ 0,911	0,53 $\pm$ 0,519	0,831
IL-6	3,14 $\pm$ 4,190	4,90 $\pm$ 5,399	<b>0,029</b>	3,57 $\pm$ 2,828	5,94 $\pm$ 5,814	<b>0,036</b>
IL-8	14,34 $\pm$ 16,520	14,26 $\pm$ 7,944	0,116	11,83 $\pm$ 8,431	15,19 $\pm$ 8,311	<b>0,018</b>
IL-10	1,18 $\pm$ 2,827	0,50 $\pm$ 0,505	0,137	1,01 $\pm$ 2,552	0,44 $\pm$ 0,418	0,734
IL-12	0,44 $\pm$ 0,457	0,47 $\pm$ 0,611	0,696	0,52 $\pm$ 0,886	0,49 $\pm$ 0,570	0,285
TNF $\alpha$	1,48 $\pm$ 1,207	1,50 $\pm$ 1,010	0,640	1,56 $\pm$ 1,426	1,54 $\pm$ 1,053	0,639
<b>Auto-inmunidad</b>						
FR	10,66 $\pm$ 0,434 (n=5)	11,08 $\pm$ 1,061 (n=19)	0,581	11,15 $\pm$ 0,818 (n=8)	11,18 $\pm$ 1,171 (n=14)	0,815

Otros resultados comparados fueron las variables inmunológicas estratificadas por el cotratamiento IMM, y que se muestran en la Tabla XXX, comparándose los resultados “pico” y “valle” de cada variable de forma pareada en un

mismo paciente, aunque separando los pacientes en función de si estaban sometidos a cotratamiento IMM asociado a anti-TNF $\alpha$  o solo en monoterapia anti-TNF $\alpha$ .

En dicha comparación se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico” de IgG y de IL-6 mientras que las diferencias estadísticamente significativas en los niveles “valle” fueron de IgG, C3c, IL-6 y IL-8.

## 6. GENÉTICA

Se realizó el genotipado de los alelos del gen Fc $\gamma$ R111A a toda la serie de casos, resultados que se muestran en la Tabla XXXI. El 13,7% (n=13) eran homocigotos para el alelo C, el 45,3% (n=43) eran heterocigotos y el 41,1% (n=39) eran homocigotos para el alelo A.

En EC, los resultados fueron del 14,5% (n=12) homocigotos para el alelo C, el 43,4% (n=36) heterocigotos y el 42,2% (n=35) homocigotos para el alelo A.

En CU, los resultados fueron del 8,3% (n=1) homocigoto para el alelo C, el 58,3% (n=7) heterocigotos y el 33,3% (n=4) homocigotos para el alelo A.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los genotipos descritos.

Tabla XXXI: Genotipado Fc $\gamma$ R111A

	n	%	n	%	n	%	p
Genotipado Fc $\gamma$ R111A	Serie completa (n=95)		EC (n=83)		CU (n=12)		
AA	39	41,1%	35	42,2%	4	33,3%	0,605
CA	43	45,3%	36	43,4%	7	58,3%	
CC	13	13,7%	12	14,5%	1	8,3%	

## 7. ACTIVIDAD CLÍNICA

### 7.1 SUBGRUPO ENFERMEDAD DE CROHN

Los resultados clínicos medidos por las test de CDAI y Harvey-Bradshaw se muestran en la Tabla XXXII y estratificados por la variable cotratamiento IMM en la Tabla XXXIII.

En los datos agregados de toda la serie de pacientes con EC no se observan diferencias significativas entre las puntuaciones “pico” y “valle” en ninguno de los dos índices de actividad.

Tabla XXXII: Índices de actividad de la EC

Índices de actividad	Media ±DT		p
	Pico (n=81)	Valle (n=79)	
CDAI	135±100,06	141,63±104,66	0,119
Harvey-Bradshaw	4,76±3,46	5,06±3,32	0,356

Tabla XXXIII: Índices de actividad con/sin IMM de la EC

Índices de actividad	Media ±DT					
	Pico		p	Valle		p
	IMM +	IMM -		IMM +	IMM -	
CDAI	91,19 ±61,72	151,22 ±106,31	<b>0,017</b>	111,22 ±66,76	152,86 ±115,83	0,224
Harvey-Bradshaw	3,92 ±2,36	5,12 ±3,80	0,251	4,40 ±2,46	5,36 ±3,62	0,371

En los resultados estratificados por el cotratamiento IMM comparándose los resultados “pico” y “valle” de cada variable de forma pareada en un mismo paciente, aunque separando los pacientes en función de si estaban sometidos a cotratamiento IMM asociado a anti-TNF $\alpha$  o solo en monoterapia anti-TNF $\alpha$  se

observaron diferencias estadísticamente significativas solo en la puntuación de actividad CDAI “pico”.

## 7.2 SUBGRUPO COLITIS ULCEROSA

Los resultados clínicos medidos por los test de Truelove-Witts y el índice de Mayo se muestran en la Tabla XXXIV, donde se aprecia que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las puntuaciones de ambos índices entre las mediciones obtenidas en el “pico” y en el “valle”.

Tabla XXXIV: Índices de actividad de la CU

Índices de actividad (n=12)	Media ±DT		p
	Pico	Valle	
Truelove-Witts	11,0 ±1,70	10,83 ±1,85	0,720
Mayo parcial	2,50 ±2,35	2,66 ±2,42	0,414

## 8. CALIDAD DE VIDA

Se analizó la calidad de vida mediante el test IBDQ en las visitas “pico” y “valle”, coincidiendo con el máximo y el mínimo teóricos del nivel de biológico anti-TNF $\alpha$  administrado.

Los resultados de la serie completa de casos se muestran en la Tabla XXXV.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas tanto en la puntuación total IBDQ como en 4 de sus 5 dimensiones desagregadas: Intestinal, Sistémica, Funcional y Emocional.

Tabla XXXV: Puntuación IBDQ pico/valle de la serie completa

	Media $\pm$ DT		p
Puntuación total	Pico (n=92)	Valle (n=92)	
IBDQ	192,3 $\pm$ 48	185,7 $\pm$ 48	<b>0,002</b>
Puntuación total	Pico	Valle	
Intestinal (n=93)	5,5 $\pm$ 1,3	5,2 $\pm$ 1,2	<b>&lt;0,001</b>
Sistémica (n=93)	5,2 $\pm$ 1,4	5,0 $\pm$ 1,3	<b>0,023</b>
Funcional (n=92)	5,2 $\pm$ 1,7	5,0 $\pm$ 1,6	<b>0,010</b>
Social (n=93)	5,6 $\pm$ 1,3	5,5 $\pm$ 1,7	0,469
Emocional (n=93)	5,2 $\pm$ 1,5	5,0 $\pm$ 1,6	<b>0,039</b>

Los resultados desagregados por diagnóstico se muestran en la Tabla XXXVI para EC y en la Tabla XXXVII para CU.

En EC, solo las dimensiones Intestinal y la Funcional mostraron diferencias estadísticamente significativas.

En CU, solo la dimensión Intestinal mostró diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XXXVI: Puntuación IBDQ pico/valle de EC

		Media ±DT		p
Puntuación total	Pico (n=76)	Valle (n=76)		
IBDQ	194,09±48,323	186,44±48,592	0,067	
Puntuación total				
Intestinal (n=79)	5,56±1,274	5,29±1,236	<b>0,001</b>	
Sistémica (n=81)	5,23±1,308	5,04±1,319	0,067	
Funcional (n=78)	5,34±1,598	5,06±1,568	<b>0,012</b>	
Social (n=81)	5,62±1,336	5,56±1,331	0,628	
Emocional (n=80)	5,25±1,554	5,03±1,653	0,216	

Tabla XXXVII: Puntuación IBDQ pico/valle de CU

		Media ±DT		p
Puntuación total	Pico (n=10)	Valle (n=9)		
IBDQ	183,50±54,626	185,33±44,398	0,248	
Puntuación total				
Intestinal (n=11)	5,34±1,361	4,98±1,282	<b>0,032</b>	
Sistémica (n=11)	4,82±1,695	4,93±1,323	0,309	
Funcional (n=11)	5,10±1,915	5,06±1,736	0,120	
Social (n=11)	5,31±1,126	5,46±1,376	0,933	
Emocional (n=10)	5,06±1,577	4,85±1,318	0,207	

## 9. ADHERENCIA A TRATAMIENTOS

Se analizó la adherencia a tratamientos orales asociados a los biológicos mediante el test de Morisky-Green-Levine en al menos una de las visitas (“pico” o “valle”).

Los resultados de la serie completa de casos se muestran en la Tabla XXXVIII desagregados por diagnósticos y también en la Tabla XXXIX desagregados por el biológico empleado.

En todos los casos, la adherencia era superior al 90% (serie completa 96,8%, EC 97,6%, CU 91,7%, IFX 95,3% y ADA 98%).

**Tabla XXXVIII: Test de Morisky de la serie completa y EC vs CU**

	n	%	n	%	n	%
<b>Test de Morisky</b>	<b>Total (n=94)</b>		<b>EC (n=84)</b>		<b>CU (n=12)</b>	
Adherentes	91	96,8%	80	97,6%	11	91,7%
No adherentes (al menos una respuesta incorrecta)	3	3,2%	2	2,4%	1	8,3%

**Tabla XXXIX: Test de Morisky de la serie completa y IFX vs ADA**

	n	%	n	%	n	%
<b>Test de Morisky</b>	<b>Total (n=94)</b>		<b>IFX (n=43)</b>		<b>ADA (n=51)</b>	
Adherentes	91	96,8%	41	95,3%	50	98%
No adherentes (al menos una respuesta incorrecta)	3	3,2%	2	4,7%	1	2%

## 10. NIVELES DE BIOLÓGICOS

Se analizaron por los métodos ELISA ya citados los niveles de biológicos anti-TNF $\alpha$  IFX y ADA en dos visitas denominadas “pico” y “valle” y coincidentes con los teóricos máximos y mínimos niveles de fármacos en suero. Los niveles de IFX se obtuvieron inmediatamente después de la conclusión de la infusión intravenosa (“pico”) e inmediatamente antes de la siguiente infusión (“valle”). Los niveles de ADA se obtuvieron 5 días después de la administración subcutánea (“pico”) e inmediatamente antes de la siguiente administración (“valle”).

Respecto a los niveles de IFX, se aprecia la media del “pico” correspondiente a  $87,33 \pm 18,76$  (IC 95% 80,68-93,98) y la del “valle” correspondiente a  $3,28 \pm 3,34$  (IC 95% 2,09-4,46), significativamente diferentes como se aprecia en la Ilustración 8. El “delta” o diferencia entre los niveles “valle” y “pico” fue de  $-84,05 \pm 17,19$  (IC 95% -90,15 -77,95) para el IFX.

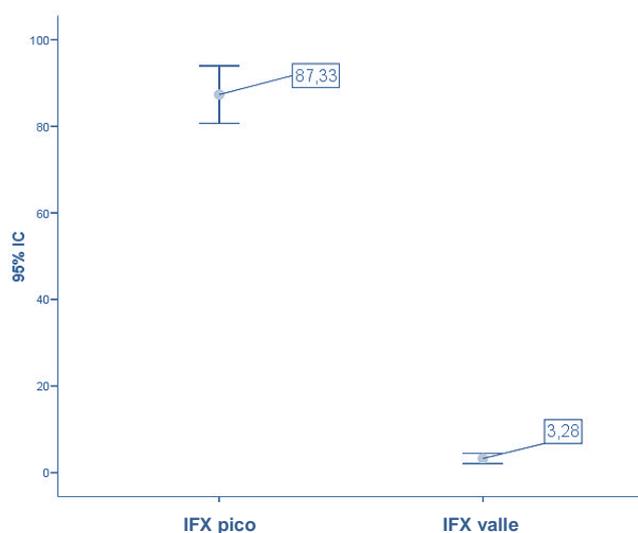


Ilustración 8: Medias e IC 95% de los niveles pico y valle de IFX

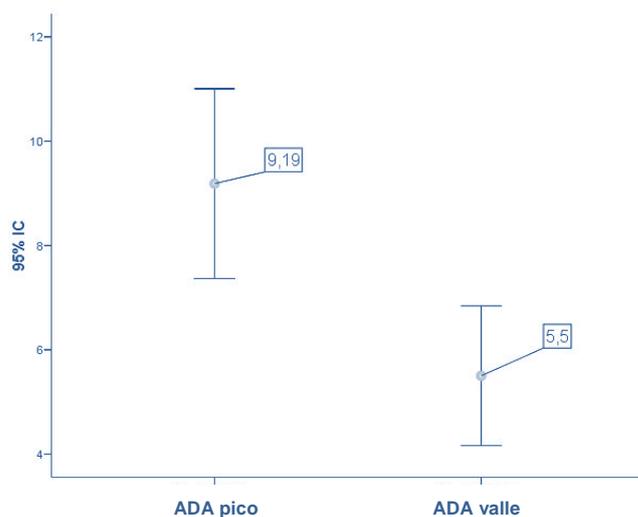


Ilustración 9: Media e IC 95% de los niveles pico y valle de ADA

Respecto a los niveles de ADA, los resultados muestran la media del “pico” correspondiente a  $9,19 \pm 6,46$  (IC 95% 7,36-11,00) y la del “valle” correspondiente a  $5,50 \pm 4,76$  (IC 95% 4,16-6,84) como se aprecia en la Ilustración 9. El “delta” o diferencia entre los niveles “valle” y “pico” fue de  $-4,11 \pm 2,21$  (IC 95% -4,77 -3,46) para ADA, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

### 10.1 NIVELES Y VARIABLES DEMOGRÁFICAS

No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles medios “pico”, “valle” y “delta” de ADA ni de IFX y sus respectivos intervalos de confianza al 95% en varones respecto a mujeres como se observa en la Ilustración 10 y en la Ilustración 11.

Ilustración 10: Niveles pico, valle y delta de ADA según sexo

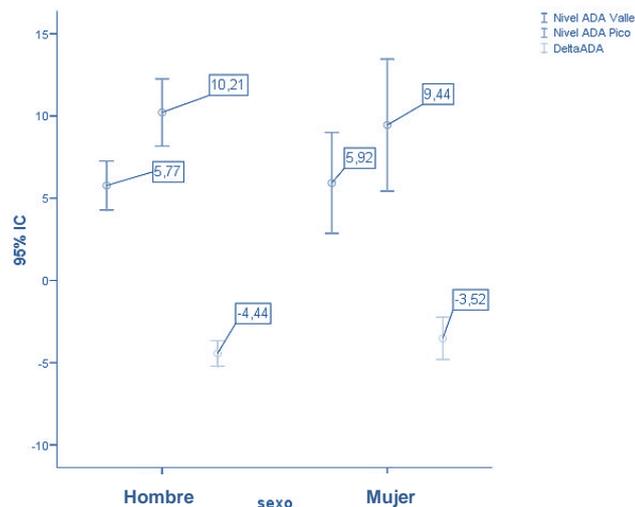
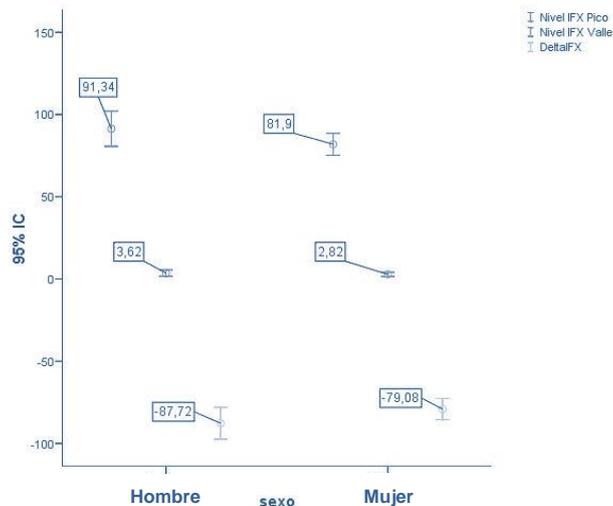
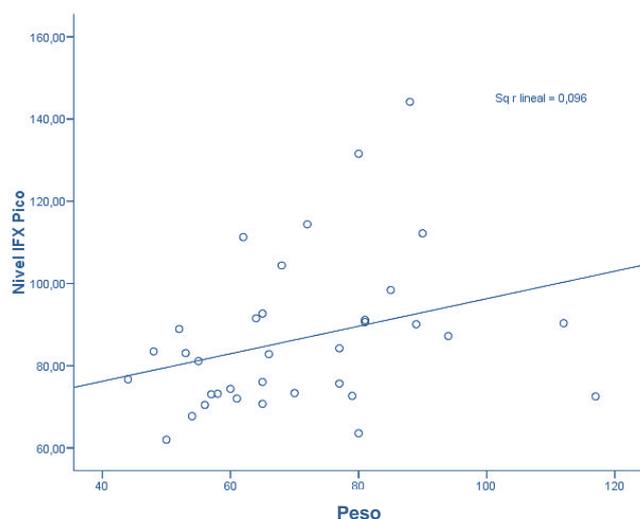


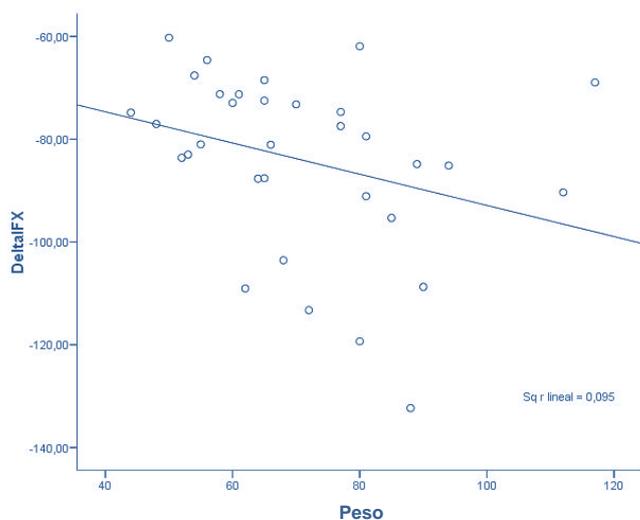
Ilustración 11: Niveles pico, valle y delta de IFX según sexo



Se evaluó la correlación del peso con los niveles de anti-TNF $\alpha$  demostrándose la correlación 0,392 de la Ilustración 12 para el peso y el nivel “pico” de IFX estadísticamente significativa (p 0,020), y también la de -0,411 de la Ilustración 13 para el peso y el “delta” de IFX (p 0,018).



**Ilustración 12: Correlación entre peso y nivel pico de IFX**

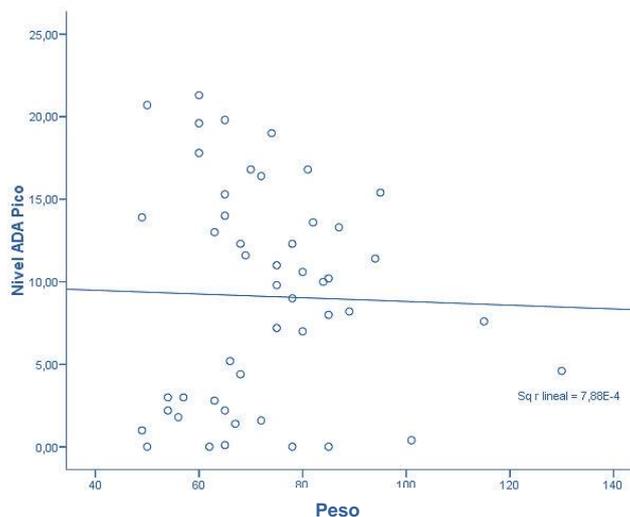


**Ilustración 13: Correlación entre peso y delta de IFX**

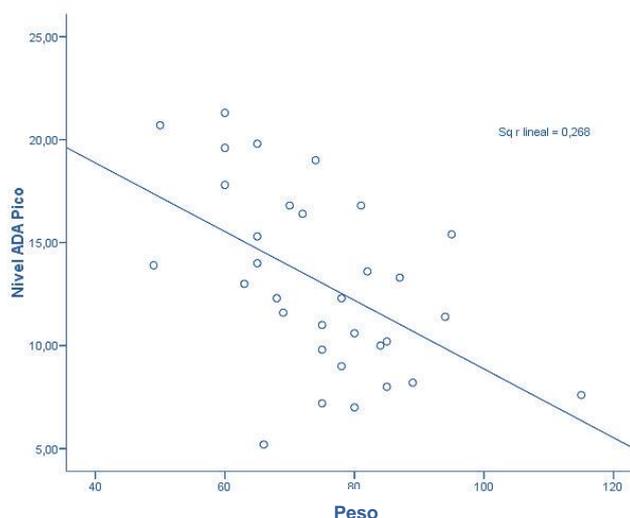
Asimismo, no se demostró una correlación significativa de los niveles de ADA “pico” y “valle” con el peso, como se observa en la Ilustración 14. Sin embargo, un análisis pormenorizado permitió detraer del análisis un subgrupo de pacientes con resultados de ADA “pico” menores de 5, no explicados por el peso sino presumiblemente por otras variables, por lo que se evaluó la nueva correlación de niveles “pico” de ADA con el peso que se observa en la Ilustración 15, demostrándose para este subgrupo una correlación de -0,541 significativa.

tiva ( $p < 0,001$ ). Además, se observó una correlación de  $-0,564$  estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) para el nivel “valle” de ADA y el peso.

**Ilustración 14: Correlación entre peso y nivel pico de ADA**



**Ilustración 15: Correlación entre peso y nivel pico de ADA (nivel >5)**



En lo que respecta a la edad del paciente y el tiempo *naïve* al anti-TNF $\alpha$ , al tiempo de evolución de la EII, y al tiempo de exposición al biológico, se calcularon correlaciones para estos tiempos y los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA, encontrando significación estadística ( $p < 0,019$ ) en la correlación de  $-0,328$  entre la edad y el nivel “pico” de ADA mostrada en la Ilustración 16, la correlación de  $-0,353$  entre la edad y el nivel “valle” de ADA ( $p < 0,011$ ) mostrada en la Ilustración 17, y la correlación de  $-0,314$  entre el tiempo de exposición y el “delta” de ADA mostrada en la Ilustración 18.

Estas correlaciones no mostraron significación estadística para los respectivos niveles de IFX.

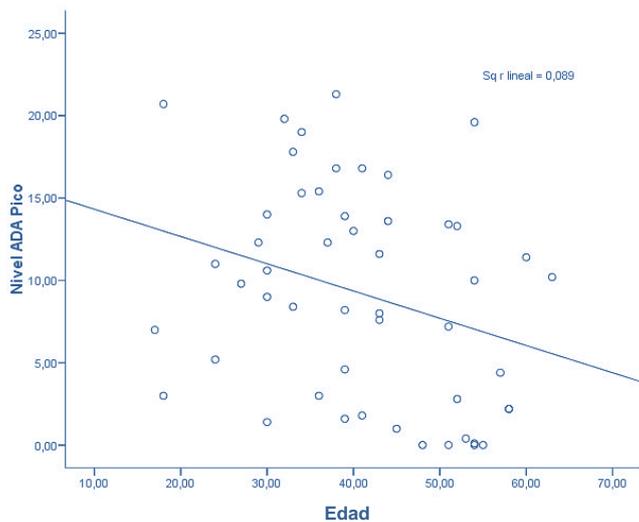


Ilustración 16: Correlación entre edad y nivel pico de ADA

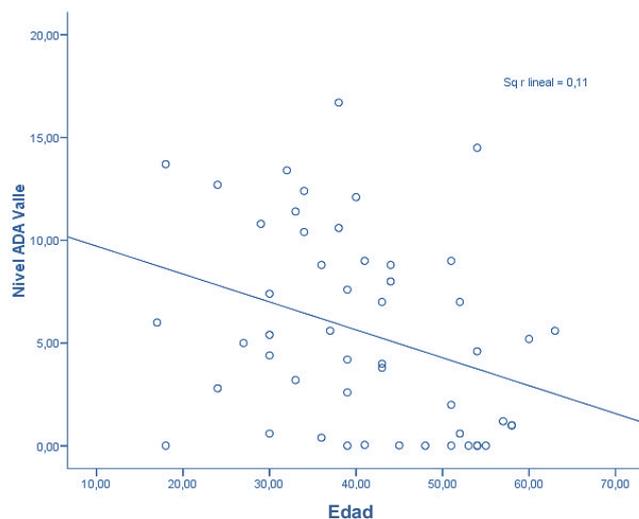


Ilustración 17: Correlación entre edad y nivel valle de ADA

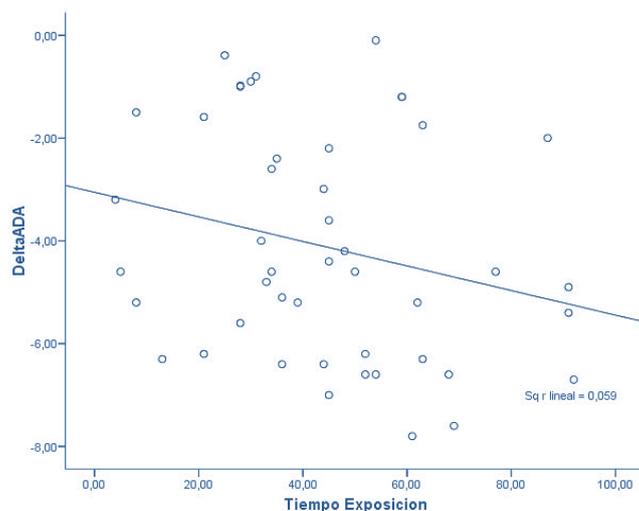


Ilustración 18: Correlación entre tiempo de exposición y delta de ADA

En EC no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de IFX en función de la edad de debut de la enfermedad en las tres categorías A1, A2 y A3 en las que la divide la clasificación de Montreal. Tampoco se encontraron diferencias en función de la localización en las 4 categorías L1, L2, L3 y L4 de la clasificación de Montreal ni por su resultado al debut de la enfermedad ni tampoco por su resultado al inicio del biológico. Por último, tampoco se encontraron diferencias en función del patrón de comportamiento B1, B2 y B3 de la clasificación de Montreal ni por su resultado al debut de la enfermedad ni tampoco por su resultado al inicio del biológico. El mismo análisis de niveles “pico”, “valle” y “delta” pero de ADA en función de las distintas categorías de la clasificación de Montreal al debut o al inicio del biológico tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas.

En CU no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de IFX en función de la localización topográfica de la enfermedad en las tres categorías E1, E2 y E3 en las que la divide la clasificación de Montreal, ni por su resultado al debut de la enfermedad ni tampoco por su resultado al inicio del biológico. Tampoco se encontraron diferencias en función de la gravedad en las tres categorías S1, S2 y S3 en las que la divide la clasificación de Montreal, ni por su resultado al debut de la enfermedad ni tampoco por su resultado al inicio del biológico. No se hizo este análisis para los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA debido a que solo 2 casos de CU estaban tratados con ADA.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA ni de IFX según el hábito tabáquico de los pacientes según se muestra en la Ilustración 19.

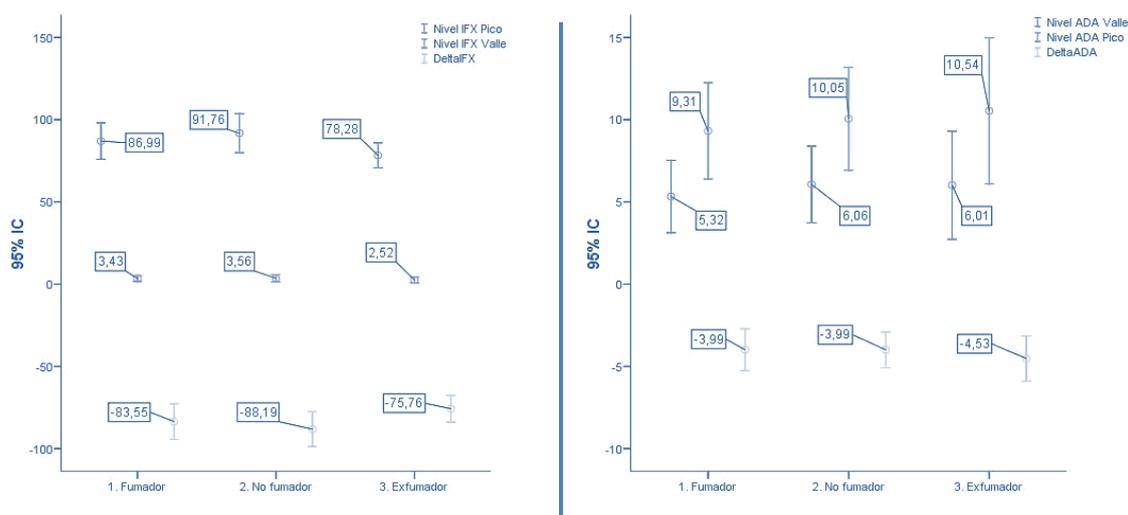


Ilustración 19: Niveles de IFX y de ADA según tabaquismo

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA ni de IFX en función de la presencia de antecedentes familiares de EII según se muestra en la Ilustración 20.

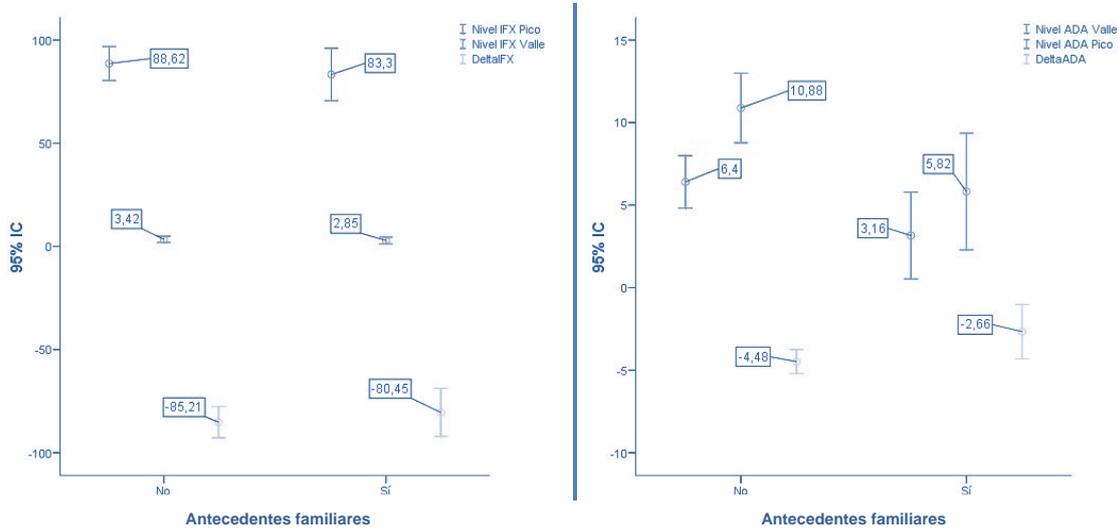


Ilustración 20: Niveles de IFX y de ADA según antecedentes de EII

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA en función de la intensificación de la frecuencia de dosificación del biológico. Sin embargo, sí se observó una diferencia estadísticamente significativa en el nivel “valle” de IFX en pacientes intensificados frente a no intensificados (5,82 IC 95% 3,00-8,64 vs 2,01 IC 95% 1,16-2,85), como se observa en la Ilustración 21.

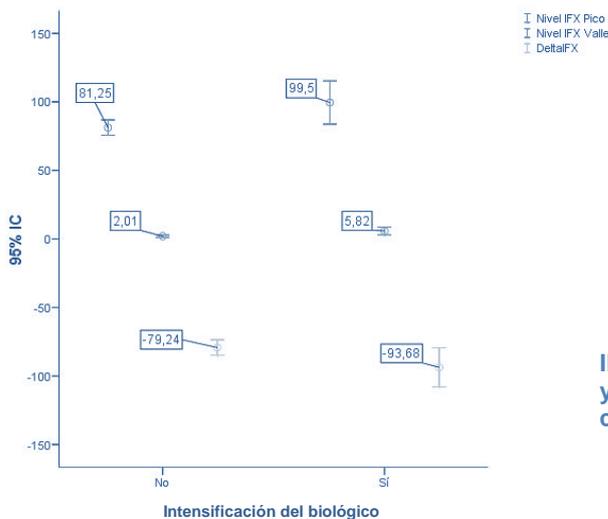


Ilustración 21: Niveles pico, valle y delta de IFX según intensificación

La media de tiempo hasta la intensificación fue de 36,31 meses (IC 95% 25,02-47,61), con un mínimo de 1 mes y un máximo de 88 meses entre la fecha de inicio del biológico y la fecha de intensificación. En la expresión gráfica de la función de supervivencia de este resultado aparece una distorsión consecuencia de que tanto los pacientes intensificados como los censurados, o sea, los no intensificados cuyo seguimiento concluye, simulan un 58% de no intensificados, como se aprecia en la gráfica de la izquierda de la Ilustración 22. En realidad, la cifra de no intensificados es del 77%, y este artefacto gráfico se produce por el muy heterogéneo tiempo de seguimiento de los pacientes. Una simulación de seguimiento homogéneo se puede observar en la gráfica de la derecha de la misma Ilustración 22.

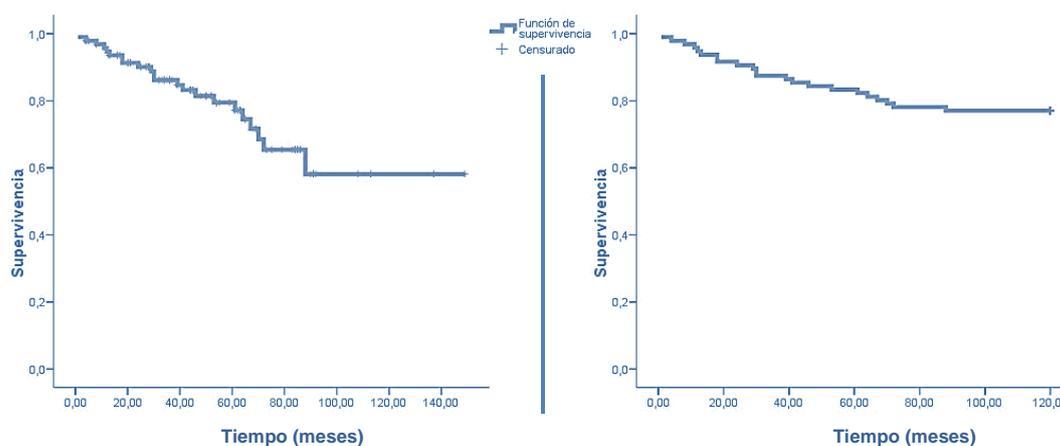


Ilustración 22: Función de supervivencia del evento "Intensificación"

Los tiempos hasta la fecha de intensificación fueron significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) entre los pacientes con EC ( $n=16$ ) y CU ( $n=6$ ), con resultados respectivos de 44,37 meses (IC 95% 31,27-57,47) y 14,83 meses (IC 95% 1,97-27,69), lo que se expresa gráficamente en la Ilustración 23.

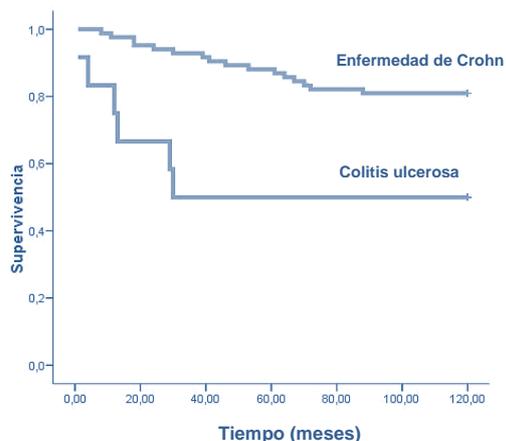


Ilustración 23: Función de supervivencia según diagnóstico

Sin embargo, no se observaron diferencias en la intensificación por sexo (p 0,465), gravedad (p 0,197), afectación perianal (p 0,578), cotratamiento con IMM (p 0,565), positividad a ANA (p 0,748), genotipo (p 0,586), edad de debut estratificada por encima o por debajo de 30 años (p 0,669) o en los estratos A1-A2-A3 de Montreal (p 0,906), tiempo *naïve* al biológico por encima o por debajo de la mediana de 63 meses (p 0,125) o por positividad a anticuerpos anti-biológico (p 0,276).

Se calculó una regresión logística para evaluar la probabilidad de que ocurriera el evento de intensificación de tratamiento biológico incluyendo las covariables sexo, cotratamiento con IMM, positividad a ANA, genotipo, edad, tiempo de EII *naïve* a biológico, gravedad de la enfermedad al inicio del biológico, presencia de enfermedad perianal también al inicio del biológico y diagnóstico (EC vs CU), demostrándose en esta evaluación multivariante que solo el diagnóstico de CU aportaba un *odds ratio* de 6,378 (IC 95% 1,36-29,82) para la probabilidad de requerir intensificación del biológico.

También se calculó una regresión de Cox para evaluar el tiempo libre hasta la aparición del evento intensificación de tratamiento biológico incluyendo las covariables sexo, cotratamiento con IMM, positividad a ANA, genotipo, edad, tiempo de EII *naïve* a biológico, gravedad de la enfermedad al inicio del biológico, presencia de enfermedad perianal también al inicio del biológico y diagnóstico (EC vs CU), demostrándose en esta evaluación multivariante que sólo el diagnóstico de CU aportaba un *odds ratio* de 4,714 (IC 95% 1,33-16,27) para una intensificación de anti-TNF $\alpha$  más precoz.

## 10.2 NIVELES Y PCR

Se estratificaron los niveles de ambos biológicos, tanto IFX como ADA, para los resultados de “pico”, “valle” y “delta” en función de la variable PCR, distinguiendo los resultados patológicos de la misma (>5) de los normales ( $\leq$ 5).

La comparación entre el nivel “pico” de IFX y la PCR “pico” según estos dos grupos de pacientes con resultado normal y anormal de dicha variable no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos (89,42 IC 95% 80,02-98,82 vs 80,91 IC 95% 75,85-85,97), ni en la comparación entre el nivel “valle” de IFX y la PCR “pico” (4,12 IC 95% 2,72-5,50 vs 1,85 IC 95% 0,60-3,09) como se puede apreciar en la Ilustración 24. Tampoco en el “delta” de IFX (-85,47 IC 95% -94,11 -76,83 vs -80,78 IC 95% -86,28 -75,28). Por último, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas

en los niveles “valle” de IFX y la PCR “valle” (3,90 IC 95% 2,53-5,27 vs 2,01 IC 95% 0,64-3,38).

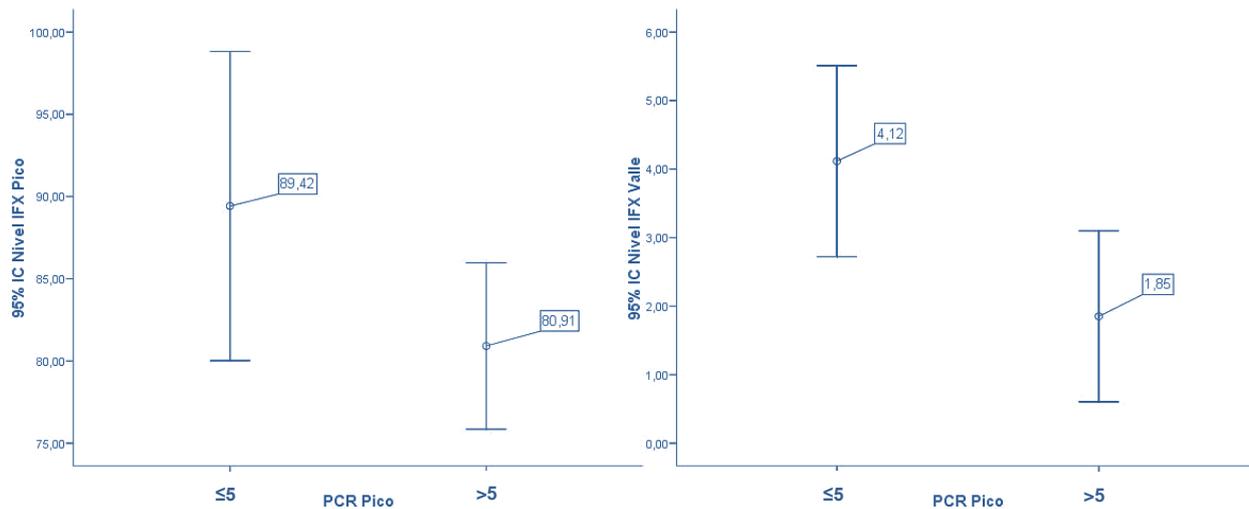


Ilustración 24: Niveles pico y valle de IFX según PCR

En la comparación entre el nivel “pico” de ADA y la PCR “pico” según estos dos grupos de pacientes con resultado normal y anormal de dicha variable sí se aprecian diferencias estadísticamente significativas (11,37 IC 95% 8,88-13,85 vs 5,80 IC 95% 3,83-7,75) con niveles de ADA menores cuando la PCR es mayor de 5. En la comparación de ADA “valle” y PCR “pico” también se apreciaron diferencias estadísticamente significativas (7,10 IC 95% 5,24-8,94 vs 3,03 IC 95% 1,63-4,42). Ambas se pueden observar en la Ilustración 25. No se observaron diferencias en el “delta” (-4,79 IC 95% -5,65 -3,93 vs -3,07 IC 95% -3,96 -2,17). Por último, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles “valle” de ADA y la PCR “valle” (6,96 IC 95% 5,08-8,83 vs 3,24 IC 95% 1,79-4,68).

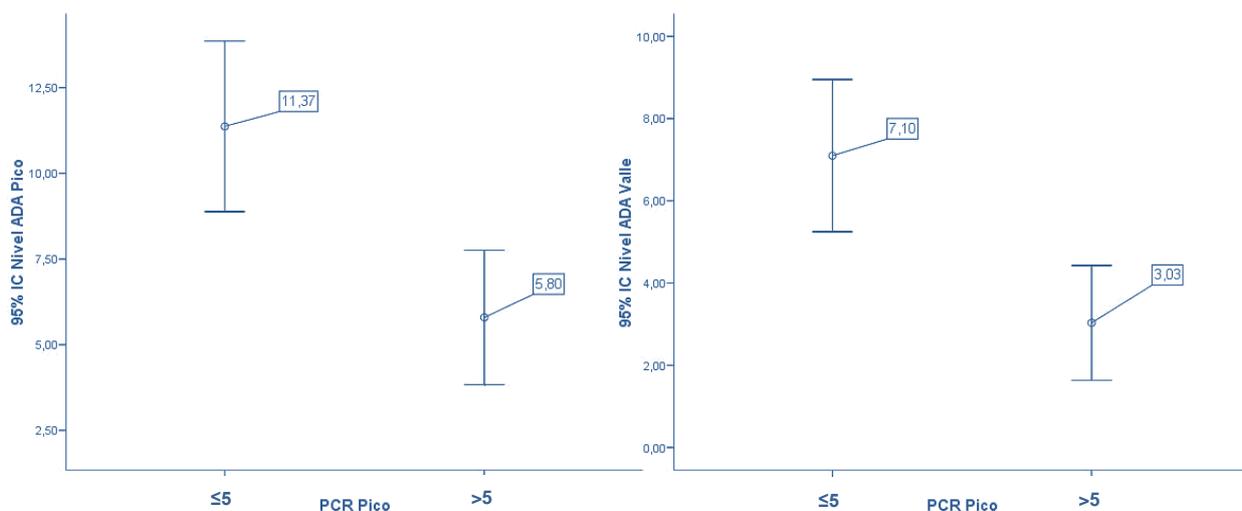


Ilustración 25: Niveles pico y valle de ADA según PCR

### 10.3 NIVELES Y CALPROTECTINA

Se estratificaron los niveles de ambos biológicos anti-TNF $\alpha$ , tanto IFX como ADA, para los resultados de “pico”, “valle” y “delta” en función de la variable Calprotectina, distinguiendo los resultados patológicos de la misma (>50) de los normales ( $\leq$ 50).

En la comparación entre el nivel “pico” de IFX y la calprotectina “pico” según estos dos grupos de pacientes con resultado normal y anormal de dicha variable no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos (87,82 IC 95% 75,51-100,13 vs 87,05 IC 95% 78,45-95,64). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en la comparación entre el nivel “valle” de IFX y la Calprotectina “pico” (4,82 IC 95% 2,40-7,23 vs 2,39 IC 95% 1,13-3,66), ni en el “delta” de IFX (-83,00 IC 95% -93,94 -72,06 vs -84,65 IC 95% -92,65 -76,64). Por último, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles “valle” de IFX y la calprotectina “valle” (5,21 IC 95% 2,52-7,89 vs 2,58 IC 95% 1,10-4,06).

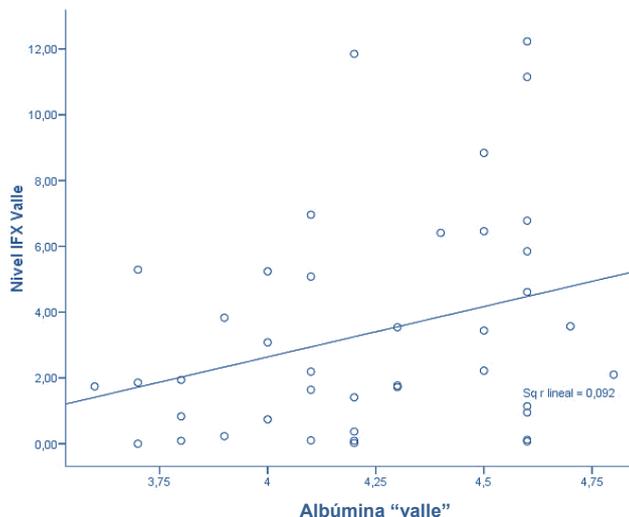
Se realizó una correlación entre la calprotectina fecal “pico” y “valle” y los niveles de IFX “pico”, “valle” y “delta”, obteniéndose significación estadística para una correlación negativa de -0,586 entre la calprotectina “valle” y el nivel “valle” de IFX ( $p < 0,001$ ) y de -0,533 para la calprotectina “pico” y el nivel “valle” de IFX ( $p < 0,001$ ). Estas correlaciones no se han mostrado gráficamente por el artefacto secundario al elevado número de pacientes con resultados >1.000, por encima del rango de determinación del laboratorio, lo que dificulta de forma significativa la interpretación gráfica.

Las diferentes comparaciones entre el nivel “pico”, “valle” y “delta” de ADA y la calprotectina “pico” y “valle” presentaban la dificultad de un 90% de valores patológicos >50 en la calprotectina, por lo que se realizó una correlación para poner en evidencia de una manera más certera las posibles diferencias significativas. En dicho análisis se evidenció significación estadística para una correlación negativa de -0,411 entre la calprotectina “valle” y el nivel de ADA “valle” ( $p 0,003$ ) y de -0,367 entre el nivel de ADA “pico” y la calprotectina “valle” ( $p 0,009$ ). De nuevo estas correlaciones no se han mostrado gráficamente por el artefacto secundario al elevado número de pacientes con resultados >1.000, por encima del rango de determinación del laboratorio, lo que dificulta de forma significativa la interpretación gráfica.

## 10.4 NIVELES Y ALBÚMINA

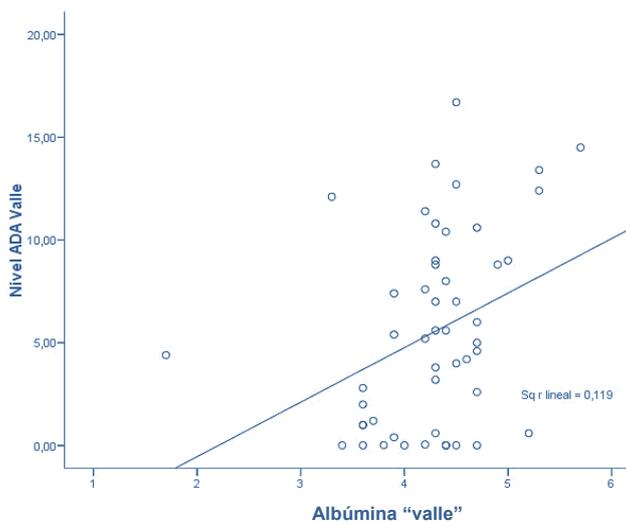
En el análisis de correlaciones mostrado en la Ilustración 26 no se demostró significación para la correlación de 0,304 entre la albúmina “valle” y el nivel de IFX “valle”, aunque la significación estadística era marginal ( $p$  0,054).

**Ilustración 26: Correlación entre niveles valle de IFX y albúmina**



Sin embargo, sí se demostró significación estadística para la correlación de 0,291 mostrada en la Ilustración 27 entre albúmina “pico” y el nivel “valle” de ADA ( $p$  0,039); también para la correlación de 0,345 entre la albúmina “valle” y el nivel de “pico” de ADA ( $p$  0,013); y también para la correlación de 0,345 entre la albúmina “valle” y el nivel “valle” de ADA ( $p$  0,013).

**Ilustración 27: Correlación entre niveles valle de ADA y albúmina**



La significación estadística fue marginal ( $p$  0,051) para la correlación de 0,275 entre la albúmina “pico” y el nivel “pico” de ADA.

## 10.5 NIVELES, CITOCINAS E INMUNOGENICIDAD

Se calculó una correlación entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA y las citocinas cuyas diferencias “pico/valle” habían resultado relevantes, resultando estadísticamente significativas la correlación de -0,421 entre la IL-6 “pico” y el nivel “pico” de ADA ( $p$  0,002) y también la correlación de -0,464 entre la IL-6 “valle” y el nivel “valle” de ADA ( $p$  0,001), como se observa en la Ilustración 28. Esta significación no se observó para los niveles “pico”, “valle” o “delta” de IFX mostradas en la Ilustración 29.

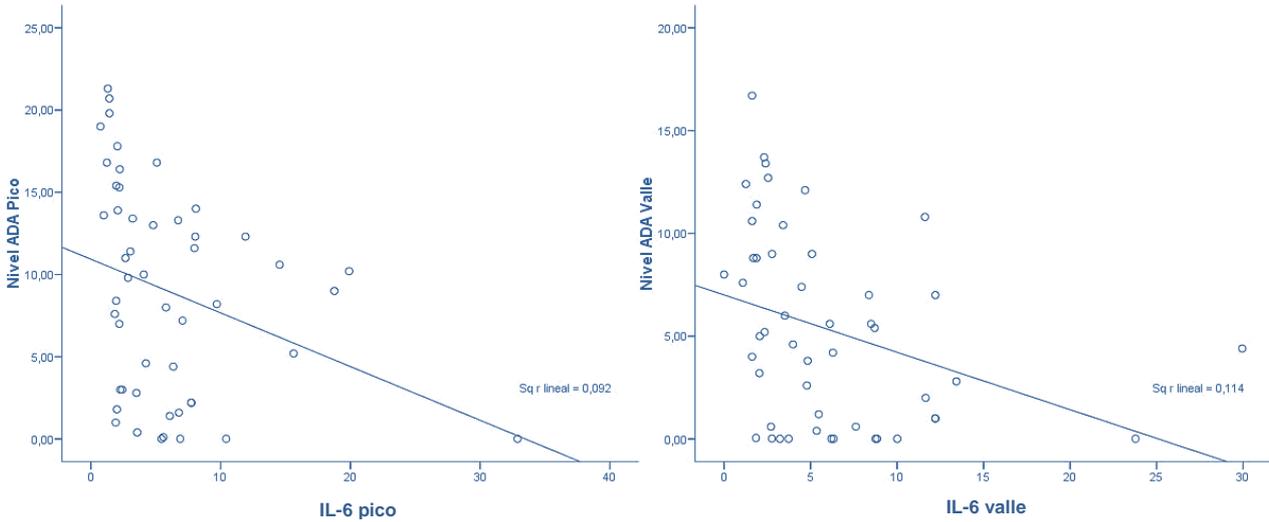


Ilustración 28: Correlaciones entre niveles de ADA y de IL-6

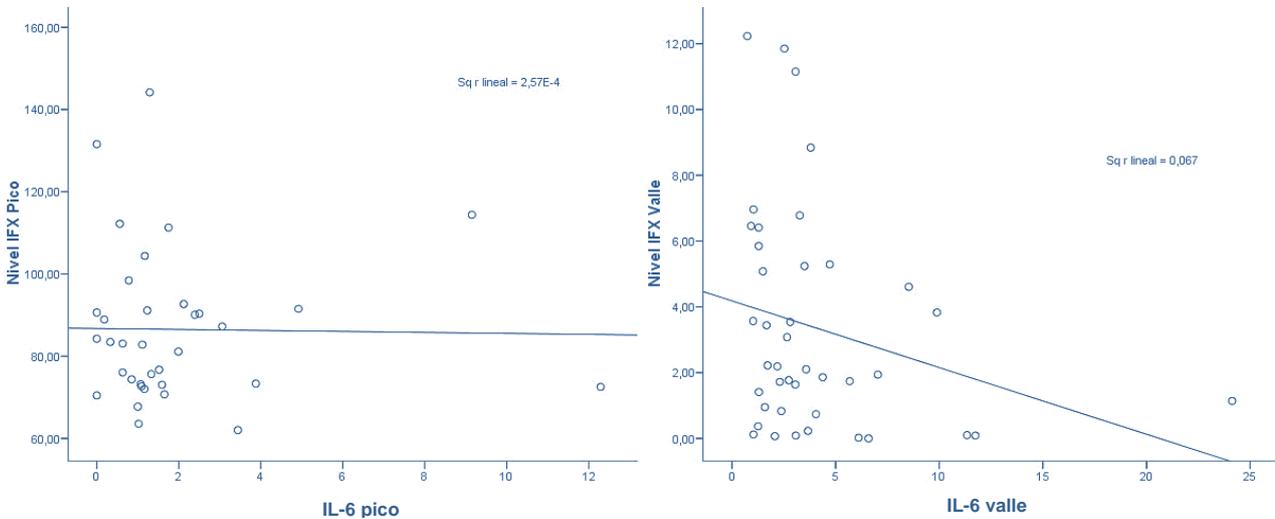


Ilustración 29: Correlaciones entre niveles de IFX y de IL-6

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA ni de IFX según la presencia o no de ANA.

Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles “pico” (15,51 IC 95% 12,52-18,51 vs 8,19 IC 95% 6,25-10,12), “valle” (9,68 IC 95% 6,76-12,59 vs 4,61 IC 95% 3,22-5,99) y “delta” (-5,83 IC 95% -6,40 -5,26 vs -3,58 IC 95% -4,35 -2,80) de ADA en presencia o ausencia de cotratamiento IMM, respectivamente, como se aprecia en la Ilustración 30. Estas diferencias no mostraron significación estadística en los respectivos niveles de IFX.

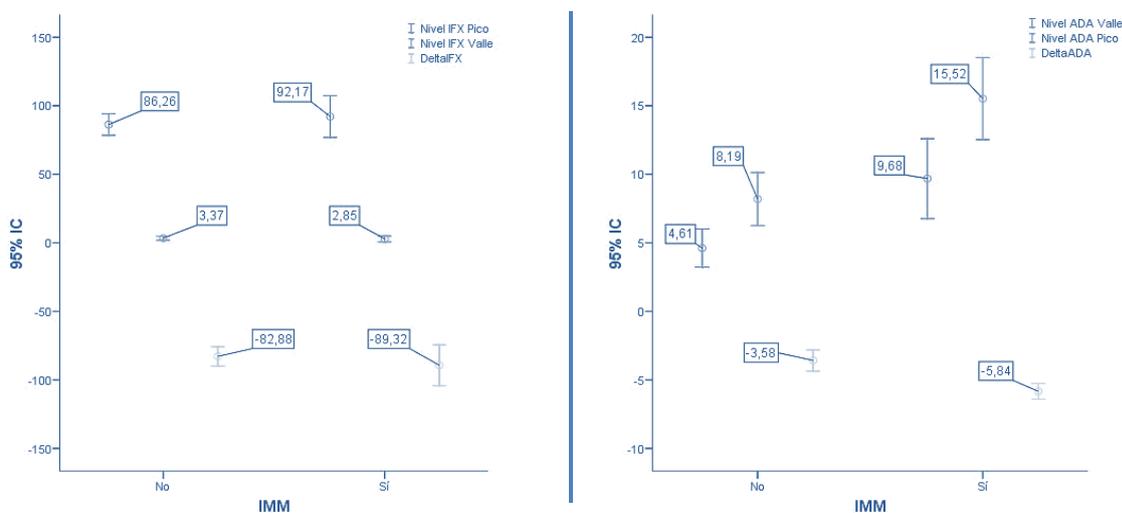


Ilustración 30: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por IMM

En lo que respecta a los anticuerpos anti-biológicos, el 15,4% de los pacientes tratados con IFX (n=6/39) presentó positividad a anticuerpos anti-IFX, mientras que entre los pacientes tratados con ADA (n=13/47) el resultado fue de un 27,7% de positividad para anticuerpos anti-ADA. En los pacientes con anticuerpos anti-biológico, el nivel de dicho anticuerpo fue de 5,83 (IC 95% -1,95-13,63) para los anti-IFX y de 1,68 (IC 95% 0,40-2,97) para los anti-ADA.

Se analizó la positividad a anticuerpos anti-biológico en función de otras variables. En el caso de la comparación entre la positividad y el tiempo de exposición, los pacientes con anticuerpos anti-IFX negativos tenían un tiempo de exposición al biológico de 76,27±28,8 meses (IC 95% 66,06-86,48) mientras que los pacientes con anticuerpos anti-IFX positivos tenían un tiempo de exposición al biológico de 33,83±27,78 meses (IC 95% 4,67-62,99). Los resultados para anti-ADA en los pacientes con anticuerpos negativos fueron de un tiempo de exposición de 42,11±23,64 (IC 95% 33,86-50,36) y en los pacientes con anticuerpos positivos de 56,53±23,86 (IC 95% 42,11-70,96).

Hubo diferencias estadísticamente significativas para el nivel “pico” de ADA ( $11,63 \pm 5,64$  vs  $7,13 \pm 5,53$ ,  $p$  0,002) y para el nivel “valle” ( $7,03 \pm 4,45$  vs  $3,56 \pm 3,64$ ) en función de la ausencia o presencia respectivamente de anticuerpos anti-ADA. También hubo diferencias significativas pero solo para el nivel “valle” en el caso del IFX ( $4,11$  IC 95%  $2,63-5,59$  vs  $0,06$  IC 95%  $0,00-0,12$ ) en función de la ausencia o presencia respectivamente de anticuerpos anti-IFX. Estos resultados se muestran en la Ilustración 31.

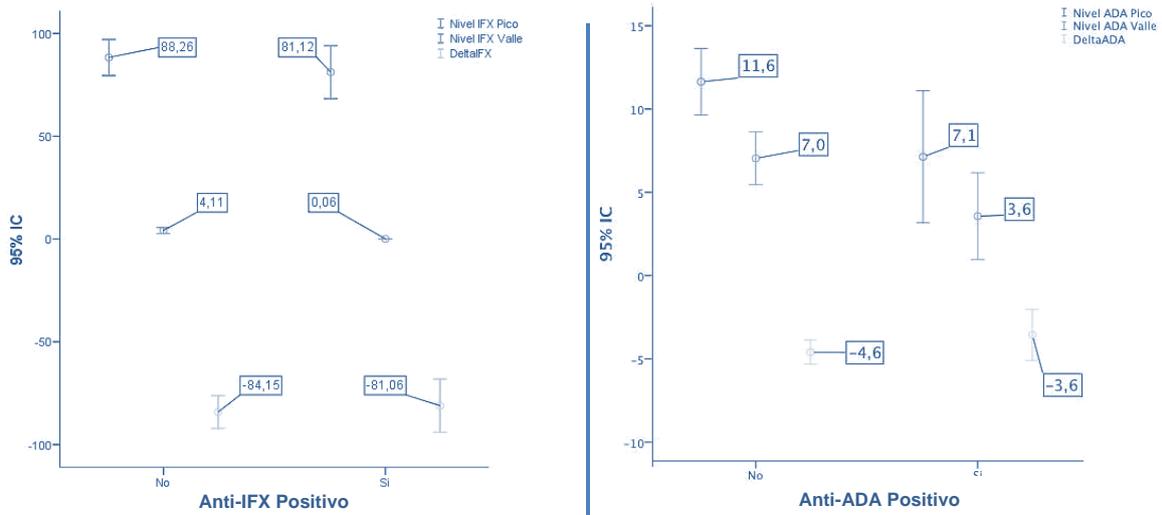


Ilustración 31: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por anticuerpo

Se construyó la curva ROC de la Ilustración 32 con el nivel “valle” de IFX y la presencia o no de anticuerpos anti-IFX, demostrándose un área bajo la curva de 0,969 ( $p < 0,001$ ) con un punto de corte para el nivel “valle” de IFX de 0,175 que presentaba una sensibilidad del 93,3% y una especificidad del 83,3% para la predicción de positividad de anticuerpos anti-biológico.

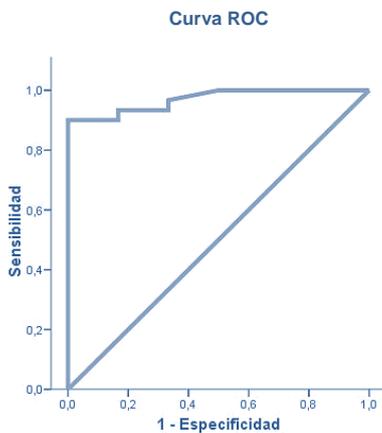
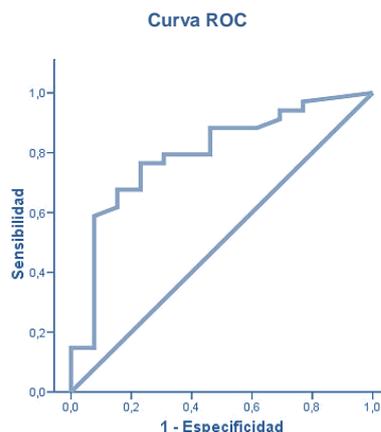


Ilustración 32: Curva ROC de anti-IFX según nivel valle de IFX

La curva ROC análoga que se observa en la Ilustración 33 se construyó para el nivel “valle” de ADA y la presencia de anticuerpos anti-ADA, demostrándose un área bajo la curva de 0,795 (p 0,002) con un punto de corte para el nivel “valle” de ADA de 4,1 que presentaba una sensibilidad del 76,5% y una especificidad del 76,9% para la predicción de positividad a anticuerpos anti-biológico.

Ilustración 33: Curva ROC de anti-ADA según nivel de ADA



Con los puntos de corte descritos de 0,175 para IFX y de 4,1 para ADA se construyeron sendas curvas ROC entre la calprotectina de la analítica “pico” y “valle” y la presencia de un nivel de biológico anti-TNF $\alpha$  por encima o por debajo de los puntos de corte citados. En el caso de ADA la curva no mostró significación estadística, como se observa a la derecha de la Ilustración 34, pero sí en el caso de IFX, tanto para la calprotectina “pico” (AUC 0,823, p 0,013) como para la calprotectina “valle” (AUC 0,828, p 0,012), que se observa a la izquierda de la misma Ilustración 34.

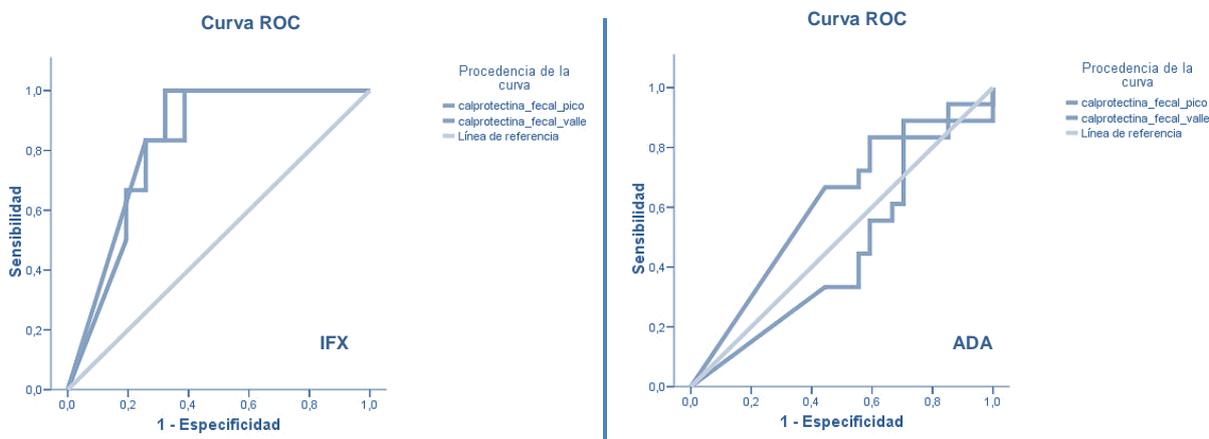


Ilustración 34: Curvas ROC de calprotectina y cut-off de IFX y ADA

El punto de corte para el nivel “pico” de calprotectina de 516 presentó una sensibilidad del 83,3% y una especificidad del 81% para la detección de un nivel “valle” de IFX menor a 0,175. El punto de corte para el nivel “valle” de calprotectina de 507,5 presentó una sensibilidad del 83,3% y una especificidad del 64,5% para la detección de un nivel “valle” de IFX menor a 0,175.

## 10.6 NIVELES Y GENOTIPO

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA ni de IFX por los genotipos de FcγRIIIA evaluados, como se observa en la Ilustración 35.

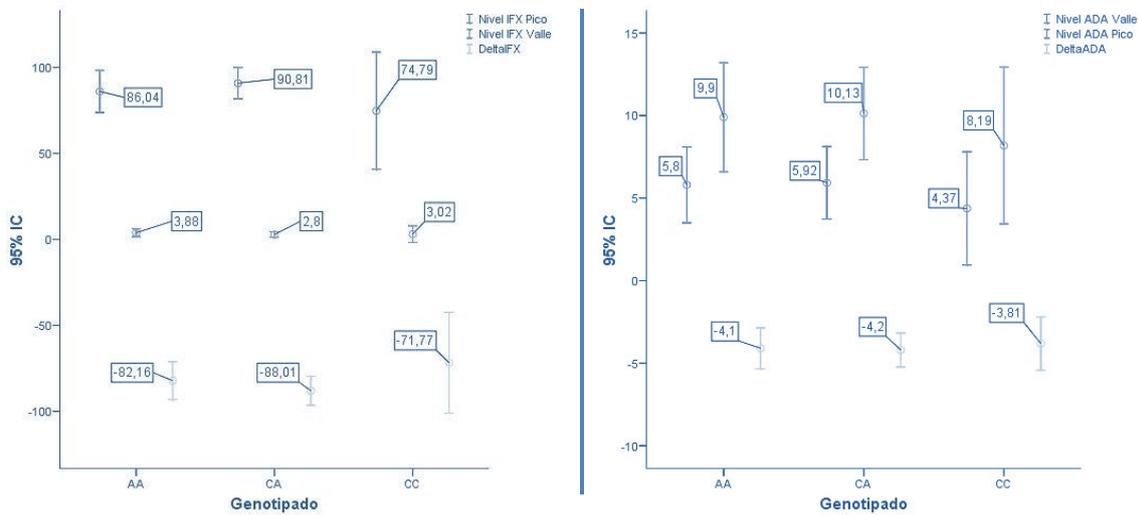


Ilustración 35: Niveles pico, valle y delta de IFX y ADA por genotipo

## 10.7 NIVELES Y CALIDAD DE VIDA

Se calculó una correlación entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de IFX y la puntuación total del cuestionario IBDQ, encontrándose significación estadística para la correlación de 0,541 entre el nivel “pico” de IFX y la puntuación IBDQ “pico” (p 0,002) y para la correlación de 0,390 entre el nivel “pico” de IFX y la puntuación IBDQ “valle” (p 0,030), que se observan en la Ilustración 36.

Al estratificar los pacientes por una puntuación IBDQ menor de 168 puntos, punto de corte que marca una puntuación asociada a actividad inflamatoria de la EII, se puso en evidencia una diferencia estadísticamente significativa

entre la media del nivel “pico” de IFX en pacientes con puntuación menor o mayor de 168 (73,75 IC 95% 68,03-79,46 vs 92,27 IC 95% 83,22-101,31).

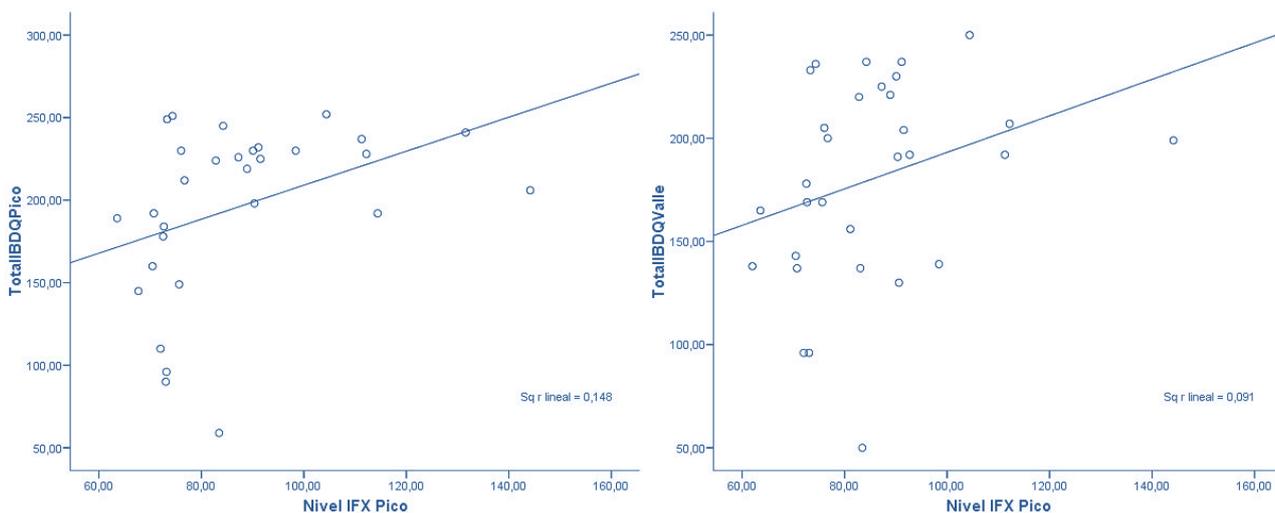
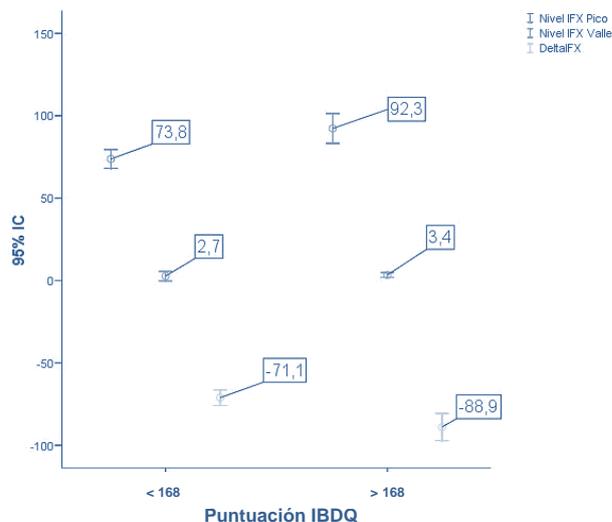


Ilustración 36: Correlaciones entre IBDQ y niveles pico y valle de IFX

Ilustración 37: Niveles pico, valle y delta de IFX según IBDQ



Ninguna de las correlaciones calculadas entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” de ADA y las puntuaciones de los cuestionarios IBDQ “pico” y “valle” fue estadísticamente significativa. Tampoco al estratificar los pacientes en puntuaciones IBDQ menores o mayores a 168 se obtuvieron diferencias en las medias de los niveles de ADA.



## IX. DISCUSIÓN



## 1. DEMOGRAFÍA Y PATRÓN DE MONTREAL

El presente estudio pretendió abarcar de forma longitudinal el universo de pacientes con EII tratados con un biológico anti-TNF $\alpha$  con el objetivo global de cuantificar eficacia clínica, biológica e inmunológica y evaluar factores predictores de los correspondientes niveles del biológico en dos momentos críticos del ciclo de tratamiento, el mínimo, o “valle” y de forma menos habitual el máximo, o “pico”.

La demografía de la serie completa de 96 pacientes es análoga a las series de pacientes tratadas con biológicos anti-TNF $\alpha$  publicadas y comunicadas. En nuestra serie, el patrón de Montreal para EC corresponde a un 57,1% de L1, 14,3% de L2, 21,4% de L3 y 7,1% de L4. Respecto a los datos en CU, un 8,3% corresponden a E1, un 58,3% a E2 y un 33,3% a E3. En lo que respecta al comportamiento de la EC, los resultados de nuestra serie mostraron un 39,3% de B1, 42,9% de B2 y 17,9% de B3.

Sirva como referencia de población tratada con anti-TNF $\alpha$  los datos de un reciente estudio húngaro coordinado por Lakatos aún no publicado y que incluye a medio millar de pacientes. En dicha serie el patrón de Montreal para EC corresponde a un 16,7% de L1, 39,7% de L2, 42,1% de L3 y 1,6% de L4. Respecto a los datos en CU, un 7,1% corresponden a E1, un 35,7% a E2 y un 57,1% a E3. En lo que respecta al comportamiento de la EC, los resultados húngaros mostraron un 57,9% de B1, un 22,2% de B2 y un 19,8% de B3. Estas diferencias son menores cuando en lugar de analizar los datos de nuestro estudio en el momento de inicio de la terapia biológica se analizan en el debut de la enfermedad, con resultados del 54,8%, 35,7% y 9,5%, respectivamente. Lo que parece claro por estas diferencias es que la evolución de la enfermedad con el paso del tiempo cambia su patrón de comportamiento, con una mayor cantidad de pacientes con patrón estenosante B2 y fistulizante B3 de manejo terapéutico más complejo, como puso en evidencia Cosnes en un estudio universalmente conocido<sup>490</sup>.

Los datos de las series divergen en dos aspectos concretos: una mayor cantidad de L3 en EC y una mayor cantidad de E3 en CU en la serie húngara. Respecto a la primera diferencia, llama la atención el escaso número de L1 (ileitis), y además es cierto que no se debe considerar como L3, es decir, como ileocolitis, la afectación por vecindad del ciego/colon ascendente adyacente a una ileitis. En ese caso, la explicación podría encontrarse en una inadecuada clasificación topográfica. Respecto a la segunda diferencia, el elevado número

de E3 (pancolitis) que alcanzan el escalón terapéutico del biológico pudiera ser consecuencia de diferencias en las indicaciones quirúrgicas. No parece razonable en pancolitis graves insistir en tratamientos médicos de rescate de 3ª línea si se tiene disponible la alternativa quirúrgica. En nuestro hospital se ha empleado clásicamente para el rescate de las pancolitis graves corticorresistentes (1ª línea de terapia) la CsA (2ª línea de terapia), por lo que un fallo en esta estrategia, y en cumplimiento de la reciente guía de manejo de la CU de GETECCU<sup>173</sup>, abocaría al paciente a una colectomía y no tanto a una 3ª línea de terapia médica con biológicos. Esto podría explicar la menor cantidad de E3 en nuestra serie.

A pesar de las diferencias mostradas, los resultados demográficos son razonablemente similares. La tasa de afectación perianal sí resultó mayor en la serie de Lakatos (33,3%) que en la nuestra (24,1%), al igual que una mayor probabilidad de cotratamiento IMM y anti-TNF $\alpha$  en la serie húngara (62,5% en EC, 57,5% en CU) respecto a la nuestra (29,8% en EC, 8,3% en CU). Desconocemos los tiempos de evolución y los motivos de inicio de tratamiento biológico en la serie de Lakatos, por lo que es difícil extraer conclusiones de la notable diferencia en los datos. Es cierto además que el cotratamiento fue denotado en las guías clínicas en los primeros años del siglo XXI debido a sus eventuales efectos adversos, especialmente los procesos linfoproliferativos en varones jóvenes expuestos a IMM tiopurínicos.

Tras la publicación del estudio SONIC<sup>256</sup> quedó claro que la disminución de inmunogenicidad que provoca el tratamiento IMM sobre el biológico anti-TNF $\alpha$  puede disminuir la generación de anticuerpos anti-biológico a la vez que ejercer sus propios efectos antiinflamatorios, todo ello sin un significativo aumento de eventos adversos. La diferente aplicación de las recomendaciones de las guías clínicas y un diferente tiempo de evolución de la EII pudieran explicar el bajo cotratamiento presente en nuestra serie. De hecho, la presencia en la serie de un solo paciente con EC en cotratamiento IMM con MTX responde exclusivamente a la costumbre en nuestro hospital de emplear como primera elección las tiopurinas frente al MTX.

Una reciente publicación española de Saro<sup>491</sup> tenía un objetivo eminentemente farmacoeconómico, pero ofrece datos demográficos de una serie de pacientes con EC en práctica clínica habitual, condiciones idénticas a las de nuestro estudio. Se incluyó a un total de 126 pacientes con un 50,82% de varones,  $8,5 \pm 7,8$  años de evolución y un hábito tabáquico del 39,7% de fumadores y 31% de exfumadores. Los datos respectivos de nuestra serie fueron de 63,1% varones, 11,60 años de evolución y hábito tabáquico del 31% de fumadores y 27,4% de exfumadores.

En lo que respecta a las razones de uso del biológico en dicha serie, en el 60,3% se indicó por refractariedad a IMM (53,6% en nuestra serie), en un 19% por intolerancia a IMM (23,8% en nuestra serie) y en un 10% por enfermedad perianal (6% en nuestra serie). Por último, la edad de debut clasificada por el patrón de Montreal en la serie de Saro fue de 8,7% A1, 70,6% A2 y 20,6% A3 mientras en nuestra serie las cifras respectivas eran de 8,3%, 72,6% y 19%. Desde el punto de vista demográfico las dos series, bajo las mismas guías clínicas y condicionantes del sistema nacional de salud español, son notablemente parecidas.

También de la serie húngara anteriormente citada podemos obtener datos respecto a la presencia de anticuerpos anti-biológico, del 34,8% y del 18,3% en pacientes ya expuestos previamente a terapias anti-TNF $\alpha$  y en pacientes *naïve*, respectivamente. Los respectivos datos desagregados por diagnósticos son del 38,5% y 15,7% para EC y del 30% y 22,2% para CU. Desconocemos si se trata de anticuerpos transitorios y por tanto con menor papel en el bloqueo del biológico, en la pérdida de eficacia y en las eventuales reacciones infusionales o de sensibilidad, o bien si se trata de anticuerpos no transitorios, probablemente protagonistas de los eventos deletéreos descritos. En cualquier caso, son tasas elevadas consecuencia de la alta inmunogenicidad de una molécula de elevado peso (150 kD) y con gran cantidad de epítomos susceptibles de ser convenientemente detectados por el sistema inmunológico del paciente. La disminución de esa inmunogenicidad, mayor en los tratamientos subcutáneos respecto a los intravenosos, mayor en los tratamientos episódicos respecto a los programados, mayor en los pacientes sin IMM respecto a los cotratados, mayor en los pacientes pretratados con esteroides y antihistamínicos respecto a los no pretratados, supone un reto para la sostenibilidad del tratamiento y evitar la taquifilaxia.

Este reto no es común para las moléculas de síntesis química, con un metabolismo diferente al catabolismo de las inmunoglobulinas, y que no sufren en igual medida el fallo secundario de los biológicos con el paso del tiempo. Debido a ello, a lo largo de la evolución del tratamiento anti-TNF $\alpha$  se ha precisado intensificar en nuestro estudio el biológico en un 22,9% (n=22) de los casos, y se ha debido interrumpir temporalmente el fármaco en un 9,4% (n=9) debido a cirugías programadas o gestaciones en la mayoría de los casos reiniciándolo con posterioridad en todos ellos. Estas cifras son discretamente inferiores al 31% y 36% registrados respectivamente en los estudios CLASSIC II<sup>218</sup> y CHARM<sup>219</sup>, y similares a otras series<sup>232,234,235</sup>.

La media de tiempo hasta la intensificación fue de 36,31 meses (IC 95% 25,02-47,61), con un mínimo de 1 mes y un máximo de 88 meses entre la fe-

cha de inicio del biológico y la fecha de intensificación. La dificultad de expresión gráfica de la función de supervivencia de la intensificación fue consecuencia de que tanto los pacientes intensificados como los censurados, o sea, los no intensificados cuyo seguimiento concluye, simulaban un porcentaje más elevado del 23% de pacientes intensificados respecto al 77% de no intensificados. El origen de esta distorsión gráfica se basa en la propia construcción de la función de supervivencia en pacientes con intervalos de seguimiento heterogéneos y cortos, como es el caso de nuestra serie.

El seguimiento virtual de 10 años que se simuló para los pacientes no intensificados evita esta distorsión gráfica, aunque no modifica los datos originales sobre los que se hacen las comparaciones estadísticas. Ese intervalo virtual de 10 años cubre ampliamente el tiempo de seguimiento en que todos los pacientes fueron intensificados (máximo de 88 meses). Además, el tiempo de exposición máximo para el subgrupo de pacientes que precisan intensificación es de 116 meses, que queda incluido en la simulación de seguimiento de los pacientes no intensificados. De esta forma, las gráficas de la función de supervivencia muestran solo a los pacientes intensificados y no a los censurados por pérdida de seguimiento, dado que éste se simuló hasta el máximo de 120 meses descrito.

Los tiempos hasta la fecha de intensificación fueron significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) entre los pacientes con EC ( $n=16$ ) y CU ( $n=6$ ), con resultados respectivos de 14,83 meses (IC 95% 1,97-27,69) y 44,37 meses (IC 95% 31,27-57,47).

Por otro lado, no se observaron diferencias en la intensificación por sexo, gravedad de la enfermedad, presencia de afectación perianal, cotratamiento con IMM, positividad a ANA, genotipo, edad de debut estratificada por encima o por debajo de 30 años o en los estratos A1-A2-A3 de Montreal, tiempo *naïve* al biológico por encima o por debajo de su mediana de 63 meses, o por positividad a anticuerpos anti-biológico. Estos resultados limitan al diagnóstico de EC o CU como único factor en el análisis univariado que influye en la intensificación de la terapia, lo cual sugiere que la monitorización clínica, analítica y de medición de niveles pudiera ser optimizada de forma diferente en las distintas enfermedades. Este hecho se confirma en las regresiones multivariantes logística y de Cox en la que se evaluó la participación de múltiples covariables respectivamente en la probabilidad de intensificación y en el tiempo libre hasta la intensificación. En ambas regresiones se demostró de forma significativa en pacientes con CU el aumento del riesgo de intensificación de más de 6 veces, y de más de 4 veces en el riesgo de que dicha intensificación sea más precoz. Ninguna otra de las covariables analizadas mostró significación.

Estos resultados consistentes en análisis univariados y multivariados son congruentes con la conocida experiencia clínica en CU de una menor eficacia de los biológicos anti-TNF $\alpha$ , con mayor y más rápida necesidad de intensificación de la terapia, presumiblemente por el diferente perfil inmunológico de la enfermedad.

No se observaron diferencias significativas en la comparación de niveles de biológicos entre sexos ni por diagnósticos. A pesar de que el sexo masculino está descrito en la literatura como un factor de mayor aclaramiento farmacológico de los biológicos<sup>194,198,199,252,394</sup>.

Respecto al peso, otro de los factores evidenciados en la literatura con impacto en un mayor aclaramiento<sup>391</sup>, se obtuvieron resultados interesantes para IFX. Se debe aclarar en primer lugar que IFX se administra a una dosis estándar de mantenimiento de 5 mg/Kg mientras que ADA se administra a una dosis estándar de mantenimiento de 40 mg/bisemanal. Ello significa que la dosis de IFX depende del peso del paciente mientras que la de ADA no. En los resultados obtenidos se demostró una correlación estadísticamente significativa ( $p$  0,020) y directamente proporcional (0,392) entre el peso y el nivel “pico” de IFX; o sea, que a mayor peso se alcanza mayor nivel máximo en suero, lo que presumiblemente es consecuencia de que aunque la volemia difiere entre individuos delgados y obesos, la distribución de un fármaco del peso molecular descrito es lenta y el nivel “pico” del mismo es significativamente mayor por la rápida saturación sérica que produce una infusión de fármaco de unas 4 horas.

El modelo bicompartimental en este caso mantiene uno de los compartimentos, el sérico o central, de un tamaño superior consecuencia de una diferencia en el peso total del individuo, por lo que la dosis administrada proporcional al peso satura más dicho compartimento en individuos de mayor peso. Sin embargo, se demostró también una correlación estadísticamente significativa ( $p$  0,018) e indirectamente proporcional (-0,411) entre el peso y el “delta” de IFX, por lo que individuos de mayor peso aclaraban el biológico más que individuos delgados. En este resultado se puede introducir el factor de confusión que supone un mayor nivel “pico” en individuos de mayor peso como se ha explicado antes, lo que produce un mayor “delta” o diferencia con un nivel “valle” similar al conjunto de individuos tratados.

Estas correlaciones y diferencias no fueron estadísticamente significativas con ADA, quizá porque la dosis administrada y la volemia son más estables con independencia del peso. No obstante, cuando se detrajo del análisis el grupo de pacientes con nivel “pico” de ADA inferior a 5 se demostró una correlación estadísticamente significativa de -0,541 ( $p$  0,001) para el nivel “pico” de

ADA y el peso y de -0,564 (p 0,001) para el nivel “valle” y el peso. Dada la dosis fija de ADA, independiente del peso, se deduce de nuestros resultados que tanto para el máximo como para el mínimo nivel teórico de anti-TNF $\alpha$ , el mayor peso del individuo tratado con el biológico es un factor que disminuye los niveles séricos del fármaco. Este resultado es lógico dado que una dosis fija dada tiene un volumen de distribución mayor en un paciente de mayor peso. Ya se ha citado que las jeringas precargadas suponen una dificultad para la individualización de la dosis.

Se conoce que los pacientes con EC clasificados como A1 en la clasificación de Montreal, con edades de debut de la EII por debajo de los 16 años, presentan una peor evolución de la enfermedad, con un curso más agresivo y mayor necesidad de hospitalización y cirugía. Conocer como la edad al diagnóstico puede también influir en la eficacia e inmunogenicidad del biológico podría explicar este hecho conocido<sup>355,381,382,383,384</sup>. La edad de debut media de 29,9 años en nuestra serie confirma que nos enfrentamos a una enfermedad de diagnóstico en adultos jóvenes, tal y como se describe en la literatura y se presenta clínicamente de forma habitual.

El análisis del tiempo de instauración del biológico, o sea, el tiempo que el paciente permanece diagnosticado de EII pero *naïve* a los anti-TNF $\alpha$  es enormemente variado, con pacientes que precisan el biológico tan pronto como un mes después del diagnóstico mientras que a otros se les prescribe más de dos décadas después. A la vista de esta variedad, con en torno a un 25% de pacientes que precisan el anti-TNF $\alpha$  antes de 1 año de evolución pero otro 25% que lo requieren más allá de 10 años, es difícil establecer tendencias.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el análisis por sexo o diagnóstico. Se debe tener en cuenta además que se registró como fecha de diagnóstico aquella en la que figuraba por primera vez en la historia clínica, y sin ningún lugar a dudas, el diagnóstico de EII. Sin embargo, los síntomas pudieron empezar hasta muchos meses antes, por lo que la instauración precoz del anti-TNF $\alpha$  puede en algunos casos no marcar un deterioro clínico evolutivo precoz, sino más bien un diagnóstico tardío con una evolución desfavorable subyacente previa no diagnosticada y que conduce poco tiempo después a la rápida instauración del biológico. Dicho de otra manera, el debut y el diagnóstico no siempre serán coincidentes. La condición clínica heterogénea y abigarrada de la EII, especialmente en lo que se refiere a la EC y a los diagnósticos pediátricos, dificulta el diagnóstico precoz.

El análisis del tiempo de evolución de la enfermedad, o sea, el tiempo que media entre la fecha de diagnóstico y la fecha de análisis del presente estudio,

muestra una población con una enfermedad madura y evolucionada que no muestra diferencias entre sexos o diagnósticos. Solo el primer cuartil tiene menos de 6 años de evolución.

Por último, el análisis del tiempo de exposición, o sea, el tiempo que media entre la fecha de inicio del biológico y la fecha de análisis del presente estudio, muestra una población expuesta ampliamente al anti-TNF $\alpha$ , muy por encima de las siete semividas que establecen la fase de meseta del fármaco. Casi el 75% de la serie de pacientes incluidos tiene más de 36 meses de exposición al biológico. Esto permite detectar los eventuales cambios biológicos, inmunológicos, inmunogénicos o autoinmunes provocados por la propia enfermedad o bien por el tratamiento a largo plazo con anti-TNF $\alpha$ .

En nuestra serie se demostró una correlación estadísticamente significativa entre la edad y el nivel “pico” de ADA ( $r$  -0,328,  $p$  0,019) y el nivel “valle” ( $r$  -0,314,  $p$  0,011). Un análisis en profundidad para analizar un posible factor de confusión (tiempo de exposición, tiempo de evolución) no dio frutos, por lo que permanece sin aclarar cuál es la razón por la que la mayor edad del individuo tratado se relaciona con un menor nivel máximo y mínimo de ADA, con independencia del tiempo de exposición al fármaco y el tiempo de evolución de la EII. La literatura publicada también es discrepante en este sentido<sup>201</sup>. Sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas en los niveles de anti-TNF $\alpha$  según la edad de debut, así como tampoco según la localización ni el comportamiento o la gravedad según las respectivas categorías de la clasificación de Montreal para EC y CU, tanto en el diagnóstico de la EII como al inicio del tratamiento biológico.

Ni el hábito tabáquico ni los antecedentes familiares de EII demostraron en nuestra serie ser factores que influyeran en los niveles de biológicos, aunque se ha publicado su capacidad predictora de evolución desfavorable de la EII y de respuesta a algunos biológicos, aunque con literatura publicada nuevamente discrepante<sup>164,165,217,218,252,366,367,368</sup>.

## 2. ANALÍTICAS

Como cabía esperar, no se demostraron diferencias estadísticamente significativas en la serie roja del hemograma ni en las plaquetas, puesto que sólo grandes deterioros clínicos con anemia secundaria o intensas trombocitosis reactivas podrían haber aparecido como consecuencia de un profundo descontrol de la EII.

Por ello, solo los cambios en variables con vidas medias cortas o muy cortas podrían ser visibles durante un ciclo de tratamiento, desde la administración del biológico hasta inmediatamente antes de la siguiente administración del biológico. Esto no ocurrió en la serie roja ni en las plaquetas, pero sí en la serie blanca, en algunas citocinas y en la VSG, aunque en este último caso de forma paradójica puesto que en el “valle” del ciclo de tratamiento la cifra era significativamente menor que en el “pico”.

Existen dos explicaciones a este resultado: por un lado, la VSG es suficientemente inespecífica como para no expresar como reactante de fase aguda de forma adecuadamente fidedigna el proceso inflamatorio en marcha; pero por otro lado, y sobre todo, existe un decalaje entre el ascenso o descenso de la VSG y el empeoramiento o mejora respectivamente de la intensidad inflamatoria. Por ello, podríamos observar un descenso de la VSG mientras clínicamente se produce un empeoramiento del proceso inflamatorio y, consecuentemente, una elevación de otros marcadores de inflamación de vida media corta.

Los resultados de la serie blanca sí muestran numerosos cambios significativos entre el “pico” y el “valle”, con un descenso del total de leucocitos, a expensas especialmente de los neutrófilos, mientras que la cifra de linfocitos, basófilos, eosinófilos y monocitos se eleva. Dado que no se diferenciaron las células por citometría de flujo ni por otro marcaje, cabe solo especular de forma agregada con dichos resultados, que parecen indicar una sobreexpresión de células más relacionadas con la inmunidad innata junto con un aumento de linfocitos, presumiblemente inmaduros, como consecuencia del bloqueo efectivo de  $TNF\alpha$ , de una forma parecida a lo que acontece tras una sesión de granulocitoaféresis selectiva, también indicada en EII. Estos resultados eran consistentes cuando se desagregaban por diagnósticos, confirmándose en EC para todas las variables excepto para la cifra total de leucocitos y para CU excepto para la cifra total de leucocitos y la de basófilos.

Más interesantes eran los resultados estratificados por cotratamiento IMM, no tanto en la comparación “pico-valle” para cada variable, que de nuevo era consistente con los resultados agregados para la mayoría de las comparaciones, sino en la comparación “pico-pico” y “valle-valle”, donde se mostraban cifras globales menores en los pacientes cotratados con IMM y anti- $TNF\alpha$  por un lógico bloqueo en la generación de células del sistema inmune consecuencia de las tiopurinas.

Respecto a los resultados de la bioquímica, ninguna variable del panel básico mostró diferencias estadísticamente significativas excepto las proteínas totales y la albúmina, que mostró una elevación cercana al 5%. En el análisis

de resultados se optó por establecer correlaciones y no descriptivos de medias debido a la profunda asimetría de ambos estratos consecuencia del elevado número de pacientes con resultado de albúmina normal ( $\geq 3,5$ ).

Cabe solo especular sobre cómo una variable de vida media larga como la albúmina eleva su cifra a lo largo del ciclo de tratamiento, a pesar de un progresivo menor nivel de biológico y por tanto un teórico peor control de la EII, de forma análoga a lo ocurrido con la VSG. Respecto a las proteínas totales, dado que están constituidas fundamentalmente por albúmina, y por otras globulinas que como veremos también están elevadas en el “valle”, es esperable su elevación simultánea.

La elevación de PCR de en torno al 20% en el “valle” respecto al “pico” nos permite concluir que sí supone un marcador fidedigno y de vida media corta del proceso inflamatorio subyacente y de la pérdida de control del mismo a lo largo de un periodo tan corto como el que supone un ciclo de tratamiento, pero por otro lado, llama la atención que los resultados medios estén fuera del rango de normalidad en todas las visitas. Ello podría suponer que el fenómeno inflamatorio no se encuentra controlado ni siquiera en pacientes que se encuentran clínicamente asintomáticos, lo que de hecho es conocido desde hace tiempo.

Abundando en esa dirección, los resultados de calprotectina, un marcador muy específico de la inflamación intestinal, son claramente patológicos, pero tanto en el “pico” como en el “valle”, indicando al igual que la PCR que el proceso inflamatorio intestinal no está completamente anulado por el tratamiento desplegado. No obstante, la calprotectina está un 17% más elevada inmediatamente antes de la siguiente administración del biológico anti-TNF $\alpha$ , lo que se debe interpretar como la pérdida de respuesta paralela a la disminución del efecto del biológico por la disminución de su nivel sérico.

Estas diferencias desagregadas por diagnósticos se mantienen significativas en el caso de la albúmina y la PCR en EC, y en proteínas totales y albúmina en CU. La estratificación de resultados por la variable cotratamiento IMM muestra resultados interesantes, puesto que no se evidencian diferencias significativas en ninguna variable de los pacientes cotratados con IMM y biológico, mientras que sí se observan en las proteínas totales, albúmina, PCR y calprotectina de los pacientes en monoterapia anti-TNF $\alpha$ . Y no solo eso, sino que las cifras de las cuatro variables son menores en los cotratados, incluso con medias en el rango de la normalidad para la PCR tanto en el “pico” como en el “valle”.

De forma análoga al estudio SONIC<sup>256</sup>, se muestra que no solo los resultados clínicos de los pacientes cotratados son mejores que los pacientes trata-

dos en cualquiera de las dos posibles monoterapias, IMM o anti-TNF $\alpha$ . Además, se muestra que los marcadores más fiables del proceso inflamatorio están más elevados en los pacientes sin tratamiento combinado. En un análisis *post-hoc* del estudio ACCENT I, solo los pacientes bajo tratamiento combinado anti-TNF $\alpha$  e IMM mostraron diferencias significativas en los niveles “valle” de IFX<sup>492</sup>.

En el análisis de los niveles de IFX no se demostraron diferencias significativas en función de un resultado normal o patológico de la PCR. Sin embargo, sí se demostró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles “pico” y “valle” de ADA en función del resultado de PCR en la analítica “pico” y también del nivel “valle” de ADA en función del resultado de PCR en la analítica “valle”. Todo ello concuerda con la literatura publicada sobre un mayor aclaramiento del biológico en presencia de PCR elevada<sup>217,218,252,353,354,376,377,412,413</sup>.

El análisis de los niveles de biológicos en función del resultado de calprotectina está inicialmente lastrado por un elevado número de pacientes con resultados patológicos (>90%), algunos de ellos por encima del rango de determinación del laboratorio de >1.000, lo que artefacta de forma significativa los resultados en la interpretación de los mismos. Sin embargo, sí se consiguió demostrar una correlación de -0,533 ( $p < 0,001$ ) entre la calprotectina de la analítica “pico” y el nivel “valle” de IFX y de -0,586 ( $p < 0,001$ ) entre la calprotectina de la analítica “valle” y el nivel “valle” de IFX.

Interpretamos este resultado como congruente con el anterior de la PCR, constituyendo la calprotectina un buen marcador de la intensidad del proceso inflamatorio asociado a la EII, y que por tanto contribuye a un mayor aclaramiento farmacológico del biológico.

Además, es llamativo que el resultado de la analítica “pico” tenga relación con el nivel “valle” de IFX, lo que le otorga un poder predictivo muy relevante en la práctica clínica habitual. También se demostraron para ADA correlaciones de -0,367 ( $p 0,009$ ) entre la calprotectina de la analítica “valle” y el nivel “pico” de ADA y de -0,411 ( $p 0,003$ ) entre la calprotectina de la analítica “valle” y el nivel “valle” de ADA.

Interpretamos estos resultados de forma análoga a lo ocurrido con IFX, con la calprotectina como buen marcador de inflamación activa y de aclaramiento de biológico, además de con capacidad predictora, al menos en el corto plazo<sup>378</sup>.

Otro factor descrito en la literatura con posible influencia en el aclaramiento de biológicos es la albúmina<sup>164,165</sup>. Dado el elevado número de pacientes de la serie con resultado normal, la interpretación de las eventuales diferencias significativas entre medias se evaluó mediante correlaciones, encontrando sig-

nificaciones estadísticas marginales entre la albúmina en la analítica “valle” y el nivel “valle” de IFX (p 0,054) y entre la albúmina en la analítica “pico” y el nivel “pico” de ADA (p 0,054)

Lo que parece claro es que la tendencia de ambos biológicos es a disminuir su nivel a medida que el nivel de albúmina desciende, tal y como se ha publicado como consecuencia de un aumento del aclaramiento. De hecho, sí se demostró significación estadística para la correlación de 0,291 entre albúmina “pico” y ADA “valle” (p 0,039), la de 0,345 entre albúmina “valle” y ADA “pico” (p 0,013) y la de 0,345 entre albúmina “valle” y ADA “valle” (p 0,013).

Profundizando en marcadores inmunológicos concretos, se observa un significativo aumento de las cifras de las tres principales inmunoglobulinas del plasma, de los niveles de los principales marcadores de actividad del complemento, de una citocina como IL-6 que constituye un potente marcador de inflamación y un descenso del 20% en la IL-10, una citocina antiinflamatoria. Todas estas variables tienen vidas medias cortas, de minutos en el caso de algunas citocinas, por lo que expresan con gran fiabilidad la patogenia íntima del proceso inflamatorio.

Los resultados desagregados se mantenían significativos en EC para las variables citadas salvo IL-10, que a pesar de ello mantenía un descenso del 15%, y para todas las variables salvo la IgG en el caso de la CU. La comparación de los resultados de citocinas entre EC y CU ofrece datos interesantes, aunque no evaluados en profundidad, consecuencia del diferente perfil de respuesta inmunológica de cada una de las dos entidades, pero lo que sí persiste es la elevación de IL-6 y el descenso de IL-10 a medida que disminuye el nivel del biológico anti-TNF $\alpha$  en suero, con independencia de la enfermedad a la que nos enfrentemos.

Del análisis de las citocinas descritas y con mayores diferencias en el ciclo de tratamiento “pico-valle” se evidenció una correlación de -0,421 entre la IL-6 “pico” y el nivel “pico” de ADA (p 0,002) y de -0,464 entre la IL-6 “valle” y el nivel “valle” de ADA (p 0,001), lo que también posiciona a la IL-6 como un poderoso marcador de inflamación, y por tanto de un mayor aclaramiento de biológico.

La estratificación de resultados por la variable cotratamiento IMM muestra resultados interesantes, por cuanto los pacientes cotratados no muestran diferencias en los niveles de inmunoglobulinas ni de IL-6, manteniendo las diferencias significativas en los de complemento e IL-10. Sin embargo, los pacientes en monoterapia anti-TNF $\alpha$  sí presentan las diferencias señaladas en inmunoglobulinas, complemento e IL-6.

Dado que los IMM afectan a la producción de células de la serie blanca y contribuyen al control del proceso inflamatorio, es lógico pensar que la pérdida de significación de las diferencias en las inmunoglobulinas sea un marcador indirecto de un control antiinflamatorio más férreo en los cotratados con IMM. No obstante, otro dato llamativo es que las diferencias en los niveles de complemento son independientes de la presencia o no de IMM, lo que nos conduce nuevamente al papel de la inmunidad innata en la patogenia de la EII<sup>146</sup>.

Aunque no se evidenciaron diferencias en los niveles de IFX en función de la presencia o no de cotratamiento IMM, sí se demostró significación estadística en las diferencias entre sujetos cotratados o en monoterapia anti-TNF $\alpha$  en el nivel “pico” y el “valle” de ADA, con niveles mayores en los cotratados, lo que sería congruente con los resultados clínicos más favorables en sujetos cotratados en el estudio SONIC<sup>256</sup>.

En lo que respecta a la autoinmunidad, la única variable que se determinó de forma pareada fue el factor reumatoide, o autoanticuerpo frente al fragmento Fc' de la IgG, que no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las determinaciones “pico” y “valle”. Las otras variables se determinaron en el “valle”, mostrando una elevada tasa del 45,7% de ANA por encima del título considerado como positivo de 1:80, del 41,7% de anti-Histonas por encima del límite de 10 U, y del 2,1% de anti-DNA de doble cadena por encima del límite de 50 U.

La positividad para ANA es similar al 56,7% descrito en la literatura<sup>258,259,260,261</sup>. Todo ello significa que, si bien la apoptosis inducida por la presencia del tratamiento biológico genera una intensa exposición de autoantígenos nucleares, esto probablemente no tiene consecuencias patogénicas más allá de la expresión de estos autoanticuerpos, pues el anti-DNA de doble cadena, el marcador de síndrome *lupus-like*, se mantiene en tasas de positividad considerablemente bajas.

No obstante lo anterior, puede ser significativo que todos los casos de positividad del anti-DNA de doble cadena se presenten en el subgrupo de pacientes en monoterapia anti-TNF $\alpha$ . Cabe solo especular si la inmunomodulación del cotratamiento disminuye esta consecuencia de la apoptosis. No se demostraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ambos biológicos en función de la presencia de un título de ANA superior a 1:80.

### 3. GENÉTICA

Frente a lo esperado y publicado en algunas series tanto para tratamientos anti-TNF $\alpha$  en enfermedades reumatológicas<sup>457</sup>, hematológicas<sup>459</sup>, como en EII<sup>364</sup>, en nuestra serie no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles “pico”, “valle” y “delta” tanto de ADA como de IFX por los genotipos de Fc $\gamma$ R11A evaluados.

### 4. CLÍNICA, CALIDAD DE VIDA Y ADHERENCIA

A pesar de todo lo dicho respecto a los reactantes de fase aguda séricos y fecales, las diferentes cifras leucocitarias, y las variables inmunológicas descritas, los pacientes presentan en nuestro estudio resultados en las puntuaciones de actividad rigurosamente normales. Ello no deja de ser una nueva demostración de que las puntuaciones de actividad no están validadas, son subjetivas y con una gran variabilidad interobservador, y que la expresión clínica de la enfermedad respecto a la expresión inflamatoria biológica es heterogénea y poco concordante.

Ni en la puntuación CDAI o la de Harvey-Bradshaw para EC, ni en la puntuación de Truelove-Witts o el índice de Mayo para CU se detectaron ni diferencias entre los resultados “pico” y “valle”, ni valores patológicos que describieran todo el trastorno inmunológico subyacente que sí se consiguió objetivar con las variables biológicas ya discutidas. Excepción a lo anterior es la diferencia entre los niveles “pico” de los sujetos estratificados por cotratamiento IMM, siendo significativamente mayor ( $p$  0,017) en los pacientes en monoterapia anti-TNF $\alpha$  ( $151,22 \pm 106,311$ ) respecto a los cotratados ( $91,19 \pm 61,722$ ). No obstante, dada la dispersión de resultados, y para definir el significado de esta significación estadística, se realizó una prueba de la mediana (113,70) que no resultó estadísticamente significativa ( $p$  0,061).

Sin embargo, una consecuencia indirecta e incluso tangencial del proceso patológico como el deterioro en la calidad de vida sí mostró en nuestro estudio diferencias en las determinaciones “pico” y “valle”. Es cierto que el test IBDQ-36 está validado en nuestro idioma<sup>472</sup>, y ya está demostrada su relación con la actividad biológica de la inflamación, siendo la puntuación menor en los brotes de actividad y siendo capaz de reflejar rápidamente cambios.

Efectivamente, tanto la puntuación total IBDQ como 4 de las 5 dimensiones individuales mostraron una peor puntuación en el “valle” respecto al “pico”, siendo solo la dimensión social la que mostró una tendencia similar a las demás pero no significativa desde el punto de vista estadístico. Precisamente es la dimensión social la menos limitada durante los brotes de actividad de la EII, por lo que nuestros resultados son concordantes con lo publicado previamente. Tanto el resultado global “pico” de 192,3 puntos como el “valle” de 185,7 se encuentran sobre el valor de corte de 168 puntos que limita la remisión con la actividad inflamatoria de la EII. Sin embargo, ambos resultados se encuentran bajo el valor de corte de 209 puntos que limita en una reciente publicación de Casellas una calidad de vida de población normal con una calidad de vida deteriorada en población enferma.

Esto demuestra que la percepción de calidad de vida de los pacientes con EII tratados con biológicos anti-TNF $\alpha$  está deteriorada respecto a la población general y ese deterioro es más detectable que el deterioro que corresponde a la propia situación clínica medido por las puntuaciones clínicas habituales, teniendo además una mejor correlación la calidad de vida que las puntuaciones clínicas respecto a los parámetros biológicos objetivos que cuantifican la inflamación.

La desagregación de resultados por enfermedades mostró menos variables con diferencias estadísticamente significativas, presumiblemente por la disminución de la potencia estadística consecuencia de un menor número de sujetos, limitándose los resultados significativos a las dimensiones intestinal y funcional en EC y a la dimensión intestinal en CU. A pesar de ello, la tendencia a una menor puntuación al final de ciclo de tratamiento anti-TNF $\alpha$  se mantenía en todas las variables de calidad de vida analizadas excepto en la puntuación total y las dimensiones sistémica y social en CU. No debemos obviar que el número de cuestionarios IBDQ cumplimentados en CU era de 10 en la visita “pico” y 9 en la visita “valle”, lo que dificulta enormemente en este subgrupo de pacientes con CU detectar diferencias significativas.

En lo que respecta a diferencias de niveles de anti-TNF $\alpha$  en función de la puntuación IBDQ, se estratificó la serie por puntuación mayor y menor de 168, que limita la calidad de vida asociada a actividad inflamatoria aguda, demostrándose una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con IBDQ <168 (nivel “pico” de IFX: 73,75) y aquellos con IBDQ >168 (nivel “pico” de IFX: 92,27).

Interpretamos esta relación más bien como la consecuencia de un nivel elevado de IFX y consecuentemente un mayor control de la EII y una mejor

calidad de vida, y no tanto como que la puntuación IBDQ pueda constituir un elemento predictor del nivel del biológico. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de ADA y la calidad de vida medida con el test IBDQ.

Por último, respecto a la adherencia a tratamientos, si bien es cierto que el test de Morisky-Green-Levine está especialmente diseñado para tratamientos orales<sup>28</sup>, no es menos cierto que la terapia concomitante IMM o los aminosalicilatos son tratamientos orales coadyuvantes de los biológicos en un porcentaje significativo de pacientes. Por ello, aunque el test de Morisky no mide la adherencia al propio biológico, sí puede extrapolarse de su resultado la capacidad del paciente de adherirse a los tratamientos prescritos y por tanto, la asunción de instrucciones terapéuticas para su enfermedad crónica.

Tanto los resultados agregados de la serie como los desagregados por diagnóstico y por biológico muestran en todos los casos una elevada adherencia de al menos el 90%, muy superior a otras enfermedades crónicas como el VIH, por ejemplo. La desagregación por biológico empleado podía ofrecer datos interesantes en la medida que IFX es un anti-TNF $\alpha$  intravenoso y ADA es un anti-TNF $\alpha$  subcutáneo, por lo que la diferente vía de administración, comodidad y capacidad de autoadministración pudieran modificar la adherencia a otros tratamientos, aunque no se demostró así, asumiendo entonces que la cronicidad y alto impacto negativo de la EII provocan una alta adherencia de los pacientes a las recomendaciones terapéuticas prescritas por sus equipos médicos.

La adherencia al tratamiento fue tan elevada (serie completa 96,8%, EC 97,6%, CU 91,7%, IFX 95,3% y ADA 98%) que no se hicieron evaluaciones posteriores de los niveles de biológicos en función de esta variable. Si bien es cierto que este test está específicamente diseñado para medir la adherencia de los pacientes a la medicación oral prescrita, y no tanto a la adherencia a medicación subcutánea como ADA o intravenosa como IFX, estos resultados permiten inferir la adherencia de nuestra serie de pacientes al cotratamiento IMM con tiopurinas y probablemente también a las medidas terapéuticas generales prescritas. Todo ello permite confiar en una muy correcta adscripción de los pacientes a los tratamientos, citas en consultas y exploraciones complementarias aún invasivas, lo que redundará en un mejor control y monitorización global de la EII.

## 5. NIVELES DE BIOLÓGICOS

Por obvias razones de catabolismo proteico, los niveles “valle” son significativamente menores que los niveles “pico”. La clave no está en detectar ese descenso, consecuencia de la degradación del fármaco, sino en cuantificar la magnitud del mismo y elaborar modelos predictivos con factores propios del individuo o de la EII. La magnitud de la cuantificación entre los niveles de IFX y los niveles de ADA es notablemente diferente y no se ha hecho ningún análisis comparativo debido a que son fármacos diferentes con distintas vías de administración, absorción y cinética. Los análisis se han efectuado sobre las poblaciones diferenciadas tratadas con cada fármaco para cada uno de los posibles factores que pudieran influir y predecir en una modificación del nivel “pico”, del nivel “valle” o bien de la magnitud de la diferencia entre ambos, lo que denominamos “delta”.

Los niveles “pico” y “valle” fueron significativamente diferentes tanto en IFX como en ADA, aunque las diferencias en términos cuantitativos de IFX eran notablemente mayores que en ADA, tal y como se ha descrito en la literatura para los biológicos de administración subcutánea, aunque sin que quede clara la importancia clínica de este hecho<sup>493</sup>.

En lo que respecta a la intensificación de la terapia biológica, se demostró en nuestra serie una diferencia significativa en los niveles “valle” de IFX entre aquellos pacientes con tratamiento intensificado por encima de la dosis o la frecuencia de la ficha técnica (5,82 IC 95% 3,00-8,64) y aquellos pacientes con dosis y frecuencia ajustada a ficha técnica (2,00 IC 95% 1,16-2,85). El cómo un nivel mayor de biológico en pacientes intensificados impacta clínica y biológicamente en la EII y la evolución de la misma queda por aclarar, especialmente en ese subgrupo de pacientes, puesto que la necesidad de intensificación la ha marcado previamente una situación clínica o biológica desfavorable, y solo 4 de 22 pacientes intensificados pudieron disminuir la dosis o frecuentación superior previamente prescrita.

Respecto a la presencia de anticuerpos anti-biológico, de nuevo los análisis son diferentes por fármaco, encontrándonos en esta ocasión un resultado interesante y paradójico. El porcentaje de pacientes tratados con IFX y con anticuerpos anti-IFX presentes fue del 15,4%, similar a lo descrito en la literatura para tratamiento de mantenimiento programado<sup>251</sup>. Sin embargo, frente a lo que cabría esperar, entre los tratados con ADA la positividad a anti-ADA fue del 27,7%. Si bien es cierto que la inmunogenicidad de ADA es menor que la de IFX porque esta última inmunoglobulina es quimérica y contiene un 25% de

peso molecular correspondiente a secuencias de aminoácidos murinas, no es menos cierto que la vía de administración subcutánea del ADA es más inmunogénica que la intravenosa del IFX.

Al margen de esta diferente inmunogenicidad, el 27,7% de positividad de anti-ADA es muy superior a lo descrito en series de práctica clínica<sup>257</sup> y en ensayos pivotaes<sup>217,218</sup>. En un análisis posterior para comprobar si esos pacientes son fallos secundarios a IFX empleado previamente en la evolución de la EII, solo el 7,7% de dicho subgrupo de pacientes recibió el ADA por dicho motivo, mientras que la razón más frecuente en el 69,2% de los casos era la refractariedad a IMM. Cabe especular con la ya conocida mejora en la rentabilidad diagnóstica de los métodos de medición de anti-ADA como explicación a esta notable positividad en nuestra serie.

Profundizando más en el aspecto de la inmunogenicidad de la terapia, también es llamativo que el tiempo de exposición de los sujetos con anti-IFX positivos sea significativamente menor ( $33,83 \pm 27,78$  meses) que la exposición al biológico de aquellos sujetos que no desarrollan anti-IFX ( $76,27 \pm 28,8$  meses), de donde se puede inferir que la detección de epítomos de IFX y la consiguiente producción de anti-IFX es rápida en ciertos individuos predispuestos por factores sin identificar en nuestra serie. Esta rápida generación de anticuerpos frente al anti-TNF $\alpha$  ya ha sido descrita en la literatura<sup>8</sup>.

En lo que respecta a los niveles de anti-TNF $\alpha$  y la presencia del anticuerpo anti-biológico, los niveles “pico” ( $11,63 \pm 5,64$  vs  $7,13 \pm 5,53$ ,  $p < 0,002$ ) y “valle” de ADA ( $7,03 \pm 4,45$  vs  $3,56 \pm 3,64$ ) y el nivel “valle” de IFX (4,11 IC 95% 2,63-5,59 vs 0,06 IC 95% 0,00-0,12) fueron significativamente mayores en los pacientes sin anticuerpo anti-biológico frente a los pacientes con anticuerpo, lo cual se ha relacionado en la literatura no solo con un aumento del aclaramiento<sup>417,418,419</sup> sino también con peores resultados clínicos<sup>20</sup>.

En ese mismo sentido, las curvas ROC con los niveles de cada uno de los biológicos y sus respectivos anticuerpos anti-fármaco han permitido establecer sendos puntos de corte de 0,175 de IFX y 4,1 de ADA con buena sensibilidad y especificidad en la predicción de la presencia de anticuerpos anti-biológico. Esto potencialmente puede evitar la determinación adicional de anticuerpos frente a los biológicos en aquellos pacientes con niveles inferiores a los puntos de corte descritos, puesto que la probabilidad de que dichos anticuerpos sean positivos es elevada.

Por último, y profundizando en la capacidad predictiva de algunas de las variables analíticas significativas en los análisis univariados, se construyeron curvas ROC para evaluar esta posibilidad con la calprotectina “pico” y “valle”

frente a los puntos de corte detectados en las curvas ROC previamente descritas. Para el punto de corte de 0,175 de IFX se demostraron puntos de corte en torno a 500 de calprotectina tanto en la analítica “pico” como en la “valle”. Eso significa que con una determinación sencilla, barata y fácilmente reproducible se puede predecir con razonable certeza un bajo nivel de IFX, y consecuentemente, aunque de forma indirecta, la presencia de anticuerpos anti-IFX.

Las curvas ROC que se construyeron para los niveles “pico” y “valle” de calprotectina y el punto de corte de 4,1 de ADA no alcanzaron significación estadística. Esta falta de significación para un biológico habiéndola alcanzado para el otro se interpreta como consecuencia de la diferente distribución de cada biológico en EC y CU. La mayoría de las CU (10 de un total de 12) fue tratada con IFX, y la mayoría de ADA (50 de 52) tenía diagnóstico de EC. Esta asimetría terapéutica estadísticamente significativa ( $p < 0,006$ ) forma parte de la práctica clínica habitual, dado que la indicación de uso de ADA en CU es más tardía que la de IFX, y consecuentemente hay menos pacientes tratados con ADA.

Como consecuencia de lo anterior, un intento de encontrar elementos predictivos para ADA equivale a encontrar elementos predictivos para EC, y es conocida la muy heterogénea expresión clínica y analítica de esta enfermedad. La ausencia de significación de la curva ROC entre los niveles de calprotectina y el punto de corte de 4,1 del nivel “valle” de ADA está así lastrada porque la calprotectina pudiera no traducir adecuadamente la intensidad de la EC en los patrones B2 y B3 de Montreal así como en la enfermedad perianal. Sin embargo, la calprotectina expresa bien la enfermedad luminal, y por ello sí se evidencia una buena correlación con el punto de corte de IFX, dado que en ese subgrupo de pacientes hay más CU, una enfermedad más homogénea en su expresión histopatológica, clínica y analítica.





## X. CONCLUSIONES



Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que:

1. La necesidad de intensificación de los biológicos anti-TNF $\alpha$  en dosis o frecuencia es del 22,9%, siendo mayor y más precoz en CU respecto a EC de forma significativa, lo que constituye un marcador de riesgo para fracaso del tratamiento biológico.
2. El significativo descenso del nivel del biológico anti-TNF $\alpha$  entre las determinaciones “pico” y “valle” se correlaciona con un empeoramiento de las variables biológicas de inflamación en dicho ciclo de tratamiento: la PCR y la calprotectina presentan una correlación con la disminución del nivel de ambos biológicos anti-TNF $\alpha$ , y la IL-6 presentan una correlación con la disminución del nivel de ADA.
3. El cotratamiento con IMM y anti-TNF $\alpha$  muestra mayores niveles de ADA.
4. La situación clínica medida con los cuestionarios habituales para EC y CU no tiene una buena correlación con la situación biológica, medida con PCR y calprotectina. Sin embargo, la calidad de vida medida con el cuestionario IBDQ-36 muestra resultados patológicos respecto a la población general y un significativo empeoramiento al final del ciclo de tratamiento biológico.
5. El título de autoanticuerpos ANA es elevado y similar al descrito en la literatura, aunque con una baja positividad para Anti-DNA de doble cadena y por tanto de inducción de síndrome *lupus-like*.
6. La presencia de anticuerpos anti-biológicos se relaciona con una disminución significativa de los niveles de anti-TNF $\alpha$ . Ciertos puntos de corte de cada fármaco pueden predecir la presencia de dichos anticuerpos. También ciertos puntos de corte de calprotectina pueden predecir un bajo nivel de IFX.
7. La adherencia de los pacientes a los tratamientos prescritos es muy elevada, presumiblemente como consecuencia de la cronicidad y el alto impacto negativo de la EII.



## XI. ANEXOS



# 1. INFORME DE LA DIRECCIÓN DEL HOSPITAL



Servicio  
Canario de la Salud  
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE  
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN



Las Palmas de G.C., a 21 de abril de 2014

Para todos los interesados, informo que la Dirección del Hospital Universitario de Gran Canaria "Doctor Negrín" da el visto bueno a la realización del proyecto de investigación titulado:

**NIVELES DE BIOLÓGICOS Y EFICACIA E INMUNOGENICIDAD  
DEL TRATAMIENTO PARA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL**

que se pondrá en marcha con un equipo de investigadores de nuestro centro coordinado por el facultativo del servicio de Aparato Digestivo D. Daniel Ceballos Santos, y se desarrollará en las instalaciones dependientes de nuestra Dirección Gerencia.

Atentamente,



D. Octavio Jiménez Ramos  
Director Médico

Hospital Universitario de Gran Canaria "Doctor Negrín"



Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín  
Barranco de la Ballena, S/n  
35010 – Las Palmas de Gran Canaria  
Telf.: 928 449 673 Fax.: 928 450 548

## 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO



Servicio  
Canario de la Salud

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE  
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN



### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

“Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del  
tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal”

Su médico le ha solicitado participar en este estudio. Ahora y en cumplimiento de la Ley 41/2002 de 14 de Noviembre “Básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica” reiteramos la explicación dada verbalmente por escrito, con objeto de que nos autorice a incluirlo en el mismo.

Es importante que usted conozca y entienda la finalidad y los procedimientos llevados a cabo en este estudio. Lea atentamente esta información y no dude en preguntar todas aquellas cuestiones que no le queden claras.

#### ANTECEDENTES

La medición de niveles de los fármacos infliximab y adalimumab para el control de la actividad inflamatoria y la optimización del tratamiento no está estandarizada. Los datos publicados hasta el momento sugieren que tienen una implicación relevante en los resultados del tratamiento. Los niveles de estos fármacos y de anticuerpos contra los mismos pueden relacionarse con el control de la enfermedad, la pérdida de respuesta, efectos secundarios o reacciones alérgicas, y se ha demostrado que los anticuerpos pueden aumentar casi 3 veces la velocidad de eliminación de los fármacos. Además, la degradación y eliminación de los fármacos pueden diferir entre pacientes con enfermedad de Crohn y pacientes con colitis ulcerosa.

La presencia de los anticuerpos anti-fármaco, especialmente frente a infliximab por su componente de origen murino (ratón), es importante en la aparición de reacciones a la administración del fármaco y la pérdida de eficacia a largo plazo. Estas reacciones se pueden prevenir con medicación y con ciertos esquemas de tratamiento de mantenimiento.

#### OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo del estudio es demostrar la relación entre los niveles de fármacos biológicos (infliximab y adalimumab) y la eficacia del tratamiento, y la relación entre los niveles de anticuerpos frente a los fármacos biológicos y la disminución de la eficacia del tratamiento.

#### DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se basa en dos visitas para extracciones analíticas y cumplimentación de cuestionarios en cada una de ellas.

Las analíticas serán similares a las habituales a las que se le somete para el seguimiento de su enfermedad, añadiendo específicamente para este proyecto de investigación:

- Niveles de fármacos: los niveles de infliximab se obtendrán en dos ocasiones (inmediatamente después de la conclusión de la infusión intravenosa: pico, e inmediatamente antes de la siguiente infusión: valle), y los de adalimumab se obtendrán en dos ocasiones (5 días después de la administración subcutánea: pico, e inmediatamente antes de la siguiente administración: valle).
- Marcadores de inflamación: sustancias que permiten medir con fiabilidad en heces (calprotectina) la intensidad del proceso inflamatorio intestinal, que se determinarán en las dos extracciones analíticas.
- Niveles de anticuerpos anti-fármaco (anticuerpos fabricados por el paciente contra el fármaco administrado para la enfermedad), que se determinarán coincidiendo con la extracción "valle" del fármaco correspondiente.
- Serología autoinmune: auto-anticuerpos, o anticuerpos fabricados por el paciente contra proteínas propias (anticuerpos antinucleares, anticuerpos anti-ADN, anticuerpos anti-Histonas), que se determinará coincidiendo con la extracción "valle".
- Estudio genético: evaluación de polimorfismos del gen FcγR mediante el estudio de ADN, que se determinará coincidiendo con la extracción "valle".

Los datos clínicos relacionados con la situación de actividad de la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa se obtendrán en las dos visitas coincidiendo con las extracciones analíticas "pico" y "valle" mediante cuestionarios de salud específicos para la enfermedad inflamatoria intestinal.

Otros datos clínicos se obtendrán a partir de la historia clínica.

#### **RIESGOS DEL ESTUDIO**

No se prevé que su participación en el estudio pueda resultar perjudicial para su salud.

#### **BENEFICIOS DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO**

Su médico controlará su enfermedad y su evolución durante todo el estudio como habitualmente. Las conclusiones de este estudio pueden mejorar el conocimiento de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, así como de los tratamientos para las mismas.

#### **OBLIGACIONES**

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Usted puede negarse a participar. Asimismo, podrá retirarse del estudio en cualquier momento sin que de ello, se derive ningún perjuicio ni pérdida de los beneficios sanitarios a los que usted tiene derecho.

#### **AVANCES EN EL CONOCIMIENTO**

Usted será informado de todos los avances o nuevos descubrimientos que se realicen durante el curso de esta investigación que puedan influir en su salud.

#### **CONFIDENCIALIDAD**

Siguiendo la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, Protección de datos de carácter personal y el RD 1720/2007 de 21 de diciembre y el resto de legislación aplicable, todos los datos recogidos en el transcurso del estudio serán tratados de forma estrictamente

confidencial y serán utilizados únicamente para la valoración del estudio sin desvelar en ningún momento los datos de su identificación. Todas las personas que forman parte del equipo investigador están obligadas a mantener el secreto profesional.

**COMITES ETICOS**

El presente protocolo de estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica de este hospital.

**DECLARACION**

D/DÑA:.....con D.N.I. ....

Mediante el presente documento **DOY MI AUTORIZACION** para participar en este estudio

- He leído la información y he podido hacer preguntas sobre la misma, entendiendo la finalidad y los procedimientos que se llevaran a cabo en el estudio.
- Considero que la información recibida es suficiente y la comprendo.
- He hablado con el Dr. \_\_\_\_\_ (investigador)
- Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en mis cuidados médicos

Y para que así conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido, y por mi propia voluntad.

En Las Palmas de Gran Canaria, a....de.....de.....

**Firma del Participante**

D/Dº....., con DNI ....., soy testigo de  
que: D/DÑA..... con DNI.....

Ha leído la información y ha podido hacer preguntas sobre la misma, entendiendo la finalidad y los procedimientos que se llevaran a cabo en el estudio.

En Las Palmas de Gran Canaria, a....de.....de.....

**Firma del Testigo.**

### 3. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

#### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

---

## NIVELES DE BIOLÓGICOS Y EFICACIA E INMUNOGENICIDAD DEL TRATAMIENTO PARA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

### CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

- Informe verbalmente del contenido de la hoja de información al paciente.
- Solicite el consentimiento informado: compruebe nombre, fecha y firma.
- Compruebe los criterios de inclusión y exclusión.

Identificación de sujeto participante (nº Hª Cª): \_\_\_\_\_

Fecha de firma del consentimiento informado: \_\_/\_\_/\_\_

FECHA DE LA VISITA: \_\_/\_\_/\_\_

## DATOS DEMOGRÁFICOS

1. Nº. de historia: \_\_\_\_\_ (base de datos indexada mediante este campo)
2. Sexo:  Hombre  Mujer
3. Fecha de nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
4. Talla \_\_\_\_
5. Peso \_\_\_\_
6. IMC \_\_\_\_
7. Hábito tabáquico: 1. Fumador 2. No fumador 3. Exfumador
8. Si fumador: ¿Cuántos cigarrillos fuma al día? \_\_\_\_ \_\_\_\_
9. Si ex-fumador fecha en la que dejó de fumar: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
10. ¿Cuántos cigarrillos fumaba al día? \_\_\_\_
11. Antecedentes familiares de enfermedades intestinales inflamatorias:  Sí  No
12. Diagnóstico  EC  CU
13. Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  - a. Clasificación según los criterios de Montreal
  - b. Afección perianal 1. Sí 2. No
  - c. Complicaciones extraintestinales: 1. Sí 2. No
  - d. Si complicaciones extraintestinales: 1. Oro-cutáneas, 2. Osteo-articulares, 3. Oculares, 4. Hematológicas, 5. Vasculares, 6. Hepato-biliares, 7. Miscelánea
  - e. Estado del paciente al diagnóstico: 1. Enfermedad leve, 2. Enfermedad moderada, 3. Enfermedad severa
14. Fecha de inicio de biológico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  - a. Clasificación según los criterios de Montreal
  - b. Afección perianal 1. Sí 2. No
  - c. Complicaciones extraintestinales: 1. Sí 2. No

- d. Si complicaciones extraintestinales: 1. Oro-cutáneas, 2. Osteo-articulares, 3. Oculares,  
4. Hematológicas, 5. Vasculares, 6. Hepato-biliares, 7. Miscelánea
- e. Estado del paciente al inicio de biológico: 1. Enfermedad leve, 2. Enfermedad moderada,  
3. Enfermedad severa
15. ¿Por qué se pauta el tratamiento biológico?: 1. Brote grave de inicio, 2. Enfermedad perianal, 3. In-  
tolerancia inmunosupresores, 4. Enfermedad luminal refractaria a inmunosupresores, 5. Enfermedad perianal re-  
fractaria a inmunosupresores, 6. Puente para inmunosupresores, 7. Manifestaciones extraintestinales
16. Dosis inicial de biológico: 1. IFX 5 mg/kg, 2. IFX 10 mg/kg, 3. ADA 160/80 mg, 3. ADA 80/40 mg
17. Frecuencia de mantenimiento: 1. IFX c/8 semanas, 2. IFX c/6 semanas, 3. ADA c/2 semanas, 3. ADA  
c/semana
18. Se ha intensificado la dosis/frecuencia del biológico: 1. Sí 2. No
19. Fecha de intensificación: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
20. Fecha de desintensificación \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
21. Interrupciones del tratamiento: 1. Sí 2. No
22. Número de interrupciones: \_\_\_\_\_
23. Fechas de interrupción: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
24. Motivos de interrupción: \_\_\_\_\_
25. Número de retratamientos: \_\_\_\_\_
26. Fechas de retratamientos: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
27. Motivos de retratamientos: \_\_\_\_\_
-

FECHA DE LA VISITA: \_\_/\_\_/\_\_

## DATOS CLÍNICOS VISITA “PICO”

28. Actividad clínica coincidiendo con la extracción “pico” (CDAI y Harvey-Bradshaw para enfermedad de Crohn, Truelove-Witts modificado e índice de Mayo parcial para Colitis Ulcerosa).

### CDAI

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

### HARVEY-BRADSHAW

Bienestar General

(0 = en general bueno; 1 = leve compromiso;  
2 = moderado; 3 = malo; 4 = terrible)

Dolor abdominal

(0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo)

Número de deposiciones blandas o líquidas por día

Masa abdominal

(0 = ausente; 1 = cuestionable; 2 = definida)

Complicaciones (1 punto por ítem)

Artralgia, uveítis, eritema nodoso, úlceras aftoides, pioderma gangrenoso, fisura anal, fístula nueva, absceso

**TRUELOVE-WITTS MODIFICADO**

Índice de Truelove-Witts modificado			
Variable	3 puntos	2 puntos	1 punto
Número de deposiciones	> 6	4-6	< 4
Sangre en las deposiciones	++/+++	+	-
<i>Hemoglobina (g/l)</i>			
Hombre	< 10	10-14	> 14
Mujer	< 10	10-12	> 12
Albúmina (g/l)	< 30	30-32	> 32
Fiebre (°C)	> 38	37-38	< 37
Taquicardia (lat./min)	> 100	80-100	< 80
VSG	> 30	15-30	< 15
Leucocitos (× 1.000)	> 13	10-13	< 10
Potasio (mEq/l)	< 3	3-3,8	> 3,8
<i>Valoración del índice:</i>			
Inactivo: < 11			
Brote leve: 11-15			
Brote moderado: 16-21			
Brote grave: 22-27			

**ÍNDICE DE MAYO PARCIAL**

Índice de Mayo				
Parámetro	Puntos	Subtotal		
<i>1. Frecuencia de deposiciones</i>				
Normal para el paciente	0	= . . . . .		
1-2 más que lo habitual	1			
3-4 más que lo habitual	2			
> 5 más de lo habitual	3			
<i>2. Hemorragia rectal</i>				
Ninguna	0	= . . . . .		
Algunas trazas de sangre	1			
Sangre evidente en la mayoría de las deposiciones	2			
Solo sangre	3			
<i>3. Hallazgos sigmoidoscópicos</i>				
Normal o enfermedad	0	= . . . . .		
Eritema, leve friabilidad	1			
Eritema marcado, friabilidad evidente	2			
Hemorragia espontánea	3			
<i>4. Evaluación global del médico</i>				
Normal	0			
Enfermedad leve	1			
Enfermedad moderada	2			
Enfermedad grave	3			
<i>Valoración global del índice de Mayo</i>	Síntomas	Endoscopia	Médico	Suma total
Leve	1-3	1	1	3 a 5
Moderado	3-6	1-2	2	6 a 10
Grave	> 6	> 2	3	> 10

## DATOS DE ADHERENCIA VISITA “PICO”

29. Adherencia y correcta cumplimentación del tratamiento coincidiendo con la extracción “pico” (test de Morisky-Green-Levine adaptado).

Pregunta	SI	NO
¿Se olvida alguna vez de tomar los medicamentos?		
¿Toma los medicamentos a la hora indicada?		
Cuando se encuentra bien, ¿deja alguna vez de tomarlos?		
Si alguna vez se siente mal, ¿deja de tomar la medicación?		

*El paciente es adherente al tratamiento si contesta a las 4 preguntas SI y el paciente no es adherente al tratamiento si contesta a 1 ó más preguntas NO.*

## DATOS ANALÍTICOS VISITA “PICO”

- 30. Leucocitos totales: \_\_\_\_\_
- 31. Neutrófilos: \_\_\_\_\_
- 32. Linfocitos: \_\_\_\_\_
- 33. Basófilos: \_\_\_\_\_
- 34. Eosinófilos: \_\_\_\_\_
- 35. Monocitos: \_\_\_\_\_
- 36. Hematíes: \_\_\_\_\_
- 37. VCM: \_\_\_\_\_
- 38. Hematocrito: \_\_\_\_\_
- 39. Plaquetas: \_\_\_\_\_
- 40. VSG: \_\_\_\_\_
- 41. Creatinina: \_\_\_\_\_
- 42. GOT: \_\_\_\_\_
- 43. GPT: \_\_\_\_\_

44. GGT: \_\_\_\_\_
45. Proteínas totales: \_\_\_\_\_
46. Albúmina sérica: \_\_\_\_\_
47. Gamma-globulinas: \_\_\_\_\_
48. PCR: \_\_\_\_\_
49. Factor reumatoide: \_\_\_\_\_
50. Actividad de complemento: \_\_\_\_\_
51. Calprotectina fecal: \_\_\_\_\_
52. Nivel de TNF $\alpha$ : \_\_\_\_\_

## DATOS FARMACOLÓGICOS VISITA “PICO”

53. Nivel “pico” del biológico: \_\_\_\_\_
-

FECHA DE LA VISITA: \_\_/\_\_/\_\_

## DATOS CLÍNICOS VISITA “VALLE”

54. Actividad clínica coincidiendo con la extracción “pico” (CDAI y Harvey-Bradshaw para enfermedad de Crohn, Truelove-Witts modificado e índice de Mayo parcial para Colitis Ulcerosa).

### CDAI

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

### HARVEY-BRADSHAW

#### Bienestar General

(0 = en general bueno; 1 = leve compromiso;  
2 = moderado; 3 = malo; 4 = terrible)

#### Dolor abdominal

(0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo)

Número de deposiciones blandas o líquidas por día

#### Masa abdominal

(0 = ausente; 1 = cuestionable; 2 = definida)

#### Complicaciones (1 punto por ítem)

Artralgia, uveítis, eritema nodoso, úlceras aftoides, pioderma gangrenoso, fisura anal, fístula nueva, absceso

**TRUELOVE-WITTS MODIFICADO**

Índice de Truelove-Witts modificado			
Variable	3 puntos	2 puntos	1 punto
Número de deposiciones	> 6	4-6	< 4
Sangre en las deposiciones	++/+++	+	-
<i>Hemoglobina (g/l)</i>			
Hombre	< 10	10-14	> 14
Mujer	< 10	10-12	> 12
Albúmina (g/l)	< 30	30-32	> 32
Fiebre (°C)	> 38	37-38	< 37
Taquicardia (lat./min)	> 100	80-100	< 80
VSG	> 30	15-30	< 15
Leucocitos (× 1.000)	> 13	10-13	< 10
Potasio (mEq/l)	< 3	3-3,8	> 3,8
<i>Valoración del índice:</i>			
Inactivo: < 11			
Brote leve: 11-15			
Brote moderado: 16-21			
Brote grave: 22-27			

**ÍNDICE DE MAYO PARCIAL**

Índice de Mayo				
Parámetro	Puntos	Subtotal		
<i>1. Frecuencia de deposiciones</i>				
Normal para el paciente	0	= . . . . .		
1-2 más que lo habitual	1			
3-4 más que lo habitual	2			
> 5 más de lo habitual	3			
<i>2. Hemorragia rectal</i>				
Ninguna	0	= . . . . .		
Algunas trazas de sangre	1			
Sangre evidente en la mayoría de las deposiciones	2			
Solo sangre	3			
<i>3. Hallazgos sigmoidoscópicos</i>				
Normal o enfermedad	0	= . . . . .		
Eritema, leve friabilidad	1			
Eritema marcado, friabilidad evidente	2			
Hemorragia espontánea	3			
<i>4. Evaluación global del médico</i>				
Normal	0			
Enfermedad leve	1			
Enfermedad moderada	2			
Enfermedad grave	3			
<i>Valoración global del índice de Mayo</i>	Síntomas	Endoscopia	Médico	Suma total
Leve	1-3	1	1	3 a 5
Moderado	3-6	1-2	2	6 a 10
Grave	> 6	> 2	3	> 10

## DATOS DE ADHERENCIA VISITA “VALLE”

55. Adherencia y correcta cumplimentación del tratamiento coincidiendo con la extracción “pico” (test de Morisky-Green-Levine adaptado).

Pregunta	SI	NO
¿Se olvida alguna vez de tomar los medicamentos?		
¿Toma los medicamentos a la hora indicada?		
Cuando se encuentra bien, ¿deja alguna vez de tomarlos?		
Si alguna vez se siente mal, ¿deja de tomar la medicación?		

*El paciente es adherente al tratamiento si contesta a las 4 preguntas SI y el paciente no es adherente al tratamiento si contesta a 1 ó más preguntas NO.*

## DATOS ANALÍTICOS VISITA “VALLE”

- 56. Leucocitos totales: \_\_\_\_\_
- 57. Neutrófilos: \_\_\_\_\_
- 58. Linfocitos: \_\_\_\_\_
- 59. Basófilos: \_\_\_\_\_
- 60. Eosinófilos: \_\_\_\_\_
- 61. Monocitos: \_\_\_\_\_
- 62. Hematíes: \_\_\_\_\_
- 63. VCM: \_\_\_\_\_
- 64. Hematocrito: \_\_\_\_\_
- 65. Plaquetas: \_\_\_\_\_
- 66. VSG: \_\_\_\_\_
- 67. Creatinina: \_\_\_\_\_
- 68. GOT: \_\_\_\_\_
- 69. GPT: \_\_\_\_\_

70. GGT: \_\_\_\_\_
71. Proteínas totales: \_\_\_\_\_
72. Albúmina sérica: \_\_\_\_\_
73. Gamma-globulinas: \_\_\_\_\_
74. PCR: \_\_\_\_\_
75. Factor reumatoide: \_\_\_\_\_
76. Actividad de complemento: \_\_\_\_\_
77. Calprotectina fecal: \_\_\_\_\_
78. Nivel de TNF $\alpha$ : \_\_\_\_\_

## DATOS FARMACOLÓGICOS VISITA “VALLE”

79. Nivel “valle” del biológico: \_\_\_\_\_

## DATOS INMUNOLÓGICOS VISITA “VALLE”

80. Nivel de anticuerpos anti-fármaco: \_\_\_\_\_
81. Nivel de ANA: \_\_\_\_\_
82. Nivel de Anti-DNA: \_\_\_\_\_
83. Nivel de Anti-Histonas: \_\_\_\_\_

## DATOS DE POLIMORFISMOS DEL GEN Fc $\gamma$ R

84. Alelos presentes: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_
-

## 4. COMUNICACIÓN ON-LINE DE EFECTOS ADVERSOS



- Notas aclaratorias

### Indique motivo(s) para la cumplimentación de este formulario:

- Para notificación de sospecha de reacción adversa  
 Para solicitud de información terapéutica

### Datos del paciente:

Sexo:  Edad:  Peso:

Nombre Completo o Iniciales:  \*

Número de Tarjeta Sanitaria:  \*

Número de Historial Clínico:  \*

Debe rellenar al menos uno de los campos anteriores marcados con \*

Notas: Pulse "Añadir" sólo si necesita introducir más de un medicamento, ppo.activo o reacción. Puede añadir tantos como necesite. Puede introducir las fechas también manualmente y no es necesario que sea completa y exacta (p.ej.- "10/2011")

Fármaco (Nombre comercial ó ppo.activo)	Dosis diaria y vía de administración	Fecha de Inicio	Fecha de Suspensión	Motivo de prescripción	Sospechoso ?
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text" value="Seleccionar"/>
<input type="button" value="añadir"/>					

Reacción	Fecha de Comienzo	Fecha de Finalización	Desenlace
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text" value="Seleccionar"/>
<input type="button" value="añadir"/>			

**Gravedad:** Globalmente, la reacción podría calificarse como

- Seleccione esta casilla si desea realizar alguna observación u aclaración adicional

### Datos del notificador

Nombre del notificador:  \*

Correo electrónico:  \*

Dirección:  \*

## 5. CLASIFICACIÓN DE LA AEMPS



am agencia española de  
medicamentos y  
productos sanitarios

DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

**DESTINATARIO:**

D. DANIEL SEBASTIAN CEBALLOS SANTOS  
H.U. DE GRAN CANARIA DR. NEGRIN  
CEIC/CEI  
BARRANCO DE LA BALLENA S/N. NIVEL -1  
JUNTO A ILUSTRACIÓN  
35010 – LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Fecha: 13 de mayo de 2014

**REFERENCIA:** ESTUDIO NIVELES\_BIO

**ASUNTO:** CAMBIO DIRECCIÓN. NOTIFICACIÓN DE PROPUESTA DE RESOLUCION DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO

Adjunto se remite propuesta de resolución de clasificación sobre el estudio titulado “Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal”, con código DCS-INM-2014-01



MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS  
SOCIALES E IGUALDAD  
REGISTRO AUXILIAR  
AGENCIA E. DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS  
SANITARIOS  
SALIDA

N. de Registro: 15037 / RG 45500  
Fecha: 30/05/2014 10:36:10

CORREO ELECTRÓNICO

farmacoepi@aemps.es

C/ CAMPEZO, 1 – EDIFICIO B  
28022 MADRID



DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

**ASUNTO: PROPUESTA DE RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO**

**DESTINATARIO: D. DANIEL SEBASTIAN CEBALLOS SANTOS**

Vista la solicitud formulada con fecha **12 de mayo de 2014**, por **D. DANIEL SEBASTIAN CEBALLOS SANTOS**, para la clasificación del estudio titulado **“Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal”**, con código **DCS-INM-2014-01**, y cuyo promotor es **D. DANIEL SEBASTIAN CEBALLOS SANTOS**, se emite propuesta de resolución.

El Departamento de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), de conformidad con los preceptos aplicables<sup>(1)</sup>, propone clasificar el estudio citado anteriormente como **“Estudio Posautorización de seguimiento prospectivo** (abreviado como EPA-SP)

El promotor del estudio deberá remitir solicitud de autorización del mismo <sup>(2)</sup> a todas aquellas Comunidades Autónomas en las que se pretenda llevar a cabo, incluyendo la siguiente documentación (una copia en papel y otra en formato electrónico) y enviando una copia de la misma (papel y formato electrónico) a la AEMPS en el momento de la primera solicitud de autorización:

- Carta de presentación dirigida a los responsables de esta materia en la Comunidad Autónoma<sup>(3)</sup> en la que se solicite la autorización del estudio e indique la dirección y contacto del solicitante y la relación de documentos que se incluyen<sup>(4)</sup>.
- Resolución de la AEMPS sobre la clasificación del estudio
- Protocolo completo, incluidos los anexos, y donde conste el número de pacientes que se pretenden incluir en España, desglosado por Comunidad Autónoma.
- Dictamen favorable del estudio por un CEIC acreditado en España.
- Listado de Centros Sanitarios donde se pretende realizar el estudio, desglosado por Comunidad Autónoma
- Listado de investigadores participantes en la Comunidad Autónoma.
- Si el estudio se pretende realizar en otros países, situación del mismo en éstos

CORREO ELECTRÓNICO

farmacoepi@aemps.es

C/ CAMPEZO, 1 – EDIFICIO 8  
28022 MADRID



DEPARTAMENTO  
DE MEDICAMENTOS  
DE USO HUMANO

- Documento acreditativo de haber satisfecho las tasas correspondientes, en aquellas CC.AA. donde se exijan.

El plazo máximo establecido para emitir resolución por parte de cada CC.AA. será de 90 días naturales. Si transcurrido el mismo la CC.AA. no se hubiese pronunciado, se entenderá autorizado el estudio en esa CC.AA.

A todos los efectos, se le notifica la propuesta de resolución del procedimiento de clasificación de estudio clínico o epidemiológico, y se le comunica que dispone de un plazo de quince días para presentar alegaciones y cuantos documentos estime necesarios o los que a su derecho convenga.

Madrid, a 13 de mayo de 2014

La Jefe de División de Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia

María Dolores Montero Corominas

<sup>1</sup> Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y de orden social; la Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto; el Real Decreto 577/2013, de 26 de julio, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

<sup>2</sup> De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre.

<sup>3</sup> Directorio disponible en la página web de la AEMPS (<http://www.aemps.es/actividad/invClinica/estudiosPostautorizacion.htm>)

<sup>4</sup> En el caso de que el promotor no sea quien presente la documentación, se deberá incluir en la misma un documento que indique las responsabilidades delegadas por el promotor a la persona o empresa que actúa en su nombre.

CORREO ELECTRÓNICO

farmacoepi@aemps.es

C/ CAMPEZO, 1 – EDIFICIO 8  
28022 MADRID

## 6. DICTAMEN DEL CEIC DE REFERENCIA



Servicio  
Canario de la Salud

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE  
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN



Gobierno  
de Canarias

**INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA/COMITÉ DE LA ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN**

---

**D. PEDRO C. LARA JIMÉNEZ**, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica-Comité de Ética en la Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín

**C E R T I F I C A:**

Que este Comité, según consta en el **Acta 5/2014** de fecha 29 de mayo, ha evaluado, según la Orden SAS/3470/2009, la propuesta del promotor para que se realice el **estudio EPA-SP** titulado:

**"Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal"**

**Promotor:** Investigación Independiente. TESIS. Daniel S. Ceballos Santos  
**Código de la AEMPS:** EPA-SP  
**Código CEIC Negrín:** 140138  
**Protocolo:** Versión 3 de fecha 12 de Mayo de 2014  
**Hoja de Información al paciente y Documento de Consentimiento Informado:** Versión 3 de fecha 12 de Mayo de 2014  
**Comité de Referencia:** H.U.G.C. Dr. Negrín

Y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.  
 La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.  
 Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado y el modo de reclutamiento previsto para el estudio.  
 El investigador y su equipo se comprometen a cumplir las recomendaciones y directrices de Buena Práctica Clínica aplicables a este tipo de estudios y la Declaración de Helsinki actualizada.  
 El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Asimismo, este Comité **ACEPTA** que dicho **Estudio EPA-SP** sea realizado por el **Dr. Daniel S. Ceballos Santos**, del **Servicio de Digestivo** del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, como investigador principal.

Que este Comité, tanto en su composición como en los PNTs, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el R.D. 223/2004.

Que su composición actual es la siguiente:

**PRESIDENTE:** Dº Pedro Lara Jiménez (F.E.A. Oncología Radioterápica)

**SECRETARIO:** Dº. Daniel Sebastián Ceballos Santos (F.E.A. Servicio de Digestivo)



EXCELENCIA EUROPEA 2007 EFCA

Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín  
**Comité Ético de Investigación Clínica CEIC/CEI**  
[ceiclugcdn.scs@gobiernodecanarias.org](mailto:ceiclugcdn.scs@gobiernodecanarias.org)  
 Barranco de la Ballena S/N  
 35010 Las Palmas  
 Tel. 928 44 90 71 FAX 928 44 98 05



Servicio  
Canario de la Salud

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE  
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN



Gobierno  
de Canarias

**VOCALES:**

D<sup>o</sup>. Miguel Ángel García Bello (No Sanitario adscrito a la Unidad de Investigación)  
D<sup>o</sup>. Javier Díaz Moreno (Licenciado en Derecho, F.E.A. Servicio de Admisión)  
D<sup>a</sup>. Trinidad Revilla Villegas (Enfermera Docencia)  
D<sup>o</sup>. Jorge Solé Violán (F.E.A. Medicina Intensiva)  
D<sup>a</sup>. Luz Casasnovas Susana (Farmacóloga Clínica, Facultad de Medicina de la ULPGC)  
D<sup>a</sup>. Soledad Djeda Bruno (F.E.A. Servicio de Reumatología)  
D<sup>o</sup>. Francisco Rodríguez Esparragón (No Sanitario, Técnico Superior de la Unidad de Investigación)  
D<sup>a</sup>. Silvia De La Iglesia Iñigo (F.E.A. Servicio de Hematología)  
D<sup>o</sup>. Jaime Vilar Alejo (F.E.A. Servicio de Dermatología)  
D<sup>o</sup>. Antonio García Quintana (F.E.A. Servicio de Cardiología)  
D<sup>o</sup>. Rafael Molero Gómez (Farmacia)

Que en dicha reunión se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que, en el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, dicho miembro no participa en la evaluación ni el dictamen del propio protocolo.

Lo que firmo en Las Palmas de Gran Canaria, a 2 de junio de 2014

El Presidente

Fdo.: D. Pedro C. Lará Jiménez



Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín  
**Comité Ético de Investigación Clínica CEIC/CEI**  
[ceichugedn.scs@gobiernodecanarias.org](mailto:ceichugedn.scs@gobiernodecanarias.org)  
Barranco de la Ballena S/N  
35010 Las Palmas  
Tel: 928 44 90 71 FAX 928 44 98 05

## 7. RESOLUCIÓN DEL SERVICIO CANARIO DE LA SALUD

 Servicio Canario de la Salud DIRECCIÓN	<table border="1"><tr><td colspan="2">REGISTRO AUXILIAR</td></tr><tr><td>Fecha:</td><td>18/09/2014</td></tr><tr><td colspan="2">SALIDA</td></tr><tr><td>Número:</td><td>507705</td></tr><tr><td>SCSG:</td><td>96743 Hora: 12:50</td></tr></table>	REGISTRO AUXILIAR		Fecha:	18/09/2014	SALIDA		Número:	507705	SCSG:	96743 Hora: 12:50	 Gobierno de Canarias
REGISTRO AUXILIAR												
Fecha:	18/09/2014											
SALIDA												
Número:	507705											
SCSG:	96743 Hora: 12:50											
<p><b>D. Daniel Ceballos Santos</b> <b>HOSPITAL UNIVERSITARIO DE G.C. DR. NEGRIN</b> <b>Barranco de la Ballena s/n Nivel 1</b> <b>35010_LAS PALMAS DE G.C.</b></p>												
<p>Asunto: Resolución estudio DCS-INM-2014-01 RRR/ lrc</p>												
<p>Se adjunta <i>Resolución de la Directora del Servicio Canario de la Salud nº 2796 de fecha 18 de septiembre de 2014</i>, por la que se autoriza la solicitud de realización del estudio titulado <b>"Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal"</b>, cuyo código es <b>DCS-INM-2014-01</b>.</p>												
<p>En Santa Cruz de Tenerife, a 18 de septiembre de 2014</p>												
 <b>Rodolfo Ríos Rull</b> Jefe de Servicio de Ordenación Farmacéutica												
<p>Juan Carlos I, Hospital Militar 35014 – Las Palmas de Gran Canaria Telf.: 928 30 28 50</p>		<p>Pérez de Rozas, 5 38004 – Santa Cruz de Tenerife Telf.: 922 60 19 70</p>										



Servicio Canario de la Salud  
DIRECCIÓN



**RESOLUCIÓN DE LA DIRECTORA DEL SERVICIO CANARIO DE LA SALUD, POR LA QUE SE AUTORIZA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO TITULADO "NIVELES DE BIOLÓGICOS Y EFICACIA E INMUNOGENICIDAD DEL TRATAMIENTO PARA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL" CUYO CÓDIGO ES, DCS-INM-2014-01.**

**ANTECEDENTES DE HECHO**

**Primero.-** El 18 de junio de 2014 tuvo entrada en este órgano, documentación presentada por don Daniel Sebastián Ceballos Santos, en la que se solicita autorización para la realización del estudio titulado "*Niveles de Biológicos y eficacia e inmunogenicidad del tratamiento para enfermedad inflamatoria intestinal*" cuyo código es, DCS-INM-2014-01.

**Segundo.-** El Centro Autonómico de Farmacovigilancia e Información Terapéutica de Canarias emitió informe de primera evaluación, con fecha 24 de junio de 2014, en el que se propone la solicitud de aclaraciones.

El Servicio de Ordenación Farmacéutica mediante oficio de fecha 2 de julio de 2014 requiere al interesado aclaraciones en relación con el citado estudio.

**Tercero.-** D. Daniel Sebastián Ceballos Santos dentro del plazo concedido al efecto, contesta a las aclaraciones requeridas, las cuales se remiten al Centro Autonómico de Farmacovigilancia, para su evaluación e informe.

**Cuarto.-** Con fecha 25 de julio de 2014 el Centro Autonómico de Farmacovigilancia e Información Terapéutica de Canarias emite informe de segunda evaluación.

**Quinto.-** El 30 de julio de 2014, se requiere al interesado la subsanación del manejo de la información sobre reacciones adversas, así como su incorporación a una nueva versión del protocolo, la cual es remitida a este servicio el 7 de agosto de 2014.

**FUNDAMENTOS DE DERECHO**

**Primero.-** Es competente para autorizar la realización de estudios posautorización de tipo observacional con medicamentos de uso humano, la Dirección del Servicio Canario de la Salud, conforme a lo dispuesto en la disposición final quinta del Decreto 2/2013, de 10 de enero, en concordancia con el artículo 14 bis del Decreto 32/1995, de 24 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento de Organización y Funcionamiento del Servicio Canario de la Salud.

**Segundo.-** La normativa aplicable a la autorización de los estudios posautorización de tipo observacional con medicamentos de uso humano, es la contenida en el artículo 19 del Real Decreto 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia para medicamentos de uso humano, y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano. Esta última en su art 7.3 establece que los órganos competentes de las C.C.A.A. evaluarán la pertinencia del estudio y resolverán favorable o desfavorablemente el mismo en el plazo máximo de 90 días naturales desde su recepción.

**Tercero.-** Las aclaraciones requeridas al interesado resultan imprescindibles para valorar el cumplimiento de los requisitos establecidos en la normativa de aplicación, de forma tal que, en el

C/ Real del Castillo, 152  
Hospital Juan Carlos I  
35014 - Las Palmas de Gran Canaria  
Telf.: 928 30 28 50

C/ Perez de Rozas, 3 4ª Planta  
38903 - Santa Cruz de Tenerife  
Telf.: 922 60 19 70

1

**ES COPIA AUTÉNTICA DE DOCUMENTO PÚBLICO ADMINISTRATIVO ELECTRÓNICO**

Este documento ha sido firmado electrónicamente por:	
JUANA MARIA REYES MELIAN	Fecha: 17/09/2014 - 16:12:48
Este documento ha sido registrado electrónicamente:	
RESOLUCION - Nº: 2796 / 2014 - Tomo: 3 - Fecha: 18/09/2014 09:31:54	Fecha: 18/09/2014 - 09:31:54
En la dirección <a href="https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc">https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc</a> puede ser comprobada la autenticidad de esta copia, mediante el número de documento electrónico siguiente: 0bdWfP7UJGc4tXwoPI7T5dfq51RdaMDCy	
 	
0bdWfP7UJGc4tXwoPI7T5dfq51RdaMDCy	
La presente copia ha sido descargada el 18/09/2014 - 09:32:36	



Servicio Canario de la Salud  
DIRECCIÓN



informe de segunda evaluación emitido por el Centro Autonómico de Farmacovigilancia, se establecía lo siguiente:

Aunque con algunas deficiencias se han solventado muchas de las cuestiones planteadas [...] No obstante, todo lo referente a la farmacovigilancia ha sido omitido. La Orden SAS 3470/2009 establece, dentro de la estructura que propone para los EPA, que haya un epígrafe dedicado al manejo y comunicación de reacciones adversas (apartado K) y en su apartado 8.3 establece que para los estudios catalogados como EPA SP, [...] las sospechas de reacciones adversas graves que se detecten durante el transcurso del estudio, se notificarán al punto de contacto designado por el órgano competente en materia de farmacovigilancia de la Comunidad Autónoma donde ejerza su actividad el profesional sanitario que notifique el caso, en el plazo máximo de 15 días naturales desde que se tuvo conocimiento de la sospecha de reacciones adversas, a través de tarjeta amarilla al centro autonómico de farmacovigilancia correspondiente, indicando igualmente el nombre y el código del estudio del cual proviene.

**Cuarto.-** Vista la incorporación al protocolo de los procedimientos añadidos en el apartado "6.5.1 Manejo y comunicación de reacciones adversas" con las cuestiones relativas a la definición y detección de acontecimientos adversos, y el anexo "7.F Comunicación online de acontecimientos adversos" con las cuestiones relativas a la comunicación de los mismos al órgano competente, se consideran subsanadas las últimas deficiencias advertidas por el Centro Autonómico de Farmacovigilancia. Por lo tanto, del examen y evaluación de la documentación aportada al expediente de referencia se infiere que cumple los requisitos y objetivos contenidos en la normativa de aplicación y que puede aportar información de interés, toda vez que no parece que este estudio pueda suponer ni una promoción del uso de medicamentos ni que vulnere los derechos de los pacientes de esta comunidad, por lo que es pertinente su realización.

En virtud de lo expuesto, y de conformidad con los antecedentes de hecho y fundamentos jurídicos que anteceden;

**RESUELVO**

**Primero.- AUTORIZAR** la realización del estudio titulado "Niveles de Biológicos y eficacia e inmunogenicidad del tratamiento para enfermedad inflamatoria intestinal" cuyo código es, DCS-INM-2014-01 en el Hospital Universitario De Gran Canaria Dr. Negrín.

**Segundo.- NOTIFICAR** la presente resolución a don Daniel Sebastián Ceballos Santos

**Tercero.-** Comunicar a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios la presente Resolución.

Contra la presente Resolución que no agota la vía administrativa cabe interponer recurso de alzada ante la Consejera de Sanidad en el plazo de un mes contado a partir del día siguiente al de su notificación y sin perjuicio de cualquier otro que pudiera interponerse.

En Santa Cruz de Tenerife,

**Juana María Reyes Melián**  
LA DIRECTORA DEL SERVICIO CANARIO DE LA SALUD



C/ Real del Castillo, 152  
Hospital Juan Carlos I  
35014 - Las Palmas de Gran Canaria  
Telf: 928 30 28 50

C/ Pérez de Rozas, 5 4ª Planta  
38003 - Santa Cruz de Tenerife  
Telf: 922 60 19 70

ES COPIA AUTÉNTICA DE DOCUMENTO PÚBLICO ADMINISTRATIVO ELECTRÓNICO	
Este documento ha sido firmado electrónicamente por:	
JUANA MARIA REYES MELIAN	Fecha: 17/09/2014 - 15:12:48
Este documento ha sido registrado electrónicamente:	
RESOLUCION - Nº: 2796 / 2014 - Tomo: 3 - Fecha: 18/09/2014 09:31:54	Fecha: 18/09/2014 - 09:31:54
En la dirección <a href="https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc">https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc</a> puede ser comprobada la autenticidad de esta copia, mediante el número de documento electrónico siguiente: 0bdWFPg7UJG04tXwoPI7T5dfq51RdaMDCy	
 	
La presente copia ha sido descargada el 18/09/2014 - 09:32:36	

## 8. CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN GERENCIA



Servicio  
Canario de la Salud

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE  
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN



Gobierno  
de Canarias

### CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO

---

Don **JOSE MIGUEL SANCHEZ HERNANDEZ** Director Gerente del **HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN**, al amparo de la Orden SAS/3470/2009 y vista la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica-Comité de Ética en la Investigación de este Hospital (**Acta 5/2014**).

**CERTIFICA:**

Que conoce la propuesta realizada por el promotor **Daniel S. Ceballos Santos** (Investigación Independiente), para que sea realizado en este centro el **estudio EPA-SP:**

**TÍTULO: "Niveles de Biológicos y Eficacia e Inmunogenicidad del tratamiento para Enfermedad Inflamatoria Intestinal"**

Código CEIC Negrín: 140138

Y que será realizado por el **Dr. Daniel S. Ceballos Santos**, del **Servicio de Digestivo** como investigador principal.

Que está de acuerdo con el contrato firmado entre el Centro y el Promotor en el que se especifican todos los aspectos económicos de este estudio EPA-SP.

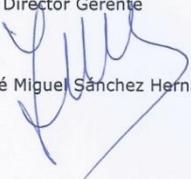
Que acepta la realización de dicho estudio EPA-SP en este Centro.

Lo que firma en Las Palmas de Gran Canaria, a 2 de junio de 2014.



El Director Gerente

Fdo: **D. José Miguel Sánchez Hernández**





EXCELENCIA  
EUROPEA

Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín  
**Comité Ético de Investigación Clínica CEIC/CEI**  
ceichugcdn.scs@gobiernodecanarias.org  
Barranco de la Ballena S/N  
35010 Las Palmas  
Tel: 928 44 90 71 FAX 928 44 98 05

## 9. CUESTIONARIO CDAI

CALCULO DEL CDAI	Días / Semana	Suma	Factor	Subtotal
Número de deposiciones líquidas o blandas			x 2	
Dolor abdominal (0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo)			x 5	
Bienestar general (0 = en general bueno; 1 = leve compromiso; 2 = malo; 3 = muy malo; 4 = muy terrible)			x 7	
Contar entre las 6 categorías listadas, las presentes actualmente				
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Artritis / Artralgias</li> <li>• Iritis / Uveitis</li> <li>• Eritema nodoso, pioderma gangrenoso, estomatitis aftosa</li> <li>• Fisura, fistula o absceso anal</li> <li>• Otra fistula</li> <li>• Fiebre &gt; de 37,8° C durante la semana previa</li> </ul>			x 20	
Necesidad de lomotil u opiáceos por diarrea (0 = no; 1 = si)			x 30	
Masa abdominal (0 = no; 2 = cuestionable; 5 = definida)			x 10	
Hematocrito (Hto) *Hombres = 47- Hto *Mujeres = 42- Hto			x 6	
Sumar o restar el porcentaje de peso ganado / perdido respectivamente, en relación a peso estándar			x 1	

## 10. CUESTIONARIO HARVEY-BRADSHAW

---

Bienestar General

(0 = en general bueno; 1 = leve compromiso;  
2 = moderado; 3 = malo; 4 = terrible)

---

Dolor abdominal

(0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo)

---

Número de deposiciones blandas o líquidas por día

Masa abdominal

(0 = ausente; 1 = cuestionable; 2 = definida)

---

Complicaciones (1 punto por ítem)

Artralgia, uveítis, eritema nodoso, úlceras aftoides, pioderma gangrenoso, fisura anal, fístula nueva, absceso

---

## 11. CUESTIONARIO TRUELOVE-WITTS

Índice de Truelove-Witts modificado

Variable	3 puntos	2 puntos	1 punto
<i>Número de deposiciones</i>	> 6	4-6	< 4
<i>Sangre en las deposiciones</i>	++/+++	+	-
<i>Hemoglobina (g/l)</i>			
Hombre	< 10	10-14	> 14
Mujer	< 10	10-12	> 12
<i>Albúmina (g/l)</i>	< 30	30-32	> 32
<i>Fiebre (°C)</i>	> 38	37-38	< 37
<i>Taquicardia (lat./min)</i>	> 100	80-100	< 80
<i>VSG</i>	> 30	15-30	< 15
<i>Leucocitos (× 1.000)</i>	> 13	10-13	< 10
<i>Potasio (mEq/l)</i>	< 3	3-3,8	> 3,8
<i>Valoración del índice:</i>			
Inactivo: < 11			
Brote leve: 11-15			
Brote moderado: 16-21			
Brote grave: 22-27			

## 12. CUESTIONARIO MAYO

### Índice de Mayo

Parámetro	Puntos	Subtotal		
<b>1. Frecuencia de deposiciones</b>		= . . . . .		
Normal para el paciente	0			
1-2 más que lo habitual	1			
3-4 más que lo habitual	2			
> 5 más de lo habitual	3			
<b>2. Hemorragia rectal</b>		= . . . . .		
Ninguna	0			
Algunas trazas de sangre	1			
Sangre evidente en la mayoría de las deposiciones	2			
Solo sangre	3			
<b>3. Hallazgos sigmoidoscópicos</b>		= . . . . .		
Normal o enfermedad	0			
Eritema, leve friabilidad	1			
Eritema marcado, friabilidad evidente	2			
Hemorragia espontánea	3			
<b>4. Evaluación global del médico</b>				
Normal	0			
Enfermedad leve	1			
Enfermedad moderada	2			
Enfermedad grave	3			
<b>Valoración global del índice de Mayo</b>	<b>Síntomas</b>	<b>Endoscopia</b>	<b>Médico</b>	<b>Suma total</b>
Leve	1-3	1	1	3 a 5
Moderado	3-6	1-2	2	6 a 10
Grave	> 6	> 2	3	> 10

### 13. CUESTIONARIO MORISKY-GREEN-LEVINE

<b>Pregunta</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
¿Se olvida alguna vez de tomar los medicamentos?		
¿Toma los medicamentos a la hora indicada?		
Cuando se encuentra bien, ¿deja alguna vez de tomarlos?		
Si alguna vez se siente mal, ¿deja de tomar la medicación?		

*El paciente es adherente al tratamiento si contesta a las 4 preguntas SI y el paciente no es adherente al tratamiento si contesta a 1 ó más preguntas NO.*





## XII. BIBLIOGRAFÍA



## 1. REFERENCIAS GENERALES

- Murphy K, Travers P, Walport M (eds.). "Inmunobiología de Janeway" (7<sup>th</sup> ed.). ISBN: 978-970-10-7347-6.
- Gasull MA, Gomollón F, Hinojosa J, Obrador A (eds.). "Enfermedad Inflamatoria Intestinal" (3<sup>a</sup> ed.). ISBN: 978-84-86725-98-3.
- Gomollón F (ed.). "Tratado de terapéutica en Enfermedad Inflamatoria Intestinal" (1<sup>a</sup> ed.). ISBN: 978-84-940238-3-5.
- Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (eds.) "Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal Disease and Liver Disease" (7<sup>th</sup> ed.). ISBN: 950-06-5087-8.
- García Paredes J, Taxonera Samsó C, Peña AS (eds.). "Avances en el manejo de la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa" (1<sup>a</sup> ed.). ISBN: 84-95913-92-5.
- Gomollón F, García S (aut.) "Evidencia científica en colitis ulcerosa" (1<sup>a</sup> ed.). ISBN: 84-689-7461-7.
- Asociación Galega de Investigación na Enfermidade Inflamatoria Intestinal (ed.). "Terapias Biológicas en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal" (1<sup>a</sup> ed.). ISBN: 978-84-96881-89-1.
- Hinojosa J, Gomollón F, Navas V (eds.). "Avances en colitis ulcerosa" (1<sup>a</sup> ed.). ISBN: 978-84-96921-99-3.
- Farreras P, Rozman C, Castillo R, Estapé J, Foz M, Lience E et al (eds.). "Medicina Interna" (13<sup>a</sup> ed.). ISBN: 84-8174-106-10.
- Ternant D, Bejan-Angoulvant T, Passot C, Mulleman D, Paintaud G. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Monoclonal Antibodies Approved to Treat Rheumatoid Arthritis. *Clin Pharmacokinet.* 2015 Jun 28.

## 2. REFERENCIAS ESPECÍFICAS

- 
- <sup>1</sup> Stange EF, Travis SP, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut.* 2006 Mar;55 Suppl 1:i1-15.
- <sup>2</sup> Morahan G, Morel L. Genetics of autoimmune diseases in humans and in animal models. *Curr Opin Immunol.* 2002 Dec;14(6):803-11.
- <sup>3</sup> Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Jun-Aug;14(3-4):185-91.
- <sup>4</sup> Gisbert JP, Panés J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: a review. *Am J Gastroenterol* 2009 Mar;104(3):760-7.
- <sup>5</sup> Talley NJ, Abreu MT, Achkar JP, Bernstein CN, Dubinsky MC, Hanauer SB, et al. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* Apr 2011;106(Suppl 1):S2–S25
- <sup>6</sup> Hanauer SB, Wagner CL, Bala M, Mayer L, Travers S, Diamond RH, et al. Incidence and importance of antibody responses to infliximab after maintenance or episodic treatment in Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* Jul 2004;2(7):542–53.

- 
- <sup>7</sup> Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, et al. Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. *N Engl J Med* Feb 26 2004;350(9): 876–85.
  - <sup>8</sup> Ungar B, Chowers Y, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Har-Noy O, Kopylov U, Eliakim R, Ben-Horin S; on behalf of ABIRISK consortium. The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut*. 2013 Sep 16.
  - <sup>9</sup> Ben-Horin S, Yavzori M, Katz L, Kopylov U, Picard O, Fudim E, et al. The immunogenic part of infliximab is the F(ab')<sub>2</sub>, but measuring antibodies to the intact infliximab molecule is more clinically useful. *Gut* Jan 2011;60(1):41–8.
  - <sup>10</sup> Imaeda H, Andoh A, Fujiyama Y. Development of a new immunoassay for the accurate determination of anti-infliximab antibodies in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* Feb 2012;47(2):136–43.
  - <sup>11</sup> Pariente B, Pineton de Chambrun G, Krzysiek R, Desroches M, Louis G, De Cassan C, et al. Trough levels and antibodies to infliximab may not predict response to intensification of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* Jul 2012;18(7):1199–206.
  - <sup>12</sup> Maser EA, Villela R, Silverberg MS, Greenberg GR. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* Oct 2006;4(10):1248–54.
  - <sup>13</sup> Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* Jan 2010;59(1):49–54.
  - <sup>14</sup> Van de 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* Feb 19 2013;108:962–71.
  - <sup>15</sup> Ben-Horin S, Waterman M, Kopylov U, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Awadie H, Weiss B, Chowers Y. Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Apr;11(4):444-7.
  - <sup>16</sup> Steenholdt C, Palarasah Y, Bendtzen K, Teisner A, Brynskov J, Teisner B, Nielsen CH. Pre-existing IgG antibodies cross-reacting with the Fab region of infliximab predict efficacy and safety of infliximab therapy in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jun;37(12):1172-83.
  - <sup>17</sup> Colombel JF, Feagan BG, Sandborn WJ, Van Assche G, Robinson AM. Therapeutic drug monitoring of biologics for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* Feb 2012;18(2):349–58.
  - <sup>18</sup> Steenholdt C., Brynskov J., Thomsen O., Munck L., Fallingborg J., Christensen L. et al. Secondary infliximab treatment failure in Crohn's disease: therapeutic implications of measuring drug and anti-drug antibodies by three different binding assays. *J Crohn Colitis* 2013; 7: S159.
  - <sup>19</sup> Farrell RJ, Alsahli M, Jeen YT, Falchuk KR, Peppercorn MA, Michetti P. Intravenous hydrocortisone premedication reduces antibodies to infliximab in Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2003 Apr;124(4):917-24.
  - <sup>20</sup> 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* Jan 2013;108(1):40–7.

- 
- <sup>21</sup> Maneiro JR, Salgado E, Gomez-Reino JJ. Immunogenicity of monoclonal antibodies against tumor necrosis factor used in chronic immune-mediated inflammatory conditions: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 2013 Aug 12;173(15):1416-28.
- <sup>22</sup> Ghetie V, Ward ES. Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRn. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:739-66.
- <sup>23</sup> Louis E, El Ghoul Z, Vermeire S, Dall'Ozzo S, Rutgeerts P, Paintaud G, Belaiche J, De Vos M, Van Gossum A, Colombel JF, Watier H. Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 Mar 1;19(5):511-9.
- <sup>24</sup> Ordás I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ. Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin Pharmacol Ther* Apr 2012;91(4):635-46.
- <sup>25</sup> Chiu YL, Rubin DT, Vermeire S, Louis E, Robinson AM, Lomax KG, Pollack PF, Paulson SK. Serum adalimumab concentration and clinical remission in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 May;19(6):1112-22.
- <sup>26</sup> Afif W, Loftus Jr EV, Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson K, et al. Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* May 2010;105(5): 1133-9.
- <sup>27</sup> Louis E, Mary JY, Vernier-Massouille G, Grimaud JC, Bouhnik Y, Laharie D, et al. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology* Jan 2012;142(1):63-70.
- <sup>28</sup> Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care.* 1986 Jan;24(1):67-74.
- <sup>29</sup> Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OO, Munck LK, Fallingborg J, Christensen LA et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomised, controlled trial. *Gut.* 2013 Jul 22.
- <sup>30</sup> Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Review article: altering the natural history of Crohn's disease — evidence for and against current therapies. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 3-12.
- <sup>31</sup> Hanauer SB. Crohn's disease: step up or top down therapy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 131-7.
- <sup>32</sup> Schwartz DA, White CM, Wise PE, Herline AJ. Use of endoscopic ultrasound to guide combination medical and surgical therapy for patients with Crohn's perianal fistulas. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 727-73.
- <sup>33</sup> D'Haens G, Baert F, van Assche G, Caenepeel P, Vergauwe P, Tuynman H, et al. Early combined immunosuppression or conventional management in patients with newly diagnosed Crohn's disease: an open randomized trial. *Lancet* 2008; 371: 660-7.
- <sup>34</sup> Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 650-6.
- <sup>35</sup> Bodger K. Economic implications of biological therapies for Crohn's disease: review of infliximab. *Pharmacoeconomics* 2005; 23: 875-88.
- <sup>36</sup> Hornef MW, Wick MJ, Rhen M, Normark S. Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol.* 2002 Nov;3(11):1033-40.
- <sup>37</sup> Marrack P, Kappler J. Subversion of the immune system by pathogens. *Cell.* 1994 Jan 28;76(2):323-32.

- 
- <sup>38</sup> Selsted ME, Ouellette AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol*. 2005 Jun;6(6):551-7.
- <sup>39</sup> Beutler B, Rietschel ET. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nat Rev Immunol*. 2003 Feb;3(2):169-76.
- <sup>40</sup> Cheroutre H. Starting at the beginning: new perspectives on the biology of mucosal T cells. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:217-46.
- <sup>41</sup> Irvine DJ, Purbhoo MA, Krogsgaard M, Davis MM. Direct observation of ligand recognition by T cells. *Nature*. 2002 Oct 24;419(6909):845-9.
- <sup>42</sup> Waldmann TA. The arrangement of immunoglobulin and T cell receptor genes in human lymphoproliferative disorders. *Adv Immunol*. 1987;40:247-321.
- <sup>43</sup> Hennecke J, Wiley DC. T cell receptor-MHC interactions up close. *Cell*. 2001 Jan 12;104(1):1-4.
- <sup>44</sup> Al-Lazikani B, Lesk AM, Chothia C. Canonical structures for the hypervariable regions of T cell alphabeta receptors. *J Mol Biol*. 2000 Jan 28;295(4):979-95.
- <sup>45</sup> Ehlers MR. CR3: a general purpose adhesion-recognition receptor essential for innate immunity. *Microbes Infect*. 2000 Mar;2(3):289-94.
- <sup>46</sup> Kassiotis G, Garcia S, Simpson E, Stockinger B. Impairment of immunological memory in the absence of MHC despite survival of memory T cells. *Nat Immunol*. 2002 Mar;3(3):244-50.
- <sup>47</sup> Berek C, Jarvis JM, Milstein C. Activation of memory and virgin B cell clones in hyperimmune animals. *Eur J Immunol*. 1987 Aug;17(8):1121-9.
- <sup>48</sup> Mebius RE. Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol*. 2003 Apr;3(4):292-303.
- <sup>49</sup> Tseng SY, Dustin ML. T-cell activation: a multidimensional signaling network. *Curr Opin Cell Biol*. 2002 Oct;14(5):575-80.
- <sup>50</sup> Kishimoto H, Sprent J. Negative selection in the thymus includes semimature T cells. *J Exp Med*. 1997 Jan 20;185(2):263-71.
- <sup>51</sup> Schwartz RH. T cell anergy. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:305-34.
- <sup>52</sup> Goodnow CC. Balancing immunity and tolerance: deleting and tuning lymphocyte repertoires. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996 Mar 19;93(6):2264-71.
- <sup>53</sup> Morel L, Rudofsky UH, Longmate JA, Schiffenbauer J, Wakeland EK. Polygenic control of susceptibility to murine systemic lupus erythematosus. *Immunity*. 1994 Jun;1(3):219-29.
- <sup>54</sup> Klareskog L, Padyukov L, Rönnelid J, Alfredsson L. Genes, environment and immunity in the development of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Immunol*. 2006 Dec;18(6):650-5.
- <sup>55</sup> Gregersen PK. Pathways to gene identification in rheumatoid arthritis: PTPN22 and beyond. *Immunol Rev*. 2005 Apr;204:74-86.
- <sup>56</sup> Wakeland EK, Liu K, Graham RR, Behrens TW. Delineating the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Immunity*. 2001 Sep;15(3):397-408.
- <sup>57</sup> Green EA, Flavell RA. The initiation of autoimmune diabetes. *Curr Opin Immunol*. 1999 Dec;11(6):663-9.
- <sup>58</sup> Whitacre CC, Reingold SC, O'Looney PA. A gender gap in autoimmunity. *Science*. 1999 Feb 26;283(5406):1277-8.
- <sup>59</sup> Bach JF. Infections and autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2005;25 Suppl:74-80.
- <sup>60</sup> Macphail S. Superantigens: mechanisms by which they may induce, exacerbate and control autoimmune diseases. *Int Rev Immunol*. 1999;18(1-2):141-80.

- 
- <sup>61</sup> Alouf JE, Müller-Alouf H. Staphylococcal and streptococcal superantigens: molecular, biological and clinical aspects. *Int J Med Microbiol*. 2003 Feb;292(7-8):429-40.
- <sup>62</sup> Rose NR. Infection, mimics, and autoimmune disease. *J Clin Invest*. 2001 Apr;107(8):943-4.
- <sup>63</sup> Tan EM. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol*. 1989;44:93-151.
- <sup>64</sup> Hensler T, Köller M, Alouf JE, König W. Bacterial toxins induce heat shock proteins in human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Sep 16;179(2):872-9.
- <sup>65</sup> Huang C, Yu H, Wang Q, Ma W, Xia D, Yi P et al. Potent antitumor effect elicited by superantigen-linked tumor cells transduced with heat shock protein 70 gene. *Cancer Sci*. 2004 Feb;95(2):160-7.
- <sup>66</sup> Klausz G, Molnár T, Nagy F, Gyulai Z, Boda K, Lonovics J et al. Polymorphism of the heat-shock protein gene Hsp70-2, but not polymorphisms of the IL-10 and CD14 genes, is associated with the outcome of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol*. 2005 Oct;40(10):1197-204.
- <sup>67</sup> Yoshida S, Gershwin ME. Autoimmunity and selected environmental factors of disease induction. *Semin Arthritis Rheum*. 1993 Jun;22(6):399-419.
- <sup>68</sup> Dorn RE. An overview of immune hemolytic anemias. *Cleve Clin J Med*. 1998 Feb;65(2):89-99.
- <sup>69</sup> Fanning LJ, Connor AM, Wu GE. Development of the immunoglobulin repertoire. *Clin Immunol Immunopathol*. 1996 Apr;79(1):1-14.
- <sup>70</sup> Poljak RJ. Structure of antibodies and their complexes with antigens. *Mol Immunol*. 1991 Dec;28(12):1341-5.
- <sup>71</sup> Edelman GM. Antibody structure and molecular immunology. *Scand J Immunol*. 1991 Jul;34(1):1-22.
- <sup>72</sup> Saphire EO, Stanfield RL, Crispin MD, Parren PW, Rudd PM, Dwek RA et al. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry and flexibility. *J Mol Biol*. 2002 May 24;319(1):9-18.
- <sup>73</sup> Davies DR, Metzger H. Structural basis of antibody function. *Annu Rev Immunol*. 1983;1:87-117.
- <sup>74</sup> Porter RR. Structural studies of immunoglobulins. *Scand J Immunol*. 1991 Oct;34(4):381-9.
- <sup>75</sup> Han W, Mou J, Sheng J, Yang J, Shao Z. Cryo atomic force microscopy: a new approach for biological imaging at high resolution. *Biochemistry*. 1995 Jul 4;34(26):8215-20.
- <sup>76</sup> Chitarra V, Alzari PM, Bentley GA, Bhat TN, Eiselé JL, Houdusse A et al. Three-dimensional structure of a heteroclitic antigen-antibody cross-reaction complex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993 Aug 15;90(16):7711-5.
- <sup>77</sup> Jefferis R, Lund J, Goodall M. Recognition sites on human IgG for Fc gamma receptors: the role of glycosylation. *Immunol Lett*. 1995 Jan;44(2-3):111-7.
- <sup>78</sup> Ban N, Day J, Wang X, Ferrone S, McPherson A. Crystal structure of an anti-anti-idiotypic shows it to be self-complementary. *J Mol Biol*. 1996 Feb 2;255(4):617-27.
- <sup>79</sup> Padlan EA. Anatomy of the antibody molecule. *Mol Immunol*. 1994 Feb;31(3):169-217.
- <sup>80</sup> Davies DR, Cohen GH. Interactions of protein antigens with antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996 Jan 9;93(1):7-12.
- <sup>81</sup> Braden BC, Poljak RJ. Structural features of the reactions between antibodies and protein antigens. *FASEB J*. 1995 Jan;9(1):9-16.
- <sup>82</sup> Sensel MG, Kane LM, Morrison SL. Amino acid differences in the N-terminus of C(H)2 influence the relative abilities of IgG2 and IgG3 to activate complement. *Mol Immunol*. 1997 Oct;34(14):1019-29.

- 
- <sup>83</sup> Ravetch JV, Clynes RA. Divergent roles for Fc receptors and complement in vivo. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:421-32.
- <sup>84</sup> Shibuya A, Sakamoto N, Shimizu Y, Shibuya K, Osawa M, Hiroyama T et al. Fc alpha/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes. *Nat Immunol.* 2000 Nov;1(5):441-6.
- <sup>85</sup> Sulica A, Morel P, Metes D, Herberman RB. Ig-binding receptors on human NK cells as effector and regulatory surface molecules. *Int Rev Immunol.* 2001 Jun;20(3-4):371-414.
- <sup>86</sup> Plotz PH. The autoantibody repertoire: searching for order. *Nat Rev Immunol.* 2003 Jan;3(1):73-8.
- <sup>87</sup> Helm BA, Sayers I, Higginbottom A, Machado DC, Ling Y, Ahmad K et al. Identification of the high affinity receptor binding region in human immunoglobulin E. *J Biol Chem.* 1996 Mar 29;271(13):7494-500.
- <sup>88</sup> Clark MR. IgG effector mechanisms. *Chem Immunol.* 1997;65:88-110.
- <sup>89</sup> MacDonald TT. The mucosal immune system. *Parasite Immunol.* 2003 May;25(5):235-46.
- <sup>90</sup> Lamm ME. Current concepts in mucosal immunity. IV. How epithelial transport of IgA antibodies relates to host defense. *Am J Physiol.* 1998 Apr;274(4 Pt 1):G614-7.
- <sup>91</sup> Niles MJ, Matsuuchi L, Koshland ME. Polymer IgM assembly and secretion in lymphoid and nonlymphoid cell lines: evidence that J chain is required for pentamer IgM synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 Mar 28;92(7):2884-8.
- <sup>92</sup> Fagarasan S. Intestinal IgA synthesis: a primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006;308:137-53.
- <sup>93</sup> Campbell RD, Law SK, Reid KB, Sim RB. Structure, organization, and regulation of the complement genes. *Ann Rev Immunol.* 1988;6:161-95.
- <sup>94</sup> Tomlinson S. Complement defense mechanisms. *Curr Opin Immunol.* 1993 Feb;5(1):83-9.
- <sup>95</sup> Frank MM, Fries LF. The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol Today.* 1991 Sep;12(9):322-6.
- <sup>96</sup> Müller-Eberhard HJ. Molecular organization and function of the complement system. *Ann Rev Biochem.* 1988;57:321-47.
- <sup>97</sup> Liszewski MK, Farries TC, Lublin DM, Rooney IA, Atkinson JP. Control of the complement system. *Adv Immunol.* 1996;61:201-83.
- <sup>98</sup> Cooper NR. The classical complement pathway: activation and regulation of the first complement component. *Adv Immunol.* 1985;37:151-216.
- <sup>99</sup> Xu Y, Narayana SV, Volanakis JE. Structural biology of the alternative pathway convertase. *Immunol Rev.* 2001 Apr;180:123-35.
- <sup>100</sup> Smith GP, Smith RA. Membrane-targeted complement inhibitors. *Mol Immunol.* 2001 Aug;38(2-3):249-55.
- <sup>101</sup> Köhl J. Anaphylatoxins and infectious and non-infectious inflammatory diseases. *Mol Immunol.* 2001 Aug;38(2-3):175-87.
- <sup>102</sup> Spiller OB, Criado-García O, Rodríguez De Córdoba S, Morgan BP. Cytokine-mediated up-regulation of CD55 and CD59 protects human hepatoma cells from complement attack. *Clin Exp Immunol.* 2000 Aug;121(2):234-41.
- <sup>103</sup> Rawal N, Pangburn MK. Structure/function of C5 convertases of complement. *Int Immunopharmacol.* 2001 Mar;1(3):415-22.
- <sup>104</sup> Bhakdi S, Trantum-Jensen J. Complement lysis: a hole is a hole. *Immunol Today.* 1991 Sep;12(9):318-20.
- <sup>105</sup> Schifferli JA, Ng YC, Peters DK. The role of complement and its receptor in the elimination of immune complexes. *N Engl J Med.* 1986 Aug 21;315(8):488-95.

- 
- <sup>106</sup> Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature*. 1995 Oct 19;377(6550):591-4.
- <sup>107</sup> Wong MM, Fish EN. Chemokines: attractive mediators of the immune response. *Semin Immunol*. 2003 Feb;15(1):5-14.
- <sup>108</sup> Boulay JL, O'Shea JJ, Paul WE. Molecular phylogeny within type I cytokines and their cognate receptors. *Immunity*. 2003 Aug;19(2):159-63.
- <sup>109</sup> Proudfoot AE. Chemokine receptors: multifaceted therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. 2002 Feb;2(2):106-15.
- <sup>110</sup> Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005 Mar 25;307(5717):1915-20.
- <sup>111</sup> Strobel S, Mowat AM. Oral tolerance and allergic responses to food proteins. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2006 Jun;6(3):207-13.
- <sup>112</sup> Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr*. 1999 May;69(5):1046S-1051S.
- <sup>113</sup> Fanaro S, Chierci R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal Microflora in early infancy: Composition and development. *Acta Paediatr* 2003; 91 (Supl.): 48-55.
- <sup>114</sup> Martin R, Lanja S, Refriego C, Jimenez E, Marin ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003; 143: 754-8.
- <sup>115</sup> Laglands SJ, Hopkins MJ, Coleman N, Cummings JH. Prebiotic carbohydrates modify the mucosa associated microflora of the human large bowel. *Gut* 2004; 53: 1610-6.
- <sup>116</sup> Kolida S, Tuohy K, Gibson GR. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *Br J Nutr* 2002; (Supl. 2): S193-7.
- <sup>117</sup> Kolida S, Meyer D, Gibson GR. A double blind placebo controlled study to establish the bifidogenic dose of insulin in healthy humans. *Eur J Clin Nutr* 2007 Oct;61(10):1189-95.
- <sup>118</sup> Inan MS, Rasoulpour RJ, Yin L, Hubbard AK, Rosenberg DW, Giardina C. The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF-kappaB activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology* 2000; 118: 724-34.
- <sup>119</sup> Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ, Gobin P, Al-Hassi HO, Raymewnt N, et al. Clinical, microbiological and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut* 2006; 55: 348-55.
- <sup>120</sup> Welters CF, Heineman E, Thunninssen FB, van den Bogaard AE, Soeters PB, Beaten CO. Effect of dietary inulin supplementation on inflammation of pouch mucosa in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 621-7.
- <sup>121</sup> Segain JP, Raingeard de la Bletiere D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C, et al. Butyrate inhibits inflammatory responses through NK kappaB inhibition: Implications for Crohn's disease. *Gut* 2000; 46: 507-14.
- <sup>122</sup> Ewaschuk JB, Walker JW, Diaz H, Madsen KL. Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs in vitro and in vivo mice. *J Nutr* 2006; 136: 1438-78.
- <sup>123</sup> Sansonetti PJ, Di Santo JP. Debugging how bacteria manipulate the immune response. *Immunity*. 2007 Feb;26(2):149-61.
- <sup>124</sup> Sharma R, Schumacher U, Ronaasen V, Coates M. Rat intestinal mucosal responses to a microbial microflora and different diets. *Gut* 1995; 36: 209-14.
- <sup>125</sup> Maeda Y, Noda S, Tanaka S, Sawamura S, Aiba Y, Ishikawa H, et al. The failure of oral tolerance induction is functionally coupled to the absence of T cells in Peyer's patches under germ-free conditions. *Immunobiology* 2001; 204: 442-57.
- <sup>126</sup> Szentkuti L, Riedsel H, Enns ML, Gaertner K, Von Engelhardt W. Pre-epithelial mucus layer in the colon in the conventional and germ-free rats. *Histochem J* 1990; 22: 491-7.

- 
- <sup>127</sup> Barton GM, Medzhitov R. Toll-like receptors and their ligands. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2002;270:81-92.
- <sup>128</sup> Inohara N, Chamaillard M, McDonald C, Nuñez G. NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu Rev Biochem*. 2005;74:355-83.
- <sup>129</sup> Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 135-45.
- <sup>130</sup> Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005; 122: 107-18.
- <sup>131</sup> Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, Belisle JT, Bleharski JR et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science*. 1999 Jul 30;285(5428):732-6.
- <sup>132</sup> Sansonetti P. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol* 2004; 953-64.
- <sup>133</sup> Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, Avogadri F, Sonzogni A, Sampietro GM et al. Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nat Immunol*. 2015 Mar;16(3):326
- <sup>134</sup> Williamson SI, Wannemuehler MJ, Jirillo E, Pritchard DG, Michalek SM, McGhee JR. LPS regulation of the immune response: Separate mechanisms for murine B cell activation by lipid A (direct) and polysaccharide (macrophage-dependent) derived from *Bacteroides* LPS. *J Immunol* 1984; 133: 2294-300.
- <sup>135</sup> Bamias G, Nyce MR, De La Rue SA, Cominelli F New concepts in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Ann Int Med* 2005; 143: 895-904.
- <sup>136</sup> Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S, D'Haens G, Baert F, Noman M, et al. Ornidazole for prophylaxis of postoperative Crohn's disease recurrence: A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2005; 128: 856-61.
- <sup>137</sup> Rutgeerts P, Geboes K, Peeters M, Hiele M, Penninckx F, Aerts R, et al. Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum. *Lancet* 1991; 338: 771-4.
- <sup>138</sup> D'Haens G, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology* 1998; 114: 262-7.
- <sup>139</sup> Sellon RK, Tonkonogy S, Shultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E, et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10 deficient mice. *Infect Immun* 1998; 66: 5224-31.
- <sup>140</sup> Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Aho M, Fernandez-Sueiro JL, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994; 180: 2359-64.
- <sup>141</sup> Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev*. 2005 Aug;206:260-76.
- <sup>142</sup> Seksik P, Rigottier-Lois L, Gramet G, Sutren M, Pochard P, Marteau P, et al. Alterations of the dominant faecal bacteria groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Out* 2003; 52: 237-42.
- <sup>143</sup> Rescigno M, Nieuwenhuis EE. The role of altered microbial signaling via mutant NODs in intestinal inflammation. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007 Jan;23(1):21-6.
- <sup>144</sup> Gassull MA. The intestinal lumen as therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; (Supl. 3): 90-5.

- 
- <sup>145</sup> Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez O et al. Nod2-dependant regulation of innate and adaptative immune systemic the intestinal tract. *Science* 2005; 307: 731-4.
- <sup>146</sup> Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Shaffeler E, Schelee M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004; 53: 1658-64.
- <sup>147</sup> Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Disease activity courses in a regional cohort of Crohn's disease patients. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 699-706.
- <sup>148</sup> Goldberg PA, Wright JP, Gerber M, Claassen R. Incidence of surgical resection for Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1993; 36: 736-9.
- <sup>149</sup> Travis SPL, Stange EF, Lemann M, Oresland T, Chowers Y, Forbes A, et al for the European Crohn's and Colitis Organization (ECCO). *Gut* 2006; 55(Supl. 1): 16-135.
- <sup>150</sup> American Gastroenterological Association medical position statement: perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1503.
- <sup>151</sup> Plevy SE, Landers CS, Prehn J, Carramanzana NM, Deem RL, Shealy D, et al. A role for TNF alpha and mucosal T helper-1 cytokines in the pathogenesis of Crohn's disease. *J Immunol* 1997; 159: 6276-82.
- <sup>152</sup> D'Haens G, Van Deventer S, Van Hogezaand R, Chalmers D, Khote C, Baert F, et al. Endoscopic and histological healing with infliximab anti-tumor necrosis factor antibodies in Crohn's disease: A European multicenter trial. *Gastroenterology* 1999; 116(5): 1029-34.
- <sup>153</sup> Lichtenstein GR, Abreu MT, Cohen R, Tremaine W; American Gastroenterological Association Institute medical position statement on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2006; 130(3): 935-9.
- <sup>154</sup> Targan SR, Hanauer SB, Van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337(15): 1029-35.
- <sup>155</sup> Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomized trial. *Lancet* 2002; 359: 1541-9.
- <sup>156</sup> Present DH, Korelitz BI, Wisch N, Glass JL, Sachar DB, Pasternack BS. Treatment of Crohn's disease with 6-mercaptopurine. A long-term, randomized, double-blind study. *N Engl J Med* 1980; 302: 981-7.
- <sup>157</sup> Schwartz DA, Pemberton JH, Sandborn WJ. Diagnosis and treatment of perianal fistulas in Crohn disease. *Ann Intern Med* 2001; 135: 906-18.
- <sup>158</sup> Lichtenstein GR. Treatment of fistulizing Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 1132-47.
- <sup>159</sup> 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: 1398-405.
- <sup>160</sup> Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, et al. Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 876-85.
- <sup>161</sup> Regueiro M, Mardini H. Treatment of perianal fistulizing Crohn's disease with infliximab alone or as an adjunct to exam under anesthesia with seton placement. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 98-103.
- <sup>162</sup> Van Assche G, Vanbeckevoort D, Bielen D, Coremans G, Aerden I, Noman M, et al. Magnetic resonance imaging of the effects of infliximab on perianal fistulizing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 332-9.

- 
- <sup>163</sup> Spradlin N, Wise P, Herline A, Muldoon R, Schwartz DA. A randomized prospective trial of endoscopic ultrasound (EUS) to guide combination medical and surgical treatment for Crohn's perianal fistulas. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: S479.
- <sup>164</sup> Parsi MA, Achkar JP, Richardson S, Katz J, Hammel JP, Lashner BA, et al. Predictors of response to infliximab in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 707-13.
- <sup>165</sup> Vermeire S, Louis E, Carbonez A, Van Assche A, Noman G, Belaiche M, et al. Demographic and clinical parameters influencing the short-term outcome of anti-tumor necrosis factor (infliximab) treatment in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2357-63.
- <sup>166</sup> Weinberg AM, Rattan S, Lewis JD, Su C, Katzka DA, Deren J, et al. Strictures and response to infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: A182.
- <sup>167</sup> Nikolaus S, Raedler A, Kilhbacker T, Sfikas N, Folsch UR, Schreiber S. Mechanisms in failure of infliximab for Crohn's disease. *Lancet* 2000; 356: 1475-9.
- <sup>168</sup> Martinez-Borra J, Lopez-Larrea C, Gonzalez S, Fuentes D, Dieguez A, Deschamps EM, et al. High serum tumor necrosis factor-alpha levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2350-6.
- <sup>169</sup> Menachem Y, Avidan B, Lavy A, Lang A, Bardan E, Fidler H, et al. Increasing the infliximab dose is beneficial in Crohn's disease patients who responded to a lower dose and relapsed. *Digestion* 2005; 72: 124-8.
- <sup>170</sup> Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-13.
- <sup>171</sup> Kaplan GG, Hur C, Korzenik J, Sands BE. Infliximab dose escalation vs. initiation of adalimumab for loss of response in Crohn's disease: a cost-effectiveness analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1509-20.
- <sup>172</sup> Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-29.
- <sup>173</sup> Gomollón F, García-López S, Sicilia B, Gisbert JP, Hinojosa J. Therapeutic guidelines on ulcerative colitis: a GRADE methodology based effort of GETECCU. *Gastroenterol Hepatol*. 2013 Oct;36(8):e1-47.
- <sup>174</sup> Sanchez-Muñoz F, Dominguez-Lopez A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4280-8.
- <sup>175</sup> Monteleone G, Fina D, Caruso R, Pallone F. New mediators of immunity and inflammation in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 361-4.
- <sup>176</sup> Danese S. Mechanisms of action of infliximab in inflammatory bowel disease: an anti-inflammatory multitasker. *Dig Liver Dis* 2008; 40(Suppl. 2): S225-8.
- <sup>177</sup> Blam ME, Stein RB, Lichtenstein GR. Integrating anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease: current and future perspectives. *Am J Gastroenterol* 2001;96: 1977-97.
- <sup>178</sup> Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, et al. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med* 1994; 330: 1841-5.
- <sup>179</sup> Garcia-Lopez S, Gomollon-Garcia F, Perez-Gisbert J. Cyclosporine in the treatment of severe attack of ulcerative colitis: a systematic review. *Gastroenterol Hepatol* 2005; 28: 607-14.
- <sup>180</sup> Shibolet O, Regushevskaya E, Brezis M, Soares-Weiser K. Cyclosporine A for induction of remission in severe ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 1: CD004277.
- <sup>181</sup> Sands BE, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Rutgeerts PJ, Hanauer SB, Mayer L, et al. Infliximab in the treatment of severe, steroid-refractory ulcerative colitis: a pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7: 83-8.

- 
- <sup>182</sup> Kohn A, Prantera C, Pera A, Cosentino R, Sostegni R, Daperno M. Anti-tumour necrosis factor alpha (infliximab) in the treatment of severe ulcerative colitis: result of an open study on 13 patients. *Dig Liver Dis* 2002; 34(9): 626-30.
- <sup>183</sup> Actis GC, Bruno M, Pinna-Pintor M, Rossini FP, Rizzetto M. Infliximab for treatment of steroid-refractory ulcerative colitis. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 631-4.
- <sup>184</sup> Su C, Salzberg BA, Lewis JD, Deren JJ, Kornbluth A, Katzka DA, et al. Efficacy of antitumor necrosis factor therapy in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2002;97: 2577-84.
- <sup>185</sup> Kaser A, Mairinger T, Vogel W, Tilg H. Infliximab in severe steroid-refractory ulcerative colitis: a pilot study. *Wien KI in Wochenschr* 2001; 113: 930-3.
- <sup>186</sup> Chey WY, Hussain A, Ryan C, Potter GD, Shah A. Infliximab for refractory ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2373-81.
- <sup>187</sup> Probert CS, Hearing SD, Schreiber S, Kijhbacher T, Ghosh S, Arnott ID, et al. Infliximab in moderately severe glucocorticoid resistant ulcerative colitis: a randomised controlled trial. *Gut* 2003; 52: 998-1002.
- <sup>188</sup> Jarnerot G, Hertervig E, Friis-Liby I, Blomquist L, Kaden P, Granno C, et al. Infliximab as rescue therapy in severe to moderately severe ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled study. *Gastroenterology*. 2005; 128: 1805-11.
- <sup>189</sup> D'Haens G. Infliximab for ulcerative colitis: finally some answers. *Gastroenterology* 2005; 128: 2161-4.
- <sup>190</sup> Gustavsson A, Jarnerot G, Hertervig E, Friis-Liby I, Blomquist L, Kaden P, et al. A 2-year follow-up study of the Swedish-Danish infliximab trial in steroid resistant acute ulcerative colitis [abstract]. *Gastroenterology*. 2007; 132(Supl. 2).
- <sup>191</sup> Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2462-76.
- <sup>192</sup> Moss AC, Farrell RJ. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2006; 131: 1649-51.
- <sup>193</sup> Feagan BG, Reinisch W, Rutgeerts P, Sandborn WJ, Yan S, Eisenberg D, et al. The effects of infliximab therapy on health-related quality of life in ulcerative colitis patients. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 794-802.
- <sup>194</sup> Reinisch W, Sandborn WJ, Bala M, Yan S, Feagan BG, Rutgeerts P, et al. Response and remission are associated with improved quality of life, employment and disability status, hours worked, and productivity of patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1135-40.
- <sup>195</sup> Kohn A, Daperno M, Armuzzi A, Cappello M, Biancone L, Orlando A, et al. Infliximab in severe ulcerative colitis: short-term results of different infusion regimens and longterm follow-up. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 747-56.
- <sup>196</sup> Jakobovits SL, Jewell DP, Travis SP. Infliximab for the treatment of ulcerative colitis: outcomes in Oxford from 2000 to 2006. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 1055-60.
- <sup>197</sup> Lees CW, Heys D, Ho GT, Noble CL, Shand AG, Mowat C, et al. A retrospective analysis of the efficacy and safety of infliximab as rescue therapy in acute severe ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 411-9.
- <sup>198</sup> Ferrante M, Vermeire S, Katsanos KH, Noman M, Van Assche G, Schnitzler F, et al. Predictors of early response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 123-8.

- 
- <sup>199</sup> Gonzalez-Lama Y, Fernandez-Blanco I, Lopez-San Roman A, Taxonera C, Casis B, Taber-  
nero S, et al. Open-label infliximab therapy in ulcerative colitis: a multicenter survey of re-  
sults and predictors of response. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1609-14.
- <sup>200</sup> Russo EA, Harris AW, Campbell S, Lindsay J, Hart A, Arebi N, et al. Experience of main-  
tenance infliximab therapy for refractory ulcerative colitis from six centres in England. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 308-14.
- <sup>201</sup> Gisbert JP, Gonzalez-Lama Y, Mate J. Systematic review: infliximab therapy in ulcerative  
colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 19-37.
- <sup>202</sup> Lawson MM, Thomas AG, Akobeng AK. Tumour necrosis factor alpha blocking agents for  
induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 3: CD005112.
- <sup>203</sup> Ochsenkuhn T, Sackmann M, Goke B. Infliximab for acute, not steroid-refractory ulcerative  
colitis: a randomized pilot study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 1167-71.
- <sup>204</sup> Armuzzi A, De Pascalis B, Lupascu A, Fedeli P, Leo D, Mentella MC, et al. Infliximab in the  
treatment of steroid-dependent ulcerative colitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004; 8: 231-  
3.
- <sup>205</sup> Gavalas E, Kountouras J, Stergiopoulos C, Zavos C, Gisakis D, Nikolaidis N, et al. Efficacy  
and safety of infliximab in steroid-dependent ulcerative colitis patients. *Hepatogastroentero-  
logy* 2007; 54: 1074-9.
- <sup>206</sup> Barreiro-de Acosta M, Lorenzo A, Mera J, Dominguez-Mutoz JE. Mucosal healing and ster-  
oid-sparing associated with infliximab for steroid-dependent ulcerative colitis. *Journal of  
Crohn's and Colitis* 2009 Dec;3(4):271-6.
- <sup>207</sup> Viscido A, Habib FI, Kohn A, Papi C, Marcheggiano A, Pimpo MT, et al. Infliximab in refract-  
ory pouchitis complicated by fistulae following ileo-anal pouch for ulcerative colitis. *Aliment  
Pharmacol Ther* 2003; 17: 1263-71.
- <sup>208</sup> Calabrese C, Gionchetti P, Rizzello F, Liguori G, Gabusi V, Tambasco R, et al. Short-term  
treatment with infliximab in chronic refractory pouchitis and ileitis. *Aliment Pharmacol Ther*  
2008; 27: 759-64.
- <sup>209</sup> Selvasekar CR, Cima RR, Larson DW, Dozois EJ, Harrington JR, Harmsen WS, et al. Effect  
of infliximab on short-term complications in patients undergoing operation for chronic ulcera-  
tive colitis. *J Am Coll Surg* 2007; 204: 956-62.
- <sup>210</sup> Mor U, Vogel JD, da Luz Moreira A, Shen B, Hammel J, Remzi FH. Infliximab in ulcerative  
colitis is associated with an increased risk of postoperative complications after restorative  
proctocolectomy. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1202-7.
- <sup>211</sup> Schluender SJ, Ippoliti A, Dubinsky M, Vasiliauskas EA, Papadakis KA, Mei L, et al. Does  
infliximab influence surgical morbidity of ileal pouch-anal anastomosis in patients with ulcera-  
tive colitis? *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 1747-53.
- <sup>212</sup> Kunitake H, Hodin R, Shellito PC, Sands BE, Korzenik J, Bordeianou L. Perioperative treat-  
ment with infliximab in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis is not associated  
with an increased rate of postoperative complications. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1730-6.
- <sup>213</sup> Ferrante M, D'Hoore A, Vermeire S, Declerck S, Noman M, Van Assche G, et al. Cortico-  
steroids but not infliximab increase short-term postoperative infectious complications in pa-  
tients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1062-70.
- <sup>214</sup> Panaccione R, Ferraz JG, Beck P. Advances in medical therapy of inflammatory bowel dis-  
ease. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5 (6): 556-72.
- <sup>215</sup> Plosker GL, Lyseng-Williamson KA. Adalimumab in Crohn's disease. *Biodrugs* 2007; 21:  
125-32.

- 
- <sup>216</sup> Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, et al. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133: 312-39.
- <sup>217</sup> Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeers P, Fedorak RN, Lukas M, Macintosh D, et al. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC I trial. *Gastroenterology* 2006; 130 (2): 323-33.
- <sup>218</sup> Sandborn WJ, Hanauer SB, Rutgeers P, Fedorak RN, Lukas M, Macintosh DG, et al. Adalimumab for maintenance treatment of Crohn's disease: results of the CLASSIC II trial. *Gut* 2007; 56: 1232-9.
- <sup>219</sup> Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeers P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, et al. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 52-65.
- <sup>220</sup> Schreiber S, Renisch W, Colombel JF, Sandborn WJ, Hommes DW, Li J, et al. Early Crohn's disease shows high levels of remission to therapy with adalimumab: sub-analysis of CHARM. *Gastroenterology* 2007. 132: A147.
- <sup>221</sup> Feagan BG, Panaccione R, Sandborn WJ, D'Haens GR, Schreiber S, Rutgeers PJ, et al. Effects of adalimumab therapy on incidence of hospitalization and surgery in Crohn's disease: Results from the CHARM study. *Gastroenterology* 2008; 135: 1493-9.
- <sup>222</sup> Loftus EV, Feagan BG, Colombel JF, Rubin DT, Wu EQ, Yu AP, et al. Effects of adalimumab maintenance therapy on health-related quality of life of patients with Crohn's disease: patient-reported outcomes of the CHARM trial. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3132-41.
- <sup>223</sup> Rutgeerts P, Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeers PJ, D'Haens GR, Lomax KG, et al. Maintenance of long-term remission in patients with moderately to severely active Crohn's disease treated for 3 years with adalimumab; Results from the open-label ADHERE study. *Gastroenterology* 2009; 136: A652.
- <sup>224</sup> Kamm MA, Hanauer SB, Rutgeerts P, Colombel W, Sandborn WJ, Lomax KG, et al. Results from an open-label extension of CHARM: steroid-free remission in patients with Crohn's disease who received adalimumab therapy for at least 3 years. *Gastroenterology* 2009; 136: A653.
- <sup>225</sup> Loftus EV, Rubin DT, Chen N, Mulani P, Chao J. Remission and quality of life improvements sustained with adalimumab in anti-TNF-naïve patients with Crohn's disease: 3 year data from CHARM. *Gastroenterology* 2009; 136: A180.
- <sup>226</sup> Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Colombel JF, Panaccione R, et al. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with Infliximab: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 829-38.
- <sup>227</sup> Youdim A, Vasiliauskas EA, Targan SR, Papadakis KA, Ippoliti A, Dubinsky MC, et al. A pilot study of adalimumab in infliximab-allergic patients. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 333-8.
- <sup>228</sup> Sandborn WJ, Hanauer S, Loftus Jr EV, Tremaine WJ, Kane S, Cohen R, et al. An open-label study of the human anti-TNF monoclonal antibody adalimumab in subjects with prior loss of response or intolerance to Infliximab for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1984-9.
- <sup>229</sup> Papadakis KA, Shaye OA, Vasiliauskas EA, Ippoliti A, Dubinsky MC, Bin J, et al. Safety and efficacy of adalimumab in Crohn's disease patients with an attenuated response to Infliximab. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 75-9.
- <sup>230</sup> Hinojosa J, Gomollon F, Garcia S, Bastida G, Cabriada JL, Saro C, et al. Efficacy and safety of short-term adalimumab treatment in patients with active Crohn's disease who lost re-

- 
- response or showed intolerance to Infliximab: a prospective, open-label, multicentre trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 409-18.
- <sup>231</sup> Peyrin-Biroulet L, Laclotte C, Bigard MA. Adalimumab maintenance therapy for Crohn's disease with intolerance or lost response to infliximab: an open-label study. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 675-80.
- <sup>232</sup> Ho GT, Smith L, Aitken S, Lee HM, Ting T, Fennell J, et al. The use of adalimumab in the management of refractory Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 308-15.
- <sup>233</sup> Colombel JF, Schwartz DA, Sandborn WJ, Kamm MA, D'Haens G, Rutgeerts PJ, et al. Adalimumab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 940-8.
- <sup>234</sup> Swaminath A, Ullman T, Rosen M, Mayer L, Lichtiger S, Abreu MT. Early clinical experience with adalimumab in treatment of inflammatory bowel disease with infliximab treated and naïve patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 273-8.
- <sup>235</sup> Ho GT, Mowat A, Potts L, Cahill A, Mowat C, Lees CW, et al. Efficacy and complications of adalimumab treatment for medically refractory Crohn's disease: analysis of nationwide experience in Scotland (2004-2008). *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29(5): 527-34.
- <sup>236</sup> Barreiro-de Acosta M, Lorenzo A, Dominguez-Murioz JE. Adalimumab in ulcerative colitis: mucosal healing and clinical response at two years. *World J Gastroenterol*. 2009 Aug 14;15(30):3814-6.
- <sup>237</sup> Peyrin-Biroulet L, Laclotte C, Roblin X, Bigard MA. Adalimumab induction therapy for ulcerative colitis with intolerance or lost response to infliximab: an open-label study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2328-32.
- <sup>238</sup> Oussalah A, Laclotte C, Chevaux JB, Bensenane M, Babouri A, Serre AA, et al. Long-term outcome of adalimumab therapy for ulcerative colitis with intolerance or lost response to infliximab: a single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 966-72.
- <sup>239</sup> Afif W, Leighton JA, Hanauer SB, Loftus EV Jr, Faubion WA, Pardi DS, et al. Open-label study of adalimumab in patients with ulcerative colitis including those with prior loss of response or intolerance to infliximab. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Sep;15(9):1302-7. doi: 10.1002/ibd.20924.
- <sup>240</sup> Reinisch W, Sandborn WJ, Hommes DW, D'Haens G, Hanauer S, Schreiber et al. Adalimumab for induction of clinical remission in moderately to severely active ulcerative colitis: results of a randomised controlled trial. *Gut* 2011 Jun;60(6):780-7.
- <sup>241</sup> 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 Feb;142(2):257-65.e1-3.
- <sup>242</sup> Reenaers C, Louis E, Belaiche J, Seidel L, Keshav S, Travis S. Does co-treatment with immunosuppressors improve outcome in patients with Crohn's disease treated with adalimumab? *Aliment Pharmacol Ther* 2012 Dec;36(11-12):1040-8.
- <sup>243</sup> Peyrin-Biroulet L, Deltner P, de Suray N, Branche J, Sandborn WJ, Colombel JF. Efficacy and safety of anti-tumour necrosis factor agents in Crohn's disease: a meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hep* 2008; 6(6): 644-53.
- <sup>244</sup> Colombel JF, Sandborn WJ, Panaccione R, Robinson AM, Lau W, Li J, et al. Adalimumab safety in global clinical trials of patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009: doi: 10.1002/ibd.20956.
- <sup>245</sup> Colombel JF, Panaccione R, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Hanauer SB, Reinisch W, et al. Global safety of adalimumab in trials of patients with Crohn's disease. *J Crohn's Colitis* 2009; 3(1): S57.

- 
- <sup>246</sup> Ainsworth MA, Bendtzen K, Brynskov J. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluid-phase radioimmunoassay as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103(4): 944-8.
- <sup>247</sup> Mayer L, Young Y. Infusion reactions and their management. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35: 857-66.
- <sup>248</sup> Lamireau T, Cezard JP, Dabadie A, Goulet O, Lachaux A, Turck D, et al. Efficacy and tolerance of infliximab in children and adolescents with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 745-50.
- <sup>249</sup> Rutgeers P, D'Haens G, Targan SR, Vasiliauskas E, Hanauer SB, Present DH, et al. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 761-9.
- <sup>250</sup> Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, Carbonez A, Rutgeerts P. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 601-8.
- <sup>251</sup> 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: 1248-54.
- <sup>252</sup> Chinyu S, Lichtenstein GR. Are C-reactive protein predictors of remicade treatment success or failure? *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 237-45.
- <sup>253</sup> Schnitzler F, Fiddler H, Ferrante M, Noman M, Arijis I, Van Assche G, et al. Long-term outcome of treatment with infliximab in Crohn's disease patients: results of a single center cohort (abstract). *Gastroenterology* 2007; 132: A145.
- <sup>254</sup> Van Assche G, Paintaud G, Magdelaine C, D'Haens G, Baert F, Vermeire S, et al. Immunosuppression does not impact on the outcome of maintenance infliximab therapy in Crohn's disease: final results of the IMID trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 134.
- <sup>255</sup> Lichtenstein GR, Diamond RH, Wagner A, Olson A, Hegedus R, Bala M, et al. infliximab administered as three dose induction followed by scheduled maintenance therapy in IBD: comparable clinical outcomes with or without concomitant immunomodulators (abstract). *Gastroenterology* 2007; 132: A146.
- <sup>256</sup> 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 Apr 15;362(15):1383-95.
- <sup>257</sup> West RL, Zelinkova Z, Wolbink GJ, Kuipers EJ, Stokkers PC, Van der Woude CJ. Immunogenicity negatively influences the outcome of adalimumab treatment in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 1122-6.
- <sup>258</sup> D'Haens G. Risks and benefits of biologic therapy for inflammatory bowel diseases. *Gut* 2007; 56: 725-32.
- <sup>259</sup> Vermeire S, Noman M, Van Assche G, Baert F, Van Steen K, Esters N, et al. Autoimmunity associated with anti-tumor necrosis factor alpha treatment in Crohn's disease: a prospective cohort study. *Gastroenterology* 2003; 125: 32-9.
- <sup>260</sup> Burke JP, Kelleher B, Ramadan S, Quinlan M, Sugrue D, O'Donovan MA. Pericarditis as a complication of infliximab therapy in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 428-9.
- <sup>261</sup> Nancey S, Blanvillain E, Parmentier B, Flourie B, Bayet C, Biennvenu J, et al. Infliximab treatment does not induce organ-specific or nonorgan-specific autoantibodies other than antinuclear and anti-double-stranded DNA autoantibodies in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 986-91.
- <sup>262</sup> Aberra FN, Lichtenstein GR. Methods to avoid infections in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 685-95.

- 
- <sup>263</sup> Cucino C, Sonnenberg A. Cause of death in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7: 250-5.
- <sup>264</sup> Listing J, Strangfeld A, Kary S, Rau R, von Hinueber U, Stoyanova-Scholz M, et al. Infections in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic agents. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3403-12.
- <sup>265</sup> Crum NF, Lederman ER, Wallace MR. Infections associated with tumor necrosis factor-alpha antagonists. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84: 291-302.
- <sup>266</sup> Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, Salzberg BA, Diamond RH, Chen DM, et al. Serious infections and mortality in association with therapies for Crohn's disease: TREAT registry. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 621-30.
- <sup>267</sup> Dixon WG, Watson K, Lunt M, Hyrich KL, Silman AJ, Symmons DP. Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2368-76.
- <sup>268</sup> Colombel JF, Loftus EV, Jr., Tremaine WJ, Egan LJ, Harmsen WS, Schleck CD, et al. The safety profile of infliximab in patients with Crohn's disease: the Mayo clinic experience in 500 patients. *Gastroenterology* 2004; 126: 19-31.
- <sup>269</sup> Ljung T, Karlen P, Schmidt D, Hellstrom PM, Lapidus A, Janczewska I, et al. Infliximab in inflammatory bowel disease: clinical outcome in a population based cohort from Stockholm County. *Gut* 2004; 53: 849-53.
- <sup>270</sup> Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *Jama* 2006; 295: 2275-85.
- <sup>271</sup> Toruner M, Loftus EV, Jr., Harmsen WS, Zinsmeister AR, Orenstein R, Sandborn WJ, et al. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 929-36.
- <sup>272</sup> Reddy JG, Loftus EV, Jr. Safety of infliximab and other biologic agents in the inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35: 837-55.
- <sup>273</sup> Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwiertman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001; 345: 1098-104.
- <sup>274</sup> Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD. Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2122-7.
- <sup>275</sup> Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Coster L, et al. Risk and case characteristics of tuberculosis in rheumatoid arthritis associated with tumor necrosis factor antagonists in Sweden. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1986-92.
- <sup>276</sup> Theis VS, Rhodes JM. Review article: minimizing tuberculosis during anti-tumour necrosis factor-alpha treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 19-30.
- <sup>277</sup> Keane J. TNF-blocking agents and tuberculosis: new drugs illuminate an old topic. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 714-20.
- <sup>278</sup> Wallis RS, Broder M, Wong J, Lee A, Hoq L. Reactivation of latent granulomatous infections by infliximab. *Clin Infect Dis* 2005; 41(Supl. 3): S194-8.
- <sup>279</sup> Wolfe F, Michaud K, Anderson J, Urbansky K. Tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis and the effect of infliximab therapy. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 372-9.

- 
- <sup>280</sup> Winthrop KL, Siegel JN, Jereb J, Taylor Z, Iademarco MF. Tuberculosis associated with therapy against tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2968-74.
- <sup>281</sup> Schiff MH, Burmester GR, Kent JD, Pangan AL, Kupper H, Fitzpatrick SB, et al. Safety analyses of adalimumab (HUMIRA) in global clinical trials and US postmarketing surveillance of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 889-94.
- <sup>282</sup> Bourikas LA, Kourbeti IS, Koutsopoulos AV, Koutroubakis IE. Disseminated tuberculosis in a Crohn's disease patient on anti-TNF alpha therapy despite chemoprophylaxis. *Gut* 2008; 57: 425; author reply 425-6.
- <sup>283</sup> Rampton DS. Preventing TB in patients with Crohn's disease needing infliximab or other anti-TNF therapy. *Gut* 2005; 54: 1360-2.
- <sup>284</sup> Carmona L, Gómez-Reino JJ, Rodríguez-Valverde V, Montero D, Pascual-Gomez E, Mola EM, et al. Effectiveness of recommendations to prevent reactivation of latent tuberculosis infection in patients treated with tumor necrosis factor antagonists. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1766-72.
- <sup>285</sup> Sichletidis L, Settas L, Spyrtatos D, Chloros D, Patakas D. Tuberculosis in patients receiving anti-TNF agents despite chemoprophylaxis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 1127-32.
- <sup>286</sup> Fidder H, Schnitzler F, Ferrante M, Noman M, Katsanos K, Segaert S et al. Long-term safety of infliximab for the treatment of inflammatory bowel disease: a single-centre cohort study. *Gut*. 2009 Apr;58(4):501-8.
- <sup>287</sup> Caviglia R, Boskoski I, Cicala M. Long-term treatment with infliximab in inflammatory bowel disease: safety and tolerability issues. *Expert Opin Drug Saf* 2008; 7: 617-32.
- <sup>288</sup> Bernal I, Domenech E, Garcia-Planella E, Cabre E, Gassull MA. Infecciones oportunistas en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal bajo tratamiento inmunosupresor. *Gastroenterol Hepatol* 2003; 26: 19-22.
- <sup>289</sup> Bargallo A, Carrion S, Domenech E, Arévalo JA, Mañosa M, Cabre E, et al. Mononucleosis infecciosa en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en tratamiento con azatioprina. *Gastroenterol Hepatol* 2008; 31: 289-92.
- <sup>290</sup> Torre-Cisneros J, Del Castillo M, Caston JJ, Castro MC, Perez V, Collantes E. Infliximab does not activate replication of lymphotropic herpesviruses in patients with refractory rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 1132-5.
- <sup>291</sup> Viget N, Vernier-Massouille G, Salmon-Ceron D, Yazdanpanah Y, Colombel JF. Opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease: prevention and diagnosis. *Gut* 2008; 57: 549-58.
- <sup>292</sup> Gluck T, Linde HJ, Scholmerich J, Muller-Ladner U, Fiehn C, Bohland P. Anti-tumor necrosis factor therapy and *Listeria monocytogenes* infection: report of two cases. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2255-7; author reply 2257.
- <sup>293</sup> Izbeki F, Nagy F, Szepes Z, Kiss I, Lonovics J, Molnar T. Severe *Listeria meningoencephalitis* in an infliximab-treated patient with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 429-31.
- <sup>294</sup> Kamath BM, Mamula P, Baldassano RN, Markowitz JE. *Listeria meningitis* after treatment with infliximab. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34: 410-2.
- <sup>295</sup> Belda A, Hinojosa J, Serra B, Garcia L, Merino C, Moles JR. Candidiasis sistémica y tratamiento con infliximab. *Gastroenterol Hepatol* 2004; 27: 365-7.
- <sup>296</sup> Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, Edwards ET, Schwieterman WD, Siegel JN, et al. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2565-70.

- 
- <sup>297</sup> Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO. Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1261-5.
- <sup>298</sup> Warris A, Bjornekleit A, Gaustad P. Invasive pulmonary aspergillosis associated with infliximab therapy. *N Engl J Med* 2001; 344: 1099-100.
- <sup>299</sup> Gottlieb GS, Lesser CF, Holmes KK, Wald A. Disseminated sporotrichosis associated with treatment with immunosuppressants and tumor necrosis factor-alpha antagonists. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 838-40.
- <sup>300</sup> Velayos FS, Sandborn WI. *Pneumocystis carinii* pneumonia during maintenance antitumor necrosis factor-alpha therapy with infliximab for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 657-60.
- <sup>301</sup> Seddik M, Meliez H, Seguy D, Viget N, Cortot A, Colombel JF. *Pneumocystis jirovecii* (carinii) pneumonia following initiation of infliximab and azathioprine therapy in a patient with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 436-7.
- <sup>302</sup> Kaur N, Mahl TC. *Pneumocystis carinii* pneumonia with oral candidiasis after infliximab therapy for Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1458-60.
- <sup>303</sup> Wissmann G, Varela JM, Calderon EJ. Prevention of *Pneumocystis* pneumonia in patients with inflammatory bowel disease based on the detection of *Pneumocystis* colonization. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1751-2.
- <sup>304</sup> Esteve M, Saro C, Gonzalez-Huix F, Suarez F, Fome M, Viver JM. Chronic hepatitis B reactivation following infliximab therapy in Crohn's disease patients: need for primary prophylaxis. *Gut* 2004; 53: 1363-5.
- <sup>305</sup> Madonia S, Orlando A, Scimeca D, Olivo M, Rossi F, Cottone M. Occult hepatitis B and infliximab-induced HBV reactivation. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 508-9.
- <sup>306</sup> Colbert C, Chavarria A, Berkelhammer C. Fulminant hepatic failure in chronic hepatitis B on withdrawal of corticosteroids, azathioprine and infliximab for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1453-4.
- <sup>307</sup> Geborek P, Bladstrom A, Turesson C, Gulfe A, Petersson IF, Saxne T, et al. Tumor necrosis factor blockers do not increase overall tumor risk in patients with rheumatoid arthritis, but may be associated with an increased risk of lymphomas. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 699-703.
- <sup>308</sup> Askling J, Fored CM, Baecklund E, Brandt L, Backlin C, Ekbom A, et al. Haematopoietic malignancies in rheumatoid arthritis: lymphoma risk and characteristics after exposure to tumor necrosis factor antagonists. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1414-20.
- <sup>309</sup> Brown SL, Greene MH, Gershon SK, Edwards ET, Braun MM. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development: twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3151-8.
- <sup>310</sup> Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1740-51.
- <sup>311</sup> Lewis JD, Bilker WB, Brensinger C, Deren JJ, Vaughn DJ, Strom BL. Inflammatory bowel disease is not associated with an increased risk of lymphoma. *Gastroenterology* 2001; 121: 1080-7.
- <sup>312</sup> Askling J, Brandt L, Lapidus A, Karlen P, Bjorkholm M, Lofberg R, et al. Risk of haematopoietic cancer in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2005; 54: 617-22.
- <sup>313</sup> Kandiel A, Fraser AG, Korelitz BI, Brensinger C, Lewis JD. Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut* 2005; 54: 1121-5.

- 
- <sup>314</sup> Biancone L, Orlando A, Kohn A, Colombo E, Sostegni R, Angelucci E, et al. Infliximab and newly diagnosed neoplasia in Crohn's disease: a multicentre matched pair study. *Gut* 2006; 55: 228-33.
- <sup>315</sup> Thayu M, Markowitz JE, Mamula P, Russo PA, Muinos WI, Baldassano RN. Hepatosplenic T-cell lymphoma in an adolescent patient after immunomodulator and biologic therapy for Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 220-2.
- <sup>316</sup> Mackey AC, Green L, Liang LC, Dinndorf P, Avigan M. Hepatosplenic T cell lymphoma associated with infliximab use in young patients treated for inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44: 265-7.
- <sup>317</sup> Rosh JR, Gross T, Mamula P, Griffiths A, Hyams J. Hepatosplenic T-cell lymphoma in adolescents and young adults with Crohn's disease: a cautionary tale? *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1024-30.
- <sup>318</sup> Weidmann E. Hepatosplenic T cell lymphoma. A review on 45 cases since the first report describing the disease as a distinct lymphoma entity in 1990. *Leukemia* 2000; 14: 991-7.
- <sup>319</sup> Umeno J, Matsumoto T, Jo Y, Ichikawa M, Urabe K, Iida M. Psoriasis during anti-tumor necrosis factor-alpha therapy for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1188-9.
- <sup>320</sup> Angelucci E, Cocco A, Viscido A, Vernia P, Caprilli R. Another paradox in Crohn's disease: new onset of psoriasis in a patient receiving tumor necrosis factor-alpha antagonist. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1059-61.
- <sup>321</sup> Verea MM, Del Pozo J, Yebra-Pimentel MT, Porta A, Fonseca E. Psoriasiform eruption induced by infliximab. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 54-7.
- <sup>322</sup> Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the antiTNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003; 107: 3133-40.
- <sup>323</sup> Kwon HJ, Cote TR, Cuffe MS, Kramer JM, Braun MM. Case reports of heart failure after therapy with a tumor necrosis factor antagonist. *Ann Intern Med* 2003; 138: 807-11.
- <sup>324</sup> Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, Oliverio PJ, Sandberg G, Crayton H, et al. Demyelination occurring during anti-tumor necrosis factor alpha therapy for inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2862-9.
- <sup>325</sup> Berthelot CN, George SJ, Hsu S. Distal lower extremity paresthesia and foot drop developing during adalimumab therapy. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: S260-2.
- <sup>326</sup> Oliveira GR, Teles BC, Brasil EF, Souza MH, Furtado LE, de Castro-Costa CM, et al. Peripheral neuropathy and neurological disorders in an unselected Brazilian population-based cohort of IBD patients. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 389-95.
- <sup>327</sup> Enayati PJ, Papadakis KA. Association of anti-tumor necrosis factor therapy with the development of multiple sclerosis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 303-6.
- <sup>328</sup> Strong BY, Erny BC, Herzenberg H, Razzeca KJ. Retrobulbar optic neuritis associated with infliximab in a patient with Crohn disease. *Ann Intern Med* 2004; 140: W34.
- <sup>329</sup> ten Tusscher MP, Jacobs PJ, Busch MJ, de Graaf L, Diemont WL. Bilateral anterior toxic optic neuropathy and the use of infliximab. *BMJ* 2003; 326: 579.
- <sup>330</sup> Gupta G, Gelfand JM, Lewis JD. Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 129: 819-26.
- <sup>331</sup> Thomas CW, Jr., Weinshenker BG, Sandborn WJ. Demyelination during anti-tumor necrosis factor alpha therapy with infliximab for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 28-31.
- <sup>332</sup> Cocito D, Bergamasco B, Tavella A, Poglio F, Paolasso I, Costa P, et al. Multifocal motor neuropathy during treatment with infliximab. *J Peripher Nery Syst* 2005; 10: 386-7.

- 
- <sup>333</sup> Menghini VV, Arora AS. Infliximab-associated reversible cholestatic liver disease. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 84-6.
- <sup>334</sup> Foeldvari I, Kruger E, Schneider T. Acute, non-obstructive, sterile cholecystitis associated with etanercept and infliximab for the treatment of juvenile polyarticular rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 908-9.
- <sup>335</sup> Mourn B, Konopski Z, Tufteland KF, Jahnsen J. Occurrence of hepatotoxicity and elevated liver enzymes in a Crohn's disease patient treated with infliximab. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1584-6.
- <sup>336</sup> Gisbert JP, Luna M, Gonzalez-Lama Y, Pousa ID, Velasco M, Moreno-Otero R, et al. Liver injury in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 786 patients. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1106-14.
- <sup>337</sup> Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine* 2003; 21: 3365-9.
- <sup>338</sup> Dubinsky M, Abraham B, Mahadevan U. Management of the pregnant IBD patient. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1736-50.
- <sup>339</sup> Srinivasan R. infliximab treatment and pregnancy outcome in active Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2274-5.
- <sup>340</sup> Lichtenstein G, Cohen RD, Feagan BG, Sandborn W, Salzberg B, Chen D, et al. Safety of infliximab in Crohn's disease: data from the 5000 - patient TREAT registry. *Gastroenterology* 2004; 126: A54.
- <sup>341</sup> Katz JA, Antoni C, Keenan GF, Smith DE, Jacobs SJ, Lichtenstein GR. Outcome of pregnancy in women receiving infliximab for the treatment of Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2385-9.
- <sup>342</sup> Tursi A. Effect of intentional Infliximab use throughout pregnancy in inducing and maintaining remission in Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2006 Jun; 38(6): 439-40.
- <sup>343</sup> Angelucci E, Cocco A, Viscido A, Caprilli R. Safe use of Infliximab for the treatment of fistulizing Crohn's disease during pregnancy within 3 months of conception. *Inflamm Bowel Dis* 2008 Mar; 14(3): 435-6.
- <sup>344</sup> Mahadevan U, Kane S, Sandborn WJ, Cohen RD, Hanson K, Terdiman JP et al. Intentional Infliximab use during pregnancy for induction or maintenance of remission in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Mar 15; 21(6): 733-8.
- <sup>345</sup> Schnitzler F, Fider HH, Ferrante M et al. Intentional treatment with Infliximab during pregnancy in women with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132 (Suppl. 2): A144.
- <sup>346</sup> Katz JA, Antoni C, Keenan GF, Smith DE, Jacobs SJ, Lichtenstein GR. Outcome of pregnancy in women receiving Infliximab for the treatment of Crohn's Disease and Rheumatoid Arthritis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2385-92.
- <sup>347</sup> Vasiliauskas EA, Church JA, Silverman N, Barry M, Targan SR, Dubinsky MC. Case report: evidence for transplacental transfer of maternally administered Infliximab to the newborn. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1255-8.
- <sup>348</sup> Mahadevan U, Terdiman JP, Church JA, Vasiliauskas EA, Gitis A, Dubinsky MC. Infliximab levels in infants born to women with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132 (Suppl. 2): A144.
- <sup>349</sup> Vesga L, Terdiman JP, Mahadevan U. Adalimumab use in pregnancy. *Gut*. 2005 Jun; 54(6): 890.
- <sup>350</sup> Mishkin DS, Van Deinse W, Becker JM, Farraye FA. Successful use of Adalimumab for Crohn's disease in pregnancy. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 827-8.

- 
- <sup>351</sup> Coburn LA, Wise PE, Schwartz DA. The successful use of Adalimumab to treat active Crohn's disease of an ileoanal pouch during pregnancy. *Dig Dis Sci* 2006 51: 2045-47.
- <sup>352</sup> Johnson DL, Jones KL, Chambers CD. Pregnancy outcomes in women exposed to adalimumab: the OTIS autoimmune diseases in pregnancy project. *J Crohn's Colitis* 2009; 3(1): S105.
- <sup>353</sup> Turner D, Walsh CM, Steinhart AH, Griffiths AM. Response to corticosteroids in severe ulcerative colitis: a systematic review of the literature and a meta-regression. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 103-10.
- <sup>354</sup> Cacheux W, Seksik P, Lemann M, Marteau P, Nion-Larmurier I, Afchain P, et al. Predictive factors of response to cyclosporine in steroid-refractory ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 637-42.
- <sup>355</sup> Gonzalez-Lama Y, Lopez-San Roman A, Marin-Jimenez I, Casis B, Vera I, Bermejo F, et al. Open-label infliximab therapy in Crohn's disease: a long-term multicenter study of efficacy, safety and predictors of response. *Gastroenterol Hepatol* 2008; 31(7): 421-6
- <sup>356</sup> Mendoza JL, Garcia-Paredes J, Cruz Santamaria DM, Lana R, Ramirez Fernandez E, Rodriguez Astearna E, et al. Infliximab treatment and prognostic factors for response in patients with Crohn's disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2002; 94(5): 269-79.
- <sup>357</sup> Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10(1): 661-5.
- <sup>358</sup> Matsukura H, Ikeda S, Yoshimura N, Takazoe M, Muramatsu M. Genetic polymorphisms of tumour necrosis factor receptor superfamily IA and 1B affect responses to infliximab in Japanese patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27(9): 765-70.
- <sup>359</sup> Dideberg V, Louis E, Farnir F, Bertoli S, Vermeire S, Rutgeerts P, et al. Lymphotoxin alpha gene in Crohn's disease patients: absence of implication in the response to infliximab in a large cohort study. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16(5): 369-73.
- <sup>360</sup> Hlavaty T, Pieril M, Henckaerts L, Ferrante M, Joossens S, Van Schuerbeek N, et al. Polymorphisms in apoptosis genes predict response to infliximab therapy in luminal and fistulizing Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 613-26.
- <sup>361</sup> Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos H, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-6.
- <sup>362</sup> Vermeire S, Louis E, Rutgeerts P, De Vos M, Van Gossum A, Belaiche J, et al. NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 106-11.
- <sup>363</sup> Mascheretti S, Hampe J, Croucher PJ, Nikolaus S, Andus T, Schubert S, et al. Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene: an analysis in 534 patients from two multicenter prospective GCP-level trials. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 509-15.
- <sup>364</sup> Louis E, El Ghou Z, Vermeire S, Dall'ozzo S, Rutgeerts P, Paintaud G. Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 511-9.
- <sup>365</sup> Van den Brande JM, Koehler TC, Zelinkiva Z, Benning RJ, to Velde AA, ten Cate FJ, et al. Prediction of antitumour necrosis factor clinical efficacy by real-time visualization of apoptosis in patients with Crohn's disease. *Gut* 2007; 56: 509-17.
- <sup>366</sup> Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. Review article: infliximab therapy for inflammatory bowel disease: seven years on. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 451-63.
- <sup>367</sup> Fefferman DS, Lodhavia PJ, Alsahli M, Falchuk KR, Peppercorn MA, Shah SA, et al. Smoking and immunomodulators do not influence the response or duration of response to infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10(4): 346-51

- 
- <sup>368</sup> Orlando A, Colombo E, Kohn A, Biancone L, Rizzello F, Viscido A, Sostegni R, et al. Infliximab in the treatment of Crohn's disease: predictors of response in an Italian multi-centric open study. *Dig Liver Dis* 2005; 37(8): 559-63.
- <sup>369</sup> Laharie D, Salzmann M, Boubekeur H, Richy F, Amouretti M, Quinton A, et al. Predictors of response to infliximab in luminal Crohn's disease. *Gastroenterol Clin Biol* 2005; 29: 145-9.
- <sup>370</sup> Arnott ID, McNeill G, Satsangi J. An analysis of factors influencing short-term and sustained response to infliximab in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 1451-7
- <sup>371</sup> Domenech E, Hinojosa J, Nos P, Garcia-Planella E, Cabre E, Bernal I, et al. Clinical evolution of luminal and perianal Crohn's disease after inducing remission with infliximab: how long should patients be treated? *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 1107-13.
- <sup>372</sup> Luna-Chadid M, Perez Calle JL, Mendoza JL, Vera MI, Bermejo AF, Sanchez F, et al. Predictors of response to infliximab in patients with fistulizing Crohn's disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 379-84.
- <sup>373</sup> Parsi MA, Lashner BA, Achkar JP, Connor JT, Brzezinski A. Type of fistula determines response to infliximab in patients with fistulous Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99(3): 445-9.
- <sup>374</sup> Persoons P, Vermeire S, Demyttenaere K, Fischler B, Vandenberghe, Van Oudenhove L, et al. The impact of major depressive disorder on the short and long term outcome of Crohn's disease treatment with infliximab. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 101-10.
- <sup>375</sup> Andus T, Herfarth H, Obermeier F, Kuehbacher T, Mascheretti S, Thriene W, et al. Prediction of response to treatment with infliximab in a German prospective open-label multicenter trial in refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2001; 120: A621.
- <sup>376</sup> Sandborn WJ, Rutgeers P, Enns R, Hanauer SB, Colombel JF, Panaccione R, et al. Adalimumab induction therapy for Crohn's disease previously treated with infliximab. *Ann Intern Med* 2007; 146: 829-32.
- <sup>377</sup> Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-31.
- <sup>378</sup> Roseth AG, Aadland E, Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1017-20.
- <sup>379</sup> Meuwis MA, Fillet M, Lutteri L, Margie R, Geurts P, De Seny D, et al. Proteomics for prediction and characterization of response to infliximab in Crohn's disease: a pilot study. *Clinical Biochemistry* 2008; 41: 960-7.
- <sup>380</sup> Vasiliauskas EA, Kam LY, Karp LC, Gaiennie J, Yang H, Targan SR, et al. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* 2000; 47: 487-96.
- <sup>381</sup> Kugathasan S, Prajapati D, Kim CP. Infliximab outcome in children and adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2002; 120: W1353.
- <sup>382</sup> Gornet JM, Couve S, Hassani Z. Infliximab for refractory ulcerative colitis or indeterminate colitis: an open-label multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 175-81.
- <sup>383</sup> Rossetti S, Actis GC, Fadda M, Rizzeto M, Palmo A. The use of the anti-tumour necrosis factor monoclonal antibody —infliximab— to treat ulcerative colitis: implications and trends beyond the available data. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 426-31.
- <sup>384</sup> Lim W, Sparrow MP, Hanauer S. The efficacy of infliximab in ulcerative colitis—the University of Chicago's experience. *Gastroenterology* 2005; 128(Supl. 2): W1035.

- 
- <sup>385</sup> Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49:633–59.
- <sup>386</sup> Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;84:548–58.
- <sup>387</sup> Ternant D, Paintaud G. Pharmacokinetics and concentration effect relationships of therapeutic monoclonal antibodies and fusion proteins. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5(Suppl 1):S37–47.
- <sup>388</sup> Dostalek M, Gardner I, Gurbaxani BM, Rose RH, Chetty M. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and physiologically based pharmacokinetic modelling of monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet*. 2013;52:83–124.
- <sup>389</sup> Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharm Sci*. 2004;93:2645–68.
- <sup>390</sup> Fronton L, Pilari S, Huisinga W. Monoclonal antibody disposition: a simplified PBPK model and its implications for the derivation and interpretation of classical compartment models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2014;41:87–107.
- <sup>391</sup> Ternant D, Ducourau E, Perdriger A, Corondan A, Le Goff B, Devauchelle-Pensec V, et al. Relationship between inflammation and infliximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;78:118–28.
- <sup>392</sup> Weisman MH, Moreland LW, Furst DE, Weinblatt ME, Keystone EC, Paulus HE, et al. Efficacy, pharmacokinetic, and safety assessment of adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody, in adults with rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate: a pilot study. *Clin Ther*. 2003;25:1700–21.
- <sup>393</sup> FDA. Adalimumab. Clinical pharmacology biopharmaceutics review(s). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/TherapeuticBiologicApplications/ucm092770.pdf>. Accessed 21 Aug 2014.
- <sup>394</sup> Ternant D, Ducourau E, Fuzibet P, Vignault C, Watier H, Lequerré T, et al. Pharmacokinetics and concentration-effect relationship of adalimumab in rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol*. 2015;79:286–97.
- <sup>395</sup> Tabrizi M, Bornstein GG, Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. *AAPS J*. 2010;12:33–43.
- <sup>396</sup> Hayashi N, Tsukamoto Y, Sallas WM, Lowe PJ. A mechanism based binding model for the population pharmacokinetics and pharmacodynamics of omalizumab. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;63:548–61.
- <sup>397</sup> Coffey GP, Stefanich E, Palmieri S, Eckert R, Padilla-Eagar J, Fielder PJ, et al. In vitro internalization, intracellular transport, and clearance of an anti-CD11a antibody (Raptiva) by human T-cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;310:896–904.
- <sup>398</sup> Tabrizi MA, Tseng C-ML, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today*. 2006;11:81–8.
- <sup>399</sup> Morell A, Terry WD, Waldmann TA. Metabolic properties of IgG subclasses in man. *J Clin Invest*. 1970;49:673–80.
- <sup>400</sup> Levy G. Pharmacologic target-mediated drug disposition. *Clin Pharmacol Ther*. 1994;56:248–52.
- <sup>401</sup> Mager DE, Jusko WJ. General pharmacokinetic model for drugs exhibiting target-mediated drug disposition. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001;28:507–32.
- <sup>402</sup> Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: approximations, identifiability of model parameters and applications to the population pharmacokinetic-

- pharmacodynamic modeling of biologics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2009;5:803–12.
- <sup>403</sup> Ng CM, Stefanich E, Anand BS, Fielder PJ, Vaickus L. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of nondepleting anti-CD4 monoclonal antibody (TRX1) in healthy human volunteers. *Pharm Res*. 2006;23:95–103.
- <sup>404</sup> Gibiansky L, Gibiansky E, Kakkar T, Ma P. Approximations of the target-mediated drug disposition model and identifiability of model parameters. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2008;35:573–91.
- <sup>405</sup> Ternant D, Mulleman D, Lafeuvre F, Vignault C, Ducourau E, Wendling D, et al. Influence of methotrexate on infliximab pharmacokinetics and pharmacodynamics in ankylosing spondylitis. *Br J Clin Pharmacol*. 2012;73:55–65.
- <sup>406</sup> Xu Z, Seitz K, Fasanmade A, Ford J, Williamson P, Xu W, et al. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with ankylosing spondylitis. *J Clin Pharmacol*. 2008;48:681–95.
- <sup>407</sup> 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;65:1211–28.
- <sup>408</sup> Zhou H, Jang H, Fleischmann RM, Bouman-Thio E, Xu Z, Marini JC, et al. Pharmacokinetics and safety of golimumab, a fully human anti-TNF-alpha monoclonal antibody, in subjects with rheumatoid arthritis. *J Clin Pharmacol*. 2007;47:383–96.
- <sup>409</sup> Danis VA, Franic GM, Rathjen DA, Laurent RM, Brooks PM. Circulating cytokine levels in patients with rheumatoid arthritis: results of a double blind trial with sulphasalazine. *Ann Rheum Dis*. 1992;51:946–50.
- <sup>410</sup> Pouw MF, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van der Kleij D, Aarden L, Rispens T, et al. Key findings towards optimising adalimumab treatment: the concentration-effect curve. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:513–8.
- <sup>411</sup> FDA. Infliximab. Clinical pharmacology review. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/TherapeuticBiologicApplications/ucm107704.pdf>. Accessed 21 Aug 2014.
- <sup>412</sup> Bendtzen K, Geborek P, Svenson M, Larsson L, Kapetanovic MC, Saxne T. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab. *Arthritis Rheum*. 2006;54:3782–9.
- <sup>413</sup> 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;64:704–7.
- <sup>414</sup> Elliott MJ, Maini RN. Anti-cytokine therapy in rheumatoid arthritis. *Baillieres Clin Rheumatol*. 1995;9:633–52.
- <sup>415</sup> Gratacós J, Collado A, Filella X, Sanmartí R, Cañete J, Llena J, et al. Serum cytokines (IL-6, TNF-alpha, IL-1 beta and IFN-gamma) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity. *Br J Rheumatol*. 1994;33:927–31.
- <sup>416</sup> Radstake TRDJ, Svenson M, Eijsbouts AM, van den Hoogen FHJ, Enevold C, van Riel PLCM, et al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:1739–45.

- 
- <sup>417</sup> Ducourau E, Mulleman D, Paintaud G, Miow Lin DC, Lauféron F, Ternant D, et al. Antibodies toward infliximab are associated with low infliximab concentration at treatment initiation and poor infliximab maintenance in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R105.
- <sup>418</sup> Van den Bemt BJB, den Broeder AA, Wolbink GJ, Hekster YA, van Riel PLCM, Benraad B, et al. Anti-infliximab antibodies are already detectable in most patients with rheumatoid arthritis halfway through an infusion cycle: an open-label pharmacokinetic cohort study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011;12:12.
- <sup>419</sup> Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, Stapel S, Lems WF, Aarden L, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:921–6.
- <sup>420</sup> Ungar B, Chowers Y, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Har-Noy O, et al. The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut.* 2014;63:1258–64.
- <sup>421</sup> Krieckaert CLM, Bartelds GM, Lems WF, Wolbink GJ. The effect of immunomodulators on the immunogenicity of TNF blocking therapeutic monoclonal antibodies: a review. *Arthritis Res Ther.* 2010;12:217.
- <sup>422</sup> Fasanmade AA, Adedokun OJ, Blank M, Zhou H, Davis HM. Pharmacokinetic properties of infliximab in children and adults with Crohn's disease: a retrospective analysis of data from 2 phase III clinical trials. *Clin Ther.* 2011;33:946–64.
- <sup>423</sup> Ng CM, Loyet KM, Iyer S, Fielder PJ, Deng R. Modeling approach to investigate the effect of neonatal Fc receptor binding affinity and anti-therapeutic antibody on the pharmacokinetic of humanized monoclonal anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  IgG antibody in cynomolgus monkey. *Eur J Pharm Sci.* 2014;51:51–8.
- <sup>424</sup> Perez Ruixo JJ, Ma P, Chow AT. The utility of modeling and simulation approaches to evaluate immunogenicity effect on the therapeutic protein pharmacokinetics. *AAPS J.* 2013;15:172–82.
- <sup>425</sup> Ordás I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ. Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91:635–46.
- <sup>426</sup> Mayer L, Young Y. Infusion reactions and their management. *Gastroenterol Clin North Am.* 2006 Dec;35(4):857-66.
- <sup>427</sup> Vermeire S, Noman M, Van Assche G, Baert F, Van Steen K, Esters N, Joossens S, Bossuyt X, Rutgeerts P. Autoimmunity associated with anti-tumor necrosis factor alpha treatment in Crohn's disease: a prospective cohort study. *Gastroenterology.* 2003 Jul;125(1):32-9.
- <sup>428</sup> Nancey S, Blanvillain E, Parmentier B, Flourié B, Bayet C, Bienvenu J, Fabien N. Infliximab treatment does not induce organ-specific or nonorgan-specific autoantibodies other than antinuclear and anti-double-stranded DNA autoantibodies in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005 Nov;11(11):986-91.
- <sup>429</sup> D'Haens, G. Risks and benefits of biologic therapy for inflammatory bowel diseases. *Gut.* 2007 May;56(5):725-32.
- <sup>430</sup> Thomas RD, Westengard JC, Hay KL, Bull BS. Calibration and validation for erythrocyte sedimentation tests. Role of the International Committee on Standardization in Hematology reference procedure. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 719-23.
- <sup>431</sup> Zlonis M. The mystique of the erythrocyte sedimentation rate. A reappraisal of one of the oldest laboratory tests still in use. *Clin Lab Med* 1993; 13: 787-800.
- <sup>432</sup> Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-54.

- 
- <sup>433</sup> Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: A critical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805-12.
- <sup>434</sup> Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. The role of C-reactive protein as an inflammatory marker in gastrointestinal diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 580-6.
- <sup>435</sup> Torradadella de Reynoso P, Perez-Molto H. La proteína C reactiva en los tiempos de la medicina molecular. *Med Clin (Barc)* 2005; 125: 775-7.
- <sup>436</sup> Tall AR. C-reactive protein reassessed. *N Engl J Med* 2004; 350: 1450-2.
- <sup>437</sup> Hutchinson WL, Koenig W, Frohlich M, Sund M, Lowe GD, Pepys MB. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: Age-related values in the adult general population. *Clin Chem* 2000; 46: 934-8.
- <sup>438</sup> Poullis A, Foster R, Northfield TC, Mendall MA. Review article: faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:675-81.
- <sup>439</sup> Roseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 50-4.
- <sup>440</sup> Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 506-13.
- <sup>441</sup> Lundberg JO, Hellstrom PM, Fagerhol MK, Weitzberg E, Roseth AG. Technology insight: Calprotectin, lactoferrin and nitric oxide as novel markers of inflammatory bowel disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 96-102.
- <sup>442</sup> van der Sluys Veer A, Biemond I, Verspaget HW, Lamers CB. Faecal parameters in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1999; 230: 106-10.
- <sup>443</sup> Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 460-5.
- <sup>444</sup> Tibble JA, Bjarnason I. Faecal calprotectin as an index of intestinal inflammation. *Drugs Today (Barc)* 2001; 37: 85-96.
- <sup>445</sup> Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-8.
- <sup>446</sup> Costa F, Mumolo MG, Bellini M, Romano MR, Ceccarelli L, Arpe P, et al. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 642-7.
- <sup>447</sup> Meling TR, Aabakken L, Roseth A, Osnes M. Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 339-44.
- <sup>448</sup> Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, et al. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999; 45: 362-6.
- <sup>449</sup> Poullis A, Foster R, Mendall MA, Shreeve D, Wiener K. Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 573-4; author reply 574.
- <sup>450</sup> Carroccio A, Iacono G, Cottone M, Di Prima L, Cartabellotta F, Cavataio F, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem* 2003; 49: 861-7.
- <sup>451</sup> Husebye E, Ton H, Johne B. Biological variability of fecal calprotectin in patients referred for colonoscopy without colonic inflammation or neoplasm. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2683-7.

- 
- <sup>452</sup> Poullis A, Foster R, Shetty A, Fagerhol MK, Mendall MA. Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: A link between lifestyle factors and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 279-84.
- <sup>453</sup> Willcocks LC, Smith KG, Clatworthy MR. Low-affinity Fcγ receptors, autoimmunity and infection. *Expert Rev Mol Med*. 2009 Aug 13;11:e24.
- <sup>454</sup> Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 8:34-47.
- <sup>455</sup> Ravetch J, Perussia B. Alternative membrane forms of Fc gamma RIII(CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med*. 1989 Aug 1;170(2):481-97.
- <sup>456</sup> Fanciulli M, Petretto E, Aitman TJ. Gene copy number variation and common human disease. *Clin Genet*. 2010 Mar;77(3):201-13.
- <sup>457</sup> Marques RB, Thabet MM, White SJ, Houwing-Duistermaat JJ, Bakker AM et al. Genetic variation of the Fc gamma receptor 3B gene and association with rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2010 Oct 5;5(10).
- <sup>458</sup> Fanciulli M, Norsworthy PJ, Petretto E, Dong R, Harper L et al. FCGR3B copy number variation is associated with susceptibility to systemic, but not organ-specific, autoimmunity. *Nat Genet*. 2007 Jun;39(6):721-3.
- <sup>459</sup> Cartron G, Dacheux L, Salles G, et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 2002; 99: 754-8.
- <sup>460</sup> Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G Fc receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3940-7.
- <sup>461</sup> Best WR, Bechtel JM, Singleton JW, Kern E Development of a Crohn's disease activity index. National cooperative Crohn's disease study. *Gastroenterology* 1976; 70: 439-44.
- <sup>462</sup> Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet*. 1980 Mar 8; 1(8167): 514.
- <sup>463</sup> Travis SPL. Review article: the management of mild to severe acute ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 (Supl. 4): 88-92.
- <sup>464</sup> Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis. Final report on a therapeutic trial. *Br Med J* 1955; 2: 1041-8.
- <sup>465</sup> De Lange T, Larsen S, Aabakken L. Inter-observer agreement in the assessment of endoscopic findings in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2004;18;4:9.
- <sup>466</sup> Osada T, Ohkusa T, Yokoyama T, et al. Comparison of several activity indices for the evaluation of endoscopic activity in UC: inter- and intraobserver consistency. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:192-7.
- <sup>467</sup> Cohen RD. The quality of life in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1603-9.
- <sup>468</sup> Mitchell A, Guyatt G, Singer J, Irvine EJ. Quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10: 306-10.
- <sup>469</sup> Guyatt G, Mitchell A, Irvine EJ, Singer J, Williams N, Goodacre R, et al. A new measure of health status for clinical trials in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1989; 96: 804-10.
- <sup>470</sup> Love JR, Irvine EJ, Fedorak RN. Quality of life in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1992; 14: 15-9.
- <sup>471</sup> Lopez Vivancos J, Casellas F, Badia X, Vilaseca J, Malagelada J-R. Validation of the Spanish version of the Inflammatory Bowel Disease Questionnaire in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Digestion* 1999; 60: 274-80.

- 
- <sup>472</sup> Casellas F, Lopez-Vivancos J, Badia X, Vilaseca J, Malagelada JR. Influence of inflammatory bowel disease on different dimensions of quality of life. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 567-72
- <sup>473</sup> Hlavaty T, Persoons P, Vermeire S, Ferrante M, Pierik M, Van Assche G, et al. Evaluation of short-term responsiveness and cut-off values of inflammatory bowel disease questionnaire in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 199-204.
- <sup>474</sup> Alcalá MJ, Casellas F, Fontanet G, Prieto L, Malagelada JR. Shortened questionnaire on quality of life for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 383-91.
- <sup>475</sup> Casellas F, Alcalá MJ, Prieto L, Miro JR, Malagelada JR. Assessment of the influence of disease activity on the quality of life of patients with inflammatory bowel disease using a short questionnaire. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 457-61.
- <sup>476</sup> Llinares-Tello F, de Salazar JR, Gallego JM, Soler GS, Ramírez CS, Heredia ES et al. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Oct 1;50(10):1845-7.
- <sup>477</sup> Ruiz-Argüello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martínez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Dec;51(12):e287-9.
- <sup>478</sup> Afif W, Loftus EV Jr, 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 May;105(5):1133-9.
- <sup>479</sup> Shankar G, Devanarayan V, Amaravadi L, Barrett YC, Bowsher R, Finco-Kent D et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. *J Pharm Biomed Anal*. 2008 Dec 15;48(5):1267-81.
- <sup>480</sup> van Schouwenburg PA, van de Stadt LA, de Jong RN, van Buren EE, Kruithof S, de Groot E et al. Adalimumab elicits a restricted anti-idiotypic antibody response in autoimmune patients resulting in functional neutralisation. *Ann Rheum Dis*. 2013 Jan;72(1):104-9.
- <sup>481</sup> Blackwell B. Drug therapy compliance. *N Engl J Med*. 1973;289: 249-52.
- <sup>482</sup> Roca-Cusachs A. Estrategias de intervención para mejorar el cumplimiento. *Med Clin (Barc)*. 2001;116 Suppl 2:56-62.
- <sup>483</sup> Palop Larrea V, Martínez Mir I. Adherencia al tratamiento en el paciente anciano. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*. 2004;28:113-20.
- <sup>484</sup> Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care*. 1986;24:67-74.
- <sup>485</sup> Val Jiménez A, Amorós Ballester G, Martínez P, Fernández ML, León M. Estudio descriptivo del cumplimiento del tratamiento farmacológico antihipertensivo y validación del test de Morisky y Green. *Aten Primaria*. 1992;10:767-70
- <sup>486</sup> Knobel H, Alonso J, Casado JL, Collazos J, González J, Ruiz I, et al. Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study. *AIDS*. 2002;16:605-13.
- <sup>487</sup> Krapek K, King K, Warren SS, George KG, Caputo DA, Mihelich K, et al. Medication adherence and associated hemoglobin A1c in type 2 diabetes. *Ann Pharmacother*. 2004;38:1357-61.
- <sup>488</sup> Chang MC, Chang YC, Chiou JF, Tsou TS, Lin CC. Overcoming patient-related barriers to cancer pain management for home care patients: a pilot study. *Cancer Nurs*. 2002;25:470-6.
- <sup>489</sup> Turbi C, Herrero-Beaumont G, Acebes JC, Torrijos A, Grana J, Miguélez R, et al. Compliance and satisfaction with raloxifene versus alendronate for the treatment of postmenopausal osteoporosis in clinical practice: an open-label, prospective nonrandomized, observational study. *Clin Ther*. 2004;26:245-56.

- 
- <sup>490</sup> Cosnes J, Cattan S, Blain A, Beaugerie L, Carbonnel F, Parc R et al. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2002;8:244-250
- <sup>491</sup> Saro C, Ceballos D, Muñoz F, De la Coba C, Aguilar MD, Lázaro P et al. Resources utilization and costs the year before and after starting treatment with Adalimumab in Crohn's disease patients. *Inflamm Bowel Dis* 2015 Jul;21(7):1631-40
- <sup>492</sup> Cornillie F, Hanauer SB, Diamond RH, Wang J, Tang KL, Xu Z et al. Postinduction serum infliximab trough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: a retrospective analysis of the ACCENT I trial. *Gut*. 2014 Nov;63(11):1721-7.
- <sup>493</sup> Allez M, Karmiris K, Louis E, Van Assche G, Ben-Horin S, Klein A. Report of the ECCO pathogenesis workshop on anti-TNF therapy failures in inflammatory bowel diseases: definitions, frequency and pharmacological aspects. *J Crohns Colitis*. 2010 Oct;4(4):355-66.