



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARIA DE DOCENCIA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**ASOCIACIÓN ENTRE EL PERFIL DE CITOCINAS PRO-
INFLAMATORIAS, LOS EVENTOS INMUNOGÉNICOS Y LA ACTIVIDAD
CLÍNICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE TRATADOS
CON INFLIXIMAB Y ADALIMUMAB**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN MEDICINA MOLECULAR**

PRESENTA

Q.F.B. EMMANUEL ANTONIO ORTIZ SALDIVAR

DIRECTOR DE TESIS

DR. JOSÉ LUIS MONTIEL HERNÁNDEZ

CUERNAVACA, MORELOS, MÉXICO.

JUNIO DE 2018

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Citocinas y Autoinmunidad adscrito a la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL

- Dr. José Luis Montiel Hernández (Tutor principal)
- Dra. Gabriela Rosas Salgado (Tutor personal)
- Dr. Jesús Santa-Olalla Tapia
- Dra. Delia Vanessa López Guerrero
- Dr. Jesús Gudiño Quiróz

MIEMBROS DEL JURADO DE EXAMEN

- Dra. Gabriela Rosas Salgado (Presidente)
- Dra. Gabriela Castañeda Corral (Secretario)
- Dr. Daniel X. Xibille Friedman (Primer Vocal)
- Dr. Jorge Eduardo Ortiz Panozo (Segundo Vocal)
- Dr. José Luis Montiel Hernández (Tercer Vocal)

AGRADECIMIENTO A LAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO

- A **CONACYT** por el otorgamiento de la beca de Maestría (#740315) en el periodo de 2016-2017.
- A la **Facultad de Medicina a través de la coordinación del Posgrado de Medicina Molecular** por el apoyo económico para asistir al 2do Simposio Internacional para el Desarrollo Farmacéutico. Organizado en la ciudad de Chetumal, Quintana Roo del 5 al 8 de noviembre de 2017.
- **Este proyecto fue financiado por:** SS/IMSS/ISSSTE-CONACYT (#2014-1-233878).

Además, se agradece la colaboración de los siguientes centros hospitalarios y especialistas para el reclutamiento, evaluación y toma de muestras sanguíneas de los pacientes incluidos en el protocolo.

Hospitales

1. Hospital Regional 1ro. de octubre, ISSSTE-DF.
2. UMAE Hospital de Especialidades " Bernardo Sepúlveda", CMNSXXI, IMSS (DF).
3. Servicio de Reumatología e Inmunología Clínica del Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la UANL.
4. Servicio de Reumatología del Hospital Regional del ISSSTE Monterrey (Nuevo León).
5. Clínica Regional "Centenario de la Revolución Mexicana", ISSSTE, Emiliano Zapata (Morelos).

Especialistas

- Sandra M. Carrillo Vázquez
- Miguel Ángel Vázquez Zaragoza
- Ramiro Hernández Salgado
- Mario A. Garza Elizondo
- David Vega Morales
- Rubén Márquez Marín
- Verónica Andrade Almaráz

INDICE GENERAL

PÁGINA

I.	ABREVIATURAS	I
II.	ÍNDICE DE FIGURAS	II
III.	ÍNDICE DE TABLAS	III
	RESUMEN	1
1.	INTRODUCCIÓN	3
1.1.	Artritis Reumatoide	3
1.2.	Factores de riesgo.....	4
A.	Factores de riesgo genético.....	5
B.	Factores de riesgo no genéticos.....	6
1.3.	Epidemiología de la AR	9
1.4.	Fisiopatología de la AR.	10
A.	Participación de las citocinas en AR.....	12
B.	Papel del TNF α en AR.....	15
1.5.	Tratamientos.....	16
A.	FARMES	17
B.	Agentes biológicos	19
1.6.	Agentes bloqueadores de TNF α	20
A.	INFLIXIMAB	22
B.	ADALIMUMAB	25
1.7.	Inmunogenicidad.....	27
A.	Anticuerpos anti-fármaco neutralizantes de anti-TNF α	28
B.	Efecto clínico de los anticuerpos anti-fármaco	30
1.8.	Biomarcadores predictivos de la inmunogenicidad	32
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
3.	HIPÓTESIS	37
4.	OBJETIVO GENERAL	38
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
6.	MATERIAL Y MÉTODOS	39
6.1.	Diseño	39

6.2.	Reclutamiento de pacientes	39
6.3.	Criterios de selección de los pacientes	39
6.4.	Variables.....	40
6.5.	Evaluación de pacientes.....	41
6.6.	Toma de muestras sanguíneas	41
6.7.	Determinación de parámetros séricos y auto-anticuerpos (PCR, Fr).....	42
6.8.	Determinación de niveles de citocinas pro-inflamatorias.....	42
6.9.	Determinación de niveles de Leptina	42
6.10.	Determinación de niveles de MIF	43
6.11.	Determinación de la concentración de fármaco (Infliximab)	44
6.12.	Determinación de concertación de fármaco (ADALIMUMAB).....	45
6.13.	Determinación de la presencia de anticuerpos AAF (Infliximab).....	45
6.14.	Determinación de la presencia de anticuerpos AAF (Adalimumab).....	45
6.15.	Análisis estadístico	46
7.	RESULTADOS	47
7.1.	Comparación de variables en base a la inmunogenicidad	50
7.2.	Correlaciones entre la concentración sérica del fármaco, la actividad clínica y las citocinas.	55
7.3.	Asociación entre niveles de citocinas e inmunogenicidad y la actividad clínica.....	56
7.4.	Análisis individual para cada tipo de medicamento biotecnológico.....	58
7.5.	Correlaciones individuales para cada tratamiento entre la concentración sérica del fármaco, la actividad clínica y las citocinas.....	63
7.6.	Asociaciones individuales para cada tratamiento entre niveles de citocinas e inmunogenicidad y la actividad clínica.	65
7.7.	Comparación en base al tratamiento farmacológico.....	67
7.8.	Asociación entre los niveles de citocinas y el tratamiento (IFX/ADA)	69
8.	DISCUSIÓN	70
8.1.	Inmunogenicidad en bloqueadores de TNF α	70
8.2.	Correlación entre niveles séricos del fármaco, DAS28 y Citocinas	74
8.3.	Asociación del perfil de citocinas y inmunogenicidad	76
8.4.	Limitaciones del estudio.....	79

9.	CONCLUSIÓN	81
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
11.	ANEXOS	97

I. ABREVIATURAS

AR	Artritis reumatoide
ADA	Adalimumab
AAF	Anticuerpos anti-fármaco
αCCP	Anticuerpos anti-péptidos citrulinados cíclico
AINEs	Analgésicos Antiinflamatorios no esteroideos
AP-1	Factor proteína activadora 1
ACR	Colegio Americano de Reumatología
BSA	Albumina sérica bovina
CD	Células dendríticas
CPA	Célula presentadora de antígeno
DAS28	Puntuación de actividad de la enfermedad sobre 28 articulaciones
DO	Densidad óptica
EC	Epítotope compartido
EULAR	Liga Europea contra el Reumatismo
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
FARMES	Fármacos modificadores de la enfermedad
FR	Factor reumatoide
GC	Glucocorticoides
HLA-II	Antígeno Leucocitario Humano de clase II
IFX	Infliximab
IMC	Índice de masa corporal
LEFLU	Leflunomida
MMPs	Metaloproteasas de matriz
MTX	Metotrexato
NF-κB	Factor nuclear kappa B
OR	Odds ratios
PAD	Peptidil-Arginina-Deiminasa
PCR	Proteína C reactiva
PBS	Solución salina amortiguada por fosfatos
TSAT	Transductor de señal y activador de la transcripción
VEA	vénulas endoteliales superiores
VSG	Velocidad de sedimentación globular

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las 6 fases del desarrollo de la AR.....	5
Figura 2. Mecanismos biológicos propuestos que relacionan el tabaquismo en las fases preclínicas de la enfermedad.	8
Figura 3. Principales características anatómicas de la articulación inflamada en la AR.....	11
Figura 4. Interacción entre células y citocinas durante la patogénesis de la AR.	14
Figura 5. Papel del TNF α en la patogénesis de AR.	16
Figura 6. Mecanismo de acción del MTX.	19
Figura 7. Mecanismos de acción de los fármacos anti-TNF α	22
Figura 8. Diseño de la Molécula de TNF α -infliximab..	24
Figura 9. Diseño de la Molécula de TNF α -adalimumab..	26
Figura 10. Efecto de los AAF sobre el efecto funcional de los bloqueadores de TNF α	29
Figura 11. Análisis de correlación entre la concentración sérica de fármaco y la actividad clínica (DAS28).....	56
Figura 12. Análisis de correlación entre el nivel de concentración sérica de fármaco (IFX/ADA) y la citocina TNF α (A), MIF (B)	63

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación de citocinas en el desarrollo de la Artritis Reumatoide.	13
Tabla 2. Estudios de inmunogenicidad de pacientes con AR tratados con IFX o ADA.	34
Tabla 3. Descripción de variables, tipología y análisis estadístico.	40
Tabla 4. Datos demográficos, serológicos y farmacológicos de los pacientes con AR.....	48
Tabla 5. Concentración de citocinas en pacientes con AR tratados con anti-TNF α	49
Tabla 6. Comparación entre pacientes sin y con inmunogenicidad.	52
Tabla 7. Comparación de niveles de concentración de citocinas entre sin y con inmunogenicidad.	54
Tabla 8. Correlaciones de la concentración sérica de fármaco con DAS28 y Citocinas del grupo de pacientes de sin y con inmunogenicidad.	55
Tabla 9. Asociación entre niveles de citocinas y eventos inmunogénicos.	57
Tabla 10. Asociación entre niveles de citocinas y la actividad clínica (DAS28).	57
Tabla 11. Comparación entre pacientes sin y con inmunogenicidad de los tratamientos de IFX/ADA.	61
Tabla 12. Comparación de las citocinas transformadas entre pacientes sin y con inmunogenicidad de los tratamientos de IFX/ADA.	62
Tabla 13. Correlaciones individuales entre concentración sérica de fármaco con actividad clínica (DAS28) y Citocinas del grupo sin y con inmunogenicidad en base a los tratamientos (IFX/ADA).	64
Tabla 14. Asociación entre niveles de citocinas y eventos inmunogénicos de pacientes de los tratamientos de IFX/ADA.	66
Tabla 15. Asociación entre niveles de citocinas y la actividad clínica (DAS28) de pacientes de los tratamientos de IFX/ADA.	66
Tabla 16. Comparación de pacientes en base al fármaco empleado: Infliximab vs. Adalimumab.	67
Tabla 17. Comparación de las citocinas transformadas de pacientes en base al fármaco empleado: Infliximab vs. Adalimumab.	68
Tabla 18. Asociación entre los niveles de citocinas y el tratamiento.	69

RESUMEN

La Artritis Reumatoide es una enfermedad autoinmune crónica y sistémica, caracterizada por dolor e inflamación en las articulaciones diartrodiales, afectando principalmente la membrana sinovial de las articulaciones, pero puede evolucionar en daño estructural y disfunción. Aunque no existe cura para esta enfermedad, actualmente el empleo de fármacos biotecnológicos ha mejorado el control de la inflamación y disminuido el daño estructural, al neutralizar de manera específica algunas de las rutas de inflamación inducidas por citocinas, por ejemplo TNF α . Los fármacos bloqueadores de TNF α , como Infliximab y Adalimumab han mostrado gran eficacia para el control de la artritis reumatoide. Sin embargo, se ha reportado que su empleo puede ocasionar una respuesta inmunológica específica en contra de estos fármacos, conocida como “inmunogenicidad” y se caracteriza por la generación de anticuerpos anti-fármaco. Estos anticuerpos potencialmente podrían neutralizar el fármaco, teniendo como consecuencia la disminución de su eficacia terapéutica. Es importante mencionar que aunque se ha reportado este tipo de respuesta en los pacientes con artritis reumatoide, poco se conoce sobre los factores biológicos asociados con la generación de anticuerpos anti-fármaco, por lo que resulta de gran interés el poder identificar biomarcadores que permitan predecir la inmunogenicidad en el paciente y, de esa manera, proponer estrategias terapéuticas alternas. Con base a lo anterior, en el presente estudio se realizó la evaluación de los niveles de citocinas pro-inflamatorias circulantes como posibles marcadores de inmunogenicidad en pacientes con artritis reumatoide.

Metodología: 57 pacientes con artritis reumatoide (ACR/EULAR 2010) y que se encontraban bajo tratamiento con infliximab (n=17) o adalimumab (n=40) fueron reclutados en 4 centros hospitalarios. La medición de los niveles de infliximab, adalimumab y anticuerpos anti-fármaco en el suero de los pacientes, fueron determinados por kits de ELISA comerciales. La actividad clínica de la artritis reumatoide se determinó en base al índice DAS28-VSG; mediante la valoración que incorpora el número de articulaciones dolorosas e inflamadas y como prueba de laboratorio confirmatoria fue la velocidad de sedimentación globular. Los niveles de las citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-17A, INF γ , MCP-1, TNF α) en el plasma de los pacientes, fueron determinados en un multi-análisis por la técnica de MAGPIX/LUMINEX (MilliPore). Los niveles de Leptina y MIF fueron determinados por la técnica de ELISA indirecta estandarizada en nuestras condiciones experimentales a través de curvas estándar con proteínas recombinantes (PreProtech). Con base en los niveles sub-óptimo de fármaco circulante y la presencia de anticuerpos anti-fármaco, los pacientes fueron clasificados: Con inmunogenicidad y sin inmunogenicidad (grupo control). Debido a la asimetría en los niveles de citocinas, los valores se transformaron a logaritmo natural. La comparación entre grupos (Sin inmunogenicidad vs con inmunogenicidad) fue realizada con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney y la prueba de independencia (ji-cuadrada o χ^2). Se empleó la prueba no paramétrica de correlación de Spearman para determinar la relación entre los niveles séricos del fármaco, actividad clínica (DAS28) y Citocinas. Para determinar la asociación entre los niveles de citocinas y la respuesta inmunogénica, se empleó una prueba de regresión logística univariada.

Resultados: Los datos demográficos de los pacientes (Género, Edad, IMC y Tiempo de evolución de la enfermedad) fueron similares entre el grupo Sin inmunogenicidad vs con

inmunogenicidad. No hubo diferencias estadísticamente significativas en el índice de DAS28 (3.1 ± 1.3 vs. 3.5 ± 1 , $P=0.13$) entre los grupos. La duración media de tratamiento para Infliximab fue de 5 años y para Adalimumab fue de 4 años, respectivamente. Los pacientes tratados con Infliximab el 53% dieron positivo para anticuerpos anti-fármaco (9/17) y los pacientes tratados con Adalimumab el 25% dieron positivo para anticuerpos anti-fármaco (10/40), $P<0.04$. Adicionalmente, en los parámetros serológicos, los pacientes con inmunogenicidad presentaron niveles mayores de VSG que los pacientes del grupo control ($P<0.001$). Los pacientes que dieron positivo a inmunogenicidad tenían concentraciones séricas del fármaco significativamente más bajas en el suero que los pacientes del grupo control ($P<0.001$). Hubo una correlación positiva moderada entre la concentración sérica del fármaco y el DAS28 ($\rho= 0.61$, $P<0.02$) en los pacientes con inmunogenicidad. Al dividir a los pacientes de acuerdo a su tratamiento, hubo solamente correlación negativa entre las concentraciones séricas del fármaco y las citocinas en el grupo control; infliximab vs TNF α ($\rho= -0.89$, $P<0.02$) y adalimumab vs MIF ($\rho= -0.41$, $P<0.03$). Por otra parte, los pacientes tratados con adalimumab y con inmunogenicidad presentaron niveles mayores de INF γ , MIF y MCP-1 que los pacientes del grupo control ($P<0.05$) pero, aunque los niveles de TNF α fueron mayores en los pacientes con inmunogenicidad, no hubo significancia estadística. En los pacientes tratados con infliximab y con inmunogenicidad solo presentaron niveles mayores de TNF α que los pacientes sin inmunogenicidad ($P<0.001$). Al evaluar la asociación entre los niveles de citocinas y la inmunogenicidad, se observó una asociación positiva para las siguientes citocinas: INF γ (OR (IC 95%) 2.0 (1.1-3.4), $p<0.01$), MCP-1 (OR (IC 95%) 2.5 (1.2-5.3), $p<0.02$) y TNF α (OR (IC 95%) 3.5 (1.6-7.7), $p<0.002$). No se observó asociación entre el DAS28 y la inmunogenicidad.

Conclusiones: Se observó un mayor prevalencia de inmunogenicidad en pacientes con artritis reumatoide bajo tratamiento con infliximab, en comparación con adalimumab. La presencia de anticuerpos anti-fármaco contra infliximab o adalimumab se correlaciono con la disminución de concentraciones séricas del fármaco provocando la pérdida de la remisión en el paciente. Por otro lado, al comparar los pacientes sin y con inmunogenicidad, se identificó incremento en algunas citocinas pro-inflamatorias, donde sólo INF γ , MCP-1 y TNF α se asociaron con la inmunogenicidad, por lo que podrían ser de utilidad como biomarcadores.

Palabras claves: Artritis Reumatoide, Inmunogenicidad, citocinas, Infliximab, Adalimumab.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Artritis Reumatoide

La Artritis Reumatoide (AR), es una enfermedad autoinmune crónica y sistémica caracterizada por dolor e inflamación de las articulaciones diartrodiales. Sin un tratamiento adecuado, la AR puede evolucionar a daño estructural articular (cartílago y hueso), deformidad y discapacidad física. Inicialmente, el tejido principalmente afectado es la membrana sinovial⁽¹⁾. La AR es la enfermedad más frecuente entre las enfermedades autoinmunes y su incidencia es más frecuente en mujeres que en hombres (en una relación de 3:1), particularmente entre 40-60 años. Presumiblemente, una de las causas por la cual es más frecuente en mujeres que en hombres podría deberse al efecto que tienen algunas hormonas (como los estrógenos) sobre el sistema inmunológico⁽²⁾.

Las manifestaciones articulares de la AR pueden ser clasificadas en dos categorías: síntomas y signos controlables, como la inflamación sinovial y el daño estructural irreversible, causado por la sinovitis crónica que ocurre como consecuencia de la progresión de la enfermedad, que conduce a erosión del cartílago y hueso, así como daño en tejidos blandos⁽³⁾. Con respecto a las manifestaciones extraarticulares, se ha reportado que el 7% de los pacientes tienen nódulos subcutáneos al momento del diagnóstico de AR y alrededor del 30% de los pacientes presentan más nódulos, cuando tienen mayor tiempo con la enfermedad grave⁽⁴⁾. Por otro lado, las manifestaciones extraarticulares pueden evolucionar a graves como: vasculitis, enfermedad pulmonar reumatoide, pericarditis y pleuritis, esto se ha observado con mayor frecuencia en pacientes que desarrollan nódulos en 2 años a partir del diagnóstico de AR o que llevan un mayor tiempo de evolución de la enfermedad y sin tratamiento previo⁽⁵⁾. Las principales manifestaciones de la AR en los pacientes son dolor, tumefacción y disminución de la movilidad. El dolor puede ser leve al movimiento hasta dolor intenso y persistente durante el reposo; se puede exacerbar con la presión y el movimiento. La tumefacción articular se desarrolla debido al tejido sinovial proliferante, el cual se encuentra engrosado, con edema y, a menudo, con tensión debido al incremento de líquido sinovial⁽⁶⁾.

Por otro lado, diferentes estudios y, sobretodo, aquellos donde se evalúan por microarreglos de expresión de células de pacientes con AR, sugieren que la AR se puede subclassificar, siendo los dos subtipos más reconocidos aquellos que tienen que ver con el

tiempo que ha pasado desde el inicio de las manifestaciones clínicas (AR de inicio reciente y AR establecida). Asimismo, la enfermedad se asocia a la presencia de niveles positivos de Anticuerpos anti-péptidos citrulinados cíclico (α CCP) y a aquellos que no presentan estos autoanticuerpos (seronegativos).

1.2. Factores de riesgo

Aún se desconocen los factores específicos que favorecen el desarrollo de la AR. Lo que sí se sabe es que se acompaña de autoinmunidad y que en su desarrollo intervienen factores genéticos y factores ambientales e inmunológicos y que la interacción de ambos puede ser determinante en el desencadenamiento de la enfermedad⁽⁷⁾. Asimismo, las diferencias en la prevalencia de AR entre las diferentes regiones y poblaciones del mundo han centrado en estudios de interés en los factores ambientales y las interacciones genético-ambientales; varios determinantes ambientales importantes involucrados en el desarrollo y la gravedad de la AR han sido ampliamente estudiados como: tabaquismo, alcohol, dieta, socioeconómicos, etc. estos factores se han asociado independientemente con AR o muestran efectos que aumentan el riesgo de AR⁽⁸⁾.

El Comité Permanente de Investigación de la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR, del inglés European League Against Rheumatoid Arthritis) estableció un grupo de estudio en febrero de 2011, sobre los Factores de Riesgo asociados a la AR para impulsar la investigación de las fases preclínicas y clínicas aparentes de la enfermedad⁽⁹⁾. Con el fin de estandarizar la terminología de los cambios que ocurren antes de que las manifestaciones clínicas de la AR se presenten, este Comité elaboró una recomendación para su nomenclatura. Se establecieron seis fases en el desarrollo de la AR (Figura 1).

Las categorías se asocian a factores de riesgo genéticos y ambientales para la AR (fases A y B), autoinmunidad sistémica asociada con la AR (fase C), los síntomas sin artritis clínica (fase D), la artritis indiferenciada y la AR (fases E y F). Las categorías propuestas se proponen a manera de un marco amplio basado en el conocimiento actual sobre la etiología de la AR⁽¹⁰⁾.

El EC es reconocido como uno de los factores genéticos con mayor impacto en la AR, sin embargo, se asume que variaciones de más de 100 genes están asociadas con el desarrollo de la enfermedad⁽¹⁴⁾. En el caso particular de la población mexicana, el haplotipo HLADRB1*0404 (EC) y los polimorfismo de un solo nucleótido del gen para TNF- α (-308 y -238) parecen ser los factores genéticos más frecuentes y han sido asociados con esta enfermedad⁽¹⁵⁾. Desde otro punto de vista, el trabajo realizado por Gorodezky et al. 1981, evaluaron el HLA en pacientes mexicanos con AR y determinó que en los pacientes con AR existe muestran un incremento del 25.80 % en la frecuencia del gen DR4 por lo que el riesgo relativo del DR4 es alto (14.62, P<0.02), siendo todos los pacientes positivos para el factor reumatoide. Estos autores sugirieron, que múltiples genes están asociados con el desarrollo de la AR, lo cual, puede tener efecto sobre la respuesta autóloga de IgG, parcialmente podrían explicar el desarrollo de la enfermedad⁽¹⁶⁾. En otro estudio de nuestro grupo de investigación, se comparó población mestiza de Morelos, población indígena canadiense y caucásicos canadienses. Mientras que la población caucásica mostró una fuerte asociación con el EC, las poblaciones mexicanas e indígena canadiense no mostraron asociación con el EC. A la luz de los estudios de prevalencia en la población mexicana, se podría sugerir que el desarrollo del paciente con AR puede ser más heterogéneo de lo que se piensa.

B. Factores de riesgo no genéticos

Algunos estudios sugieren que los factores genéticos contribuyen solo un 30-50% en la susceptibilidad para el desarrollo de la AR^(17, 18). Se ha establecido que factores no genéticos también contribuyen para el desarrollo de AR, como los factores ambientales, destacando principalmente el tabaquismo⁽¹⁹⁾ o alteraciones en el microbioma oral e intestinal inducen modificaciones postraduccionales de proteínas del tejido conectivo (citrulinación, carbamilación, entre varias otras), estilo de vida, etc.⁽²⁰⁾. En ese sentido, se ha observado que una proporción significativa de las células B y T de memoria está dirigida a péptidos citrulinados en pacientes con AR⁽²¹⁾. En apoyo de esta hipótesis está el hecho de que uno de los marcadores más específicos para AR, es la presencia de α CCP⁽²²⁾.

Los agentes infecciosos como bacterias y virus, también han sido implicados en el desarrollo de esta enfermedad a través de diagnósticos moleculares o su presencia en el

líquido sinovial de pacientes con AR⁽²³⁾. En ese sentido, se tiene la hipótesis que la manera en que estos agentes contribuyan a la AR es a través del mimetismo molecular. En donde se sugiere que la autoinmunidad se origina por la semejanza molecular entre los agentes infecciosos y moléculas endógenas, lo cual podría facilitar que el sistema inmune se “equivoque” y genere una respuesta inmune en contra de antígenos propios del hospedero; provocando que las células T y B activadas por un agente patógeno pueden reconocer a un antígeno propio con estructura similar de algún antígeno externo (reacción cruzada), lo cual ocasiona la ruptura de la tolerancia a los antígenos propios⁽²⁴⁾.

El tabaquismo es uno de los factores de riesgo medioambientales para el desarrollo de la AR más ampliamente estudiado y reconocido. Se ha observado que el tabaquismo afecta la respuesta inmune tanto celular como humoral y podría tener efectos pro-inflamatorios e inmunosupresores a través de mecanismos diversos⁽²⁵⁻²⁷⁾. Hay evidencia de que el tabaquismo puede ser crítico durante las fases preclínicas de desarrollo de AR, como se describe en la Figura 2⁽²⁷⁾.

El humo del tabaco presenta altas concentraciones de sustancias tóxicas, lo cual además de aumentar la activación y generación de radicales libres de oxígeno endógenos, puede interactuar con la cromatina nuclear y alterar de manera epigenética a las células⁽²⁰⁾. Adicionalmente, la exposición al humo de tabaco estimula la expresión y actividad enzimática de la proteína Peptidil-Arginina-Deiminasa-4 (PAD4) humana, lo cual ocasionaría un incremento en la citrulinación (desaminación de residuos de arginina) de proteína séricas o de matriz extracelular presentes en el pulmón⁽²⁸⁻³⁰⁾. Varios estudios han reportado que el tabaquismo potencia el desarrollo del AR en aquellos pacientes que presentan EC^(31, 32).

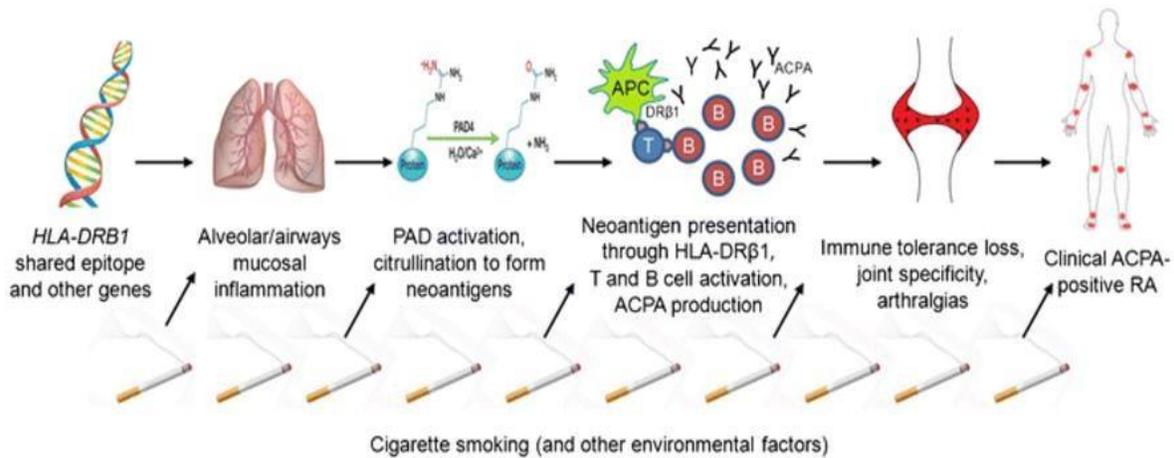


Figura 2. Mecanismos biológicos propuestos que relacionan el tabaquismo en las fases preclínicas de la enfermedad. Un individuo asintomático con alto riesgo genético, como el epítipo compartido HLA-DRB1, está expuesta a los factores desencadenantes ambientales, como el consumo de cigarrillos. Esto induce la inflamación de la mucosa en las vías respiratorias y los alvéolos del pulmón. Activación de enzimas, incluyendo PAD, estimulan citrulinación de proteínas en estos sitios para formar neo-antígenos. Células presentadoras de antígeno (CPA) en el sistema inmune innato presentan estos neo-antígenos a través de la proteína HLA-DRβ1 a las células T que resulta en la desregulación del sistema inmune adaptativo y conduce a la inflamación sistémica. Células B estimuladas en las mucosas respiratorias producen CPA. La inflamación sistémica conduce a los síntomas no específicos tales como la fatiga y arthralgias. Los autoanticuerpos exhiben especificidad de las articulaciones periféricas llevando eventualmente a la sinovitis y el diagnóstico clínico de la CPA positivos AR. Tomado de Sparks y Karlson, 2016⁽²⁷⁾.

Adicionalmente, se ha sugerido que alteraciones en los niveles de algunos microorganismos bacterianos de la microbiota bucal, favorecen la citrulinación de proteínas del hospedero⁽³³⁾. En este sentido, la “periodontitis” enfermedad provocada por el desbalance de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*, puede llevar al desarrollo de la AR; esto se debe, porque la bacteria expresa y secreta la enzima PAD, favoreciendo la citrulinación⁽³⁴⁾. En un estudio reciente de nuestro grupo no se observó una asociación significativa con la presencia de *P. gingivalis*, pero sí para *Tanerella forsythia*, otra bacteria causante de infecciones periodontales⁽³⁵⁾. Muy recientemente, otro grupo también identificó otra tercera bacteria oral (*Aggregabacter actinomycetes*) con capacidad para inducir de manera indirecta, vía la estimulación de la capacidad de los neutrófilos de ocasionar “hipercitrulinación” de proteínas extracelulares⁽³⁶⁾. Estas observaciones sustentan el hecho de que uno de los marcadores serológicos más específicos para el diagnóstico de la AR en la actualidad sea la presencia de αCCP⁽²²⁾.

Por otro lado, también se han propuesto que elementos propios del sistema inmunológico podrían ser factores importantes en el desarrollo de la AR. El desencadenamiento de la patología implica la pérdida de la tolerancia inmunológica, es decir, el conjunto de mecanismos para inhibir la respuesta inmune frente antígenos propios del hospedero o que en condiciones fisiológicas no activarían las señales de peligro requeridas⁽²⁶⁾. Se ha descrito que la participación de la memoria inmunológica y microambiente inmunológico podrían contribuir en el desarrollo de la AR, desempeñando un papel activo en la evolución de la enfermedad, debido a la participación de diferentes elementos del sistema inmune y citocinas pro-inflamatorias implicadas en la regulación del sistema inmunológico⁽³⁷⁾.

Finalmente, se ha sugerido que la participación de los factores hormonales femeninos contribuye al desarrollo de la AR⁽³⁸⁾. Al parecer, las hormonas femeninas, en particular los estrógenos, tienen efectos estimulantes e inhibidores sobre el sistema inmune⁽³⁹⁾. Los estrógenos en los niveles periovulatorios a los del embarazo estimulan las células B y la respuesta Th2 y apoyan la supervivencia de clones de células T y B autorreactivas^(40, 41). Por otro lado, se propone que los estrógenos ejercen una cierta protección frente a la AR, pues se ha constatado que tanto el consumo de anticonceptivos como el embarazo disminuyen el riesgo del desarrollo de la enfermedad e incluso reducen o retrasan sus manifestaciones de AR⁽³⁸⁾.

1.3. Epidemiología de la AR

La prevalencia de la AR es aproximadamente entre el 0.5 y el 1% a nivel mundial, de la población adulta, siendo más frecuente en mujeres que en hombres (3:1)^(42, 43). En nuestro país, el estudio de prevalencia más completo se realizó entre 2009-2011, para lo cual se siguió la metodología tipo COPCORD y evaluando poblaciones de 5 diferentes regiones (Nuevo León, Chihuahua, Sinaloa, CMX y Yucatán). La metodología COPCORD identifica a los pacientes que cumplan con los criterios para ser considerados AR por evaluación clínica directa, en lugar de esperar que los pacientes acudan al servicio hospitalario. Este estudio mostró una prevalencia de 0.7 y 1.0% para Nuevo León y CMX, respectivamente; de 1.8-1.9% para Chihuahua y Sinaloa, respectivamente y de 2.8% para Yucatán. La prevalencia nacional fue de 1.6%. Este estudio muestra que hay una importante

heterogeneidad entre diferentes regiones de nuestro país, lo cual podría sugerir que los factores (genéticos o no-genéticos) que propician su desarrollo pueden ser muy diferentes; en base a los resultados que obtuvieron, actualmente se considera que México tiene una prevalencia promedio de AR de 1.6%⁽⁴⁴⁾. Es importante resaltar que, aunque se sugiere que la AR no es una enfermedad mortal, se ha descrito que la gravedad de la enfermedad, la actividad y la discapacidad están fuertemente vinculadas a la mortalidad prematura en pacientes con AR⁽⁴⁵⁾. Varios estudios reportan que la mortalidad se incrementa en los pacientes, con respecto a individuos sanos, además de que las complicaciones cardiovasculares y sistemas aumentan considerablemente⁽⁴⁶⁾.

1.4. Fisiopatología de la AR.

La membrana sinovial, correspondiente al epitelio de células fibroblásticas que recubre la parte interna de las articulaciones; la capsula articular presenta un revestimiento celular único en la superficie luminal, las células sinoviales denominadas sinoviocitos, son responsables de la producción de líquido sinovial, absorción de la cavidad articular y los intercambios de sangre / líquido sinovial⁽⁴⁷⁾. La membrana sinovial, está constituida por dos tipos de células características: sinoviocitos de tipo A y B. Los sinoviocitos de tipo A (macrófagos) presenta funciones fagocíticas e interactúan con las CPA; mientras que los sinoviocitos de tipo B (fibroblastos) son las células más abundantes en la membrana sinovial y son productoras del ácido hialurónico, siendo el principal componente del líquido sinovial⁽⁴⁸⁾.

La sintomatología clínica de la AR coincide con dos eventos importantes en la membrana sinovial: la hiperproliferación de los sinoviocitos tipo B y la activación e infiltración de células mononucleares sanguíneas, tales como neutrófilos, células T, células B, monocitos, células dendríticas, células natural killer y células plasmáticas⁽⁴⁹⁾. Las vénulas endoteliales superiores (VEA) son vasos post-capilares especializados que se generan en el tejido linfoide secundario o tejidos no linfoides inflamados y facilitan el tránsito de los leucocitos de la circulación hacia los tejidos, propiciando así la infiltración de células mononucleares hacia la membrana sinovial, lo cual favorece la proliferación de sinoviocitos de tipo B y, por tanto, la sinovitis. Como consecuencia de la hiperproliferación de sinoviocitos tipo B, se genera un nuevo tejido llamado *pannus*, caracterizado por ser una

fuerza importante de metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) y activadores de osteoclastos, lo que eventualmente conduce a la erosión del cartílago y hueso, Figura 3.

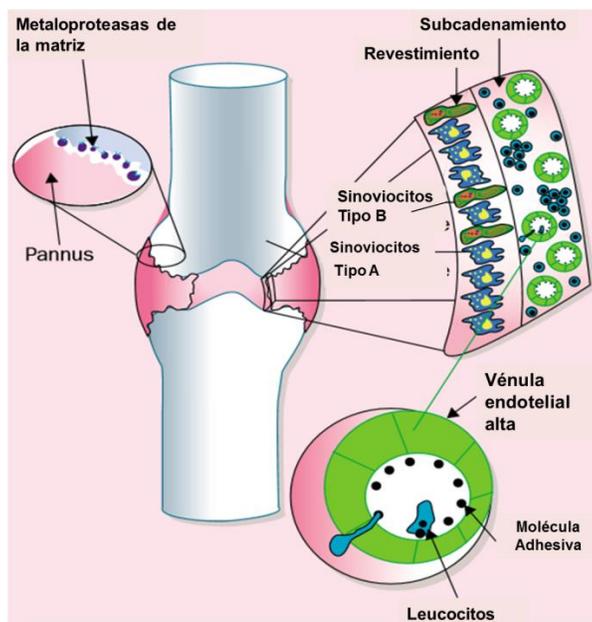


Figura 3. Principales características anatómicas de la articulación inflamada en la AR. La ampliación de la membrana sinovial destaca los principales tipos celulares que la conforman, es decir los sinoviocitos tipo A y tipo B (fibroblasto) de la capa de revestimiento. Se muestra infiltrado de leucocitos y VEA con una mayor expresión de la molécula de adhesión que facilita el reclutamiento de leucocitos a la membrana sinovial inflamada. La interface erosiva entre *pannus* y cartílago / hueso se muestra con expresión de alto nivel de metaloproteasas de matriz. Modificado de Lee y Weinblatt, 2001⁽¹⁾.

Adicionalmente, en este nuevo tejido inflamatorio se alojarán linfocitos T y B activados, favoreciendo la formación de estructuras conocidas como centros germinales, perpetuando la respuesta inmunológica específica y autorreactiva dentro del mismo tejido sinovial⁽¹⁾. Por otro lado, durante la fase inicial o autoinmune en el desarrollo de la AR, las CPA captan antígenos propios (autoantígenos) que son presentados al MHC-II y posteriormente a los linfocitos T CD4⁺ (cooperadores)⁽⁵⁰⁾. Se asume que estos autoantígenos pudieran ser endógenos (proteínas citrulinadas o carbamiladas)⁽⁵¹⁾. Adicionalmente, con base al conocimiento que se tiene sobre los mecanismos de activación de los linfocitos T CD4⁺, se sugiere que la presentación de estos autoantígenos debería coincidir con la pérdida transitoria de la tolerancia inmunológica, lo cual permitiría la activación y selección de clones de linfocitos T específicos en contra de antígenos regionalmente abundantes en las articulaciones⁽⁵²⁾, provocando que se desencadene la producción de autoanticuerpos por la activación de células plasmáticas (linfocitos B), lo

que permitiría la formación de inmunocomplejos a nivel sinovial ya que es una fuente importante de antígeno⁽⁵⁰⁾.

Posteriormente, el proceso inflamatorio agudo en lugar de que la inflamación sea transitoria y autolimitada, como en los individuos sanos, los pacientes con AR progresan hacia un proceso crónico, donde los linfocitos T autorreactivos de memoria (presumiblemente en contra de autoantígenos con modificaciones de colágena, α -enolasa, fibrina, vitamina, etc.), conducirían al desarrollo de una inflamación auto-sostenida. En este contexto, el incremento de las citocinas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-2, IL-6, INF γ y TNF α , juegan un papel clave en los procesos de activación de los linfocitos en el líquido sinovial, la hiperplasia sinovial y el reclutamiento de nuevas células⁽⁵³⁻⁵⁵⁾.

A. Participación de las citocinas en AR

Dado que la enfermedad implica la pérdida de la tolerancia inmunológica, se ha sugerido que la respuesta inmunológica y el microambiente favorecen el desarrollo de la AR, al tiempo que participan de manera activa en la respuesta al tratamiento. Entre los diferentes elementos que participan en la regulación de la respuesta inmune, es importante el papel que desempeñan las citocinas pro-inflamatorias⁽³⁷⁾.

Las citocinas, son proteínas de bajo peso molecular que son secretadas en mayor medida por células del sistema inmune como respuesta a diferentes estímulos. Sin embargo, varias otras células, incluso de origen no hematopoyético, pueden secretarlas⁽⁵⁶⁾. Las citocinas se asocian a una amplia gama de efectos y relaciones, tales como: el sinergismo, el pleiotropismo, la redundancia, el antagonismo y la activación de vías de señalización. En coincidencia con las citocinas, durante el proceso inflamatorio también se expresan y secretan quimiocinas, las cuales funcionarán como quimioatrayentes de diferentes tipos de células hacia la articulación⁽⁵⁷⁾. Aunque los efectos inducidos por las citocinas dependen fundamentalmente del tipo celular, algunas de ellas presentan efectos similares en su capacidad para inducir una respuesta inflamatoria entre los diferentes tipos de células (estimulación del metabolismo celular, de la actividad efectora o proliferación). Estas moléculas son reconocidas como citocinas pro-inflamatorias (aunque esta clasificación es completamente artificial)⁽⁵⁸⁻⁶⁰⁾. Para explicar las diferentes interacciones celulares, las citocinas son elementos de gran importancia, no solo para explicar la respuesta

inflamatoria, si no para entender los eventos que llevan a la cronicidad durante la patogénesis de la AR, como se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1. Relación de citocinas en el desarrollo de la Artritis Reumatoide^(56, 57, 59-66).

Citocina	RIQ [pg/mL]	Célula productora	Función
IL-1 β	12.2	MF; MN; células B; FS y condrocitos	Fiebre. \uparrow Citocinas pro-inflamatorias de FS, MMP, iNOS, PG, activación de osteoclastos.
IL-6	16476.1	MN; FS; Células B y T	Proliferación de linfocitos B y T; producción de Ac; activación de linfocitos CD8+.
IL-8	500	MN; MF; FS	Induce la quimiotaxis y activación de neutrófilos y linfocitos T en la articulación.
IL-10	50.2	Linfocitos T y B; MN; CD	Induce la proliferación de linfocitos Th2; \uparrow Proliferación de MN por IL-1; iNOS.
IL-12 (p40)	0.02	Célula hematopoyética, MF; CD	Maduración y proliferación de células Th1; citotoxicidad de células T y NK; activación de células B.
IL-17A	511.7	Células TH17 y FS	\uparrow Citocinas de FS y MMP; \uparrow Citocinas pro-inflamatorias; Maduración de NK; activación de linfocitos CD8+.
INF γ	66.05	Linfocitos CD4; CD8; NK	Posee efectos inmunomoduladores; quimiotáctico de MN; \uparrow expresión de MHC-1; diferenciación de MN a MF.
Leptina	312.4	Tejido adiposo blanco	En MN y MF: \uparrow la secreción de TNF α , IL-6 y IL-12.
MIF	589.5	MF; células T; FS	\uparrow La fagocitosis del MF; \uparrow Citocinas pro-inflamatorias; iNOS; PG; proliferación del FS.
MCP-1	3748.7	CD8+; MN	Induce la quimiotaxis y activación de MN en la articulación.
TNF α	3.94	FS; NK; neutrófilos; MN; Linfocitos T y B	\uparrow Citocinas pro-inflamatorias de FS; activación de osteoclastos y la diferenciación; MMP; PG; apoptosis.

INF γ : Interferón gamma; MIF: Factor de inhibición de la migración de macrófagos; MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos 1; TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa; MF: Macrófagos; MN: Monocitos; NK: Natural Killer; FS: Fibroblasto sinoviales; CD: Células dendríticas; MMP: Metaloproteasas; iNOS: Óxido nítrico; Ac: Anticuerpos; PG: prostaglandinas; MHC: Complejo de histocompatibilidad; \uparrow : Sobre expresa o incrementa; RIQ: Rango intercuartil.

Las interacciones entre células y citocinas durante la patogénesis de la AR (figura 4), provoca la migración de células inmunes al sitio inflamado, donde interactúan con sinoviocitos locales. Esta interacción conduce a la producción de citocinas que activan las células inmunes y mesenquimales y promueven su propia secreción. Los monocitos secretan IL-6 e IL-1 β y promueven la diferenciación a un fenotipo Th17. Las células Th17

secretan IL-17 que contribuye a la cronicidad, activando a los sinoviocitos y secretando IL-6, mientras que los monocitos, produciendo más IL-1 y TNF. IL-1 y TNF actúan en sinergia sobre los sinoviocitos que secretan IL-6 y el Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). Además también sinergizan las acciones de IL-17 aumentando la producción de IL-6. Los sinoviocitos secretan IL-6, que ejerce una retroalimentación positiva que contribuye a la hiperplasia. IL-6 también activa las células Th17 para producir IL-17. Además, la IL-6 actúa sobre los osteoblastos para producir el Receptor activador para el factor nuclear κ B (RANKL), que estimula los osteoclastos, promoviendo la destrucción ósea. Los osteoclastos también son activados por IL-1 y TNF.⁽⁶⁵⁾

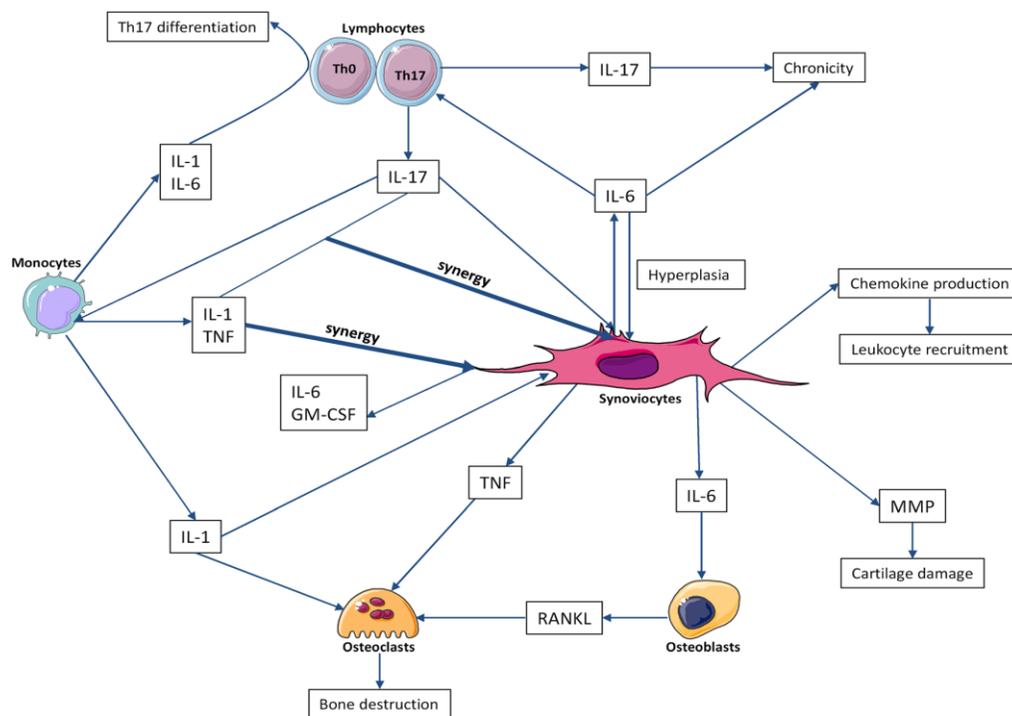


Figura 4. Interacción entre células y citocinas durante la patogénesis de la AR. Las citocinas interactúan entre sí; IL-17 aumenta la producción de IL-1 y TNF por los monocitos. IL-17, IL-1 y TNF estimulan las células del estroma para producir IL-6. Este efecto sinérgico se extiende a la producción de quimiocinas como CCL20, que atrae a células Th17. La sinergia entre IL-1 y TNF induce la expresión de moléculas de adhesión endotelial o GM-CSF por las células sinoviales. Los efectos sinérgicos entre IL-17, TNF e IL-1 se han demostrado en los sinoviocitos, condrocitos, osteoblastos o mioblastos. Además, una acción complementaria de GM-CSF e IL-17 conduce a una mayor inflamación en la AR, que estimula la granulopoyesis y la expansión de CD. De este modo, las citocinas clave implicadas en la patogénesis de AR actúan a menudo en sinergia para aumentar y mantener la inflamación. Noack y Miossec, 2017⁽⁶⁵⁾.

B. Papel del TNF α en AR

El Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es miembro de un grupo de citocinas que estimulan la fase aguda de la inflamación⁽⁶⁶⁾. Es una proteína glicopéptica formada por 185 aminoácidos, y derivada de un propeptido formado por 212 aminoácidos. Genéticamente, el TNF α está relacionado con el cromosoma 6p21⁽⁶⁷⁾. Las funciones biológicas de TNF α dependen de su unión a 2 receptores distintos triméricos de membrana: los receptores 1 y 2 de TNF α (TNFR-I y TNFR-II, conocidos también como p55 o p60 y p75 o p80, respectivamente) se localizan en diversos tipos de células, tales como neutrófilos, leucocitos, células endoteliales y fibroblastos, entre otras⁽⁶⁸⁾. Ambos receptores se expresan en prácticamente todas las células del ser humano; el TNFR-I se expresa en las células nucleadas, mientras que el TNFR-II es altamente regulado y sólo se expresa en células del sistema inmune, endoteliales y nerviosas⁽⁶⁹⁾. El TNFR-I contiene un dominio de muerte celular que media la apoptosis, mientras que el TNFR-II carece de este dominio y no puede mediar dicho fenómeno, pero se ha establecido que este receptor, es una vía importante de expansión o concentración de células T reguladoras (Treg) y la secreción de citocinas pro-inflamatorias⁽⁷⁰⁾. Por otro lado, es bien conocido que la unión del TNF α a los receptores membranales deriva en la fosforilación de I κ B y su consecuente degradación por el proteasoma, lo que permitirá liberar al factor de transcripción nuclear (NF κ B), que podrá entrar al núcleo celular y estimular la transcripción de una serie de genes vinculados en la respuesta de sobrevivencia celular o estimulación de citocinas pro-inflamatorias, favoreciendo así la inflamación⁽⁶⁶⁾.

El TNF α se reconoce como una citocina central en la fisiopatología de la AR, (Figura 5), debido a su amplia variedad de efectos sobre las diferentes células involucradas en la enfermedad, así como por su gran contribución en la respuesta pro-inflamatoria. Entre sus efectos se puede describir: la activación leucocitaria y endotelial, la activación y sobrevivencia de sinoviocitos, la secreción de citocinas y quimiocinas pro-inflamatorias, la angiogénesis y la activación de nociceptores⁽⁵⁷⁾. TNF α , entre varias otras citocinas, promueve la secreción de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17, INF γ , Leptina y GM-CSF. Combinado con el microambiente de citocinas pro-inflamatorias, el TNF promueve la osteoclastogénesis y sobre expresión de los receptores TNFR-I y II. Asimismo, es un potente inductor de la diferencia de osteoclastos, al tiempo que también inhibe la

diferenciación y la función de los osteoblastos, afectando el balance entre la destrucción y la formación del hueso⁽⁶⁵⁾. Sin embargo, sus efectos sobre el metabolismo óseo son dependientes de las interacciones celulares locales, la diferenciación osteogénica de células madre mesenquimales humanas aisladas y su interacción sinérgica con IL-17⁽⁵⁹⁾.

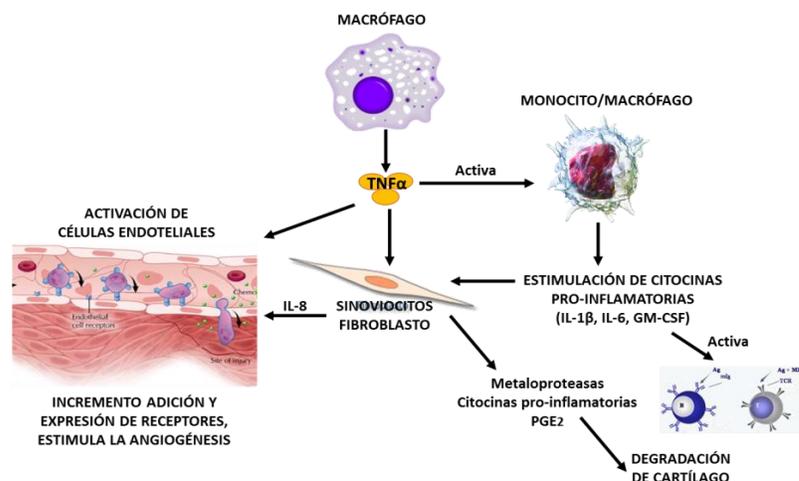


Figura 5. Papel del TNF α en la patogénesis de AR. Esta citocina es secretada por macrófagos y sinoviocitos fibroblasto, tiene múltiples funciones como el incremento de receptores solubles, liberación de citocinas pro-inflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8 GM-CSF, etc.), decremento de receptores de superficie, angiogénesis, producción de MMP y PG.

1.5. Tratamientos

La estrategia terapéutica para el tratamiento de la AR ha cambiado significativamente a lo largo de los últimos 20 años. Ahora el objetivo no es sólo controlar la inflamación sino prevenir la discapacidad y daños estructural y, sobre todo, alcanzar la remisión (ausencia de actividad inflamatoria). En este sentido, el común denominador universalmente aceptado como eficaz para alcanzar estos objetivos es el diagnóstico temprano^(71, 72).

Los Analgésicos Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), disminuyen el dolor y la inflamación, mediante la inhibición de las ciclooxygenas (COX1 y 2) y el bloqueo de la secreción de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas. Sin embargo, se reconoce que su acción solo bloquea los síntomas pero no induce un efecto significativo sobre el curso de la enfermedad⁽⁷³⁾. Por el contrario, su empleo prolongado puede favorecer alteraciones gastrointestinales⁽⁷⁴⁾ y producir efectos cardiovasculares, principalmente infartos^(75, 76). Por otra parte, los glucocorticoides son otra alternativa farmacológica para

controlar los síntomas de pacientes con AR, debido a su potente efecto anti-inflamatorio y analgésico⁽⁷⁷⁾. Sin embargo debido a que presentan diversos efectos adversos (favorece infecciones, riesgo cardiovascular, neoplasia, etc.)⁽⁷⁸⁾, se recomienda su empleo a dosis bajas y periodos cortos⁽⁷⁹⁾.

La primera alternativa de tratamiento empleada por los reumatólogos son los fármacos modificadores de la enfermedad (FARMES), los cuales además de disminuir la inflamación, protegen de los daños estructurales y pueden llevar a la remisión en el 50-80% de los pacientes, sobre todo en aquellos que iniciaron su empleo poco tiempo después del inicio de los síntomas^(80, 81). Sin embargo, existe un porcentaje significativo de pacientes que muestran resistencia a sus efectos, al tiempo que uso prologado con lleva efectos gastrointestinales⁽⁸²⁾. Por otra parte, la alternativa farmacológica más reciente para el control de la AR es el empleo de los agentes biológicos⁽⁸³⁾. Se tratan de proteínas de origen biotecnológico diseñadas para bloquear de manera selectiva factores inmunológicos clave en la generación de la inflamación, por ejemplo: anticuerpos o receptores solubles para bloquear citocinas^(84, 85). A pesar que actualmente se cuenta con tratamientos altamente efectivos basados en el bloqueo selectivo de citocinas que participan en la inflamación articular⁽⁸⁶⁾; debido a su complejidad y costo, los FARMES; en especial en metotrexato (MTX); siguen siendo la primera opción terapéutica aceptada para el tratamiento de los pacientes con AR⁽⁸³⁾.

A. FARMES

Estos fármacos inicialmente fueron empleados para el tratamiento de otras enfermedades, pero fueron adoptados por los reumatólogos debido a su alta eficacia en su efecto modulando la respuesta inmune y en consecuencia la inflamación. Entre este grupo de fármacos se puede encontrar al MTX, la Sulfasalazina, los antimaláricos (cloroquina e hidroxicloloroquina), la Leflunomida, entre otros. Aunque sus mecanismos de acción precisos para inhibir la respuesta inmune solo se han explicado de manera parcial, se reconoce que estos fármacos actúan inhibiendo la secreción de citocinas pro-inflamatorias, la proliferación celular o disminuyendo la interacción entre las células T con las células presentadoras de antígeno. Actualmente, este tipo de medicamentos constituyen la primera

alternativa de tratamiento para el control de la AR, ya sea en esquemas de monoterapia o combinados^(87, 88).

De los fármacos antes mencionados, el más comúnmente empleado para el tratamiento de la AR es el MTX. Este compuesto tiene una estructura similar al ácido fólico y su mecanismo de acción es interviniendo en el metabolismo de las purinas y pirimidinas, lo lleva a una inhibición de la síntesis del ADN en células en proliferación⁽⁸⁹⁾, Figura 6. De esa manera, se ha demostrado que el MTX induce efectos inhibitorios en los tejidos con índices elevados de proliferación celular como son la medula ósea, tracto gastrointestinal, células fetales, espermatogonias y células del sistema inmune. Este efecto es debido principalmente a la inhibición de la dihidrofolatoreductasa (DHFR), la cual es la enzima encargada de mantener la concentración intracelular de folatos en su forma reducida y dando lugar a tetrahidrofolato, que al inhibirse conduce a daño y la ruptura de las cadenas de DNA⁽⁸⁰⁾.

El MTX entra a la célula por transporte activo donde mantiene un gradiente de concentración y está disponible para las reacciones dependientes de folato, prolongando la retención del fármaco dentro de la célula e incrementando su citotoxicidad. Además, por su bajo costo, fácil administración e importante efecto sobre la inflamación, este es el fármaco más empleado y con mayor evidencia a su favor para el tratamiento de la AR⁽⁹⁰⁾.

Quizás su efecto más relevante es el hecho de que no sólo disminuye la inflamación y dolor, sino puede alterar la historia natural de la AR, posiblemente por el efecto citotóxico de las clonas autorreactivas, “modificando la enfermedad”. Sin embargo su efecto en el control de la inflamación es tardío teniendo que esperar al menos 6 meses después del inicio del tratamiento antes de observar un efecto terapéutico significativo, enfatizando la importancia de iniciar su uso desde el inicio de los síntomas^(89, 90).

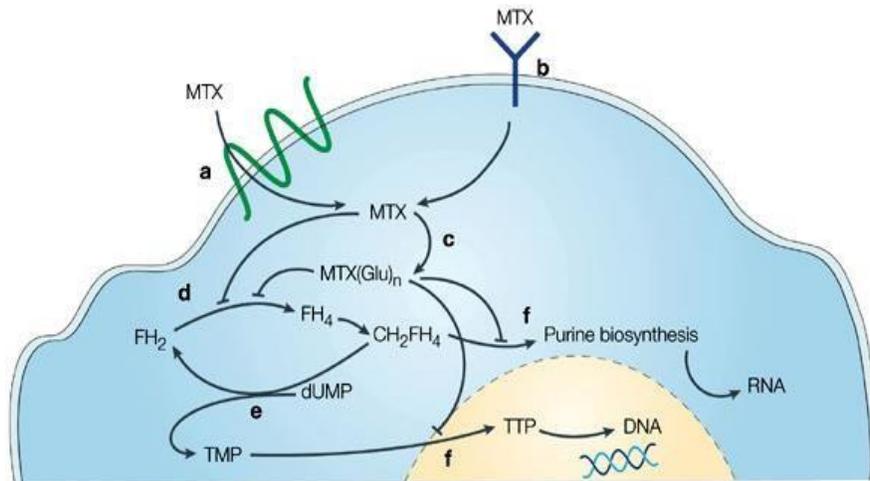


Figura 6. Mecanismo de acción del MTX. Su entrada a la célula es a través del transportador de folato reducido (a) usando una vía endocítica activado por un receptor de folato (b). Después de entrar en la célula, el MTX es poliglutamado (Glu) por la enzima folilpoliglutamato sintasa (c). El MTX y sus poliglutamatos inhiben la enzima DHFR (d), bloqueando de este modo la conversión de dihidrofolato (FH_2) a tetrahidrofolato (FH_4). A medida que se agotan las reservas de tetrahidrofolato, la síntesis de timidilato (TMP) (e) se reduce, y esto en última instancia inhibe la síntesis de ADN (f). Los poliglutamatos de cadena larga de MTX tienen la misma afinidad que MTX por la DHFR, pero incrementan notablemente los efectos inhibitorios tanto sobre la timidilato sintasa (e) y la biosíntesis de purina (f), que se requiere para la producción de ARN. Tomado de Genestier *et al*, 2000⁽⁸⁹⁾.

B. Agentes biológicos

Los agentes biológicos o medicamentos biotecnológicos, tales como anticuerpos monoclonales o dominios proteínicos recombinantes, los cuales afectan específicamente los efectos inflamatorios producidos por las citocinas, quimiocinas. Esto lo logran a través del bloqueo de receptores membranales de las células del sistema inmunológico, o formando complejos con su blanco que al final impide que este se una a su receptor en la célula blanco⁽⁸⁵⁾. Debido a que hay cierto porcentaje de pacientes que no responde favorablemente a los tratamientos con FARMES, sus alternativas eran muy limitadas hasta hace unos 20 años⁽⁹¹⁾. En ese sentido, los agentes biológicos o FARMES biológicos vinieron a cambiar el paradigma de tratamiento de la AR⁽⁸⁴⁾.

En 1998 la Agencia de Control de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, del inglés Food and Drug Administration), aprobó la venta del primer medicamento biotecnológico para el control de las AR⁽⁹²⁾. Se trata de un anticuerpo monoclonal quimérico con especificidad para reconocer y “secuestrar” a la molécula pro-inflamatoria

TNF α (Infliximab); dado que fisiológicamente, la citocina TNF α regula, de manera directa e indirecta, varias rutas que ocasionan la respuesta inflamatoria⁽⁹³⁾. Por otra parte, los macrófagos sinoviales juegan un papel importante durante el desarrollo de la AR, secretan TNF α , que induce la producción de citocinas pro-inflamatorias y MMP^(56, 94), el tratamiento con antagonistas de TNF ha demostrado ser altamente eficaz desde el punto de vista clínico y retrasar la destrucción articular en AR^(95, 96). De esa manera, el bloquear de manera selectiva este mensajero sugería la posibilidad de controlar farmacológicamente la inflamación⁽⁹³⁾.

La aprobación se basó en una revisión de prioridad de datos de 54 semanas del ensayo “Una enfermedad de Crohn Ensayo clínico Evaluación de infliximab en un nuevo régimen de tratamiento a largo plazo II” (ACCENT II, del inglés A Crohn’s disease Clinical trial Evaluating infliximab in a New long-term Treatment régimen II), el ensayo clínico más grande en 273 pacientes con la enfermedad de Crohn con fistulización, que se realizó en 45 sitios en Norteamérica, Europa e Israel. La FDA otorga el estado de revisión de prioridad a los productos que se consideran un posible avance terapéutico significativo sobre las terapias existentes. En la semana 14, el 65% (177/273) de los pacientes estaban en respuesta a la fístula. Pero en la semana 54, el 38% de los pacientes tratados con Infliximab no tenían fístulas⁽⁹⁷⁾.

1.6. Agentes bloqueadores de TNF α

En la actualidad existen en el mercado varios fármacos que inhiben las acciones de TNF α , pero los más utilizados para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas, son Infliximab (IFX), Adalimumab (ADA) y Etanercept (ETA). Los mecanismos a través de los cuales estos fármacos inhiben las acciones de TNF α son dos. IFX y ADA se unen al TNF α formando un complejo anticuerpo-TNF α y por lo tanto no pueden interaccionar con sus receptores. Mientras que ETA se une al receptor soluble de TNF, como se ilustra en la figura 7 y por lo tanto TNF no puede unirse a su receptor. El uso de inhibidores de TNF α ha significado un avance sustancial en el tratamiento de AR debido a su alta eficacia en el control de esta enfermedad⁽⁹⁸⁾.

El papel clave del TNF α en el desarrollo de la AR es el motivo por el cual los bloqueadores de esta citocina a nivel sanguíneo han mostrado un efecto muy positivo no

sólo para disminuir los síntomas inflamatorios de la enfermedad sino también para modificar su evolución y prevenir daños estructural a nivel articular⁽⁹⁹⁾. Por otro lado, se ha demostrado que al bloquear el TNF α , se induce apoptosis específica de tipo celular en la población de monocitos / macrófagos⁽¹⁰⁰⁾. Esto sugiere una vía potencial que explicaría la disminución de la inflamación sinovial y la disminución del número de macrófagos sinoviales evidente después del bloqueo del TNF α ⁽¹⁰¹⁾.

Por otro lado, la remisión clínica representa una ausencia de actividad de la enfermedad. Los criterios para la definición de remisión que el comité de expertos del Colegio Americano de Reumatología (ACR, del inglés American College of Rheumatology) y la EULAR consensuó en el 2012 para su uso en ensayos clínicos en pacientes con AR⁽¹⁰²⁾. En las enfermedades crónicas como la AR es necesario valorar la respuesta al tratamiento, por lo que se han desarrollado herramientas que puedan evaluar cambios en la actividad de la enfermedad. Para AR, tanto en los ensayos clínicos como en la práctica clínica, se han utilizado multitud de medidas que hacían muy difícil la comprensión y la homogeneización de los resultados⁽¹⁰³⁾.

El criterio EULAR se calcula utilizando el índice de puntuación de actividad de la enfermedad (DAS, del inglés Disease Activity Score) y su modificación, el índice puntuación de actividad de la enfermedad sobre 28 articulaciones (DAS28, del inglés Disease Activity Score 28), clasificando la mejoría en: ausente, moderada y buena. Para el uso de estos criterios no sólo es necesaria una mejoría sustancial del índice DAS28, que se define como un cambio de 1.2 puntos desde la semana basal a un tiempo determinado de la evolución de la enfermedad, sino que también es importante considerar el grado de actividad del paciente después del tratamiento (alto, moderado o bajo)⁽¹⁰⁴⁾. Una mejoría ACR20 requiere una mejoría de, al menos, un 20% en el número de articulaciones dolorosas y tumefactas. Una respuesta ACR 50, 70 o 90 requieren al menos una reducción del 50, el 70 o el 90%, respectivamente⁽¹⁰⁵⁾.

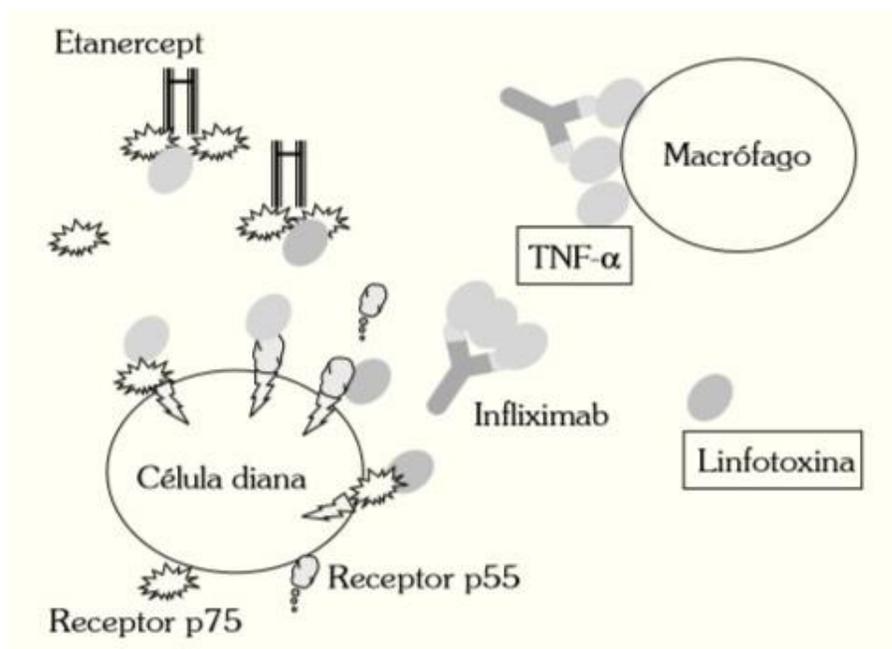


Figura 7. Mecanismos de acción de los fármacos anti-TNF α . El TNF α existe en dos formas, soluble y transmembrana. Los receptores p55 y p75 son comunes para TNF α y linfotóxina; al unirse a su receptor provocan la señal de transcripción celular. ETA es capaz de unirse a TNF α y linfotóxina y evitar su unión con los receptores celulares. IFX se une sólo a TNF α ; al unirse a las moléculas adheridas a membrana de macrófagos y provocar su lisis. El mecanismo de acción de ADA es similar. Tomado de Marengo de la Fuente, 2005⁽⁹⁸⁾.

A. INFLIXIMAB

Su nombre comercial es REMICADE[®]; es un anticuerpo quimérico de origen murino donde se han sustituido las regiones conservadas (Figura 8), tanto de las cadenas pesadas como ligeras de las inmunoglobulinas, por la contraparte humana de IgG1^(106, 107). Al ser una inmunoglobulina de subclase IgG1 puede también inducir la lisis de las células que expresan TNF α unido a la membrana celular. Su mecanismo de acción es dependiente de su capacidad neutralizante del TNF α libre e impide que se pueda unir a sus receptores de membrana y, por tanto, bloquear sus efectos inflamatorios^(108, 109). IFX fue aprobado por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, del inglés European Medicines Agency) para el tratamiento de pacientes con AR activa que hayan mostrado una respuesta inadecuada a los Medicamentos Antirreumáticos Modificadores de la Enfermedad (DMARDs, del inglés Disease-Modifying Antirheumatic Drugs) incluyendo el MTX. También está indicado para el tratamiento de la espondilitis anquilosante, la artritis psoriásica, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa y la psoriasis. En pediatría está indicado para la enfermedad de Crohn y

la colitis ulcerosa. Se administra por vía intravenosa a dosis que varían de acuerdo con la enfermedad y la respuesta clínica. En la AR se utiliza en asociación con MTX, generalmente a una dosis de 3 mg/kg en las semanas 0, 2, 6 y posteriormente cada 8 semanas⁽¹¹⁰⁾. Los Parámetros farmacocinéticos de IFX son: AUC_{0-T} 11,100 mg h/L, C_{max} 77.3 mg/mL, $T_{1/2}$ 0.2 días, CL 0.37 L/días, Vd 0.36, eliminación 9.2 días^(111, 112).

En relación a los ensayos clínicos publicados que han probado la eficacia del IFX en la prevención del daño articular; el ensayo anti-TNF en la AR con terapia concomitante (ATTRACT, del inglés Anti-TNF Trial in RA with Concomitant Therapy), demostraron que IFX a dosis de 3 mg/kg combinado con MTX inhibe tanto las erosiones como el estrechamiento del espacio articular en forma más eficiente que el MTX en monoterapia⁽¹¹³⁾. Estos datos coincidieron con los resultados del estudio “controlado activo de pacientes que reciben IFX para el tratamiento de la AR de inicio temprano” (ASpiRE, del inglés Active-Controlled Study of Patients Receiving IFX for the Treatment of RA of Early Onset) que indican que la combinación de IFX y MTX reduce la progresión del daño estructural, especialmente en la etapa temprana de la enfermedad⁽¹¹⁴⁾. La eficacia de IFX en los diferentes ensayos clínicos se estudió en un metaanálisis que incluyó 2.129 pacientes procedentes de 6 estudios clínicos. Evaluaron la respuesta ACR (mejoría en el número de articulaciones dolorosas, tumefactas) entre las 14 y las 30 semanas de tratamiento con IFX combinado con MTX, comparándolo con el grupo control tratado con placebo en combinación con el MTX. En el grupo tratado con IFX en relación al grupo control, el riesgo relativo (RR) de alcanzar la respuesta ACR20 ($\geq 20\%$ de la mejoría en el número de articulaciones dolorosas, tumefactas) fue de 1.87 (59% de los pacientes tratados con IFX vs 31% el grupo control). La respuesta ACR50 ($\geq 50\%$ de la mejoría en el número de articulaciones dolorosas, tumefactas) se observó con un RR de 2.68 (33% de los pacientes tratados con IFX vs 12% el grupo control) y el RR de alcanzar la respuesta ACR70 ($\geq 70\%$ de la mejoría en el número de articulaciones dolorosas, tumefactas) fue de 2.68 (17% de los pacientes tratados con IFX vs 5% el grupo control)⁽¹¹⁵⁾.

Por otro lado, los efectos adversos más comunes con IFX solo se observó en más de 1 paciente de cada 10; las infecciones virales como (gripe o herpes labial), dolor de cabeza, infección del tracto respiratorio superior (resfriados), sinusitis (inflamación de los senos paranasales), náuseas (sensación de malestar), dolor abdominal (dolor de estómago),

reacciones relacionadas con la infusión y dolor. Asimismo, el IFX no debe usarse en pacientes que hayan experimentado hipersensibilidad (alergia) al IFX en el pasado, o que sean hipersensibles (alérgicos) a proteínas de ratón o a cualquiera de los demás componentes y no debe usarse en pacientes con tuberculosis, otras infecciones graves o insuficiencia cardíaca moderada o grave (incapacidad del corazón para bombear suficiente sangre alrededor del cuerpo)⁽¹¹⁰⁾.

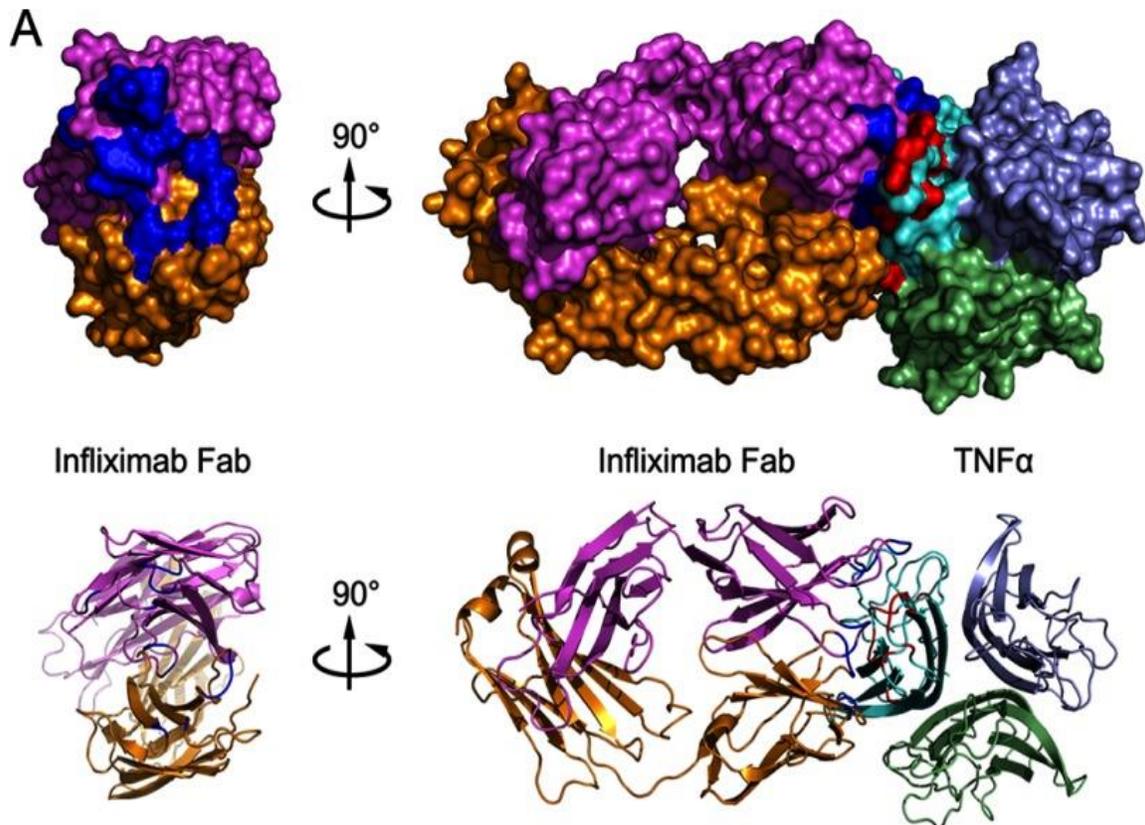


Figura 8. Diseño de la Molécula de TNF α -infliximab. Representación de la superficie y diagramas del Fab de infliximab (izquierda) y el complejo Fab de TNF α -infliximab (derecha). La cadena ligera y la cadena pesada del Fab de infliximab se ilustran en color dorado y magenta, respectivamente. El trímero de TNF α es de color verde, azul y cian. Las superficies de contacto resaltan en azul en infliximab Fab y en rojo en TNF α . Estructura correspondiente a las superficies que se muestran arriba con el mismo esquema de color. Tomado de: Liang, S. et al, 2013⁽¹¹⁶⁾.

B. ADALIMUMAB

Su nombre comercial es Humira®; es un anticuerpo completamente humanizado dirigido en contra de TNF α (Figura 9), donde sólo las regiones CDR son de origen murino, lo cual en principio significa menor antigénicidad^(117, 118). A semejanza de IFX, ADA se une con gran especificidad y afinidad al TNF α , bloquea eficientemente la función biológica del TNF α soluble y unido a membranas, evitando así su unión con los receptores celulares de la superficie celular. Además ADA forma complejos triméricos, relativamente grandes y estables, con un aclaramiento rápido y eficiente del organismo⁽¹¹⁹⁾. ADA fue aprobada por la EMA en el 2003 para el tratamiento de pacientes adultos con AR moderada a grave que no hayan respondido adecuadamente a otros DMARDs. Puede utilizarse en pacientes con AR grave que no hayan utilizado MTX previamente. También está indicado para el tratamiento de la espondilitis anquilosante, la artritis psoriásica, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis y en niños con artritis idiopática juvenil. La dosis recomendada de ADA es de 40 mg cada dos semanas por vía subcutánea⁽¹²⁰⁾. Los Parámetros farmacocinéticos de ADA son: AUC_{0-T} 1830 \pm 850 mg h/L, Cmax 7.7 \pm 3.4 mg/mL en a 90 \pm 48 hrs, T $\frac{1}{2}$ 1 días, CL 0.22 L/días, Vd 0.13, eliminación 17.8 días^(111, 112).

En relación a los ensayos clínicos publicados que han probado la eficacia del ADA; el estudio PREMIER⁽¹²¹⁾, un estudio multicéntrico, aleatorio, doble ciego que evaluaron la eficacia de la terapia combinada de ADA + MTX frente a MTX o ADA en monoterapia en pacientes con AR precoz (duración de la enfermedad menor a tres años) que no habían tenido tratamiento previo con MTX, concluyó que los pacientes con AR que fueron tratados durante seis meses con un tratamiento combinado de ADA y MTX, presentaron una progresión radiográfica significativamente menor que los pacientes tratados con MTX o ADA en monoterapia. En el estudio ARMADA⁽¹²²⁾, evaluaron la eficacia a largo plazo de ADA + MTX frente ADA o MTX en monoterapia y placebo + MTX en pacientes con AR. La eficacia, tanto en la terapia combinada como en la monoterapia, el ADA se asoció con mejoría significativa de acuerdo a las respuestas ACR20, ACR50 y ACR70 con respecto al grupo placebo combinado con MTX. También se observó una reducción significativa del daño estructural. En el ensayo de seguridad de adalimumab en la artritis reumatoide (STAR, del inglés The Safety Trial of Adalimumab in Rheumatoid Arthritis), evaluaron la eficacia del ADA en combinación con otros DMARDs tradicionales diferentes al MTX.

Comparando con el grupo placebo, la adición de ADA al tratamiento de la AR consiguió una mayor respuesta ACR20, ACR50 y ACR70 en la semana 24 de tratamiento. El estudio STAR fue el primero en evaluar la eficacia de un anti-TNF α con otros DMARDs tradicionales diferentes al MTX⁽¹²³⁾.

Por otro lado, los efectos adversos más comunes con ADA solo se observó en más de 1 paciente de cada 10; son infecciones (incluidas la nariz, la garganta y los senos), reacciones en el sitio de inyección (enrojecimiento, picazón, sangrado, dolor o hinchazón), dolor de cabeza y músculos y huesos dolor. Asimismo, el ADA y otros medicamentos de su clase también pueden afectar la capacidad del sistema inmunitario para combatir las infecciones y el cáncer, y ha habido algunos casos de infecciones graves y cánceres de sangre en pacientes que usan ADA. El ADA no debe utilizarse en pacientes con tuberculosis activa u otras infecciones graves, o en pacientes con insuficiencia cardíaca moderada a grave⁽¹²⁰⁾.

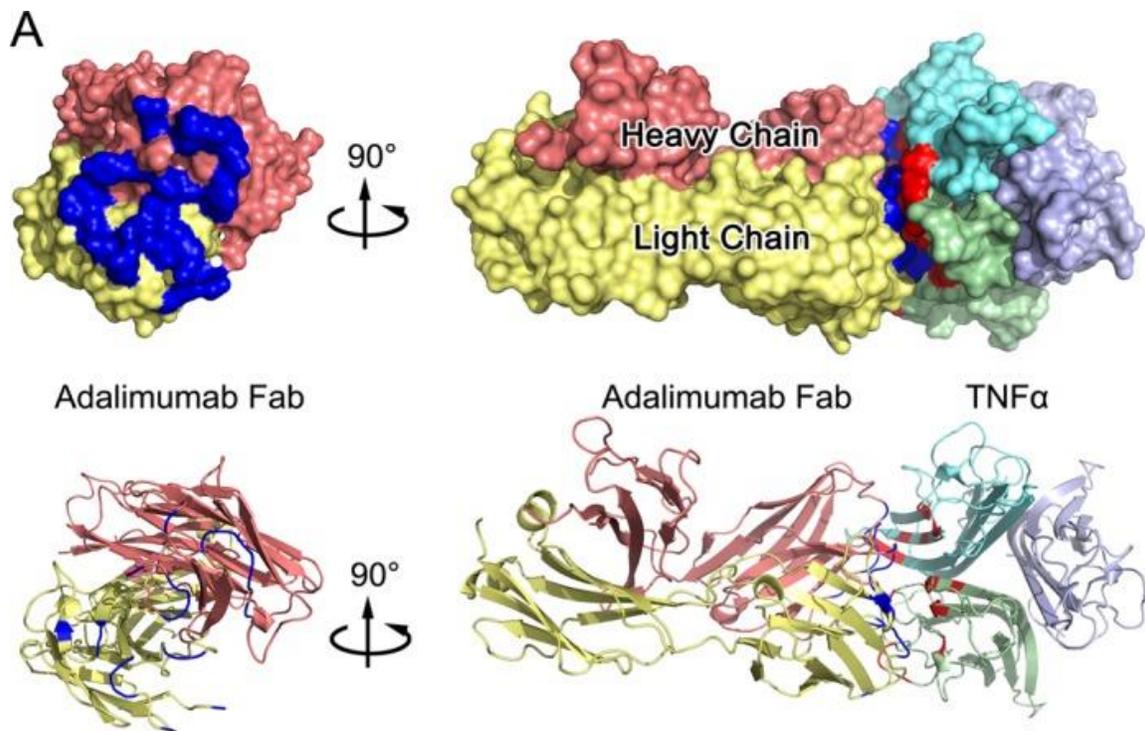


Figura 9. Diseño de la Molécula de TNF α -adalimumab. Representación de la superficie y estructura de Fab de Adalimumab (izquierda) y el complejo Fab de TNF α -adalimumab (derecha). La cadena ligera y las cadenas pesadas del Adalimumab Fab son de color amarillo y rojo respectivamente, mientras que las moléculas de TNF α son de color verde, azul y cian. Las superficies de contacto se resaltan en azul en Adalimumab y rojo en TNF α . Estructura correspondiente a las superficies que se muestran arriba con el mismo esquema de color. Tomado de: Hu, S. et al, 2013⁽¹²⁴⁾.

1.7. Inmunogenicidad

La inmunogenicidad se puede definir como la capacidad que posee una determinada sustancia o molécula pueda inducir una respuesta inmune específica humoral o celular⁽¹²⁵⁾. En el caso particular de los medicamentos biológicos, la inmunogenicidad lleva a la generación de anticuerpos específicos en contra de estos fármacos a los que se les denomina como anticuerpos anti-fármacos (AAF) y varios estudios han confirmado que la mayoría de los biológicos son inmunogénicos, y la incidencia de AAF puede alcanzar más del 90%, aproximadamente^(126, 127). Es importante destacar que la incidencia de AAF puede variar mucho entre productos de la misma clase y diferentes poblaciones de pacientes, lo que obstaculiza las predicciones de inmunogenicidad y necesitan pruebas confirmatorias clínicas. Tales diferencias se pueden reflejar en métodos bioanalíticos dispares y el enfoque de interpretación⁽¹²⁸⁾.

Por otro lado, cuando los fármacos administrados son de bajo peso molecular, la posibilidad de generar inmunogenicidad es muy baja; sin embargo, esta se incrementa cuando los fármacos son de naturaleza proteína^(129, 130). Asimismo, debido al hecho de que los medicamentos biológicos se administran por vía parenteral (intravenosa o subcutánea) sea más probable que se expresen los AAF. Sin embargo, en caso de que los anticuerpos presenten una alta afinidad por las regiones del fármaco requeridas para reconocer o neutralizar el blanco terapéutico, esto podría ocasionar una disminución de su biodisponibilidad, incapacidad de unirse a su diana y como consecuencia una disminución o pérdida del efecto terapéutico del fármaco. En el medio clínico, la pérdida del efecto terapéutico se conoce como falla terapéutica secundaria, es decir, los pacientes responden al tratamiento al principio, pero con el tiempo van empeorando. En este contexto, varios estudios recientes sugieren que la inmunogenicidad podría ser uno de los mecanismos responsables de este efecto⁽¹³¹⁻¹³³⁾. En términos generales, se sugiere que los principales factores que favorecen la respuesta inmunogénica en contra de los medicamentos biotecnológicos son la estructura de la molécula, la formación de complejos inmunológicos, esquema de tratamiento⁽¹³⁴⁾, factores genéticos, fármacos inmunosupresores asociados, comorbilidades, la duración del tratamiento. Así también la vía de administración, dosis e intervalos de aplicación, la proteína misma, excipientes de formulación, estabilidad y

condiciones de conservación pueden afectar de forma significativa esta respuesta inmunogénica⁽¹³⁵⁻¹³⁷⁾.

Asimismo, debido al hecho de que la respuesta en contra de los fármacos biotecnológicos es fundamentalmente policlonal, no es fácil prever las consecuencias clínicas de la inmunogenicidad del fármaco biotecnológico⁽¹³⁸⁾. Así, se reconoce que la capacidad para formar complejos multiméricos es muy diferente entre los isotipos o subclases de AAF.

A. Anticuerpos anti-fármaco neutralizantes de anti-TNF α

Los primeros FARMES “biológicos” aprobados para el tratamiento de enfermedades autoinmunes fueron los inhibidores del TNF α . Estos fármacos han permitido en muchos casos, el control y la remisión de pacientes con AR⁽⁹²⁾. A nivel clínico, la remisión clínica se define como la ausencia completa de actividad de la enfermedad o nivel bajo de actividad de la enfermedad que no es molesto para el paciente⁽¹⁰²⁾. Sin embargo, sea reportado en varios estudios que su continua aplicación puede generar AAF en algunos pacientes, provocando la neutralización del fármaco⁽¹³⁹⁾. En el caso de anticuerpos quiméricos (IFX) se produce anticuerpos contra la parte murina; estas proteínas derivadas del ratón tienden a ser más inmunogénicas, mientras que los anticuerpos totalmente humanizados (ADA) desarrollan menos frecuencia de AAF⁽¹⁴⁰⁾. Por otra parte, la frecuencia con la que se pueden detectar anticuerpos contra IFX en el suero de los pacientes oscila entre el 7% y el 53%. Con respecto a ADA, la frecuencia de la detección de anticuerpos contra ADA en el suero de los pacientes varía de 1% a 31%⁽¹³⁹⁾.

Por otra parte, los AAF pueden clasificarse en dos tipos: anticuerpos no neutralizantes y anticuerpos neutralizantes^(129, 138, 141, 142). Estos últimos son los anticuerpos que presenta selectividad hacia las regiones variables de las cadenas de inmunoglobulinas; que son los dominios responsables de unirse al blanco terapéutico, como se observa en la Figura 10. Varios estudios clínicos han confirmado que la presencia de AAF neutralizantes se asocia con la disminución en la eficacia del medicamento biotecnológico y la falla terapéutica^(143, 144). El estudio realizado por Radstake et al. 2009⁽¹⁴³⁾, en pacientes con AR, determinaron concentraciones séricas bajas de IFX incluso 2 meses después del inicio del tratamiento se correlacionaron con la formación de AAF y predijeron la falla terapéutica.

Con respecto a ADA, un estudio de 2013 que incluyó a 221 pacientes con AR tratados con ADA demostró una relación entre los niveles mínimos del fármaco y la eficacia clínica. En ese estudio, los niveles mínimos de 5-8 $\mu\text{g/ml}$ fueron suficientes para mantener una buena eficacia clínica en el paciente. Es importante destacar que estos niveles mínimos fueron influenciados sustancialmente por la medicación concomitante con metotrexato⁽¹⁴⁵⁾.

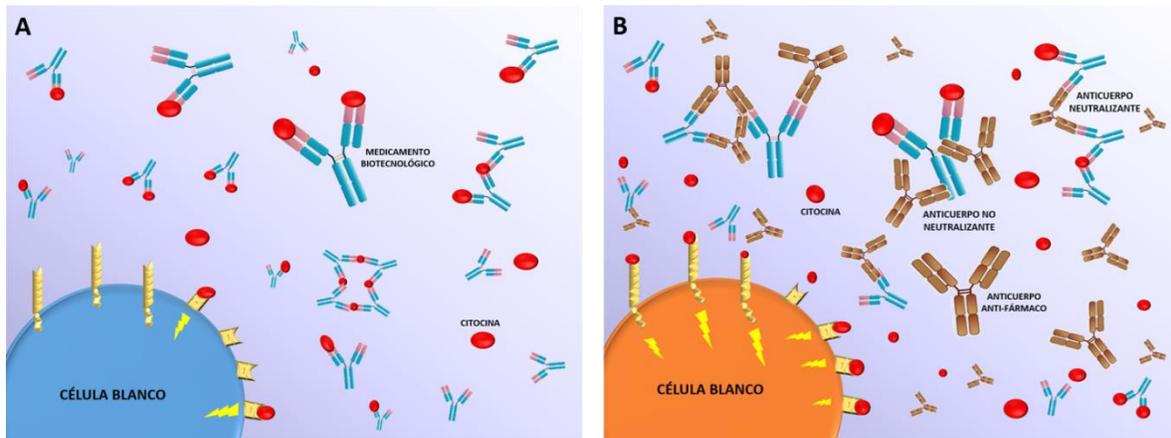


Figura 10. Efecto de los AAF sobre el efecto funcional de los bloqueadores de TNF α . A) La presencia de Anticuerpos anti-TNF α bloquean específicamente la molécula de interés evitando su unión al receptor de su célula blanca. B) La presencia de los AAF neutralizantes ocasionará el bloqueo del anticuerpo anti-TNF α llevando a la pérdida de su eficacia terapéutica. Ortiz-Saldivar, E. A. et al, 2017⁽¹⁴⁶⁾.

Por otro lado, recientemente se publicó el año pasado un artículo de revisión por el Colegio Mexicano de Reumatología, donde realizaron la búsqueda de estudios publicados sobre la efectividad y seguridad de los medicamentos biocomparables⁽¹⁴⁷⁾. Asimismo, destacan 2 estudios realizados por los programas PLANETRA⁽¹⁴⁸⁾ y PLANETAS⁽¹⁴⁹⁾, donde compararon la molécula biocomparable de infliximab (CTP-13) frente a la molécula original de IFX, para evaluar la eficacia y seguridad del cambio del producto de referencia a un biocomparable, el cual, fue realizado a un tiempo basal, después dan seguimiento y posteriormente realizaron una extensión del estudio,⁽¹⁴⁷⁾.

El estudio PLANETRA, llevado a cabo en pacientes con AR, reportaron la presencia de AAF a la semana 14 para los grupos de CTP-13 e infliximab de (25.4% vs 25.8%), en la semana 30, reportan (48.4% vs 48.2% de AAF) y para la semana 54, reportan (49.1% vs 48.3% de AAF), respectivamente. En el estudio de extensión, el grupo pacientes tratados con CTP-13 permaneció con el mismo tratamiento y en el caso grupo de pacientes tratados con Infliximab, se cambió a la molécula CTP-13; mostraron presencia de AAF en

la semana 78 de (44.7% vs 46.2%) y a la semana 102, reportaron (40.3% vs 44.8% de AAF), respectivamente⁽¹⁴⁸⁾. El estudio PLANETAS, fue llevado a cabo en pacientes espondilitis anquilosante, reportaron presencia de AAF a la semana 14 para los grupos de CTP-13 e infliximab de 9.1% y 11%, en la semana 30, reportan (27.4% vs 22.5% de AAF) y para la semana 54, reportan (19.5% vs 23% de AAF), respectivamente. En el estudio de extensión se reportó la presencia de AAF en los grupos de permanencia (Pacientes tratados con CTP-13) y en los de cambio (pacientes tratados con infliximab y cambiaron a CTP-13); mostraron presencia de AAF en la semana 78 de (23.3% vs 29.8%) y a la semana 102, reportaron (23.3% vs 27.4% de AAF), respectivamente⁽¹⁴⁹⁾. Concluyeron que al cambiar la molécula original de infliximab por su biocomparable CTP-13 no presentan efectos deletéreos en la eficacia, la seguridad o la inmunogenicidad comparado con el uso continuo de CTP-13⁽¹⁴⁷⁾.

B. Efecto clínico de los anticuerpos anti-fármaco

Varios estudios han mencionado la importancia clínica de los AAF, al observar sus efectos sobre la farmacocinética del biológico y, como consecuencia en la actividad clínica del paciente⁽¹⁵⁰⁾. El primer estudio fue realizado por St Clair et al. 2002, donde describen la asociación de las concentraciones valle de IFX y respuesta clínica; al usar los datos obtenidos del DAS28, en combinación de un marcador biológico (PCR o VSG) y la opinión global del paciente utilizando la “escala de actividad de la enfermedad”. Determinaron la respuesta al tratamiento como buena, moderada o pobre respuesta en los pacientes⁽¹⁵¹⁾, utilizando los criterios de ACR/EULAR⁽¹⁰²⁾.

La frecuencia de AAF y concentración de fármaco, varía entre los estudios en función de la sensibilidad del método de detección o los kits comerciales disponibles, pero la prueba más utilizada es la técnica de ELISA⁽¹⁵⁰⁾. Es notable observar que el porcentaje de pacientes que desarrollan AAF puede ser muy alto para el caso de IFX, en comparación con ADA; lo cual se puede explicar por el hecho de que IFX es un anticuerpo quimérico, mientras que ADA es totalmente humanizado⁽¹⁴³⁾. En la tabla 2, se observa una relación de estudios de inmunogenicidad de pacientes con AR tratados con IFX o ADA, estos estudios fueron realizados en diferentes partes del mundo para determinar la prevalencia de AAF. Asimismo, los diferentes estudios coinciden con la dosis establecida por la EMA, pero se

observó que los médicos ajustaron la dosis en algunos pacientes que no responden adecuadamente al tratamiento inicio. Por último, los AAF se asociaron con el incremento de la actividad clínica (DAS28) en los pacientes, pero podemos observar que algunos estudios no mostraron el efecto clínico por los AAF con respecto al DAS28, solo reportan falla al tratamiento, pero para cumplir este criterio por la ACR/EULAR deben mostrar que el incremento de actividad clínica ante presencia de AAF.

Por otro lado, se ha descrito que cuando hay presencia de AAF, las concentraciones de fármaco libre generalmente no son detectables, dependiendo del punto de corte del kit utilizado⁽¹⁵²⁾. En un estudio publicado este año por Balsa et al. 2018, realizó la correlación entre AAF, concentración de fármaco libre y marcadores de AR. 570 pacientes tratados con bloqueadores de TNF α (ETA, IFX y ADA) fueron incluidos en el estudio y 114 pacientes dieron positivo para AAF; en general, 92/114 (80.7%) pacientes que dieron positivo para AAF no tenían niveles detectables del fármaco en el suero. Los pacientes tratados con ADA, 52/63 (82.5%) que dieron positivo para AAF no tenían niveles detectables del fármaco. Del mismo modo, en pacientes tratados con IFX, 40/51 (78.4%) dieron positivo para AAF y no tenían niveles detectables del fármaco. Reportaron que su análisis no pudo realizarse en pacientes tratados con ETN porque ninguno de ellos desarrolló AAF⁽¹⁵³⁾. Por otro lado, otros estudios también confirmaron que la presencia de AAF disminuye los niveles biodisponibilidad del fármaco en circulación en el suero^(143, 154-156). Sin embargo, se ha reportado en varios estudios que el empleo combinando de los medicamentos biotecnológicos con inmunosupresores tales como MTX, Leflunomida, etc., limita el desarrollo de AAF y los efectos adversos relacionados^(157, 158).

Otro punto importante, es lo reportado de la asociación de AAF y el riesgo de las reacciones relacionadas con la infusión, fue realizado por Wolbink et al. 2006, detectaron la presencia de AAF en 3/51 (5.9%) pacientes tratados con IFX que presentaron una leve reacción relacionada con la infusión, pero la mayoría de los pacientes con AAF no muestran una reacción de este tipo⁽¹⁵⁹⁾. En otros estudios, la asociación positiva de AAF y el riesgo de las reacciones relacionadas con la infusión, fue positiva particularmente en pacientes con altos niveles de AAF^(155, 160).

1.8. Biomarcadores predictivos de la inmunogenicidad

La introducción de terapias biológicas en el tratamiento de la AR representó un importante paso adelante para un mejor control de la enfermedad. Una mejor comprensión del mecanismo fisiopatológico de la AR permitiendo el desarrollo de terapias biológicas que actúan en diferentes niveles de la patología de la AR⁽¹⁶¹⁾. A pesar de esto, y como lo mencionamos anteriormente, varios estudios informaron que aproximadamente un 20-40% de los pacientes con AR no responde a estos tratamientos⁽¹⁶²⁾.

Por otro lado, los altos costos y las posibles reacciones adversas graves en el paciente se determinaron la necesidad de identificar posibles biomarcadores que permitieran predecir la falla terapéutica en los pacientes con AR tratados con FARMES biológicos. En ese sentido, se han reportado en muchas situaciones en AR el beneficio de la aplicación de biomarcadores, considerando que los biomarcadores pueden ser ampliamente clasificados como diagnósticos (detectan cuándo la enfermedad está presente), pronósticos (asociados con el resultado de la enfermedad) o biomarcadores predictores (asociado con la respuesta a fármacos)⁽¹⁶³⁾. Con el tiempo, se han propuesto varios biomarcadores como posibles predictores de la respuesta al tratamiento en pacientes con AR, estos son: el Factor reumatoide (FR), α CCP, la proteína de la matriz oligomérica del cartílago (PMOC), calprotectina, niveles de miRNAs, la proteína 14-3-3Eta; pero hasta el momento aún no se han adoptado como predictores en la práctica clínica⁽¹⁶¹⁾.

Por otro lado, la creciente necesidad de buscar nuevos biomarcadores de AR, las citocinas se han considerado potencialmente aplicables⁽¹⁶⁴⁾. Los biomarcadores de citocinas pueden simplificar el diagnóstico diferencial de las inflamaciones de las articulaciones, teniendo en cuenta que hasta ahora se describen más de 100 variantes de artritis⁽¹⁶⁵⁾. Los perfiles citocinas podrían usarse como una herramienta potencial predictiva para indicar el progreso de una artritis^(166, 167) y también pueden ser herramientas prometedoras para predecir qué pacientes no responden al tratamiento⁽¹⁶⁸⁾. En ese sentido, una revisión hecha por Verweij en el 2010⁽¹⁶⁹⁾, realizó la búsqueda de estudios acerca de predecir la respuesta al tratamiento de bloqueadores de TNF α . Destaco un estudio realizado por Hueber y sus colegas en el 2009⁽¹⁷⁰⁾, describieron un enfoque de proteómica de múltiples pasos para identificar un conjunto de biomarcadores de proteínas séricas que tiene un valor predictivo antes del inicio del tratamiento con etanercept en pacientes con AR de base poblacional. Su

estudio se basa en la premisa de un papel para las especificidades diferenciales de los autoanticuerpos y los niveles séricos de citocinas en la terapia anti-TNF. La respuesta terapéutica fue evaluada 3 meses después del inicio de la terapia, de acuerdo con los criterios de mejora del ACR (mayor o igual a la respuesta de los criterios de mejoría ACR al 50%). En el análisis integrado de un conjunto relevante de 14 especificidades de autoanticuerpos y un conjunto de datos Múltiplex de 12 citocinas (Técnica de Luminex) en un conjunto combinado de 93 muestras que consta de tres cohortes independientes (una cohorte de la Red Colaborativa Autoinmune de Biomarcadores Autoinmunes (n= 29) , una cohorte sueca (n= 43), y una cohorte japonesa (n= 21)) mostró una diferenciación superior de respondedores y no respondedores. Los autoanticuerpos fueron significativamente elevados y las tendencias para todas las citocinas analizadas, como TNF α , IL-15, MCP-1 e IL-6, revelaron concentraciones séricas basales más altas en los respondedores, aunque el último carecía de valor predictivo en sí mismo. Sus resultados corroboraron en parte con los hallazgos informados por otro grupo de investigación, su análisis de predicción posterior en el conjunto de muestra completo se aplicó para seleccionar una firma de biomarcadores integrada que comprende 13 especificidades de autoanticuerpos y 11 citocinas que permitieron la clasificación de respuesta pre-tratamiento en tres cohortes con un valor predictivo positivo que oscila entre 58% (cohorte japonesa) y 71 % (Cohorte ABCoN). Aunque la predicción global no parece ser tan fuerte, una mayor optimización y preselección de los pacientes sobre la base de los regímenes de tratamiento con DMARD es probable que arrojen valores predictivos más fuertes⁽¹⁷¹⁾.

De acuerdo a los antecedentes, en nuestro estudio propusimos que la evaluación de los niveles de citocinas pro-inflamatorias circulantes como posibles biomarcadores de los eventos inmunogénicos en pacientes con AR tratados con bloqueadores de TNF α pueden permitir un diagnóstico más temprano y más preciso en los pacientes.

Tabla 2. Estudios de inmunogenicidad de pacientes con AR tratados con IFX o ADA.

INFLIXIMAB								
Pacientes (n)	Tipo de población	Tiempo de observaciones	Tx combinado (DMARDs)	Dosis inicial del Anti-TNF	Ajuste de dosis Anti-TNF a las 14 semanas	AFF (%)	Efecto clínico asociado a AAF en el ↑ de la actividad clínica	Cita
35	Europea	6 meses	MTX	3 mg/kg	5 mg/kg	40	DAS28 de 5.4 ± 0.8	(143)
455	Europa, Asia, América latina y medio oriente	2 años	MTX	3 mg/kg	Ninguno	44.8	DAS28 de 5.8 ± 0.9	(148)
188	Española	2 años	MTX, otros DMARDs	3 mg/kg	5 mg/kg	27.1	DAS28 de ≥3.2	(153)
85	Española	>4 años	MTX	3 mg/kg	5 mg/kg	32.9	DAS28 de 4 ± 1.35	(155)
51	Europea	1 año	Ninguno	3 mg/kg	7.5 mg/kg	43	DAS28 de >3.2	(159)
17	Francesa	3 años	MTX	3 mg/kg	Ninguno	41	No mostrados	(160)
106	Suecia	6 meses	MTX, otros DMARDs	3 mg/kg	Ninguno	44	DAS28 ≥6	(172)
20	Corea del sur	1 año	MTX	3 mg/kg	Ninguno	38.9	No mostrados	(173)
32	Rumania	1 año	MTX	3 mg/kg	Ninguno	45	DAS28 de 5.7 ± 0.8	(174)
24	Europea	1 año	MTX	3 mg/kg	5 mg/kg	33.3	DAS28 de 3.3 ± 1.5	(175)
196	Brasil, Europa, China, Taiwán, América latina.	1 año	MTX, otros DMARDs	3 mg/kg	5 mg/kg	17.4	No mostrados	(176)
Porcentaje total de AAF en pacientes tratados con IFX: 36.7%								

ADALIMUMAB								
Pacientes (n)	Tipo de población	Tiempo de observaciones	Tx combinado (DMARDs)	Dosis inicial del Anti-TNF	Ajuste de dosis Anti-TNF cada semana	AFF (%)	Efecto clínico asociado a AAF en el ↑ de la actividad clínica	Cita
34	Europea	6 meses	MTX	40 mg	SI	29	DAS28 de 4.9 ± 0.5	(143)
217	Española	2 años	MTX, otros DMARDs	40 mg	SI	29	DAS28 de ≥ 3.2	(153)
82	Corea del sur	1 año	MTX	40 mg	NO	50	No mostrados	(173)
9	Rumania	1 año	MTX	40 mg	NO	0	No presento efecto	(174)
9	Europea	1 año	MTX	40 mg	NO	11.1	DAS28 de 3.3 ± 1.5	(175)
199	Brasil, Europa, China, Taiwán, América latina.	1 año	MTX, otros DMARDs	40 mg	SI	31.2	No mostrados	(176)
204	Europea	3 años	MTX	40 mg	NO	26	No mostrados	(177)
94	Europea	1 año	Ninguno	40 mg	SI	66	No mostrados	(178)
160	Europea	1 año	Ninguno	40 mg	NO	24.8	No mostrados	(179)
271	Estados unidos	6 meses	MTX	20 mg 40 mg 80 mg	NO	1	No mostrados	(180)
675	Estados unidos, España, Polonia y Alemania	1 año	MTX	40 mg	NO	50.2	DAS28 de 6.6 ± 0.8	(181)
Porcentaje total de AAF en pacientes tratados con ADA: 28.9%								

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad no existe un tratamiento curativo para la AR, sin embargo se han desarrollado diferentes estrategias terapéuticas para inducir la remisión de la enfermedad; algunas implican la administración de medicamentos biotecnológicos que neutralizan de manera específica algunas de las rutas de inflamación inducidas por las citocinas. En este caso, los bloqueadores de TNF α (Infliximab y Adalimumab) han mostrado gran eficacia y seguridad para el control de la AR, así como para modificar la evolución de la enfermedad e inducir la remisión en el paciente. Sin embargo, también se ha reportado que su uso continuo puede llevar a la generación de una respuesta inmune en contra de los fármacos (inmunogenicidad por AAF) que eventualmente podría comprometer su eficacia terapéutica.

Asimismo, aunque se ha reportado la inmunogenicidad a medicamentos biotecnológicos en múltiples estudios, aún se desconoce bien el mecanismo biológico por el cual algunos pacientes no responden al tratamiento y hasta el momento no existe un biomarcador validado que pueda ser utilizado como un predictor de respuesta a los AAF.

En este sentido, debido a que las citocinas son tan importantes en la respuesta inflamatoria en la AR, las alteraciones en los niveles de estas podrían servir como elementos predictivos de la inmunogenicidad. El presente estudio pretende evaluar los cambios en los niveles circulantes de citocinas pro-inflamatorias durante el tratamiento con inhibidores de TNF α (IFX o ADA), y evaluar su posible asociación con la inmunogenicidad y las variables clínicas de los pacientes.

El presente proyecto propone resolver la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la asociación entre el perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias con los niveles de AAF y la actividad clínica (DAS28) en pacientes con AR tratados con IFX o ADA?

3. HIPÓTESIS

Ha. El perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias está asociado positivamente con los niveles de AAF y la actividad clínica (DAS28) en pacientes con AR tratados con IFX o ADA.

Ho. El perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias no está asociado positivamente con los niveles de AAF y la actividad clínica (DAS28) en pacientes con AR tratados con IFX o ADA.

4. OBJETIVO GENERAL

Identificar la asociación del perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias con los niveles de AAF y la actividad clínica (DAS28) en pacientes con AR tratados con IFX o ADA.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los niveles de anticuerpos anti-IFX y anti-ADA en pacientes que reciben estos medicamentos para el tratamiento de AR.
- Determinar los niveles de fármaco libre de IFX y ADA en pacientes que reciben estos medicamentos para el tratamiento de AR.
- Determinar el perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias en pacientes con AR tratados con IFX.
- Determinar el perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias en pacientes con AR tratados con ADA.
- Identificar la asociación del perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias con los niveles de AAF en pacientes con AR tratados con IFX o ADA.
- Identificar la asociación del perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias con la actividad clínica (DAS28) en pacientes con AR tratados con IFX o ADA.
- Identificar la asociación del perfil de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias con el tratamiento (IFX/ADA) en pacientes con AR.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Diseño

Es un estudio observacional, multicéntrico y transversal en pacientes con AR bajo esquema de tratamiento con fármacos biotecnológicos (IFX o ADA).

El protocolo fue aprobado para su realización por el Comité de Ética del Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León y los comités del hospital del ISSSTE e IMSS (UMAE-Servicio de reumatología).

6.2. Reclutamiento de pacientes

Pacientes con AR que cumplieron los criterios según ACR/EULAR 2010⁽¹⁸²⁾ y en tratamiento con fármacos bloqueadores de TNF α (IFX o ADA) fueron reclutados a partir de centros hospitalarios públicos: **1.** Hospital Regional 1^{ro} de octubre, ISSSTE-DF; **2.** UMAE. Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda”, CMNSXXI, IMSS (DF); **3.** Servicio de Reumatología e Inmunología Clínica del Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la UANL; **4.** Servicio de Reumatología del Hospital Regional del ISSSTE Monterrey (Nuevo León); **5.** Hospital General de Cuernavaca; Clínica Regional “Centenario de la Revolución Mexicana”, ISSSTE, Emiliano Zapata (Morelos). Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron la carta de consentimiento informado tras haberseles explicado las características del proyecto en el que se les pedía participar (ver Anexo 1).

6.3. Criterios de selección de los pacientes

Criterios de inclusión: Pacientes mayores de 18 años diagnosticados con AR según los criterios ACR/EULAR, 2010⁽¹⁸²⁾. Pacientes recibiendo tratamiento con alguno de los medicamentos biológicos a evaluar (IFX o ADA) durante al menos 3 meses previo al inicio del proyecto. Pacientes que hayan firmado la carta consentimiento informado. Pacientes con historial clínico completo.

Criterios de no inclusión: Pacientes con otras enfermedades concomitantes (diabetes mellitus, lupus eritematoso, síndrome de Sjögren) y pacientes tratados con otro medicamento biotecnológico.

6.4. Variables

Tabla 3. Descripción de variables, tipología y análisis estadístico.

Nº	VARIABLE	TIPOLOGÍA	ANÁLISIS
1	Género H/M	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
2	Edad	Continua	Paramétrico
3	IMC	Continua	No paramétrico
4	Tiempo de evolución de la enfermedad	Continua	No paramétrico
Datos serológicos			
5	DAS28	Continua	No Paramétrico
6	VSG	Continua	No Paramétrico
7	FR	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
8	PCR	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
Datos farmacológicos			
9	Fármaco (IFX o ADA)	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
10	Duración del tratamiento con el fármaco	Continua	No paramétrico
11	Dosis de IFX	Continua	No paramétrico
12	Dosis / Peso de IFX	Continua	No paramétrico
13	Concentración sérica de IFX	Continua	No paramétrico
14	Dosis de ADA	Continua	No paramétrico
15	Dosis/Peso de ADA	Continua	No paramétrico
16	Concentración sérica de ADA	Continua	No paramétrico
17	Presencia de AAF	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
18	Tx con DMARDs	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
19	Metotrexato	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
20	Leflunomida	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
21	Glucocorticoides	Categórica dicotómica	Medidas de tendencia central
Citocinas			
22	IL-1 β	Continua	No paramétrico
23	IL-6	Continua	No paramétrico
24	IL-8	Continua	No paramétrico
25	IL-10	Continua	No paramétrico
26	IL-12 (p40)	Continua	No paramétrico
27	IL-17A	Continua	No paramétrico
28	INF γ	Continua	No paramétrico
29	Leptina	Continua	No paramétrico
30	MIF	Continua	No paramétrico
31	MCP-1	Continua	No paramétrico
32	TNF α	Continua	No paramétrico

Hombre/Mujer (H/M); Infliximab (IFX); Adalimumab (ADA); Medicamentos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARDs); FR (factor reumatoide); PCR (proteína C reactiva); DAS28 (índice de la actividad clínica); IMC (índice de masa corporal); VSG (velocidad de sedimentación globular).

6.5. Evaluación de pacientes

Los pacientes reclutados se evaluaron en sus consultas médicas por reumatólogos. Se diseñó una forma para recabar, por parte del reumatólogo tratante, la información clínica de cada paciente (Anexo 2), así como una base de datos para capturar la información clínica de todos los pacientes incluidos en el proyecto (Anexo 3). Durante el presente estudio, se determinó la actividad clínica DAS28-VSG; mediante la valoración que incorpora la evaluación del número de articulaciones dolorosas e inflamadas, por medio de la exploración de 28 articulaciones excluyendo las articulaciones de los pies y tobillo. Utilizando escalas de actividad de la enfermedad de dolor e inflamación escala (Anexo 4). Esta última fue evaluado por el reumatólogo. Como pruebas de laboratorio para valorar la actividad se consideró, en todos los casos, el VSG.

Para identificar a los pacientes con niveles de actividad diferentes, se emplearon los límites categóricos descritos para DAS28 según los criterios de ACR/EULAR 2010.

- Pacientes con AR en remisión; donde $DAS28 < 2.6$
- Pacientes con AR en actividad baja; donde $DAS28 < 3.2$
- Pacientes con AR en actividad moderada; donde $DAS28 3.2 < DAS28 < 5.1$
- Pacientes con AR en actividad alta; donde $DAS28 > 5.1$

6.6. Toma de muestras sanguíneas

El día de su consulta y justo antes de la aplicación de una nueva dosis del fármaco biológico (“valle del tratamiento”), se tomaron 2 muestras de sangre total de 5 ml. Una por venopunción en vacutainer sin anticoagulante, para determinación de niveles de fármaco y AAF en el suero (IFX o ADA); y otra muestra en vacutainer con anticoagulante, para la determinación de los niveles de citocinas pro-inflamatorias en el plasma.

Las muestras fueron procesadas por separado, la obtención del suero se obtuvo al centrifugar la muestra a 3500 rpm por 10 minutos a 4 °C y el plasma se obtuvo al centrifugar la muestra a 1500 rpm por 5 minutos a 4 °C. Posteriormente a esto, el suero y plasma fueron aislados y almacenados a -80 °C hasta su uso.

6.7. Determinación de parámetros séricos y auto-anticuerpos (PCR, Fr).

El factor reumatoide (nefelometría) y la VSG se realizaron cotidianamente en los servicios hospitalarios. La determinación de Proteína C reactiva se determinó por ELISA.

6.8. Determinación de niveles de citocinas pro-inflamatorias

Para la determinación de las citocinas pro-inflamatorias se empleó el sistema de MAGPIX/LUMINEX (Millipore) debido a que permite la determinación de hasta 50 analitos de manera simultánea por cada muestra, empleando un volumen de 25 μ l. Se determinaron los niveles de las citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 (p40), IL-17A, INF γ , MCP-1 y TNF α de las 57 muestras plasmáticas, siguiendo las instrucciones del fabricante usando el kit MAP human-cytokine/chemokine y a partir de los datos de las curvas estándar para cada citocina. En el Anexo 5 se registran las curvas estándar para las 9 citocinas.

Por otro parte, en base a estudios previos de nuestro grupo de investigación, se observó asociación de los niveles de MIF⁽⁶²⁾ y Leptina⁽⁶⁴⁾ en pacientes con AR con mayor actividad clínica, tanto así que en pacientes con peso normal (IMC<25.1), los niveles basales de Leptina permiten predecir a 6 y 12 meses el DAS28 del paciente (seguido a 2 años). Es por esto, que las adicionamos al panel de citocinas pro-inflamatorias a evaluar. Por su parte, los niveles de Leptina y MIF, se evaluaron por la técnica de ELISA estandarizado en nuestro laboratorio, como se describe a continuación.

6.9. Determinación de niveles de Leptina

Para determinar los niveles de Leptina, inicialmente, se incubó en una placa de ELISA de 96 pozos por duplicado, 7.5 μ l del anticuerpo de captura (Anti-Human Leptin, Peprotech) [0.5 μ g/mL] en PBS 1X con pH 7.4 (en un volumen final de 100 μ l). La placa fue sellada y se incubó toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, se retiró la solución del anticuerpo de captura y se lavaron los pozos con un volumen de 300 μ l, 4 veces, con el buffer de lavado (0.05% de Tween-20 en PBS). A continuación, se añadieron 300 μ l del buffer de bloqueo (1% de BSA en PBS) a cada pozo y se dejó incubando durante 1 hora en agitación y, posteriormente, se lavaron los pozos otras 4 veces con buffer de

lavado. Después se realizó la curva patrón con diferentes diluciones (concentraciones de 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 8 ng/mL) usando una alícuota de Leptina recombinante a 1 µg/mL (PeproTech) en diluyente (0.05% de Tween-20 con 0.1% de BSA en PBS) y las 57 muestras de plasma se diluyeron en una dilución de 1:99 (1 µL de plasma / 99 µL de diluyente) hasta tener un volumen final de 300 µL. Posteriormente, se agregó 100 µL por duplicado de las diluciones (Curva patrón de Leptina) y las muestras en la placa de ELISA y se dejó incubando a temperatura ambiente durante 4 horas. Nuevamente se lavaron los pozos 4 veces con buffer de lavado, después se preparó el segundo anticuerpo tomando 3.8 µl del anticuerpo de detección (Biotinylated Anti-Human Leptin, PEPROTECH) [0.25 µg/mL] en diluyente (en un volumen final de 100 µL). Posteriormente, se agregó el anticuerpo de detección en la placa de ELISA, fue sellada y se incubó toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, se retiró la solución del anticuerpo de detección y se lavó 4 veces los pozos con buffer de lavado. Después, se preparó una dilución 1:12,000 de avidina peroxidasa con diluyente y se agregó 100 µL por pozo en la placa de ELISA y se incubó durante 1 hora, en agitación, en oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente, se retiró la solución de avidina peroxidasa y se lavó 4 veces los pozos con buffer de lavado. Por último, se incubó con 100 µl de ABTS (Sigma) por 40 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente, se determinó la densidad óptica (DO) de los pozos correspondientes a la curva estándar y las muestras de pacientes en el espectrofotómetro Epoch (formato de placas) a 405 nm, con corrección de 650 nm de longitud de onda. En el Anexo 6 se observa la curva estándar correspondiente.

6.10. Determinación de niveles de MIF

Inicialmente, se incubó con 100 µL por duplicado en una placa de ELISA de 96 pozos la curva patrón con diferentes diluciones (concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 6 ng/mL) usando una alícuota de MIF recombinante a 10 ng/mL (PeproTech) en diluyente (0.05 % de Tween-20 con 0.1 % de BSA en PBS 1X pH 7.4) y las 57 muestras de plasma se diluyeron en una dilución de 1:99 (1 µL de plasma / 99 µL de diluyente) hasta tener un volumen final de 300 µL y se dejó toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, se lavaron los pozos con un volumen de 300 µl por 4 veces, con el buffer de lavado (0.05 % de Tween-20 en PBS). Posteriormente, se agregó 300 µl del buffer de bloqueo (1 % de BSA en PBS 1X)

a cada pozo y se deja incubando durante 1 hora en agitación, después se retira la solución de bloque y se lava 4 veces con buffer de lavado. Después, se incubo el primer anticuerpo (anti-MIF, goat polyclonal IgG [200 µg/mL], Santa Cruz Biotech) preparado en una dilución 1:800 en diluyente (0.05% de Tween-20 con 0.1% de BSA en PBS 1X pH 7.4) y se agrega 100 µl de la solución (primer anticuerpo) en cada pozo de la placa de ELISA y se dejó incubando toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente se lava 4 veces con buffer de lavado; se preparó el anticuerpo secundario (anti-IgG de goat-HRP, Santa Cruz) a una dilución 1:1500 en diluyente, se agrega 100 µl de la solución (segundo anticuerpo) en cada pozo de la placa de ELISA y se incubo a temperatura ambiente en agitación durante 2 horas. Por último, se lava 4 veces con buffer de lavado y por último, se incubo con 100 µl de ABTS (Sigma) por 40 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente, se determinó la densidad óptica (DO) de los pozos correspondientes a la curva estándar y las muestras de pacientes en el espectrofotómetro Epoch (formato de placas) a 405 nm, con corrección de 650 nm de longitud de onda. En el Anexo 7 se observa la curva estándar correspondiente.

6.11. Determinación de la concentración de fármaco (Infliximab)

Para determinar la concentración de IFX en el suero de los pacientes fue por la técnica de ELISA SÁNDWICH, utilizando el kit comercial de PROMONITOR[®]-IFX) cuantitativo. Se utilizó el procedimiento descrito por el comerciante (WWW.PROMONITOR.COM). El volumen de suero utilizado fueron 20 µL para diluir las muestras a 1:10. Por último se determinó la DO en el espectrofotómetro Epoch a longitud de 405 nm, con corrección de longitud de onda de 650 nm. En el Anexo 8 se observa la curva estándar correspondiente. El cut-off terapéutico de IFX, establecido por el fabricante es: <35 ng/mL (niveles indetectables de IFX), 35-1500 ng/mL (Niveles sub-óptimos de IFX) y ≥1500 (Niveles óptimos o altos de IFX).

6.12. Determinación de concertación de fármaco (ADALIMUMAB)

Para determinar la concentración de ADA en el suero de los pacientes fue por la técnica de ELISA SÁNDWICH, utilizando el kit comercial de MATRIKS BIOTEK (SHIKARI[®] Q-ADA) cuantitativo. Se utilizó el procedimiento descrito por el comerciante (WWW.MATRIKSBIOTEK.COM). El volumen de suero utilizado fueron 20 µL para diluir las muestras a 1:10. Por último se determinó la DO en el espectrofotómetro Epoch a longitud de 405 nm, con corrección de longitud de onda de 650 nm. En el Anexo 10 se observa la curva estándar correspondiente. El cut-off terapéutico de ADA, establecido por el fabricante es: <125 ng/mL (niveles indetectables de ADA), 126-570 ng/mL (Niveles sub-óptimos de ADA) y ≥571 (Niveles óptimos o altos de ADA).

6.13. Determinación de la presencia de anticuerpos AAF (Infliximab)

Para determinar la concentración de anti-IFX en el suero de los pacientes fue por la técnica de ELISA SÁNDWICH, utilizando el kit comercial de PROMONITOR[®] ANTI-IFX) cuantitativo. Se utilizó el procedimiento descrito por el comerciante (WWW.PROMONITOR.COM). El volumen de suero utilizado fueron 20 µL para diluir las muestras a 1:10. Por último se determinó la DO en el espectrofotómetro Epoch a longitud de 405 nm, con corrección de longitud de onda de 650 nm. En el Anexo 9 se observa la curva estándar correspondiente. El cut-off de anticuerpos anti-IFX, establecido por el fabricante es: ≤2 UA/mL (Negativo a anticuerpos Anti-IFX) y >2 UA/mL (Positivo a anticuerpos Anti-IFX).

6.14. Determinación de la presencia de anticuerpos AAF (Adalimumab)

Para determinar la concentración de anti-ADA en el suero de los pacientes fue por la técnica de ELISA SÁNDWICH, utilizando el kit comercial de MATRIKS BIOTEK (SHIKARI[®] S-ATA) cualitativo. Se utilizó el procedimiento descrito por el comerciante (WWW.MATRIKSBIOTEK.COM). El volumen de suero utilizado fueron 20 µL para diluir las muestras a 1:10. Por último se determinó la DO en el espectrofotómetro Epoch a longitud de 405 nm, con corrección de longitud de onda de 650 nm. En el Anexo 11 se muestra el punto de corte para determinar la presencia de AAF.

6.15. Análisis estadístico

Se empleó estadística descriptiva para comparar las diferencias entre los pacientes, los niveles séricos de los fármacos, AAF, citocinas y auto-anticuerpos. La variable de desenlace o inmunogenicidad fue determinada en base a dos criterios: niveles sub-terapéuticos del fármaco y niveles positivos de AAF. Los datos continuos se compararon entre grupos mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, y los datos categóricos mediante la prueba de independencia (ji-cuadrada o χ^2). Los valores de las citocinas se transformaron a logaritmo natural y se compararon entre grupos mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Las correlaciones entre variables continuas se evaluaron con el coeficiente de correlación de Spearman. Se realizó la determinación de la asociación mediante un análisis de regresión logística univariado (interpretado en la razón de momios) para las citocinas, en relación con las variables clínicas y serológicas. El nivel de significancia fue <0.05 a dos colas. Se usó el paquete estadístico STATA/IC 13.0 para todos los análisis.

7. RESULTADOS

Para el estudio se reclutaron 57 pacientes con diagnóstico de AR y derivados de 4 centros hospitalarios de la CDMX, Monterrey y Morelos, que cumplieron con los criterios de inclusión y no inclusión descritos. Como se observa en la Tabla 4, se describen los valores demográficos, clínicos y farmacológicos de los pacientes. La población en estudio cuenta con la participación de 6 hombres (11%) y 51 mujeres (89%). Asimismo, los pacientes presentaron una edad promedio de 51 ± 10 años, con un tiempo de evolución de la enfermedad de 14 ± 8 años y un índice de masa corporal (IMC) de 28.3 ± 6 kg/cm². En relación a las características serológicas se puede observar niveles altos de velocidad de sedimentación globular (VSG) con un promedio de 25 ± 11 mm/hr, 75% de pacientes fueron positivos al factor reumatoide y un 30% de pacientes positivos a proteína C reactiva. Por otro lado, no se cuenta con todas las evaluaciones de los niveles de α CCP, debido eso no se empleó como parámetro de caracterización de los pacientes. En base a la evaluación de la actividad clínica, el grupo total de pacientes presentó un puntaje DAS28 de 3.2 ± 1.2 , que de acuerdo a la clasificación de la ACR/EULAR 2010, nos indica que, en promedio, los pacientes presentan una actividad clínica moderada ($2.6 > \text{DAS28} < 3.5$).

En relación al tratamiento farmacológico, el 30% de los pacientes fueron tratados con IFX y el 70% con ADA, presentando en promedio un tiempo de tratamiento de 4.4 ± 3.6 años con estos fármacos. En la dosificación de los fármacos, los pacientes tratados con IFX presentaron un promedio de dosificación de 259 ± 78 mg total, aunque hay que considerar que esta variación podría depender del ajuste que realiza el reumatólogo para alcanzar la mejor respuesta al aumentar la dosis en pacientes que no responden al tratamiento de inicio. Cuando la dosificación indicada por el reumatólogo se ajustó por el peso del paciente, se obtuvo un promedio de 4.03 ± 1.18 mg/kg. En contraste, en el tratamiento con ADA hubo gran similitud en las dosis administradas por los reumatólogos. En estas circunstancias, los pacientes presentaron un promedio de dosificación de 40 ± 0 mg y un promedio del peso del paciente con respecto a la dosis del medicamento fue de 0.59 ± 0.11 mg/kg. Por otra parte, después de evaluar los niveles de IFX en circulación se obtuvo un promedio de 201.28 ± 194.80 ng/mL, mientras que los niveles de ADA en el suero de los pacientes presentó un promedio de 482.04 ± 237.29 ng/mL; resultados que sugieren que hubo diferencias importantes en la farmacocinética de IFX, mientras que esto

no se observó para ADA, dado que los niveles fueron bastante más homogéneos. Por otro lado, hay que considerar que el 84% de los pacientes tuvieron un tratamiento con DMARDs, donde además del medicamento biotecnológico, el reumatólogo trataba a los pacientes con otros fármacos. Del grupo de pacientes bajo tratamiento combinado, el 68% de ellos fue tratado con Metotrexate (MTX), el 16% fueron tratados con Leflunomida (LEFLU) y el 5% fueron tratados con Glucocorticoides (GLU). Asimismo, se evaluó la presencia de AAF en las muestras sérica de los pacientes tratados con IFX o ADA. De esa manera, se observaron niveles positivos de AAF en 19 pacientes, correspondiendo al 33% de los pacientes con AR incluidos en el proyecto.

Tabla 4. Datos demográficos, serológicos y farmacológicos de los pacientes con AR

VARIABLES	n=57
Género (Hombre/Mujer, n) (%)	6 (11) / 51 (89)
Edad en años, media ± DE	51 ± 10
IMC kg/cm ² , media ± DE	28.3 ± 6
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), media ± DE	14 ± 8
DATOS SEROLÓGICOS	
DAS28, media ± DE	3.2 ± 1.2
VSG mm/hr, media ± DE	25 ± 11
FR n, (%)	43 (75)
PCR n, (%)	17 (30)
DATOS FARMACOLÓGICOS	
Fármaco (IFX/ADA, n), (%)	17 (30) / 40 (70)
Duración del tratamiento con el fármaco (años), media ± DE	4.4 ± 3.6
Dosis de IFX [mg], media ± DE	259 ± 78
Dosis/Peso de IFX (mg /kg), media ± DE	4.03 ± 1.18
Concentración sérica de IFX [ng/mL], media ± DE	201.28 ± 194.80
Dosis de ADA [mg], media ± DE	40 ± 0
Dosis/Peso de ADA (mg /kg), media ± DE	0.59 ± 0.11
Concentración sérica de ADA [ng/mL], media ± DE	482.04 ± 237.29
Presencia de AAF n, (%)	19 (33)
Tx con DMARDs n, (%)	48 (84)
Metotrexate n, (%)	39 (68)
Leflunomida n, (%)	9 (16)
Glucocorticoides n, (%)	3 (5)

Hombre/Mujer (H/M); Infliximab (IFX); Adalimumab (ADA); FR (factor reumatoide); PCR (proteína C reactiva); DAS28 (índice de la actividad clínica); IMC (índice de masa corporal); VSG (velocidad de sedimentación globular); Tx (tratamiento); Medicamentos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARDs); Anticuerpos anti-fármaco (AAF); Desviación estándar (DE); Número de pacientes (n).

En la Tabla 5 se observan los niveles promedio y desviación estándar de las 11 citocinas determinadas en el grupo de pacientes incluidos en el estudio. Se empleó una técnica que determina al mismo tiempo 9 de la 11 citocinas, para minimizar las diferencias en la determinación de los niveles circulantes de las citocinas. Sin embargo, las variaciones entre pacientes fueron importantes (Tabla 5). Asimismo, es importante mencionar que algunas citocinas se encontraron en niveles muy bajos, tanto así que en varios pacientes (>10 pacientes de 57) no se observaron niveles detectables (la concentración mínima de detección del Kit fue de 3.2 pg/ml), tal como en las citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 p40 y IL-17A; por lo que el promedio no refleja fielmente los niveles generales de la población en estudio. Con el fin de reducir la variación entre individuos, se procedió a transformar a logaritmo natural los niveles de todas citocinas. Como se observa en el lado derecho de la Tabla 5, la variación se redujo de manera importante para 8 citocinas (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p40, INF γ , MIF, MCP-1 y TNF α). La transformación de los datos nos permitió realizar pruebas de asociación (razón de momios) univariado como se mostrará a continuación.

Tabla 5. Concentración de citocinas en pacientes con AR tratados con anti-TNF α .

CITOCINAS	Concentración [pg/mL]	Logaritmo de la concentración
IL-1 β , media \pm DE	3.27 \pm 7.09	0.61 \pm 1.77
IL-6, media \pm DE	23.38 \pm 62.83	3.62 \pm 1.27
IL-8, media \pm DE	25.59 \pm 39.72	2.41 \pm 1.38
IL-10, media \pm DE	23.78 \pm 80.79	4.27 \pm 1.23
IL-12(p40), media \pm DE	24.39 \pm 90.94	3.02 \pm 1.77
IL-17A, media \pm DE	3.26 \pm 15.73	1.24 \pm 1.61
INF γ , media \pm DE	12.72 \pm 32.77	1.65 \pm 1.42
Leptina media \pm DE*	3.33 \pm 1.01	1.15 \pm 0.33
MIF, media \pm DE*	2.26 \pm 1.18	0.67 \pm 0.57
MCP-1, media \pm DE	409.59 \pm 374.01	5.67 \pm 0.83
TNF α , media \pm DE	28.87 \pm 42.63	2.92 \pm 1

*Concentración en [ng/mL]

7.1. Comparación de variables en base a la inmunogenicidad

Para iniciar la identificación de los factores asociados a la inmunogenicidad, se procedió a clasificar a los pacientes en dos grupos: sin inmunogenicidad (pacientes control) y pacientes con inmunogenicidad (AAF+/concentración sub-óptima de fármaco). Como se observa en la Tabla 6, se estableció que 38 pacientes no presentaron inmunogenicidad (67%), siendo 5 (13%) hombres y 33 (87%) mujeres; mientras que 19 pacientes presentaron eventos inmunogénicos (33%), siendo 1 (5%) hombres y 18 (95%) mujeres. Por su parte, al comparar las variables demográficas entre ambos grupos de pacientes, mediante la prueba de Mann-Whitney y la prueba de independencia ji-cuadrada o χ^2 , observamos que ni el género (5/33 vs. 1/18), ni la edad promedio de pacientes (51 ± 10 años vs. 51 ± 9 años), ni el tiempo de evolución con la enfermedad (13 ± 7 años (rango: 6-16) vs. 15 ± 9 años (rango: 7-15)) fueron diferentes entre los pacientes sin inmunogenicidad y aquellos con inmunogenicidad.

Por su parte, el promedio de IMC en los controles fue de 29.2 ± 6.6 kg/cm², mientras que los pacientes con inmunogenicidad tuvieron un promedio de 26.4 ± 3.8 kg/cm², lo que sugiere que los pacientes con inmunogenicidad presentaron un IMC estadísticamente menor que los pacientes sin inmunogenicidad. Aunque podemos ver esta diferencia, no fue estadísticamente significativa alcanzó una $p=0.05$. Con respecto a esa misma variable se procedió a categorizar a los pacientes (IMC normal y IMC sobrepeso); observamos en los pacientes sin inmunogenicidad 10 (26%) pacientes con peso normal y 28 (74%) pacientes con sobrepeso, con respecto al grupo de inmunogenicidad 8 (42%) pacientes con peso normal y 11 (58%) pacientes con sobrepeso. Aunque también podemos ver diferencia, no fue estadísticamente significativa alcanzó una $p=0.24$.

Por otra parte, las características serológicas clínicas (FR y PCR) fueron similares entre ambos grupos de pacientes; sin embargo, el nivel de VSG fue mayor en el grupo de pacientes con inmunogenicidad (22 ± 10 mm/hr vs. 32 ± 9 mm/hr), teniendo una diferencia significativa de $p<0.001$. En base al índice de actividad clínica observamos que ambos grupos de pacientes fueron similares (DAS28 3.1 ± 1.3 vs. 3.5 ± 1 , $p=0.13$). Asimismo, pudimos observar nuevamente que ambos grupos presentaban una actividad moderada.

En base a los datos farmacológicos, los pacientes sin inmunogenicidad estuvo compuesto por 8 pacientes tratados con IFX (47%) y 30 tratados con ADA (75%). En el

caso de los pacientes con inmunogenicidad, 9 pacientes fueron tratados con IFX (53%) y 10 fueron tratados con ADA (25%). Al comparar los grupos por la prueba de independencia ji-cuadrada o χ^2 se obtuvo una diferencia significativa de $p < 0.04$, lo que sugiere que el tratamiento con IFX fue más frecuente en aquellos pacientes que presentaron inmunogenicidad. Asimismo, los pacientes fueron tratados con otros fármacos en este caso con DMARDs, los pacientes sin inmunogenicidad, 34 (71%) recibieron tratamiento combinado, 28 (72%) pacientes con MTX, 6 (67%) pacientes con LEFLU y 2 (67%) paciente con GLU. En el caso de los pacientes con inmunogenicidad, 14 pacientes (29%) recibieron tratamiento combinado, 11 (28%) pacientes con MTX, 3 (33%) pacientes con LEFLU y 1 (33%) paciente con GLU, Pero en ambos grupos no se observó una diferencia significativa con respecto al tratamiento combinado. Cabe resaltar que 9 pacientes (15.8%) solo recibieron tratamiento en monoterapia.

Por otro lado, también se observó diferencia estadísticamente significativa en la concentración sérica de fármaco en el suero de los pacientes, por lo que procedimos a categorizar en politómico (óptimo, sub-óptimo y no detectables de fármaco) a los pacientes entre sin inmunogenicidad vs con inmunogenicidad; los pacientes con concentración óptima de fármaco se observó en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fueron 13 (34%) y con respecto al grupo de inmunogenicidad ningún paciente presenta concentración óptima, después se compararon los pacientes con concentración sub-óptima del fármaco en el suero, en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fueron 24 (63%) y del grupo con inmunogenicidad fueron 13 (68%) pacientes, por último, se evaluó a los pacientes con niveles indetectables del fármaco en el suero, en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fue 1 (3%) y del grupo de inmunogenicidad fueron 6 (32%) pacientes, $p < 0.001$. Por su parte, el resto de las variables fueron similares entre ambos grupos de pacientes.

Tabla 6. Comparación entre pacientes sin y con inmunogenicidad.

Variables	Sin inmunogenicidad n=38	Con Inmunogenicidad n=19	p
Género (Hombre/Mujer, n) (%M)	5/33 (87)	1/18 (95)	0.36
Edad en años, media ± DE	51 ± 10	51 ± 9 (42-63)	0.75
IMC kg/cm ² , media ± DE	29.2 ± 6.6	26.4 ± 3.8	0.05
IMC normal, n, (%)	10 (26)	8 (42)	0.23
IMC sobrepeso, n, (%)	28 (74)	11 (58)	
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), media ± DE. Rango en años (cuartil 25-75)	13 ± 7 (6-16)	15 ± 9 (7-15)	0.24
DATOS SEROLÓGICOS			
DAS28, media ± DE	3.1 ± 1.3	3.5 ± 1	0.13
VSG mm/hr, media ± DE	22 ± 10	32 ± 9	0.001
FR (Pos*) n, (%)	29 (67)	14 (33)	0.83
PCR (Pos*) n, (%)	11 (65)	6 (35)	0.84
DATOS FARMACOLÓGICOS			
Fármaco (IFX/ADA, n), (%)	8 (47) / 30 (75)	9 (53) / 10 (25)	0.04
Duración del tratamiento con el fármaco (años), media ± DE. Rango en años (cuartil 25-75)	4 ± 3 (2-6)	5 ± 4 (2-8)	0.19
Pacientes con concentración óptima de fármaco, n (%)	13 (34)	0 (0)	0.001
Pacientes con concentración sub-óptima de fármaco, n (%)	24 (63)	13 (68)	
Pacientes con concentración no detectable de fármaco, n (%)	1 (3)	6 (32)	
Presencia de AAF, %	0	100	---
Tx con DMARDs n, (%)	34 (71)	14 (29)	0.12
Metotrexato n, (%)	28 (72)	11 (28)	0.23
Leflunomida n, (%)	6 (67)	3 (33)	1.00
Glucocorticoides n, (%)	2 (67)	1 (33)	1.00

Finalmente, al comparar los niveles de citocinas entre los dos grupos de pacientes (Tabla 7), para 8 de las 11 citocinas evaluadas no se alcanzó una diferencia estadísticamente significativa (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 (p40), IL-17, INF- γ y MIF); sin embargo, para Leptina, MCP-1 y TNF α sí se observaron diferencias estadísticamente

significativas. El promedio de Leptina fue mayor en los pacientes con inmunogenicidad que en los pacientes sin inmunogenicidad (3.11 ± 0.66 ng/mL vs. 3.76 ± 1.41 ng/mL, $p < 0.02$). Para MCP-1, el promedio fue mayor en los pacientes con inmunogenicidad que en los pacientes sin inmunogenicidad (326.02 ± 309.45 pg/mL vs. 576.74 ± 440.58 pg/mL, $p < 0.03$). Para TNF α , el promedio fue mayor en los pacientes con inmunogenicidad que en los pacientes sin inmunogenicidad (21.70 ± 46.25 pg/mL vs. 48.91 ± 33.20 pg/mL, $p < 0.02$). Estos resultados sugieren que los niveles de Leptina, MCP1 y TNF α fueron significativamente mayores en aquellos pacientes que presentaron un perfil inmunogénico, en comparación que aquellos que no. Hay que hacer mención que los niveles de casi todas las citocinas fueron mayores en el grupo de pacientes con inmunogenicidad. Asimismo, se observó una notable diferencia en los niveles de IL-10 entre los grupos de control y pacientes con inmunogenicidad (40.65 ± 32.47 pg/mL vs. 230.43 ± 173.06 pg/mL) y aunque no se alcanzó la significancia estadística, sí observamos una tendencia ($p = 0.07$); sin embargo, hay que recordar que esta citocina presentó 47 muestras de pacientes con cantidades indetectables de la citocinas, por lo que estas conclusiones estarían basadas en un número significativamente menor de observaciones y, por tanto, su poder estadístico sería incluso menor. Por otro lado se puede observar que 5 de las 11 citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 P40 y IL-17A) >10 pacientes no fue detectable la citocina

Posterior a la transformación logarítmica natural (parte inferior de la Tabla 7), se observó que ahora sólo 7 citocinas de las 11 no presentaron diferencia significativa (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 (p40), IL-17A, Leptina y MIF); donde se adicionaron las citocinas IL-10 e INF γ , junto con MCP-1 y TNF α , donde se observaron diferencias significativas. De esa manera, los niveles de citocinas fueron significativamente mayores para el grupo de pacientes inmunogénicos, con respecto a los pacientes sin inmunogenicidad (log-MCP-1: 5.49 ± 0.75 vs. 6.02 ± 0.90 , $p < 0.02$; log-TNF α : 2.51 ± 0.86 vs. 3.62 ± 0.82 , $p < 0.0001$; log-INF γ : 1.21 ± 1.32 vs. 2.35 ± 1.33 , $p < 0.01$; log-IL-10: 3.47 ± 0.76 vs. 5.07 ± 1.12 , $p < 0.03$; controles vs. inmunogénicos, respectivamente). Como se describió arriba, sin embargo, las diferencias observadas para la citocinas IL-10 corresponde a un número significativamente menor de pacientes, debido a que frecuentemente no alcanzó niveles detectables.

Tabla 7. Comparación de niveles de concentración de citocinas entre sin y con inmunogenicidad.

CITOCINAS	Sin inmunogenicidad n=38	Con Inmunogenicidad n=19	<i>p</i>
IL-1 β [pg/mL], media \pm DE*	4.36 \pm 7.53	6.48 \pm 9.57	
Citocina detectable en pacientes, n (%)	19 (50)	16 (16)	0.48
Citocina no detectable en pacientes, n (%)	19 (50)	3 (84)	
IL-6 [pg/mL], media \pm DE*	66.77 \pm 101.13	81.30 \pm 94.06	
Citocina detectable en pacientes, n (%)	9 (24)	9 (47)	0.76
Citocina no detectable en pacientes, n (%)	29 (76)	10 (53)	
IL-8 [pg/mL], media \pm DE	24.92 \pm 40.61	28.24 \pm 39.57	0.77
IL-10 [pg/mL], media \pm DE*	40.65 \pm 32.47	230.43 \pm 173.06	
Citocina detectable en pacientes, n (%)	5 (13)	33 (87)	0.07
Citocina no detectable en pacientes, n (%)	5 (26)	14 (74)	
IL-12 (p40) [pg/mL], media \pm DE*	27.54 \pm 23.92	89.98 \pm 178.36	
Citocina detectable en pacientes, n (%)	8 (21)	13 (68)	0.24
Citocina no detectable en pacientes, n (%)	30 (79)	6 (32)	
IL-17A [pg/mL], media \pm DE*	7.20 \pm 8.99	17.81 \pm 40.02	
Citocina detectable en pacientes, n (%)	6 (16)	8 (42)	0.49
Citocina no detectable en pacientes, n (%)	32 (84)	11 (58)	
INF γ [pg/mL], media \pm DE	8.20 \pm 15.91	27.05 \pm 52.66	0.16
Leptina [ng/mL], media \pm DE	3.11 \pm 0.66	3.76 \pm 1.41	0.02
MIF [ng/mL], media \pm DE	2.13 \pm 1.14	2.51 \pm 1.25	0.27
MCP-1 [pg/mL], media \pm DE	326.02 \pm 309.45	576.74 \pm 440.58	0.03
TNF α [pg/mL], media \pm DE	21.70 \pm 46.25	48.91 \pm 33.20	0.02
Log (CITOCINAS)			
Log-IL-1 β , media \pm DE*	0.18 \pm 1.98	1.11 \pm 1.38	0.11
Log-IL-6, media \pm DE*	3.64 \pm 1	3.61 \pm 1.57	0.95
Log-IL-8, media \pm DE	2.32 \pm 1.40	2.57 \pm 1.34	0.53
Log-IL-10, media \pm DE*	3.47 \pm 0.76	5.07 \pm 1.12	0.03
Log-IL-12 (p40), media \pm DE*	2.68 \pm 1.46	3.22 \pm 1.96	0.48
Log-IL-17A, media \pm DE*	1.17 \pm 1.53	1.28 \pm 1.77	0.90
Log-INF γ , media \pm DE	1.21 \pm 1.32	2.35 \pm 1.33	0.01
Log-Leptina, media \pm DE	1.11 \pm 0.23	1.24 \pm 0.46	0.27
Log-MIF, media \pm DE	0.62 \pm 0.52	0.77 \pm 0.67	0.43
Log-MCP-1, media \pm DE	5.49 \pm 0.75	6.02 \pm 0.90	0.02
Log-TNF α , media \pm DE	2.51 \pm 0.86	3.62 \pm 0.82	0.0001

* >10 pacientes con niveles indetectables de la citocina

7.2. Correlaciones entre la concentración sérica del fármaco, la actividad clínica y las citocinas.

Posteriormente, en base a lo observado en el porcentaje de AAF y concentraciones sub-óptimas del fármaco de la tabla 6. Se propuso evaluar si hay una relación lineal entre los niveles séricos de fármaco, la actividad clínica (DAS28) y las citocinas en los pacientes clasificados sin y con inmunogenicidad. En la tabla 8, observamos que el grupo de pacientes sin inmunogenicidad no hubo una correlación estadísticamente significativa entre la concentración sérica fármaco y las variables. Adicionalmente, en este mismo grupo varias citocinas presentaron una correlación negativa baja pero como se mencionó antes ninguna presentó diferencia significativa. Con respecto al grupo de pacientes que presenta inmunogenicidad observamos solo una correlación positiva entre la concentración sérica de fármaco y el DAS28, dando un factor de correlación positiva moderada ($\rho = 0.61$) y una diferencia significativa de $P < 0.02$, Figura 11. Con respecto a las demás variables no se observó correlación.

Tabla 8. Correlaciones de la concentración sérica de fármaco con DAS28 y Citocinas del grupo de pacientes de sin y con inmunogenicidad.

Variables	Sin inmunogenicidad n=38		Con Inmunogenicidad n=19	
	Concentración sérica de fármaco (ρ)	P	Concentración sérica de fármaco (ρ)	P
DAS28	0.20	0.23	0.61	0.02
Log-IL-1β	-0.39	0.10	-0.03	0.92
Log-IL-6	0.55	0.12	0.75	0.05
Log-IL-8	-0.16	0.34	-0.24	0.40
Log-IL-10	0.50	0.39	0	1
Log-IL-12 (p40)	0.50	0.21	0.15	0.67
Log-IL-17A	0.10	0.87	0.10	0.87
Log-INFγ	-0.10	0.72	0.22	0.45
Log-Leptina	-0.13	0.47	0.05	0.86
Log-MIF	-0.22	0.18	0.34	0.23
Log-MCP-1	-0.28	0.09	-0.22	0.45
Log-TNFα	-0.19	0.28	-0.17	0.55

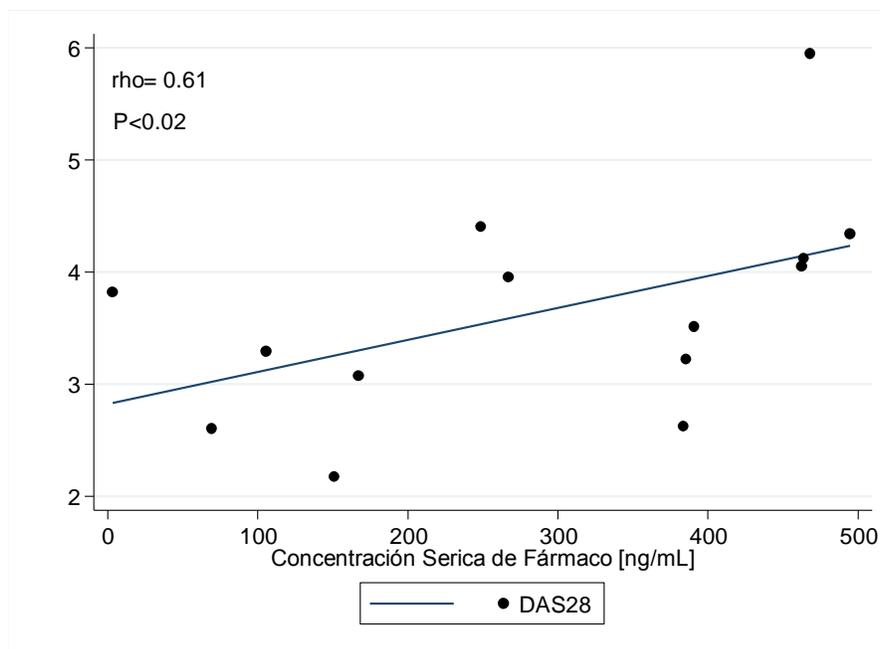


Figura 11. Análisis de correlación entre la concentración sérica de fármaco y la actividad clínica (DAS28). Análisis estadístico: Spearman $P < 0.05$.

7.3. Asociación entre niveles de citocinas e inmunogenicidad y la actividad clínica

Para evaluar la asociación entre los niveles de citocinas y la inmunogenicidad, inicialmente, se realizó un análisis de regresión logística univariado. Como se puede observar en la Tabla 9 se encontró una asociación positiva de 3 citocinas con la inmunogenicidad: Log- $\text{INF}\gamma$ presentó una OR (IC 95%) de 2.0 (1.1-3.4) y un valor de $P < 0.01$; Log-MCP-1 presentó una OR (IC 95%) de 2.3 (1.2-4.7) y un valor de $P < 0.03$ y Log-TNF α presentó una OR (IC 95%) 4.4 (1.8-10.6) y un valor de $P < 0.001$. Esto sugiere que las posibilidades de las 3 citocinas se asocien positivamente a la presencia de inmunogenicidad en pacientes con AR y bajo un tratamiento con IFX o ADA. Este resultado concuerda con lo observado en la Tabla 7, dado que fueron las mismas 3 citocinas las que mostraron diferencias entre los grupos de pacientes en los niveles de citocinas transformados. Por otro lado, Log-Leptina presentó un OR de 3.7 pero no fue estadísticamente significativa ($p=0.17$), debido a que mostró un intervalo de confianza (95%) amplio, en el caso de la Log-IL-10 no se observó una asociación significativa ($p=0.08$) y aunque mostró una OR alta (5.7), mostró un intervalo de confianza (95%) muy amplio y cruza la unidad, sugiriendo poca precisión y falta de asociación entre las variables dependientes e independientes.

Tabla 9. Asociación entre niveles de citocinas y eventos inmunogénicos.

Inmunogenicidad VS	OR (IC, 95%)	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Log-IL-1 β	1.4 (0.9-2.2)	0.13
Log-IL-6	1.0 (0.5-2.1)	0.95
Log-IL-8	1.1 (0.8-1.7)	0.52
Log-IL-10	5.7 (0.8-39.3)	0.08
Log-IL-12 (p40)	1.2 (0.7-2.0)	0.49
Log-IL-17A	1 (0.5-2.0)	0.89
Log-INF γ	2.0 (1.2-3.4)	0.01
Log-Leptina	3.7 (0.6-24)	0.17
Log-MIF	1.6 (0.6-4.5)	0.38
Log-MCP-1	2.3 (1.1-4.7)	0.03
Log-TNF α	4.4 (1.8-10.6)	0.001

Odss Ratio (OR); Intervalo de confianza del 95% (IC, 95%)

Por otro lado, en la Tabla 10 se observa el análisis de asociación entre los niveles de citocinas y la actividad clínica (DAS28) donde se observó sólo una asociación positiva entre los niveles de Log-MCP-1 y el DAS28, presentado una OR (IC 95%) de 2.2 (1.0-4.5) y un valor de $P < 0.04$. Esto sugiere que el aumento en los niveles de MCP-1 podría relacionarse con el incremento en la actividad clínica de los pacientes. Adicionalmente, se realizó un análisis de regresión logística univariada entre los niveles de las 11 citocinas y el DAS28 sólo de los pacientes con actividad clínica (35/57, DAS28 > 2.6), sin embargo, no sólo no se observaron asociaciones significativas, sino se perdió la asociación observada para la citocina Log-MPC-1 (datos no presentados).

Tabla 10. Asociación entre niveles de citocinas y la actividad clínica (DAS28).

DAS28 (Activo) vs	OR (IC, 95%)	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Log-IL-1 β	1.3 (0.8-1.9)	0.25
Log-IL-6	0.9 (0.4-2.1)	0.79
Log-IL-8	1.0 (0.7-1.5)	0.95
Log-IL-10	1.2 (0.4-3.7)	0.70
Log-IL-12 (p40)	1.2 (0.7-2.0)	0.51
Log-IL-17A	1.3 (0.6-2.6)	0.53
Log-INF γ	1.2 (0.8-1.9)	0.39
Log-Leptina	1.2 (0.2-6.2)	0.81
Log-MIF	1.6 (0.6-4.0)	0.36
Log-MCP-1	2.2 (1.0-4.5)	0.04
Log-TNF α	1.0 (0.6-1.7)	0.94

7.4. Análisis individual para cada tipo de medicamento biotecnológico

Posteriormente se procedió a comparar los pacientes en base a la inmunogenicidad, pero para cada tipo de fármaco, como se observa en las Tablas 11 y 12.

En un inicio se evaluaron las diferencias en las variables demográficas y clínicas de aquellos pacientes que recibieron IFX como tratamiento. Tabla 11 del lado izquierdo. De esa manera, en este grupo se observaron 8 (47%) pacientes sin inmunogenicidad, siendo 2 hombre y 6 mujeres, mientras que los pacientes con inmunogenicidad fueron 9 (53%), siendo 1 hombres y 8 mujeres. No se observaron diferencias significativas en Edad, IMC y Tiempo de evolución de la enfermedad. Por su parte, sólo se observó diferencia significativa en los valores de VSG (17 ± 7 vs. 28 ± 11 mm/hr, $P < 0.03$), pero ni la actividad clínica, FR, PCR, duración del tratamiento con el fármaco, concentración sérica de IFX fueron diferentes entre ambos grupos. En comparación con lo observado en la Tabla 6, donde se compararon los pacientes independientemente del tipo de medicamento biotecnológico, podemos observar que las misma variable (VSG) fue significativamente diferente entre el grupo sin y con inmunogenicidad. Por otro lado, aunque también se observó en la tabla 6, diferencia significativa en la concentración sérica del medicamento en el suero de los pacientes, cuando se evalúa por medicamento en este caso con IFX se pierde esta diferencia significativa, procedimos nuevamente a categorizar en politómico (óptimo, sub-óptimo y no detectables de fármaco) a los pacientes entre sin vs con inmunogenicidad; los pacientes con concentración óptima de fármaco se observó en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fue 1 (12.50%) y con respecto al grupo de inmunogenicidad ningún paciente presenta concentración óptima, después se compararon los pacientes con concentración sub-óptima del fármaco en el suero, en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fueron 6 (75%) y del grupo con inmunogenicidad fueron 3 (33%) pacientes, por último, se evaluó a los pacientes con niveles indetectables del fármaco en el suero, en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad fue 1 (12.50%) y del grupo de inmunogenicidad fueron 6 (67%) pacientes. Al comparar los grupos por la prueba de independencia ji-cuadrada o Chi^2 se obtuvo una diferencia significativa de $p=0.06$. Conviene hacer notar que a diferencia de la Tabla 6, ahora el grupo de pacientes con inmunogenicidad presentaron un promedio de IMC por debajo de la categoría de sobrepeso y significativamente menor al presentado por los pacientes sin inmunogenicidad. Por otro

lado, conviene hacer la observación que la concentración sérica de IFX fue mucho mayor en los pacientes sin inmunogenicidad (224.7 ± 200.71 vs. 160.31 ± 205.93 ng/mL, $P=0.63$), sin embargo, posiblemente a la importante dispersión de los datos no se alcanzó una diferencia significativa.

Por el otro lado, en la misma Tabla 11 del lado derecho, se observa el análisis comparativo para eventos inmunogénicos sólo de los pacientes bajo el esquema de tratamiento con ADA. De esa manera, se observaron 30 (75%) sin inmunogenicidad, siendo 3 hombres y 27 mujeres y 10 pacientes con inmunogenicidad (25%), siendo 10 mujeres. Al comparar las variables demográficas y clínicas, no se observaron diferencias en Edad, IMC, Tiempo de Evolución, actividad clínica, FR, PCR o duración del tratamiento con el fármaco, pero sí se observó el valor de VSG fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con inmunogenicidad (24 ± 11 vs. 35 ± 6 mm/hr, $P<0.0002$). Conviene hacer notar que se observó una actividad clínica (DAS28) mayor en el grupo con inmunogenicidad (3.73 vs. 3.02), sin embargo, debido a la desviación estándar y el tamaño de muestra no permitió alcanzar una diferencia significativa. En comparación con la Tabla 6, donde se analizaron los resultados para todos los pacientes incluidos en el estudio, los resultados para el grupo de pacientes tratados con ADA siguieron mostrando mayor nivel en la valoración de VSG, pero desapareció la diferencia observada en el IMC.

Por su parte, se pudo observar que la dosis del fármaco prescrita por los reumatólogos fue la misma en todos los casos y, en consecuencia, los valores de concentración sérica del fármaco fueron muy similares. Sin embargo, aun así, se pudo observar que el grupo de pacientes con inmunogenicidad presentó niveles significativamente inferiores que el grupo control (538.67 ± 248.70 vs. 342.15 ± 125.34 ng/mL, $p<0.004$). Adicionalmente, y en coincidencia con los menores niveles de fármaco en circulación, se observó que la frecuencia de pacientes con concentración sub-óptima del medicamento fue mayor: el porcentaje de pacientes que presentan una concentración sub-óptima del medicamento en suero, los pacientes sin inmunogenicidad fueron 18, correspondiendo al 60%, mientras que pacientes con inmunogenicidad fueron 10, correspondiendo al 100%, con respecto a los pacientes que mostraron una concentración óptima del medicamento en el suero, los pacientes sin inmunogenicidad 12 (40) y los del grupo de inmunogenicidad no presentaron nivel óptimos del medicamento y por último,

mostrando una diferencia significativa de $p < 0.02$. Por otro lado, a diferencia que los pacientes tratados con IFX que observo pacientes con niveles indetectables del fármaco en suero, en el caso de ADA ningún paciente estuvo por debajo del nivel mínimo de detección para determinar concentración del fármaco.

En la tabla 12, podemos observar los resultados obtenidos de los datos transformados a logaritmo de las citocinas de ambos tratamientos (IFX/ADA) para disminuir la variación que se tenía con los datos sin transformar, ver anexo 13. Hay que hacer notar que al evaluar sólo los pacientes bajo el esquema de IFX, se pierde los valores de 3 citocinas (Log-IL-6, Log-IL-10, Log-IL-12 P40 y Log-IL-17A), esto se debe porque alguno de los dos grupos de pacientes (sin vs con inmunogenicidad) no presentan niveles detectables de la citocina. Por su parte, se pierde la diferencia estadísticamente significativa en el Log-MCP-1 que se observó anteriormente en la tabla 6, pero sin embargo se mantuvo la diferencia significativa para Log-TNF α , teniendo un promedio de $(2.20 \pm 0.81$ vs $4.08 \pm 0.55, P < 0.001)$.

Por otro lado, en la tabla 12 del lado derecho, se muestran los resultados obtenidos de la transformación logarítmica de citocinas de los pacientes tratados con ADA. Aquí solamente se pierde el valor de Log-IL-10 y nuevamente se debe a que alguno de los dos grupos no presento niveles detectables de la citocina. A diferencias de los pacientes que fueron tratados con IFX, se observa diferencia significativa en 3 citocinas en los pacientes tratados con ADA, las cuales fueron: Log-INF γ (1.27 ± 1.41 vs $2.31 \pm 0.90, P < 0.02$); Log-MIF (0.65 ± 0.56 vs $1.13 \pm 0.34, P < 0.01$); Log-MCP-1 (5.46 ± 0.76 vs $6.13 \pm 0.68, P < 0.02$). También observamos que se pierde la diferencia estadísticamente significativa de Log-TNF α (2.58 ± 0.87 vs $3.21 \pm 0.82, P = 0.06$).

Tabla 11. Comparación entre pacientes sin y con inmunogenicidad de los tratamientos de IFX/ADA.

Variables	INFLIXIMAB			ADALIMUMAB		
	Sin inmunogenicidad n=8	Con Inmunogenicidad n=9	p	Sin inmunogenicidad n=30	Con inmunogenicidad n=10	p
Género (Hombre/Mujer, n) (%M)	2/6 (75)	1/8 (89)	0.45	3/27 (90)	0/10 (100)	0.29
Edad en años, media ± DE	50 ± 8	51 ± 7	0.84	51 ± 10	52 ± 11	0.73
IMC kg/cm ² , media ± DE	26.8 ± 3.9	24.8 ± 3.4	0.26	29.7 ± 7	27.9 ± 3.5	0.29
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), media ± DE	13 ± 7	16 ± 10	0.46	13 ± 7	15 ± 8	0.57
DATOS SEROLÓGICOS						
DAS28, media ± DE	3.2 ± 1.7	3.3 ± 1	0.89	3.02 ± 1.13	3.73 ± 1.07	0.09
VSG mm/hr, media ± DE	17 ± 7	28 ± 11	0.03	24 ± 11	35 ± 6	0.0002
FR (Pos*) n, (%)	6 (75)	5 (56)	0.40	23 (76)	9 (90)	0.36
PCR (Pos*) n, (%)	2 (25)	1 (11)	0.45	9 (30)	5 (50)	0.25
DATOS FARMACOLÓGICOS						
Duración del tratamiento con el fármaco (años), media ± DE	4 ± 3	7 ± 5	0.12	4 ± 3	4 ± 3	0.93
Dosis [mg], media ± DE	250 ± 76	267 ± 83	0.67	40 (0)	40 (0)	----
Dosis/Peso (mg/kg), media ± DE	3.6 ± 1.1	4.4 ± 1.2	0.14	0.59 ± 0.12	0.59 ± 0.07	0.84
Concentración sérica de IFX [ng/mL], media ± DE	224.7 ± 200.71	160.31 ± 205.93	0.63	528.67 ± 248.70	342.15 ± 125.34	0.004
Pacientes con concentración óptima, n (%)	1 (12.50)	0 (0)	0.06	12 (40)	0 (0)	0.02
Pacientes con concentración sub-óptima, n (%)	6 (75)	3 (33)		18 (60)	10 (100)	
Pacientes con concentración no detectable de fármaco, n (%)	1 (12.50)	6 (67)		-----	-----	
Tx con DMARDs n, (%)	8 (100)	7 (78)	0.16	26 (87)	7 (70)	0.23
Metotrexato n, (%)	7 (87.5)	5 (56)	0.15	21 (70)	6 (60)	0.55
Leflunomida n, (%)	1 (12.5)	2 (22)	0.60	5 (16)	1 (10)	0.60
Glucocorticoides n, (%)	-----	-----	-----	2 (7)	1 (10)	0.72

Tabla 12. Comparación de las citocinas transformadas entre pacientes sin y con inmunogenicidad de los tratamientos de IFX/ADA.

Log (CITOCINAS)	INFLIXIMAB			ADALIMUMAB		
	Sin inmunogenicidad n=8	Con inmunogenicidad n=9	P	Sin inmunogenicidad n=30	Con inmunogenicidad n=10	P
Log-IL-1 β , media \pm DE*	-1.10 \pm 3.64	0.83 \pm 1.70	0.46	0.42 \pm 1.59	1.40 \pm 1.01	0.08
Log-IL-6, media \pm DE*	-----	-----	-----	3.69 \pm 1.05	3.91 \pm 1.06	0.74
Log-IL-8, media \pm DE	1.75 \pm 1.63	2.64 \pm 1.81	0.30	2.48 \pm 1.33	2.50 \pm 0.84	0.96
IL-10, media \pm DE*	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Log-IL-12 p40, media \pm DE*	-----	-----	-----	3.06 \pm 1.09	2.91 \pm 1.67	0.85
Log-IL-17A, media \pm DE*	-----	-----	-----	1.62 \pm 1.20	1.30 \pm 1.47	0.77
Log-INF γ , media \pm DE	1 \pm 1	2.41 \pm 1.79	0.08	1.27 \pm 1.41	2.31 \pm 0.90	0.02
Log-Leptina, media \pm DE	1.07 \pm 0.27	1.18 \pm 0.56	0.61	1.12 \pm 0.23	1.29 \pm 0.38	0.21
Log-MIF, media \pm DE	0.58 \pm 0.35	0.37 \pm 0.73	0.46	0.65 \pm 0.56	1.13 \pm 0.34	0.01
Log-MCP-1, media \pm DE	5.58 \pm 0.73	5.90 \pm 1.13	0.50	5.46 \pm 0.76	6.13 \pm 0.68	0.02
Log-TNF α , media \pm DE	2.20 \pm 0.81	4.08 \pm 0.55	0.001	2.58 \pm 0.87	3.21 \pm 0.82	0.06

Interleucina 1 beta (IL-1 β); Interleucina 6 (IL-6); Interleucina 8 (IL-8); Interleucina 10 (IL-10); Interleucina 12 proteína 40 (IL-12 p40); Interleucina 17 A (IL-17A); Interferón gamma (INF γ); Factor de inhibición de la migración de macrófagos (MIF); Quimiocina quimioatrayente de monocitos 1(MCP-1); Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α); Logaritmo natural (Log); Desviación estándar (DE); >10 Pacientes con niveles indetectables de la citocina (*).

7.5. Correlaciones individuales para cada tratamiento entre la concentración sérica del fármaco, la actividad clínica y las citocinas.

A continuación, se evaluó a los pacientes de acuerdo a su tratamiento para observar si hay una relación lineal entre los niveles séricos de fármaco (IFX/ADA), la actividad clínica (DAS28) y las citocinas. En la tabla 13 del lado izquierdo, observamos en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad una disminución en el nivel de Log-TNF α (función lineal) a medida que el IFX se encuentra en niveles óptimos o subóptimo en el paciente, dando un factor de correlación negativo alto ($\rho = -0.89$) y una $P < 0.02$, Figura 12-A. Con respecto a las demás variables no se observó correlación. Por otro lado en la misma tabla del lado derecho, observamos nuevamente en el grupo de pacientes sin inmunogenicidad con ADA. Una disminución en los niveles de Log-MIF (función lineal) a medida que el ADA se encuentra en niveles óptimos o subóptimo en el paciente, dando un factor de correlación negativo moderado ($\rho = -0.41$) y una $P < 0.03$, Figura 12-B. Nuevamente no se observó correlación con otras variables. De esa manera, se concluye que no se observa una correlación estadísticamente significativa entre los niveles séricos de ambos fármacos (IFX/ADA) y las variables (DAS28 y citocinas), a diferencia de Log-TNF α y Log-MIF que si presentaron correlación, como lo indican los análisis estadísticos.

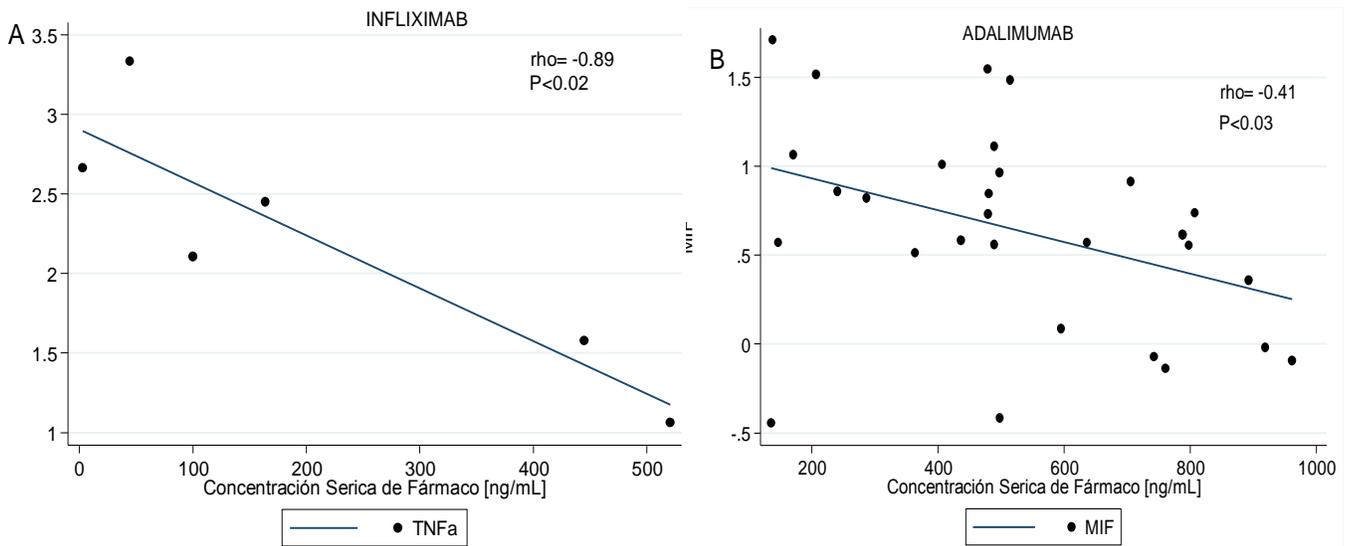


Figura 12. Análisis de correlación entre el nivel de concentración sérica de fármaco (IFX/ADA) y la citocina Log-TNF α (A), Log-MIF (B). Análisis estadístico: Spearman $P < 0.05$.

Tabla 13. Correlaciones individuales entre concentración sérica de fármaco con actividad clínica (DAS28) y Citocinas del grupo sin y con inmunogenicidad en base a los tratamientos (IFX/ADA).

Variables	INFLIXIMAB				ADALIMUMAB			
	Sin inmunogenicidad n=8		Con inmunogenicidad n=9		Sin inmunogenicidad n=30		Con inmunogenicidad n=10	
	[IFX] sérica (rho)	P	[IFX] sérica (rho)	P	[ADA] sérica (rho)	P	[ADA] sérica (rho)	P
DAS28	0.14	0.74	0.40	0.60	0.14	0.45	0.61	0.06
Log-IL-1β	-----	-----	-0.40	0.60	-0.50	0.05	0.31	0.46
Log-IL-6	-----	-----	0.50	0.67	0.62	0.10	0.80	0.20
Log-IL-8	-0.26	0.53	0.60	0.40	-0.19	0.33	-0.02	0.96
Log-IL-10	-----	-----	0.50	0.67	0.50	0.39	-----	-----
Log-IL-12 (p40)	-----	-----	0.40	0.60	0.25	0.59	0.36	0.43
Log-IL-17A	-----	-----	-----	-----	-0.60	0.28	-0.50	0.67
Log-INFγ	-0.75	0.08	-----	-----	0.03	0.90	0.13	0.71
Log-Leptina	-0.59	0.12	0.20	0.80	-0.03	0.89	-0.43	0.22
Log-MIF	0.43	0.29	0.40	0.60	-0.41	0.03	-0.31	0.39
Log-MCP-1	-0.19	0.65	0.40	0.60	-0.29	0.12	-0.13	0.73
Log-TNFα	-0.89	0.02	0	1	-0.18	0.37	0.02	0.96

7.6. Asociaciones individuales para cada tratamiento entre niveles de citocinas e inmunogenicidad y la actividad clínica.

En la Tabla 14 podemos observar los resultados conjuntos del análisis de regresión logística univariada entre los niveles transformados de citocinas pro-inflamatorias y su asociación con la inmunogenicidad. Primeramente, con respecto a los pacientes bajo el esquema de IFX no se observó ninguna asociación con las citocinas. Pero se observó que el Log-TNF α presento un OR (IC 95%) de 48 (0.9-2721.3) y un valor de $P=0.05$, pero no fue estadísticamente significativo debido a que mostro un intervalo de confianza (95%) muy amplio. Hay que hacer notar que debido al bajo número de pacientes con niveles detectables de Log-IL-10, Log-IL-17A y bajo tratamiento con IFX, no se pudo realizar este análisis estadístico.

Por otro lado, en el lado derecho de la Tabla 14, se observan los resultados del análisis de asociación para los pacientes tratados con ADA. A diferencia de los resultados para IFX, estos pacientes muestran asociación entre el incremento de los niveles de Log-MCP-1 y la inmunogenicidad (OR 8.4 (1.3-52.7), $p<0.03$). Por su parte, a semejanza de lo observado para los pacientes con IFX, el incremento en los niveles de TNF α es un factor de riesgo significativo (OR 3.2 (1.1-9.2), $p<0.04$) para el desarrollo de eventos inmunogénicos en los pacientes tratados con ADA. Hay que reconocer, sin embargo, aunque fue significativo, se observó el intervalo de confianza para Log-MCP-1 fue muy amplio, sugiriendo menor precisión en el resultado, a diferencia de la asociación observada para Log-TNF α . Hay que resaltar que las relaciones observadas no necesariamente significan causalidad y requiere seguir investigando para poder dar una explicación a estas asociaciones.

Por otro lado, en la Tabla 15 podemos observar los análisis de asociación entre los niveles de citocinas y la actividad clínica de los pacientes, dividiendo los pacientes de acuerdo al tratamiento farmacológico: izquierda, IFX y derecha, ADA. De manera resumida, a semejanza del análisis realizado para todos los pacientes (Tabla 10), podemos observar que tampoco aquí ninguna citocina se asoció de manera significativa con la actividad clínica de los pacientes incluidos en el estudio, sugiriendo que los cambios en los niveles de citocinas no tuvieron una repercusión en la actividad de la AR.

Tabla 14. Asociación entre niveles de citocinas y eventos inmunogénicos de pacientes de los tratamientos de IFX/ADA.

Inmunogenicidad vs	INFLIXIMAB		ADALIMUMAB	
	OR (IC, 95%)	Significancia estadística	OR (IC, 95%)	Significancia estadística
Log-IL-1 β	1.4 (0.8-2.7)	0.25	1.7 (0.8-3.2)	0.14
Log-IL-6	1.0 (0.3-3.9)	0.97	1.3 (0.4-4.4)	0.71
Log-IL-8	1.4 (0.7-2.6)	0.29	1.0 (0.6-1.8)	0.96
Log-IL-10	-----	-----	-----	-----
Log-IL-12 (p40)	2.4 (0.5-12.7)	0.31	0.6 (0-23.1)	0.79
Log-IL-17A	-----	-----	0.9 (0.4-2.0)	0.84
Log-INF γ	2.3 (0.7-7.2)	0.14	0.8 (0.2-2.8)	0.70
Log-Leptina	1.9 (0.2-18.1)	0.60	2.0 (1.0-4.2)	0.06
Log-MIF	0.5 (0.1-3.8)	0.47	14.7 (0.5-395.1)	0.11
Log-MCP-1	1.5 (0.5-4.2)	0.48	8.4 (1.3-52.7)	0.02
Log-TNF α	48 (0.9-2721.3)	0.05	3.2 (1.1-9.2)	0.03

Tabla 15. Asociación entre niveles de citocinas y la actividad clínica (DAS28) de pacientes de los tratamientos de IFX/ADA.

DAS28 (Activo) vs	INFLIXIMAB		ADALIMUMAB	
	OR (IC, 95%)	Significancia estadística	OR (IC, 95%)	Significancia estadística
Log-IL-1 β	1.6 (0.8-3.3)	0.20	1.1 (0.6-1.9)	0.72
Log-IL-6	1.0 (0.3-3.9)	0.97	0.8 (0.2-2.9)	0.79
Log-IL-8	1.1 (0.6-2.0)	0.72	0.9 (0.5-1.5)	0.63
Log-IL-10	0.3 (0-48.9)	0.67	0.5 (0-8)	0.65
Log-IL-12 (p40)	1.4 (1.0-3.1)	0.35	1.0 (0.4-2.2)	0.93
Log-IL-17A	3.5 (0.3-47.3)	0.35	0.9 (0.3-3)	0.83
Log-INF γ	1.4 (0.6-3.3)	0.39	1.1 (0.7-2)	0.69
Log-Leptina	2.1 (0.2-21.1)	0.53	0.7 (0.1-7.2)	0.74
Log-MIF	5.8 (0.3-127.7)	0.26	1.1 (0.3-3.4)	0.92
Log-MCP-1	1.6 (0.5-4.8)	0.40	2.8 (1.0-7.7)	0.05
Log-TNF α	1.8 (0.6-4.8)	0.26	0.7 (0.3-1.6)	0.43

7.7. Comparación en base al tratamiento farmacológico.

En la Tabla 16 se observa la comparación entre pacientes bajo tratamiento con IFX y ADA, para las variables demográficas, serológicas y farmacológicas. Entre las diferentes variables registradas, sólo se pudo observar diferencias en el IMC (25.7 ± 3.7 vs. 29.3 ± 6.4 kg/cm², $p < 0.01$) y porcentaje de pacientes con AAF (53 vs. 25 %, $p < 0.04$). El resto de las variables no mostraron diferencias significativas, incluida la actividad clínica DAS28 (3.2 ± 1.3 vs. 3.2 ± 1.2).

Tabla 16. Comparación de pacientes en base al fármaco empleado: Infliximab vs. Adalimumab.

Variables	Infliximab n=17	Adalimumab n=40	p
Género (Hombre/Mujer, n) (%M)	3/14 (82)	3/37 (93)	0.25
Edad en años, media \pm DE	50 \pm 8	51 \pm 10	0.78
IMC kg/cm ² , media \pm DE	25.7 \pm 3.7	29.3 \pm 6.4	0.01
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), media \pm DE	15 \pm 8	13 \pm 7	0.44
DATOS SEROLÓGICOS			
DAS28, media \pm DE	3.2 \pm 1.3	3.2 \pm 1.2	0.93
VSG mm/hr, media \pm DE	23 \pm 11	26 (11)	0.33
FR (Pos*) n, (%)	11 (65)	32 (80)	0.22
PCR (Pos*) n, (%)	3 (18)	13 (35)	0.19
DATOS FARMACOLÓGICOS			
Duración del tratamiento con el fármaco (años), media \pm DE	5 \pm 4	4 \pm 3	0.21
Pacientes con concentración óptima, n (%)	1 (6)	12 (30)	0.20
Pacientes con concentración sub-óptima, n (%)	9 (53)	28 (70)	
Pacientes con concentración no detectable de fármaco, n (%)	7 (41)	0 (0)	
Presencia de AAF, (%)	9 (53)	10 (25)	0.04
Tx con DMARDs n, (%)	15 (88.24)	33 (82.50)	0.58
Metotrexato n, (%)	12 (70.59)	27 (67.5)	0.82
Leflunomida n, (%)	3 (17.65)	6 (15)	0.80
Glucocorticoides n, (%)	0 (0)	3 (7.5)	0.25

Por su parte, se observaron algunas diferencias con respecto a los niveles de citocinas al comparar entre los pacientes tratados con IFX de aquellos tratados con ADA. Como se observa en la Tabla 17 los niveles de Log-IL-10 fueron significativamente mayores en aquellos pacientes bajo tratamiento con IFX. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, para el caso de las citocinas Log-IL-1 β , Log-IL-6, Log-IL-10, Log-IL-12(p40) e Log-IL-17A nos encontramos que la mayoría de los pacientes tuvieron niveles indetectables de la citocina, por lo cual no podemos generalizar los valores numéricos obtenidos dado que corresponde a un subgrupo minoritario de pacientes. Por otra parte, también se observó que los niveles de Log-MIF fueron aparentemente mayores en pacientes tratados con ADA, mientras que el nivel promedio de Log-TNF α fue mayor en los pacientes bajo tratamiento con IFX, sin embargo, en ninguno de estos dos casos se pudo alcanzar la significancia estadística. Aunque es posible que el incremento del número de pacientes permita, en un estudio posterior y observar diferencias significativas, en base a los resultados aquí presentados podemos indicar que no hubo diferencias en los niveles de citocinas cuando comparamos los pacientes en bajo a su tratamiento biotecnológico.

Tabla 17. Comparación de las citocinas transformadas de pacientes en base al fármaco empleado: Infliximab vs. Adalimumab.

Log (CITOCINAS)	Infliximab n=17	Adalimumab n=40	<i>p</i>
Log-IL-1 β , media \pm DE*	0.30 \pm 2.34	0.75 \pm 1.48	0.57
Log-IL-6, media \pm DE*	3.35 \pm 1.77	3.76 \pm 1.01	0.61
Log-IL-8, media \pm DE	2.22 \pm 1.73	2.49 \pm 1.21	0.51
Log-IL-10, media \pm DE*	5.52 \pm 0.60	3.44 \pm 0.68	0.001
IL-12 (p40), media \pm DE*	3.08 \pm 2.53	2.99 \pm 1.36	0.93
Log-IL-17A, media \pm DE*	0.89 \pm 2.10	1.50 \pm 1.21	0.54
Log-INF γ , media \pm DE	1.80 \pm 1.62	1.58 \pm 1.35	0.66
Log-Leptina, media \pm DE	1.13 \pm 0.44	1.16 \pm 0.28)	0.79
Log-MIF, media \pm DE	0.47 \pm 0.58	0.76 \pm 0.55	0.09
Log-MCP-1, media \pm DE	5.75 \pm 0.95	5.63 \pm 0.79	0.63
Log-TNF α , media \pm DE	3.33 \pm 1.15	2.75 \pm 0.89	0.06

7.8. Asociación entre los niveles de citocinas y el tratamiento (IFX/ADA)

Posteriormente, en base a los resultados obtenidos para los niveles de citocinas pro-inflamatorias, evaluamos su posible asociación al esquema de tratamiento de los pacientes, como se puede observar en la Tabla 18. De esa manera, podemos observar que ninguna de las 11 citocinas se asoció de manera significativa con el tratamiento biotecnológico o explicándolo de otra manera, no observamos que las variaciones en los niveles de citocinas coincidieran con alguno de los dos tipos de tratamientos IFX o ADA. Para el caso de MIF podemos observar que, aunque obtuvimos un valor de OR de 2.5, sugiriendo que los niveles altos de MIF son 2.5 veces más probables en pacientes tratados con ADA, esto no fue estadísticamente significativo y su intervalo de confianza rebasa la unidad.

Tabla 18. Asociación entre los niveles de citocinas y el tratamiento.

TRATAMIENTO (IFX o ADA) vs	OR (IC, 95%)	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Log-IL-1 β	1.1 (0.8-1.7)	0.49
Log-IL-6	1.3 (0.6-2.9)	0.51
Log-IL-8	1.1 (0.8-1.7)	0.51
Log-IL-10	-----	-----
Log-IL-12 (p40)	1 (0.6-2.7)	0.91
Log-IL-17A	1.3 (0.6-2.7)	0.47
Log-INF γ	1 (0.6-1.4)	0.62
Log-Leptina	1.3 (0.2-7.4)	0.75
Log-MIF	2.5 (0.9-7.4)	0.09
Log-MCP-1	0.8 (0.4-1.7)	0.62
Log-TNF α	0.6 (0.3-1)	0.06

8. DISCUSIÓN

8.1. Inmunogenicidad en bloqueadores de TNF α

Múltiples estudios han evidenciado que los medicamentos biotecnológicos tales como los bloqueadores de TNF α reducen significativamente la actividad de la enfermedad y mejoran la calidad de vida de los pacientes, al observar los índices de respuesta clínica de AR según los criterios de ACR/EULAR 2010 de una mejoría de ACR70 (un 70% de mejoría en articulaciones dolorosas y tumefactas más una reducción del 70% de reactantes de fase aguda (VSG o PCR)⁽¹⁸³⁻¹⁸⁵⁾. Sin embargo, dado que el tratamiento requiere la aplicación de dosis frecuentes de estas moléculas; 8 semanas en moléculas quiméricas y 15 semanas para moléculas humanizadas para alcanzar un alto nivel de eficacia, pero cuando los pacientes no responden adecuadamente con la dosis inicial, se requiere un ajuste de dosis y disminuir las frecuencias. Debido a eso, los pacientes pueden desarrollar inmunogenicidad por ejemplo la presencia de AAF. De esa manera, varios estudios han reportado la generación de AAF para diferentes medicamentos biotecnológicos^(139, 186, 187). En ese sentido, recientemente lo presentamos en un artículo de revisión⁽¹⁴⁶⁾, que comprende no sólo bloqueadores de TNF α , sino de otras moléculas (ver Anexo 15). Como se mencionó previamente, este tipo de evaluación, a nuestro conocimiento, no había sido realizada en nuestro país en un proyecto diferente a las evaluaciones que requieren realizar las propias compañías farmacéuticas, permitiendo entonces tener una visión de conjunto sobre la respuesta inmunogénica para los dos principales inhibidores de TNF α empleados en el tratamiento de pacientes con AR. Asimismo, esta información permitirá comparar con la respuesta a medicamentos por poblaciones de otras regiones del mundo⁽¹⁸⁸⁾. En ese sentido, estos resultados, a nuestro conocimiento, constituyen la primera evidencia que los pacientes con AR tratados con alguno de estos dos medicamentos biotecnológicos pueden generar AAF.

Conveniente resaltar el hecho que la frecuencia de reportes de inmunogenicidad por el tratamiento con IFX y ADA, ha sido de las más altas^(137, 189-191), y parte de esto puede ser consecuencia del hecho de que han sido las moléculas más utilizadas en el tratamiento de AR en todo el mundo. En un estudio de revisión realizado por Strand, V. et al. 2017⁽⁸²⁾, compararon la tasa de inmunogenicidad en pacientes con AR ante diferentes medicamentos

biotecnológicos, llegando a la conclusión que la tasa de inmunogenicidad en pacientes tratados con IFX/ADA era mayor 50%. Sin embargo, estos valores pueden ser muy variables debido a que van a depender de varios factores tales como las técnicas de evaluación, diseño del estudio y selección de los pacientes. En nuestro estudio, se identificó una tasa de inmunogenicidad positiva en un 53% de pacientes tratados con IFX y en 25% de aquellos tratados con ADA. De manera tal, el estudio de Arstikyte et al 2015, observo una tasa de inmunogenicidad de 33.3% de AAF en pacientes tratados con IFX y 11.1% de AAF en pacientes tratados con ADA⁽¹⁷⁵⁾. Por otro lado, en base a nuestros resultados, los pacientes tratados con IFX mostraron una tasa mayor de inmunogenicidad, a diferencia de los pacientes tratados con ADA, lo cual se corrobora con varios estudios publicados^(143, 174, 175), donde reportan que los pacientes tratados con IFX se generan más tasas de AAF. Esto podría explicarse por el hecho de que IFX es un anticuerpo quimérico, mientras que ADA es una molécula humanizada, sin embargo, también ha quedado claro que la humanización total de la biomolécula empleada como medicamento no garantiza la ausencia de inmunogenicidad^(191, 192).

Por otra parte, al hacer la comparación entre pacientes con y sin inmunogenicidad, observamos que sólo algunas variables, tales como IMC, concentración sub-óptima del medicamento y VSG, fueron diferentes entre los dos grupos; siendo el grupo de pacientes con inmunogenicidad quienes mostraron menor IMC, mayor nivel de VSG y mayor porcentaje de pacientes con baja concentración del medicamento en circulación. Mientras que no se cuenta con explicación al hecho de que los pacientes con inmunogenicidad presentaron un IMC menor, el desarrollo de la inmunogenicidad al medicamento biotecnológico implicaría la formación de AAF específicos y la formación de complejos AAF-medicamento (IFX o ADA), pudiéndose esperar que los niveles del fármaco libre estarían por debajo de la concentración óptima. De igual manera, al haber menores niveles de fármaco biodisponible para bloquear a TNF α , se podría esperar un incremento de dolor e inflamación (DAS28) y, consecuentemente, un nivel mayor de VSG^(193, 194). Sin embargo, esta explicación no puede ser tan sencilla porque como varios estudios han reportado, los niveles de PCR también se incrementan en procesos inflamatorios y en pacientes con AR^(195, 196). Asimismo, en estudios diseñados para validar la utilidad ya sea de VSG o de los niveles de PCR y la conclusión fue que ambos son igualmente útiles para el diagnóstico

clínico de la AR⁽¹⁹⁶⁾; sin embargo, en nuestro estudio no observamos esa diferencia entre los pacientes con y sin inmunogenicidad. Asimismo, hay que resaltar que aunque el promedio de la actividad clínica (DAS28) fue mayor en pacientes con inmunogenicidad, esto no alcanzó diferencia significativa con los pacientes sin inmunogenicidad. De esto solo se puede sugerir que en nuestro grupo de pacientes bajo tratamiento con bloqueadores de TNF α , permitió observar la presencia de AAF en un subgrupo de pacientes, que coincidieron con niveles sub-óptimos del fármaco en circulación, pero sin consecuencias estadísticas en la actividad clínica. Este último resultado parece no coincidir con estudios previos donde se ha observado que los pacientes con inmunogenicidad parecen asociarse con mayor actividad clínica^(197, 198), menor respuesta terapéutica^(143, 199), menor porcentaje de remisión⁽¹⁸⁶⁾ y mayor incidencia de efectos adversos al fármaco^(172, 200). Inicialmente, hay se consideró que posiblemente este estudio tiene poco poder estadístico para poder detectar el efecto de interés, por lo que incrementando el número de pacientes en la evaluación podríamos alcanzar una diferencia significativa. Por otro lado, se requiere continuar el seguimiento de los pacientes reclutados en esta fase del proyecto para poder determinar la respuesta terapéutica (ACR20 o DeltaDAS28) y, entonces, podremos confirmar que sí los pacientes que ahora mostraron niveles altos de VSG y niveles sub-óptimos de fármaco en circulación, derivan en un incremento en la actividad clínica o respuesta terapéutica. Asimismo, con base en un estudio previo de nuestro grupo de investigación donde se observó que el sobrepeso de los pacientes parece interferir en la relación entre citocinas pro-inflamatorias y actividad clínica de los pacientes con AR⁽²⁰¹⁾, creemos que un estudio semejante pero en un grupo de pacientes sin sobrepeso posibilitaría ver diferencias clínicas e inflamatorias entre grupos sin y con inmunogenicidad. En el mismo sentido, un estudio realizado por Kneepkens, E. L. et al, 2015⁽²⁰²⁾, reportó que el IMC se ha descrito como un factor que afecta los niveles anti-TNF; sin embargo, los datos reportados anteriormente no han sido concluyentes. Asimismo, en un estudio relativamente reciente⁽¹⁷⁹⁾, se describe que el IMC alto puede influir en el perfil farmacocinética de los medicamentos inhibidores de TNF α (meseta farmacológica y distribución), provocando que no respondan adecuadamente al tratamiento y presenten niveles bajos del medicamento. Para explicar esto, se ha sugerido que tejido adiposo incrementa el perfil inflamatorio del paciente así como puede jugar un papel en la biodisponibilidad del medicamento. Por otro lado, en el

mismo estudio se describe otro factor que altera la farmacocinética del medicamento, que es la adherencia deficiente o la falta de adherencia la cual se ha asociado con una respuesta deficiente del tratamiento⁽¹⁷⁹⁾. Aunque no se hizo una evaluación de la adherencia al tratamiento, en el presente estudio, los pacientes debieron regresar con el reumatólogo por la nueva dosis de medicamento biotecnológico, por lo que se asume que la adherencia de los pacientes incluidos en el estudio estuvo bajo control.

Por otro lado, hay que hacer notar, también, que los pacientes incluidos en el estudio en términos generales mostraron un nivel de actividad clínica bajo-moderado (DAS28 promedio 3.2 ± 1.2) y donde una cuarta parte de los pacientes se encontraban en remisión (DAS28 < 2.6), por lo que las variaciones inflamatorias y, por tanto, clínicas eran relativamente pequeñas, dificultando el encontrar diferencias significativas. Esto se debió ya que los pacientes en remisión se encontraban en tratamiento con otros fármacos como el MTX.

Otro dato interesante que se observó en la Tabla 6 fue que los pacientes de ambos grupos presentaron concentraciones sub-óptimas del medicamento. En el caso de los pacientes con inmunogenicidad, el 100% de ellos presentó concentraciones sub-óptimas del medicamento, mientras que los pacientes control presentaron un porcentaje significativamente menor (66%, $p < 0.001$). Varios estudios han reportado que la administración de metotrexato en combinación con el tratamiento con inhibidores de TNF α parece disminuir la frecuencia de la inmunogenicidad^(158, 184, 203, 204). Sin embargo, como podemos observar en el presente estudio, el porcentaje de pacientes con tratamiento combinado con MTX (74% vs 58%, $P = 0.23$), LEFLU (16% vs 16%, $P = 1.00$) y GLU (5% vs 5%, $P = 1.00$) fue similar entre el grupo de pacientes control y con inmunogenicidad. De manera tal, que se podría sugerir de estos datos que el tratamiento combinado con MTX no parece derivar en diferencias en el desarrollo de inmunogenicidad.

Ahora, al analizar los pacientes por separado y de acuerdo a su tratamiento con el diferente bloqueador de TNF α (Tablas 11), permite observar diferencias entre los grupos de pacientes control y con inmunogenicidad. Al revisar diferentes estudios realizados para determinar inmunogenicidad, los autores no discuten el conjunto de sus variables o no le dan más importancia, lo cual pudieran sesgar o limitar la orientación de sus resultados^(155, 172, 177, 178, 205). En este sentido, el presente estudio parece haber llevado a cabo un control

más estricto de las variables con el fin de identificar si alguna de estas pudiera influir con generación de la inmunogenicidad en los medicamentos biotecnológicos. De esa manera, al analizar las diferencias entre pacientes sin y con inmunogenicidad, por separado para cada tipo de medicamento biotecnológico, pudimos identificar que las diferencias fueron diferentes según el medicamento: mientras que el tratamiento con IFX coincidió con un incremento en IMC, VSG y porcentaje de pacientes con niveles sub-óptimos del medicamento; el tratamiento con ADA mostró incremento en VSG, porcentaje de pacientes con niveles sub-óptimos y menor concentración circulante del fármaco. Hay que hacer notar, sin embargo, que no se observaron diferencias en los niveles circulantes de IFX posiblemente debido a la gran variación encontrada y aunque la concentración promedio fue mucho menor para los pacientes con inmunogenicidad (Tabla 11), no se alcanzó diferencia significativa.

Por último, se observó que la concentración sérica del medicamento que se mostró en la tabla 6, presenta diferencia significativa entre el grupo de pacientes (control vs inmunogenicidad) $P < 0.001$. Pero al separar los tratamientos (IFX/ADA) los pacientes tratados con IFX se pierde la diferencia significativa $P = 0.06$ y con los ADA se mantiene $P < 0.02$, por lo cual, coincide con la concentración de fármaco en suero, aunque no se pudo observar una diferencia significativa en los pacientes con IFX por la gran variación estadística ($P = 0.33$) y en cambio con los pacientes con ADA si presentaron diferencia significativa ($P < 0.004$), lo interesante en estos datos es que los pacientes del grupo control tiene concentraciones sub-óptimas del medicamento que esperábamos observar solo en el grupo de inmunogenicidad.

8.2. Correlación entre niveles séricos del fármaco, DAS28 y Citocinas

En este estudio, el 41% de los pacientes (7/17) tenían una concentración sérica de IFX < 35 ng/mL entre el grupo de pacientes sin vs con inmunogenicidad, que coincide a la frecuencia reportada por van den Bemt et al. 2011⁽²⁰⁶⁾, el 30% de sus pacientes tenían concentraciones bajas de IFX. Otro estudio similar publicado este año por Siljehult et al. 2018⁽²⁰⁷⁾, el 33.8% de sus pacientes presentaron concentración seria de IFX baja. Con respecto a nuestros resultados y los resultados de los autores anteriormente mencionados, coincidimos que la presencia de AAF se relaciona claramente a una disminución del

fármaco en circulación y como consecuencia se pierde la remisión en el paciente. Por otro lado, esto no se observó en los pacientes tratados con ADA, debido a que ningún paciente presentó niveles indetectables del fármaco, como se muestra en la tabla 16.

Posteriormente, realizamos la correlación de los datos agrupados entre los niveles séricos del fármaco y el DAS28 entre el grupo sin y con inmunogenicidad, tabla 8, observamos que solamente se una correlaciono positiva moderada entre los niveles séricos de fármaco y DAS28 en los pacientes con inmunogenicidad ($\rho = 0.6$, $P < 0.02$), este resultado nos sugiere que los niveles de DAS28 no disminuye ante la presencia del fármaco en circulación. Otros estudios han reportado una menor concentración en suero de IFX que se correlaciona significativamente con DAS28 alto y esto se debe por la presencia de AAF^(154, 172). Con respecto a las citocinas ninguno de los dos grupos presentó una correlación. Por otro lado, realizamos un análisis de correlación de los pacientes de acuerdo a su tratamiento entre los niveles séricos de fármaco (IFX/ADA), DAS28 y citocinas. En los pacientes tratados con IFX, se observó una correlación negativa alta en el grupo control entre la concentración sérica de IFX y el TNF α ($\rho = -0.89$, $P < 0.02$) y en los pacientes tratados con ADA, se observó una correlación negativa moderada en el grupo control entre la concentración sérica de ADA y el MIF ($\rho = -0.41$, $P < 0.03$). Estos resultados nos sugieren que el fármaco está alterando los niveles de estas 2 citocinas. Por otro lado, no se observó correlación con otras citocinas. A diferencia de un estudio realizado por Moots, et al. 2017⁽¹⁷⁶⁾, demuestran que sus pacientes tratados con IFX o ADA y con presencia de AAF, tenían concentraciones séricas de fármaco significativamente más bajas y niveles de VSG y PCR séricos altos, sugiriendo en sus resultados que la presencia de AAF disminuyen los niveles del fármaco en los pacientes e incrementa los niveles de marcadores inflamatorios. Con respecto a lo mencionado anteriormente, en nuestro estudio observamos diferentes citocinas que presentan correlación negativamente entre los dos grupos, pero no fueron estadísticamente significativas, esto podría deber al tamaño de muestra lo cual no nos permite observar una relación lineal con otras citocinas.

8.3. Asociación del perfil de citocinas y inmunogenicidad

En varios estudios se han reportado modificaciones de los niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias en pacientes con AR tratados con estos IFX o con ADA. Entre los resultados más reproducibles está el hecho de que el tratamiento con estos bloqueadores de TNF disminuyeron los niveles de IL-6, VEGF-A, IL-10, TNFR2⁽²⁰⁸⁻²¹¹⁾. Adicionalmente, en un par de estudios similares se observó que el tratamiento biológico coincidió con el incremento de las citocinas IL-4 e INF γ ^(210, 212). Los autores comentaron a propósito de ese cambio que los niveles, sobretodo de INF γ , podría ser empleado como marcador predictivo de la inmunogenicidad. De manera similar, en un estudio comparativo realizado con pacientes con AR y con Lupus Eritematoso Generalizado sugirieron que el incremento en los niveles de INF α podría ser empleado como predictivo de la generación de AAF⁽²¹³⁾. Empleando un diseño diferente (tiempo de toma de muestra), en otro estudio se reportó que los niveles basales bajos de IL-6 e IL-10 podrían predecir una buena respuesta al año de tratamiento con IFX, sugiriendo que el incremento en los niveles de estas citocinas podría asociarse con inmunogenicidad o falla terapéutica⁽²¹¹⁾.

En uno de los primeros reportes donde se evaluaron pacientes con AR tratados con inhibidores de TNF α se analizó el perfil de 12 citocinas en líquido sinovial (LS) y plasma con respecto a su respuesta al tratamiento (n=42). En ese estudio se encontró que los pacientes que no respondieron a la terapia presentaban basalmente niveles elevados de IL-6 en LS y niveles bajos del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) e IL-2, mientras que el resto de las citocinas evaluadas en LS no fueron predictores de respuesta, sugiriendo que las 2 citocinas mencionadas anteriormente, podrían ser útiles para predecir la inmunogenicidad⁽²¹⁴⁾. Sin embargo, en plasma no se encontraron valores significativamente diferentes entre los pacientes que respondieron o no al tratamiento, aunque los niveles de IL-6 se redujeron pos-tratamiento. Por su parte, en el estudio, como se mostró en la Tabla 7; se evaluaron 11 citocinas en el plasma de los pacientes con AR y bajo el tratamiento con IFX/ADA y observamos diferencia significativa en los niveles basales de 3 citocinas entre los grupos control y con inmunogenicidad: INF γ ($P<0.01$), MCP-1 ($P<0.01$) y TNF α ($P<0.0003$). También se observó diferencia significativa en los niveles de IL-10 ($P<0.03$), pero, como se describió en los resultados en la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio (n=57) no se encontraron niveles detectables de la citocina

por lo que su valor estadístico es menor. Cabe la pena resaltar que a semejanza de estudios previos, aquí también observamos que el incremento de $\text{INF}\gamma$ se asoció con la inmunogenicidad⁽²¹⁰⁾.

En otro estudio previo con una cohorte de pacientes con AR tratados con medicamentos biotecnológicos se evaluaron los niveles de 27 citocinas/quimiocinas y 4 receptores solubles en 138 muestras de sueros de pacientes con AR de larga evolución de la enfermedad con el fin de establecer un perfil de citocinas antes y después del tratamiento. Asimismo, por análisis de regresión lineal múltiple identificaron los biomarcadores predictores de la remisión ($\text{DAS28} < 2.6$) en Tocilizumab (anticuerpo monoclonal que bloquea al receptor de la IL-6) y Etanercept (Dominio extracelular del receptor de $\text{TNF}\alpha$ unido a dominio Fc de IgG1 humana y bloqueador de $\text{TNF}\alpha$). En ese estudio se observó que las variaciones en los niveles de las citocinas fue diferente para ambos fármacos, probablemente debido tienen diferente mecanismo de acción. En sus resultados mostraron que, los niveles séricos basales de IL-6, IL-8, Receptor solubles de TNF I y II (sTNF-RI y II) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) fueron predictivos de remisión en el tratamiento con Tocilizumab. Por su parte, la remisión para Etanercept se asoció a la presencia de niveles basales más elevados de IL-9, $\text{TNF}\alpha$ y VEGF1⁽²¹⁵⁾. En base a esos resultados, se puede considerar que parece que la magnitud en el cambio de los niveles circulantes de citocinas refleja la respuesta clínica promovida por el tratamiento en los pacientes.

Por su parte, en nuestro estudio se incluyeron pacientes con tratamiento con IFX o ADA, aunque también se evaluaron las variaciones de citocinas circulantes para cada tratamiento en lo particular. De esa manera, observamos que los pacientes tratados con IFX no se mostraron diferencia significativa en los niveles de citocinas y en el caso los pacientes con ADA se encontraron diferencias significativas en los niveles de Log- $\text{INF}\gamma$; Log-MIF y Log-MCP-1; sin embargo, se perdió la diferencia significativa observada para Log- $\text{TNF}\alpha$ con tratamiento con IFX. Como se observó en un estudio previo⁽²¹⁵⁾, nosotros también observamos diferencias en los perfiles de citocinas inducidos por los 2 tratamientos con anti- $\text{TNF}\alpha$; sin embargo hay que resaltar que como se mencionó antes, en el otro estudio se emplearon medicamentos con diferente mecanismo de acción, mientras que

nosotros incluidos pacientes tratados con medicamentos, en principio, con el mismo mecanismo de acción.

Posteriormente, para evaluar la asociación entre los niveles de las citocinas y la inmunogenicidad, realizamos el análisis de regresión logística univariado. En el caso de los pacientes con IFX no se observó asociación y en los pacientes con ADA se encontró asociación en Log-MCP-1 y Log-TNF α . Por otro lado, algo que se debe destacar del presente estudio es el hecho de que se encontró una asociación entre los niveles basales de Log-INF γ y la inmunogenicidad, pero sólo cuando se juntaron los datos de ambos grupos. En base a estos resultados, podemos sugerir que el monitoreo en los niveles basales de IFN γ , TNF α y MCP-1 podrían sugerir la generación de AAF y, por tanto, eventos inmunogénicos en pacientes bajo tratamiento con IFX o ADA.

Adicionalmente, en un estudio reciente y con similaridad al que aquí se presenta, evaluaron los niveles de IL-6, TNFR1 y TNFR2 de 26 pacientes tanto basal como a los 6 meses de tratamiento con IFX o ADA. Asimismo, se determinaron los niveles de AAF como consecuencia del tratamiento biotecnológico. En base a los resultados, los autores concluyeron que los niveles basales altos de IL-6 y TNFR2, pero no los niveles a 6 meses, no se asociaron con la generación de AAF y, por tanto, se sugirió que podrían ser empleados como marcadores de predicción de ausencia de inmunogenicidad⁽²¹⁶⁾. En comparación a este estudio, el presente trabajo incluyó el doble de pacientes, sin embargo, la actividad clínica basal de los pacientes fue mucho mayor (DAS28>5) que la observada en los pacientes del presente estudio (promedio de DAS28 3.1), por lo que se esperaría observar niveles menores de citocinas, en comparación con pacientes con alta actividad para AR. Por su parte, como se describió antes, 5 citocinas incluidas en nuestro panel a evaluar (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 p40, IL-17A) presentaron niveles indetectables en la mayoría de los pacientes reclutados, quizás por esa razón no pudimos observar diferencias en los niveles de IL-6 entre pacientes sin y con inmunogenicidad. En ese sentido, se sugiere incrementar el tamaño de muestra y particularmente, seleccionar una población de pacientes con mayor actividad clínica basal que tendría mayor probabilidad de contar con niveles altos de citocinas pro-inflamatorias y, por tanto, con mayor capacidad para observar cambios por efecto de la inmunogenicidad.

Por otro lado, a diferencia de todos los otros estudios ya antes discutidos, en nuestros resultados observamos que los niveles basales de Log-MCP-1 fueron significativamente mayores en pacientes con inmunogenicidad y además que los niveles altos de esta citocina se asociaron estadísticamente con la inmunogenicidad. Solo se encontró un estudio relacionado donde se evaluaron los niveles de quimiocinas en 12 pacientes con AR tratados con IFX⁽²¹⁷⁾. En este estudio observaron que las quimiocinas CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 y CCL4/MIP-1 β , relacionadas con la respuesta Th1, disminuyen después del tratamiento con IFX, lo cual sugiere que este medicamento tendría un efecto más pronunciado sobre la actividad Th1 que en la respuesta mediada por Th2; sin embargo, no se observó si había generación de AAF o disminución en los niveles circulantes del fármaco. Desde un punto de vista diferente, varios estudios han mostrado que los niveles de MCP-1 se incrementan en paciente con AR⁽²¹⁷⁻²¹⁹⁾ y esto se explica por el hecho de que este ambiente facilita el reclutamiento e infiltración de células linfoides al espacio sinovial de las articulaciones diartrodiales. En ese sentido, nuestros resultados sugieren que tendríamos que ampliar el estudio de las alteraciones de esta quimiocina para poder determinar cuál es la relación entre la inhibición de TNF α , inducida por el medicamento, y los niveles de MCP-1. De igual manera, se requiere contar con evidencias que relacionen los niveles de la quimiocina con la generación de AAF.

Por otro lado, es relevante resaltar el hecho de que uno de los marcadores asociados con la inmunogenicidad fue la citocina TNF α , lo cual tiene lógica, ya que la generación de AAF neutralizantes, en principio, formará complejos con el medicamento y ocasionará la disminución de sus niveles circulantes, efecto que observamos y que, eventualmente, podría alterar la actividad clínica.

8.4. Limitaciones del estudio

Una de las limitaciones del presente estudio fue el tamaño de muestra, el número de pacientes en este estudio fue relativamente pequeño: 17 pacientes tratados con IFX y 40 pacientes tratados con ADA, lo cual constituye una limitante importante para poder suponer estos resultados como representativos de la población en general. Es importante destacar que si encontramos asociación en las citocinas y la inmunogenicidad, pero sólo fue en 3 citocinas, por lo que si incrementamos el tamaño de muestra tendríamos una mejor

estimación del efecto real y poder proponer un biomarcador predictivo de inmunogenicidad en los bloqueadores de TNF α (IFX/ADA).

Por otro lado, otra limitante fue los problemas de coordinación con los diferentes centros hospitalarios dado que aunque se contó con las valoraciones para la mayoría de los pacientes, no se pudo contar con la determinación de los niveles de α CCP, sino para el 10% de los pacientes reclutados. Esta misma situación ocasionó un retraso significativo en el reclutamiento de los pacientes y, por tanto, en la colección de muestras sanguíneas.

Finalmente, debido fundamentalmente al retraso temporal, aunque inicialmente se consideró que el presente proyecto sería un estudio longitudinal, tuvo que modificarse para presentar resultados en base a un diseño transversal. Como se describió antes, el estudio transversal no permite determinar la respuesta terapéutica de los pacientes ni confirmar si los niveles observados de citocinas, fármacos y AAF confirman las alteraciones características de los eventos de inmunogenicidad para fármacos.

9. CONCLUSIÓN

Con base los resultados presentados, se puede concluir que el tratamiento de medicamentos biotecnológicos bloqueadores de $TNF\alpha$ (IFX o ADA) se asocia con la presencia de AAF y menores concentraciones séricas del fármaco en suero, provocando la pérdida de la remisión en el paciente. Sin embargo, no se observó asociación con alteraciones en la actividad clínica de los pacientes.

Adicionalmente, se observó que el incremento en los niveles de $INF\gamma$, MCP-1 y $TNF\alpha$ se asoció de manera significativa con la inmunogenicidad, sugiriendo que la determinación de los niveles de estas tres citocinas potencialmente permitiría servir como biomarcadores de la generación de eventos inmunogénicos. Sin embargo, se requiere ampliar los estudios con el objetivo de conocer como los niveles de las citocinas es modificado por la inmunogenicidad a fármacos.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2001;358(9285):903-11.
2. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016;388(10055):2023-38.
3. Mota LM, Cruz BA, Brenola CV, Pereira IA, Rezende-Fronza LS, Bertolo MB, et al. Guidelines for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2013;53(2):141-57.
4. Turesson C, Jacobsson LT. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(2):65-72.
5. Turesson C. Extra-articular rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2013;25(3):360-6.
6. Lagrutta M, Alle G, Parodi RL, Greca AA. Severe extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis in absence of concomitant joint involvement following long-term spontaneous remission. A case report. *Reumatol Clin*. 2016;12(4):223-5.
7. Scott IC, Seegobin SD, Steer S, Tan R, Forabosco P, Hinks A, et al. Predicting the risk of rheumatoid arthritis and its age of onset through modelling genetic risk variants with smoking. *PLoS Genet*. 2013;9(9):e1003808.
8. Jalil SF, Arshad M, Bhatti A, Ahmad J, Akbar F, Ali S, et al. Rheumatoid arthritis: What have we learned about the causing factors? *Pak J Pharm Sci*. 2016;29(2):629-45.
9. Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LG, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, et al. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(5):638-41.
10. Mankia K, Emery P. Preclinical Rheumatoid Arthritis: Progress Toward Prevention. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(4):779-88.
11. Rueda B, Orozco G, Sanchez E, Oliver J, Martin J. [Common genetic factors in autoimmunity]. *Reumatol Clin*. 2008;4 Suppl 1:1-4.
12. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(7):2113-21.
13. Liu WX, Jiang Y, Hu QX, You XB. HLA-DRB1 shared epitope allele polymorphisms and rheumatoid arthritis: a systemic review and meta-analysis. *Clin Invest Med*. 2016;39(6):E182-E203.
14. Albani S, Roudier J. Molecular basis for the association between HLA DR4 and rheumatoid arthritis. From the shared epitope hypothesis to a peptidic model of rheumatoid arthritis. *Clin Biochem*. 1992;25(3):209-12.
15. Zanelli E, Breedveld FC, de Vries RR. HLA association with autoimmune disease: a failure to protect? *Rheumatology (Oxford)*. 2000;39(10):1060-6.
16. Gorodezky C, Lavalle C, Castro-Escobar LE, Miranda-Limon JM, Escobar-Gutierrez A. HLA antigens in Mexican patients with adult rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1981;24(7):976-7.
17. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum*. 2000;43(1):30-7.

18. Terao C, Raychaudhuri S, Gregersen PK. Recent Advances in Defining the Genetic Basis of Rheumatoid Arthritis. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2016;17:273-301.
19. Ruiz-Esquide V, Sanmarti R. Tobacco and other environmental risk factors in rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin.* 2012;8(6):342-50.
20. Alpizar-Rodriguez D, Finckh A. Environmental factors and hormones in the development of rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* 2017;39(4):461-8.
21. Reynisdottir G, Olsen H, Joshua V, Engstrom M, Forsslund H, Karimi R, et al. Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(9):1722-7.
22. Bae SC, Lee YH. Association between anti-*Porphyromonas gingivalis* antibody, anti-citrullinated protein antibodies, and rheumatoid arthritis : A meta-analysis. *Z Rheumatol.* 2017.
23. Garcia-Lechuz Moya JM. [Infectious agents in the etiopathogenesis of rheumatic diseases]. *Reumatol Clin.* 2008;4 Suppl 2:29-34.
24. Ebringer A, Rashid T. Rheumatoid arthritis is caused by Proteus: the molecular mimicry theory and Karl Popper. *Front Biosci (Elite Ed).* 2009;1:577-86.
25. Demoruelle MK, Solomon JJ, Fischer A, Deane KD. The lung may play a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Int J Clin Rheumatol.* 2014;9(3):295-309.
26. Demoruelle MK, Deane KD, Holers VM. When and where does inflammation begin in rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26(1):64-71.
27. Sparks JA, Karlson EW. The Roles of Cigarette Smoking and the Lung in the Transitions Between Phases of Preclinical Rheumatoid Arthritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2016;18(3):15.
28. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(10):1488-92.
29. Lundstrom E, Kallberg H, Alfredsson L, Klareskog L, Padyukov L. Gene-environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: all alleles are important. *Arthritis Rheum.* 2009;60(6):1597-603.
30. Rojas-Serrano J, Perez LL, Garcia CG, Moctezuma F, Alvarez-Hernandez E, Vazquez-Mellado J, et al. Current smoking status is associated to a non-ACR 50 response in early rheumatoid arthritis. A cohort study. *Clin Rheumatol.* 2011;30(12):1589-93.
31. Kinloch A, Lundberg K, Wait R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJ, et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2287-95.
32. Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, O'Donnell CI, Gilliland WR, Edison JD, et al. Autoimmunity to peptidyl arginine deiminase type 4 precedes clinical onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2633-9.
33. Hernandez-Aguas J, Montiel-Hernandez JL, De La Garza-Ramos MA, Ruiz-Ramos RV, Escamilla Garcia E, Guzman-Garcia MA, et al. Subchronic Infection of *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* Stimulates an Immune Response but Not Arthritis in Experimental Murine Model. *Int J Dent.* 2017;2017:2052938.
34. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(12):727-30.

35. Martínez-Rivera JI. Relación entre el perfil bacteriano periodontal, actividad de Peptidil deiminasa y actividad clínica de pacientes con Artritis Reumatoide α CCP positivos [Doctorado]: INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA; 2016.
36. König MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med*. 2016;8(369):369ra176.
37. van de Ven A, Prakken B, Albani S. Immunological tolerance in the therapy of rheumatoid arthritis. *Discov Med*. 2007;7(37):46-50.
38. Alpizar-Rodriguez D, Pluchino N, Canny G, Gabay C, Finckh A. The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(8):1254-63.
39. Sapir-Koren R, Livshits G. Rheumatoid arthritis onset in postmenopausal women: Does the ACPA seropositive subset result from genetic effects, estrogen deficiency, skewed profile of CD4(+) T-cells, and their interactions? *Mol Cell Endocrinol*. 2016;431:145-63.
40. Straub RH. The complex role of estrogens in inflammation. *Endocr Rev*. 2007;28(5):521-74.
41. Berglin E, Kokkonen H, Einarsdottir E, Agren A, Rantapaa Dahlqvist S. Influence of female hormonal factors, in relation to autoantibodies and genetic markers, on the development of rheumatoid arthritis in northern Sweden: a case-control study. *Scand J Rheumatol*. 2010;39(6):454-60.
42. Kvien TK. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics*. 2004;22(2 Suppl 1):1-12.
43. Myasoedova E, Davis JM, 3rd, Crowson CS, Gabriel SE. Epidemiology of rheumatoid arthritis: rheumatoid arthritis and mortality. *Curr Rheumatol Rep*. 2010;12(5):379-85.
44. Pelaez-Ballesteros I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M, et al. Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol Suppl*. 2011;86:3-8.
45. Carmona L, Villaverde V, Hernandez-Garcia C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(1):88-95.
46. Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;36(3):182-8.
47. Iwanaga T, Shikichi M, Kitamura H, Yanase H, Nozawa-Inoue K. Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. *Arch Histol Cytol*. 2000;63(1):17-31.
48. Feldmann M. Pathogenesis of arthritis: recent research progress. *Nat Immunol*. 2001;2(9):771-3.
49. Cooles FA, Isaacs JD. Pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(3):233-40.
50. Rommel C, Camps M, Ji H. PI3K delta and PI3K gamma: partners in crime in inflammation in rheumatoid arthritis and beyond? *Nat Rev Immunol*. 2007;7(3):191-201.
51. Choy E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51 Suppl 5:v3-11.
52. Bingham CO, 3rd. The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation. *J Rheumatol Suppl*. 2002;65:3-9.

53. Angelotti F, Parma A, Cafaro G, Capecchi R, Alunno A, Puxeddu I. One year in review 2017: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35(3):368-78.
54. Bellucci E, Terenzi R, La Paglia GM, Gentileschi S, Tripoli A, Tani C, et al. One year in review 2016: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34(5):793-801.
55. Picerno V, Ferro F, Adinolfi A, Valentini E, Tani C, Alunno A. One year in review: the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2015;33(4):551-8.
56. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2001;344(12):907-16.
57. Feldmann M, Maini SR. Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. *Immunol Rev.* 2008;223:7-19.
58. Itoh Y. Metalloproteinases in Rheumatoid Arthritis: Potential Therapeutic Targets to Improve Current Therapies. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:327-38.
59. Roeleveld DM, Koenders MI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. *Cytokine.* 2015;74(1):101-7.
60. Sanchez-Ramon S, Lopez-Longo FJ, Carreno L. [Interleukins network in rheumatoid arthritis pathophysiology: beyond proinflammatory cytokines]. *Reumatol Clin.* 2011;6S3:S20-4.
61. Rampart M, Herman AG, Grillet B, Opdenakker G, Van Damme J. Development and application of a radioimmunoassay for interleukin-8: detection of interleukin-8 in synovial fluids from patients with inflammatory joint disease. *Lab Invest.* 1992;66(4):512-8.
62. Dominguez-Hernández L. Caracterización de los factores inductores del Factor de inhibición de la Migración de Macrófagos (MIF) en los pacientes con Artritis Reumatoide [Maestría]: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS; 2012.
63. Gomez-Puerta JA, Celis R, Hernandez MV, Ruiz-Esquide V, Ramirez J, Haro I, et al. Differences in synovial fluid cytokine levels but not in synovial tissue cell infiltrate between anti-citrullinated peptide/protein antibody-positive and -negative rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(6):R182.
64. Bustos Rivera-Bahena C, Xibille-Friedmann DX, Gonzalez-Christen J, Carrillo-Vazquez SM, Montiel-Hernandez JL. Peripheral blood leptin and resistin levels as clinical activity biomarkers in Mexican Rheumatoid Arthritis patients. *Reumatol Clin.* 2016;12(6):323-6.
65. Noack M, Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* 2017;39(4):365-83.
66. Wells AF, Curtis JR, Betts KA, Douglas K, Du EX, Ganguli A. Systematic Literature Review and Meta-analysis of Tumor Necrosis Factor-Alpha Experienced Rheumatoid Arthritis. *Clin Ther.* 2017;39(8):1680-94 e2.
67. Abbas Ak, Lichtman AH, Pillai S. Capitulo 10. Diferenciación y funciones de los linfocitos T efectoras CD4+. In: ELSEVIER, editor. *Inmunología Celular y Molecular.* octava edición ed2015. p. 532.
68. Deleuran BW, Chu CQ, Field M, Brennan FM, Mitchell T, Feldmann M, et al. Localization of tumor necrosis factor receptors in the synovial tissue and cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. Implications for local actions of tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum.* 1992;35(10):1170-8.

69. Fragoso JM, Vargas Alarcon G, Jimenez Morales S, Reyes Hernandez OD, Ramirez Bello J. [Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in autoimmune diseases (AIDs): molecular biology and genetics]. *Gac Med Mex.* 2014;150(4):334-44.
70. Vanamee ES, Faustman DL. Structural principles of tumor necrosis factor superfamily signaling. *Sci Signal.* 2018;11(511).
71. Mahtani KR, Miller A, Rivero-Arias O, Heneghan C, Price CP, Thompson M, et al. Autoimmune markers for the diagnosis of rheumatoid arthritis in primary care: primary care diagnostic technology update. *Br J Gen Pract.* 2013;63(615):553-4.
72. Tedesco A, D'Agostino D, Soriente I, Amato P, Piccoli R, Sabatini P. A new strategy for the early diagnosis of rheumatoid arthritis: a combined approach. *Autoimmun Rev.* 2009;8(3):233-7.
73. Chen YF, Jobanputra P, Barton P, Bryan S, Fry-Smith A, Harris G, et al. Cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs (etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib and lumiracoxib) for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2008;12(11):1-278, iii.
74. Lazzaroni M, Bianchi Porro G. Gastrointestinal side-effects of traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs and new formulations. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20 Suppl 2:48-58.
75. Carrillo Gutierrez OY, Perez Sanchez AG, Medina Serriteno N, Rodriguez Orozco AR. [Side effects of COX-2 selective inhibitors. Critic related with its administration in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis]. *Rev Alerg Mex.* 2007;54(4):116-22.
76. Lindhardsen J, Gislason GH, Jacobsen S, Ahlehoff O, Olsen AM, Madsen OR, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(8):1515-21.
77. Slot O. Glucocorticoid treatments and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2007;34(8):1784; author reply
78. Malysheva OA, Wahle M, Wagner U, Pierer M, Arnold S, Hantzschel H, et al. Low-dose prednisolone in rheumatoid arthritis: adverse effects of various disease modifying antirheumatic drugs. *J Rheumatol.* 2008;35(6):979-85.
79. Neeck G. Fifty years of experience with cortisone therapy in the study and treatment of rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;966:28-38.
80. Tian H, Cronstein BN. Understanding the mechanisms of action of methotrexate: implications for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2007;65(3):168-73.
81. Donahue KE, Gartlehner G, Jonas DE, Lux LJ, Thieda P, Jonas BL, et al. Systematic review: comparative effectiveness and harms of disease-modifying medications for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 2008;148(2):124-34.
82. Strand V, Miller P, Williams SA, Saunders K, Grant S, Kremer J. Discontinuation of Biologic Therapy in Rheumatoid Arthritis: Analysis from the Corona RA Registry. *Rheumatol Ther.* 2017;4(2):489-502.
83. Dale J, Porter D. Pharmacotherapy: concepts of pathogenesis and emerging treatments. Optimising the strategy of care in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2010;24(4):443-55.
84. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2007;370(9602):1861-74.

85. Bingham CO, 3rd. Emerging therapeutics for rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2008;66(3):210-5.
86. Tarner IH, Muller-Ladner U, Gay S. Emerging targets of biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2007;3(6):336-45.
87. Chandrashekar S. Pharmacokinetic consideration of synthetic DMARDs in rheumatoid arthritis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013;9(8):969-81.
88. Maddison P, Kiely P, Kirkham B, Lawson T, Moots R, Proudfoot D, et al. Leflunomide in rheumatoid arthritis: recommendations through a process of consensus. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44(3):280-6.
89. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacology.* 2000;47(2-3):247-57.
90. Wessels JA, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47(3):249-55.
91. Louie SG, Park B, Yoon H. Biological response modifiers in the management of rheumatoid arthritis. *Am J Health Syst Pharm.* 2003;60(4):346-55.
92. Stockwin LH, Holmes S. Antibodies as therapeutic agents: vive la renaissance! *Expert Opin Biol Ther.* 2003;3(7):1133-52.
93. Gura T. Therapeutic antibodies: magic bullets hit the target. *Nature.* 2002;417(6889):584-6.
94. Feldmann M, Brennan FM, Foxwell BM, Maini RN. The role of TNF alpha and IL-1 in rheumatoid arthritis. *Curr Dir Autoimmun.* 2001;3:188-99.
95. Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med.* 2000;343(22):1594-602.
96. Klareskog L, van der Heijde D, de Jager JP, Gough A, Kalden J, Malaise M, et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double-blind randomised controlled trial. *Lancet.* 2004;363(9410):675-81.
97. Kornbluth A. Infliximab approved for use in Crohn's disease: a report on the FDA GI Advisory Committee conference. *Inflamm Bowel Dis.* 1998;4(4):328-9.
98. Marenco de la Fuente JL. [Applications of monoclonal antibodies and biotechnology products in the treatment of chronic inflammatory diseases]. *Rev Clin Esp.* 2005;205(3):127-36.
99. Silva LC, Ortigosa LC, Benard G. Anti-TNF-alpha agents in the treatment of immune-mediated inflammatory diseases: mechanisms of action and pitfalls. *Immunotherapy.* 2010;2(6):817-33.
100. Catrina AI, Trollmo C, af Klint E, Engstrom M, Lampa J, Hermansson Y, et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints: extended report. *Arthritis Rheum.* 2005;52(1):61-72.
101. Huang QQ, Birkett R, Doyle R, Shi B, Roberts EL, Mao Q, et al. The Role of Macrophages in the Response to TNF Inhibition in Experimental Arthritis. *J Immunol.* 2018;200(1):130-8.
102. Felson D. Defining remission in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71 Suppl 2:i86-8.

103. Tugwell P, Boers M, Baker P, Wells G, Snider J. Endpoints in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol Suppl.* 1994;42:2-8.
104. van Gestel AM, Prevoo ML, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum.* 1996;39(1):34-40.
105. Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C, et al. American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995;38(6):727-35.
106. Keating GM, Perry CM. Infliximab: an updated review of its use in Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *BioDrugs.* 2002;16(2):111-48.
107. Markham A, Lamb HM. Infliximab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs.* 2000;59(6):1341-59.
108. Siddiqui MA, Scott LJ. Infliximab: a review of its use in Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *Drugs.* 2005;65(15):2179-208.
109. Lyseng-Williamson KA, Foster RH. Infliximab: a pharmacoeconomic review of its use in rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics.* 2004;22(2):107-32.
110. EMA. Ficha Técnica-Remicade® 2009 [updated 21/03/2012. Available from: www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000240/human_med_001023.jsp&mid=WC0b01ac058001d124.
111. Nestorov I. Clinical pharmacokinetics of TNF antagonists: how do they differ? *Semin Arthritis Rheum.* 2005;34(5 Suppl1):12-8.
112. 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;54(11):1107-23.
113. Smolen JS, Han C, Bala M, Maini RN, Kalden JR, van der Heijde D, et al. Evidence of radiographic benefit of treatment with infliximab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients who had no clinical improvement: a detailed subanalysis of data from the anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study. *Arthritis Rheum.* 2005;52(4):1020-30.
114. Smolen JS, Han C, van der Heijde DM, Emery P, Bathon JM, Keystone E, et al. Radiographic changes in rheumatoid arthritis patients attaining different disease activity states with methotrexate monotherapy and infliximab plus methotrexate: the impacts of remission and tumour necrosis factor blockade. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):823-7.
115. Wiens A, Correr CJ, Venson R, Grochocki MC, Otuki MF, Pontarolo R. A meta-analysis of the efficacy and safety of using infliximab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2009;28(12):1365-73.
116. Liang S, Dai J, Hou S, Su L, Zhang D, Guo H, et al. Structural basis for treating tumor necrosis factor alpha (TNFalpha)-associated diseases with the therapeutic antibody infliximab. *J Biol Chem.* 2013;288(19):13799-807.
117. Cvetkovic RS, Scott LJ. Adalimumab: a review of its use in adult patients with rheumatoid arthritis. *BioDrugs.* 2006;20(5):293-311.
118. Bang LM, Keating GM. Adalimumab: a review of its use in rheumatoid arthritis. *BioDrugs.* 2004;18(2):121-39.

119. Machado MA, Maciel AA, de Lemos LL, Costa JO, Kakehasi AM, Andrade EI, et al. Adalimumab in rheumatoid arthritis treatment: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Rev Bras Reumatol.* 2013;53(5):419-30.
120. EMA. Ficha Técnica-Humira® 2009 [updated 10/05/2017. Available from: www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000481/human_med_000822.jsp&mid=WC0b01ac058001d124.
121. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, Cohen SB, Pavelka K, van Vollenhoven R, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):26-37.
122. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Kavanaugh AF, Chartash EK, Segurado OG. Long term efficacy and safety of adalimumab plus methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: ARMADA 4 year extended study. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(6):753-9.
123. Furst DE, Schiff MH, Fleischmann RM, Strand V, Birbara CA, Compagnone D, et al. Adalimumab, a fully human anti tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody, and concomitant standard antirheumatic therapy for the treatment of rheumatoid arthritis: results of STAR (Safety Trial of Adalimumab in Rheumatoid Arthritis). *J Rheumatol.* 2003;30(12):2563-71.
124. Hu S, Liang S, Guo H, Zhang D, Li H, Wang X, et al. Comparison of the inhibition mechanisms of adalimumab and infliximab in treating tumor necrosis factor alpha-associated diseases from a molecular view. *J Biol Chem.* 2013;288(38):27059-67.
125. Carrascosa JM. Immunogenicity in biologic therapy: implications for dermatology. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104(6):471-9.
126. Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. *Clin Ther.* 2002;24(11):1720-40; discussion 19.
127. Schellekens H, Casadevall N. Immunogenicity of recombinant human proteins: causes and consequences. *J Neurol.* 2004;251 Suppl 2:II4-9.
128. Koren E, Smith HW, Shores E, Shankar G, Finco-Kent D, Rup B, et al. Recommendations on risk-based strategies for detection and characterization of antibodies against biotechnology products. *J Immunol Methods.* 2008;333(1-2):1-9.
129. Gunn GR, 3rd, Sealey DC, Jamali F, Meibohm B, Ghosh S, Shankar G. From the bench to clinical practice: understanding the challenges and uncertainties in immunogenicity testing for biopharmaceuticals. *Clin Exp Immunol.* 2016;184(2):137-46.
130. Zhao L, Ren TH, Wang DD. Clinical pharmacology considerations in biologics development. *Acta Pharmacol Sin.* 2012;33(11):1339-47.
131. Strober BE. Why Biologic Therapies Sometimes Lose Efficacy. *Semin Cutan Med Surg.* 2016;35(4 Suppl 4):S78-80.
132. van Schouwenburg PA, Rispens T, Wolbink GJ. Immunogenicity of anti-TNF biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;9(3):164-72.
133. Baker MP, Reynolds HM, Lumericci B, Bryson CJ. Immunogenicity of protein therapeutics: The key causes, consequences and challenges. *Self Nonself.* 2010;1(4):314-22.
134. Jawa V, Cousens LP, Awwad M, Wakshull E, Kropshofer H, De Groot AS. T-cell dependent immunogenicity of protein therapeutics: Preclinical assessment and mitigation. *Clin Immunol.* 2013;149(3):534-55.

135. De Groot AS, Scott DW. Immunogenicity of protein therapeutics. *Trends Immunol.* 2007;28(11):482-90.
136. Valor L, de la Torre I. Understanding the immunogenicity concept. *Reumatol Clin.* 2013;9(1):1-4.
137. Schaefferbeke T, Truchetet ME, Kostine M, Barnetche T, Bannwarth B, Richez C. Immunogenicity of biologic agents in rheumatoid arthritis patients: lessons for clinical practice. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(2):210-20.
138. Strand V, Balsa A, Al-Saleh J, Barile-Fabris L, Horiuchi T, Takeuchi T, et al. Immunogenicity of Biologics in Chronic Inflammatory Diseases: A Systematic Review. *BioDrugs.* 2017.
139. Kalden JR, Schulze-Koops H. Immunogenicity and loss of response to TNF inhibitors: implications for rheumatoid arthritis treatment. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13(12):707-18.
140. Anderson P, Louie J, Lau A, Broder M. Mechanisms of differential immunogenicity of tumor necrosis factor inhibitors. *Curr Rheumatol Rep.* 2005;7(1):3-9.
141. Kaliyaperumal A, Jing S. Immunogenicity assessment of therapeutic proteins and peptides. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009;10(4):352-8.
142. Krishna M, Nadler SG. Immunogenicity to Biotherapeutics - The Role of Anti-drug Immune Complexes. *Front Immunol.* 2016;7:21.
143. Radstake TR, Svenson M, Eijsbouts AM, van den Hoogen FH, Enevold C, van Riel PL, 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(11):1739-45.
144. Ben-Horin S. Loss of response to anti-tumor necrosis factors: what is the next step? *Dig Dis.* 2014;32(4):384-8.
145. 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(3):513-8.
146. Ortiz-Saldivar EA, Montiel-Hernández JL. Efecto de la inmunogenicidad en el uso de los Medicamentos Biotecnológicos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 2017;49:15.
147. Xibille D, Carrillo S, Huerta-Sil G, Hernandez R, Limon L, Olvera-Soto G, et al. Current state of biosimilars in Mexico: The position of the Mexican College of Rheumatology, 2016. *Reumatol Clin.* 2017.
148. Yoo DH, Prodanovic N, Jaworski J, Miranda P, Ramiterre E, Lanzon A, et al. Efficacy and safety of CT-P13 (biosimilar infliximab) in patients with rheumatoid arthritis: comparison between switching from reference infliximab to CT-P13 and continuing CT-P13 in the PLANETRA extension study. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(2):355-63.
149. Park W, Yoo DH, Miranda P, Brzosko M, Wiland P, Gutierrez-Urena S, et al. Efficacy and safety of switching from reference infliximab to CT-P13 compared with maintenance of CT-P13 in ankylosing spondylitis: 102-week data from the PLANETAS extension study. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(2):346-54.
150. Medina F, Plasencia C, Goupille P, Paintaud G, Balsa A, Mulleman D. Current Practice for Therapeutic Drug Monitoring of Biopharmaceuticals in Spondyloarthritis. *Ther Drug Monit.* 2017;39(4):360-3.
151. St Clair EW, Wagner CL, Fasanmade AA, Wang B, Schaible T, Kavanaugh A, et al. The relationship of serum infliximab concentrations to clinical improvement in rheumatoid

arthritis: results from ATTRACT, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2002;46(6):1451-9.

152. Aarden L, Ruuls SR, Wolbink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement. *Curr Opin Immunol.* 2008;20(4):431-5.

153. Balsa A, Sanmarti R, Rosas J, Martin V, Cabez A, Gomez S, et al. Drug immunogenicity in patients with inflammatory arthritis and secondary failure to tumour necrosis factor inhibitor therapies: the REASON study. *Rheumatology (Oxford).* 2018;57(4):688-93.

154. Wolbink GJ, Voskuyl AE, Lems WF, de Groot E, Nurmohamed MT, Tak PP, et al. Relationship between serum trough infliximab levels, pretreatment C reactive protein levels, and clinical response to infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(5):704-7.

155. Pascual-Salcedo D, Plasencia C, Ramiro S, Nuno L, Bonilla G, Nagore D, et al. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(8):1445-52.

156. Plasencia C, Pascual-Salcedo D, Alcocer P, Bonilla MG, Villalba A, Peiteado D, et al. The timing of serum infliximab loss, or the appearance of antibodies to infliximab (ATI), is related with the clinical activity in ATI-positive patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(11):1888-90.

157. Nash P, Nayiager S, Genovese MC, Kivitz AJ, Oelke K, Ludivico C, et al. Immunogenicity, safety, and efficacy of abatacept administered subcutaneously with or without background methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: results from a phase III, international, multicenter, parallel-arm, open-label study. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(5):718-28.

158. Jani M, Barton A, Warren RB, Griffiths CE, Chinoy H. The role of DMARDs in reducing the immunogenicity of TNF inhibitors in chronic inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2014;53(2):213-22.

159. Wolbink GJ, Vis M, Lems W, Voskuyl AE, de Groot E, Nurmohamed MT, et al. Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(3):711-5.

160. Ducourau E, Mulleman D, Paintaud G, Miow Lin DC, Lauferon 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(3):R105.

161. Gavrila BI, Ciofu C, Stoica V. Biomarkers in Rheumatoid Arthritis, what is new? *J Med Life.* 2016;9(2):144-8.

162. Chaves Chaparro LM, Salvatierra Ossorio J, Raya Alvarez E. [Predictors of response to biologic therapies in rheumatoid arthritis]. *Reumatol Clin.* 2011;7(2):141-4.

163. Ramiro S, Machado P, Singh JA, Landewe RB, da Silva JA. Applying science in practice: the optimization of biological therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(6):220.

164. Brzustewicz E, Bryl E. The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis--Practical and potential application of cytokines as biomarkers and targets of personalized therapy. *Cytokine.* 2015;76(2):527-36.

165. Heard BJ, Rosvold JM, Fritzler MJ, El-Gabalawy H, Wiley JP, Krawetz RJ. A computational method to differentiate normal individuals, osteoarthritis and rheumatoid arthritis patients using serum biomarkers. *J R Soc Interface*. 2014;11(97):20140428.
166. Deane KD, O'Donnell CI, Hueber W, Majka DS, Lazar AA, Derber LA, et al. The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthritis Rheum*. 2010;62(11):3161-72.
167. Meyer PW, Hodkinson B, Ally M, Musenge E, Wade AA, Fickl H, et al. Circulating cytokine profiles and their relationships with autoantibodies, acute phase reactants, and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:158514.
168. Vivar N, Van Vollenhoven RF. Advances in the treatment of rheumatoid arthritis. *F1000Prime Rep*. 2014;6:31.
169. Verweij CL. Predicting the future of anti-tumor necrosis factor therapy. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):115.
170. Hueber W, Tomooka BH, Batliwalla F, Li W, Monach PA, Tibshirani RJ, et al. Blood autoantibody and cytokine profiles predict response to anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):R76.
171. Fabre S, Dupuy AM, Dossat N, Guisset C, Cohen JD, Cristol JP, et al. Protein biochip array technology for cytokine profiling predicts etanercept responsiveness in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2008;153(2):188-95.
172. 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(12):3782-9.
173. Jung SM, Kim HS, Kim HR, Kim NY, Lee JH, Kim J, et al. Immunogenicity of anti-tumour necrosis factor therapy in Korean patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Int Immunopharmacol*. 2014;21(1):20-5.
174. Mazilu D, Opris D, Gainaru C, Iliuta M, Apetrei N, Luca G, et al. Monitoring drug and antidrug levels: a rational approach in rheumatoid arthritis patients treated with biologic agents who experience inadequate response while being on a stable biologic treatment. *Biomed Res Int*. 2014;2014:702701.
175. Arstikyte I, Kapleryte G, Butrimiene I, Venalis A. Influence of Immunogenicity on the Efficacy of Long-Term Treatment with TNF alpha Blockers in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis Patients. *Biomed Res Int*. 2015;2015:604872.
176. Moots RJ, Xavier RM, Mok CC, Rahman MU, Tsai WC, Al-Maini MH, et al. The impact of anti-drug antibodies on drug concentrations and clinical outcomes in rheumatoid arthritis patients treated with adalimumab, etanercept, or infliximab: Results from a multinational, real-world clinical practice, non-interventional study. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175207.
177. Krieckaert CL, Jamnitski A, Nurmohamed MT, Kostense PJ, Boers M, Wolbink G. Comparison of long-term clinical outcome with etanercept treatment and adalimumab treatment of rheumatoid arthritis with respect to immunogenicity. *Arthritis Rheum*. 2012;64(12):3850-5.
178. Bloem K, van Leeuwen A, Verbeek G, Nurmohamed MT, Wolbink GJ, van der Kleij D, et al. Systematic comparison of drug-tolerant assays for anti-drug antibodies in a

cohort of adalimumab-treated rheumatoid arthritis patients. *J Immunol Methods*. 2015;418:29-38.

179. Jani M, Chinoy H, Warren RB, Griffiths CE, Plant D, Morgan AW, et al. Clinical utility of random anti-tumour necrosis factor drug testing and measurement of anti-drug antibodies on long-term treatment response in rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2015;385 Suppl 1:S48.

180. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birbara CA, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum*. 2003;48(1):35-45.

181. Cohen SB, Alonso-Ruiz A, Klimiuk PA, Lee EC, Peter N, Sonderegger I, et al. Similar efficacy, safety and immunogenicity of adalimumab biosimilar BI 695501 and Humira reference product in patients with moderately to severely active rheumatoid arthritis: results from the phase III randomised VOLTAIRE-RA equivalence study. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(6):914-21.

182. Villeneuve E, Nam J, Emery P. 2010 ACR-EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(5):481-3.

183. Brown PM, Isaacs JD. Rheumatoid arthritis: an evolutionary force in biologics. *Curr Pharm Des*. 2015;21(17):2170-8.

184. Alfonso-Cristancho R, Armstrong N, Arjunji R, Riemsma R, Worthy G, Ganguly R, et al. Comparative effectiveness of biologics for the management of rheumatoid arthritis: systematic review and network meta-analysis. *Clin Rheumatol*. 2017;36(1):25-34.

185. Vashisht P, O'Dell J. Not all TNF inhibitors in rheumatoid arthritis are created equal: important clinical differences. *Expert Opin Biol Ther*. 2017;17(8):989-99.

186. Bartelds GM, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JW, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA*. 2011;305(14):1460-8.

187. Keiserman M, Codreanu C, Handa R, Xibille-Friedmann D, Mysler E, Briceno F, et al. The effect of antidrug antibodies on the sustainable efficacy of biologic therapies in rheumatoid arthritis: practical consequences. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10(8):1049-57.

188. van Schouwenburg PA, Krieckaert CL, Rispens T, Aarden L, Wolbink GJ, Wouters D. Long-term measurement of anti-adalimumab using pH-shift-anti-idiotypic antigen binding test shows predictive value and transient antibody formation. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(10):1680-6.

189. Spinelli FR, Valesini G. Immunogenicity of anti-tumour necrosis factor drugs in rheumatic diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(6):954-63.

190. Mok CC, Tsai WC, Chen DY, Wei JC. Immunogenicity of anti-TNF biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Opin Biol Ther*. 2016;16(2):201-11.

191. Subesinghe S, Bechman K, Rutherford AI, Goldblatt D, Galloway JB. A Systematic Review and Metaanalysis of Antirheumatic Drugs and Vaccine Immunogenicity in Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*. 2018.

192. Strand V, Balsa A, Al-Saleh J, Barile-Fabris L, Horiuchi T, Takeuchi T, et al. Immunogenicity of Biologics in Chronic Inflammatory Diseases: A Systematic Review. *BioDrugs*. 2017;31(4):299-316.

193. Paulus HE, Ramos B, Wong WK, Ahmed A, Bulpitt K, Park G, et al. Equivalence of the acute phase reactants C-reactive protein, plasma viscosity, and Westergren erythrocyte sedimentation rate when used to calculate American College of Rheumatology 20% improvement criteria or the Disease Activity Score in patients with early rheumatoid arthritis. *Western Consortium of Practicing Rheumatologists. J Rheumatol.* 1999;26(11):2324-31.
194. Sokka T, Pincus T. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, or rheumatoid factor are normal at presentation in 35%-45% of patients with rheumatoid arthritis seen between 1980 and 2004: analyses from Finland and the United States. *J Rheumatol.* 2009;36(7):1387-90.
195. Graf J, Scherzer R, Grunfeld C, Imboden J. Levels of C-reactive protein associated with high and very high cardiovascular risk are prevalent in patients with rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2009;4(7):e6242.
196. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):954-60.
197. Benucci M, Meacci F, Grossi V, Infantino M, Manfredi M, Bellio E, et al. Correlations between immunogenicity, drug levels, and disease activity in an Italian cohort of rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab. *Biologics.* 2016;10:53-8.
198. Reyes-Beltran B, Delgado G. Anti-drug antibodies in Colombian patients with rheumatoid arthritis treated with Enbrel vs Etaner - Preliminary report. *J Immunotoxicol.* 2017;14(1):103-8.
199. Haggerty HG, Abbott MA, Reilly TP, DeVona DA, Gleason CR, Tay L, et al. Evaluation of immunogenicity of the T cell costimulation modulator abatacept in patients treated for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2007;34(12):2365-73.
200. Aybay C, Ozel S, Aybay C. Demonstration of specific antibodies against infliximab induced during treatment of a patient with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2006;26(5):473-80.
201. Xibille-Friedmann DX, Ortiz-Panozo E, Bustos Rivera-Bahena C, Sandoval-Rios M, Hernandez-Gongora SE, Dominguez-Hernandez L, et al. Leptin and adiponectin as predictors of disease activity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2015;33(4):471-7.
202. Kneepkens EL, Krieckaert CL, van der Kleij D, Nurmohamed MT, van der Horst-Bruinsma IE, Rispens T, et al. Lower etanercept levels are associated with high disease activity in ankylosing spondylitis patients at 24 weeks of follow-up. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(10):1825-9.
203. Iwahashi M, Inoue H, Matsubara T, Tanaka T, Amano K, Kanamono T, et al. Efficacy, safety, pharmacokinetics and immunogenicity of abatacept administered subcutaneously or intravenously in Japanese patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate: a Phase II/III, randomized study. *Mod Rheumatol.* 2014;24(6):885-91.
204. Murdaca G, Spano F, Contatore M, Guastalla A, Penza E, Magnani O, et al. Immunogenicity of infliximab and adalimumab: what is its role in hypersensitivity and modulation of therapeutic efficacy and safety? *Expert Opin Drug Saf.* 2016;15(1):43-52.

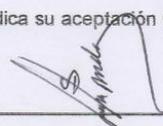
205. Talotta R, Berzi A, Atzeni F, Batticciotto A, Clerici M, Sarzi-Puttini P, et al. Paradoxical Expansion of Th1 and Th17 Lymphocytes in Rheumatoid Arthritis Following Infliximab Treatment: a Possible Explanation for a Lack of Clinical Response. *J Clin Immunol.* 2015;35(6):550-7.
206. van den Bemt BJ, den Broeder AA, Wolbink GJ, Hekster YA, van Riel PL, 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.
207. Siljehult F, Arlestig L, Eriksson C, Rantapaa-Dahlqvist S. Concentrations of infliximab and anti-drug antibodies in relation to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2018:1-6.
208. Korczowska I, Lacki JK, Hrycaj P. Influence of infliximab on cytokines network and markers of bone remodeling in rheumatoid arthritis patients. *Yonsei Med J.* 2013;54(1):183-8.
209. Selaas O, Nordal HH, Halse AK, Brun JG, Jonsson R, Brokstad KA. Serum Markers in Rheumatoid Arthritis: A Longitudinal Study of Patients Undergoing Infliximab Treatment. *Int J Rheumatol.* 2015;2015:276815.
210. Takeshita M, Suzuki K, Kikuchi J, Izumi K, Kurasawa T, Yoshimoto K, et al. Infliximab and etanercept have distinct actions but similar effects on cytokine profiles in rheumatoid arthritis. *Cytokine.* 2015;75(2):222-7.
211. Hayashi S, Suzuki K, Yoshimoto K, Takeshita M, Kurasawa T, Yamaoka K, et al. Early Prognostic Factors Associated with the Efficacy of Infliximab Treatment for Patients with Rheumatoid Arthritis with Inadequate Response to Methotrexate. *Rheumatol Ther.* 2016;3(1):155-66.
212. Nissinen R, Leirisalo-Repo M, Peltomaa R, Palosuo T, Vaarala O. Cytokine and chemokine receptor profile of peripheral blood mononuclear cells during treatment with infliximab in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(6):681-7.
213. Ishikawa Y, Fujii T, Ishikawa SK, Yukawa N, Hashimoto M, Furu M, et al. Immunogenicity and Lupus-Like Autoantibody Production Can Be Linked to Each Other along With Type I Interferon Production in Patients with Rheumatoid Arthritis Treated With Infliximab: A Retrospective Study of a Single Center Cohort. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162896.
214. Wright HL, Bucknall RC, Moots RJ, Edwards SW. Analysis of SF and plasma cytokines provides insights into the mechanisms of inflammatory arthritis and may predict response to therapy. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51(3):451-9.
215. Uno K, Yoshizaki K, Iwahashi M, Yamana J, Yamana S, Tanigawa M, et al. Pretreatment Prediction of Individual Rheumatoid Arthritis Patients' Response to Anti-Cytokine Therapy Using Serum Cytokine/Chemokine/Soluble Receptor Biomarkers. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132055.
216. Eng GP, Bouchelouche P, Bartels EM, Bliddal H, Bendtzen K, Stoltenberg M. Anti-Drug Antibodies, Drug Levels, Interleukin-6 and Soluble TNF Receptors in Rheumatoid Arthritis Patients during the First 6 Months of Treatment with Adalimumab or Infliximab: A Descriptive Cohort Study. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162316.
217. Eriksson C, Rantapaa-Dahlqvist S, Sundqvist KG. Changes in chemokines and their receptors in blood during treatment with the TNF inhibitor infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2013;42(4):260-5.

218. Hampel U, Sesselmann S, Iserovich P, Sel S, Paulsen F, Sack R. Chemokine and cytokine levels in osteoarthritis and rheumatoid arthritis synovial fluid. *J Immunol Methods*. 2013;396(1-2):134-9.
219. Arkema EV, Lu B, Malspeis S, Karlson EW, Costenbader KH. Monocyte chemoattractant protein-1 elevation prior to the onset of rheumatoid arthritis among women. *Biomark Med*. 2015;9(8):723-9.

11. ANEXOS

ANEXO 1

Carta de consentimiento informado (PACIENTE)

 UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS	FACULTAD DE FARMACIA Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62210 Tel. (01 777) 329 7089 y 329 7000 Ext. 3365	 Facultad de Farmacia Calle 1001 Chamilpa de Cuernavaca, Morelos
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO		
<p>Proyecto: Asociación entre la presencia de anticuerpos anti-Idiotipo, marcadores de inflamación y respuesta al tratamiento con biológicos en pacientes con Artritis reumatoide. Estudio analítico, prospectivo y multicéntrico.</p>		
<p>Estimado(a) Señor/Señora: Introducción/Objetivo: El Hospital Regional 1ro. de Octubre, ISSSTE, en colaboración con la Facultad de Farmacia de la UAEM está realizando un proyecto de investigación el cual tiene como objetivo conocer la relación entre la formación de anticuerpos específicos (anticuerpos anti-idiotipo) en contra de los medicamentos biológicos (Infliximab y Adalimumab) y su efecto sobre la respuesta clínica e inflamatoria en el paciente con Artritis Reumatoide. Esta información permitirá orientar a su reumatólogo sobre los mejores esquemas de tratamiento. Al mismo tiempo, al determinar los niveles de su medicamento en sangre, será de gran apoyo para que su reumatólogo pueda ajustar la dosificación óptima de su medicamento (Infliximab o Adalimumab).</p>		
<p>Procedimientos: Si Usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente: previo a la aplicación de la dosis del fármaco (Infliximab o Adalimumab) por parte de su reumatólogo, se le pedirá firmar esta Carta de Consentimiento Informado, como participante del proyecto: Asociación entre la presencia de anticuerpos anti-Idiotipo, marcadores de inflamación y respuesta al tratamiento con biológicos en pacientes con Artritis reumatoide. Estudio analítico, prospectivo y multicéntrico. A continuación, se le pedirá que done aproximadamente 10 ml de sangre en dos tubos, la cual será realizada por personal del Laboratorio Clínico. Esta sangre nos permitirá identificar la concentración de moléculas durante las etapas de su enfermedad. Le aclaramos que (TANTO LAS ENTREVISTAS Y LA TOMA DE MUESTRAS) serán realizadas por personal capacitado y certificado.</p>		
<p>Beneficios: Una de las propuestas para explicar la pérdida de respuesta a los fármacos es la aparición de anticuerpos anti-fármaco (anticuerpos anti-idiotipo) en los pacientes. Sin embargo, este estudio sería el primero que se realiza en nuestro país y sus resultados permitirán confirmar si este tipo de respuesta en los pacientes tiene consecuencias para su respuesta terapéutica. Al mismo tiempo, este estudio permitirá determinar los niveles del fármaco en sangre de los pacientes y, por lo tanto, será de gran ayuda a su reumatólogo para evaluar el desempeño del fármaco y/o permitirá realizar ajustes al tratamiento. Adicionalmente usted estará colaborando con la Facultad de Farmacia de la UAEM en el estudio de los factores que están asociados a la inmunogenicidad en pacientes con Artritis Reumatoide.</p>		
<p>Confidencialidad: Toda la información que Usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado(a) con un número de folio y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentaran de tal manera que no podrá ser identificado(a).</p>		
<p>Riesgos Potenciales: Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas le hicieran sentir un poco incomodo(a), tiene el derecho de no responderla. Durante la toma de muestras no existe ningún riesgo hacia su persona, sin embargo, posterior a la toma de sangre puede quedar un pequeño moretón en la zona de punción, el cual se quitará en los próximos días. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted.</p>		
<p>Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en su atención en el hospital.</p>		
<p>Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a) responsable del proyecto: Dr. José Luis Montiel Hernández al siguiente número de teléfono (777) 3297000 ext: 3371 en un horario de lunes a viernes de 10:00 am a 18:00 pm. Email: jmontiel@uaem.mx. Si usted tiene preguntas generales relacionadas con la toma de la muestra sanguínea favor de contactar con la Dra. Sandra Miriam Carrillo Vázquez, en las instalaciones del Servicio de Reumatología, en un horario de lunes a viernes de 8:00 am a 14:00 pm. Email: smcv_1972@hotmail.com.</p>		
<p>Si usted acepta participar en el estudio le pedimos sea tan amable de firmar lo siguiente. Su firma indica su aceptación para participar voluntariamente en el presente estudio.</p>		
Nombre del participante: _____		Firma: _____
Fecha actual: <u>9-08-2016</u>		
Nombre Completo del Testigo 1: _____		Firma: _____
Dirección: _____		
Relación con el participante _____		
Nombre de la persona que obtiene el consentimiento: _____		
AGRADECEMOS SU PARTICIPACION.		

ANEXO 2

Registro de variables

FOLIO:	
Asociación entre la presencia de anticuerpos anti-Idiotipo, marcadores de inflamación y respuesta al tratamiento con biológicos en pacientes con Artritis reumatoide. Estudio analítico, prospectivo y multicéntrico.	
FORMATO UNICO PARA REGISTRO DE VARIABLES	
DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE	
Nombre	
Cédula	
Fecha de nacimiento (d/m/a)	
Género	fem
Teléfono personal	
Lugar de nacimiento	Tlanchinol Hidalgo
Fecha de diagnóstico de AR (m/a)	2011
Fecha de inicio de síntomas (m/a)	2011
Fecha de aplicación de 1er. Biológico (m/a)	2011
Fecha toma de muestra (m/a)	09 ago 2016
SEROLOGIA	
VSG	20
Proteína C reactiva	0.96
Factor Reumatoide	57
Ac antiCCP	ND
CLINIMETRÍA	
# Articulaciones dolorosas (de 28)	0
# Articulaciones inflamadas (de 28)	0
EVA Paciente	40
EVA Medico	20
Escala actividad de la enfermedad (DAS 28 con VSG)	2.71
DATOS ADICIONALES DEL PACIENTE	
1ª visita (m/a)	
2ª visita (12 meses)	
3ª. Visita (18 meses)	
Visitas extraordinarias (m/a)	
Motivo cambio de biológico	
Tratamiento biológico actual	Infliximab
Droga:	350 mg
Dosis:	q 6 semanas
Frecuencia:	
Medicamentos concomitantes (MTX, inmunosupresores)	ND
Fecha ultima administración biológico	15 junio 2016
Peso	68
Talla	1.56
Presión arterial	130/70
Comorbilidades	ND
Tratamientos con inmunosupresores (dosis/frecuencia)	
Tratamientos con glucocorticoides (dosis/frecuencia)	Prednisona 5mg/d

ANEXO 3

BASE DE DATOS (DATOS CATEGÓRICOS)

Hospital	FOLIO	DATOS CATEGORICOS									Inmunogenicidad (Neg: 0/Pos: 1)
		Genero (H: 0 y M: 1)	PCR (Neg: 0/Pos: 1)	aCCP (Neg: 0/Pos: 1)	FR (Neg: 0/Pos: 1)	Metotrexate (No: 0/Si: 1)	Leflunomida (No: 0/Si: 1)	Glucocorticoides (No: 0/Si: 1)	Inmunosupresor (No: 0/Si: 1)		
Regional E. Zapata	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1
Regional E. Zapata	2	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
Regional E. Zapata	3	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ISSSTE 1 Octubre	5	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	6	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1
ISSSTE 1 Octubre	7	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
ISSSTE 1 Octubre	8	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
ISSSTE 1 Octubre	9	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	10	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	11	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	12	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	13	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	14	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
UMAE Hosp. Especialidades	15	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1
UMAE Hosp. Especialidades	16	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1
UMAE Hosp. Especialidades	17	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1
Regional E. Zapata	18	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
Regional E. Zapata	19	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
Regional E. Zapata	20	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Regional E. Zapata	21	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0
Regional E. Zapata	22	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Regional E. Zapata	23	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0
Regional E. Zapata	24	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Regional E. Zapata	25	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	26	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	27	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0
ISSSTE 1 Octubre	28	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0
Hosp. de Monterrey	31	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	32	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	33	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	34	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	35	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	36	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hosp. de Monterrey	37	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hosp. de Monterrey	38	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	39	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Hosp. de Monterrey	40	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	41	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hosp. de Monterrey	42	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	43	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	44	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	45	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
Hosp. de Monterrey	46	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	47	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Hosp. de Monterrey	48	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	49	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Hosp. de Monterrey	50	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hosp. de Monterrey	51	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Hosp. de Monterrey	52	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0
UMAE Hosp. Especialidades	53	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1
UMAE Hosp. Especialidades	54	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1
UMAE Hosp. Especialidades	55	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
UMAE Hosp. Especialidades	56	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
UMAE Hosp. Especialidades	57	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0

ANEXO 4

BASE DE DATOS (DATOS CONTINUOS)

Datos continuos																						
DAS-28/VSG	VSG [mm/hr]	Edad (años)	IMC	peso (kg)	Tiempo de evolución (años)	Tx biológico (IFX: 0 y ADA: 1)	Fecha de aplicación del biológico (años)	Dosis [mg]	Dosis/peso [mg /kg] IFX	Farmaco [ng/mL]	Tx con metotrexate [mg]	Leptina	MIF	INFy	MCP-1	IL-8	TNFa	IL-6	IL-1β	IL-12 (p40)	IL-17A	IL-10
3.3	32	43	27.8	66	4	0	3	400	6.06			2.75	1.28	5.47	156.35	0.62	47.81	11.23	1.42	0.54	0.57	
1.86	14	54	23.5	68	20	0	9	400	5.88	0.58	15	2.26	1.99	7.19	82.61	0.56	8.22					
2.24	10	53	27.9	67	20	0	10	200	2.99	0.28	7.5	5.5	1.44	180	129.52	4.47	42.68		0.42		1.36	
3.25	30	48	24	63	7	0	1	200	3.17	0.28		3.89	1.71	1.14	69.15	2.24	122.21		0.11			
2.16	18	58	27.5	61	16	0	2	200	3.28	0.28		3.87	1.08	2.93	383.36	25.59	14.32	26.72	3.17	1.06	0.35	
3.29	16	59	19.8	50	31	0	11	150	3.00	0.60	15	1.12	1.81	13.01	590.69	117.74	16.24	1.76	12.67	37.93	1.32	
2.66	20	49	27.9	68	5	0	5	350	5.15	0.28		1.75	1.97		137.53	8.86	66.5					
4.27	23	39	28.1	71	4	0	2	200	2.82	14400	15	1.93	1.69	0.53	157.60	0.48						
6.67	30	53	25.2	62	21	0	6	200	3.23	0.34	15	3.89	1.74	7.19	766.43	9.15	28.07		2.3			
2.89	11	60	28.1	83	18	0	4	200	2.41	3.55	15	3.49	1.26	2.89	140.24	4.37						
1.5	7	37	19.9	63	6	0	0.33	200	3.17	0.28	10	2.31	1.65	1.63	260.96	11.44	11.58		0.005			
4.12	18	50	30.1	79	6	0	3	300	3.80	246.40	15	3.4	3.33		375.69	38.93	4.84					
3.82	32	59	23.4	57	12	0	3	300	5.26	0.86	15	4.46	1.91	7.53	611.19	26.68	57.67	33.78	12.74	42.90		114.05
2.02	18	49	32.2	75	15	0	4	300	4.03	278.50	20	2.97	2.33		472.46	9.91	2.89					
4.05	30	49	28.8	72	25	0	5	300	4.17	253.80		5.73	2.43	69.75	1538.44	33.24	59.30	105.11	3.10	126.60	4.89	234.43
2.6	43	59	21.8	46	19	0	16	200	4.35	14.60	25	2.75	0.22	10.98	875.37	25.85	74.39		2.50	29.51		301.93
4.35	43	38	21.4	52	24	0	8	300	5.77	1.20	10	5.21	2.3	221.69	1211.80	146.33	89.08	283.24	9.18	668.94	116.50	474.80
3.2	28	61	27.8	55	20	1	6	40	0.73	186.74		4.01	0.91	6.49	379.04	30.47	41.26	23.03				
2.41	30	44	57	57	4	1	1	40	0.70	185.62	10	3.64	0.93	10.5	184.45	19.03	13.65		0.22			
3.39	20	63	26.3	51.5	14	1	6	40	0.78	185.71		3.38	0.87	8.55	319.59	19.96	9.36					
2.6	0	52	35.6	80	6	1	2	40	0.50	182.50		3.80	0.64	3.03	173.06	8.38	16.96	8.67	5.38	22.01		
3	15	51	28.9	65	26	1	2	40	0.62	184.86	15	2.62	1.09	2.59	157.03	2.2	14.97					
2.39	30	29	26.3	76	12	1	1	40	0.53	185.85		3.15	1.85	0.91	68.91	0.98						
3.11	27	48	24.9	56	8	1	3	40	0.71	186.53	15	3.89	0.98		110.52	2.76	12.66					
2.5	15	34	26.7	60	5	1	1	40	0.67	186.39	15	3.11	1.43		263.08		4.84		0.42		1.32	
3.6	32	61	38.8	94.5	5	1	3	40	0.42	185.43	15	3.61	2.49	0.39	209.61	4.32	7.64					
3.71	30	63	26.5	62	1	1		40	0.65	185.90		2.58	1.74		144.55	16.44	8.41					
4.89	16	40	26.5	70.3	20	1	8	40	0.57	185.85	7.5	1.52	1.85	2.59	75.94	49.04				0.22		
4.24	40	37	19.6	53.5	14	1	7	40	0.75	185.07	15	2.38	1.77	43.71	227.52	4.10	16.01		1.65			
2.37	24	47	29.7	91	24	1	3	40	0.44	184.27	15	3.34	2.33	79.51	168.61	165.80	31.53	50.79	29.08	39.18	23.99	95.96
2.74	17	44	20.1	57.5	13	1	7	40	0.70	184.32	15	4.41	1.75	3.03	304.34	6.39	4.84	55.31				
2.78	20	47	31.9	87	10	1	2	40	0.46	184.05	20	3.19	1.79	13.01	776.33	18.99	8.61					
3.51	42	57	26.1	65	15	1	11	40	0.62	183.81	15	4.07	3.31	8.55	283.54	10.24	17.73				7.46	
5.95	28	47	27.7	64	8	1	1	40	0.63	184.21	15	3.48	2.4	26.23	525.10	59.83	22.58		4.33	19.35		
2.31	27	61	30.4	88	27	1	7	40	0.45	183.04	20	3.85	2.36	2.59	58.37	2.64	14.62		1.65	5.24		
1.64	19	60	28.7	69	12	1	7	40	0.58	184.26		3.01	4.69	2.59	135.64	50.52	10.85					
2.92	45	55	33.7	80	14	1	13	40	0.50	184.45		2.96	4.41		272.79	8.18	7.06					
2.62	42	30	24	57	3	1	2	40	0.70	183.77	25	1.78	4.09	7.19	174.77	2.76	14.62					
4.34	30	58	28.7	69	30	1	1	40	0.58	184.34		3.83	2.75	8.92	432.01	9.58	57.72	70.78	39.19	117.09		
1.82	13	47	35.8	84	12	1	2	40	0.48	183.28	20	3.32	2.27	7.87	253.86	183.48	11.94		1.31	4.28		11.70
2.7	8	44	35.2	89	5	1	3	40	0.45	184.36		2.84	2.62	8.55	318.79	14.62	15.66		0.79			
6.27	34	55	31.9	82.9	28	1	1	40	0.48	184.27	15	1.72	2.08		269.50	3.47	3.99					25.52
1.03	24	35	30	75	7	1	2	40	0.53	182.86	15	3.99	4.55		197.32	12.66	8.41		1.48			
2.83	15	50	34.1	89.7	11	1	2	40	0.45	183.67	15	3.32	1.67		299.92	3.64	3.78		0.22			
4.12	27	44	36.5	91.3	7	1	4	40	0.44	184.19	25	2.03	2.13	14.23	370.04	8.81	14.44		1.48			
4.47	17	75	22.8	50	5	1	1	40	0.80	182.68	15	2.92	2.9	3.45	326.65	88.23	23.23	46.96	18.77	54.62	10.20	31.27
3.07	32	66	29.4	68	9	1	5	40	0.59	182.66		3.22	5.81	1.44	185	6.74	5.65	14.56		0.62		
2.67	35	57	31.2	80	13	1	2	40	0.50	183.89	15	2.73	2.74	7.87	250.89	9.62	15.40	35.82	10.67	64.44		38.78
2.22	14	42	21.4	55	7	1	2	40	0.73	184.32	15	3.45	3.04	0.39	119.36	18.74	7.45		0.22			
2.13	8	54	24.7	55.6	14	1	2	40	0.72	185.95		2.98	2.09	0.53	146.96	2.31						
3.95	39	62	28.5	73	15	1	3	40	0.55	183.17		4.98	2.11	8.55	455.48	12.93	21.83	34.25	5.97	24.95	0.68	26.93
5.71	42	57	28.8	65	8	1	1	40	0.62	182.51	15	2.76	5.52	0.39	1593.89	42.75	36.18	20.37				
3.22	32	55	24.2	62	15	1	7	40	0.65	183.78	10	4.78	3.99	5.66	1199.76	16.33	49.00	176.98	2.63	29.51		
4.4	36	44	25.5	68	18	1	0.33	40	0.59	183.08		4.97	2.22	31.58	938.78	11.64	28.80		2.38	11.71		
2.93	36	57	23.6	56	14	1	4	40	0.71	182.55	10	2.97	1.77	1.38	964.23	5.78	22.87		2.50	29.51	5.50	
2.17	38	59	27.2	75	26	1	6	40	0.53	182.58	20	5.21	3.83	23.25	1073.54	31.66	99.02		2.47	60.11	9.74	
2.3	28	55	35	83	16	1	13	40	0.48	184.36	12.5	2.71	0.66	5.66	978.54	26.14	273.99	333.30	2.71		1.82	

ANEXO 5

Escala de medición para determinar el DAS28 en los pacientes con AR

ASOCIACIÓN ENTRE EL PERFIL DE CITOCINAS PRO-INFLAMATORIAS, LOS EVENTOS INMUNOGÉNICOS Y LA EVOLUCIÓN CLÍNICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE TRATADOS CON INFLIXIMAB Y ADALIMUMAB

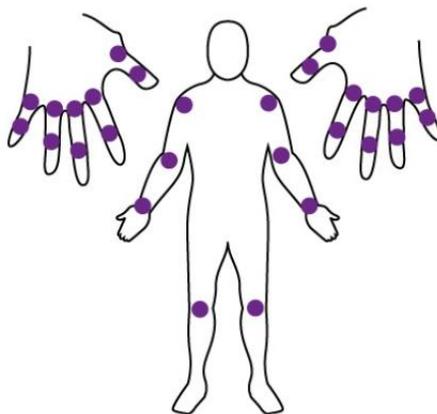
Hoja de toma de datos de evaluación clínica

Folio: _____

Nombre y apellidos: _____

Número de Articulaciones Dolorosas: _____

Número de Articulaciones Inflamadas: _____



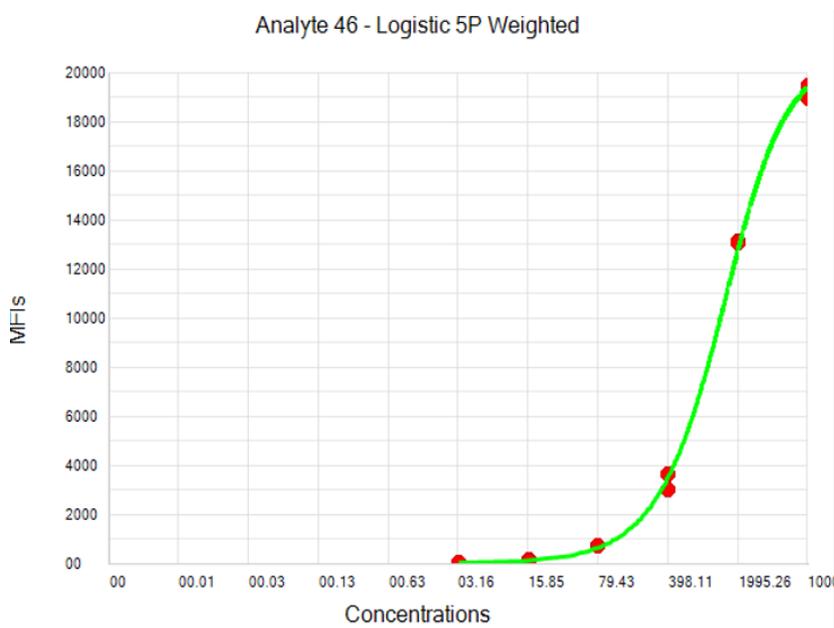
ESCALA DE VALORACIÓN DE DOLOR (ESCALA VISUAL ANALÓGICA PARA EL PACIENTE)

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
NULO	MÍNIMO			MODERADO			INTENSO			
0 Muy contento; sin dolor	2 Siente sólo un poco de dolor	4 Siente un poco más de dolor	6 Siente aún más dolor	8 Siente mucho dolor	10 El dolor es el peor que puede imaginarse (no tiene que estar llorando para sentir este dolor tan fuerte)					

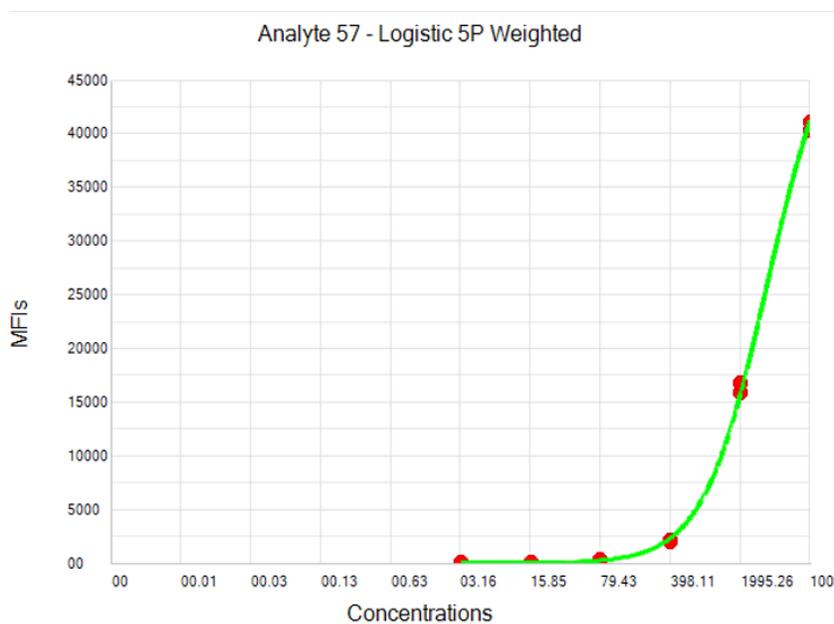
ANEXO 6

Las curvas estándar de cada citocina fueron elaboradas, iniciando de la concentración estándar de 10,000 pg/mL re-suspendida con 250 μ L de agua mili Q, posteriormente se realizó las diluciones de 2,000, 400, 80, 16, 3.2 pg/mL en buffer de ensayo, de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

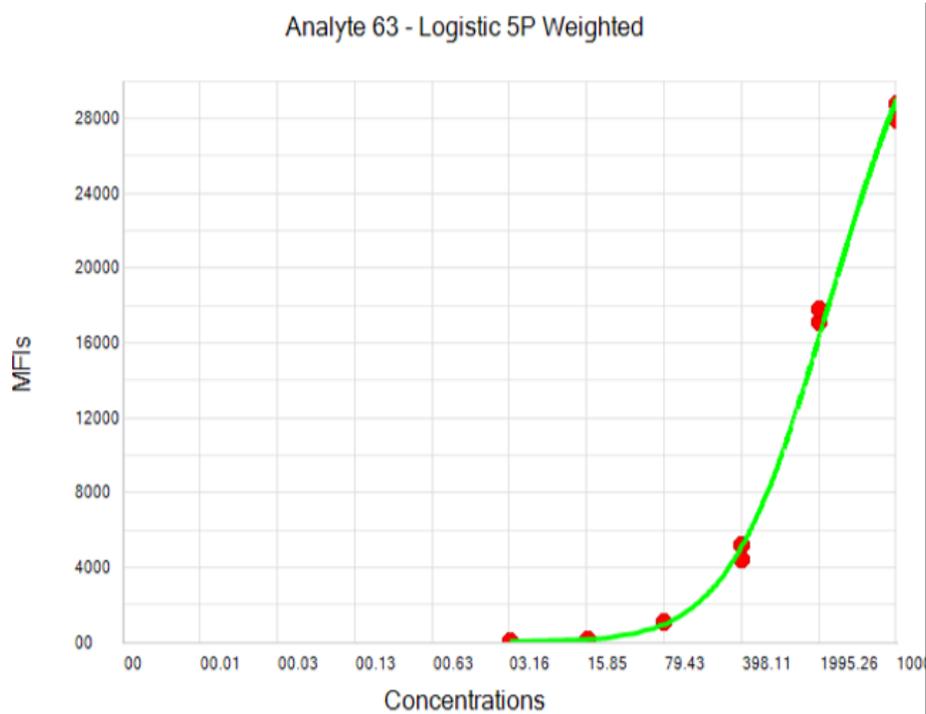
CURVA PATRÓN (IL-1 β)



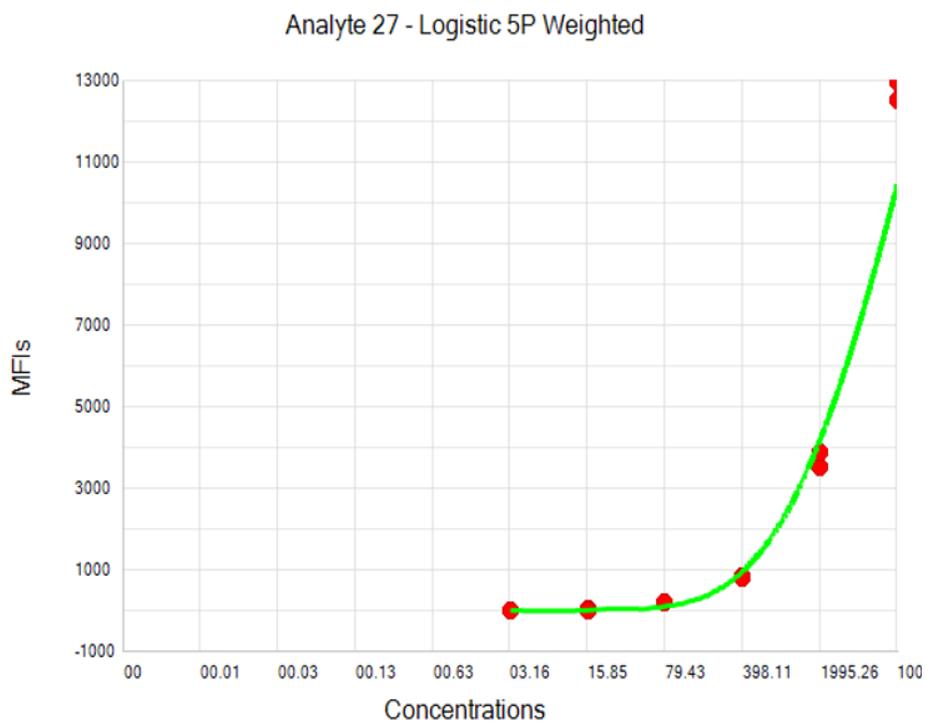
CURVA PATRÓN (IL-6)



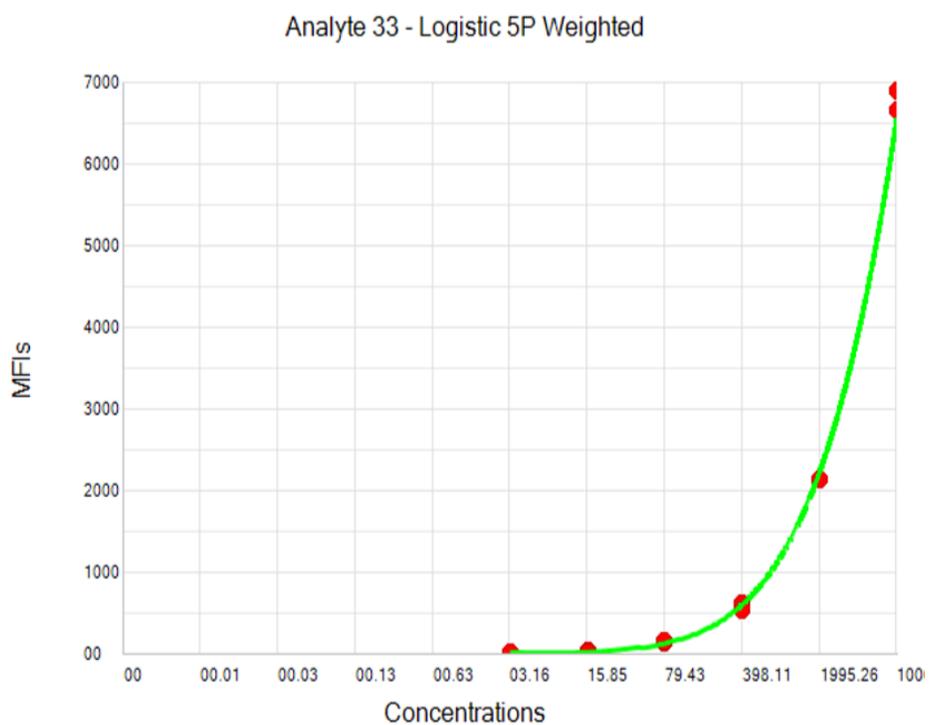
CURVA PATRÓN (IL-8)



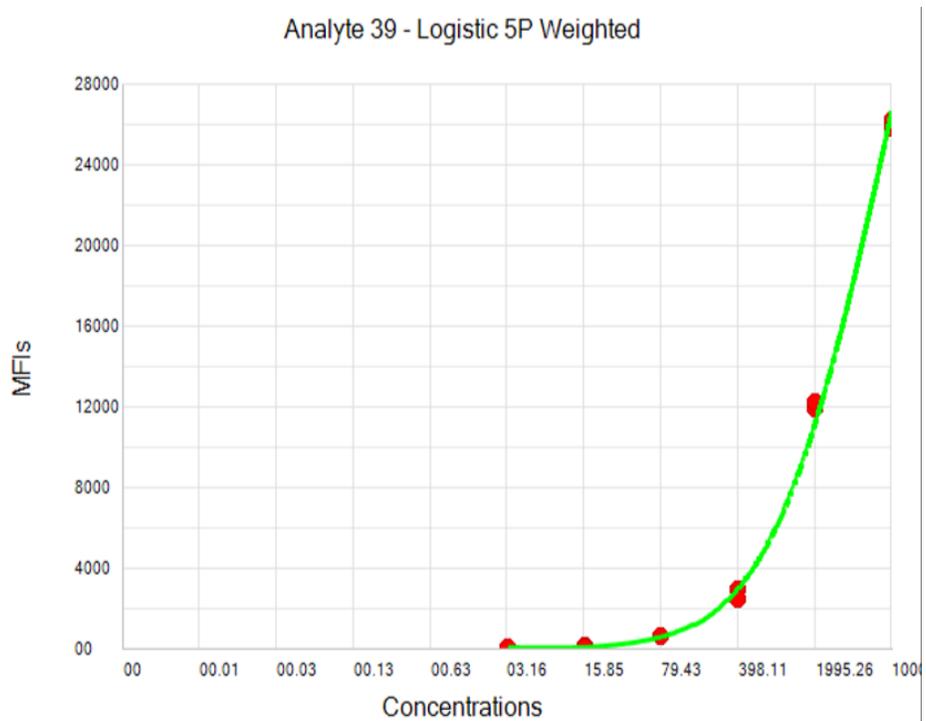
CURVA PATRÓN (IL-10)



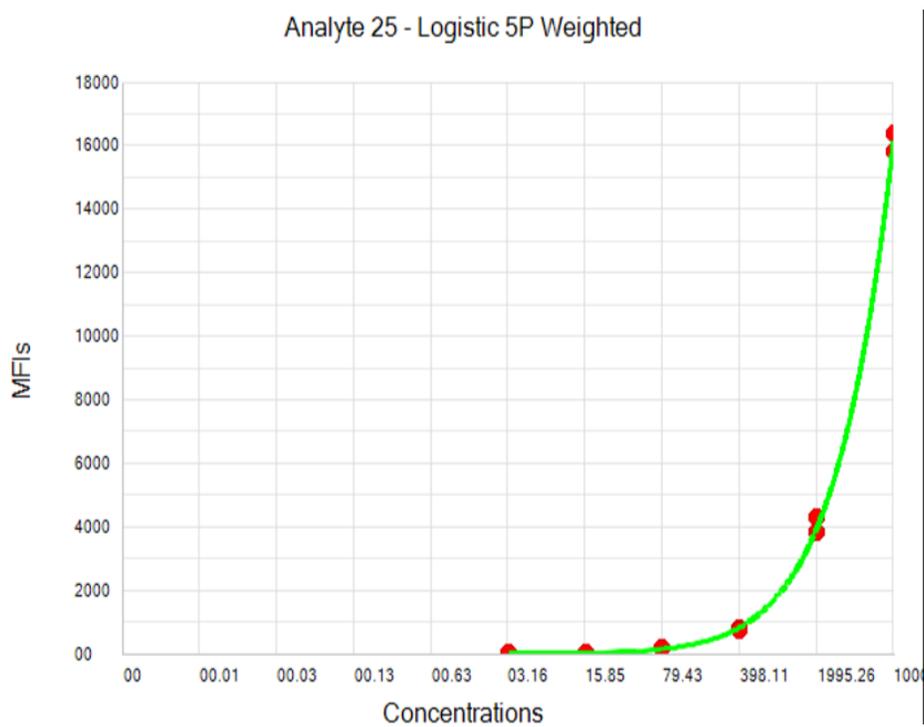
CURVA PATRÓN (IL-12 p40)



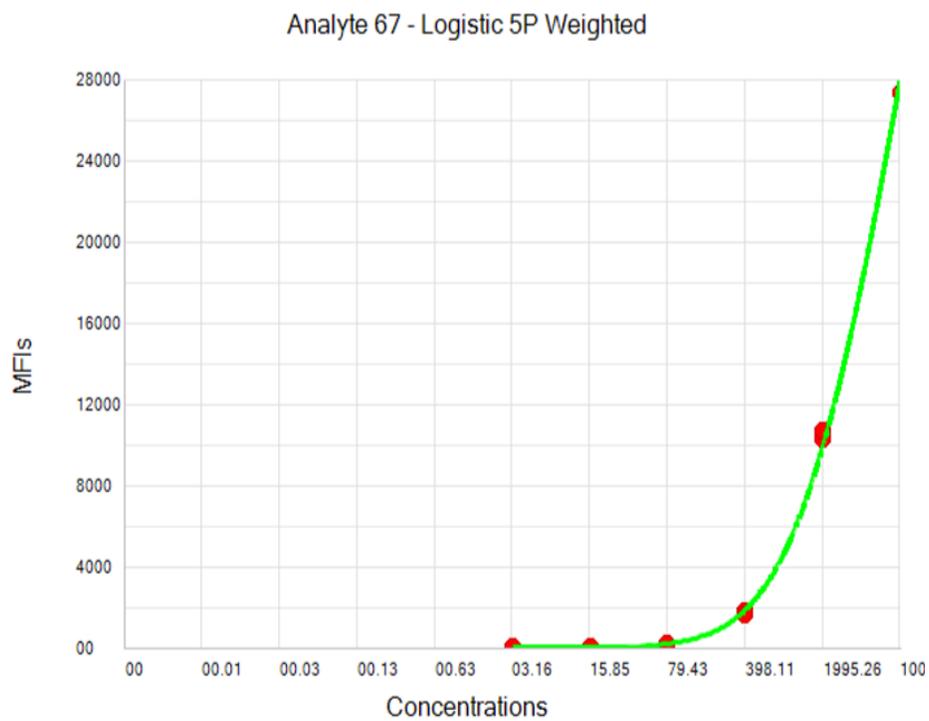
CURVA PATRÓN (IL-17A)



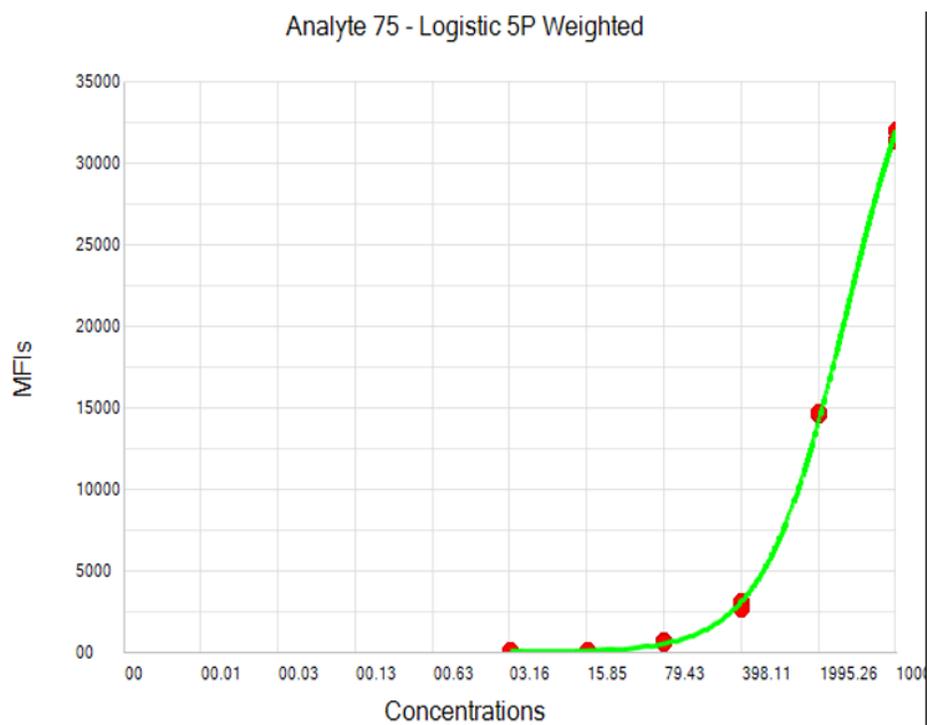
CURVA PATRÓN (INF γ)



CURVA PATRÓN (MCP-1)

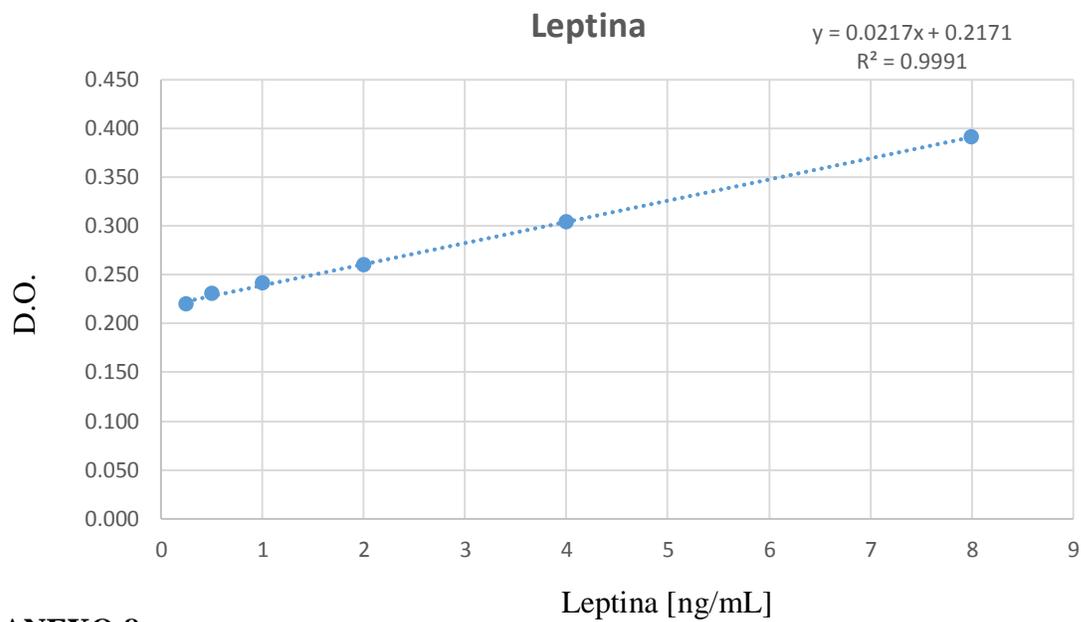


CURVA PATRÓN (TNF α)



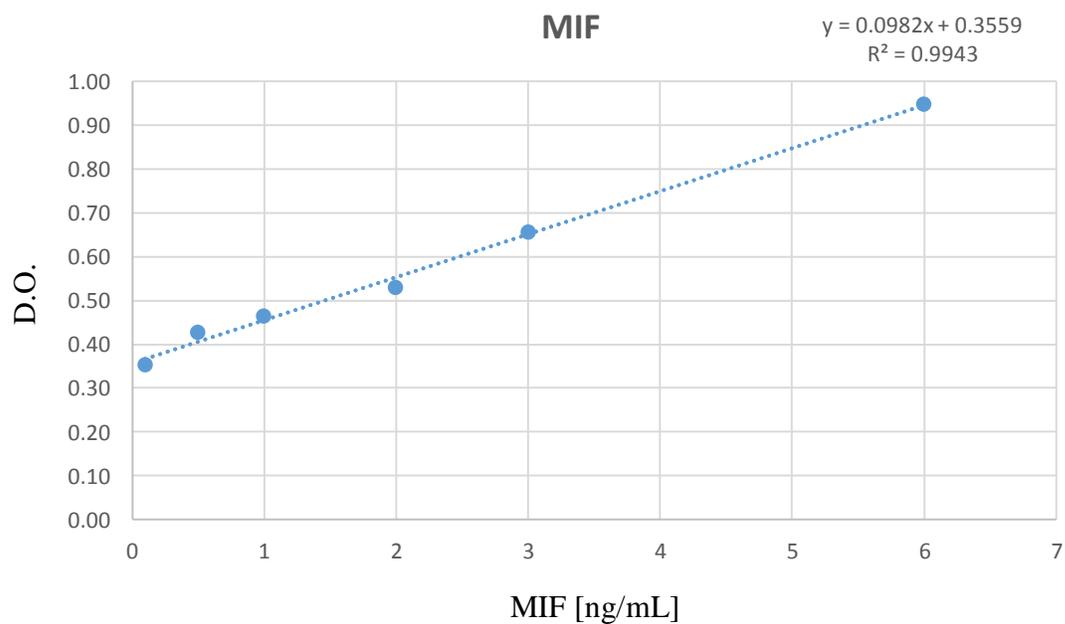
ANEXO 7

CURVA PATRÓN (LEPTINA)



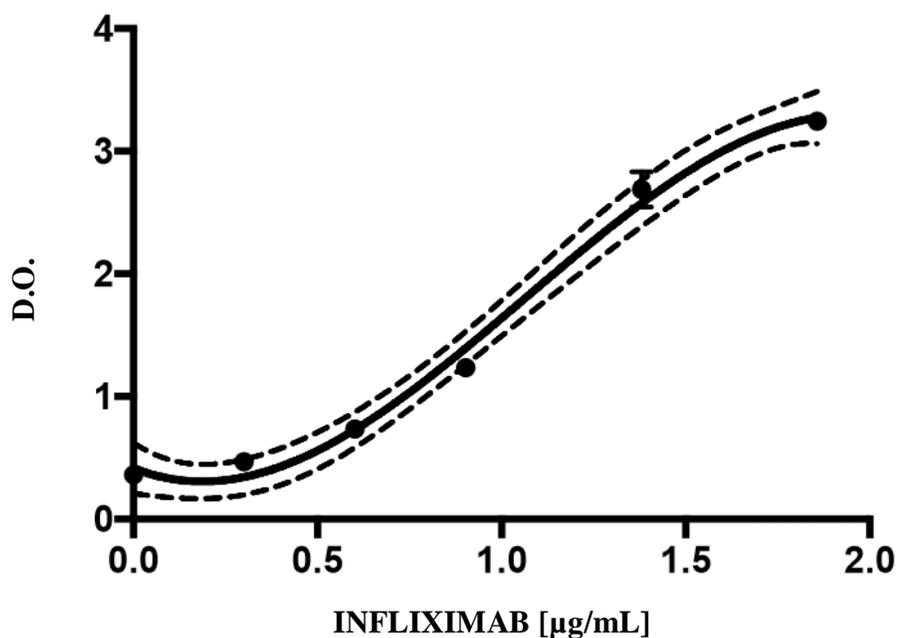
ANEXO 8

CURVA PATRÓN (MIF)



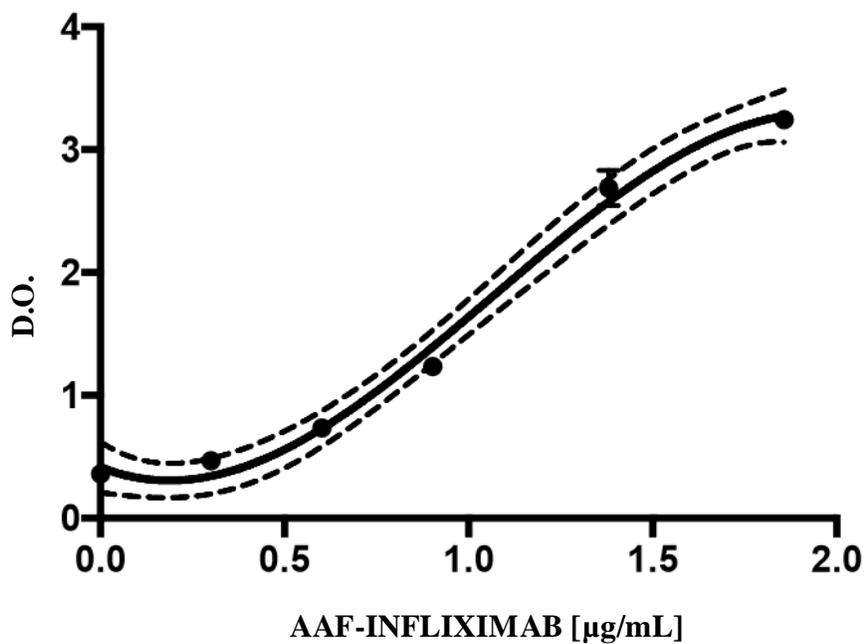
ANEXO 9

CURVA PATRÓN DE CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO (INFLIXIMAB)



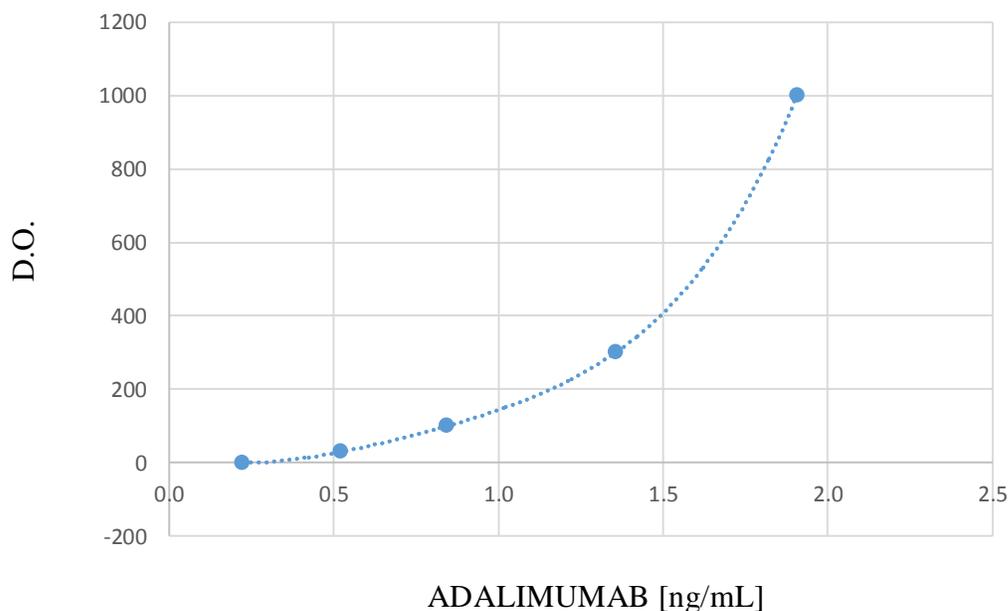
ANEXO 10

CURVA PATRÓN DE CONCENTRACIÓN DE AAF (INFLIXIMAB)



ANEXO 11

CURVA PATRÓN DE CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO (ADALIMUMAB)



ANEXO 12

Interpretación de resultados para AAF-Adalimumab. Como fue una prueba cualitativa, se calculó el promedio de la densidad óptica de los 2 controles negativos y del control positivo. Posteriormente, se determinó el punto de corte para dar positivo AAF-ADA.

Control positivo: 25.92 nm

Control Negativo: 4.54 nm

Interpretar resultado (PUNTO DE CORTE)	
Densidad óptica (nm)	Resultado
≥ 4.54 nm	Positivo AAF
< 4.54 nm	Negativo AAF

Resultados de muestras de suero				
2.10	1.61	10.23	2.29	1.71
1.54	1.73	1.82	3.75	17.72
1.53	1.63	1.55	1.68	1.39
3.60	1.63	1.74	11.68	6.02
1.82	2.03	10.07	3.60	11.63
1.58	1.62	6.56	20.46	3.43
1.53	1.90	1.57	2.98	19.47
1.53	9.09	1.61	3.93	1.66

ANEXO 13

Tabla 19. Comparación de las citocinas entre pacientes sin y con inmunogenicidad de los tratamientos de IFX/ADA

Datos crudos (Sin transformación logarítmica natural)

CITOCINAS	INFLIXIMAB			ADALIMUMAB		
	Sin inmunogenicidad n=8	Con inmunogenicidad n=9	P	Sin inmunogenicidad n=30	Con inmunogenicidad n=10	P
IL-1 β [pg/mL], media \pm DE *	1.82 \pm 1.63	5.27 \pm 5.39	0.14	4.83 \pm 8.12	7.69 \pm 12.80	0.57
IL-6 [pg/mL], media \pm DE *	26.72 \pm ---	87.02 \pm 116.92	-----	71.78 \pm 106.91	74.14 \pm 72.40	0.96
IL-8 [pg/mL], media \pm DE	12.55 \pm 13.32	40.67 \pm 53.59	0.16	28.33 \pm 44.94	17.05 \pm 16.90	0.26
IL-10 [pg/mL], media \pm DE *	-----	-----	-----	-----	-----	-----
IL-12(p40) [pg/mL], media \pm DE *	1.06 \pm ---	151.07 \pm 257.19	-----	31.32 \pm 23.10	37.62 \pm 39.62	0.72
IL-17A [pg/mL], media \pm DE *	0.35 \pm ---	24.93 \pm 51.22	-----	8.56 \pm 9.32	5.96 \pm 4.71	0.61
INF γ [pg/mL], media \pm DE	3.73 \pm 2.83	43.92 \pm 77.60	0.19	9.37 \pm 17.70	13.56 \pm 10	0.39
Leptina [ng/mL], media \pm DE	3.01 \pm 0.77	3.68 \pm 1.68	0.32	3.14 \pm 0.64	3.83 \pm 1.22	0.02
MIF [ng/mL], media \pm DE	1.88 \pm 0.70	1.68 \pm 0.67	0.55	2.19 \pm 1.23	3.26 \pm 1.20	0.03
MCP-1 [pg/mL], media \pm DE	329.92 \pm 222.78	591.12 \pm 529.63	0.20	324.97 \pm 331.94	563.80 \pm 372.14	0.09
TNF α [pg/mL], media \pm DE	11.65 \pm 9.07	66.43 \pm 30.52	0.0005	23.93 \pm 50.87	33.13 \pm 28.16	0.49

Interleucina 1 beta (IL-1 β); Interleucina 6 (IL-6); Interleucina 8 (IL-8); Interleucina 10 (IL-10); Interleucina 12 proteína 40 (IL-12 p40); Interleucina 17 A (IL-17A); Interferón gamma (INF γ); Factor de inhibición de la migración de macrófagos (MIF); Quimiocina quimioatrayente de monocitos 1(MCP-1); Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α); Desviación estándar (DE); >10 Pacientes con niveles indetectables de la citocina (*); Sin datos (---).

ANEXO 14

Tabla 20. Correlaciones entre la concentración sérica del fármaco (Óptima, Sub-óptima y niveles indetectables), la actividad clínica y las citocinas.

Variables	Sin inmunogenicidad n=38			Con inmunogenicidad n=19		
	[Fármaco] sérica	rho	P	[Fármaco] sérica	rho	P
DAS28	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.22 0.01 ----	0.50 0.95 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.70 0.39	---- 0.01 0.44
Log-IL-1β	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.87 -0.10 ----	0.33 0.72 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.16 0.71	---- 0.64 0.18
Log-IL-6	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.96 ----	---- 0.0005 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.77 0	---- 0.07 1
Log-IL-8	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	-0.15 0.01 ----	0.67 0.95 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.20 0.39	---- 0.50 0.44
Log-IL-10	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.50 ----	---- 0.39 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.50 -1	---- 0.67 ----
Log-IL-12 (p40)	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.25 ----	---- 0.59 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.26 0	---- 0.47 1
Log-IL-17A	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.20 ----	---- 0.80 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.10 ----	---- 0.87 ----
Log-INFγ	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	-0.58 0.15 ----	0.13 0.52 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.13 0.35	---- 0.67 0.56
Log-Leptina	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.08 -0.10 ----	0.81 0.66 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.14 0.13	---- 0.66 0.81
Log-MIF	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.10 0.17 ----	0.80 0.40 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.20 0.13	---- 0.52 0.81
Log-MCP-1	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.13 0 ----	0.70 1 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.18 0.39	---- 0.57 0.44
Log-TNFα	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	-0.04 -0.34 ----	0.93 0.09 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.11 -0.13	---- 0.71 0.81

ANEXO 15

Tabla 21. Correlaciones entre la concentración sérica del fármaco (Óptima, Sub-óptima y niveles indetectables), la actividad clínica y las citocinas en base al tratamiento de IFX.

Variables	Sin inmunogenicidad n=8			Con inmunogenicidad n=9		
	[IFX] sérica	rho	P	[IFX] sérica	rho	P
DAS28	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.10</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.87</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>1</p> <p>0.39</p>	<p>----</p> <p>0</p> <p>0.44</p>
Log-IL-1β	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.1</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.50</p> <p>0.71</p>	<p>----</p> <p>0.67</p> <p>0.18</p>
Log-IL-6	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>1</p> <p>0</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>1</p>
Log-IL-8	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.49</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.33</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.50</p> <p>0.39</p>	<p>----</p> <p>0.57</p> <p>0.44</p>
Log-IL-10	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-1</p> <p>-1</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>
Log-IL-12 (p40)	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0</p> <p>0</p>	<p>----</p> <p>1</p> <p>1</p>
Log-IL-17A	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>1</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>----</p> <p>----</p>
Log-INFγ	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.74</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.26</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>1</p> <p>0.35</p>	<p>----</p> <p>0</p> <p>0.56</p>
Log-Leptina	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.09</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.87</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.50</p> <p>0.13</p>	<p>----</p> <p>0.67</p> <p>0.81</p>
Log-MIF	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.43</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.40</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>1</p> <p>0.13</p>	<p>----</p> <p>0</p> <p>0.81</p>
Log-MCP-1	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.09</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.87</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>0.50</p> <p>0.39</p>	<p>----</p> <p>0.67</p> <p>0.44</p>
Log-TNFα	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.90</p> <p>----</p>	<p>----</p> <p>0.04</p> <p>----</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	<p>----</p> <p>-0.50</p> <p>-0.13</p>	<p>----</p> <p>0.67</p> <p>0.81</p>

Anexo 16

Tabla 22. Correlaciones entre la concentración sérica del fármaco (Óptima, Sub-óptima y niveles indetectables), la actividad clínica y las citocinas en base al tratamiento de ADA.

Variables	Sin inmunogenicidad n=30			Con inmunogenicidad n=10		
	[ADA] sérica	rho	P	[ADA] sérica	rho	P
DAS28	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.04 0.04 ----	0.91 0.84 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.61 ----	---- 0.06 ----
Log-IL-1β	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.87 -0.23 ----	0.33 0.44 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.31 ----	---- 0.46 ----
Log-IL-6	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.96 ----	---- 0.0005 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.80 ----	---- 0.20 ----
Log-IL-8	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.17 -0.15 ----	0.67 0.52 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.02 ----	---- 0.96 ----
Log-IL-10	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.50 ----	---- 0.39 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- ---- ----	---- ---- ----
Log-IL-12 (p40)	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.25 ----	---- 0.59 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.36 ----	---- 0.43 ----
Log-IL-17A	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.20 ----	---- 0.80 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.50 ----	---- 0.67 ----
Log-INFγ	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	-0.39 0.22 ----	0.39 0.41 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.13 ----	---- 0.71 ----
Log-Leptina	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.37 -0.19 ----	0.30 0.41 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.43 ----	---- 0.21 ----
Log-MIF	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.05 -0.04 ----	0.89 0.88 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.31 ----	---- 0.39 ----
Log-MCP-1	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	0.10 -0.10 ----	0.79 0.67 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- -0.13 ----	---- 0.73 ----
Log-TNFα	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	-0.04 -0.28 ----	0.94 0.23 ----	<ul style="list-style-type: none"> • Óptima • Sub-óptima • Niveles indetectables 	---- 0.02 ----	---- 0.96 ----

ANEXO 17

Tabla 23. Comparación citocinas en base al fármaco empleado: IFX vs. ADA

Datos crudos (Sin transformación logarítmica natural)

CITOCINAS	INFLIXIMAB n=17	ADALIMUMAB n=40	P
IL-1 β [pg/mL], media \pm DE *	4.33 \pm 4.84	5.78 \pm 9.74	0.56
IL-6 [pg/mL], media \pm DE *	76.97 \pm 107.43	72.57 \pm 93.30	0.93
IL-8 [pg/mL], media \pm DE	27.44 \pm 41.51	25.44 \pm 39.76	0.87
IL-10 [pg/mL], media \pm DE *	281.30 \pm 150.60	38.36 \pm 29.58	0.05
IL-12 (p40) [pg/mL], media \pm DE *	129.64 \pm 241.53	34.47 \pm 31.33	0.34
IL-17A [pg/mL], media \pm DE *	20.83 \pm 46.90	7.59 \pm 7.61	0.52
INF γ [pg/mL], media \pm DE	26.69 \pm 60.59	10.64 \pm 15.73	0.34
Leptina [ng/mL], media \pm DE	3.37 \pm 1.33	3.31 \pm 0.86	0.85
MIF [ng/mL], media \pm DE	1.78 \pm 0.67	2.46 \pm 1.29	0.01
MCP-1 [pg/mL], media \pm DE	468.20 \pm 424.29	384.68 \pm 353.36	0.48
TNF α [pg/mL], media \pm DE	44.52 \pm 36.51	26.42 \pm 45.65	0.14

Interleucina 1 beta (IL-1 β); Interleucina 6 (IL-6); Interleucina 8 (IL-8); Interleucina 10 (IL-10); Interleucina 12 proteína 40 (IL-12 p40); Interleucina 17 A (IL-17A); Interferón gamma (INF γ); Factor de inhibición de la migración de macrófagos (MIF); Quimiocina quimioatrayente de monocitos 1(MCP-1); Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α); Desviación estándar (DE); >10 pacientes con niveles indetectables de la citocina (*).

ANEXO 18

Constancia de 1er lugar de concurso de carteles en el 2do Simposio Internacional para el desarrollo farmacéutico.



ANEXO 19

Dictamen final de aceptación de artículo



Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
Nicolás San Juan No. 1511 Colonia del Valle
Delegación Benito Juárez C.P. 03100
México, D.F.
Tel: 9183-2060
www.afmac.org.mx

Expediente: 669

México, D.F. a 15 de marzo de 2018

Dr. José-Luis Montiel-Hernández
Facultad de Farmacia
Universidad Autónoma del Estado de Morelos

P r e s e n t e

Estimado doctor Montiel:

Tengo el agrado de comunicarle que el artículo perteneciente a la sección **Revisiones Bibliográficas** intitulado:

“Efecto de la inmunogenicidad en el uso de los Medicamentos Biotecnológicos”

de los autores *Emmanuel Antonio Ortiz Saldivar, José Luis Montiel Hernández*, ha sido aceptado para su publicación en la *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* en el Vol. 49, No. 2 abril-junio 2017.

La Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas está indizada a: Internacional Pharmaceutical Abstracts, Chemical Abstracts, EMBASE de Excerpta Medica, Latindex, Índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnología del CONACyT (expediente No. 66688) y a la Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Redalyc).

Esperando contar nuevamente con material de su autoría, quedo de usted.

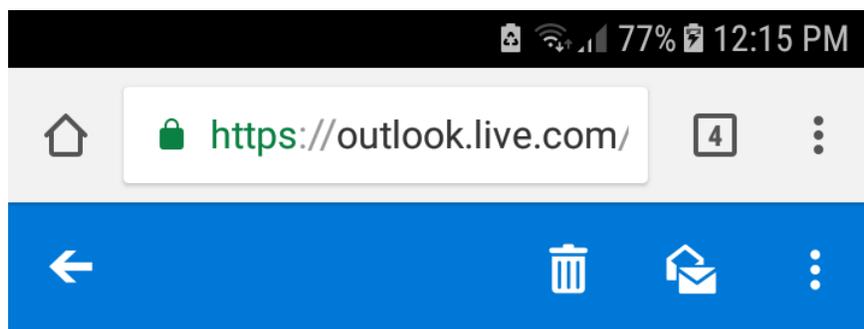
A t e n t a m e n t e

Por la superación Técnica y Científica


Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Editor

ANEXO 20

Invitación para publicar un boletín informativo en la revista PARO-IPSF



Evernote

Muy buenas tardes estimado **QFB. Emmanuel A. Ortiz Saldivar**. Queremos compartirle un correo mandado por **IPSF PARO Newsletter**. Para usted:

Primeramente queremos mandarle una felicitación por parte de la **IPSF (International Pharmaceutical Students' Federation)** por su destacada participación en el **2do Simposio Internacional para el Desarrollo Farmacéutico, celebrado en la División de Ciencias de la Salud de la Universidad de Chetumal, Quintana Roo.**

Por lo que tenemos conocimiento e información compartida por lo miembros de la comunidad farmacéutica de Quintana Roo que obtuvo el 1er lugar en la presentación de carteles. Por lo cual lo felicitamos por su destacada participación como ponente y defensa de su proyecto.

Por otra parte, queremos invitarlo y colaboradores a publicar un Boletín informativo de la revista **PARO-IPSF**. El propósito es proporcionar actualizaciones sobre la región panamericana en nombre del Grupo de Trabajo Regional y las asociaciones miembros participantes, y también proporcionar una perspectiva en el área de la farmacia dentro de la región panamericana.

ANEXO 21

Dictamen final de aceptación de Boletín informativo

PARO Newsletter Issue #5

Thank you for your submission to the PARO Newsletter Issue 5! To confirm your submission, please complete this form. All authors will be notified when the newsletter is published (expected date of publication late spring/early summer).

¡Gracias por enviar su artículo al Boletín PARO, Edición # 5! Para confirmar su contribución, complete este formulario por favor. Todos los autores serán notificados cuando se publica el boletín informativo (fecha prevista de publicación es finales de la primavera / comienzo del verano).

Dirección de correo electrónico *

antonio1472@hotmail.com

Please list the names of ALL authors including member association (if applicable) and country. Indique los nombres de TODOS los autores, incluida la asociación miembro (si corresponde) y el país. *

Q.F.B. Emmanuel Antonio Ortiz Saldivar (TOFARMEX, México),
Dr. José Luis Montiel Hernández (TOFARMEX, México)

Example: Name of Author #1 (Member Association, Country) Ejemplo: Nombre del Autor n.º 1 (Asociación Miembro, País)

Please confirm the title of your submission. Por favor, confirme el título de tu artículo. *

INMUNOGENICIDAD PARA MEDICAMENTOS
BIOTECNOLÓGICOS: NUEVOS DESAFÍOS Y
OPORTUNIDADES

ANEXO 22

Tabla 24. Asociación entre niveles de citocinas y eventos inmunogénicos al 80%.

Inmunogenicidad VS	OR (IC, 95%)	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Log-IL-1 β	1.4 (0.7-2.5)	0.31
Log-IL-6	1.6 (0.4-4.9)	0.41
Log-IL-8	1.2 (0.7-2.0)	0.58
Log-IL-10	53.9 (0.7-23.0)	0.13
Log-IL-12 (p40)	1.2 (0.6-2.2)	0.63
Log-IL-17A	1 (0.5-2.0)	0.96
Log-INF γ	1.9 (1.0-3.8)	0.04
Log-Leptina	480.7 (4.6-50368.7)	0.01
Log-MIF	0.7 (0.2-2.6)	0.63
Log-MCP-1	2.7 (0.9-7.7)	0.05
Log-TNF α	5 (1.5-16.4)	0.01