



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Tesis doctoral

**Diferencias inmunológicas en la Artritis Idiopática Juvenil en
relación a la actividad y la respuesta al tratamiento anti-
TNF α entre población pediátrica y adulta joven**

Estefania Quesada Masachs



Tesis doctoral

**Diferencias inmunológicas en la Artritis Idiopática Juvenil en
relación a la actividad y la respuesta al tratamiento anti-
TNF α entre población pediátrica y adulta joven**

Estefania Quesada Masachs

Directoras

Prof. Sara Marsal Barril, MD, PhD
Dra. Consuelo Modesto Caballero, MD, PhD

Tutor

Prof. Albert Selva O'Callaghan, MD, PhD

Programa doctorat en Medicina
Departament de Medicina
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona, 2017



Sara Marsal Barril, Profesora asociada del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona y Jefe de Sección de Reumatología, Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

Consuelo Modesto Caballero, Facultativo Especialista en Reumatología Pediátrica, Sección de Reumatología, Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

Albert Selva O'Callaghan, Profesor Titular de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona y Facultativo Especialista en Medicina Interna, Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

CERTIFICAN

Que el Trabajo titulado **“Diferencias inmunológicas en la Artritis Idiopática Juvenil en relación a la actividad y la respuesta al tratamiento anti-TNF α entre población pediátrica y adulta joven”** realizado por la licenciada en Medicina y Cirugía y especialista en Reumatología **Estefania Quesada Masachs** y codirigida por los firmantes, reúne todos los requisitos científicos y formales para proceder a su lectura y defensa como tesis para acceder al grado de Doctor en Medicina.

Para que conste a todos los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Barcelona, a 12 de Mayo del 2017

Sara Marsal Barril

Consuelo Modesto Caballero

Albert Selva O'Callaghan

*Dedicado a mis padres, Nuria y Ramon, a Bernat,
a mi tía Silvia y a mi hermano*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera dar las gracias a la Dra. Marsal y a mi familia, por su paciencia y porque sin su ayuda y su soporte, en todos los sentidos, realizar esta tesis doctoral no hubiera sido posible. También querría dar las gracias a la Dra. Modesto por su ayuda y por haber sido directora de esta tesis doctoral.

Querría dar las gracias a las enfermeras de Reumatología Pediátrica y de la consulta de Transición, Pilar Oliván y Begoña Alonso, por su ayuda desinteresada y por su apoyo, e incluso cariño, en todo momento. A Carla Aguilar y Gisela Gili, porque colaboraron en que la última parte del trabajo de campo fuera mucho más fácil.

Quisiera dar las gracias a los miembros del Servicio de Inmunología del HVH, muy especialmente al Dr. Pujol y a Daniel Rodríguez de la Sierra, por su ayuda, su disponibilidad y porque trabajar con ellos ha sido una muy buena experiencia. También quisiera agradecer a las Dras. Ana Marín y Mónica Martínez, a Marina y Aina, y al resto de personal del Servicio que de alguna forma ha intervenido en el proyecto, por aceptarme como una más y por su colaboración desinteresada.

Quisiera agradecer la Dra. Núria Montferrer y al personal de quirófano del edificio Materno Infantil (adjuntas de anestesia, residentes de anestesia, cirujanos pediátricos, enfermeros y enfermeras) por su colaboración, su ayuda y por todas las facilidades que me pusieron durante la parte del trabajo de campo en la que se vieron implicados.

También dar las gracias a las Dras. Mireia López, Andrea Pluma y María López, por su compañerismo y por los buenos momentos que pasamos juntas. También quisiera expresar mi agradecimiento al resto de los miembros de la Sección de Reumatología por sus enseñanzas y apoyo durante los años de la residencia. Quisiera mencionar de forma especial a Elena Granell por su inestimable ayuda. Finalmente, expresar mi gratitud a todos los compañero/as del Grup de Recerca de Reumatologia por las largas horas de trabajo que hemos compartido y en especial al Dr. Antonio Julià por su compañerismo y ayuda.

Agradecer a todo el equipo de *Pediatria II* del hospital *Giannina Gaslini* de Génova, por acogerme y enseñarme durante mi estancia en su bonita ciudad. Querría dar también las gracias a mis amigos y a

mis compañeros/amigos/hermanos de guardia *Los Nefastos*, por su apoyo, y porque el mundo es mejor con vosotros.

Por último, quisiera dar las gracias a todos los pacientes y a los padres de todos los niños, enfermos y sanos, que han participado en el estudio por su generosidad y por su implicación. Ellos son el motivo por el que se ha hecho este trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Artritis Idiopática Juvenil	2
1.1. Definición y epidemiología	2
1.2. Clasificación	2
1.3. Etiología y patogénesis	7
1.3.1. Factores de riesgo ambientales	8
1.3.2. Factores de riesgo genéticos	10
1.3.3. Etiopatogenia de la AIJ Sistémica	13
1.4. Manifestaciones clínicas	15
1.4.1. Manifestaciones articulares y periarticulares	16
1.4.2. Manifestaciones extraarticulares	19
1.5. Evaluación clínica	24
1.5.1. Variables de actividad	25
1.5.2. Evaluación de la actividad articular	26
1.5.3. Evaluación de la actividad ocular	32
1.5.4. Evaluación de la respuesta al tratamiento	33
1.5.5. Evaluación de la capacidad funcional	34
1.6. Tratamiento	35
1.6.1. Tratamiento farmacológico	35
1.6.1.1. Tratamiento con AINEs y glucocorticoesteroides	38
1.6.1.2. Tratamiento con FAMES	38
1.6.1.3. Tratamiento con fármacos biológicos	42
1.6.1.4. Recomendaciones de tratamiento	46
1.6.2. Tratamiento no farmacológico	46
1.7. Pronóstico	47
2. Imagen en la Artritis Idiopática Juvenil	50
2.1. Recomendaciones para el uso de la imagen en las artritis crónicas	52
2.2. Estudios de imagen en función de la edad de los pacientes	56
2.3. Radiología simple	58
2.4. Resonancia magnética nuclear	60
2.5. Ecografía musculoesquelética	64
3. Sistema inmune	75
3.1. Concepto	75
3.2. Maduración del sistema inmune	77
3.3. Concepto de enfermedad autoinmune	83
3.4. Desregulación del sistema inmune en la AIJ	84
3.4.1. Células del sistema inmune	85
3.4.2. Citoquinas	95
3.5. Tratamientos inmunosupresores	97
3.5.1. Influencia de los tratamientos inmunosupresores en las poblaciones celulares	97
3.5.2. Inmunogenicidad	101
3.5.2.1. Concepto y mecanismo de inmunogenicidad	101
3.5.2.2. Inmunogenicidad de los fármacos anti-TNF α en las enfermedades inflamatorias crónicas	104

3.5.2.3.	Inmunogenicidad de los fármacos anti-TNF α en la AIJ	107
3.5.2.4.	Factores que influyen en la inmunogenicidad	108
OBJETIVOS		113
1.	Objetivo principal	114
2.	Objetivos secundarios	114
MATERIAL Y MÉTODOS		115
1.	Diseño del estudio	116
2.	Sujetos del estudio	117
2.1.	Pacientes	117
2.2.	Controles	118
3.	Protocolo del estudio	120
3.1.	Exploración física completa	121
3.2.	Valoración de la actividad de la enfermedad	124
3.3.	Valoración de la capacidad funcional	125
3.4.	Exploración ecográfica poliarticular	125
3.5.	Extracción sanguínea	129
3.5.1.	Estudio del inmunofenotipo celular	130
3.5.1.1.	Protocolo HIPC modificado	131
3.5.1.2.	Análisis	132
3.5.1.3.	Poblaciones celulares identificadas	140
3.5.2.	Estudio de Inmunogenicidad	143
3.5.2.1.	Kits de ELISA y automatización de la técnica	144
3.5.2.2.	Protocolo	144
3.5.2.3.	Variabilidad técnica	148
3.5.2.4.	Concentraciones de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos anti-TNF α	148
4.	Descripción de las variables a estudio	149
5.	Análisis estadístico	151
5.1.	Análisis de las características de los sujetos	151
5.2.	Análisis de los datos ecográficos	152
5.3.	Análisis de las poblaciones celulares	153
5.4.	Análisis de inmunogenicidad	154
6.	Consideraciones éticas	156
RESULTADOS		157
1.	Análisis de las características basales de los sujetos en estudio	158
1.1.	Características demográficas	158

1.2.	Características clínicas basales de los pacientes	159
1.2.1.	Clasificación, evolución y curso clínico	159
1.2.2.	Características inmunológicas	162
1.2.3.	Tratamiento	163
1.2.4.	Actividad clínica	166
2.	Análisis del estudio ecográfico	171
2.1.	Concordancia intraobservador, interobservador e interaparato	171
2.2.	Estudio ecográfico en la AIJ	172
2.2.1.	Características clínicas	172
2.2.2.	Diferencia entre los índices ecográficos reducidos	173
2.2.3.	Evaluación articular clínica y ecográfica	174
2.2.4.	Índices ecográficos	175
2.2.4.1.	Índices ecográficos y actividad	176
2.2.4.2.	Índices ecográficos y variables clínico-biológicas	178
2.2.5.	Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas	186
2.2.6.	Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo	187
2.3.	Estudio ecográfico en los pacientes pediátricos con AIJ	188
2.3.1.	Características clínicas	189
2.3.2.	Evaluación articular clínica y ecográfica	189
2.3.3.	Índices ecográficos	191
2.3.3.1.	Índices ecográficos y actividad	191
2.3.3.2.	Índices ecográficos y variables clínico-biológicas	194
2.3.4.	Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas	202
2.3.5.	Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo	203
2.4.	Estudio ecográfico en los pacientes adultos con AIJ	204
2.4.1.	Características clínicas	204
2.4.2.	Diferencia entre los índices ecográficos reducidos	205
2.4.3.	Evaluación articular clínica y ecográfica	205
2.4.4.	Índices ecográficos	207
2.4.4.1.	Índices ecográficos y actividad	207
2.4.4.2.	Índices ecográficos y variables clínico-biológicas	210
2.4.5.	Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas	218
2.4.6.	Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo	219
2.5.	Análisis de la actividad inflamatoria articular subclínica	220
2.5.1.	Análisis de la ecografía para la detección de la actividad subclínica	220
2.5.1.1.	Sensibilidad y especificidad de la ecografía por escala de grises	221
2.5.1.2.	Sensibilidad y especificidad de la ecografía por power Doppler	222
2.5.2.	Características de los pacientes con actividad subclínica	224
2.5.3.	Descripción de las articulaciones con sinovitis subclínica	226
3.	Análisis del inmunofenotipo celular	230
3.1.	Características de los sujetos en estudio	230
3.1.1.	Características demográficas	230
3.1.2.	Características inmunológicas y clínico-biológicas	231
3.1.3.	Tratamiento	232
3.2.	Análisis de la influencia de la edad en el inmunofenotipo	233

3.3.	Análisis del inmunofenotipo en pacientes pediátricos con AIJ	240
3.4.	Análisis del inmunofenotipo en pacientes adultos con AIJ	244
3.5.	Análisis de la influencia de la edad en el inmunofenotipo de los pacientes con AIJ	248
3.6.	Análisis del inmunofenotipo en función del tratamiento	254
3.6.1.	Pacientes pediátricos con AIJ	255
3.6.2.	Pacientes adultos con AIJ	259
3.6.3.	Pacientes con AIJ en tratamiento con terapias anti-TNF α	260
3.7.	Análisis del inmunofenotipo en función de las características clínicas de la AIJ	261

4. Análisis de la inmunogenicidad a las terapias anti-TNF α **265**

4.1.	Características clínicas	265
4.1.1.	Características clínico-biológicas	266
4.1.2.	Tratamiento	267
4.1.3.	Diferencias en el tratamiento anti-TNF α en función de la edad	267
4.1.4.	Actividad en función del tratamiento	269
4.2.	Concordancia entre laboratorios e intralaboratorio	274
4.3.	Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α	276
4.3.1.	Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α en función de la edad	276
4.3.2.	Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α en función del tratamiento concomitante con FAMEs	277
4.3.3.	Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α en función de la pauta de administración	278
4.3.4.	Correlación entre las variables clínicas y las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α	279
4.4.	Concentración sérica de anticuerpos antifármaco anti-TNF α	282
4.4.1.	Anticuerpos antifármaco con las distintas terapias anti-TNF α	282
4.4.2.	Características de los pacientes con anticuerpos anti-ADA	282
4.4.3.	Características clínicas en relación a la presencia de anticuerpos anti-ADA	283
4.4.4.	Correlación entre las concentraciones séricas de Adalimumab y de anticuerpos anti-ADA	284
4.4.5.	Anticuerpos anti-ADA en función del tratamiento concomitante con FAMEs	285
4.4.6.	Inmunofenotipo celular en función de los anticuerpos anti-ADA	286
4.5.	Correlación entre la actividad inflamatoria determinada por ecografía y la respuesta inmunogénica	287

DISCUSIÓN **291**

1. Características basales de los sujetos en estudio **292**

1.1.	Características clínicas	292
1.2.	Comparativa entre pacientes pediátricos y adultos	293
1.3.	Tratamientos	298

2. Estudio ecográfico **303**

2.1.	Concordancia de la ecografía	304
2.2.	Características clínicas	304
2.3.	Diferencia entre los índices ecográficos reducidos	304
2.4.	Evaluación clínica y articular	305

2.5.	Relación entre los índices ecográficos y la actividad clínica	308
2.6.	Asociación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas	309
2.7.	Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas	310
2.8.	Sinovitis subclínica	312
3. Inmunofenotipo celular		318
3.1.	Características clínicas	319
3.2.	Inmunofenotipo de los sujetos sanos en función de la edad	320
3.3.	Inmunofenotipo en los controles sanos y pacientes	326
3.3.1.	Inmunofenotipo en los controles y pacientes pediátricos	326
3.3.2.	Inmunofenotipo en los controles y pacientes adultos	330
3.4.	Inmunofenotipo en los pacientes pediátricos y adultos	332
3.5.	Inmunofenotipo en función del tratamiento	336
3.6.	Inmunofenotipo en función de las características clínicas	340
4. Inmunogenicidad del tratamiento anti-TNFα		343
4.1.	Características clínicas	344
4.2.	Tratamiento	345
4.3.	Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α	346
4.4.	Correlación entre las variables clínicas y las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α	347
4.5.	Anticuerpos antifármacos anti-TNF α y características de los pacientes	348
4.6.	Inmunofenotipo celular en relación a la inmunogenicidad	351
4.7.	Correlación entre la ecografía y la inmunogenicidad	351
CONCLUSIONES		353
1. Conclusiones		354
2. Conclusions		356
RESUMEN		359
1. Resumen		360
2. Abstract		363
BIBLIOGRAFÍA		365

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ADA	Adalimumab
AIJ	Artritis Idiopática Juvenil
AIJ ARE	Artritis Idiopática Juvenil subtipo Artritis Relacionada con Entesitis
AIJS	Artritis Idiopática Juvenil Sistémica
AINEs	Antiinflamatoios No Esteroideos
ANA	Anticuerpos Anti Nucleares
AR	Artritis Reumatoide
ATM	Articulación Temporo-Mandibular
CARRA	<i>Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance</i>
CHAQ	<i>Childhood Health Assessment Questionnaire</i>
EG	Escala de Grises de la Ecografía
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ETN	Etanercept
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
EVA	Escala Visual Analógica
FAMEs	Fármacos modificadores de la enfermedad
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FR	Factor Reumatoide
HAQ	<i>Health Assessment Questionnaire</i>
HCQ	Hidroxicloroquina
HIPC	<i>Human Immunology Project Consortium</i>
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
IFX	Infliximab
IFP	Articulaciones Interfalángicas Proximales
Ig	Inmunoglobulinas
IL	Interleucina
ILAR	<i>International League of Associations for Rheumatology</i>
IMC	Índice de Masa Corporal
Índice-EG	Índice Ecográfico Reducido de Escala de Grises

Índice-PD	Índice Ecográfico Reducido de Power Doppler
LB, LT	Linfocito B y linfocito T
JADAS	<i>Juvenile Arthritis Disease Activity Score</i>
cJADAS	<i>Clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score</i>
JADAS-PCR	<i>Juvenile Arthritis Disease Activity Score (usando PCR)</i>
LFN	Leflunomida
MCF	Articulaciones Metacarpofalángicas
MTF	Articulaciones Metatarsofalángicas
MTX	Metotrexato
NAA	Número de Articulaciones Activas
NAD	Número de Articulaciones Dolorosas
NAL	Número de Articulaciones Limitadas
NAT	Número de Articulaciones Tumefactas
NK	<i>Natural Killers</i>
OMERACT	<i>Outcome Measures in Rheumatology</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
PCR	Proteína C Reactiva
PD	Power Doppler de la ecografía
PRES	<i>Pediatric Rheumatology European Society</i>
PRINTO	<i>Paediatric Rheumatology International Trial Organization</i>
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SAM	Síndrome de Activación Macrofágica
SD	Desviación estándar
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
SSZ	Sulfasalazina
SUN	<i>Standardization of Uveítis Nomenclature Working Group</i>
TC	Tomografía Computerizada
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
VASm	Valoración de la Actividad Global Según el Médico
VASp	Valoración de la Actividad Global Según el Paciente
VASpp	Valoración de la Actividad Global Según los Padres del Paciente
VSG	Velocidad de Sedimentación Globular

INTRODUCCIÓN

1. ARTRITIS IDIOPÁTICA JUVENIL

1.1. DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

La definición de las artritis crónicas de la infancia ha ido cambiando a lo largo del tiempo. Desde la descripción original de la artritis crónica infantil por Still en 1897[1], las diferentes nomenclaturas, sus criterios de clasificación, tratamientos y la forma de evaluar la evolución de la enfermedad se ha ido modificando significativamente.

La Artritis Idiopática Juvenil (AIJ) fue definida por la *International League of Associations for Rheumatology* (ILAR) en la conferencia de Edmonton del año 2001 como una **artritis de etiología desconocida, de inicio antes de los 16 años de edad**, de más de 6 semanas de evolución y que requiere descartar otras posibles causas antes de realizar el diagnóstico [2]. Se clasifica en 7 subtipos clínicos diferenciados. Por su curso crónico, cualquiera de las categorías de AIJ, puede causar secuelas que tengan como consecuencia una discapacidad o una peor calidad de vida en los pacientes. La AIJ puede presentar manifestaciones articulares y extraarticulares.

La prevalencia e incidencia de la AIJ varía en función del territorio estudiado. En el ámbito territorial de Cataluña, se realizó un estudio epidemiológico prospectivo que determinó una incidencia de 6,86 casos por cada 100.000 habitantes/año y una **prevalencia de 40,02 por cada 100.000 habitantes**, lo que supone la existencia de aproximadamente 462 pacientes afectados por AIJ en Cataluña en la fecha de realización del estudio[3].

1.2. CLASIFICACIÓN

No existe ninguna característica clínica o de laboratorio que sea patognomónica de la AIJ. La AIJ es una enfermedad heterogénea cuyo diagnóstico se realiza por exclusión de otras patologías. Los criterios de clasificación de los pacientes se han ido modificando a lo largo de los años.

Existen actualmente descritos siete subtipos de AIJ con un espectro clínico característico según la ILAR [2]. Los 7 subtipos de AIJ son los siguientes: sistémica; oligoartritis (ya sea persistente o extendida); poliartritis con Factor Reumatoide (FR) negativo; poliartritis con FR positivo; artritis psoriásica; artritis

relacionada con entesitis; artritis indiferenciada (Tabla 1). Los subtipos de AIJ son categorías entre ellas mutuamente excluyentes y cada una de ellas está definida por unos criterios de inclusión y exclusión propios, que se detallan a continuación.

Tabla 1. Categorías de la artritis idiopática juvenil según criterios de la ILAR.

1. Sistémica	
2. Oligoartritis	a. Persistente b. Extendida
3. Poliartritis FR positivo	
4. Poliartritis FR negativo	
5. Artritis Psoriásica	
6. Artritis Relacionada con Entesitis	
7. Artritis Indiferenciada	

FR, Factor Reumatoide

En cada categoría pueden estar presentes cualquiera de las características clínicas o de laboratorio, que más adelante serán utilizadas como criterios de exclusión, y que se exponen a continuación:

- a) Psoriasis o historia de psoriasis en un familiar de primer grado
- b) Artritis en un varón *HLA-B27* positivo que se manifieste después de los 6 años de edad
- c) Historia personal o familiar en un pariente de primer grado de espondilitis anquilosante, artritis relacionada con entesitis, sacroileítis con enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de Reiter o uveítis anterior aguda
- d) Factor Reumatoide IgM en al menos dos ocasiones separadas por un intervalo de tiempo superior o igual a 3 meses
- e) Subtipo de AIJ sistémica

Los criterios de inclusión y de exclusión, para cada una de las categorías, se resumen a continuación:

- **Artritis sistémica.** Definida como artritis en una o más articulaciones, acompañada o precedida de fiebre diaria de por lo menos 2 semanas de duración que es documentada diariamente

durante al menos tres días consecutivos, y que se acompaña por uno o más de los siguientes síntomas: eritema evanescente, linfadenopatías generalizadas, hepatomegalia y/o esplenomegalia, serositis.

Son criterios de exclusión: a, b, c, d.

- **Oligoartritis:** Artritis que afecta de una a 4 articulaciones durante los 6 primeros meses de enfermedad. Se divide en dos subcategorías:

1. **Oligoartritis persistente:** afecta un máximo de 4 articulaciones durante el curso de la enfermedad.

2. **Oligoartritis extendida:** afecta a más de 4 articulaciones tras los 6 primeros meses de enfermedad.

Son criterios de exclusión: a, b, c, d, e.

- **Poliartritis Factor Reumatoide negativo:** artritis que afecta a 5 o más articulaciones durante los primeros 6 meses de enfermedad; el FR tiene que ser negativo.

Son criterios de exclusión: a, b, c, d, e.

- **Poliartritis Factor Reumatoide positivo:** artritis que afecta a 5 o más articulaciones durante los primeros 6 meses de enfermedad. Dos o más determinaciones del FR tienen que ser positivas separadas por un mínimo de 3 meses, durante los 6 primeros meses de la enfermedad.

Son criterios de exclusión: a, b, c, e.

- **Artritis psoriásica:** presentar artritis y psoriasis, o artritis y al menos dos de las siguientes características clínicas: dactilitis, onicolisis o piqueteado ungueal (*pitting*), psoriasis en un pariente de primer grado.

Son criterios de exclusión: b, c, d, e.

- **Artritis relacionada con entesitis (ARE):** presentar artritis y entesitis, o artritis o entesitis con al menos dos de las siguientes características clínicas: presencia de historia de dolor en la articulación sacroilíaca y/o dolor lumbosacro de tipo inflamatorio; presencia del antígeno *HLA-B27*; comienzo de la artritis en un varón mayor de 6 años de edad; uveítis anterior aguda sintomática; historia familiar en pariente de primer grado de espondilitis anquilosante, AIJ ARE, sacroileítis con enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de Reiter o uveítis anterior aguda.

Son criterios de exclusión: a, d, e.

- **Artritis indiferenciada:** artritis que no cumple criterios en ninguna categoría o que los cumple en dos o más de las categorías anteriores.

Controversias en la clasificación de los pacientes según los criterios ILAR

Los criterios de clasificación de la ILAR han servido para homogeneizar la nomenclatura entre reumatólogos pediátricos de Estados Unidos y de Europa, pero los grupos de pacientes que se identifican no son totalmente homogéneos y por este motivo estos criterios de clasificación han estado, y siguen estando, en continuo debate.

Algunos autores sugieren que el número de articulaciones afectadas al inicio y la presencia de psoriasis, serían datos útiles para caracterizar a los pacientes pero no para clasificarlos [4]. Sugieren también que la positividad en los Anticuerpos Anti Nucleares (ANA) y la edad en la que se manifiesta la AIJ serían factores que deberían tenerse en cuenta para clasificar a los pacientes. Actualmente se conoce que un inicio más temprano de la AIJ y la positividad de los ANA determina un mayor riesgo de uveítis en estos pacientes [5].

Se ha demostrado que los pacientes que son ANA positivos, que presentan un patrón de artritis asimétrico y un inicio temprano de la enfermedad (antes de los 6 años de edad) son clínica y biológicamente semejantes, independientemente de si pertenecen al grupo de AIJ poliarticular FR negativo, oligoarticular o psoriásica [6]. Por este motivo algunos autores sugieren su agrupación en una única categoría, independientemente de las manifestaciones cutáneas y del número de articulaciones afectadas en los 6 primeros meses [7, 8]. Estos autores defienden la hipótesis de que en realidad se trataría de la misma enfermedad, sólo que en la poliartritis FR negativo la artritis se extendería más rápidamente que la oligoartritis [4]. Esta hipótesis está apoyada por varios hechos, como, por ejemplo, la observación en países en los que la oligoartritis ANA positivo es poco prevalente, y en los que también es poco frecuente la poliartritis ANA positivo FR negativo [4]. Por otra parte, en los últimos años, gracias a determinadas técnicas de imagen como la resonancia magnética nuclear o la ecografía musculoesquelética, se ha demostrado que la exploración física no es un método completo para valorar el número de articulaciones afectadas [9].

Al estudiar la expresión génica de las células mononucleares de sangre periférica de pacientes con AIJ oligoarticular y poliarticular, se observó una mayor expresión de genes relacionados con las células B y una menor expresión de genes relacionados con las células de linaje mieloide en los pacientes con AIJ de inicio temprano (menores de 6 años), respecto a los de inicio tardío (mayores de 6 años) [10]. Esta diferencia era independiente de si los pacientes pertenecían al grupo oligoarticular o poliarticular FR negativo, lo cual de nuevo sugiere que la edad de inicio de la enfermedad es un parámetro de importancia para la clasificación de los pacientes en grupos biológicamente similares.

La AIJ psoriásica es una entidad heterogénea y se postula que en ella se incluyen pacientes que en realidad pertenecen a distintas categorías. Antes de la aceptación de los criterios ILAR en la AIJ se habían utilizado los criterios de Vancouver que también permitían diagnosticar al paciente incluso en ausencia de psoriasis [11]. Con estos criterios podía diagnosticarse a los pacientes de artritis psoriásica juvenil definida o probable. La artritis psoriásica juvenil definida se caracterizaba por presentar artritis y psoriasis cutánea, o bien artritis y por lo menos 3 de los 4 criterios menores. La artritis psoriásica probable se definía por presentar artritis y 2 criterios menores.

Los criterios de clasificación de la ILAR son más restrictivos, se excluyen aproximadamente entre un 20% y un 50% de los pacientes que cumplen los criterios de Vancouver por motivos como, por ejemplo, tener un FR positivo, por tener un familiar de primer grado con psoriasis o por compartir características clínicas relacionadas con el antígeno *HLA-B27* [12, 13].

Con los criterios de Vancouver se observan dos poblaciones clínicamente distintas: un grupo de pacientes de inicio temprano y otro grupo de inicio tardío [14, 15]. Los pacientes con AIJ psoriásica de inicio antes de los 5 años de edad presentan muchas similitudes con la AIJ oligoarticular de inicio temprano: son más frecuentemente de género femenino, ANA positivo, se asocian al alelo *HLA-DR8* y presentan un mayor riesgo de uveítis. Los pacientes con AIJ psoriásica de inicio más tardío, cuyo pico de edad de presentación se sitúa entre los 10 años de edad y la adolescencia, presentan similitudes con la Espondiloartritis y la artritis psoriásica del adulto: aumenta la prevalencia del género masculino, pueden también presentar uveítis anterior, tanto crónica como aguda, y presentan además afectación axial y entesítica con mayor frecuencia que los otros subtipos de AIJ. En ambos casos la prevalencia de dactilitis estaría aumentada respecto a las otras formas de AIJ [14, 15].

Mediante los criterios ILAR, se descartan los pacientes del segundo grupo, con una expresividad clínica similar a la artritis psoriásica del adulto. Este grupo podría considerarse como parte del espectro de las Espondiloartritis. Por lo tanto, con los criterios ILAR se obtiene un grupo clínico más homogéneo, a pesar de que algunos autores sugieren que con esta clasificación no se categoriza adecuadamente la población con artritis psoriásica juvenil [6, 12].

En la nueva clasificación que algunos autores proponen se consideraría que la AIJ Sistémica no es propiamente una AIJ, es un síndrome similar a los Síndromes Autoinflamatorios y que en él deberían poderse incluir incluso a los pacientes sin artritis, similar al síndrome de Still pero de inicio pediátrico [6]. En esta nueva clasificación, la AIJ relacionada con entesitis sería una forma de expresión de las Espondiloartritis pero de inicio pediátrico [6].

1.3. ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS

La AIJ no es una única enfermedad, es el término que engloba a un grupo heterogéneo de enfermedades que presentan los primeros síntomas antes de los 16 años de edad y que comparten la inflamación articular como manifestación clínica más común [6]. Se divide en categorías que agrupan pacientes con características clínicas y de laboratorio semejantes [2]. Como su propio nombre indica, la etiología de la AIJ sigue siendo desconocida.

Se postula que la AIJ, al igual que otras enfermedades autoinmunes, tiene un origen multifactorial. En un individuo genéticamente susceptible, tras un desencadenante ambiental, se activaría una respuesta inmune patológica, que causaría una desregulación en el sistema innato y adaptativo y que, una vez activada esta respuesta patológica, se auto perpetuaría causando el daño tisular [16, 17].

Se desconocen los mecanismos genéticos o inmunopatogénicos que se relacionan con la distinta expresión fenotípica de la AIJ. Por ejemplo, el riesgo de desarrollar una uveítis aumenta en los niños ANA positivo y se relaciona también con el género, la edad de inicio y el subtipo de AIJ al que pertenecen, pero se ignora el mecanismo inmunológico o genético específico por el cual se relacionan la afectación articular y ocular en esta enfermedad [16].

La etiopatogenia de los distintos grupos de AIJ es claramente diferente. Las AIJ oligo/poliarticulares presentan un elevado porcentaje de células T auto-reactivas en la membrana sinovial de las

articulaciones afectadas, que indica una activación mediante antígenos del sistema inmune adaptativo. La AIJ sistémica presenta típicamente elevación de los reactantes de fase aguda, trombocitosis y granulocitosis, entre otras características que sugieren una activación del sistema inmune innato [18].

A continuación, se revisan los distintos factores de riesgo ambientales y genéticos que podrían intervenir en la etiopatogenia de la AIJ, tanto oligo/poliarticular como sistémica.

1.3.1. Factores de riesgo ambientales

Los factores de riesgo ambientales no son propiamente la causa de la enfermedad, sino que actuarían como factores desencadenantes en individuos que están genéticamente predispuestos a desarrollar una artritis [19]. A continuación, se exponen con más detalle algunos de estos factores que se han propuesto como posibles desencadenantes de la AIJ.

Se ha tratado de determinar los factores ambientales que aumentan el riesgo de desarrollar una AIJ en varios estudios. Uno de ellos investigaba las diferencias en las características sociodemográficas, ambientales, familiares, del embarazo y de los primeros años de vida de 314 pacientes con AIJ que fueron comparados con 481 controles [20]. Los padres de niños con AIJ tenían un mayor nivel socio-económico y eran significativamente mayores que los padres de los controles. En este estudio el tabaquismo de los padres, el nacer por cesárea o la lactancia materna no se relacionaron con un mayor riesgo de AIJ. Las diferencias significativas observadas entre padres de niños con AIJ y padres de niños controles podrían haberse producido como consecuencia de la propia AIJ: un menor número de padres eran fumadores, las madres trabajaban un menor número de horas y un mayor porcentaje de padres seguían casados en el grupo de pacientes con AIJ.

Se considera que las infecciones son los factores ambientales que tienen una mayor influencia en el desarrollo de la autoinmunidad. Los mecanismos subyacentes son complejos y no bien conocidos. Se considera que un agente infeccioso induce una reacción inflamatoria que activaría a las células presentadoras de antígenos y que, al tener este agente proteínas similares a las del huésped, por mimetismo molecular, se activaría una reacción inmunitaria cruzada que es el origen de la autoinmunidad [21, 22].

Entre los virus, el parvovirus B19, la rubeola y la influenza A podrían tener una relación con el inicio de la AIJ aunque esto no ha podido ser demostrado de forma inequívoca [18, 23]. El parvovirus B19 podría tener un papel en la etiopatogenia de la AIJ, ya que se observó la presencia de IgM y de ácido desoxirribonucleico (ADN) del virus en los pacientes con AIJ (48%) no observadas en ninguno de los controles. En cambio, los valores de IgG fueron similares en ambos grupos. Todo ello sugiere que los pacientes podrían haber desarrollado una infección persistente por parvovirus. A pesar de ello, no puede descartarse que la persistencia de la infección sea, parcialmente, consecuencia del tratamiento inmunosupresor de los pacientes [24]. Por otro lado, el péptido VP1 del parvovirus B19 comparte similitudes con la citoqueratina humana y con el factor de transcripción GATA1, lo cual sugiere que un posible mecanismo de mimetismo molecular induciría reacciones cruzadas de producción de autoanticuerpos en el huésped, tras la infección por el parvovirus B19 [22, 25]. La infección por influenza A se ha relacionado con el inicio de la AIJ poliarticular [26].

Entre las infecciones bacterianas, el *Mycoplasma Pneumoniae* y el *Streptococcus* del grupo A son las bacterias que se han relacionado, tanto con el inicio como con los episodios de reactivación en las formas de AIJ oligo y poliarticulares [27, 28].

Se ha sugerido que la vacunación también puede desencadenar enfermedades autoinmunitarias por un mecanismo de mimetismo molecular similar al de las infecciones [29]. Esta relación con la AIJ no ha sido demostrada en los estudios epidemiológicos, ni tampoco se han observado mayores tasas de reactivación de la inflamación articular en los niños con AIJ tras la vacunación [21]. En un estudio realizado en niños con AIJ en tratamiento con metotrexato (MTX) sólo o en combinación con Etanercept (ETN) no se observó ninguna asociación entre la vacunación con la triple vírica (sarampión, parotiditis y rubeola) y el empeoramiento de la actividad de la AIJ [30].

El estrés podía ser también un factor desencadenante tanto del inicio de la AIJ como de reagudización de la enfermedad, aunque los estudios de los que disponemos presentan ciertas dudas metodológicas [21, 31]. En las pruebas de laboratorio realizadas en modelos animales, se ha comprobado que el estrés agudo activa la respuesta inmune mediante células Th1 y que el estrés crónico la suprime [21, 31, 32]. Además, el estrés activa al sistema nervioso simpático. En pacientes con AIJ expuestos a estímulos estresantes, aumenta la secreción de interleuquina 6 (IL-6), una citoquina proinflamatoria de relevancia en la enfermedad [33]. El papel del estrés en el desarrollo de la artritis sería más importante en los niños que en los adultos porque éstos tienen una respuesta inmunitaria más intensa [32].

En relación a la influencia del tabaco como factor desencadenante, se ha descrito que estimula al sistema inmune. La exposición a componentes del tabaco durante la edad fetal, puede influir en el desarrollo del sistema inmune del niño haciéndolo más susceptible a desarrollar ciertas enfermedades. En un estudio finlandés en el que se realizaba un seguimiento a un grupo de niños durante 7 años (n=58.841), los hijos de madres fumadoras tenían un mayor riesgo de sufrir artropatías inflamatorias en los primeros años de vida [34]. En concreto, las niñas de madres fumadoras tenían 6 veces más de riesgo de desarrollar una AIJ, respecto a los varones hijos de madres no fumadoras.

A pesar de todo lo expuesto previamente, hasta la actualidad ningún factor ambiental ha podido ser demostrado como un factor determinante en el inicio de la AIJ.

1.3.2. Factores de riesgo genéticos

La AIJ es una enfermedad compleja en la que se considera que determinados factores ambientales inciden en un individuo genéticamente predispuesto. Existen múltiples datos que confirman la existencia de un componente de susceptibilidad genética en la AIJ [16]. Por ejemplo, en gemelos monocigotos la tasa de concordancia se sitúa entre un 25% y un 40%, lo cual implicaría un riesgo relativo (RR) de padecer la enfermedad de entre 250-400 en un gemelo homocigoto de un paciente con AIJ [35]. El riesgo relativo de recurrencia en hermanos (λ_s) de pacientes con AIJ se ha estimado que es de entre un 15-30 [36]. Tras analizar una cohorte de 862 pacientes con AIJ y comparar los datos poblacionales de sus familias con las familias control (se analizaron las historias de 7 millones de individuos), aproximadamente el 13% de los casos de AIJ se podían atribuir a riesgo familiar [36]. Este mismo estudio demostró que la presencia de un familiar afectado de AIJ aumenta el riesgo relativo de desarrollar AIJ de forma significativa en sus hermanos (RR = 11,6) y también en sus primos hermanos (RR = 5,82). En este estudio también se demostró que la AIJ oligoarticular tiene una mayor agregación familiar que la AIJ poliarticular [36]. Es importante destacar que los distintos subtipos de AIJ tienen una distinta prevalencia según el grupo étnico o racial al que pertenezcan [19].

Se han identificado varios genes que confieren una susceptibilidad genética a desarrollar AIJ. Estos genes puede dividirse en genes HLA (*Human Leukocyte Antigen*) y genes no HLA [16].

Genes HLA

Existen múltiples estudios en los que se ha documentado la asociación de la AIJ con determinados alelos HLA de clase I (*HLA-A, B y C*, como por ejemplo, los alelos *HLA-A2* y *HLA-B27*) y HLA de clase II (*HLA-DRB1* y *HLA-DP*) [16]. Esto sugiere que las células T tienen un papel importante en el curso de la enfermedad. En diversos estudios se ha observado que distintos alelos HLA se asocian de forma diferencial a cada una de las categorías de AIJ.

El alelo *HLA-B27* está fuertemente relacionado con la Espondilitis Anquilosante del adulto y en la AIJ está asociado al subgrupo de pacientes con AIJ artritis relacionada con entesitis [37, 38]. Esta asociación determina un mayor riesgo dentro de una misma familia. El alelo *HLA-B27*, en concreto, aumenta el riesgo de desarrollar una oligoartritis de inicio tardío, sobre todo en varones de más de 11 años de edad [38].

La AIJ Oligoarticular constituye un grupo bastante homogéneo de AIJ y esta forma de artritis no se observa en la edad adulta. La AIJ Oligoarticular de inicio temprano se ha asociado con alelos que se sitúan en 3 regiones distintas de la región HLA: el *HLA-A2*; el *DRB1*08, *11 y *12* así como el *DQA1*0401, *0501, *0601*; y por último con el *DPB1*0201* [39]. En particular, se ha confirmado una fuerte asociación entre la AIJ y el alelo *HLA-DRB1*08* [37, 40]. Esta asociación se mantiene independientemente del grupo étnico al que pertenezca el paciente [4]. Es interesante destacar que, en el subgrupo de pacientes con AIJ psoriásica y poliarticular FR negativo que presentan un inicio precoz y cuyas características clínicas son similares a los pacientes del grupo oligoarticular, también se ha observado una mayor prevalencia del alelo *HLA-DRB1*0801* [4, 41]. Este hecho sugiere que el inicio de la AIJ en edades más tempranas puede tener una base de susceptibilidad genética común. El alelo *HLA-DPB1*0201* también predispone a una menor edad al inicio de la AIJ y se asocia con las formas oligoarticulares y poliarticulares [37].

Determinados haplotipos *DR-DQ* de la región HLA también se ha demostrado que se asocian al riesgo de desarrollar AIJ. En un estudio cuyo objetivo era identificar regiones de susceptibilidad en la AIJ (n=2.816 pacientes y n=13.056 controles) se observó que un polimorfismo de nucleótido simple (*single nucleotide polymorphism, SNP*) rs7775055 en el haplotipo *HLA-DRB1*0801-HLA-DQA1*0401-HLA-DQB1*0402* mostraba una asociación con la AIJ oligoarticular y la poliarticular FR negativo [42]. En un estudio previo (n=802 pacientes y n=273 controles), este haplotipo y el haplotipo *DRB1*1103/4-DQA1*0500-DQB1*0301* también se había demostrado que estaban asociados con la AIJ [37].

En la AIJ psoriásica hasta el 59% de los pacientes tienen una historia familiar de psoriasis, lo cual sugiere una clara predisposición genética [43]. La psoriasis que se inicia antes de los 40 años de edad (denominada tipo I) se relaciona con la presencia del alelo *HLA-Cw6*. Se ha postulado que este alelo también se asocia a la AIJ psoriásica de inicio tardío, aunque esta dato no está confirmado [44]. En un estudio en el que se comparaban las características clínicas, genéticas e inmunológicas en los distintos grupos de AIJ (n=336) se observó una mayor presencia de los alelos *HLA-DRB1*11/12* en la AIJ psoriásica respecto a los otros grupos de AIJ [45].

El subgrupo de AIJ poliarticular FR positivo presenta similitudes tanto clínicas como biológicas con la AR del adulto, por ejemplo, en este subgrupo de pacientes se ha determinado una mayor prevalencia del alelo *HLA-DR4*, con respecto a otras formas de AIJ [39]. Sin embargo, el alelo *HLA-DRB1*0401* parece ser protector para el desarrollo de otras formas de artritis de la infancia [46]. El alelo *HLA-DR4* también se asocia a la positividad del FR en la AIJ [47]. El epítipo compartido es una secuencia de aminoácidos que se encuentra en algunos de los antígenos HLA-DR y que se ha demostrado que se asocia tanto al riesgo de desarrollar una AR como al de desarrollar una AIJ del subgrupo poliarticular FR positivo [48, 49]. El epítipo compartido se encuentra en los alelos *HLA-DR4* (*HLA-DRB1*0401*, **0404*, **0408*, **0405*), *DR1* (*DRB1*0101*) y *DR14* (*DRB1*1402*) [50]. Los alelos HLA que llevan la secuencia del epítipo compartido son distintos en función de las poblaciones y de los distintos grupos raciales de los pacientes con AIJ Poliarticular FR positivo [17]. La presencia del epítipo compartido se asocia a formas clínicas erosivas, es decir, se asocia a un peor pronóstico de la AIJ [51].

A pesar todo lo expuesto, se ha estimado que el riesgo que confieren las variaciones genéticas del complejo HLA en la AIJ es de aproximadamente un 13-17% [42, 52].

Genes no-HLA

Los estudios de asociación de genoma completo (*Genome-Wide Association Study*, GWAS) han permitido identificar nuevos genes asociados con la AIJ. La mayoría de estos genes no-HLA codifican citoquinas y otras moléculas reguladoras del sistema inmune. Los genes *PTPN2* (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2*), *PTPN22* (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*), *MIF* (*macrophage migration inhibitory factor -glycosylation-inhibiting factor-*), *SLC11A1* (*natural resistance-associated macrophage protein 1*, proteína que forma parte de la familia de proteínas *solute carrier family 11, proton-coupled divalent metal ion transporter*), *WISP3* (*WNT1 inducible signaling pathway protein 3*, proteína de las *connective tissue growth factor family*), *STAT4* (*signal transducer*

and activator of transcription 4), *ANKRD55* (*ankyrin repeat domain 55*), *IL-2RA* (*interleukin 2 receptor alpha*), la región génica *IL2/IL21* y el *TNF α* (*tumor necrosis factor alpha*) son algunos de los genes que se han asociado con la AIJ [16, 53].

Algunos de estos genes se han asociado con subgrupos específicos de la enfermedad. El SNP rs2476601 en el gen *PTPN22* se ha relacionado con la AIJ poliarticular FR negativo [54]. En otro estudio se genotiparon determinados polimorfismos de nucleótido simple en dos *loci* de riesgo para la psoriasis y la espondilitis anquilosante del adulto: *ERAP1* (*endoplasmic reticulum aminopeptidase 1*) (rs30187) e *IL-23R* (*interleukin 23 receptor*) (rs11209026) [55]. Se incluyeron pacientes con AIJ (n=1.054) y controles (n=5.200). Los autores concluyeron que no existía ninguna asociación entre las variaciones de estos genes y el conjunto total de pacientes con AIJ. Sin embargo, en el subtipo de AIJ ARE se objetivó una asociación con el gen *ERAP1* y en la AIJ psoriásica con el gen *IL-23R*, lo cual sugiere distintos mecanismos patogénicos para cada subgrupo [55]. En otros estudios se ha sugerido que determinados genes reguladores de la IL-10, podrían estar asociados con los subtipos de AIJ Oligoarticular, Poliarticular FR negativo y con la AIJ Sistémica [56].

El *TNF α* y sus receptores tienen un papel fundamental en el proceso inflamatorio. El *TNF α* regula la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6 o IL-8. Tanto el *TNF α* como la IL-1, IL-6 y otras citoquinas proinflamatorias, están elevados en el líquido sinovial de los pacientes con AIJ [57, 58]. Los datos actuales sugieren que determinados SNPs del gen *TNF α* , podrían influir en la susceptibilidad a desarrollar una AIJ y, una vez desarrollada, estos polimorfismos podrían influir también en la gravedad de la misma y en la respuesta al tratamiento con fármacos antagonistas del *TNF α* (anti-*TNF α*) [59]. Recientemente se ha descrito que los pacientes con AIJ, que presentan los genotipos -308 GA/AA y -238 GA del gen del *TNF α* , tienen un peor pronóstico y una peor respuesta a los fármacos anti-*TNF α* [60].

1.3.3. Etiopatogenia de la AIJ sistémica

La AIJ sistémica (AIJS) es una entidad específica dentro de esta enfermedad y, en múltiples aspectos, es más similar a los síndromes autoinflamatorios que a la mayoría de enfermedades autoinmunes [16].

En la AIJS hay una sobreproducción de IL-6 y se considera que la IL-1 β también está implicada en su patogénesis [61]. En los pacientes con AIJS las concentraciones de IL-1 no están elevadas, así como

tampoco está aumentada la expresión génica de la IL-1 β . A pesar de ello, se ha demostrado que el suero de pacientes activos induce la transcripción de varios genes relacionados con la IL-1 en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*) de los controles sanos [16, 61-63]. Al activar de forma experimental las PBMC de pacientes con AIJS, se observó que expresaban una concentración significativamente superior de IL-1 β que los controles [62]. Los fármacos inhibidores de la IL-1 y de IL-6 han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la AIJS, lo cual también confirma la implicación de estas citoquinas en su patogénesis [64].

La citoquina IL-18, necesaria para la activación de las células *natural killers* (NK), es la que más se expresa en el plasma y en el líquido sinovial de estos pacientes [57]. Las concentraciones de IL-10, una citoquina reguladora de la inflamación, están aumentadas en plasma y en líquido sinovial en pacientes con AIJS activa respecto a los pacientes con AIJS inactiva, aunque en menor medida que en la AIJ Poliarticular activa [61]. Esto sugiere que la respuesta anti-inflamatoria de la IL-10 es deficitaria en la AIJS. A pesar del aumento del TNF α en el líquido sinovial de los pacientes con AIJS, la eficacia del tratamiento anti-TNF α es claramente inferior que en el resto de las formas de AIJ [57, 64, 65].

En los pacientes con AIJ sistémica activa se ha demostrado, mediante la citometría de flujo, una mayor proporción de células inmaduras en sangre periférica CD34+, CD15+ y CD16-. Esta expansión de células CD34+ podría indicar una eritropoyesis aumentada, probablemente por ser una eritropoyesis inefectiva, y podría también ser un indicador de una posible hemofagocitosis debida a la hipercitoquinemia [66, 67]. En pacientes con AIJS activa se ha observado una sobreexpresión en algunos genes relacionados con el sistema inmune innato y con la eritropoyesis, pero los pacientes que presentaban una mayor concentración de ferritina en suero eran los que tenían un perfil de expresión predominantemente de genes implicados en la síntesis de hemoglobina, de proteínas estructurales de los eritrocitos y de los granulocitos inmaduros, todo ello relacionado con una posible hemofagocitosis subclínica [66, 67]. En un estudio realizado en 20 pacientes con AIJS y anemia, se observó que las cifras de hemoglobina no se relacionaban con la concentración de ferritina en sangre, aunque sí con la concentración del receptor de transferrina, indicando un posible déficit de hierro en estos pacientes [66, 68]. En tres de estos pacientes se estudiaron las biopsias de médula ósea en las que pudo corroborarse una marcada reducción de los depósitos de hierro. Sin embargo, la producción endógena de eritropoyetina fue apropiada en función del rango de la anemia, no encontrando alteraciones en la misma.

Una complicación grave y potencialmente mortal en la AIJS es el síndrome de activación macrófaga (SAM), que se observa en el 5-10% de los pacientes [69]. El SAM se considera una forma adquirida de linfocitosis hemofagocítica familiar (LHFF) [70]. Las mutaciones en el gen de la *perforina* pueden tener un papel en el riesgo de desarrollar un SAM en los pacientes con AIJS [70]. Estas mutaciones producen una disfunción en la actividad citotóxica de las células T y en las células NK. Además, en el SAM también se observa una elevación de las concentraciones de IL-2R α y una mayor expresión de CD163 (expresado por los macrófagos hemofagocíticos activados) [66]. Se han identificado otros genes relacionados con la LHFF que también podrían estar implicados en la patogénesis del SAM como el gen *UNC13D* (*UNC-13 homolog D* o *MUNC13-4*), el *STX11* (*syntaxin 11*) o el *STXBP2* (*syntaxin binding protein 2* o *MUNC18-2*) [71].

Las proteínas S100, en especial la S100A8 (*Myeloid related protein*, MRP-8), la S100A9 (*Myeloid related protein*, MRP-14) y la S100A12 (*calgranulina C*), son proteínas de unión al calcio que se expresan en las células de origen mieloide. Se ha relacionado como posibles biomarcadores en la AIJS tanto de diagnóstico como de respuesta al tratamiento [16]. Las concentraciones más elevadas de las proteínas S100 en pacientes con AIJS inactiva indican un mayor riesgo de reactivación de la enfermedad [72]. Las proteínas S100 se encuentran en mayores concentraciones en la AIJS y en otras formas de artritis inflamatoria, a diferencia de otras entidades como por ejemplo en las infecciones [61, 63]. En los pacientes con AIJS de inicio, las concentraciones de estas proteínas son 20 veces superiores que en pacientes con sepsis y otras enfermedades inflamatorias [72].

1.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Existen distintos fenotipos clínicos en la AIJ. La AIJ sistémica como su propio nombre indica es la forma clínica que presenta con mayor frecuencia manifestaciones sistémicas y afectación orgánica. En los otros subtipos de AIJ predomina la afectación articular sobre otras manifestaciones clínicas. Según el subtipo de AIJ, la afectación ocular también es frecuente. A continuación, expondremos de forma breve las distintas manifestaciones articulares diferenciadas según el subtipo clínico, y las manifestaciones extraarticulares que pueden presentarse como parte del espectro clínico de la AIJ.

1.4.1. Manifestaciones articulares y periarticulares

En la AIJ se produce una inflamación crónica de la membrana sinovial de las articulaciones afectadas que conlleva una hipertrofia sinovial y un aumento de la vascularización. Clínicamente esta sinovitis se manifiesta como un aumento del tamaño de la articulación (tumefacción) asociado a calor local, en ocasiones con eritema cutáneo sobre el área afectada, dolor espontáneo o a la movilización y con limitación del movimiento articular.

El espectro clínico es muy heterogéneo. El patrón de afectación articular que se observa entre los distintos subtipos clínicos, e incluso entre los distintos individuos de una misma categoría, es muy variable. Desde el punto de vista articular, la AIJ puede presentarse como una monoartritis, una oligoartritis de grandes y medianas articulaciones, una poliartritis simétrica de pequeñas articulaciones o asimétrica de grandes y pequeñas articulaciones, puede existir afectación de entesis o incluso, aunque con menor frecuencia, presentar afectación axial.

A continuación, se exponen las principales manifestaciones articulares que pueden observarse en cada uno de los subgrupos de AIJ.

En la **AIJ sistémica (AIJS)** la artritis puede afectar a cualquier articulación, aunque las más frecuentes son las rodillas, muñecas y tobillos. La afectación de la columna cervical y de la cadera condiciona un peor pronóstico en estos niños, por lo que es importante una buena valoración de las mismas [73]. No es infrecuente que la artritis esté ausente al inicio y que se presente más adelante a lo largo del curso de la enfermedad. Por este motivo, es muy importante realizar un correcto diagnóstico diferencial, excluyendo otros procesos febriles como las infecciones, la enfermedad de Kawasaki, los síndromes de Fiebre Periódica, las vasculitis o incluso las neoplasias.

En la **AIJ oligoarticular** pueden observarse dos situaciones clínicas diferentes, según el número de articulaciones inflamadas tras los 6 primeros meses de enfermedad: si se mantiene el número de articulaciones por debajo de 5 se denomina **oligoarticular persistente** y si el número aumenta se denomina **oligoarticular extendida**. Hasta el 50% de los pacientes desarrollará una forma oligoarticular extendida a lo largo de la evolución de su enfermedad y el 30% lo hará durante los dos primeros años. Como factores de riesgo para desarrollar una forma oligoarticular extendida se consideran las artritis de tobillo, de carpo y de las articulaciones de las manos, las artritis simétricas, la elevación de la

velocidad de sedimentación globular (VSG) y los títulos elevados de los ANA (anticuerpos antinucleares) [74]. El curso clínico es insidioso. Habitualmente se afectan las articulaciones de las extremidades inferiores, de forma asimétrica. Las articulaciones con mayor frecuencia implicadas en la AIJ oligoarticular son las rodillas y los tobillos. Es muy frecuente un comienzo monoarticular, habitualmente afectando a una rodilla. También pueden afectarse los carpos y las articulaciones pequeñas de las manos o de los pies, aunque es menos habitual. En estos pacientes es frecuente que predomine la tumefacción sobre el dolor.

La **AIJ poliarticular FR negativo** se manifiesta de forma heterogénea. Principalmente pueden identificarse dos fenotipos clínicos. El primero se manifiesta de forma similar a la artritis seronegativa del adulto: son niños de mayor edad que presentan una sinovitis simétrica de articulaciones pequeñas y grandes, y habitualmente son ANA negativos. El segundo fenotipo se asemejaría más a una “oligoartritis” pero rápidamente progresiva y se observa en pacientes de inicio más temprano que presentan una artritis asimétrica, con predominio del sexo femenino y con una mayor incidencia de uveítis crónica anterior [6]. Además, se identifican otras dos presentaciones clínicas menos frecuentes en estos pacientes. Una forma se inicia bruscamente como una sinovitis poliarticular acompañada de síntomas sistémicos (malestar general o febrícula) en niños menores de 6 años de edad [17]. La segunda, es una forma particular de expresión de la enfermedad que se denomina “sinovitis seca”, en la que predomina la rigidez y la limitación articular sobre la tumefacción, hecho que dificulta notablemente su diagnóstico [17].

En general, los pacientes afectados de una AIJ poliarticular FR negativo presentan una artritis de inicio insidioso, asimétrica, con afectación aditiva, inicialmente de las rodillas, los carpos y/o los tobillos. También puede afectar a las articulaciones pequeñas de las manos, aunque muy rara vez las interfalángicas distales. Se han detectado signos radiológicos de afectación en la articulación de la cadera con mayor frecuencia que en el grupo FR positivo, especialmente en los pacientes de más larga evolución [75-77]. La columna cervical también puede afectarse en pacientes de mayor gravedad y de larga evolución [78, 79]. La articulación temporomandibular está afectada en la AIJ poliarticular FR negativo con mayor frecuencia que en la AIJ poliarticular FR positivo, probablemente porque en estos niños la AIJ se inicia en edades más tempranas y eso aumenta el riesgo de la micrognatia [80].

En la **AIJ poliarticular FR positivo** el curso clínico es en general insidioso, con adhesión progresiva del número de articulaciones con sinovitis. El dolor y la rigidez articular predominan en esta forma de

artritis. Habitualmente afecta a grandes articulaciones y a pequeñas articulaciones de pies y manos. El patrón típico es el de afectación simétrica de las articulaciones metacarpofalángicas y de las interfalángicas proximales, así como la afectación de los carpos y de los tendones extensores de las manos. La afectación de las articulaciones interfalángicas distales es poco frecuente, raramente se observan lesiones como las erosiones en esta localización, y se asocia a pacientes de más gravedad [81]. Pueden desarrollar deformidades en las manos similares a las que se observan en los pacientes con artritis reumatoide. La articulación temporomandibular no suele ser causa de micrognatia en estos pacientes porque inician los síntomas más tarde que otras formas de AIJ. La afectación de la cadera puede darse tanto al inicio como durante la evolución clínica, aunque habitualmente se relaciona con la gravedad y los años de evolución de la AIJ detectándose alteraciones hasta en el 40% de los pacientes con formas poliarticulares [76]. La afectación cervical es frecuente durante el curso de la enfermedad, sobretodo en pacientes de larga evolución. Se detectaron lesiones radiológicas en la columna cervical hasta en el 67% de pacientes adultos con AIJ y en un 51% de los afectados el curso clínico había sido silente [78].

La **AIJ psoriásica** se manifiesta habitualmente al inicio como una mono/oligoartritis asimétrica y evoluciona también con un curso clínico insidioso. Un 50% evolucionará a formas poliarticulares [82]. Alrededor de un 20% empiezan presentando una forma poliarticular. Habitualmente se afectan las extremidades inferiores, siendo la rodilla (60%-87%) y el tobillo (51%-71%) las articulaciones más frecuentemente afectadas [14, 45, 82]. La sinovitis en los tobillos, la afectación de carpos y de las articulaciones pequeñas de los dedos de las manos y de los pies se observa con más frecuencia en la AIJ psoriásica que en otras formas de AIJ oligoarticulares, lo cual contribuye a diferenciarlas [83]. Hay que tener en cuenta que, según la clasificación que usemos cambiarán las articulaciones afectadas con mayor frecuencia. La articulación interfalángica distal se afecta en aproximadamente el 15% de los casos [83] y en la mayoría de ellos coincide con la presencia de onicopatía psoriásica [84]. La afectación de la articulación temporomandibular es poco frecuente y se produce en pacientes con formas poliarticulares [43]. Se han descrito alteraciones en la cadera entre un 5% y un 23% de los pacientes en las series más recientes [45, 83]. El dolor lumbar inflamatorio y la sacroileítis son características asociadas al antígeno *HLA-B27* y no son frecuentes en la AIJ psoriásica si empleamos los criterios de clasificación de la ILAR [45]. La dactilitis, o dedos en salchicha, es una característica clínica típica, no exclusiva, de la AIJ psoriásica. Se detecta en los dedos de las manos o de los pies entre el 25% y el 42% de estos pacientes [45, 85]. La dactilitis puede asociarse a tenosinovitis, periostitis, sinovitis e incluso,

recientemente se ha descrito, entesitis de un mismo dedo [86]. La entesitis no es frecuente, pero puede producirse en pacientes que empiezan en una edad cercana a la adolescencia [45].

La **AIJ artritis relacionada con entesitis (ARE)** se caracteriza por una inflamación de las articulaciones de las extremidades inferiores, especialmente rodillas, tobillos y tarsos, habitualmente de forma asimétrica y oligoarticular. Aproximadamente un 25% de los pacientes empiezan con una forma poliarticular. El dolor lumbar inflamatorio es poco frecuente al inicio, pero su incidencia aumenta a lo largo del curso de la enfermedad, especialmente en adolescentes. La entesitis es la característica más típica de las ARE y está presente al inicio de la enfermedad hasta en un 80% de los pacientes. Las entesis afectadas con más frecuencia son las inserciones de la fascia plantar, la inserción del tendón de Aquiles en el calcáneo, las inserciones en la tuberosidad tibial y patelares inferiores. Menos frecuentemente también se pueden afectar el trocánter mayor, las crestas iliacas, la sínfisis púbica y las uniones condrocostales. La entesitis puede ser el síntoma más incapacitante en los niños que padecen esta enfermedad y no siempre responden bien al tratamiento farmacológico. La ARE puede seguir un curso muy variable, con episodios limitados en el tiempo o bien un curso recurrente, con episodios de mayor duración, seguidos de periodos de remisión.

La **AIJ Indiferenciada** puede manifestarse en cualquier articulación y siguiendo cualquiera de los fenotipos clínicos descritos previamente. Son pacientes que, o bien no cumplen criterios en ninguna de las categorías anteriores, o bien cumplen criterios en más de una categoría. Se trata por lo tanto de un grupo muy heterogéneo de pacientes con un fenotipo clínico muy variado.

1.4.2. Manifestaciones extraarticulares

Las manifestaciones extraarticulares varían en función de las características del individuo, como el género, la edad de inicio de la artritis o la positividad de los ANA, y del subgrupo de AIJ al cual pertenezcan. En general, la afectación extraarticular más frecuente y a la vez, de mayor importancia debido a su potencial morbilidad, es la uveítis. A continuación, se comentan algunas de las manifestaciones extraarticulares de mayor relevancia.

La **uveítis** relacionada con la AIJ es una inflamación crónica no granulomatosa del tracto uveal (iris, cuerpos ciliares y coroides). La uveítis es una de las manifestaciones extraarticulares más frecuentes y que causa mayor morbilidad en la AIJ, afectando entre un 10-20% de los enfermos [87, 88].

Aproximadamente un 12% de los pacientes presenta uveítis antes de las manifestaciones articulares [89]. Ante un paciente pediátrico con uveítis, el oftalmólogo pediátrico debe tener en cuenta el diagnóstico diferencial, debido a que el origen de la uveítis puede ser infeccioso o no infeccioso. En los niños con AIJ la uveítis suele estar relacionada con la propia enfermedad. La mayoría de las uveítis en los niños con AIJ son anteriores, bilaterales, crónicas, asintomáticas y recurrentes. El control oftalmológico es muy importante en estos pacientes.

Las uveítis se clasifican en función del inicio (brusco o insidioso), del segmento anatómico ocular afectado (anteriores, intermedias, posteriores y panuveítis), de la duración de la misma (limitada o persistente), de la evolución de la inflamación ocular (agudas, recurrentes y crónicas), del número de ojos afectados (unilaterales y bilaterales) y de su anatomía patológica (granulomatosas y no granulomatosas).

Actualmente la presencia de los parámetros de inflamación ocular, el Tyndall y el flare, pueden evaluarse según la escala de graduación de la actividad recomendada por el *Standardization of Uveítis Nomenclature Working Group (SUN)*[90]. Es posible aplicar una escala semicuantitativa para evaluar el grado de respuesta a un nuevo tratamiento utilizando las indicaciones dadas por el grupo SUN y los datos de los que ya disponemos en los ensayos clínicos [90, 91].

Existen distintos factores de riesgo que condicionan a los pacientes con AIJ a desarrollar una uveítis:

- **Género:** la influencia del género en el riesgo de uveítis es un tema controvertido. Se ha calculado que el género femenino es un factor de riesgo débil para desarrollar uveítis [87].
- **Edad de inicio:** el iniciar la AIJ antes de los 6 años de edad, condiciona un mayor riesgo.
- **Categorías de AIJ:** mayor riesgo en la oligoarticular, poliarticular FR negativo y psoriásica [92].
- **Evolución de la AIJ:** el mayor riesgo de desarrollar una uveítis asociada a AIJ reside en los primeros 4 años tras el diagnóstico de la enfermedad.
- **Anticuerpos Antinucleares:** aumentan el riesgo; el FR se considera protector [93].
- **Región HLA:** la presencia del alelo *HLA-DR*05* es un factor de riesgo de uveítis, mientras que la presencia del alelo *HLA-DR*01* es un factor protector [94].

En resumen, las niñas con una AIJ oligoarticular de inicio temprano en la infancia, que presentan los ANA positivos y el alelo *HLA-DR*05* positivo son el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de uveítis, especialmente en los primeros meses desde el inicio de la enfermedad.

La forma de presentación de la uveítis es generalmente crónica anterior, siendo los pacientes con AIJ oligoarticular y AIJ poliarticular FR negativo los que tienen mayor riesgo de desarrollarla [87]. Entre un 10% y un 20% de los pacientes con AIJ psoriásica presentará uveítis a lo largo de la evolución, siendo también la crónica anterior el tipo más frecuente [4, 5, 11, 45]. La uveítis también puede presentarse como una uveítis aguda en niños de mayor edad y asociado al alelo *HLA-B27* [95]. De hecho, la uveítis aguda anterior es más frecuente en los varones afectados de AIJ ARE, un tipo de afectación ocular que es característico de los adultos afectados de espondiloartritis [96]. En los pacientes con AIJ poliarticular FR positivo la uveítis es una manifestación poco frecuente. En un estudio realizado con 1.081 pacientes con AIJ ninguno de los pertenecientes a la forma Poliarticular FR positivo presentaron uveítis durante el período del estudio [5]. Con respecto a los distintos tipos de uveítis asociados a AIJ, en este último estudio, la uveítis crónica anterior fue la más frecuente (68,3%), seguida de la uveítis aguda anterior (16,2%), de la recurrente anterior (12%) y por último de la panuveítis (3,5%).

El retraso en el diagnóstico de la uveítis, así como la gravedad de la AIJ, y algunos de los efectos adversos de los fármacos utilizados pueden ser causa de secuelas oculares irreversibles en estos pacientes. Las complicaciones oculares que observamos con mayor frecuencia son las sinequias, la hipertensión ocular, las cataratas, la queratopatía en banda y el edema macular quístico. Todas estas complicaciones conllevan una disminución en la agudeza visual que puede llegar a ser incapacitante, especialmente en los casos en los que se produce una pérdida total de la visión.

Las **manifestaciones sistémicas** son excepcionales en la AIJ oligoarticular, poliarticular FR-, poliarticular FR +, psoriásica y ARE. Los niños habitualmente tienen un buen estado general. En los casos que presentan un curso poliarticular se ha descrito astenia, alteraciones del sueño y febrícula como consecuencia de un proceso inflamatorio articular más extendido, pero generalmente sin repercusión orgánica.

La AIJS es un subgrupo de AIJ con un fenotipo clínico particular, de hecho, en los últimos años, a medida que se conoce mejor la etiopatogenia de la misma, se la ha considerado como un síndrome autoinflamatorio equivalente a la enfermedad de Still del adulto. Clínicamente se caracteriza, además

de la artritis de más de 6 semanas de duración, por presentar fiebre diaria, típicamente en picos de fiebre alta vespertinos, eritema cutáneo evanescente, linfadenopatías generalizadas, hepatoesplenomegalia y/o serositis [2]. Con mucha frecuencia los síntomas sistémicos son más prominentes que los articulares en este grupo de pacientes.

El **síndrome de activación macrofágica (SAM)** es una complicación potencialmente mortal que afecta, entre un 7% y un 13% de los pacientes con AIJS [97]. El diagnóstico diferencial del SAM con otras situaciones clínicas supone un reto. Inicialmente se aplicaban los criterios diseñados para el diagnóstico de la linfocitosis hemofagocítica (HLH). En el año 2.005, se desarrollaron unos nuevos criterios diagnósticos del SAM asociado a la AIJS [98] y, recientemente, han sido publicados los nuevos criterios de SAM como resultado de una iniciativa colaborativa entre EULAR/ACR/PRINTO (*European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology / Paediatric Rheumatology International Trial Organization*) [99].

Se postula que, en los pacientes con AIJS de inicio sin clínica, hasta en el 30-40% de ellos presentarían alteraciones analíticas compatibles con un SAM “subclínico” [100]. El CD25 y de CD163 serían potenciales marcadores de SAM subclínico [100]. Aún no se ha podido determinar si el SAM es sólo una complicación de la enfermedad o si más bien se trata de una manifestación de la misma. Las manifestaciones clínicas (p.ej. el patrón de la fiebre) y analíticas (p.ej. ferritina, plaquetas, triglicéridos y ASAT) son heterogéneas y es importante observar el cambio en el valor del parámetro desde la visita previa [101]. La afectación del sistema nervioso central (SNC), el fallo renal, cardíaco o pulmonar, una hemoglobina inferior o igual a 7,9 g/dL y una edad al inicio del SAM de más de 11,5 años indican un mal pronóstico [102].

La **afectación orgánica** relacionada con la AIJ poliarticular es excepcional, muy raramente se han descrito casos de afectación pulmonar o cardíaca [103]. Recientemente se ha publicado una serie de 5 familias de pacientes que presentaban una artritis crónica de inicio en la infancia con autoanticuerpos a títulos altos y afectación pulmonar relacionada con mutaciones en distintas regiones codificantes del gen *COPA* (*coatomer protein complex, subunit alpha*) [104]. Estas variantes del gen *COPA* dificultan el transporte retrógrado de vesículas desde el aparato de Golgi al retículo endoplasmático. Clínicamente estos pacientes presentan una Poliartritis de inicio en la infancia, una afectación pulmonar intersticial y positividad en el FR, en los ANA y en los ANCA. Se sospecha que

algunos pacientes en el grupo de las AIJ poliarticulares FR positivo que presentan afectación pulmonar podrían en realidad estar afectados por esta nueva entidad.

Los pacientes con AIJ psoriásica presentan **psoriasis cutánea** confirmada por un dermatólogo entre un 39% y un 60% de los casos [11, 45]. Las formas clínicas de la psoriasis cutánea en estos niños son similares a las que se observan en el conjunto de los niños con psoriasis. La psoriasis en placas es la forma más frecuente de presentación en niños, aunque muchos de ellos presentan formas leves, atípicas y transitorias más difíciles de diagnosticar [105]. La afectación ungueal se observa en más de un 50% de los pacientes con AIJ psoriásica. El piqueteado se detecta en el 23% de los pacientes [45]. Entre un 23% y un 58% de los pacientes la artritis precede a las lesiones cutáneas de la psoriasis [85].

Entre los pacientes con AIJ poliarticular FR positivo, las manifestaciones extraarticulares son poco frecuentes. El 30% de los pacientes con AIJ poliarticular FR positivo presentaban **nódulos reumatoides** en algún momento durante la evolución, por lo que serían la manifestación extraarticular más común en este subgrupo de pacientes [106]. Los nódulos pueden producirse también asociados al tratamiento con MTX [107].

La **osteoporosis secundaria** o, en todo caso, un descenso en la masa ósea, ha sido descrito en los pacientes afectados de cualquiera de las categorías de AIJ [108, 109]. La osteopenia/osteoporosis de los niños con AIJ está influida por distintos factores como la actividad inflamatoria continuada, el descenso en la masa muscular debido al desuso de la articulación o al reposo y a los tratamientos, en especial, al tratamiento con glucocorticoesteroides.

Actualmente disponemos de nuevos métodos diagnósticos y de mejoras técnicas sustanciales en métodos diagnósticos ya conocidos, como la densitometría ósea de columna vertebral o de cuerpo total, que permiten una mejor evaluación de estos pacientes [108]. La pérdida de masa ósea en estos pacientes es fundamentalmente secundaria, por lo que, en ausencia de fracturas, lo recomendable sería confirmar un correcto aporte de calcio y vitamina D, suplementarlos cuando sea necesario, recomendar actividad física para mantener una adecuada masa muscular en estos niños y conseguir un correcto control de la inflamación de la enfermedad. El tratamiento con los bifosfonatos se puede valorar en caso de presentar fracturas por fragilidad, o un aumento en la incidencia de fracturas no patológicas y de un descenso en la masa ósea, que no mejore a pesar de las otras intervenciones profilácticas y terapéuticas [108].

Los **trastornos o retraso en el crecimiento** son frecuentes en los pacientes con AIJ afectando, a pesar de los nuevos tratamientos, hasta un 10-20% de los pacientes [110]. Las principales causas de este retraso del crecimiento son la actividad inflamatoria prolongada, el uso de glucocorticoesteroides y la pérdida de masa muscular debida al desuso o al reposo prolongado. Es importante reconocer lo más pronto posible a los pacientes que presenten este retraso de crecimiento, porque los datos de los que disponemos indican que muchos de ellos se beneficiarían del tratamiento con hormona de crecimiento.

Por otro lado, el hipercrecimiento de las articulaciones que presentan actividad inflamatoria continuada es todavía un problema relativamente común. Un caso frecuente sería un niño afectado por una AIJ oligoarticular que afecte a la rodilla y que presenta una disimetría en extremidades inferiores tras un periodo prolongado de actividad continuada. Otras articulaciones como la temporomandibular, en caso de presentar actividad inflamatoria continuada, se manifestaría con un hipocrecimiento de las ramas mandibulares dando lugar a la característica micrognatia de los pacientes con AIJ de difícil control.

La **amiloidosis** es una manifestación extraarticular que actualmente se produce muy raramente. Hace medio siglo el número de fármacos de los que se disponía era escaso. Los pacientes afectados de AIJS en los que fuera difícil alcanzar un buen control de la actividad inflamatoria de la enfermedad, existía un riesgo de desarrollar una amiloidosis tras varios años de evolución [111, 112]. Actualmente, debido a la existencia de nuevos tratamientos modificadores de la enfermedad, esta complicación no llega a producirse en nuestros pacientes y se ha convertido en una complicación excepcional.

1.5. EVALUACIÓN CLÍNICA

La AIJ es una enfermedad que, tal y como se ha comentado previamente, puede tener manifestaciones tanto articulares como extraarticulares. Por este motivo, para una correcta valoración de los pacientes con AIJ es importante tener una visión multidisciplinar del mismo, lo cual implica a múltiples especialistas. Conocer el estado y función de los órganos en caso de afectación orgánica, la valoración por dermatología de la piel y los anejos en caso de psoriasis y la valoración oftalmológica forma parte de la valoración global del paciente. En la consulta de Reumatología Pediátrica se tienen en consideración múltiples variables clínicas, de laboratorio, de calidad de vida y función física, además

de conocer la percepción del estado de salud del paciente y de sus padres. A continuación, se exponen las distintas variables, los índices de medida de actividad de la AIJ y de respuesta al tratamiento.

1.5.1. Variables de actividad

Para evaluar el estado clínico de un paciente con AIJ, las variables que debemos tener anotadas en cada consulta para poder monitorizar su evolución y para poder aplicar los índices y criterios tanto de remisión, como de respuesta al tratamiento son las siguientes:

- **Valoración de la actividad global según el médico (VASm).** Se trata de una valoración que el reumatólogo realiza sobre una escala analógica visual cuantitativa cuyos valores van del 0 al 10, en la que 0 es el estado de no actividad inflamatoria y 10 es el estado de máxima actividad posible.
- **Valoración de la actividad global según el paciente (VASp).** Evaluado por los padres del paciente o el propio paciente, es una evaluación del estado de la enfermedad sobre una escala analógica visual cuantitativa con valores que van del 0 al 10, en la que 0 es el mejor estado posible y 10 es el peor estado posible.
- **Número de articulaciones con enfermedad activa.** Son el número de articulaciones que en la exploración física resultan dolorosas (NAD) y/o tumefactas (NAT). Según la ACR (*American College of Rheumatology*) una articulación con artritis activa en la AIJ se define como una articulación tumefacta excluyendo como causa el crecimiento óseo o, si no hay tumefacción, dolorosa y/o limitada en sus movimientos a causa del dolor. Una articulación puede ser dolorosa en la movilización y presentar una limitación en del rango movimiento y no considerarse una articulación activa.
- **Número de articulaciones limitadas.** Son el número de articulaciones que en la exploración física presentan una menor amplitud en su rango de movimiento con respecto a la normal, es decir, con limitación, en cualquiera de sus ejes de movimiento.
- **Reactantes de fase aguda: la velocidad de sedimentación globular (VSG) y la proteína C reactiva (PCR).** Consideramos estos dos parámetros de laboratorio como reactantes de fase aguda, es decir, como indicativos de actividad inflamatoria sistémica en general. La VSG se cuantifica en mm/1 hora y la PCR en mg/dL.

1.5.2. Evaluación de la actividad articular

Para evaluar el estado de actividad de la enfermedad articular en la AIJ existen los criterios de remisión clínica y enfermedad inactiva, así como los de alta, moderada y mínima actividad de la AIJ. También pueden calcularse los índices validados JADAS (*Juvenile Arthritis Disease Activity Score*) y relacionar sus puntuaciones con los distintos estados de actividad de la AIJ en función del subgrupo al que pertenezcan.

Estados de actividad de la enfermedad

Son el estado de enfermedad inactiva, de remisión, de mínima, moderada y alta actividad de la enfermedad. Cada uno de estos estados clínicos en la AIJ tienen sus propios criterios, los cuales se detallan a continuación.

Enfermedad inactiva. Para considerar que un paciente con AIJ presenta un estado de enfermedad inactiva, se establecieron los siguientes criterios [113, 114]:

- Ausencia de artritis activa
- Ausencia de fiebre, eritema evanescente, serositis, visceromegalia o linfadenopatías atribuibles a la AIJ
- Valores de VSG y PCR normales
- Ausencia de uveítis activa según los criterios SUN (*Standardization of Uveitis Nomenclature*)
- La valoración médica debe ser la mínima posible, indicando ausencia de enfermedad activa

El paciente debe cumplir todos los criterios arriba mencionados para considerar que la AIJ está inactiva.

Remisión clínica. Se considera remisión clínica, el estado de enfermedad inactiva mantenido durante más de 6 meses [113]. Este estado puede existir siguiendo un tratamiento (remisión clínica con medicación) o sin tratamiento (remisión clínica sin medicación).

Estado de mínima enfermedad. Para definir el estado de mínima enfermedad en la AIJ se realizó un estudio en pacientes con AIJ en el que se analizaron numerosas variables, todas las incluidas en el *core set* más otras variables clínicas, de laboratorio y de funcionalidad que se consideraron relevantes en la AIJ [115]. Tras realizar un extenso análisis estadístico sobre datos procedentes de 1.080 visitas clínicas realizadas en 414 pacientes, se definieron unos sencillos criterios que establecían el estado de

mínima enfermedad en AIJ. Los criterios fueron diferentes para las formas oligoarticulares que para las formas poliarticulares de AIJ, tal y como se indica en la siguiente tabla.

Tabla 2. Estado de mínima enfermedad en la artritis idiopática juvenil.

Variables	AIJ Oligoarticular	AIJ Poliarticular
Valoración global del médico	≤2,5	≤ 3,4
Valoración global de los padres del paciente	---	≤ 2,1
Número de articulaciones tumefactas	0	≤ 1

Para que un paciente con AIJ sea clasificado en el estado de “mínima enfermedad” debe cumplir todos los criterios según su subtipo de AIJ simultáneamente. Además de estos criterios, en el caso de pacientes con AIJ sistémica no deben presentar fiebre, eritema evanescente, serositis, esplenomegalia ni linfadenopatías atribuibles a la AIJ.

Estado de alta actividad. Estos criterios fueron definidos con el objetivo de aplicarlos para obtener puntos de corte en un índice de actividad de la AIJ [116]. Se consideraron como pacientes con un estado de alta actividad de la enfermedad diferenciando según fueran formas oligo o poliarticulares. En la Oligoartritis debía haberse administrado al menos una infiltración articular de glucocorticoesteroides, empezar tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad o con biológicos. En la Poliartitis, para cumplir con los criterios debía haberse administrado al menos 3 infiltraciones intraarticulares de glucocorticoesteroides, iniciar un fármaco modificador de la enfermedad, un fármaco biológico o tratamiento con glucocorticoesteroides sistémicos.

Estado de moderada actividad. Correspondería a aquellos pacientes que no cumplan criterios de mínima enfermedad ni de alta actividad de la enfermedad.

Índices JADAS (*Juvenile Arthritis Disease Activity Score*)

La situación clínica en la que se encuentra un paciente con AIJ puede determinarse mediante los diferentes criterios expuestos anteriormente y mediante índices compuestos. La tendencia actual, es utilizar índices compuestos en la evaluación de los pacientes. Los índices JADAS, que fueron desarrollados para determinar cuál es el estado de actividad de la AIJ, han sido recientemente validados [117]. El índice JADAS incluye los datos procedentes de las siguientes variables:

- Valoración de la actividad global según el médico (VASm)
- Valoración de la actividad global según el paciente/padres del paciente (VASp)
- Número de articulaciones con enfermedad activa (dolorosas y/o tumefactas)
- Velocidad de sedimentación globular (VSG)

Los más utilizados son los índices: JADAS 10, JADAS 27 y JADAS 71. Cada uno de ellos se diferencia del otro por el número de articulaciones que consideran. El JADAS 10 tiene en cuenta cualquier articulación que pueda estar afectada, independientemente de su localización, hasta un máximo de 10 articulaciones. El JADAS 27 incluye las 27 articulaciones siguientes: columna cervical, codos, muñecas, articulaciones 1ª, 2ª y 3ª metacarpofalángicas de ambas manos, interfalángicas proximales, caderas, rodillas y tobillos. El JADAS 71 incluye 71 articulaciones, lo cual implica todas las articulaciones posibles.

Estos índices han sido validados [117-119] y se ha demostrado una excelente correlación entre ellos, es decir, que se podría utilizar cualquiera de los índices JADAS 10, 27 y 71 para evaluar la actividad en cualquiera de las 7 categorías de AIJ [119]. Además, la correlación de los índices JADAS con las variables clínicas que pueden informar sobre el estado de actividad de la AIJ demostró ser de moderada a buena para todos ellos [119].

El cálculo del índice JADAS es sencillo ya que se trata de una suma aritmética de sus cuatro componentes. Los posibles valores del VAS del médico y del paciente son del 0 al 10 y se suman directamente. El número de articulaciones afectadas se suma también directamente siendo los posibles valores del 0 al 10 en el JADAS 10, del 0 al 27 en el JADAS 27 y del 0 al 71 en JADAS 71. El valor de la VSG se normaliza en una escala que va del 0 al 10. Por lo tanto, con el cálculo de los índices JADAS obtenemos los siguientes posibles rangos de resultados y de sus valores, todos ellos resumidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Composición y rangos teóricos de los índices JADAS.

Variables	JADAS 71	JADAS 27	JADAS 10
Valoración global del médico	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm
Valoración global del padre/paciente	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm
Número de articulaciones activas	Simple, 0-71 articulaciones	Simple, 0-27 articulaciones	Simple, 0-10 articulaciones
Reactantes de fase aguda	VSG normalizada (0-10)	VSG normalizada (0-10)	VSG normalizada (0-10)
Rango del índice	0-101	0-57	0-40

El JADAS es un índice que ha demostrado tener una buena capacidad metrológica [117, 119] [118] y ha demostrado una buena correlación entre los índices ACR pediátrico 30, 50 y 70, además de una elevada correlación con los cambios en el estado clínico del paciente [117]. Según el valor del JADAS pueden establecerse puntos de corte que se correlacionan con los estados de inactividad, de remisión y de mínima actividad de la enfermedad en la AIJ, aunque estos puntos de corte se modifican según el subtipo de AIJ [118].

Tabla 4. Puntos de corte del índice JADAS para los estados de inactividad, remisión y mínima enfermedad en la artritis idiopática juvenil.

Estado de la enfermedad	AIJ	AIJ Oligoarticular	AIJ Poliarticular
Inactiva	1	1	1
Remisión según el médico	2	2	2
Remisión según el padre del paciente	2,3	2,3	2,3
Remisión según el paciente	2,2	2,2	2,2
Mínima enfermedad	---	2	3,8

En el año 2014 se propusieron también los puntos de corte para el estado de alta actividad inflamatoria de la AIJ, diferenciando entre los pacientes con afectación oligo y poliarticular [120].

Tabla 5. Puntos de corte del índice JADAS para el estado de alta actividad de la artritis idiopática juvenil.

Índices JADAS	AIJ Oligoarticular	AIJ Poliarticular
JADAS 10	4,2	10,5
JADAS 27	4,2	8,5
JADAS 71	4,2	10,5

Recientemente se ha desarrollado un nuevo índice de actividad en la AIJ, el *Clinical Juvenil Idiopathic Arthritis Disease Activity Score* o *clinical JADAS*, también conocido como JADAS3 o cJADAS [119]. Se le ha denominado *clinical JADAS* o cJADAS por tratarse de un índice fundamentalmente clínico. El cJADAS se desarrolla por analogía con la evolución de los índices de actividad de la AR, en los que el considerar sólo variables clínicas, sin los reactantes de fase aguda, hacía que fueran igualmente válidos y a la vez más aplicables en la consulta de rutina [119].

El cJADAS consiste en una simplificación del JADAS original, sin los reactantes de fase aguda entre las variables a considerar. Por lo tanto, en el cJADAS se consideran las siguientes variables clínicas:

- Valoración de la actividad global según el médico (VASm)
- Valoración de la actividad global según el paciente/padres del paciente (VASp)
- Número de articulaciones con enfermedad activa (dolorosas y/o tumefactas)

Existen a su vez, tres distintos tipos de índices cJADAS en función del número de articulaciones que se consideren, de igual modo que sucede en el índice JADAS original. Los 3 índices son el cJADAS-71, el cJADAS-27 y el cJADAS-10. Su cálculo es muy sencillo, es la suma aritmética de las variables. El rango de valores de cada índice y de cada variable se resume a continuación.

Tabla 6. Composición y rangos teóricos de los índices cJADAS.

Variables	cJADAS-71	cJADAS-27	cJADAS-10
Valoración global del médico	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm
Valoración global del padre/paciente	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm	EVA 0-10 cm
Número de articulaciones activas	Simple, 0-71 articulaciones	Simple, 0-27 articulaciones	Simple, 0-10 articulaciones
Rango del índice	0-91	0-47	0-30

El índice cJADAS presenta una muy buena correlación con el índice JADAS original [119]. Recientemente se han definido los puntos de corte de este cJADAS para los distintos estados de actividad de la AIJ aplicando para ellos el cJADAS sobre 10 articulaciones, que lo encontramos en la literatura científica bajo nombres como cJADAS 10 [121]. Estos puntos de corte se explican a continuación.

Tabla 7. Puntos de corte del índice cJADAS-10 para el estado de actividad en la artritis idiopática juvenil.

Subtipo de AIJ	Estado de actividad de la enfermedad	Puntos de corte
Oligoarticular	Enfermedad inactiva	≤1
	Estado de mínima enfermedad	≤1,5
	Estado de actividad moderada	1,5-4
	Estado de alta actividad	>4
Poliarticular	Enfermedad inactiva	≤1
	Estado de mínima enfermedad	≤2,5
	Estado de actividad moderada	2,51-8,5
	Estado de alta actividad	>8,5

Posteriormente a la validación del JADAS clínico y del JADAS que utiliza la VSG como reactante de fase aguda se desarrolló y validó un nuevo índice JADAS: el JADAS PCR, un índice que considera también 4 variables, igual que el JADAS convencional, pero cambiando la VSG por la PCR [122]. Para su cálculo se suman las variables VAS del médico, VAS del paciente/padres del paciente, el número de articulaciones activas y la PCR. El valor de la PCR se normaliza en una escala que va del 0 al 10.

El índice JADAS PCR también se puede calcular sobre 10, 27 y 71 articulaciones, obteniendo el mismo rango de valores que en el JADAS VSG. Este índice de JADAS PCR presentó una buena correlación con el JADAS VSG indicando que ambos índices podían ser apropiados como herramientas para evaluar la actividad inflamatoria en la AIJ. Además, se observó una asociación con otras medidas de actividad y de respuesta al tratamiento en todas las categorías de AIJ.

1.5.3. Evaluación de la actividad ocular

La evaluación de la afectación ocular en la AIJ debe ser realizada por un médico especialista en oftalmología pediátrica. Para una correcta valoración oftalmológica se exploran los dos ojos mediante las siguientes técnicas:

- **Exploración de la agudeza visual.** Según la edad del niño pueden emplearse diferentes test. En niños menores de 2 años se utiliza el test de Teller, en niños de 2 a 4 años el test de Pigassou y en los mayores de 4 años el test de Snellen.
- **Exploración de la cámara anterior del ojo.** Es la exploración de mayor relevancia para evaluar el grado de inflamación ocular en la uveítis crónica anterior. Se realiza mediante una lámpara de hendidura y en ella se cuantifican la presencia de células (mediante el efecto *Tyndall*) y la presencia de proteínas (mediante la turbidez o *flare* del humor acuoso) en función de los criterios del grupo SUN [90]. El efecto *Tyndall* evalúa la presencia de células en la cámara anterior, y según el número de células se gradúa la actividad en una escala de 0, 0,5, 1, 2, 3 y 4, en la que 0 es la mejor clasificación posible y 4 la de más actividad inflamatoria con mayor número de células presentes. El *flare* evalúa la presencia de proteínas en la cámara anterior evaluando la turbieza y se gradúa en una escala de 0, 1, 2, 3, y 4, siendo 0 la ausencia de turbieza en el humor acuoso y 4 la turbieza de mayor intensidad.
- **Exploración del polo posterior del ojo** mediante la realización del fondo de ojo.
- **Medición de la presión intraocular.**
- **Tomografía de coherencia óptica** (conocida por sus siglas en inglés como OCT).

Como ya se ha comentado previamente, habitualmente la uveítis en estos pacientes cursa de forma asintomática o silente, por lo que es preciso que los pacientes sigan controles periódicos. Con estos controles se pretende detectar la inflamación ocular de forma precoz, con el fin de evitar secuelas que podrían condicionar una pérdida de la agudeza visual irreversible. Existen unas recomendaciones para

realizar la exploración oftalmológica de rutina en la AIJ [89]. Se recomienda realizar exploraciones oculares periódicas cada 3, 6 y 12 meses, en función del subtipo de AIJ, la edad de inicio y el tiempo de evolución de la enfermedad. En el caso de producirse un brote de uveítis, los controles se estrecharán con el fin de controlar la evolución y de ajustar la pauta de tratamiento tópico administrada.

1.5.4. Evaluación de la respuesta al tratamiento

A medida que ha aumentado el número de tratamientos disponibles para la AIJ y que ha mejorado la eficacia de los mismos, también se ha hecho más necesario poder cuantificar el cambio en la actividad de la AIJ. Hasta el año 1.997 no se disponía de criterios uniformes ni de unas variables estandarizadas para evaluar la respuesta terapéutica en la AIJ. Por lo tanto, hasta ese momento era difícil comparar la eficacia de los tratamientos, porque los clínicos decidían qué elementos empleaban para considerar la mejoría de una manera arbitraria, no estandarizada. En 1997 se desarrollaron las variables del *core set pediátrico* y los criterios del *American College of Rheumatology Pediatric 30* (Tabla 8). El ACR pediátrico 30 fue la primera definición uniforme de mejoría clínica y que podía emplearse en los ensayos clínicos [123]. Las 6 variables de respuesta de la AIJ incluidas en el *core set* son las siguientes: VAS del médico, VAS del paciente/padres del paciente, número de articulaciones con artritis activa, número de articulaciones limitadas, VSG y el estado de actividad funcional del niño empleando el cuestionario C-HAQ (*Childhood Health Assessment Questionnaire*). Para presentar una mejoría clínica en la AIJ cumpliendo el ACR pediátrico 30, un paciente debía presentar una mejoría de al menos un 30% respecto a la basal en un mínimo de 3 de las 6 variables del *core set* sin que ninguna de las variables restantes empeorara más de un 30% [123, 124].

Tabla 8. Componentes del *core set* pediátrico y respuesta ACR pediátrica 30.

-
1. Valoración global del médico
 2. Valoración global del paciente/padres del paciente del estado de su enfermedad
 3. Habilidad funcional
 4. Número de articulaciones con artritis activa
 5. Número de articulaciones con limitación en su movimiento
 6. Velocidad de sedimentación globular
-

Respuesta ACR pediátrica 30: Corresponde a un mínimo de mejoría del 30% respecto al basal de por lo menos 3 de los 6 componentes, sin que no más de uno de los elementos restantes empeore más de un 30%.

Aunque no han sido formalmente validados, para evaluar la respuesta clínica en AIJ en los ensayos clínicos también se han empleado otros índices ACR pediátricos: el ACR pediátrico 20, 50, 70 y 90. Todos ellos se definen como una mejoría de un 20%, 50%, 70% o 90%, respectivamente, en al menos 3 de las 6 variables del *core set*, y que no más de una de las restantes variables empeore más de un 30% [125].

Actualmente, además de seguir utilizando las variables del *core set* y los índices de respuesta ACR pediátricos, disponemos del índice JADAS comentado previamente [117]. Este índice validado ha demostrado una buena capacidad metrológica para relacionar sus valores con el estado de actividad de la enfermedad y con la respuesta clínica [126-128]. Además, discrimina adecuadamente entre los índices de respuesta ACR Pediátricos 30, 50 y 70.

1.5.5. Evaluación de la capacidad funcional

La evaluación de la capacidad funcional de los pacientes con AIJ habitualmente se realiza mediante el cuestionario CHAQ [129]. Este cuestionario consiste en una serie de preguntas agrupadas en 8 ámbitos de la vida diaria (p.ej. vestirse, caminar). De cada pregunta se obtiene una puntuación en función del grado de dificultad que tenga el paciente para realizar las actividades (ninguna, alguna, mucha, imposible de realizar o no procede) y para cada ámbito se escoge la de mayor puntuación. Posteriormente se corrige la puntuación en función de si el paciente necesita utensilios o ayudas externas para realizar sus actividades. El total de puntos obtenido se divide entre 8. El rango del CHAQ es de mínimo 0 (ninguna limitación) y máximo 3 (totalmente limitado).

Es el cuestionario más utilizado porque es específico para esta enfermedad y ha demostrado ser una herramienta válida, realizable, sensible al cambio a lo largo del tiempo y con un mejor perfil general que otros cuestionarios [130]. Todo y así, con la mejoría de los nuevos tratamientos en la AIJ los pacientes cada vez presentan menos secuelas y por lo tanto un menor detrimento de su capacidad funcional debido a la enfermedad por lo que, en el futuro, será necesario seguramente desarrollar nuevos cuestionarios que se adapten mejor a esta nueva realidad.

El CHAQ ha sido validado al español [131] y al español en concreto para ser aplicado en España (en castellano) [132] mostrando en ambos casos una buena validez, reproductibilidad y factibilidad, así como una buena sensibilidad a los cambios.

1.6. TRATAMIENTO

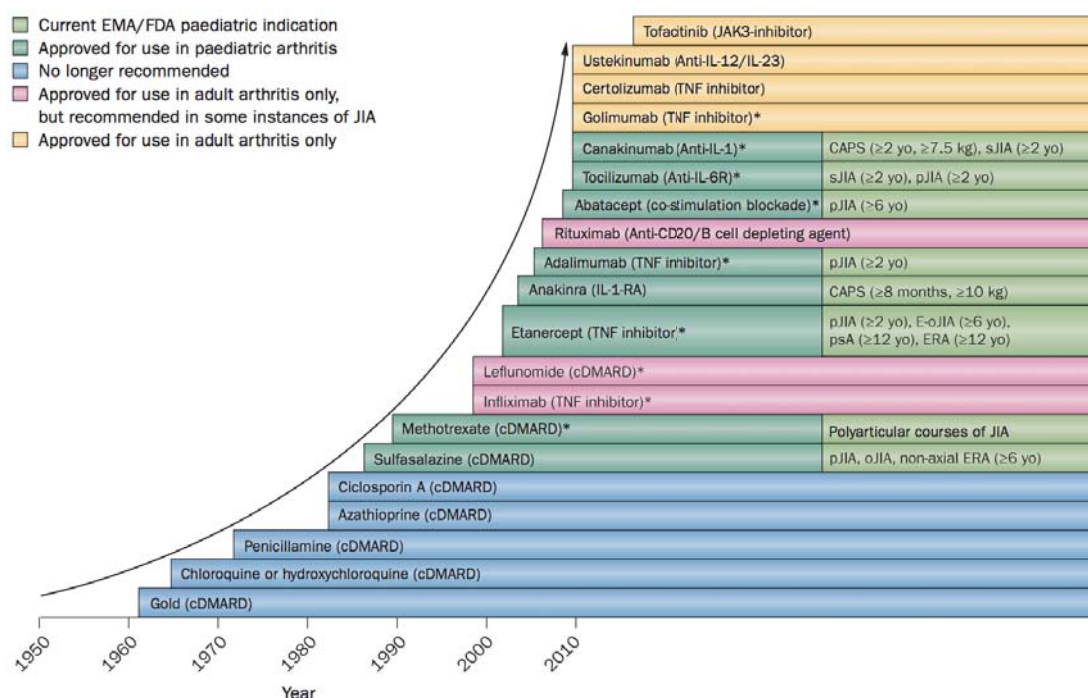
El tratamiento de los pacientes con AIJ exige un manejo multidisciplinar de los mismos. Se requiere la implicación de múltiples especialistas como, por ejemplo, los pediatras, el reumatólogo, el oftalmólogo, el traumatólogo, el rehabilitador e incluso el psicólogo pediátrico. Lo ideal es que el equipo médico presente una buena comunicación entre sus miembros para tomar decisiones clínicas consensuadas, así como una buena comunicación con el entorno familiar y escolar del paciente para mejorar el manejo del niño. Para llegar al éxito en el tratamiento del paciente deben abarcarse todos los aspectos de la enfermedad tanto en el plano físico, como mental y sociofamiliar.

Al diagnosticar a un paciente de AIJ, que *a priori* es una enfermedad crónica, establecemos distintos objetivos de tratamiento. Por un lado, a corto plazo, el objetivo es el control de la actividad inflamatoria (articular y ocular), para mejorar el dolor, conservar la función articular y prevenir las secuelas. A largo plazo, el objetivo será alcanzar la remisión clínica sostenida, minimizando los efectos adversos de los medicamentos empleados y promover el desarrollo normal del niño en todas las esferas de su vida.

1.6.1. Tratamiento farmacológico

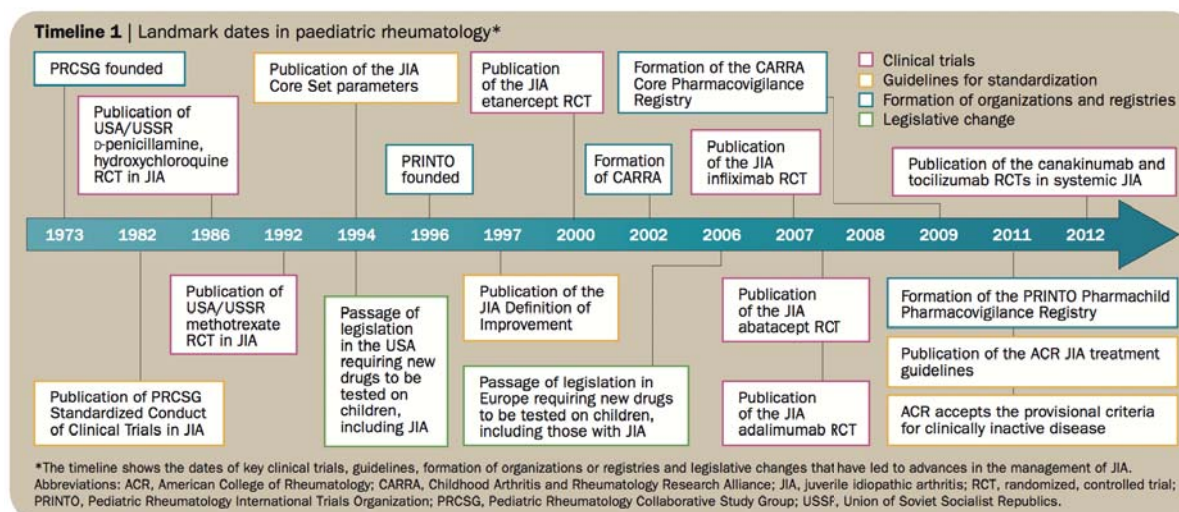
En la AIJ el número de fármacos de los que disponemos para tratar la AIJ ha crecido de forma exponencial en las últimas décadas [133].

Figura 1. Fármacos aprobados o utilizados en ensayos clínicos en pacientes con artritis idiopática juvenil.



Extraído de [133]. * Terapias testadas en ensayos clínicos pediátricos de alta calidad. CAPS, síndromes autoinflamatorios asociados a la criopirina; cDMARD, fármacos modificadores de la enfermedad no biológicos; EMA, Agencia Europea del Medicamento; E-oJIA, artritis idiopática juvenil oligoarticular extendida; ERA, artritis idiopática juvenil relacionada con entesitis; IL1RA, receptor antagonista de la IL1; JIA, artritis idiopática juvenil; pJIA, artritis idiopática juvenil poliarticular; psA, artritis psoriásica; sJIA, artritis idiopática juvenil sistémica; TNFi, inhibidor del TNF; yo, años de edad.

Uno de los motivos por el que actualmente disponemos de un mayor número de fármacos aprobados para la AIJ, son los cambios que se realizaron en la legislación de los ensayos clínicos en pacientes pediátricos, aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y la *Food and Drug Administration* (FDA) [133, 134]. Estos cambios propiciaron que se pudieran realizar ensayos clínicos en niños, lo cual permitió la aprobación de las terapias con indicaciones pediátricas. Por otro lado, se han desarrollado nuevos diseños más eficientes de ensayos clínicos, que minimizan el tiempo de exposición al placebo [134]. La introducción de los fármacos biológicos también supuso una revolución en el manejo y en el pronóstico de los pacientes con enfermedades reumáticas. Los sucesos más relevantes que han permitido avanzar en el conocimiento de la AIJ y en la aplicación de nuevas terapias se esquematizan en la Figura 2.

Figura 2. Evolución temporal del manejo de los pacientes con artritis idiopática juvenil.

Extraído de [134].

En el tratamiento de la AIJ disponemos de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), de glucocorticoesteroides, de fármacos modificadores de la enfermedad (FAMEs) y de fármacos biológicos [135]. Dado que la AIJ es una enfermedad muy heterogénea, la respuesta de los niños a los fármacos también es heterogénea y depende del subtipo de AIJ [136].

En la actualidad, se considera imprescindible el empleo precoz de fármacos que sean eficaces para controlar la actividad inflamatoria al inicio de la enfermedad, con el fin de evitar el daño crónico y la discapacidad funcional. Se ha sugerido incluso que en la AIJ existiría una “ventana de oportunidad terapéutica” al comienzo de la enfermedad que podría ser determinante para su evolución a largo plazo [137]. Es más, algunos estudios sugieren que el tiempo que pasa desde el diagnóstico de la AIJ hasta la introducción del tratamiento con FAME podría influir en la eficacia del mismo [138]. En un estudio prospectivo sobre 125 pacientes con AIJ, que fueron seguidos durante 5 años y en los que se iniciaba tratamiento con el MTX, se observó que los pacientes que conseguían una respuesta ACR pediátrica 70 en los 6 primeros meses tenían mejor pronóstico a largo plazo [139]. En otro estudio multicéntrico, aleatorizado y controlado que comparaba el uso del MTX con el de la Leflunomida (LFN) en 94 pacientes con AIJ, obtuvieron tasas de respuesta con ambos FAMEs superiores a las esperadas [140]. Se atribuyó esta mayor tasa de respuesta clínica al inicio precoz del tratamiento. En la AIJ, cada tratamiento debe aplicarse de manera individualizada. La intensidad en el inicio del mismo debe considerarse teniendo en cuenta el grado de actividad inflamatoria de la enfermedad y las características propias del paciente como, por ejemplo, la existencia de factores de mal pronóstico.

1.6.1.1. Tratamiento con AINEs y glucocorticoesteroides

Los AINEs y los glucocorticoesteroides fueron los primeros fármacos en utilizarse como tratamiento de las artritis crónicas de la infancia. Actualmente, se acepta que pueden ser útiles como tratamiento en las primeras semanas desde el diagnóstico de la AIJ, mientras se completa el diagnóstico diferencial, como tratamiento adicional hasta que actúen otros fármacos o como tratamiento coadyuvante en caso de recaída de la enfermedad [135].

Los **AINEs** tienen un efecto antipirético y analgésico rápido y durante mucho tiempo supusieron el tratamiento principal en la AIJ [136]. Actualmente, las nuevas recomendaciones dan menos importancia al uso de los AINEs puesto que interesa obtener un rápido control de la enfermedad para mejorar el pronóstico a largo plazo. Si la AIJ sigue activa después de más de 2 meses en tratamiento con AINEs, es recomendable discontinuarlos y subir un escalón terapéutico [135].

Los **glucocorticoesteroides**, han sido la piedra angular del tratamiento de la AIJ durante mucho tiempo [136]. Pueden administrarse de forma tópica, intraarticulares o de forma sistémica por vía oral o endovenosa. Son potentes antiinflamatorios, pero no se ha demostrado que modifiquen el curso de la enfermedad. Como la mayor parte de los fármacos, no están exentos de efectos adversos a corto y largo plazo. Las recomendaciones actuales no se posicionan claramente con respecto al uso de glucocorticoesteroides orales en la AIJ [135]. Aunque los nuevos tratamientos han conseguido disminuir su uso, en un registro reciente de 2.748 pacientes con AIJ se observó que entre un 3-22% de los pacientes recibían tratamiento con glucocorticoesteroides orales y entre un 21 y un 83% de ellos había recibido en algún momento un régimen terapéutico vía oral [141]. Los porcentajes se modificaban en función del subtipo de AIJ.

1.6.1.2. Tratamiento con FAMES

En las guías de práctica clínica de referencia se consideran varios de los FAMES como posibles alternativas de tratamiento en diferentes subtipos de AIJ, entre los que se cita el MTX, la LFN, la ciclosporina y la sulfasalazina [135]. El MTX y la LFN son los fármacos presentes en la mayor parte de las recomendaciones actuales y su uso está muy extendido en la práctica clínica habitual [135].

El **Metotrexato (MTX)** es un antagonista del folato que además afecta a otras vías metabólicas como la de las purinas y las pirimidinas, inhibe reacciones de transmetilación y promueve la liberación de la adenosina, lo cual le confiere un perfil de acción antiinflamatorio [142]. A pesar de ello, los mecanismos por los cuales las dosis bajas de MTX modulan la actividad inflamatoria en la AIJ y en otras artritis crónicas no ha sido todavía dilucidado. Administrar suplementos de folato a pacientes con artritis en tratamiento con MTX, disminuye la toxicidad del fármaco, pero no su efecto terapéutico. Este hecho sugiere que la vía del folato no es la directamente implicada en la eficacia del mismo [143].

El MTX es el FAME más aceptado y el que globalmente ha demostrado un mejor perfil de seguridad y eficacia en la AIJ. Corresponde a la primera línea de tratamiento de base en esta enfermedad [142]. Su eficacia fue demostrada en un ensayo clínico, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego controlado con placebo que estableció la base del uso de MTX en la AIJ. Este estudio fue realizado durante 6 meses en niños con AIJ (n=127), que presentaban artritis activa en al menos tres articulaciones a pesar del uso de AINES, glucocorticoides y/o fármacos de segunda línea [144]. Posteriormente, otro ensayo clínico multicéntrico, doble ciego, controlado con placebo corroboraba la eficacia del MTX en pacientes con AIJ oligoarticular extendida [145]. Los estudios sobre la eficacia del MTX para el tratamiento de la uveítis asociada a AIJ son básicamente retrospectivos y llevados a cabo en series de pocos pacientes, pero sugieren que el MTX es un tratamiento efectivo en esta complicación, tanto para disminuir el grado de actividad inflamatoria ocular, como para reducir el riesgo de recaídas [146-149].

Las dosis de inicio y de mantenimiento del MTX para el tratamiento de la AIJ también han sido estudiadas. Se ha demostrado que las dosis altas o muy altas de MTX al inicio del tratamiento, se relacionan con mayor número de efectos adversos pero no con una mayor eficacia [150]. Pautar dosis elevadas de MTX en niños con mala respuesta al MTX en monoterapia, tampoco supone una mejor respuesta terapéutica [151]. Actualmente, para el tratamiento de la AIJ, el MTX se administra a dosis de entre 10-15 mg/m² semana por vía subcutánea o bien por vía oral.

El MTX ha demostrado tener un buen perfil de seguridad en la AIJ [152]. En un estudio retrospectivo sobre 588 pacientes con AIJ tratados con MTX, se comprobó que era un fármaco seguro que causaba alteraciones analíticas con poca frecuencia. La elevación de las transaminasas dos veces por encima del valor de la normalidad fue poco frecuente y las alteraciones hematológicas y en la función renal fueron anecdóticas [153]. Por biopsia hepática, en 34 pacientes con AIJ, se observó que la hepatotoxicidad tras el uso prolongado de MTX a dosis bajas era leve y además reversible [154]. El

efecto adverso que los niños tratados con MTX sufren con mayor frecuencia es la intolerancia gastrointestinal, especialmente las náuseas. La presencia de náuseas en estos niños sigue un patrón de condicionamiento clásico, siendo en algunos casos incluso anticipatorias [155]. Presentan signos y/o síntomas de intolerancia gastrointestinal el 44,5% de los pacientes con MTX oral y el 67,5% de los pacientes con MTX parenteral [155].

La **Leflunomida (LFN)** es un inhibidor de la síntesis de pirimidinas que impide la síntesis *de novo* de nucleótidos inhibiendo a la enzima dihidroorotato deshidrogenasa. La LFN está incluida en las recomendaciones de práctica clínica como un posible tratamiento en la AIJ [135]. A pesar de esto, su uso en la AIJ todavía no dispone de aprobación oficial. En un estudio retrospectivo (n=58) [156] y en otro longitudinal (n=27) [157] se sugería que la LFN es un fármaco seguro y efectivo en el tratamiento de la AIJ, tanto a corto como a largo plazo. Este perfil de eficacia y seguridad se demostró posteriormente en un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, controlado (n=97) en el que se comparaba el perfil de eficacia y seguridad de la LFN con el MTX [140]. Los pacientes participantes, todos ellos afectados de AIJ poliarticular, fueron agrupados aleatoriamente en 2 grupos: un grupo recibió LFN (n=47) y el otro recibió MTX (n=47). Se concluyó que ambos fármacos tenían un perfil de seguridad similar y también que eran muy eficaces para el tratamiento de la AIJ poliarticular, tanto a las 16 como a las 48 semanas. Aunque los dos demostraron ser eficaces, el perfil de eficacia del MTX fue ligeramente superior al de la LFN.

La LFN también es un fármaco activo en el tratamiento de la uveítis asociada a AIJ. Varios estudios realizados sobre ratas de Lewis, sugerían que la LFN era un fármaco eficaz en el tratamiento de las uveítis autoinmunes [158-160]. Existen actualmente dos trabajos de investigación retrospectivos en los que se analiza la efectividad de la LFN en el tratamiento de la uveítis asociada a AIJ. En uno de ellos (n=13), la LFN mostró un perfil de eficacia similar al que se había descrito para el MTX, sugiriendo que es una alternativa eficaz en estos pacientes [91]. En el otro (n=15) aunque mostró ser eficaz, la tasa de brotes de uveítis crónica anterior en los pacientes, que estaban en tratamiento con LFN, fue superior que en los pacientes en tratamiento con MTX [161], sugiriendo que es un fármaco menos activo para tratar esta manifestación de la AIJ.

La **Ciclosporina A (CsA)** es un péptido no ribosomal cíclico de 11 aminoácidos. Es un inhibidor de la calcineurina, con capacidad inmunosupresora por su acción sobre los linfocitos T, inhibiendo la síntesis de citoquinas proinflamatorias como la IL-2. La Ciclosporina A es un fármaco que durante años ha sido

ampliamente usado en el tratamiento de la AR del adulto, tanto en monoterapia como en terapia combinada con MTX [162, 163]. Actualmente, el uso de los fármacos biológicos ha desplazado a un segundo plano el uso de esta terapia y de sus posibles combinaciones. En la AIJ la Ciclosporina demostró un perfil de eficacia inferior al del MTX, con un perfil de seguridad similar [164]. Las guías no recomiendan su uso en los pacientes con artritis sin síntomas sistémicos, aunque sigue teniendo un lugar en el tratamiento de la AIJ sistémica y del SAM [135, 165].

La **Sulfasalazina (SSZ)** pertenece al grupo de las sulfonamidas y es un derivado de la mesalazina (ácido 5-aminosalicílico). La SSZ ha sido utilizada en pediatría tanto para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal pediátrica, como para el tratamiento de la AIJ [166]. En la AIJ sistémica, han sido reportados casos clínicos de efectos adversos graves durante el tratamiento con la SSZ [167]. Sin embargo, en la AIJ oligoarticular, poliarticular y asociada a entesitis la SSZ puede ser una opción de tratamiento seguro y eficaz [166]. La terapia con SSZ en la AIJ es eficaz a largo plazo [168]. En las guías de práctica clínica, se recomienda su uso en pacientes con AIJ ARE activa que no hubieran respondido a terapia con AINES [135].

La **Hidroxicloroquina (HCQ)** es un fármaco que pertenece al grupo de los fármacos antimaláricos. Es un fármaco ampliamente utilizado como tratamiento del lupus eritematoso sistémico. Había sido utilizado en la AIJ en el pasado, aunque actualmente, con la introducción de los nuevos FAMES biológicos y no biológicos, su uso ha quedado reducido a casos muy concretos. No existe evidencia de que su uso en monoterapia sea beneficioso como tratamiento de la AIJ, de hecho, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, realizado en 160 niños con AIJ, no se demostró mayor beneficio en los pacientes tratados con HCQ que el obtenido con los AINES [169].

Otros fármacos, como la penicilamina y las sales de oro, se habían utilizado en el pasado como tratamiento de la AIJ, aunque en los ensayos clínicos se demostró que aportaban un escaso beneficio con respecto a placebo [169-171]. Otros fármacos, como el tacrólimus [172], el micofenolato y la azatioprina [173], han demostrado ser eficaces para mejorar la actividad inflamatoria en la AIJ en casos aislados y en algunos estudios no aleatorizados. Aunque en algunos pacientes seleccionados, estos fármacos podrían ser alternativas farmacológicas, su perfil de seguridad y de eficacia es inferior al del MTX.

1.6.1.3. Tratamiento con fármacos biológicos

En caso de falta de respuesta a los FAMES, según las guías actuales, el siguiente paso en el tratamiento de los pacientes con AIJ serían los fármacos biológicos. Estos fármacos han mejorado muy notablemente el pronóstico de los pacientes con artritis crónicas de la infancia y del adulto [134]. Son fármacos con dianas biológicas más específicas que los FAMES, porque bloquean de forma selectiva algunas moléculas implicadas en la fisiopatología de la enfermedad. Son fármacos eficaces y seguros a corto y medio plazo, pero no están exentos de efectos adversos, desconocemos sus efectos a muy largo plazo e implican un alto coste y una compleja monitorización. Con el objetivo de conocer mejor la seguridad de estas terapias a largo plazo, se están llevando a cabo registros de farmacovigilancia nacionales e internacionales (p.ej. *Pharmachild*). Por el momento, el perfil de seguridad de estos fármacos en la AIJ ha sido muy favorable [174], demostrando algunos de ellos que son seguros incluso en niños muy pequeños (de entre 2 y 4 años) [175].

Dentro de los fármacos biológicos, los fármacos anti-tumor necrosis factor alpha (anti-TNF α o inhibidores del TNF α) son los más utilizados en el tratamiento de los pacientes con AIJ refractarios al tratamiento convencional. Los anti-TNF α más frecuentemente utilizados son el Etanercept (ETN) y el Adalimumab (ADA). Ambos tienen un perfil de eficacia, tolerabilidad y de seguridad similar para los distintos subtipos de AIJ no sistémica [176]. Los anti-TNF α han demostrado ser eficaces en la AIJ Poliarticular (nivel evidencia B) [135]. Las actuales guías de práctica clínica también recomiendan su uso en la AIJ Oligoarticular resistente a los fármacos modificadores de la enfermedad (nivel de evidencia C) y en la AIJ relacionada con entesitis si presentan sacroileítis sin respuesta a los AINEs (nivel de evidencia C). Los pacientes con la forma sistémica de AIJ no presentan una buena respuesta a los fármacos anti-TNF α [177], siendo más eficaces otras terapias como los fármacos anti-IL1 o anti-IL-6 [178]. A continuación, se presentan los principales fármacos biológicos utilizados actualmente.

El **Etanercept (ETN)** pertenece al grupo de los fármacos anti-TNF α . Es una proteína de fusión que impide la unión del TNF α a sus receptores de superficie celular, inhibiendo así la actividad biológica del mismo (Figura 3). Se administra por vía subcutánea a dosis de 0,8 mg/kg una vez a la semana o bien de 0,4 mg/kg/2 veces por semana. Etanercept (ETN) fue el primer fármaco biológico estudiado y aprobado para el tratamiento de la AIJ. El primer ensayo clínico en población pediátrica con AIJ ya permitió la aprobación del fármaco. Se trataba de un estudio multicéntrico, aleatorizado y con un diseño experimental muy eficiente, que permitió minimizar el número de pacientes necesarios en el

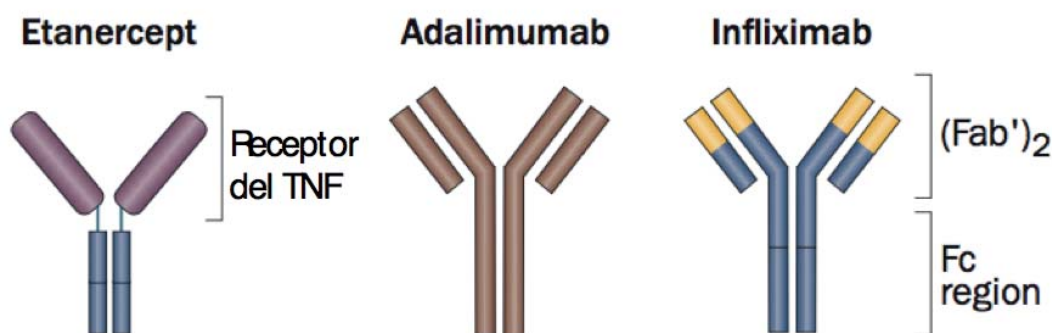
estudio (n=69) y el tiempo de exposición al fármaco y al placebo [179]. Era un diseño experimental dividido en dos fases: una primera de ensayo abierto en la que todos los pacientes recibieron ETN durante 3 meses; una segunda fase de estudio doble ciego, controlado con placebo, de 4 meses de duración. En el estudio de extensión, los pacientes recibieron el ETN ininterrumpidamente durante más de 8 años y fue un fármaco seguro y eficaz en ese tiempo [180]. Posteriormente, se demostró que el ETN tenía un buen perfil de seguridad y de eficacia no sólo en el subtipo de AIJ poliarticular, sino también en la oligoarticular, la psoriásica y la ARE [181].

El **Adalimumab (ADA)** también pertenece al grupo de los fármacos anti-TNF α . Es un anticuerpo monoclonal humano recombinante que se une específicamente al TNF α (tanto al unido a la membrana celular como al soluble) neutralizando así su función biológica (Figura 3). Se administra por vía subcutánea a dosis de 24 mg/m² cada 2 semanas (hasta un máximo de 40 mg) en los pacientes con edades comprendidas entre los 4 y los 12 años. Por encima de los 12 años se administran 40 mg cada 2 semanas, independientemente de la superficie corporal. El ensayo clínico realizado en niños con AIJ poliarticular demostró que Adalimumab (ADA) era un fármaco seguro y eficaz y con él se consiguió la aprobación de uso en la AIJ. Se trató de un ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, estratificado según el uso/fallo a MTX, y con un diseño dividido en dos fases: una fase abierta de 16 semanas, en las cuales ADA fue administrado a todos los pacientes (n=171), y una segunda fase de 32 semanas con diseño doble ciego, controlado con placebo (n=133) [182]. El ADA demostró ser eficaz y seguro tanto en monoterapia como en terapia combinada con MTX. A pesar de ello, las tasas de respuesta fueron mejores, el número de recaídas menor y el número de efectos adversos mayor cuando se pautó el ADA en combinación al MTX [182]. El ADA también ha demostrado ser un fármaco eficaz en el tratamiento de la uveítis asociada a AIJ [183].

El **Infliximab (IFX)** también pertenece al grupo de los fármacos anti-TNF α . Es un anticuerpo monoclonal quimérico (humano y murino), que se une con una alta afinidad tanto a la forma soluble como a la forma transmembrana del TNF α , inhibiendo así su actividad funcional (Figura 3). Se administra por vía intravenosa a dosis de 3-6 mg/kg a la semana 0, 2 y 6 y posteriormente cada 8 semanas. El IFX resultó ser un fármaco efectivo en un estudio en AIJ (n=24), prospectivo, no aleatorizado, en el que todos los pacientes estuvieron en tratamiento con IFX o con ETN [184]. Posteriormente se realizó un ensayo clínico internacional, multicéntrico, aleatorizado, controlado con placebo y doble ciego (n=122) [185]. En este estudio IFX no consiguió ser aprobado como tratamiento para la AIJ, porque no demostró una eficacia significativa con respecto al placebo. Probablemente, el diseño de este estudio, la duración de

las distintas fases, las dosis utilizadas de IFX y la distinta farmacocinética entre niños y adultos fueron los factores que determinaron no alcanzar el objetivo de eficacia [134]. Posteriormente, en el estudio de extensión a 4 años, la tasa de abandonos fue muy alta, por lo que, a pesar de observar un buen perfil de seguridad y eficacia, estos datos deberían confirmarse [186]. El IFX se ha utilizado con éxito en pacientes con uveítis crónica anterior relacionada con AIJ refractarios a otros tratamientos [187].

Figura 3. Estructura molecular de los tres fármacos anti-TNF α más frecuentemente utilizados en el tratamiento en las artritis crónicas inflamatorias.



Adaptado de [188]. Fab', *fragment antigen-binding*, fracción variable de reconocimiento de antígeno; Fc, fracción cristalizante (constante). El Etanercept es una proteína de fusión del dominio extracelular soluble del receptor 2 del TNF humano (TNFR2/p75), unido al dominio Fc de la IgG1 humana. El Adalimumab es un anticuerpo monoclonal IgG1 completamente humano. El Infliximab es un anticuerpo monoclonal IgG1 humano-murino quimérico; está constituido por el Fab' de origen murino constituido por 2 cadenas dirigidas contra el TNF α y una Fc humana.

El **Abatacept (ABA)** es una proteína de fusión que inhibe selectivamente la señal coestimuladora necesaria para la activación de los linfocitos T que expresan CD28. La dosis recomendada para pacientes de entre 6 y 17 años de edad que pesen menos de 75 kg es de 10 mg/kg, en cada administración. En pacientes pediátricos que pesen 75 kg o más, se debe administrar siguiendo el régimen posológico del adulto, sin exceder la dosis máxima de 1.000 mg (entre 60 y 100 kg: 750 mg, por encima de 100 kg: 1.000 mg). El ABA se administra en la semana 0, 2 y 4 y a partir de entonces, cada 4 semanas. Puede administrarse por vía subcutánea o en perfusión endovenosa. El ABA demostró ser una alternativa de tratamiento seguro y eficaz, en un estudio multicéntrico, doble ciego y aleatorizado en pacientes con AIJ refractarios al tratamiento con FAMEs o con anti-TNF α (n=190) [189]. En la fase de extensión de este estudio, se confirmó el buen perfil de seguridad y se mantuvo o incluso mejoró el de eficacia [190]. También hay datos que indican que es un fármaco seguro y eficaz en el tratamiento de la uveítis asociada a AIJ, administrado tanto en primera línea como en pacientes refractarios a otros biológicos [191]. Su uso está aprobado para el tratamiento de los pacientes con AIJ poliarticular.

El **Tocilizumab (TCZ)** es un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado que se dirige tanto al receptor soluble como al de membrana de la IL-6. Con ello impide la unión de la IL-6 a sus receptores, bloqueando así su acción biológica. La dosis administrada en niños con AIJ varía en función del peso: en menores de 30 kg se administran 12 mg/kg (en la AIJ sistémica) o 10 mg/kg (en la AIJ poliarticular) y a partir de los 30 kg se administran 8 mg/kg. Actualmente está disponible la formulación intravenosa y la subcutánea. El TCZ ha demostrado un buen perfil de seguridad y de eficacia, tanto en el tratamiento de la AIJ sistémica [192, 193] como en el tratamiento de la AIJ poliarticular [194, 195]. El TCZ también es una opción eficaz como tratamiento de la uveítis asociada a AIJ [191], en especial en las formas graves de uveítis refractarias a otros tratamientos [196]. Su uso está aprobado para el tratamiento de los pacientes con AIJ poliarticular y AIJ sistémica.

El **Rituximab (RTX)** es un anticuerpo monoclonal IgG1 quimérico murino y humano, que se une específicamente al antígeno CD20, que se expresa en los linfocitos B. El RTX no dispone de indicación aprobada para el tratamiento de la AIJ. En un estudio realizado en pacientes con AIJ sistémica y AIJ poliarticular (n=55) refractarios a IFX, el RTX resultó ser un fármaco eficaz en ambos grupos de pacientes [197]. Las tasas de respuesta clínica mejoraban progresivamente en los ciclos sucesivos, alcanzo un 98% de los pacientes la remisión clínica, en la semana 96 (tras el cuarto ciclo). También se han presentado datos que sugieren que el RTX podría ser una alternativa eficaz, a corto y largo plazo, en la uveítis asociada a AIJ refractaria a fármacos biológicos y no biológicos [198, 199].

Los antagonistas de la Interleucina 1 (IL-1) han demostrado ser fármacos eficaces en el tratamiento de la AIJ sistémica, debido a su particular etiopatogenia [62]. Sin embargo, la eficacia de los antagonistas de la IL-1 en las formas de AIJ no sistémica es limitada. El **Anakinra (ANK)** es un polipéptido recombinante, que neutraliza la actividad biológica de la IL-1 α alfa e IL-1 β al inhibir por mecanismos competitivos su unión al receptor de tipo I de la IL-1 (IL-1RI). Se administra por vía subcutánea a dosis de 1-2 mg/kg/día, con una dosis máxima de 100 mg diarios. ANK es un fármaco seguro y eficaz en el tratamiento de la AIJ sistémica [200]. En el tratamiento de la AIJ poliarticular es seguro, aunque su perfil de eficacia es inferior al observado con otras terapias biológicas [201]. El **Canakinumab (CNK)** es un anticuerpo monoclonal completamente humano anti IL-1 β del isotipo IgG1/ κ . CNK se une con alta afinidad específicamente a la IL-1 β humana y neutraliza su actividad biológica mediante el bloqueo de la interacción con los receptores IL-1. La dosis recomendada es de 4 mg/Kg si el peso es superior a 7,5 kg. Se administra cada ocho semanas mediante inyección subcutánea. El CNK es un fármaco efectivo

en el tratamiento de la AIJ sistémica con afectación extraarticular activa [202]. No existen datos acerca de la eficacia de este fármaco en formas no sistémicas de AIJ.

1.6.1.4. Recomendaciones de tratamiento

El tratamiento en la AIJ debe establecerse definiendo la situación basal y los objetivos que se pretenden alcanzar. El tratamiento se decide de manera individualizada, teniendo en cuenta el grado de actividad inflamatoria de la enfermedad y las características propias del paciente en cuestión como, por ejemplo, el subtipo de AIJ al que pertenezca y la existencia de factores de mal pronóstico, antes de decidir una estrategia terapéutica concreta [133].

A pesar de ello, se han desarrollado recomendaciones y guías de práctica clínica con el objetivo de homogeneizar, estandarizar y facilitar, el tratamiento de los pacientes con AIJ, especialmente entre médicos que no son reumatólogos pediátricos y que en algunos casos asumen el cuidado de estos pacientes [133]. Entre las recomendaciones existentes actualmente, podríamos considerar a las de ACR, basadas en la evidencia y publicadas en el año 2.011, como el principal referente de la práctica clínica para el tratamiento de los pacientes con AIJ [135].

En estas recomendaciones se divide a los pacientes en función del número de articulaciones inflamadas y de la presencia de síntomas sistémicos y se propone una pauta de tratamiento escalonada [135]. La terapia se intensificaría progresivamente hasta conseguir una buena respuesta clínica. Por ejemplo, en un paciente sin factores de mal pronóstico ni síntomas sistémicos, que presentase una artritis de 4 o menos articulaciones, se iniciaría el tratamiento con AINES, seguido de infiltraciones intraarticulares con glucocorticoesteroides, seguidas del MTX y, por último, del tratamiento anti-TNF α .

1.6.2. Tratamiento no farmacológico

No existen estudios controlados en los que se investigue la relevancia del tratamiento no farmacológico en el manejo de la AIJ, aunque sí existen documentos de consenso con recomendaciones procedentes de sociedades científicas, como por ejemplo el documento de la sociedad alemana de reumatología pediátrica [203].

En general, se recomienda que este tratamiento se proporcione a los pacientes de forma individualizada, en función de sus necesidades, de las características de su enfermedad y del estado de actividad de la AIJ [133]. Los pacientes con AIJ requieren una perspectiva multidisciplinar y, para establecer un programa de tratamiento no farmacológico, es necesaria la participación de fisioterapeutas especializados, médicos rehabilitadores, psicólogos y enfermería especializada [204].

Las bases del tratamiento no farmacológico se centrarían en el ejercicio físico, el control del dolor y en el abordaje de problemas psicológicos, familiares o psicosociales que pueden ir asociados a un proceso de enfermedad crónica como es la AIJ [133].

La fisioterapia puede realizarse con distintos objetivos: relajación y mejoría del control del dolor; para rehabilitar alguna articulación cuyo movimiento haya quedado limitado a consecuencia de la artritis; para prevenir contracturas musculares; para mejorar la fuerza muscular, especialmente cuando haya atrofia por desuso; para prevenir contracturas musculares; y para mejorar la flexibilidad y el entrenamiento de movimientos fisiológicos [203]. El ejercicio físico, tanto activo como pasivo, estaría recomendado en los pacientes con AIJ, aunque teniendo en cuenta el estado de actividad de la AIJ y las articulaciones afectadas. Se recomienda la práctica de deportes que supongan el menor traumatismo posible sobre la articulación [203].

1.7. PRONÓSTICO

La AIJ es una enfermedad crónica, cuyo pronóstico ha ido mejorando en los últimos años a consecuencia del mejor conocimiento de la enfermedad, del mejor acceso a los especialistas en reumatología pediátrica y de la introducción de nuevas terapias. La expresividad clínica al inicio de la AIJ, el tiempo de retraso hasta el diagnóstico, el género, la edad de inicio y el subgrupo de AIJ al que pertenece cada paciente determinaría, al menos en parte, el pronóstico del mismo [205, 206]. La afectación temprana de la articulación de la cadera, del carpo, y la presencia de una artritis simétrica serían factores de mal pronóstico [205].

La AIJ no es una enfermedad benigna, un 30% de los niños presentaría una actividad clínica elevada tras un año desde el diagnóstico [207] y una proporción significativa de pacientes desarrolla daño articular irreversible y continua presentando una enfermedad activa en la edad adulta [17, 208]. El esqueleto de los niños está en crecimiento, con lo que la presencia de inflamación local y sistémica

condiciona un mayor riesgo de desarrollar secuelas físicas a corto y largo plazo [209]. Las deformidades articulares, como consecuencia de la artritis, las alteraciones en el crecimiento de los pacientes en corticoterapia prolongada, la discrepancia en la longitud de las extremidades y micrognatia aún se observan en algunos pacientes [209]. Está descrito que las alteraciones en la morfología del individuo estarían presentes a largo plazo en más del 50% de los pacientes con AIJ [210].

El tratamiento que reciben estos pacientes influye en su pronóstico. Las tasas de remisión clínica que se consiguen actualmente en la AIJ, son más altas que las de hace 15-20 años [211]. Algunos datos indican que la introducción temprana del tratamiento con FAMEs, sintéticos o biológicos, aumentaría las posibilidades de alcanzar la remisión terapéutica de forma temprana, y mejoraría el pronóstico de la uveítis asociada a AIJ [212], por ello la importancia de la rápida derivación al especialista [137]. Los agentes biológicos previenen la progresión radiológica y han mejorado el pronóstico [213, 214]. Los pacientes con AIJ ya en edad adulta, que fueron tratados antes de la “era de los biológicos”, refieren un grado de dolor e incapacidad significativamente superior a los controles sanos coetáneos [215, 216]. Sin embargo, en los pacientes con AIJ adultos tratados en la “era de los biológicos” las tasas de inactividad clínica son altas y la calidad de vida es equiparable a la población general [217]. A pesar de esto refieren dolor con más frecuencia que la población control.

La imagen en la AIJ puede ayudar a evaluar el pronóstico de los pacientes. La presencia de daño estructural, identificado mediante radiografía en el primer año desde el inicio de la enfermedad, determinaría un mal pronóstico en los pacientes con AIJ [205]. Se ha observado una disminución del espacio articular y erosiones, incluso en las primeras etapas de la enfermedad [214]. La valoración del daño estructural es distinta según el subtipo de AIJ. En la AIJ poliarticular se detecta más frecuentemente daño en carpos y en articulaciones interfalángicas proximales y distales que otros subgrupos [218, 219]. La forma de AIJ oligoarticular extendida es el subtipo de AIJ de curso poliarticular que presentaría erosiones en manos con menor frecuencia. Sin embargo, la presencia de estrechamiento del espacio articular es equiparable entre subgrupos [218]. El 7% de los pacientes con AIJ psoriásica desarrollan erosiones radiológicas [45].

Los subgrupos de AIJ nos orientan a diferenciar el posible pronóstico de los pacientes, pero no de una forma definitiva. A grandes rasgos, las categorías AIJS y AIJ poliarticular serían las de peor pronóstico [220]. El género masculino y una mayor edad al inicio se correlacionan con un mejor pronóstico en las

AIJ poliarticulares [206]. A continuación, se comenta el pronóstico de los pacientes con AIJ según el subtipo al que pertenezcan:

- **AIJ oligoarticular:** serían los de mejor pronóstico, con tasas de remisión a los 10 años que varían entre el 23 y el 47%, siempre que no hayan presentado uveítis [17, 209].
- **AIJ psoriásica:** se ha objetivado que a largo plazo el 55% de ellos estaba en remisión clínica sin tratamiento y un 65% cumplía criterios de enfermedad inactiva [14, 45]. A muy largo plazo, el 33% precisa recibir tratamiento inmunosupresor con FAMES y/o anti-TNF α [45].
- **AIJ poliarticular FR positivo:** es una de las AIJ de peor pronóstico. Sólo el 5% alcanza la remisión sin tratamiento, aunque el 65% alcanza la remisión clínica con tratamiento [221]. Hasta el 90% de los pacientes presentarán actividad clínica en la tercera y la cuarta décadas de la vida y sólo un 6% estarán en remisión a los 10 años tras el inicio de la enfermedad [222].
- **AIJ poliarticular FR negativo:** se asocia a discapacidad con mayor frecuencia que las formas oligoarticulares. Un 64% de los pacientes presentan actividad clínica a pesar del tratamiento [223, 224]. Entre los años 70 y 90, sólo un 25% de los pacientes alcanzaba la remisión clínica antes de los 16 años de edad [206]. Actualmente, hasta el 60% de los pacientes alcanza la remisión clínica en los dos primeros años, y un 38,5% presenta un curso clínico “benigno” [224].
- **AIJ ARE:** pronóstico variable, a largo plazo más favorable que en la AIJ poliarticular [210]. La afectación de la cadera, el tobillo, el antecedente familiar de Espondiloartritis y el curso poliarticular, condicionan un mal pronóstico en estos pacientes [225]. Tienen más riesgo de desarrollar una enfermedad inflamatoria intestinal (EII), debido al alelo *HLA-B27* y a las alteraciones en la microbiota. La incidencia de EII en estos pacientes no se conoce, pero se han demostrado alteraciones intestinales subclínicas en este tipo de AIJ compatibles con EII [226].
- **AIJ sistémica:** engloba a pacientes con un pronóstico muy diferente. La mitad presentan uno o pocos brotes de enfermedad, sucedidos por largos períodos de remisión [209]. En ocasiones, los síntomas sistémicos se controlan, pero la artritis persiste y puede ser muy destructiva [227]. Los pacientes con una forma grave de esta enfermedad son los de peor pronóstico porque pueden presentar el SAM, que se ha asociado a una mortalidad del 8,1% [101].
- **AIJ indiferenciada:** es un subgrupo muy heterogéneo y es muy difícil establecer el pronóstico de estos pacientes.

En resumen, el pronóstico de la AIJ es muy variable, estando determinado por las características propias del individuo y de la enfermedad, y por la evolución y las decisiones terapéuticas tomadas en las fases iniciales de la enfermedad.

2. IMAGEN EN LA ARTRITIS IDIOPÁTICA JUVENIL

Las técnicas de imagen han experimentado grandes avances técnicos en los últimos años lo que nos permite obtener imágenes de mayor calidad. Cada una de ellas presenta unas características y aplicaciones propias. En Reumatología Pediátrica se puede considerar que las pruebas de imagen son muy útiles durante el proceso diagnóstico, de monitorización de los pacientes y para la evaluación del daño tisular a corto y a largo plazo.

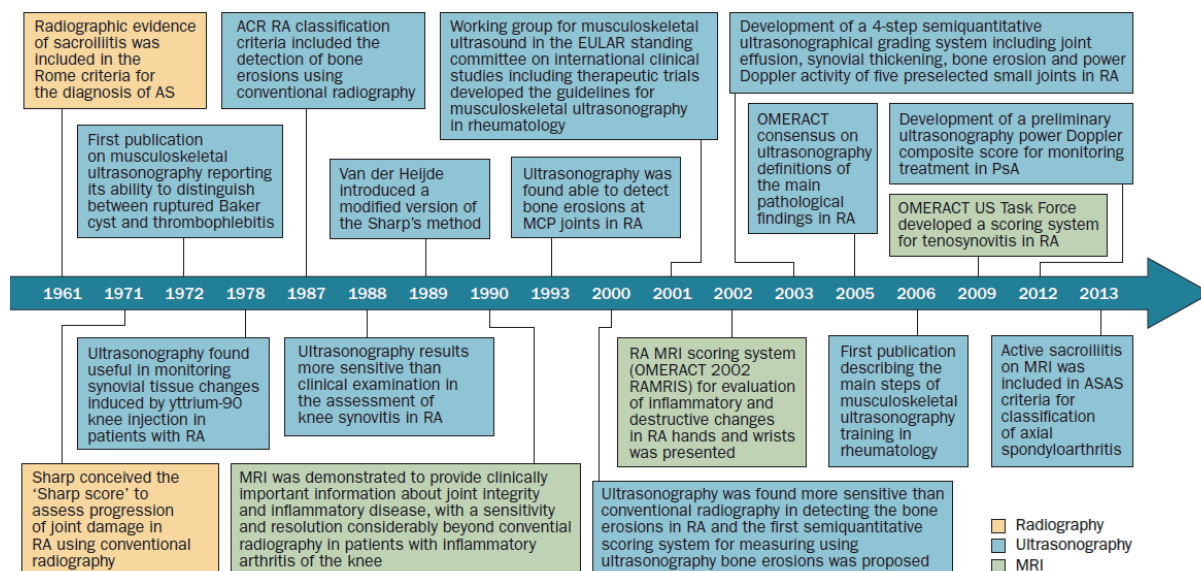
El papel que deben tener las distintas técnicas de imagen en la AIJ todavía es un tema de debate en la comunidad científica [228, 229]. La afectación articular en la AIJ se caracteriza por ser un proceso inflamatorio que afecta a la membrana sinovial y a los tejidos periarticulares y que se asocia a neovascularización. La proliferación del tejido sinovial y el infiltrado de células inflamatorias, conllevan un aumento en la secreción de líquido sinovial y a la formación del llamado *pannus* sinovial. Las técnicas de imagen en AIJ son de especial importancia para [230]:

- Realizar el diagnóstico diferencial con otras entidades
- Confirmar los hallazgos clínicos durante el proceso diagnóstico
- Evaluar la gravedad
- Determinar el pronóstico
- Monitorizar la evolución y la respuesta al tratamiento
- Evaluar posibles secuelas asociadas a la inflamación persistente o a los efectos adversos farmacológicos

El potencial de los distintos estudios de imagen en AIJ aún no ha sido completamente dilucidado. A pesar de ello, existen recomendaciones que se comentarán más adelante, que exponen el campo en el que probablemente tendrán una mayor utilidad cada una de las pruebas. El avance continuo de las técnicas de imagen y las peculiaridades propias del esqueleto los niños, son dos hechos que dificultan el establecer la utilidad real de las distintas técnicas. El esqueleto en crecimiento presenta cambios continuos en el grosor del cartílago articular y una osificación incompleta. En la AIJ, puede producirse un hipercrecimiento óseo de las articulaciones afectadas debido a la inflamación continuada. Todas estas características hacen que los resultados observados en estudios, realizados en poblaciones de pacientes adultos con distintas formas de artritis crónicas, no sean completamente extrapolables a la población pediátrica con AIJ

Históricamente, en el estudio de las artritis inflamatorias crónicas, el proceso de sinovitis se evaluaba clínicamente y la radiología simple era el principal soporte de imagen. Mediante la radiografía sólo se observaban hallazgos inespecíficos, aunque permitía la valoración de la estructura ósea y de los cambios crónicos secundarios [231]. Actualmente, el uso de técnicas como la resonancia magnética nuclear y la ecografía está cada vez más extendido. El motivo es que han demostrado ser herramientas cada vez más útiles para el diagnóstico, la monitorización de la respuesta al tratamiento y la valoración del estado de actividad clínica del paciente afectado de una artritis crónica inflamatoria [231]. El desarrollo en las últimas décadas de índices de evaluación del daño estructural y de la actividad inflamatoria, mediante las distintas técnicas de imagen, también ha ayudado a una mejor monitorización y valoración de los pacientes.

Figura 4. Evolución de los avances en imagen en el estudio de las artritis crónicas inflamatorias.



Extraído de [232]. AS, espondilitis anquilosante; ASAS, *Assessment of SpondyloArthritis International Society* (grupo de estudio internacional de la espondiloartritis); MCP, articulación metacarpofalángica; MRI, resonancia magnética nuclear; OMERACT, *outcome measures in Rheumatology*; PsA, artritis psoriásica; RA, artritis reumatoide; RAMRIS, *rheumatoid arthritis MRI scoring system* (índice de evaluación de la mano en la artritis reumatoide mediante RMN).

En los estudios por imagen del niño con AIJ, nos encontramos con las mismas incógnitas que en los estudios de adultos y, además, con la dificultad añadida de estar estudiando un esqueleto en crecimiento. Son pocas las técnicas de imagen en las que la normalidad del esqueleto de los niños en las distintas edades ha sido bien definida. Por ejemplo, la RMN es una técnica de gran potencial en el diagnóstico de la AIJ debido al detalle que ofrece de las imágenes anatómicas. A pesar de esto, la RMN en el estudio de la AIJ presenta importantes limitaciones, como es el desconocimiento de las imágenes normales en el niño, la falta de homogeneidad en la metodología en los estudios en AIJ y los problemas de reproducibilidad [16]. En la ecografía, la falta de consenso sobre la imagen de "normalidad" en las

articulaciones del niño en las distintas edades y la mayor vascularización del cartílago, debido al crecimiento, también dificultan la interpretación de los resultados. El grosor del cartílago articular normal en la edad pediátrica tampoco ha sido estandarizado, por RMN ni por ecografía, lo cual dificulta aún más su valoración en la AIJ [16]. Aunque está ampliamente aceptado y demostrado que tanto la ecografía como la RMN ofrecen ventajas significativas, respecto a la radiografía simple, su uso en la práctica clínica todavía es limitado por múltiples razones [232].

El valor real, las limitaciones y el papel que desempeñarán en un futuro en la AIJ las distintas técnicas de imagen todavía debe ser determinado en estudios traslacionales, que integren el conocimiento inmunológico, genético, clínico y radiológico en estos pacientes.

2.1. RECOMENDACIONES PARA EL USO DE LA IMAGEN EN LAS ARTRITIS CRÓNICAS

Existen numerosas evidencias científicas que apoyan el uso de la imagen en las estrategias de tratamiento de las artritis inflamatorias crónicas. La imagen sería un factor más que ayudaría a optimizar los resultados obtenidos con el tratamiento. La monitorización de los pacientes mediante imagen, en especial mediante la RMN y la ecografía, podría ser de utilidad clínica [233]. Por ejemplo, en pacientes en remisión clínica se ha demostrado que existe un porcentaje de los mismos que mantienen actividad subclínica y esto podría aumentar la probabilidad de que desarrollen daño estructural [234, 235]. Debido a las múltiples cuestiones sin resolver, y a la creciente evidencia científica, se han publicado en los últimos años varias recomendaciones. Son recomendaciones respecto al uso de las técnicas de imagen en el estudio de las artritis inflamatorias crónicas y que, además, clarifican las cuestiones a las que hay que dar respuesta de forma prioritaria [233].

En el año 2013, EULAR publicó sus recomendaciones con respecto al uso de la imagen en el estudio de las articulaciones para optimizar el manejo clínico de la AR (Tabla 9) [236]. Las recomendaciones están basadas en datos de estudios de imagen que, principalmente, se habían focalizado en las articulaciones de las manos (carpos, metacarpofalángicas e interfalángicas proximales). Existen muy pocos estudios que hagan referencia a qué o en cuántas articulaciones, conviene realizar las exploraciones de imagen.

Tabla 9. Recomendaciones EULAR 2013 en artritis reumatoide: descripción y nivel de evidencia.

	Recomendación	Nivel de Evidencia*
1	Cuando exista una duda diagnóstica podrá realizarse una Rx, ecografía o RMN para mejorar la certeza en el diagnóstico de AR sobre los criterios clínicos solos **	III
2	La inflamación detectada por ecografía o RMN puede ser usada para predecir la progresión de una artritis inflamatoria indiferenciada y una AR	III
3	La ecografía y la RMN son superiores a la exploración clínica para detectar inflamación articular; estas técnicas deben ser consideradas para una valoración más precisa de la inflamación	III
4	La Rx de las manos y de los pies deben ser utilizadas como técnicas de imagen iniciales para la detección del daño. Sin embargo, la ecografía y/o la RMN pueden ser consideradas si en las Rx no se observa daño y podrían emplearse para detectar daño en un estadio más inicial	IV
5	El edema óseo de la RMN es un potente predictor independiente de progresión radiográfica en AR reciente y debe ser considerado como un indicador de pronóstico. La inflamación articular (sinovitis) detectada por RMN o ecografía, así como el daño articular detectado por Rx, RMN o ecografía, pueden considerarse predictores de daño articular	III
6	La inflamación detectada por imagen puede ser más predictiva de la respuesta terapéutica que las características clínicas de actividad de la enfermedad; la imagen puede utilizarse para predecir la respuesta al tratamiento	III-IV
7	Dado que tanto la RMN como la ecografía detectan la inflamación mejor que la exploración clínica, podrían ser útiles para monitorizar la actividad de la enfermedad	III
8	La evaluación periódica del daño articular, habitualmente mediante Rx de manos y pies, debe ser considerada. La RMN (y posiblemente la ecografía) detectan más los cambios del daño articular y pueden ser utilizados para monitorizar la progresión de la enfermedad	III
9	En todos los pacientes con sospecha clínica de afectación cervical se debe monitorizar la inestabilidad funcional de la columna cervical mediante Rx laterales obtenidas en flexión y en posición neutra. Cuando la Rx es positiva o cuando haya manifestaciones neurológicas específicas debe realizarse una RMN	III
10	La RMN y la ecografía pueden detectar inflamación que predice el daño articular incluso cuando existe remisión clínica y pueden usarse para valorar la presencia de inflamación persistente	III

Extraído de [236]. AR, artritis reumatoide; Rx, radiología convencional; RMN, resonancia magnética nuclear. * Categorías de evidencia: III evidencia de estudios descriptivos no experimentales, como los estudios comparativos, los de correlación y los de caso control; IV evidencia de informes de comités de expertos, opiniones o experiencia clínica de autoridades respetables. ** En pacientes con al menos una articulación tumefacta con sinovitis clínica definitiva, que no pueda ser explicada por ninguna otra enfermedad.

El mismo panel de expertos que formuló las recomendaciones EULAR 2013, consideró que existían una serie de cuestiones sobre las que conviene investigar de forma prioritaria [236]:

- Evaluar en profundidad qué articulaciones específicas deben ser valoradas, el tiempo entre exploraciones y el sistema de evaluación que debe utilizarse para optimizar el papel de las modalidades de imagen en el diagnóstico, pronóstico y en las medidas de resultado de la AR

- Evaluar algoritmos, utilizando técnicas de imagen para examinar el coste-beneficio en la práctica clínica en el diagnóstico, pronóstico y en las medidas de resultado de la AR
- Comprender la importancia de la inflamación subclínica (detectada sólo por imagen), incluyendo la sinovitis, el edema óseo y la tendosinovitis, sobretodo en los estados de baja actividad de la enfermedad y definir puntos clave para guiar las intervenciones terapéuticas
- Evaluar en profundidad la importancia de la imagen, en particular de la RMN y la ecografía, en la evaluación del daño, incluyendo la disminución del espacio articular y la pérdida de cartílago
- Evaluar la viabilidad, costes y el entrenamiento adecuado que se requieran para usar la ecografía y la RMN en la práctica clínica

Las presentes recomendaciones y las cuestiones que plantean, ponen de manifiesto que, incluso en los adultos, todavía quedan muchas dudas por resolver en cuanto al papel de las técnicas de imagen. Por ejemplo, todavía se desconoce si seguir una estrategia de tratamiento más agresiva, basada en los hallazgos por imagen, proporcionaría un mejor control de la enfermedad y una menor progresión del daño estructural que una estrategia de tratamiento *treat-to-target* basada en una rápida escalada de los fármacos guiada por las medidas de respuesta clínica [234]. El primer ensayo clínico en AR, que tiene como objetivo responder a esta cuestión, se denominó *IMAGINE-RA*, un estudio danés cuyo protocolo fue publicado en el año 2015 [237]. Existen actualmente otros ensayos clínicos aleatorizados abiertos que intentan responder si utilizar la ecografía o la RMN para definir la respuesta clínica, mejorar el control clínico y la evolución de estos pacientes [233].

En el año 2015 se desarrollaron las recomendaciones sobre la utilización de las técnicas de imagen para el diagnóstico y manejo de la AIJ en práctica clínica [238]. Estas recomendaciones surgieron como consecuencia del esfuerzo colaborativo realizado por miembros de EULAR y de PRES (*Pediatric Rheumatology European Society*). Cada una de las recomendaciones fueron denominadas “puntos a considerar”, porque el panel de expertos consideró que no existía evidencia científica suficiente en sujetos pediátricos, como para llamarlas recomendaciones. Se originaron con el objetivo de dar respuesta a preguntas clave, en cuanto al papel de la imagen en la AIJ. Para cada una de las cuestiones se realizó una búsqueda sistemática en la literatura, que fue posteriormente discutida por los miembros expertos constituyentes del grupo de trabajo. Los puntos se dividieron en bloques, según hicieran referencia al papel de la imagen en:

- el diagnóstico de la AIJ;
- la detección de la inflamación y del daño estructural;

- la predicción de la evolución y de la respuesta al tratamiento;
- el uso de tratamiento guiado;
- la monitorización de la progresión de la enfermedad y de la remisión.

Tabla 10. Puntos a considerar EULAR-PRES 2015, descripción y nivel de evidencia.

Puntos a considerar	Nivel de Evidencia*	Grado de recomendación*
1 Ecografía y RMN son superiores a la exploración clínica para evaluar la inflamación articular; deben considerarse para una detección más precisa en el diagnóstico y para evaluar la extensión de la afectación articular	3b	C
2 Cuando exista una duda diagnóstica puede realizarse una Rx, ecografía o RMN para mejorar la certeza en el diagnóstico de AIJ sobre los criterios clínicos solos	3b	C
3 Si es necesario detectar anomalías estructurales o daño puede usarse la Rx. La ecografía o la RMN pueden utilizarse para detectar el daño más inicial	3b	C
4 En la AIJ la imagen puede ofrecer un mayor beneficio que la evaluación clínica rutinaria cuando se examinan algunas articulaciones, particularmente el uso de la RMN para detectar inflamación axial y de la ATM	3b	C
5 En la AIJ se puede considerar utilizar la imagen como un indicador de pronóstico. El daño en Rx puede utilizarse para predecir más daño articular en el futuro. La inflamación persistente detectada por RMN o ecografía, puede considerarse predictiva de daño articular ulterior	4	C
6 En la AIJ tanto la RMN como la ecografía pueden ser útiles para monitorizar la actividad de la enfermedad dado que son técnicas más sensibles que la exploración clínica y por su buena respuesta. La RMN debe considerarse para monitorizar la afectación axial y de la ATM	3b	C
7 La evaluación periódica del daño articular debe ser considerada. La técnica de imagen utilizada dependerá de la articulación a estudio	3b	C
8 La ecografía puede utilizarse para realizar infiltraciones articulares más precisas	3b	C
9 La RMN y la ecografía pueden detectar inflamación cuando la enfermedad está clínicamente inactiva; esto puede tener implicaciones en la monitorización	3b	C

Adaptado de [238]. ATM, articulación temporomandibular; Rx, radiología convencional; RMN, resonancia magnética nuclear.

* La escala del nivel de evidencia es de 1a – 5; la escala del grado de recomendación es de A – D.

El panel de expertos que formuló las recomendaciones sobre el uso de la imagen en el manejo clínico de la AIJ, consideró que las áreas en las que era prioritario investigar activamente para poder aportar evidencia científica al respecto eran las siguientes [238]:

1. Definir los cambios por imagen que son propios de la edad, incluyendo intervalos específicos de edad, desarrollo de un atlas con imágenes normales con cambios específicos según la edad y un registro con mecanismos para agrupar los datos.
2. Desarrollar sistemas de puntuación validados incluyendo la definición de la patología (p.ej. diferenciando anomalías estructurales reversibles del daño), protocolos de adquisición y de cuantificación de imágenes
3. Definir cuáles son las características de la imagen de los distintos subtipos de AIJ y cuáles son las localizaciones diana que deben ser estudiadas por imagen
4. Dilucidar cuál es el significado clínico de la inflamación subclínica detectada por imagen durante el diagnóstico, la monitorización y la remisión
5. Definir la utilidad de la infiltración guiada por imagen con respecto a las infiltraciones no guiadas por imagen
6. Definir cuál es el valor pronóstico de características de imagen concretas (p.ej. edema óseo)
7. Determinar si la imagen puede utilizarse para evaluar y monitorizar la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, incluyendo el desarrollo del daño estructural
8. Evaluar la viabilidad, costes y el entrenamiento adecuado que se requieran para usar la ecografía y la RMN en AIJ en la práctica clínica

En resumen, los puntos a considerar propuestos para identificar mejor el papel de la imagen en la AIJ son un buen inicio como base de trabajo, pero aún presentan múltiples cuestiones sin resolver. Las más relevantes son: la necesidad de conocer la imagen de la normalidad, con las distintas técnicas en niños según su edad; definir mejor las imágenes patológicas y las variantes de la normalidad en población pediátrica; conocer mejor las particularidades de cada subtipo de AIJ. Tras esto, podrán responderse otras de las cuestiones planteadas y, probablemente, tener más evidencia científica que permita desarrollar recomendaciones en un futuro cercano.

2.2. ESTUDIOS DE IMAGEN EN FUNCIÓN DE LA EDAD DE LOS PACIENTES

Tal y como se ha comentado previamente, la mayor parte de los estudios de imagen realizados en AIJ han sido posteriores a los estudios realizados en adultos con artritis inflamatorias crónicas, sobre todo, en la AR. Aunque los datos obtenidos en los estudios de adultos pueden orientar en los estudios realizados en AIJ, las conclusiones extraídas de los mismos no son, en muchos de los casos, extrapolables.

La AIJ y la AR son entidades distintas, que comparten algunas características en común. Las características más relevantes, comunes entre ambas entidades, son las siguientes [239]:

- El órgano principalmente afectado es la articulación
- Responden al mismo tipo de tratamientos
- En ambos casos puede haber una historia familiar de enfermedades autoinmunes
- Comparten algunas características comunes en la etiopatogenia
- Ambas pueden asociarse con los antígenos HLA
- Los hallazgos fisiopatológicos encontrados en la membrana sinovial de los pacientes con AR son similares a los observados en la AIJ

Por otro lado, ambas entidades presentan diferencias muy destacables como, por ejemplo, la distinta prevalencia (claramente superior en la AR con respecto a la AIJ) y el fenotipo de la enfermedad (la AIJ es una enfermedad más heterogénea que la AR) [239]. El hecho de que la AIJ sea más heterogénea, condiciona que cada uno de los subtipos de AIJ tenga diferentes patrones de afectación de la artritis (p.ej. la AIJ poliarticular generalmente es más destructiva y afecta generalmente a manos y pies) [240].

La diferencia fundamental entre los pacientes con AIJ y los pacientes con AR es la edad. Las diferencias que la edad puede ocasionar en el desarrollo de la artritis se han estudiado en modelos animales. En un modelo animal de ratas *Wistar*, se indujo una artritis colágena a distintas edades: a los 35 días (equivalente a población pediátrica o juveniles) y a los 91 días (equivalente a población adulta joven) [241]. Se observó que las ratas juveniles tardaban más en desarrollar la artritis, presentaban una afectación menos severa y se adaptaban antes a la artritis utilizando la pata en menos días que las adultas desde el inicio de la inflamación. Mediante ecografía y microtomografía computarizada se observó que las ratas adultas presentaban una mayor pérdida de masa ósea, más presencia de lesiones osteolíticas y más proliferación ósea. Sin embargo, las ratas juveniles presentaban un predominio de lesiones proliferativas sobre las estructurales, con menos lesiones osteolíticas que las adultas. Estudios realizados en otros modelos de ratas, y utilizando distintos inductores de artritis, habían observado unas características de la artritis similares entre adultos y los juveniles [242], o bien una afectación mucho más inflamatoria en los juveniles que en los adultos [243].

En cuanto a las técnicas de imagen utilizadas, en el estudio de los pacientes con AR se usan las mismas técnicas de imagen que en el estudio de la AIJ, pero los resultados esperables en ambos grupos de pacientes no son los mismos. El cartílago del niño es más grueso, presenta núcleos de osificación, un

menor tamaño y una mayor vascularización que el adulto. Sólo por estas diferencias las imágenes obtenidas entre niños y adultos son distintas. A estas diferencias hay que sumarles la dificultad añadida de que, en muchos casos, la imagen de la normalidad de las articulaciones en el niño según su edad y desarrollo, y las variaciones de la normalidad, todavía no han sido determinadas.

Por estos motivos, las definiciones de patología, los sistemas de evaluación por imagen y los índices utilizados en adultos, no son precisos ni aplicables en muchas ocasiones a los pacientes pediátricos con AIJ [230].

2.3. RADIOLOGÍA SIMPLE

La radiografía simple es una técnica de imagen sencilla, rápida, de fácil acceso y de bajo coste. En el estudio de pacientes con inflamación articular, la radiografía también permite excluir otras causas de dolor articular, como por ejemplo fracturas, proporciona información sobre el estado basal de la articulación afectada, es una técnica fácilmente disponible y reproducible, validada y económica [230, 231]. Además, en los niños permite evaluar la madurez ósea del paciente.

Como inconvenientes, la radiografía utiliza radiación ionizante, no permite visualizar el cartílago, que es un componente importante en la articulación de los niños [244], y su capacidad para detectar cambios erosivos precoces es muy limitada. De hecho, cuando la radiografía convencional revela cambios estructurales en pacientes con AIJ, a menudo, éstos son tardíos e irreversibles [230]. Por otro lado, debido a la superposición de estructuras, en ocasiones es una técnica de difícil interpretación, que presenta una elevada variabilidad interobservador [245].

En las primeras fases de la AIJ, la radiografía es una técnica poco sensible para evaluar la inflamación aguda, pudiendo ser normal [244]. Los hallazgos radiológicos precoces como el aumento de partes blandas, la osteopenia periarticular, el ensanchamiento epifisario y la periostitis, son inespecíficos y no permiten el diagnóstico temprano de AIJ [246].

En fases más avanzadas de la enfermedad, la radiografía es útil para evaluar discrepancias en la longitud de las extremidades, el crecimiento óseo acelerado y las fusiones fisarias prematuras [231]. La osteopenia puede ser generalizada en casos evolucionados debido en parte al tratamiento prolongado con glucocorticoesteroides, al propio proceso inflamatorio y a la menor actividad física

que, en ocasiones, condiciona la atrofia de la musculatura [240]. La proliferación sinovial persistente puede ser causa de erosiones debido a la lesión de las estructuras cartilaginosas y óseas adyacentes [246]. Las erosiones son menos frecuentes en niños con AIJ que en adultos con AR, probablemente debido a que la mayor cantidad de cartílago epifisario en niños hace que el hueso se afecte más tardíamente, y porque el cartílago inmaduro tiene una mayor vascularización y cierta capacidad de reparación que no presentan los adultos [231].

Aunque otras técnicas de imagen como la RMN y la ecografía han demostrado ser herramientas útiles y sensibles para la evaluación de la actividad inflamatoria articular [218] la radiografía continúa siendo el patrón de referencia para la evaluación del daño articular en la AIJ [229].

En un estudio realizado en pacientes con AIJ sistémica, se observó que la osteopenia y el aumento de partes blandas eran las lesiones más precozmente detectables por radiografía. Además, observaron que la irregularidad subcondral y la esclerosis eran las lesiones que predecían el desarrollo de erosiones [247]. Este estudio era previo a la “era de los biológicos” y, en él, dos tercios de los pacientes con AIJ sistémica presentaban erosiones a los dos años desde el inicio de la enfermedad. Cuando la sinovitis afecta al carpo de estos pacientes, puede observarse una osificación prematura de los huesos del carpo que conllevaría a fijar una edad ósea superior a la real en estos niños [231].

En los pacientes con AIJ, se ha demostrado que las erosiones pueden ser reversibles, sobre todo en los casos en los que se observa una mejor respuesta clínica al tratamiento, es decir, en los que se obtiene un ACR pediátrico 90 [248].

En resumen, a pesar de que la radiografía convencional sigue siendo el patrón de referencia para evaluar el daño de las articulaciones en la AIJ, la capacidad de esta técnica de imagen para detectar cambios inflamatorios o preerosivos es muy limitada. Además, actualmente disponemos de terapias más efectivas en el tratamiento de la AIJ, y su introducción temprana, probablemente prevenga parte del daño articular [240]. Por este motivo, otras técnicas como la ecografía y la RMN, que son más sensibles para detectar lesiones en fases más precoces, son cada vez más utilizadas en el diagnóstico, clasificación y monitorización de estos pacientes [230, 231].

2.4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

La RMN es la técnica de imagen más sensible de la que disponemos hoy en día para detectar la inflamación sinovial, que es la principal alteración a tratar en la AIJ [230]. La alta resolución de las imágenes que pueden obtenerse mediante RMN permiten evaluar la membrana sinovial, el cartílago articular, el cartílago de crecimiento, la médula ósea, el hueso cortical y los tejidos blandos simultáneamente [231].

Entre sus ventajas, destaca que es una técnica que permite obtener imágenes muy detalladas en múltiples planos y, mediante el uso de distintas secuencias, es capaz de detectar las características fisiológicas y las lesiones de las partes blandas con gran detalle [246]. Entre las lesiones de partes blandas, es especialmente sensible para detectar las lesiones inflamatorias, la entesitis y la tendosinovitis [240]. La RMN no requiere el uso de radiaciones ionizantes, con ella puede visualizarse directamente el cartílago articular y es capaz de detectar lesiones incipientes [230, 240]. La RMN es especialmente útil valorando zonas anatómicas que no son accesibles mediante ecografía y/o que son difícilmente evaluables mediante radiografía [249].

Como inconvenientes, el coste y el tiempo de adquisición de imágenes son elevados y para obtener imágenes de buena calidad se precisa que el paciente colabore. Esto último, dificulta la realización de la RMN en los niños más pequeños, en quienes la exploración suele realizarse bajo sedación [246]. Además, pueden producirse reacciones alérgicas y otros efectos adversos al contraste paramagnético. También tiene contraindicaciones en caso de que el paciente lleve algún tipo de implante mecánico. El elevado coste y la menor disponibilidad de la RMN, respecto a otras técnicas de imagen, dificultan un uso sistemático [246]. Habitualmente la evaluación se limita a una única articulación afectada, aunque esto varía en función del centro.

Otra dificultad añadida es que algunas de las lesiones descritas como patológicas (p.ej. erosiones e hipertrofia sinovial) pueden observarse en personas sanas y asintomáticas [250-252]. Por este motivo, las imágenes y las alteraciones observadas por RMN precisan ser interpretadas en el contexto clínico.

En los pacientes con AIJ, mediante la RMN pueden detectarse alteraciones patológicas en distintas estructuras articulares y periarticulares. Los colaboradores del grupo de trabajo EULAR-OMERACT desarrollaron un atlas con imágenes de referencia para estandarizar la identificación y la forma de

graduar la gravedad de las principales lesiones [253]. El tipo de alteraciones inflamatorias que se detectan con mayor frecuencia en las primeras fases de la AIJ son bien conocidas [254]. El contraste con gadolinio aumentaría la sensibilidad de la RMN para detectar cambios inflamatorios en la membrana sinovial de los pacientes con AIJ [254].

La RMN es la técnica que mejor define las características anatómicas de la membrana sinovial, y la más sensible para detectar la presencia de sinovitis y de derrame sinovial. El derrame sinovial se visualiza en la secuencia T1 *weighted* como una imagen homogénea e hipointensa, y en las secuencias T2 *weighted* y en STIR (*Short time inversion recovery*) se visualiza hiperintenso [255]. Mediante la administración de contraste endovenoso con gadolinio, es capaz de detectar el aumento de vascularización de la membrana sinovial con una gran sensibilidad. La secuencia T1 *weighted* con supresión grasa es la que mejor define la sinovitis activa.

La RMN es especialmente útil para evaluar articulaciones difíciles de explorar con otras técnicas, como son la articulación sacroilíaca, la temporomandibular y la subastragalina [230, 246]. En caso de afectación axial, el estudio de imagen mediante RMN presenta importantes ventajas con respecto a otras técnicas de imagen, porque permite visualizar tanto la entesitis como las lesiones vertebrales, el edema óseo y la afectación de las articulaciones sacroilíacas [232]. En las zonas en las que hay entesitis activa, es frecuente observar edema óseo asociado (p.ej. edema óseo en el calcáneo, en relación a entesitis en la inserción del tendón de Aquiles) [255].

La RMN es la única técnica de imagen capaz de detectar el edema óseo, que predice futuras erosiones en pacientes con AR [256]. Sin embargo, conviene tener en cuenta que en ocasiones el edema óseo puede no estar relacionado con la patología del paciente. Un estudio reciente realizado en el año 2016 en personas adultas, sanas y asintomáticas, detectaba edema óseo en el 45,1% de los sujetos [251].

En la AIJ también hay datos que sugieren que el edema óseo podría preceder a las erosiones en estos pacientes [257]. Sin embargo, esta afirmación en niños presenta todavía más limitaciones que en adultos. Los cambios que se producen durante el crecimiento, las variaciones de la normalidad de los niños sanos, y su prevalencia, aún no se conocen completamente. El edema óseo se detecta en un elevado porcentaje de niños sanos (p.ej. 53,6% del carpo de los niños sanos) [258, 259]. Algunos autores han observado que este edema óseo sería indetectable a partir de los 15 años y, por lo tanto,

sugieren que podría corresponder a focos hematopoyéticos residuales [260]. Por lo tanto, durante el crecimiento, es probable que en los niños se observen focos de edema óseo no patológicos.

La RMN es capaz de detectar la actividad subclínica, es decir, detecta la presencia de inflamación en articulaciones clínicamente inactivas. La valoración de la actividad subclínica ayuda a predecir el daño radiológico, y el curso de la enfermedad en los pacientes con artritis crónicas, incluida la AIJ [230]. El interés por detectar la actividad subclínica en estos pacientes surge porque, en la AR, se demostró que hasta el 15% de los pacientes en remisión clínica continuada presentaban erosiones de nueva aparición con el tiempo [261]. Esto sugería que parte de la actividad inflamatoria de la enfermedad, no podía ser detectada por la exploración clínica y se hipotetizó que quizás pudiera ser detectada por imagen. En los pacientes con AIJ de reciente inicio, se ha demostrado que la presencia de actividad inflamatoria subclínica detectada mediante RMN, puede indicar un mayor riesgo de inflamación articular, tanto en la articulación con sinovitis subclínica como en otras articulaciones clínicamente no afectadas [262].

En las articulaciones clínicamente inactivas, no todos los estudios realizados en AR han demostrado claramente una asociación entre las lesiones inflamatorias detectadas por imagen (actividad subclínica) y el daño estructural [263]. La presencia de edema óseo en la RMN sería el parámetro de imagen que, con más consistencia, predeciría el riesgo de progresión del daño estructural en la AR [263, 264]. En cambio, la hipertrofia sinovial subclínica en la RMN no se relaciona con la aparición de nuevas erosiones en todos los estudios de AR [263].

La RMN también es la técnica que permite una mejor visualización del cartílago pero su papel para la determinación de la pérdida de cartílago en la artritis aún no ha sido completamente definida [265]. Por el momento, en niños sanos se ha observado un mayor grosor del cartílago en varones que en niñas, y un distinto grosor del cartílago en los compartimentos femoropatelar, medial y lateral [266]. La actividad física podría incrementar el volumen del cartílago articular [266]. Utilizar el grosor del cartílago para monitorizar a los pacientes con artritis inflamatorias crónicas presenta importantes limitaciones porque no está estandarizado el proceso de medición, ni el grosor articular normal del adulto ni del niño sano [265]. Tampoco se han descrito los parámetros de referencia del grosor articular de cada una de las localizaciones. De hecho, son muy pocos los ensayos clínicos con RMN en los que se valora la pérdida de cartílago por RMN como una medida de daño articular.

Por otro lado, la RMN podría tener un papel en la monitorización de la respuesta al tratamiento. El estudio IMAGINE-RA tiene por objetivo guiar el tratamiento en pacientes con AR mediante RMN [237]. En la AIJ, la RMN también es muy sensible al cambio clínico producido en relación a la introducción del tratamiento, con lo que podría ser de utilidad para la monitorización de la respuesta al tratamiento [267]. De hecho, los pacientes con respuestas ACR más altas (ACR pediátrico 90) son los que presentan mayores reducciones de la sinovitis y del daño mediante RMN. Estas reducciones no se observaron en pacientes con menor respuesta clínica (ACR pediátrico 30) [267].

En los pacientes con AIJ, la RMN también sería la técnica de imagen más sensible para detectar la presencia de erosiones [249], siendo una herramienta significativamente superior a la radiografía convencional y a la ecografía [268]. No obstante, el patrón de referencia para la evaluación de las erosiones articulares sigue siendo la radiografía simple [255]. En pacientes con AIJ de corta evolución, la RMN es especialmente sensible en la detección de erosiones recientes. La interpretación de las erosiones en el esqueleto de los niños presenta limitaciones porque su significado fisiopatológico todavía debe ser determinado [268, 269]. Se ha demostrado que en niños sanos habría un aumento de la presencia de erosiones, o de depresiones óseas, durante el desarrollo de los huesos del carpo, de forma que alguna de ellas era observable en todos los niños estudiados (N=88 niños sanos) [258]. Además, algunas áreas anatómicas son difíciles de evaluar y tienen un elevado número de falsos positivos [270]. Estos datos ponen de manifiesto que la RMN es una técnica muy sensible, pero probablemente poco específica para detectar erosiones en AIJ. A pesar de ello, se han propuesto índices de RMN para la evaluación de la presencia de erosiones en el carpo en la AIJ con buena validez de constructo y factibilidad [268].

La RMN es una técnica de imagen más sensible que la radiología convencional, la ecografía y que la exploración clínica para detectar la presencia de sinovitis, erosiones y el número de articulaciones afectadas. Este dato sugiere que, probablemente, será una técnica útil en la monitorización de los pacientes y que podría ser incorporada en el desarrollo de nuevas estrategias *treat to target*, guiadas por imagen y más estrictas que las actuales.

Por el momento, debido a los inconvenientes que se han comentado, la RMN se realiza rutinariamente en caso de ser necesario durante el diagnóstico diferencial, o para el estudio de estructuras articulares de difícil acceso como la cadera, o en las que es el patrón de referencia, como son la articulación temporomandibular [271] y las sacroilíacas [231]. En resumen, la RMN permite obtener imágenes que

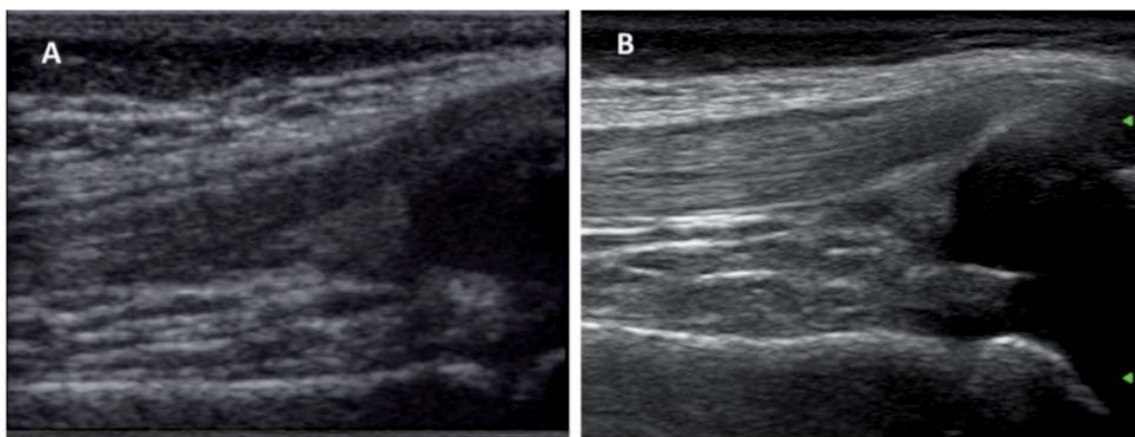
muestran un gran detalle anatómico y es una excelente técnica para detectar la presencia de sinovitis, de edema óseo, de actividad subclínica y valorar la respuesta al tratamiento [267].

2.5. ECOGRAFÍA MUSCULOESQUELÉTICA

En la última década ha crecido de forma notable el valor de la ecografía musculoesquelética para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con artritis crónicas inflamatorias. Actualmente la ecografía se ha convertido en una técnica fundamental en Reumatología y también en Reumatología Pediátrica. La ecografía se postula como una herramienta de gran utilidad y relevancia en el manejo de la AIJ, aunque todavía quedan algunas cuestiones pendientes de resolver [228, 272].

Como ventajas fundamentales de la técnica destaca que la ecografía es barata, accesible, fácil de realizar, que utiliza los ultrasonidos y no emite radiaciones ionizantes. Es, por lo tanto, segura y no tiene contraindicaciones [240]. Es apta para niños de todas las edades, no requiere sedación porque las exploraciones no son dolorosas y, en el ambiente y con los medios adecuados, pueden realizarse aunque haya una escasa colaboración del niño. La exploración es en tiempo real, por lo que se obtiene una información detallada del estado clínico del paciente [232]. Otro aspecto positivo de la ecografía, es que las características técnicas de los equipos de ecografía han mejorado mucho en los últimos años, las nuevas sondas llegan a frecuencias de 18 MHz que permiten obtener imágenes con una resolución de 0,1mm. Una mejor calidad en las imágenes, potencialmente, podría permitir una valoración más detallada de las estructuras y de las lesiones (Figura 5).

Figura 5. Imágenes de receso suprapatelar de niño de 7 años obtenidas con 2 ecógrafos distintos: A, ecógrafo de máxima calidad del año 2000; B, ecógrafo de máxima calidad del año 2015.



Extraído y adaptado de [272]. Obsérvese el cambio en la calidad de la imagen con la evolución técnica de los ecógrafos.

Los principales inconvenientes de la técnica son los siguientes: es explorador e instrumento dependiente; requiere un largo período de formación; es difícil interpretar y comparar los resultados obtenidos por otros exploradores [246]. El tiempo de adquisición de las imágenes también es explorador dependiente. Por otro lado, no permite examinar toda la superficie en grandes articulaciones, su papel en la exploración del esqueleto axial es muy limitado y todavía es necesario estandarizar y validar las características ecográficas normales del esqueleto de los niños sanos [228, 240].

Formación en ecografía musculoesquelética

A diferencia de la radiografía convencional y de la RMN, la ecografía es una técnica explorador-dependiente. Esto significa que, para obtener imágenes de buena calidad y para saber interpretarlas correctamente, se precisa un período de formación específico que dura varios años.

Teniendo en cuenta el largo tiempo requerido y la complejidad de la formación en ecografía musculoesquelética en reumatología, distintos grupos de trabajo han intentado establecer sus bases. Se han publicado iniciativas cuyo objetivo era describir los requisitos y/o recomendaciones para la correcta formación, incluyendo el contenido de los cursos para alumnos [273-278], para la formación de profesores en ecografía musculoesquelética [279] y las recomendaciones para la realización de los informes [280].

Estas sugerencias en cuanto a la formación, probablemente también serían aplicables a la formación en ecografía musculoesquelética pediátrica. Como ejemplo de programa formativo en ecografía musculoesquelética, tenemos la Escuela de ecografía fundada a finales de 1996 por miembros de la Sociedad Española de Reumatología (SER) [281]. La Escuela de ecografía de la SER tiene, por lo tanto, una larga trayectoria en la cual ha demostrado excelentes resultados [281]. Esta Escuela ofrece 8 cursos formativos en ecografía musculoesquelética de adultos para reumatólogos. Recientemente, como reflejo de la importancia de las diferencias en las características de la ecografía musculoesquelética entre niños y adultos, esta escuela ha añadido 2 cursos específicos de formación en ecografía musculoesquelética infantil, destinada a reumatólogos pediátricos: un curso básico y un curso avanzado.

Primeros pasos en la ecografía musculoesquelética en Reumatología: estudios en AR

La mayor parte de los avances iniciales que permitieron la implantación de la ecografía, como técnica de gran importancia en el estudio de pacientes con artritis crónicas inflamatorias, fueron realizados en adultos, en especial, en pacientes afectados de AR [282].

La información de la cual disponemos, procedente de los estudios de adultos, ha ayudado enormemente a poder desarrollar la ecografía musculoesquelética en pacientes pediátricos con AIJ. Un hecho relevante fue el establecimiento de un protocolo consensuado para la adquisición de imágenes en cada articulación promovido por el grupo de trabajo en imagen de EULAR [283]. La *OMERACT Task Force*, estableció unas definiciones preliminares consensuadas de las lesiones patológicas observadas por ecografía en las artritis inflamatorias más frecuentes [284]. Estas definiciones estaban diseñadas para identificar la inflamación articular por imagen en adultos. El *American College of Rheumatology (ACR)*, a través de la *ACR Musculoskeletal Ultrasound Task Force* también describió las cuestiones técnicas, capacidades y aplicaciones de la ecografía en el estudio de las artritis crónicas inflamatorias, así como el potencial impacto de su uso en la práctica clínica [273].

En el estudio de la AR, la ecografía ha demostrado ser una herramienta de gran aplicabilidad, y ha tenido un amplio desarrollo en las últimas décadas [282]. Existe numerosa evidencia científica que demuestra la validez de la ecografía en escala de grises y power doppler (PD) para evaluar la actividad inflamatoria articular en la AR [282]. En la literatura científica se dispone de datos que indican una probable correlación entre los resultados obtenidos mediante ecografía y los obtenidos mediante:

- el estudio de la histología de la membrana sinovial [285-287]
- la resonancia magnética nuclear [288]
- distintos parámetros de laboratorio [289-292]
- los cambios radiológicos [293]

También existen numerosos estudios que apoyan que la ecografía es una técnica más sensible que la exploración clínica para detectar la inflamación articular [294], y que ayudaría a una valoración del paciente más precisa [295]. En AR la ecografía añadiría valor a la exploración clínica en el diagnóstico de pacientes con AR de inicio reciente y en la evaluación de la remisión en la AR [294]. De hecho, distintos grupos han corroborado que un porcentaje relevante de pacientes en remisión clínica presentan signos de inflamación articular mediante la ecografía [296-299]. El pronóstico clínico y

radiográfico, de la presencia de sinovitis subclínica detectada mediante ecografía, en pacientes en remisión, está pendiente de ser determinado [299].

A pesar de esto, numerosos estudios han observado que la presencia de sinovitis subclínica (medida mediante escala de grises y/o señal PD, según el estudio) en estos pacientes es predictiva de brotes [300-302] y de progresión radiológica (aparición de nuevas erosiones) [303, 304]. Algunos autores incluso recomiendan considerar evaluar mediante ecografía a los pacientes con AR en remisión clínica, antes de disminuir el tratamiento [278, 305].

Descripción de la normalidad ecográfica en el niño

El esqueleto del niño en crecimiento presenta peculiaridades que no se observan en adultos. Las imágenes obtenidas varían enormemente según la edad y maduración de cada niño. Por este motivo, era necesario definir la imagen de la normalidad en el niño, para poder interpretar adecuadamente las imágenes patológicas.

En los últimos años, distintos grupos de trabajo formados por reumatólogos pediátricos, radiólogos y reumatólogos expertos en ecografía, están avanzando en el proceso de definir y caracterizar ecográficamente el esqueleto del niño en crecimiento. Por el momento, se han desarrollado y aceptado, definiciones de 5 estructuras normales del esqueleto del niño sano [248].

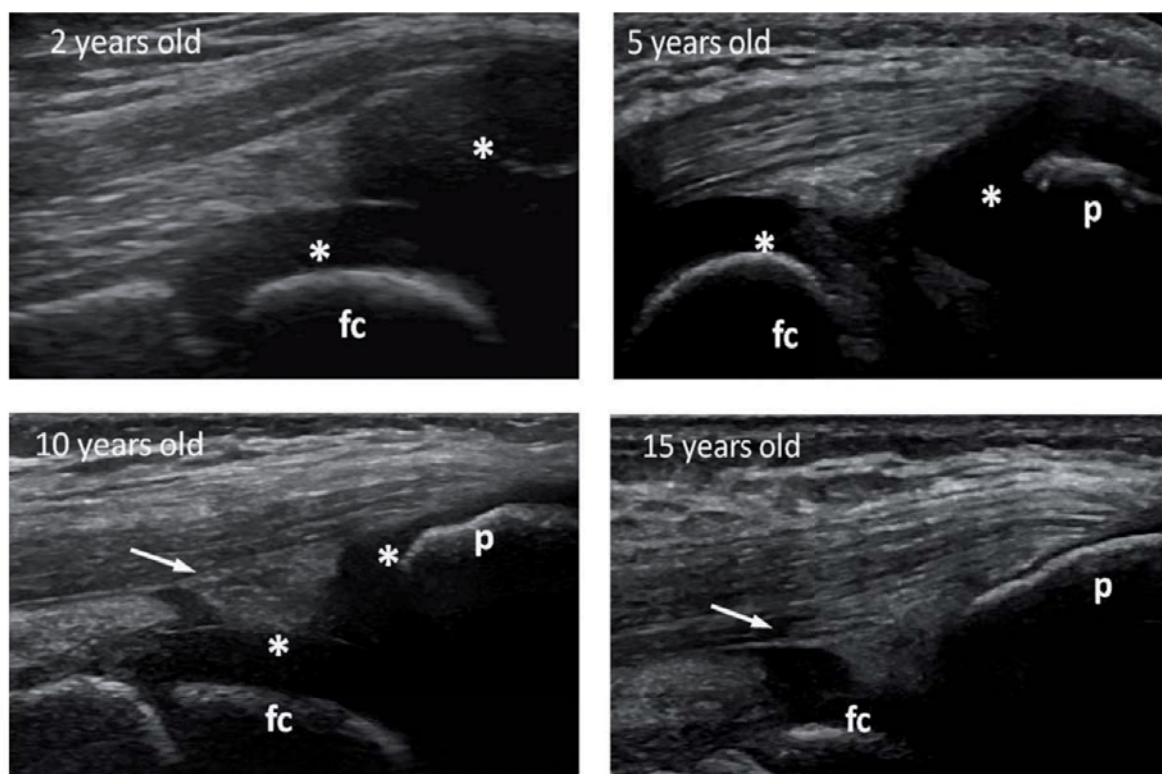
Tabla 11. Definiciones de estructuras de la articulación pediátrica sana.

Estructura	Definición
Definición 1: Cartílago hialino	Estructura anecoica bien definida (con o sin ecos brillantes/puntos) que no es compresible. La superficie del cartílago puede (pero no necesariamente) detectarse como una línea hiperecoica
Definición 2: Centro de osificación epifisaria	A medida que madura, el centro de osificación secundaria epifisario aparecerá como una estructura hiperecoica, con una superficie lisa o irregular dentro del cartílago
Definición 3: Cápsula articular	Estructura hiperecoica que puede (pero no necesariamente) verse sobre el hueso, el cartílago y otros tejidos blandos intraarticulares de la articulación
Definición 4: Membrana sinovial	En circunstancias normales, el grosor de la membrana sinovial es indetectable
Definición 5: Hueso	La porción osificada del hueso articular se detecta como una línea hiperecoica. Las interrupciones en esta línea pueden detectarse en las placas de crecimiento y en las zonas de unión de dos o más centros de osificación

Extraído y adaptado de [248].

Tras publicar estas definiciones, se siguió avanzando en la descripción ecográfica del esqueleto del niño sano, publicando imágenes representativas de las articulaciones: rodilla, tobillo, carpo y 2ª MCF [306]. Estas imágenes se han publicado con el objetivo de ser una posible referencia de la normalidad, a modo de atlas, con las imágenes de normalidad según la edad (ejemplo de imagen de referencia, Figura 6). Además, en la misma publicación, se dan instrucciones para examinar cada una de estas articulaciones de forma estandarizada (p.ej. posición del paciente, posición de la sonda, posición de la articulación). Se puntualiza también, que la exploración de los tejidos blandos (p.ej. ligamentos y tendones) varía poco con la edad, así que no precisaría descripciones específicas en el niño [306].

Figura 6. Exploración longitudinal de receso supratelar en posición estandarizada (rodilla en flexión 30º-40º) en niños sanos de distintas edades.



Extraído y adaptado de [306]. Las imágenes ofrecen información anatómica de las siguientes estructuras: rótula o patela (p); epífisis distal del cóndilo femoral (fc); cartílago epifisario (*); inserción distal del tendón del cuádriceps; receso supratelar. En el receso supratelar puede observarse en ocasiones una pequeña cantidad de líquido sinovial fisiológico, imagen anecoica en receso (flechas blancas).

Los huesos de los niños, al estar en crecimiento, tienen un flujo sanguíneo en el cartílago epifisario que los adultos no presentan. Este flujo sanguíneo es visible por ecografía especialmente en los niños de menor edad, y su intensidad varía entre individuos [307]. Sin embargo, en niños sanos, la ecografía no detecta flujo sanguíneo ni en las vainas tendinosas, ni tampoco en los recesos articulares [306, 308]. Recientemente se ha publicado la descripción de los hallazgos de vascularización normal,

medida por ecografía mediante señal PD, en las 4 principales articulaciones de los niños sanos [306]. Aunque se está avanzando en el conocimiento de la imagen de la anatomía normal del niño, estos estudios serían el primer paso.

Todavía quedan muchas cuestiones por resolver como, por ejemplo, conocer las diferencias según la edad y el género (esto último ha sido poco estudiado), las diferencias en el grosor del cartílago, en el grosor de la cápsula articular en las distintas articulaciones y edades, las variaciones de la normalidad y, sobretodo, queda pendiente completar los protocolos y la estandarización del método de obtención de imágenes ecográficas en todas las articulaciones de los niños.

Descripción de la imagen patológica ecográfica en el niño

En cuanto a la AIJ, hasta hace poco no se habían definido las imágenes patológicas en los niños. Muy recientemente han sido publicadas unas definiciones preliminares de la sinovitis en los niños [309]. Son unas definiciones fáciles de aplicar y de realizar. Han sido aprobadas por un panel de expertos ecografistas a nivel internacional, la mayor parte de ellos reumatólogos pediátricos. La definición de sinovitis es la siguiente [309]:

- Principio general: La detección de la sinovitis por ecografía en niños incluye la evaluación de los hallazgos en modo B (escala de grises) y Doppler (color o power Doppler)
- La sinovitis puede ser detectada basándose únicamente en los hallazgos de la escala de grises. La sinovitis no puede ser detectada basándose únicamente en los hallazgos Doppler color / power Doppler
- Los hallazgos en el modo B incluyen el derrame sinovial y la hipertrofia sinovial
- El derrame sinovial se define como un material anómalo, intraarticular, anecoico o hipoecoico que es desplazable
- La hipertrofia sinovial se define como un material anómalo, intraarticular, hipoecoico que no es desplazable
- Las señales Doppler color / power Doppler deben ser detectadas dentro de la hipertrofia sinovial para ser consideradas como un signo de sinovitis

Estas definiciones apoyan aún más el uso de la ecografía musculoesquelética, en la práctica clínica habitual de los pacientes con AIJ [309]. Esto es un primer paso, pero todavía queda un largo camino por recorrer en la definición de las imágenes patológicas del niño. En primer lugar, será necesario validar las definiciones de sinovitis [309]. Tras estandarizar las imágenes de la normalidad, según

edad y localización, y tras reconocer las variantes de la normalidad, también será necesario definir las otras imágenes patológicas, validar las nuevas definiciones, y definir el significado de las alteraciones en la vascularización en el contexto de determinadas imágenes patológicas [306].

Utilidad de la ecografía en la AIJ

El valor de la ecografía para el manejo de los pacientes en edad pediátrica ha sido ampliamente demostrado. En una revisión sistemática de la literatura se concluyó que, en la AIJ, la ecografía es una herramienta válida para detectar la sinovitis, es más sensible que la exploración clínica y sería útil tanto para el diagnóstico como para seguimiento de los pacientes [310].

La ecografía es una técnica sensible y específica, que podría permitir una mejor evaluación de la actividad de la AIJ que la exploración clínica y los parámetros de laboratorio convencionales (VSG y PCR) [311, 312]. Podría ser útil para complementar la evaluación clínica de los pacientes, es decir, para conseguir una evaluación global más precisa [9]. Por ejemplo, nos permite diferenciar claramente la afectación articular de la afectación tendinosa. Clínicamente la tenosinovitis podría ser confundida con la artritis en algunos casos.

La ecografía es una técnica menos sensible que la RMN para la evaluación articular, entre otros motivos, porque el detalle anatómico que se consigue con la imagen ecográfica es menor. En un estudio comparativo de ambas técnicas en el que participaban niños con AIJ (N=10) y niños sanos, la RMN fue superior a la ecografía en la detección de la sinovitis [249]. No obstante, la ecografía también aportaba información relevante, que incluso complementaba lo observado mediante RMN. Los propios autores de este estudio piloto sugerían que la ecografía era una herramienta muy útil para la valoración de la actividad inflamatoria en niños, y que podría utilizarse de forma generalizada en la práctica clínica.

La ecografía también es una técnica útil para guiar el proceso de infiltración intraarticular: minimiza las posibles complicaciones (p.ej. la atrofia subcutánea) y optimiza la realización de infiltraciones en zonas de difícil acceso [313]. Además, también es útil para la monitorización de la respuesta a los tratamientos: en el caso de realizar una infiltración intraarticular, los cambios en la inflamación de la articulación serían significativos mediante ecografía, ya en las primeras 4 semanas [313].

Distintos estudios han demostrado que un número considerable de pacientes, tanto activos como en remisión clínica, presentan sinovitis por ecografía en articulaciones clínicamente inactivas (sinovitis subclínica) [9, 312, 314-318] (Tabla 12).

La sinovitis subclínica es más frecuente en pacientes con una presentación clínica poliarticular que con una AIJ oligoarticular [314]. Podría ser más frecuente en pacientes activos que en pacientes inactivos, aunque de momento los resultados observados en este sentido son contradictorios [77]. Probablemente también se observa actividad subclínica con más frecuencia en articulaciones que ya habían presentado inflamación anteriormente [318].

La sinovitis subclínica en pacientes con AIJ, a diferencia de los datos disponibles en AR, no se ha demostrado que sea un factor predictor del riesgo de brote en esas articulaciones [316]. A pesar de esto, hay un estudio que observó que el 35,7% de las articulaciones que presentaban una sinovitis subclínica desarrollaban una artritis clínica durante el seguimiento [312].

Tabla 12. Estudios de determinación de la sinovitis subclínica mediante ecografía en pacientes con AIJ.

Autor y año	N pacientes / N articulac	Diseño	Actividad clínica	Sinovitis subclínica		
				N (%) pac.	N (%) art. EG	N (%) art. PD
Collado, P. et al 2014 [315]	34 / 1.496	Transversal	Remisión*	13 (38,2%)	37 (2,5%)	18 (1,2%)
Magni- Manzoni, S. et al 2013 [316]	39 / 2.028	Prospectivo	Inactivos*	30 (76,9%)	131 (6,5%)	30 (1,5%)
Janow, G.L. et al 2011 [312]	19 / 76	Transversal	Activos	NV	14 (30%)	NV
Haslam, K.E. et al 2010 [317]	17 / 680	Transversal	Baja actividad e inactivos**	6 (35,3%)	15 (2,28%)†	NV
Magni- Manzoni, S. et al 2009 [9]	32 / 1.664	Transversal	Activos e inactivos	NV	86 (5,5%)†	NV

Se evaluó un número distinto de articulaciones en cada estudio. Art, articulaciones; EG, escala de grises; N, número de; NV, no evaluado; pac, pacientes; PD; señal *power doppler*.

* Definido por criterios clínicos, estaban en tratamiento o fuera de tratamiento.

** Este estudio sólo incluía pacientes oligoarticulares. † Porcentaje sobre el total de articulaciones inactivas.

Existen algunas limitaciones al evaluar la evidencia científica actual, que indica que un porcentaje relevante de pacientes con AIJ en remisión clínica presentan sinovitis subclínica. Una de ellas es la ausencia de definición, en las publicaciones, de los criterios de sinovitis o las distintas definiciones de sinovitis utilizadas, y el uso de distintas escalas de graduación de la misma [310]. Además, el ecógrafo utilizado y los parámetros del mismo, no siempre se especifican en la literatura.

La ecografía podría tener un papel en la clasificación de los pacientes con AIJ, aunque esta posibilidad, relacionada con la presencia de sinovitis subclínica, ha sido poco explorada. En un estudio en el que se realizaba la exploración ecográfica poliarticular al inicio de la enfermedad, algunos pacientes que habían sido clasificados como AIJ oligoarticular, se reclasificaron como AIJ poliarticular [317]. Esto puede conllevar variaciones significativas en el manejo terapéutico y en el pronóstico de estos niños. Estudiar en profundidad cómo la ecografía puede influir en la clasificación de los pacientes con AIJ, es una de las materias pendientes.

La ecografía también es una técnica capaz de visualizar el cartílago articular. Podría tener un papel en la evaluación del grosor del cartílago en los pacientes con AIJ. Por el momento, en este sentido, la RMN sería una técnica algo superior a la ecografía por su buena reproductibilidad [319]. Todo y así, se ha demostrado una buena correlación entre la RMN y la ecografía en la medición del grosor del cartílago en los distintos compartimentos de las rodillas [320] y también en los tobillos y en las articulaciones de las manos [319].

Desde el año 2010, se publicaron los valores de referencia del grosor del cartílago articular medido mediante ecografía en rodilla, tobillos, carpos, MCF e IFP [321]. Se observó que el grosor del cartílago en los niños decrecía progresivamente con la edad, y que el género influía en el mismo, siendo algo más grueso en los niños que en las niñas [321].

En los pacientes con AIJ, se observó un adelgazamiento generalizado del cartílago articular en rodillas, carpos y 2ª IFP, aunque no se constató en tobillos ni en 2ª MCF [322]. Este adelgazamiento fue más intenso en los pacientes afectados de AIJ sistémica y de AIJ poliarticular. El adelgazamiento articular afectaba tanto a articulaciones previamente sanas como a articulaciones previamente inflamadas [322]. Sólo en rodillas y en MCF parecía haber un mayor adelgazamiento en las articulaciones previamente afectadas que en las contralaterales. El hecho de haber observado este adelgazamiento en el cartílago articular, incluso en articulaciones previamente sanas, es especialmente llamativo [323].

En los pacientes con AIJ oligoarticular, también se observó un adelgazamiento articular generalizado en rodillas, carpos y 2ª MCF [322]. Esto podría hacernos replantear cuál es la necesidad real de tratamiento en estos pacientes, en quienes las guías recomiendan iniciar con terapias antiinflamatorias o localizadas, como las infiltraciones intraarticulares [323]. Las articulaciones que habían precisado una infiltración intraarticular con glucocorticoesteroides, no presentaban un mayor adelgazamiento articular que las contralaterales [322].

La ecografía tendría una sensibilidad similar a la radiografía simple en la evaluación de las erosiones en el carpo de los pacientes con AIJ [268], aunque todavía no se ha determinado la definición de erosión en el niño, utilizándose la de los adultos. El patrón de referencia para evaluar las erosiones, tal y como ya se ha comentado previamente, es la radiografía.

Índices ecográficos reducidos: de la AR a la AIJ

Los índices ecográficos reducidos se diseñaron con el objetivo de determinar la actividad inflamatoria de la forma más precisa posible, explorando el menor número de articulaciones posible. Los pioneros en diseñar índices ecográficos reducidos, fueron los reumatólogos de adultos, en especial los que estudiaban la AR.

En pacientes con AR, con el objetivo de mejorar la evaluación de los pacientes y de detectar la presencia de sinovitis subclínica, se diseñaron varios índices ecográficos reducidos [324-328]. Estos índices ecográficos reducidos presentaban una buena o muy buena correlación con los índices ecográficos extendidos, en concreto, con el índice extendido de 44 articulaciones [324] y/o con distintos parámetros clínicos y una buena concordancia entre observadores.

Las articulaciones que es más eficiente explorar, porque son en las que se detecta la presencia de sinovitis subclínica con más frecuencia, son los carpos, las MCF, los tobillos y las metatarsofalángicas (MTF) [324]. Entre los índices ecográficos reducidos validados diseñados en AR destacan dos por su sencillez y porque ambos presentan buenos resultados en la evaluación de los pacientes con AR: uno de 7 articulaciones [327] y otro de 12 articulaciones [328]. En una revisión y un estudio en los que comparaban la evidencia científica y la idoneidad de varios índices reducidos, concluyeron que el de 12 articulaciones demostraba ser superior al de 7 [324, 329].

En la AIJ, también se ha desarrollado un índice ecográfico reducido con el objetivo de optimizar la evaluación clínica de los pacientes. Este índice reducido explora 10 articulaciones y presenta una muy buena correlación con el índice ecográfico extendido de 44 articulaciones, tanto en la valoración inicial con el paciente activo, como en el seguimiento con el paciente inactivo [330]. Este índice reducido ha demostrado ser válido, sensible al cambio a largo plazo y realizable en la práctica clínica [330]. Los autores consideran que se puede recomendar la utilización del índice ecográfico reducido en la evaluación de la actividad inflamatoria en niños con AIJ.

En resumen, la ecografía es una técnica de gran utilidad en el estudio de la AIJ. En niños es una técnica segura y de fácil aplicabilidad. Es más sensible que la exploración clínica, siendo capaz de detectar la presencia de sinovitis incluso subclínica. En la AIJ puede utilizarse para confirmar la presencia de inflamación articular cuando haya dudas clínicas, para evaluar a los pacientes de forma más precisa, para guiar tratamientos locales y, probablemente, para monitorizar la respuesta al tratamiento. En los próximos años, la ecografía podría incorporarse para tomar decisiones terapéuticas en estrategias *treat to target* [305].

3. SISTEMA INMUNE

3.1. CONCEPTO

El sistema inmune está compuesto por un conjunto de estructuras, órganos, tejidos y células, distribuidos en el interior del organismo. A través de distintas moléculas y procesos biológicos, el sistema inmune contribuye a mantener la homeostasis del organismo, defendiéndolo frente a agresiones externas, físico-químicas e internas. El sistema inmune de los seres vivos, hasta llegar al ser humano ha evolucionado enormemente. Nuestro sistema inmune es capaz de defendernos de una gran variedad de patógenos, desde microscópicos virus intracelulares hasta macroscópicos parásitos, que pueden invadir nuestro organismo desde múltiples posibles vías de entrada.

La ontogenia, o generación de las células y tejidos del sistema inmune, se inicia en la etapa embrionaria. Después del nacimiento, las células que realizarán funciones especializadas en el sistema inmune se generan y maduran en la médula ósea y en los órganos linfoides. Estas células son células linfoides y células mieloides entre las que se encuentran: linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, monocitos, células dendríticas, macrófagos y NK. Todas estas células se movilizan a través de la sangre y del sistema linfático hacia los distintos órganos y tejidos.

Desde el punto de vista funcional, el sistema inmune podría dividirse en sistema inmune innato y sistema inmune adaptativo. El sistema inmune innato es capaz de reconocer citoquinas y señales “de peligro” (DAMP y PAMP por sus siglas en inglés *danger-associated molecular patterns* y *pathogen associated molecular patterns*). En él intervienen los neutrófilos, los macrófagos, el sistema de complemento y el principal mecanismo de defensa de este sistema es la fagocitosis.

El sistema inmune adaptativo es más complejo, porque reconoce patógenos y moléculas específicas de forma concreta y se defiende contra ellos de forma muy eficaz y específica. Es un sistema dinámico, que se modifica a medida que interacciona con distintos patógenos y que es capaz de desarrollar mecanismos de memoria para mantener esta especificidad en el reconocimiento. Las células principales son los linfocitos.

A grandes rasgos, podríamos considerar que la respuesta inmune tiene lugar en 5 partes [52]:

1. **Reconocimiento del material exógeno** y/o potencialmente peligroso (mediante distintas clases de receptores celulares p.ej. los PRRs *–pattern recognition receptors–*, el HLA, las moléculas de adhesión, los receptores de citoquinas, los TLR *–toll like receptors–*). Este proceso es común al sistema inmune innato y adaptativo y en él intervienen las células presentadoras de antígeno.
2. Una respuesta rápida del **sistema inmune innato**, inespecífica, justo tras el reconocimiento del antígeno. Esto conlleva la movilización de anticuerpos y del sistema de complemento, así como la participación del endotelio mediante la expresión de las moléculas de adhesión y el aumento de permeabilidad vascular. Se producirá una respuesta inflamatoria local y el desplazamiento de los macrófagos, los neutrófilos y las NK hacia la zona del antígeno. Estas células fagocitarán los elementos patógenos. Las células dendríticas también se desplazarán a la zona inflamada y además activarán al sistema inmune adaptativo.
3. Una respuesta más tardía del **sistema inmune adaptativo**, específica al antígeno en concreto. Las células dendríticas presentan los antígenos a los linfocitos. Cada uno de los distintos tipos de linfocitos tiene su propia función en el proceso de respuesta. En él intervienen las células T helper, las células T efectoras, las células T de memoria y las células T citotóxicas, un subtipo de células T que expresa algunos marcadores de las NK, y las células B.
4. **Aumento inespecífico de esta respuesta.** En la zona en la que está teniendo lugar una respuesta inmune se producen una serie de citoquinas y de moléculas que aumentan la proliferación celular de determinados tipos de linfocitos y también aumentan el número de células que son atraídas para “atacar” a los elementos patógenos. Cuando éstos son eliminados, intervienen los mecanismos de regulación, cuya función es frenar la inflamación e inhibir la respuesta inmune para evitar producir daño en los tejidos.
5. **Memoria de las respuestas inmunes específicas**, que proporcionarán una respuesta más amplia y más temprana cuando un antígeno concreto entre por segunda vez. En este proceso intervienen especialmente las células B de memoria, que expresan receptores de inmunoglobulina de superficie contra antígenos específicos y que, cuando entran de nuevo en contacto con un antígeno conocido, producen una rápida expansión clonal de las células que conllevará una intensa respuesta del sistema inmune adaptativo.

Cabe destacar que, en su proceso de maduración, el linfocito es sometido a múltiples procesos, entre ellos el de eliminación de los linfocitos autorreactivos. Es decir, interesa que los linfocitos contribuyan

a defender al organismo de las posibles amenazas, pero es de especial importancia que éstos sean capaces de reconocer las estructuras propias. Para permitir esta tolerancia a los elementos propios del organismo existen mecanismos de control central y periféricos. Los mecanismos de tolerancia central del linfocito T implican la muerte celular de los linfocitos autorreactivos en el timo y la generación de células T reguladoras. Los mecanismos de tolerancia periférica del linfocito T se activarían cuando un linfocito T maduro reacciona contra un tejido periférico. En este caso las posibilidades son: la inactivación del linfocito autorreactivo (anergia), o bien su eliminación (apoptosis), o la activación de los linfocitos T reguladores que inhibirán a los autorreactivos. Los mecanismos de tolerancia central del linfocito B, implican la eliminación de los linfocitos B autorreactivos en la médula ósea o el cambio en la especificidad de su receptor (edición del receptor). Como mecanismos de tolerancia periférica del linfocito B, los linfocitos B maduros no podrían responder contra antígenos propios. Si lo hicieran, y no recibieran la ayuda del linfocito T, entrarían en estado de anergia. Además, los linfocitos B autorreactivos, e incluso los anérgicos, pueden ser eliminados por apoptosis o pueden ser inhibidos mediante los receptores inhibidores [331].

El sistema inmune es, por lo tanto, un complejo sistema de redes celulares, moleculares y tisulares que experimenta cambios continuos y que tiene por objetivo defendernos de posibles amenazas extrínseca e intrínsecas, mientras permite el normal funcionamiento de los tejidos propios.

3.2. MADURACIÓN DEL SISTEMA INMUNE

El sistema inmune en el ser humano, desde el momento del nacimiento, experimenta continuos cambios. Parte de ellos son debidos a la maduración en el sistema inmunológico, que conlleva variaciones con el tiempo en el número y porcentaje de cada uno de los subtipos celulares. Estas variaciones se producen en respuesta al contacto con los diferentes estímulos antigénicos que tienen lugar a lo largo de la vida como, por ejemplo, las infecciones y las vacunaciones.

Aproximadamente el 20% de los linfocitos se encuentran en el intestino, donde son expuestos a distintos estímulos antigénicos externos. En el intestino, las células del sistema inmune son parte de la frontera entre los elementos potencialmente patógenos y el interior del organismo, monitorizando el contacto entre ambos [332]. La microbiota influye en el desarrollo de células Th17, células T reguladoras y células T de memoria durante la maduración del sistema inmune en los primeros años de vida [332].

Al nacer, la mayor parte de las células T expresan la glicoproteína CD45RA, un marcador de membrana típico de las células T *naïve*. Entre las células T CD45RA negativas, muchas de ellas son células T reguladoras [332]. Durante la infancia, las células T *naïve* y las células reguladoras disminuyen, mientras que las células T de memoria Th1, Th17 y Th2 aumentan progresivamente [332]. En los primeros meses de vida el número de linfocitos y de linfocitos T es muy alto y disminuye progresivamente, perdiendo más de dos tercios del número de linfocitos inicial con la edad [333]. La frecuencia de células T CD4+ y CD8+ presenta variaciones, tal y como puede observarse en los cambios en la ratio CD4/CD8 que se explicarán más adelante. A pesar de esto, comparado con la intensa disminución en el número de células que se observa en las células T, los porcentajes de las células CD4+ y las CD8+ se mantienen más estables con la edad que el número de las mismas [333].

El antígeno HLA-DR es un marcador celular que puede considerarse de activación tardía de las células T [140]. El porcentaje de las células T CD3+ que expresan HLA-DR aumenta progresivamente desde el 1-2% al nacer, hasta el 7% entre los 5-10 años de edad y, posteriormente, se mantiene estable en torno al 5-6% al llegar a la edad adulta [333-335]. Si analizamos por separado el porcentaje de células CD4+ y CD8+ observamos que, las mayores variaciones con la edad durante la infancia, se observan en las células CD8+ [336]. El menor porcentaje de células CD4+ que expresan HLA-DR se observa al nacimiento (0,3%), luego aumenta progresivamente y la mayor expresión se observa entre los 4 y los 15 años (hasta el 2% de media). En la edad adulta disminuiría ligeramente hasta el 1,4%. También el menor porcentaje de células CD8+ que expresa HLA-DR se observa al nacimiento (0,2%). Luego este porcentaje aumenta hasta alcanzar el máximo entre los 2 y los 9 años de edad (hasta 4,8% de media), estabilizándose en torno al 3,6% al llegar a la edad adulta [336].

Durante la infancia, el porcentaje y el número de células CD4+ decrece gradualmente [335-337]. Los niños de 0 a 3 meses de edad presentan una media de entre 47%-52% de células CD4+, que disminuye gradualmente hasta ser del 37% entre los 6 y los 12 años de edad. Luego, durante la adolescencia, el porcentaje de células CD4+ aumenta de nuevo, hasta ser del 41% en los niños de entre 12 y los 18 años de edad [337]. Las células T CD4+ *naïve* (caracterizadas como CD4+CD45RA+) disminuyen desde un 87%-95% en los primeros 3 meses de vida, hasta un 53-62% al llegar a los 12-18 años de edad [333, 336, 337]. De forma opuesta a lo observado en las células CD4+ *naïve*, las células T de memoria (CD3+CD4+CD45RO+) aumentan desde un 5,1-10% en los primeros 3 meses de vida hasta un 28-36% al llegar a los 12-18 años de edad [333, 336, 337]. Esto es lógico porque, a medida que las células T

CD4+ van entrando en contacto con los distintos patógenos, dejan de expresar el fenotipo *naïve* y pasan a expresar el fenotipo de memoria.

La ratio CD4/CD8, cambiaría con la edad, presentando valores medios más altos (entre 2 y 3) en los primeros 2 años de vida, y valores más bajos (entre 1 y 2) al nacimiento, en los niños de mayor edad y en los adultos jóvenes [333, 334]. Mediante el análisis de familiares y de cohabitantes adultos, se concluyó que el ratio CD4/CD8 estaba más sujeto a factores genéticos heredados, que no a factores ambientales y que el ratio cambiaba con la edad [338]. Otros estudios han observado, que una ratio CD4/CD8 inferior a 1 podría estar influida por factores externos, como la infección por el citomegalovirus y, además, podría tener relación con un perfil inmunológico de mayor “riesgo” o susceptibilidad a infecciones [339].

El porcentaje de células CD8+ va aumentando a lo largo de los primeros años de vida, pasando de un 16% entre los 3 y los 6 meses de vida hasta un 26% entre los 12 y los 18 años [337]. En cambio, si observamos el número de células CD8+, la cifra se mantendría estable hasta los 2 años de edad y luego descendería progresivamente hasta llegar a valores estables durante la adolescencia hasta la edad adulta [334]. Inicialmente habría un mayor porcentaje y número de células CD8+ *naïve* (CD8+CD45RA+CD62L+), que disminuiría progresivamente a partir de los dos años de vida, hasta la mayoría de edad [336, 337]. Las células CD8+ citotóxicas activadas (caracterizadas como CD8+HLA-DR+CD38+) presentan resultados más controvertidos. En uno de los trabajos de investigación se observó que estas células disminuirían desde el 15% al año de vida hasta el 7% entre los 12 y los 18 años de vida [337]. En cambio, en un trabajo más reciente el porcentaje de estas células aumentaba progresivamente presentando los mayores valores entre los 2 y los 3 años de edad (4,1%) y, a partir de los 12 años los valores se mantenían entre 0,8%-2% [336]. Las CD8+ efectoras de memoria (CD3+CD4-CD45RO+) aumentarían desde un 3% a los 3 meses de edad hasta un 13% entre los 12 y los 18 años [337]. De nuevo hay controversia con el otro estudio probablemente debida al método que se utilizó para caracterizarlas. En este último estudio, los porcentajes de las células CD8+ efectoras de memoria caracterizadas como CD3+CD8+CD45RO+, en el nacimiento eran del 4,3%, llegando al 20% a partir de los 4 años de edad y se mantienen bastante estables hasta la edad adulta, en la que llega al 28% [336]. Si caracterizamos a las células efectoras de memoria como CD3+CD8+CD45RO+CD27-, observamos que el porcentaje varía desde el 0,1% al nacimiento, llega al 4,3% entre los 4 y los 6 años y se mantiene relativamente entre 1,6% y 3,7% de media a partir de los 9 años y en la edad adulta [336].

Las células T de memoria CD4+ y CD8+, tal y como hemos visto, aumentan progresivamente con la edad durante la edad pediátrica. Algunas de ellas han adquirido el fenotipo de memoria tras ser estimuladas por patógenos concretos o por vacunas. En cambio, un gran número de las células T de memoria se producirían por efecto de la microbiota intestinal y del microbioma presente en el tracto respiratorio y en la piel [332]. Estas células serán capaces de reaccionar frente a patógenos a través de reacciones cruzadas que reconocen pequeños péptidos, que pueden ser compartidos por distintos microorganismos [332]. A partir de los 6 años de edad las ratios entre las células T *naïve* y de memoria se mantienen relativamente estables [336].

Las células T reguladoras son una población celular de la cual se acepta que son capaces de suprimir la activación y proliferación de las células T efectoras. Su descubrimiento ha sido un gran paso en la investigación de las enfermedades autoinmunes [412]. Estas células T reguladoras se originan en el timo (células T reguladoras naturales) o en la periferia cuando son inducidas a partir de las células T *naïve* en presencia del factor de crecimiento TGF- β (células T reguladoras inducidas). Las células T reguladoras son cruciales para mantener la auto-tolerancia evitando así la respuesta autoinmune [413]. Son un grupo muy heterogéneo, tanto en sus funciones como en su fenotipo [340]. Las células T reguladoras son CD4+ y está demostrado que, independientemente de cómo se caracterice su detección, en su mayoría expresan CD25 y el marcador intracelular Foxp3 (*forkhead box protein P3*) [341, 342].

La proteína Foxp3 también se expresa en células CD4+ que acaban de ser activadas y que presentan una actividad supresora de manera transitoria justo al principio de su activación. Se descubrió que las células T reguladoras pueden perder la expresión de Foxp3, ganando funciones efectoras correspondientes al subtipo de células T efectoras. Esto podría ser una ventaja a nivel local, en zonas de infección, para inducir temporalmente una respuesta inmunológica adaptativa, de defensa de la infección. La expresión de Foxp3 estable depende de la desmetilación del DNA de regiones intrónicas seleccionadas denominadas TSDR (*Treg-specific demethylated region*). El estado de metilación de Foxp3 determina su expresión, por lo tanto, el nivel de expresión de Foxp3 puede cambiar, es plástico, y si las células T reguladoras lo pierden pueden evolucionar a estados de autorreactividad. En los ratones con defectos genéticos, que les harían propensos a enfermedades autoinmunes, se ha observado que aumenta el número de células T inestables [414].

La caracterización mediante la citometría de flujo de las células T reguladoras presenta ciertas dificultades técnicas. Por ejemplo, Foxp3 es un marcador intracelular que, para ser detectado, precisa que se permeabilice la membrana celular. Por otro lado, diferenciar a las células T que han perdido Foxp3 de las que nunca lo han expresado es quizás la mayor de las dificultades. Hay grupos que trabajan en desarrollar marcadores para el seguimiento de células T reguladoras y de la posibilidad de que sean reprogramadas a efectoras en distintas condiciones autoinmunes [414]. Las células T reguladoras, tampoco son las únicas que expresan CD4+ ni CD25+, las células T efectoras activadas también pueden expresar CD25 en su superficie [414]. A pesar de todos los inconvenientes, en general, está aceptado que la mejor forma de caracterizar por citometría de flujo a la población de células T reguladoras es identificando las que expresen CD4+, CD25^{high} (o más brillante) y que además sean CD127- o CD127^{low} [336, 343, 344].

Los cambios en las células T reguladoras y en sus subtipos *naïve*, *memory* y efectoras con la edad han sido analizados en un estudio. El porcentaje del total de células T reguladoras se mantiene bastante estable durante la infancia, entre un 4% y un 6,8%, observándose el menor porcentaje de las mismas a partir de los 15 años (3%) [336]. En cambio, el número absoluto de estas células disminuye de forma muy importante, presentando los menores valores en la edad adulta [336]. Las células T reguladoras pueden expresar distintos fenotipos y, en los adultos, se ha demostrado que pueden tener un fenotipo *naïve*, efector o de memoria [345]. En los niños, el número de células T reguladoras efectoras y de memoria se mantiene relativamente estable hasta llegar a la edad adulta, mientras que el número de células T reguladoras *naïve* desciende drásticamente durante la infancia pasando de representar el 85% del total de células T reguladoras, al 50% de las mismas [336]. La ratio de células T reguladoras *naïve*/(memoria o efectoras) disminuye desde el 6:1 en los primeros años de vida hasta el 1:1 en la edad adulta [336].

Los porcentajes de células CD3+ doble negativas, es decir, que no expresan CD4+ ni CD8+ también experimenta variaciones con la edad. En un estudio de estandarización de los valores de las subpoblaciones linfocitarias en los sujetos pediátricos se observó que las células T CD3+ doble negativas presentan los menores valores al nacimiento y hasta los dos años de edad [333]. De los 2 a los 12 años de edad es cuando se observarían los mayores porcentajes de células T doble negativas, que disminuirían progresivamente durante la adolescencia y la edad adulta [333]. Si separamos a los niños y a los adultos en dos grandes grupos de sujetos sanos, observamos que el porcentaje de células CD3+ disminuye con la edad [346, 347].

Las células B también experimentan cambios en los primeros años de vida. Hasta los 3 meses de edad representan el 12-15% de los linfocitos, de los 3 meses hasta los 3-4 años se mantendrían en torno al 25% y volverían a disminuir, siendo de media entre un 12-16% de los linfocitos circulantes entre los 12 y los 18 años [334, 336, 337]. El número de células B circulantes al nacimiento también es bastante alto, además aumenta progresivamente durante los primeros 3 años de vida y a partir de allí disminuye progresivamente, manteniéndose estable en valores del adulto a partir de los 15 años de edad [336]. Las células B *naïve*, aumentan progresivamente durante el primer año de vida, se mantienen estables en cifras elevadas, hasta los 3 años, y luego disminuyen progresivamente hasta estabilizarse en torno a los 12 años, en valores similares a los que se observan en la edad adulta [336].

La variación de los distintos subtipos de células B de memoria, caracterizados en mayor profundidad, ha sido escasamente estudiada incluso en sujetos sanos. Se observó que había grandes variaciones en el número y porcentaje de las mismas entre individuos, en el estudio que estandarizaban los valores en población pediátrica de las siguientes subpoblaciones: células B de memoria IgM+IgD+CD27+ e IgM+IgD-CD27+, células B switch CD27+ a clase IgG+ e IgA+ y switch CD27- a clase IgG+ e IgA+. A pesar de la variabilidad entre individuos observaron lo siguiente [336]:

- Las células B de memoria IgM+IgD+CD27+ y las células B switch CD27- (IgG+ e IgA+) ya están presentes en grandes cantidades al nacimiento
- Las células B switch CD27+ (IgG+ e IgA+) y las células B de memoria IgM+IgD-CD27+, prácticamente no son detectables al nacimiento, o se detectan en muy bajo número.
- Desde el momento del nacimiento, las células IgM+IgD+CD27+ son, de forma constante, la población B de memoria mayoritaria.
- Todas las poblaciones B de memoria aumentaron durante los primeros años de vida. Los subtipos presentes al nacimiento alcanzaron el pico de crecimiento, entre el primer y el segundo año de vida y. Los subtipos de células B que no estaban presentes al nacimiento, alcanzaron el pico de crecimiento entre los 2 y los 3 años de edad.
- Entre los 9 y los 12 años de edad, los valores de los distintos subtipos de células B ya han descendido hasta los valores que se mantendrán en la edad adulta.

Las células NK disminuyen desde el 20% al nacimiento hasta el 7% en los primeros meses de vida y, a partir de los 2 años, aumentan progresivamente hasta mantenerse en torno al 13% en la edad adulta [334]. Las células dendríticas mieloides se mantendrían estables con los años, presentando valores

similares en niños y adultos, mientras que las células dendríticas plasmocitoides, disminuirían desde los primeros meses hasta los 18 años de edad [348].

Durante la edad adulta el sistema inmune también experimenta continuas modificaciones. Algunas de ellas presentan ciertas diferencias entre hombres y mujeres, debido a la influencia de factores hormonales [349]. El sistema inmune sufre un proceso de envejecimiento en el cual se modifica el número de linfocitos circulantes, y disminuye notablemente la intensidad de la respuesta de las células T, B, dendríticas, macrófagos y NK al contacto con las infecciones [338]. Se ha observado que, con la edad, aumenta el riesgo de desarrollar infecciones, tumores malignos y enfermedades autoinmunes, todo ello derivado del deterioro en el funcionamiento del sistema inmune con la senectud [350, 351]. Este deterioro también se acompaña de una menor respuesta a las vacunaciones y de un proceso de inflamación crónica de bajo grado, que ha sido investigado en los últimos años y al cual se ha otorgado el nombre de *inflammaging* [350, 351].

3.3. CONCEPTO DE ENFERMEDAD AUTOINMUNE

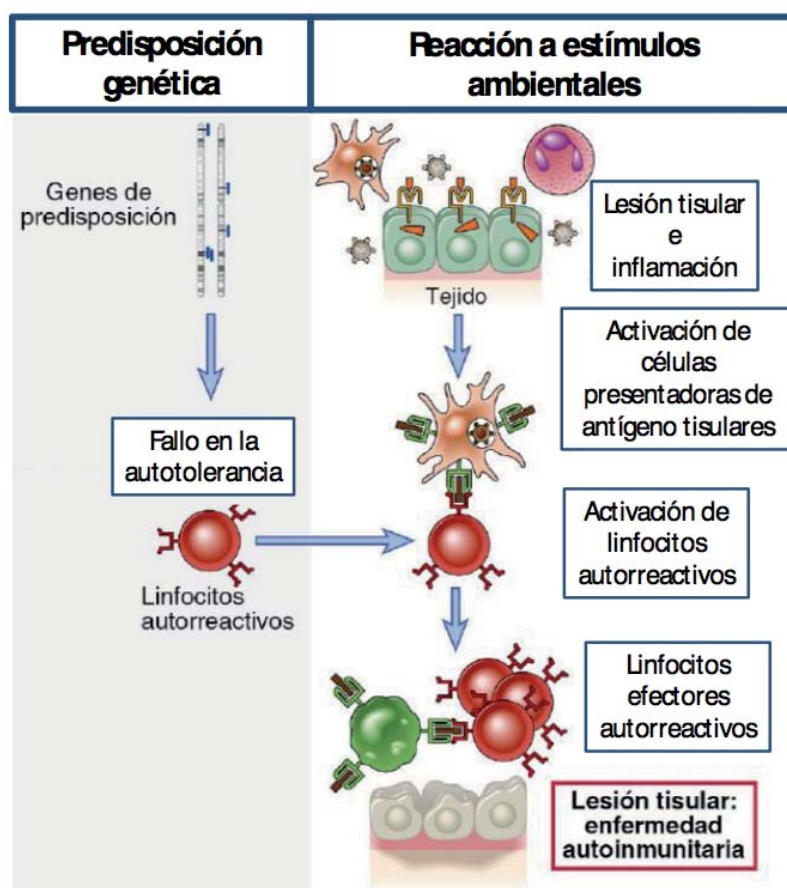
Una enfermedad autoinmune es una enfermedad en la cual se produce daño en un tejido, o en la cual existe una disfunción orgánica, debido a una respuesta del sistema inmune contra antígenos propios del organismo. Las enfermedades autoinmunes se producen por un desequilibrio en el sistema inmune, que pierde el equilibrio entre la capacidad de protegerse de los agentes externos y la capacidad de tolerar los tejidos propios. Pueden ser enfermedades órgano-específicas o bien pueden afectar a múltiples órganos [52, 331].

El origen de la mayor parte de las enfermedades autoinmunes es desconocido. Algunas enfermedades son causadas por una mutación en un gen concreto que conlleva una grave disfunción del sistema inmune. Otras, en cambio, son causadas por la producción de anticuerpos específicos contra un tejido determinado, y que son los que originarán daño en ese tejido.

La mayor parte de las enfermedades autoinmunes, incluyendo la AIJ, son de origen multifactorial. La hipótesis más aceptada sustenta que son enfermedades que se producen en sujetos genéticamente predispuestos (susceptibles), en los cuales intervienen factores ambientales (p.ej. infecciones, tóxicos) que favorecen el desencadenar una respuesta inmune anómala y que, además, esta respuesta disfuncional no puede ser frenada (p.ej. intervienen tanto células T como células B, como células

presentadoras de antígeno y el mecanismo concreto que causa la disfunción suele ser desconocido). En la Figura 7 se presenta un ejemplo de los mecanismos implicados en las enfermedades autoinmunes.

Figura 7. Mecanismos implicados en la autoinmunidad. Ejemplo de modelo de autoinmunidad órgano específica mediada por el linfocito T.



Extraído y adaptado de [331].

3.4. DESREGULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE EN LA AIJ

En la AIJ se han descrito un gran número de alteraciones en el sistema inmune que explicarían parcialmente la etiopatogenia de la enfermedad. Algunas de estas alteraciones se han observado también en otras artritis crónicas propias de los adultos, como por ejemplo en la artritis reumatoide. [17]. El presente trabajo de tesis doctoral se centra en el estudio de la AIJ no sistémica. Por este motivo a continuación se profundiza en el conocimiento actual de las alteraciones descritas en los componentes del sistema inmune de los pacientes con AIJ, con excepción de la AIJ sistémica.

3.4.1. Células del sistema inmune

En general, en las artritis crónicas autoinmunes, las alteraciones más relevantes en las células del sistema inmune se han descrito en el líquido y en la membrana sinovial. La AIJ, y también la AR, son enfermedades autoinmunes y la articulación es su principal órgano diana. En muchos casos, la AIJ presenta síntomas locales limitados a una o bien a pocas articulaciones.

La infiltración de la membrana sinovial en los pacientes con AR por células linfoides e inflamatorias es un hecho ampliamente demostrado. En la mayoría de los casos, se trataría de un infiltrado desorganizado de células T CD4+ y CD8+, células B, macrófagos y monocitos [352, 353]. En otras ocasiones puede tratarse de un infiltrado bien organizado de células T y B agrupadas, que podría presentar o no un centro germinal [353]. Este infiltrado formaría estructuras linfoides terciarias, con una organización celular similar a la observada en los órganos linfoides secundarios, pero ectópico [354]. Estas estructuras comprenderían células T, B y células dendríticas foliculares, que estarían bien organizadas tanto a nivel estructural como molecular, presentando un patrón de expresión característico de citoquinas, quimiocinas y moléculas de adhesión [354]. El 25% de las estructuras linfoides terciarias contienen un centro germinal organizado por las células B, lo cual sugiere que son estructuras inmunológicamente competentes capaces de contribuir al proceso inflamatorio local [352, 353, 355]. Estas estructuras linfoides se han observado tanto en enfermedades autoinmunes como en procesos infecciosos [353, 356].

Las alteraciones observadas en la membrana sinovial de los pacientes con AIJ, son similares a las observadas en los pacientes con AR. Los pacientes con AIJ presentan una mayor intensidad de infiltrado celular inflamatorio, con mayor número de células plasmáticas que los pacientes con AR [357]. El tejido sinovial presentaría hiperplasia e hipertrofia con aumento de la vascularización y de los fenómenos pro-angiogénicos y un infiltrado de células linfoides T y B, células dendríticas, plasmáticas, monocitos y macrófagos [16, 357]. Este infiltrado, del mismo modo a lo observado en la AR, puede ser difuso o bien organizarse formando agregados celulares de células T y B, con o sin centro germinal [358]. En el infiltrado celular de la AIJ predominan las células Th1 y las células CD4+ activadas de memoria que, en ocasiones, se organizan alrededor de células presentadoras de antígenos [17, 359]. Este hecho refuerza la hipótesis de que la respuesta autorreactiva en la AIJ se inicie en las células T o B, en respuesta a un auto-antígeno y que, secundariamente, todo el sistema inmune participa en esta respuesta [16]. Probablemente, las células T son reclutadas en la articulación, donde serán activadas

y se polarizarán hacia los distintos subtipos [359]. Las células T de memoria son reclutadas en la articulación, independientemente del tipo de organización linfoidea que presente el infiltrado inflamatorio del tejido sinovial [358]. El infiltrado celular no presenta diferencias significativas según el subtipo de AIJ [352]. El tiempo de evolución de la AIJ no parece influir en las características del infiltrado inflamatorio en tejido sinovial [357].

Para conocer en mayor profundidad la etiopatogenia de estas enfermedades es importante conocer los cambios que se producen en la membrana y en el líquido sinovial, pero también es importante discernir qué alteraciones son detectables en sangre periférica. Tanto en la AIJ como en la AR se han observado diferencias en distintas subpoblaciones linfocitarias, en líquido sinovial y en sangre periférica. Los resultados obtenidos en sangre periférica son más controvertidos. Las distintas técnicas de laboratorio y análisis utilizados explicarían, al menos en parte, por qué no se han detectado diferencias en algunos estudios. En la AIJ se han investigado diferencias en el inmunofenotipo linfocitario que podrían estar relacionadas con la etiopatogenia de la enfermedad, otras con el distinto fenotipo de la AIJ, tanto en cuanto a la distinta gravedad de la AIJ como a los distintos subtipos clínicos. A continuación, se detalla la información de la que disponemos actualmente, centrándonos especialmente en las alteraciones observadas en sangre periférica en los pacientes con AIJ.

Papel de las células T en la AIJ

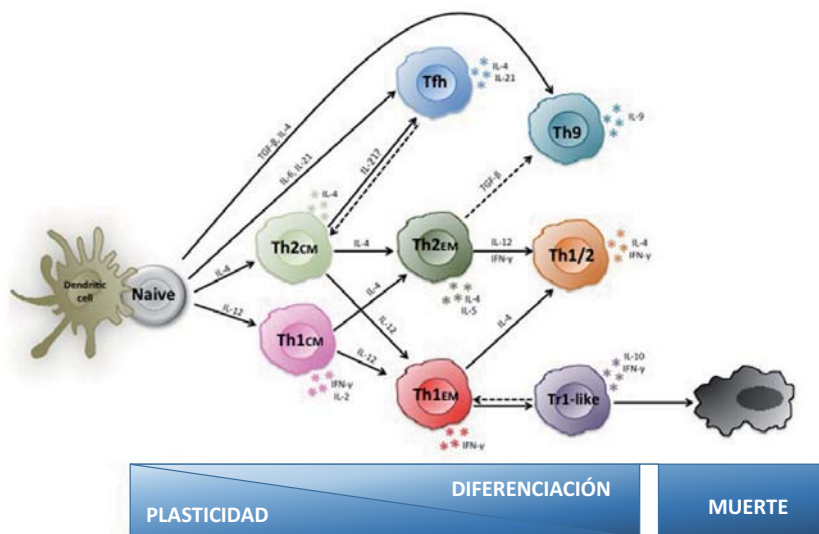
Las células T parecen tener un papel de importancia en la etiopatogenia tanto de la AIJ como de la AR. Al analizar los datos disponibles, observamos que la mayor parte de diferencias relevantes se han descrito en líquido sinovial, mientras que los resultados obtenidos en sangre periférica son más debatidos.

En los pacientes con AR, por ejemplo, hay estudios de sangre periférica en los que no se han observado diferencias en el global de células T entre los pacientes y los controles sanos [360]. Sin embargo, en otros estudios en paciente con AR, también realizados en sangre periférica, se ha observado [361]:

- un aumento en la frecuencia de marcadores de activación en las células CD4+
- un aumento de las células Th17 en relación a las células T reguladoras en los pacientes con una AR activa (el tratamiento con anti-IL-6 normalizaría la ratio)
- una expansión de células citotóxicas diferenciadas CD4+CD28- en AR grave o con manifestaciones extraarticulares

Las distintas subpoblaciones de células T no son poblaciones celulares inmóviles y totalmente definidas. Por un lado, se acepta que existe un gran número de células efectoras especializadas en distintas funciones y, por el otro, cada vez existe mayor evidencia científica de que existe una gran plasticidad en las células T y de que existen estadios de transición en cada uno de los subtipos [362]. Las células T reguladoras, y las células T colaboradoras Th17, Th1 y Th2 participarían en conjunto como una comunidad de células T que estaría cambiando en constantemente [16]. La plasticidad de las células T depende del ambiente que las rodea. En un ambiente inflamatorio como, por ejemplo, el que se encuentra en las articulaciones inflamadas de los pacientes con artritis, disminuye la regulación de las células T que se diferenciarán hacia subtipos efectores (Figura 8). Las citoquinas que condicionan “el ambiente” celular proceden de las células dendríticas, de otras células del sistema inmune y de las propias células T [362]. Estas citoquinas y la intensidad con la que sea estimulado el receptor de la célula T (TCR, *T cell receptor*) regularán la diferenciación de la célula T *naïve* hacia los distintos subtipos de células T (Figura 8).

Figura 8. Diferenciación de las células T según el estímulo ambiental.



Extraído y adaptado de [363].

El ser humano está continuamente expuesto a multitud de patógenos, y éstos inducen respuestas específicas en las células T. Las células CD4+ tendrían un papel central en la respuesta inmune adaptativa porque regulan la respuesta de las células T citotóxicas y por el papel en la auto-tolerancia de las células T CD4+ reguladoras [396]. Por este motivo, se postula que podrían ser de especial relevancia también en la AIJ. En la respuesta inmune adaptativa están implicados multitud de subtipos de células CD4+ (p.ej. efectoras, de memoria, reguladoras), cada una de ellas con distintas propiedades en cuanto a la producción de citoquinas y a la migración a los tejidos afectados. Algunos de estos

subtipos celulares no están completamente diferenciados, tienen gran plasticidad y su efecto depende de las respuestas inmunes secundarias que se hayan iniciado. Por ejemplo, las células T colaboradoras pueden adquirir funciones reguladoras en tejidos que se encuentran crónicamente inflamados [396].

Las células T se considera que intervienen de forma relevante en la AIJ. Actualmente, se asume que la respuesta inmune autorreactiva en esta entidad, se desencadena inicialmente como una respuesta adaptativa a un auto-antígeno a través de células T o B. Existen varios hechos que refuerzan esta hipótesis. Por ejemplo, en la inflamación de la membrana sinovial de los pacientes con AIJ, las células de memoria activadas se acumulan alrededor de las células presentadoras de antígeno [16]. También se ha demostrado un mayor enriquecimiento de células Th17 en líquido sinovial de las articulaciones inflamadas, y la frecuencia de estas células parece correlacionarse con la severidad de la enfermedad. Sin embargo, esta asociación no ha sido demostrada en sangre periférica [364]. En algunos de los estudios realizados en sangre periférica no se han observado diferencias entre las poblaciones de células T de los pacientes con AIJ. Por ejemplo, en un estudio del año 1.998 se compararon 23 pacientes con AIJ con 23 controles sanos de mismo sexo y edad, no observándose diferencias relevantes en las células T: los linfocitos T (CD3+) y las proporciones de CD4+ y de CD8 eran muy similares en ambos grupos; la respuesta de los linfocitos T a la fitohemaglutinina (PHA) tampoco mostró diferencias [365].

El líquido sinovial, al ser el órgano diana, es donde se han observado las mayores alteraciones. En los pacientes con AIJ oligoarticular activa se demostró una disminución en la ratio CD4/CD8, es decir, una expansión de las células CD8+ en líquido sinovial [366, 367]. En concreto, en uno de los estudios se observó que una ratio CD4/CD8 < 0,67 se relacionaba con una probabilidad más de 2,5 veces superior a desarrollar una AIJ oligoarticular de mayor gravedad, de curso extendido [366]. También se ha observado, en los pacientes con AIJ en remisión, un aumento en la ratio CD4/CD8 [368]. Al tener en cuenta los valores de la ratio CD4/CD8, especialmente en sangre periférica, hay que considerar que esta ratio está sujeta a la influencia de factores genéticos y que, además, se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación a la edad y al género [338].

El porcentaje de células T CD4+ secretoras de GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) es significativamente superior en líquido sinovial en AIJ (24,1%), respecto a la sangre periférica en AIJ (5,4%) y respecto a los controles sanos (2,9%) [369]. Sus valores se correlacionaban con la VSG y con la proteína GM-CSF. Por otro lado, sólo las células que expresaban CD161+ estaban enriquecidas con GM-CSF, y se observaron aumentadas en la articulación respecto a la sangre periférica. Se

comprobó que el CD161+ era expresado por células T Th17 y también por las Th1, exTh17. Se sabía que las células Th17 secretan GM-CSF pero en este estudio se demostró que la IL-12 regula la plasticidad de las Th17 hacia un fenotipo GM-CSF+. Esta regulación no dependía de la IL-23 aunque es de la misma familia que la IL-12 y se ha demostrado patogénica en el ratón. La plasticidad de las Th17 contribuiría a mantener la inflamación persistente aumentando los niveles de GM-CSF. La plasticidad de las Th17 sería clave para la producción de GM-CSF dentro de la articulación [369].

Las células T reguladoras, tal y como se ha comentado previamente, son un subtipo de células T CD4+ de especial importancia para mantener la auto-tolerancia y para evitar la respuesta autoinmune [413]. Existen varios datos que indican el papel o la disfunción de las células T reguladoras en los distintos subtipos de AIJ [340]. El hecho de que un paciente con AIJ pueda remitir, también sugiere la posible implicación de estas células en la enfermedad [16]. Al estudiar muestras de líquido sinovial y sangre de pacientes con AIJ en remisión, se observó que las células CD4+CD25^{bright} activamente regulan la inflamación en las articulaciones de estos niños [368]. En los pacientes con AIJ en remisión, se ha observado un aumento de células T reguladoras, tanto de las derivadas del timo como de las inducidas por antígenos, además de un aumento de las células T reguladoras que expresan CD27 y CD39 en el líquido sinovial y un aumento de T reguladoras que expresan hsp60+ en líquido sinovial y en sangre [16]. Las células T reguladoras se han visto aumentadas en las zonas de la inflamación, tanto en la AIJ como en la AR y, una posible explicación sería que su cantidad y/o su funcionamiento no sea suficiente para controlar la enfermedad activa.

Las células T colaboradoras (Th17) expresan el factor de transcripción RORc y (*RAR-related orphan receptor gamma*) su relación con las células T reguladoras es determinante en el proceso de inflamación articular [16]. Las células Th17 son CD4+ y expresan IL-17, GM-CSF, TNF α y IFN- γ , citoquinas proinflamatorias activadoras de los neutrófilos [370]. En las articulaciones inflamadas de los niños con AIJ habría más células Th17, hecho que se relaciona con la gravedad de la enfermedad. En un estudio en el que se investigaba el papel de las células Th17 productoras de IL-17 en la AIJ (n=36 niños con AIJ y n= 11 controles) se demostró que había un mayor número de estas células en las articulaciones afectadas, con respecto a la sangre periférica de los pacientes o de los controles sanos [364]. También identificaron que hasta un 46,8% de estas células Th17 productoras de IL-17, producían IFN- γ e IL-22. Estas células Th17 se expresaban en mayor proporción en los niños con formas poliarticulares respecto a los oligoarticulares, indicando su relación con la gravedad de la AIJ [364]. Las células Th17 también se expresan de forma aumentada en la sangre de los pacientes con artritis

psoriásica y espondiloartritis, en comparación con los pacientes con AR [371]. Las Th17 pueden aumentar también los niveles de GM-CSF, que es un potente mediador proinflamatorio dentro de la articulación inflamada, aunque no son las únicas células que lo expresan [369]. El fenotipo de células T que expresarían el GM-CSF en las enfermedades autoinmunes sería el de “ex célula T” que co-expresan CD161 e IFN- γ , no expresan IL-17 y expresan el factor de transcripción RORC2 [369]. La IL-12 tiene un papel en la plasticidad de las células Th17 hacia un fenotipo GM-CSF +. La plasticidad de las células Th17 así como la desregulación entre el número de células T productoras de IL-17 y de células T reguladoras FOXP3+ en la articulación, contribuyen a la persistencia de la artritis [355, 364]. En los últimos años se ha constatado que existe una estrecha relación entre las células Th17 y las células T reguladoras [371]. La relación entre ambos tipos celulares es inversa: los mecanismos que promueven las células T reguladoras inhiben las Th17 y viceversa. El equilibrio entre ambas, de nuevo, está condicionado por las citoquinas del ambiente. Incluso en caso de estar sometidas a un ambiente inflamatorio, se ha demostrado que las células T reguladoras podrían convertirse en células Th17 y, a su vez, las células Th17 podrían cambiar su fenotipo a células T reguladoras o células Th1 [371].

En varios estudios se ha observado un mayor número de células CD4+ y de células CD8+ en sangre periférica en los pacientes con AIJ con respecto a los controles, pero sin diferenciar a que subtipo pertenecían y sin llegar a ser un aumento estadísticamente significativo [372, 373]. En los pacientes con AIJ el número de células CD4+, CD4+CD25+ y CD8+ estaría aumentado en el líquido sinovial con respecto a la sangre periférica [374]. En varios estudios previos, se ha observado un aumento de células T activadas, con mayor expresión de CD25 y de HLA-DR en la membrana y líquido sinovial de los pacientes con AIJ [373]. En sangre periférica los resultados son discordantes. En dos estudios previos se observó una mayor expresión de HLA-DR en células T [375] y, en uno de ellos, este aumento se relacionaba con los niveles de IgG [373]. En cambio, en otros estudios, en los pacientes con AIJ no se observó una mayor expresión de HLA-DR ni de CD25 en sangre periférica [376]. En cambio, sí se ha observado un aumento de la expresión de HLA-DR en líquido sinovial con respecto a la sangre periférica de pacientes con AIJ [377]. El aumento de expresión de HLA-DR en líquido sinovial no se correlacionó con un aumento en sangre periférica, no observando diferencias con los controles [378], o bien observando una diferencia que no alcanzaba la significación estadística [372]. Estos resultados aparentemente contradictorios observados podrían ser debidos al distinto número de pacientes utilizado en los estudios previos, a la diferencia en el tipo de controles, y a la diferencia en el tipo de reactivos y técnicas utilizadas.

En resumen, los diferentes subtipos de células T podrían estar implicados en la etiopatogenia de la AIJ. Cada vez está más constatado que estas células, en especial las células T reguladoras, Th17, Th1 y Th2, no son entidades individuales, sino que actúan como una comunidad de células T que están en constante cambio, en un equilibrio dinámico en el cual influyen las células y el ambiente químico que las rodea, y que todas ellas intervienen en mayor o menor medida en la patogenia de la AIJ [16, 355]. La gran complejidad que suponen estas redes de células T, ponen de manifiesto las dificultades que conlleva el estudio de las mismas.

Papel de las células B en la AIJ

Las células B podrían tener un papel importante en las artritis crónicas inflamatorias, incluyendo la AIJ. Parte de su efecto podría estar relacionado con su producción de autoanticuerpos y, la otra parte, podría estar más relacionada con la secreción de citoquinas y con su papel como células presentadoras de antígeno y como organizadoras de otras células inflamatorias [356, 379, 380].

En los pacientes con AR las células B serían de especial importancia porque ellas producen el FR y los anticuerpos anti-CCP [379]. Ambos son indicadores de actividad de la enfermedad e incluso de daño tisular. A pesar de esto, los datos observados en sangre periférica en cuanto a los subtipos de células B en pacientes con AR son controvertidos. En algunos estudios no se han observado cambios en las células B entre los pacientes con AR y los controles, en otros, sin embargo, se han observado cambios significativos en algunas subpoblaciones de células B [380, 381]. En ocasiones las diferencias observadas son incluso opuestas entre estudios. Algunas de las diferencias observadas entre los estudios existentes en AR se explicarían principalmente por:

- la distinta caracterización de los subtipos de células B en los trabajos publicados
- las diferencias técnicas en los marcadores y métodos utilizados para caracterizar las células
- el distinto tamaño muestral en los estudios
- las diferencias en el tipo de pacientes estudiados, tanto en lo referente a los tratamientos administrados, como en lo referente a las características clínicas y biológicas de los mismos

Los pacientes con AR presentarían en sangre periférica un descenso en la proporción de células B pre-switch de memoria CD27+IgD+, con respecto a los controles [381]. Además, se observó un aumento en la proporción de células B post-switch de memoria CD27+IgD- en los pacientes con AR de larga evolución, con respecto a los de corta evolución [381]. En una cohorte de 208 pacientes con AR se observó un descenso global de células B y de las células B switch de memoria CD27+IgD- pero no se

observaron cambios en las proporciones de células B de memoria y *naïve*, ni tampoco en las células CD27+IgD+ [360]. Se observó que tanto las células B de memoria pre-switch CD27+IgD+ como las post-switch CD27+IgD- se acumulaban en la membrana sinovial de los pacientes con AR [381]. Los descensos observados en las células B periféricas de memoria podrían indicar una migración de estas células B al tejido sinovial, donde se acumularían y activarían [360].

En otro estudio de pacientes con AR (N=42) se observó un aumento en las células CD27+ en los pacientes con AR y FR negativo, con respecto a los controles y a los pacientes con FR positivo [382]. En concreto, el aumento correspondía a las células B de memoria CD27+IgD+ [382]. También se ha descrito que los pacientes con AR (N=96) presentarían una linfopenia global de células B con respecto a los controles [379]. Los pacientes con una AR activa presentaron mayores proporciones de células B de memoria CD27+IgD+, CD27-IgD- y CD27+, que aquellos pacientes con una AR con un bajo nivel de actividad [379].

Las células B también podrían tener un papel en la AIJ. El número de células B estaría aumentado en sangre periférica de los pacientes con AIJ con respecto al líquido sinovial [374]. Las células B de memoria activadas actuarían como células presentadoras de antígeno, en el líquido sinovial de los pacientes con AIJ, activarían a las células T y amplificarían la respuesta patológica de estas células T durante la inflamación [383]. Los pacientes con AIJ de inicio temprano tienen aumentada la expresión de varios genes relacionados con las células B, que no se observa en los pacientes con AIJ de inicio tardío [384]. En el líquido sinovial de pacientes con AIJ activa, se observó también una menor proporción de células B [366].

El análisis de las poblaciones linfocitarias circulantes de células B no demuestra diferencias entre los sujetos pediátricos sanos y con AIJ en todos los estudios. En algunos no se han observado diferencias en las células B totales circulantes, las células B *naïve* ni tampoco en las células B de memoria [385]. En un estudio se observó un aumento, no significativo, de células B totales en pacientes con AIJ oligo y poliarticulares con respecto a los controles [373]. En otros trabajos, se observaron diferencias en un perfil particular de células B CD5+. Se trataría de células B autorreactivas, con una mayor expresión del receptor de células B, y capaces de producir autoanticuerpos [385]. Se observó un aumento de linfocitos B CD5+ en los pacientes con AIJ en general [385], en el subtipo de AIJ oligoarticular y poliarticular [373], independientemente del subtipo de la AIJ y de la actividad clínica [386], o bien en el subtipo de AIJ poliarticular y correlacionado con la actividad clínica [387].

El análisis de las poblaciones linfocitarias circulantes de células B no demostró diferencias entre sujetos pediátricos sanos y con AIJ en las células B totales circulantes, en las células B naïve, ni tampoco en las células B de memoria [385]. En un trabajo se observó un aumento, no significativo, de células B totales en pacientes con AIJ oligo y poliarticulares, con respecto a los controles [373]. En otros estudios, se observaron diferencias en un perfil particular de células B CD5+. Se trataría de células B autoreactivas, con una mayor expresión del receptor de células B, y capaces de producir de autoanticuerpos [385]. En estos estudios, se observó un aumento de linfocitos B CD5+ en los pacientes con AIJ en general [385], en el subtipo de AIJ oligoarticular y poliarticular [373], independientemente del subtipo de la AIJ y de la actividad clínica [386], o bien en el subtipo de AIJ poliarticular y correlacionado con la actividad clínica [387]. Probablemente, las células B puedan tener un papel en la patogenia de la AIJ.

Papel de las células dendríticas, *natural killers* y monocitos en la AIJ

Existen datos que apuntan una posible implicación de las células dendríticas, de los monocitos y de los macrófagos en la etiopatogenia de la AIJ, si bien es una relación que no ha sido completamente demostrada.

Las células dendríticas podrían tener un papel en la etiopatogenia de la AR. Las células dendríticas foliculares no forman parte de las células de la membrana sinovial sana [353]. Sin embargo, en la membrana sinovial de los pacientes con AR, las células dendríticas foliculares se han encontrado formando parte de las estructuras linfoides terciarias, bien organizadas, con centro germinal [353]. Estas células no se observan en las agrupaciones de células T y B de membrana sinovial que no contienen centro germinal. Las células foliculares dendríticas segregan la quimiocina CXCL13 (*chemokine C-X-C motif ligand 13*), que atraería a las células B a las zonas inflamadas para formar estas estructuras linfoides terciarias [388]. Las estructuras linfoides organizadas con centro germinal, producen una cantidad de citoquinas y quimiocinas proinflamatorias muy superior a la producida por las estructuras desorganizadas. Esto sugiere que estas estructuras son importantes para mantener una respuesta inmunológica y un ambiente inflamatorio en la articulación [354].

En cuanto a las células dendríticas, en los sujetos con AIJ se ha observado una disminución significativa en la cifra de células dendríticas, tanto la global, como en los subtipos de células mieloides y plasmocitoides [389]. Además, también se observó que las cifras más bajas de células dendríticas en sangre pre-tratamiento se asociaban con mayor actividad de la enfermedad y con peores respuestas al tratamiento farmacológico [389]. Por otro lado, en los pacientes con AIJ se ha observado un

aumento en la apoptosis de los linfocitos en sangre periférica, que estaba directamente relacionado con depleción de células dendríticas en sangre y con el mayor número de células dendríticas en líquido sinovial [374]. En los pacientes con AR también se había observado un menor número de células dendríticas mieloides y plasmocitoides en sangre periférica [390]. Las menores cifras de células dendríticas en pacientes con AR se relacionaron con una mayor elevación en los reactantes de fase aguda (PCR) [390]. Esto es similar a lo que se ha observado en la AIJ [389].

En un modelo animal de artritis colágena utilizado para emular los pacientes con AR, la depleción de células dendríticas plasmocitoides en sangre periférica se asoció con una mayor severidad en la artritis [391]. En los ratones con depleción de células dendríticas no se observó una alteración en el número de células T reguladoras, ni tampoco en la activación o en la regulación de las células T. En cambio, en ellos sí se observó un aumento significativo de autoantígenos, que sugerían una importante alteración en la auto-tolerancia. Los autores sugieren que la presentación de antígenos por las células dendríticas plasmocitoides, probablemente, inhibiría la adquisición de funciones efectoras en las células T que son activadas por las células dendríticas mieloides [391].

Sin embargo, con respecto a los valores observados en la sangre periférica de sujetos pediátricos sanos, habría una expansión de células dendríticas en el líquido sinovial de los sujetos pediátricos con AIJ [389]. El número total de células dendríticas en líquido sinovial aumentaba cuanto mayor era el número de células CD4+CD25+ [374]. En el líquido sinovial, se observaron mayores números de células dendríticas en los pacientes con AIJ poliarticular respecto a la AIJ oligoarticular. También se observó que los pacientes con alta actividad de la AIJ presentaban mayores valores en las células dendríticas de líquido sinovial que los pacientes con baja actividad, y que las células dendríticas del líquido sinovial en los sujetos con AIJ eran más maduras fenotípicamente que las de sangre periférica [389]. Esto es contrario a lo observado en el líquido sinovial de los pacientes con AR [390].

Las células NK en los pacientes con AIJ oligoarticular se observó que, en líquido sinovial, expresaban con mayor frecuencia el fenotipo CD16- que en sangre periférica [366]. La disminución en la expresión de CD16 en las células NK en la articulación inflamada, había sido previamente descrito en la AR [392].

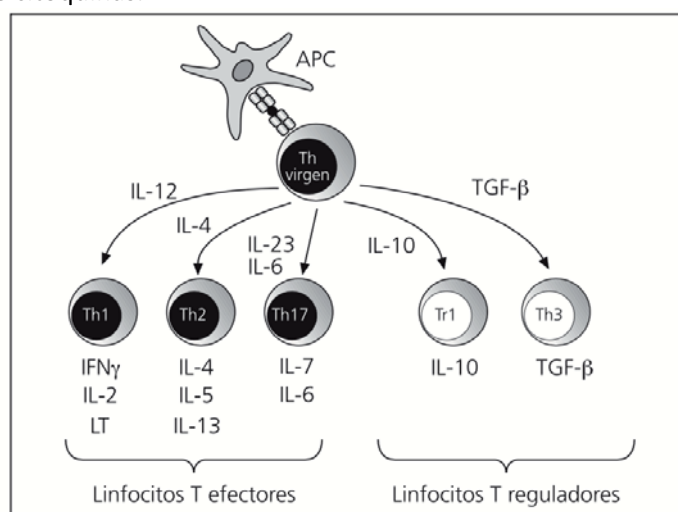
Los monocitos en la AIJ podrían tener algunas de sus funciones disminuidas. En un estudio que comparaba los datos en sangre periférica de pacientes con AIJ con controles sanos, de mismo género y edad, se observó que los monocitos en los pacientes con AIJ tenían menor expresión de receptores

de IgG (FcR), una menor actividad de reducción de nitro-tetrazólino azul y una expresión disminuida de los determinantes del MHC clase II Ia7 [365].

3.4.2. Citoquinas

Las citoquinas son proteínas reguladoras de la respuesta inflamatoria y/o antiinflamatoria del sistema inmune. Estas moléculas se producen en distintas células como los linfocitos, los macrófagos, las células polimorfonucleares, las endoteliales del tejido conjuntivo y del tejido adiposo, entre otras. A su vez, una vez secretadas, intervienen directamente en la estimulación y diferenciación de los linfocitos que, como ya hemos visto, tienen un papel fundamental en la AIJ. Por ejemplo, según el estímulo de citoquinas que reciba el linfocito T, en el momento de su diferenciación, favorecerá que se produzca una mayor subpoblación linfocitos T efectores o reguladores (Figura 9), lo cual influirá en el estado inmunológico del individuo (p.ej. podría condicionar una tendencia a mantener un estado pro-inflamatorio).

Figura 9. Clasificación de los linfocitos T helper activados, cuya diferenciación se ve influida por los distintos estímulos de citoquinas.



Extraído de [393]

En los pacientes con AIJ, existen distintos estudios que relacionan los niveles de citoquinas en sangre y en líquido sinovial con la enfermedad [17]. En cambio, los resultados obtenidos en los estudios realizados en pacientes con AIJ no sistémica son, en muchos casos, poco concluyentes e incluso contradictorios [394, 395]. Probablemente, el motivo de la heterogeneidad en los resultados observados sean los distintos tipos de muestras (suero o plasma), obtenidas de pacientes clasificados de distintas forma y procesadas mediante distintas técnicas de laboratorio en cada uno de los estudios

[352]. Las citoquinas son inestables, porque experimentan grandes variaciones en 24 horas y se degradan fácilmente [395]. La mayor evidencia científica la encontramos con las citoquinas IL-6 y TNF α , que han sido identificadas en altas concentraciones en líquido sinovial y en sangre, y en las cuales también se ha descrito la implicación de sus polimorfismos en la AIJ [395]. Se ha descrito una mayor concentración de IL-6 y de TNF α , tanto en el suero como en el líquido sinovial, con respecto a los controles [59]. Los valores de IL-6 y de TNF α se correlacionaban con los reactantes de fase aguda y, más recientemente, se ha corroborado que la IL-6 se correlaciona también con el estado de actividad de la enfermedad según los índices validados para la AIJ [396]. Las terapias anti-TNF α son fármacos de gran efectividad clínica en el control de la AIJ, lo cual sugiere que el TNF α es una citoquina implicada en la etiopatogenia de la enfermedad [209]. También se ha descrito un descenso en sangre de las concentraciones de IL-10 en los pacientes con AIJ activa, que revertiría durante la remisión y con el tratamiento con fármacos anti- TNF α [397, 398].

En la AIJ habría un déficit en la producción de citoquinas antiinflamatorias derivadas de las Th2, como por ejemplo la IL-4, siendo este déficit más evidente en el líquido sinovial de las articulaciones afectadas [58]. Por otro lado, el déficit de IL-2 parece no estar relacionado con la patogénesis de la AIJ. La IL-17, producida por las células Th17, estaría especialmente implicada en la AIJ ARE. Al estudiar las muestras en líquido sinovial de pacientes con AIJ, se vio que presentaban mayores concentraciones de IL-17 los pacientes con AIJ ARE y con AIJ poliarticular [399]. En los pacientes con AIJ ARE la concentración de IL-17 se correlacionaba con la actividad de la enfermedad, con una mayor secreción de citoquinas proinflamatorias como la IL-6 y la IL-8 debida a la estimulación de los fibroblastos presentes en la membrana sinovial, y con una mayor producción de metaloproteasas. También se ha relacionado la presencia de mayores concentraciones de IL-17 en la articulación con formas más extendidas de artritis [364].

En la AIJ, las citoquinas son moléculas que actuarían además como mediadoras en la producción del daño articular, pues son capaces de producir la secreción de enzimas proteolíticas del hueso y del cartílago como, por ejemplo, las metaloproteasas. Tal y como se ha explicado previamente, existe evidencia científica que relaciona la presencia de distintos polimorfismos en las regiones codificantes y no codificantes de los genes de algunas citoquinas y de los receptores de las mismas, con el riesgo a desarrollar una AIJ. De hecho, los polimorfismos en estos genes de citoquinas se han relacionado con enfermedades autoinmunes y con otras situaciones clínicas como la respuesta a las infecciones o a la vacunación [400].

3.5. TRATAMIENTOS INMUNOSUPRESORES

Está demostrado que los fármacos inmunomoduladores son eficaces en el tratamiento de la AIJ. Tal y como se ha comentado previamente, los mecanismos exactos por los que estos fármacos son efectivos en las artritis inflamatorias crónicas, no son del todo conocidos. Tampoco se conocen los mecanismos exactos por los cuales unos pacientes experimentan más efectos adversos que otros, o por los cuales en algunos pacientes, un determinado fármaco es más efectivo que otro. Probablemente, en la eficacia y en la toxicidad de los fármacos inmunomoduladores, los factores genéticos tengan una especial importancia [401, 402]. Sería interesante poder disponer de biomarcadores fáciles de implementar en la práctica clínica, que nos ayudaran a predecir la respuesta clínica y el riesgo de toxicidad de un determinado paciente con un fármaco concreto [403].

A continuación, se detalla el conocimiento del que disponemos actualmente con respecto a la influencia de los fármacos inmunomoduladores (en especial el MTX y las terapias anti-TNF α) en las poblaciones linfocitarias, tanto en su número como en su función, y en como la respuesta del sistema inmune puede influir en la eficacia de las terapias anti-TNF α (la inmunogenicidad).

3.5.1. Influencia de los tratamientos inmunosupresores en las poblaciones celulares

La influencia de los tratamientos inmunomoduladores sobre las células T y las células B ha sido estudiado en las últimas décadas. La importancia de su efecto en estas células, reside en la implicación de las células T y B en la etiopatogenia de la AIJ y de otras artritis autoinmunes. En el presente apartado se comentarán los hallazgos más relevantes en cuanto a la influencia del MTX y de las terapias anti-TNF α en las células T y B.

Los efectos citotóxicos del MTX a las altas dosis administradas en el tratamiento de las neoplasias son bien conocidos [403]. Entre ellos se encuentra la pancitopenia. El efecto del MTX a dosis bajas es lo que aún hoy en día genera más incógnitas. Por ejemplo, es bien conocido que, *in vivo*, el efecto del MTX a dosis bajas es acumulativo, constatando su eficacia cuando el paciente ha recibido el tratamiento durante varios meses. La toxicidad del MTX administrado a dosis bajas se consigue contrarrestar, con dosis también bajas de ácido fólico que, además, no interfieren en la eficacia del fármaco [403].

Por su efecto sobre el metabolismo del folato, se ha demostrado que el MTX induce apoptosis *ex vivo* en las células T activadas de los pacientes con AR [403, 404]. De todos modos, en la práctica clínica en pacientes con AR también se demostró que administrar ácido fólico, incluso diariamente, no disminuía la eficacia del MTX. Por lo que, a pesar de los estudios, la evidencia clínica sugiere que el mecanismo del MTX sobre la vía del folato no es el de mayor relevancia en su eficacia en la AR [403].

El efecto del MTX sobre la vía de la adenosina podría estar más relacionado con la eficacia del fármaco a dosis bajas [403]. El MTX, en los pacientes con AR, induciría a las células T reguladoras CD39+ a producir adenosina, lo cual generaría un ambiente de mayor tolerancia inmunológica [403, 405]. En AR se observó que los pacientes que no respondían al MTX tenían una expresión de CD39+ en las células T reguladoras significativamente inferior que los que sí respondían [405]. Recientemente, en un estudio en el cual se seguían durante 3 años a 17 pacientes con AR que iniciaban el tratamiento con MTX, no se observaron diferencias importantes en la mayor parte de las poblaciones linfocitarias estudiadas y sólo se observó una reducción significativa de las células CD4+CD29+ [406].

El MTX, en la AIJ, afecta las células T efectoras, pero no altera la función ni el fenotipo de las células T reguladoras [407]. En la AIJ aumentan el número de células T reguladoras que *in vitro* suprimen CD4+CD8+. *In vivo* sería más difícil por el ambiente inflamatorio. Los pacientes con AIJ que reciben tratamiento con MTX presentan un aumento en el número de células T reguladoras *in vitro* e induce apoptosis en células T activas [407]. Sin embargo, *in vivo* en la AIJ, el número de células T reguladoras a los 6 meses de tratamiento era significativamente inferior que al inicio. El número de células T reguladoras no se relacionó con la actividad clínica de la AIJ [407]. El número de estas células tampoco se correlacionaba con la respuesta al fármaco. El MTX aumentaba la frecuencia de las células CD4+ y CD8+ *naïve* a los 6 meses (aumenta el número de células T proliferativas), independientemente de la respuesta al fármaco. El MTX no atenuaba las células T efectoras, que seguían igual de activas y secretando citoquinas de la misma forma. El MTX en AIJ disminuiría la IL-6 pero aumenta el IFN derivado de células T [407]. En la AR, el MTX también había demostrado disminuir la prevalencia de células Th17 [408].

En un estudio realizado en pacientes con lupus eritematoso sistémico y lupus cutáneo, se observó que el tratamiento prolongado con dosis bajas de MTX causaría un descenso en la cifra total de linfocitos B después del tratamiento prolongado [409]. Además, también se observó un descenso en los títulos de autoanticuerpos en los pacientes que habían recibido el MTX durante un largo período. En este

estudio no se observó un efecto en las células B a corto plazo, ni tampoco un efecto en las células T. Sin embargo, en otro estudio realizado en pacientes con AR, se observó un descenso significativo en el número de linfocitos B y T ya en las primeras 12 semanas desde el inicio del tratamiento con MTX [410].

Se ha demostrado que distintas poblaciones de células T, experimentarían cambios durante el tratamiento con terapias anti-TNF- α y que, algunos de estos cambios, explicarían parte de su efecto terapéutico. En los pacientes con AR se ha descrito un aumento en la frecuencia de células T reguladoras tras iniciar el tratamiento con anti-TNF- α [411]. En concreto, el tratamiento con ADA se ha descrito que, en los pacientes respondedores, induciría la diferenciación de una población estable y activa de células T reguladoras, que inhibirían el efecto de las células Th17 [412].

El tratamiento anti-TNF- α también podría tener un efecto sobre las células efectoras [413]. Se postula que las células T reguladoras no serían capaces de controlar la inflamación en la AIJ, debido a una hiperactivación de la vía PKB/c-akt en las células T efectoras [414]. En este estudio se constató que las células T reguladoras de la sangre periférica y de la articulación de los pacientes con AIJ eran funcionales. Sin embargo, las células efectoras eran resistentes a esta inhibición, y no debido a que las células T efectoras presentaran un fenotipo de memoria, ni tampoco a que las células presentadoras de antígeno estuvieran activándolas. La activación de la vía PKB/c-akt estaba inhibida en las células efectoras en parte por la acción de la IL-6 y del TNF α e, inhibir estas citoquinas, mejoraba la respuesta a la regulación [414]. Posteriormente, esta última afirmación se confirmó *in vitro* analizando las células de líquido sinovial e, *in vivo*, analizando la sangre periférica de los pacientes con AIJ [415]. Mientras el tratamiento con anti-IL-6 mejoraba la capacidad supresora de las células T reguladoras en algunas de las muestras de líquido sinovial, el tratamiento anti-TNF α (ETN) claramente aumentaba la capacidad supresora de las células T reguladoras, especialmente sobre las células CD8+. En presencia de ETN, se reducía la activación de las células T efectoras vía PKB/c-akt y, como resultado, éstas eran más susceptibles de ser inhibidas, lo cual demuestra que el tratamiento con anti-TNF α , disminuye la resistencia de las células T efectoras a ser inhibidas [415].

En los pacientes con AIJ que recibían tratamiento con fármacos anti-TNF α , se observó que el ETN inhibía la expansión de las células Th1 y aumentaba las proporciones de células Th17 y Th1-Th17 [148]. También en la AR, se había descrito un efecto similar al observado en la AIJ, de los fármacos anti-TNF α del ETN sobre las células T helper [149]. En cambio, en otros estudios en AR los datos son discordantes.

Se ha descrito que el ETN no afectaría al número ni a la función de las células T reguladoras y tampoco cambiarían las respuestas de las células Th17 [412]. Por otro lado, también se ha descrito que el ETN aumentaría el porcentaje de células Th1, disminuiría el de Th2, aumentaría la frecuencia de T reguladoras y no modificarían las Th17 [408]. En cambio, el IFX y el ADA aumentarían la prevalencia de células Th2 [408].

El mecanismo por el cual, parte de la eficacia de los fármacos anti-TNF α podría ser debida a un efecto sobre las células B, no ha sido completamente dilucidado. Existen datos que sugieren que las terapias anti-TNF α causarían una disfunción en las células B, a través de su efecto sobre las células dendríticas foliculares y de la disrupción en la formación y mantenimiento de los centros germinales [416]. En AR se ha demostrado que el tratamiento con distintas terapias anti-TNF α (ETN, ADA, IFX) disminuye la presencia de estructuras linfoides ectópicas en la membrana sinovial y que esto se correlaciona con una buena respuesta clínica [354]. En cambio, los datos disponibles actualmente en cuanto a las observaciones en sangre periférica no son homogéneos.

El ETN en la AIJ no se ha demostrado que tenga un efecto directo sobre las células B [417]. En un estudio se analizó, mediante citometría de flujo, el perfil inmunofenotípico de células B y de células T foliculares en 110 pacientes pediátricos con AIJ, que recibían distintas pautas de tratamiento: sin tratamiento, AINES, MTX, ETN, o ETN y MTX [417]. En los pacientes con AIJ se observó un aumento en las células T foliculares en los pacientes que recibían tratamiento, tanto con anti-TNF α como con MTX [417]. Se observó que los pacientes que recibían tratamiento combinado con terapias anti-TNF α y MTX eran los que presentaban mayores valores de estas células, sugiriendo un efecto aditivo en estas terapias. También se objetivó un número significativamente inferior de células B transicionales, en los pacientes con AIJ que recibían tratamiento con MTX, con respecto a los que recibían ETN o los que no recibían terapia de base. Por otra parte se observó que en los pacientes que recibían tratamiento con MTX había un descenso en el número total de linfocitos B y de células B *naïve* [417]. En otros estudios de pacientes con AR, no se observaron cambios en las poblaciones de células B tras empezar el tratamiento con MTX [381].

En un estudio realizado en pacientes con AR, se observó que los pacientes tratados con terapias anti-TNF α aumentaban globalmente las proporciones de células B, sin modificar los subtipos [379]. En este estudio, también se observó que los pacientes con mayores proporciones de células B de memoria CD27+ presentaban mejor respuesta al tratamiento anti-TNF α [379]. También en los pacientes con AR,

se observó que el tratamiento con MTX y con IFX aumentaba significativamente la proporción de células B de memoria CD27+IgD+ con respecto al basal [381]. El aumento de las células B de memoria con el tratamiento anti-TNF α es más relevante en los pacientes con AR y FR negativo [382]. Sin embargo, en otro estudio, los pacientes con AR tratados con terapias anti-TNF α presentaban un número y porcentaje de células B CD27+ de memoria significativamente inferior que los controles y que los pacientes tratados con MTX [416]. También presentaban un menor número de células B de memoria IgD+IgM+ y de células *switch* de memoria, y un aumento en las células B *naïve* y en las células B transicionales, con respecto a los pacientes tratados con MTX [416].

En resumen, hemos podido comprobar que las distintas terapias inmunomoduladoras tienen efectos en el metabolismo de las células del sistema inmune que pueden condicionar cambios sobre las poblaciones celulares. Estos efectos aún no han sido completamente concretados. Además de esto, las poblaciones celulares basales del paciente también podrían influir sobre la eficacia de los tratamientos.

3.5.2. Inmunogenicidad

En la presente tesis doctoral se investiga si existe una respuesta inmunogénica diferencial entre los pacientes pediátricos y adultos con AIJ en tratamiento anti-TNF α . Por este motivo, resulta de especial importancia exponer el concepto de inmunogenicidad y los datos que se han obtenido previamente en otras enfermedades.

3.5.2.1. Concepto y mecanismo de inmunogenicidad

Las terapias anti-TNF α son muy eficaces para el tratamiento de las artritis inflamatorias crónicas, incluyendo la AIJ. Son terapias inmunomoduladoras que ejercen su efecto uniéndose al TNF α , impidiendo que éste se una a su receptor y desencadene una respuesta inflamatoria. Miles de pacientes en todo el mundo han recibido tratamiento con estas terapias y se ha observado que, algunos de ellos, tras una buena respuesta clínica inicial, presentaban una pérdida de eficacia a lo largo del tratamiento [418]. La pérdida de eficacia a los fármacos anti-TNF α se ha relacionado con la inmunogenicidad frente al fármaco.

La inmunogenicidad se define como la formación de anticuerpos dirigidos frente a una proteína. La inmunogenicidad sería una respuesta “normal” del sistema inmune, que actuaría contra un elemento que identifica como “intruso”. Los fármacos anti-TNF α son proteicos, por lo tanto, pueden desencadenar una respuesta en el sistema inmune no deseada, en la cual se generarían anticuerpos contra estos fármacos [419]. Esto conllevaría la formación de anticuerpos contra el fármaco y a una rápida eliminación del mismo. La concentración de fármaco anti-TNF α , aparentemente, se correlacionaría con la eficacia, con lo que concentraciones séricas muy bajas de fármaco anti-TNF α , podrían estar relacionadas con su falta de eficacia [419, 420]. Por este motivo, la determinación de las concentraciones en sangre de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco anti-TNF α puede ser clínicamente relevante.

Estos anticuerpos anti-fármaco pueden ser neutralizantes o no neutralizantes. Los neutralizantes, reducen la eficacia del fármaco actuando contra los idiotipos (que son las zonas de unión del fármaco con el ligando), con lo que se inhibe su acción terapéutica [421]. Los anticuerpos no neutralizantes, en principio, no afectan al mecanismo de acción del fármaco porque se unen al fármaco por una zona distinta que la que reconoce al ligando [419]. Los anticuerpos no neutralizantes formarían inmunocomplejos circulantes con el fármaco, que aceleran la eliminación del fármaco y reducen su biodisponibilidad. Por otro lado, los inmunocomplejos también aumentarían las probabilidades de que los pacientes desarrollaran reacciones de hipersensibilidad tipo III y otros efectos adversos [418].

La respuesta inmunogénica puede estar influida por múltiples factores entre los que destacan [419, 420, 422-424]:

- **Cuestiones técnicas:** tipo de ensayo utilizado, tiempo en el que se obtiene la muestra, tiempo de exposición al fármaco.
- **Factores relacionados con el fármaco:** propiedades estructurales del fármaco, contaminantes durante la formulación, origen humano o animal, capacidad de unión a la diana, epítomos de células T.
- **Características del individuo:** inmunocompetencia del paciente, predisposición genética, factores desconocidos, la enfermedad subyacente.
- **Factores relacionados con el tratamiento:** dosis y frecuencia de administración del fármaco, vía de administración, uso concomitante de fármacos inmunomoduladores.

No todos los fármacos anti-TNF α son igual de inmunogénicos. Su estructura bioquímica y su origen determinan en gran parte la respuesta que el sistema inmune tendrá hacia ellos. Por ejemplo, el ETN es un fármaco cuya respuesta inmunogénica, debido fundamentalmente a su estructura química, es muy inferior a la observada con el IFX o con el ADA [424, 425]. El ETN no produciría anticuerpos neutralizantes, por lo tanto, los anticuerpos anti-ETN no inhibirían la actividad del fármaco y tampoco se relacionan con una mayor tasa de efectos adversos [426]. La relevancia clínica de estos anticuerpos no ha sido determinada, porque aún no ha sido demostrado que causen la pérdida de eficacia del fármaco, ni tampoco que su presencia se relacione con una peor respuesta al ETN [426, 427].

En el caso del ADA, todos los anticuerpos anti-ADA son anticuerpos anti-idiotipo. Por lo tanto, todos los anticuerpos anti-ADA son neutralizantes y, directamente, inhibirían la acción del fármaco porque van dirigidos contra la región de unión al TNF α [418]. Por lo tanto, estos anticuerpos pueden provocar que el tratamiento no sea efectivo o deje de serlo en el paciente. Los anticuerpos se producirían en distintas células precursoras de células B después de experimentar una extensa hipermutación somática. Son anticuerpos que pertenecerían a los isotipos IgG1 e IgG4 [418]. Dado que todos los anticuerpos anti-ADA son neutralizantes, es difícil explicar por qué no se ha demostrado una pérdida de eficacia en todos los pacientes que producen anticuerpos anti-ADA. Una posible hipótesis es que la pérdida de eficacia dependa de la magnitud de la producción de los anticuerpos, es decir, que el ADA sólo pierda eficacia en los pacientes que producen grandes concentraciones de anticuerpos anti-ADA [418]. Los anticuerpos anti-IFX también serían, por lo menos en su mayoría, neutralizantes [428].

Los anticuerpos anti-fármaco, son específicos para ese fármaco. Por ejemplo, los anticuerpos anti-ADA son específicos para ADA y no presentan una reactividad cruzada con el IFX [418, 429]. Como es lógico, distinto es el caso de los biosimilares. Recientemente se ha demostrado que tanto en la AR [430], como en la enfermedad de Crohn [429], los anticuerpos anti-IFX sí reaccionan de forma cruzada con los fármacos biosimilares del IFX. Por lo tanto, un cambio de IFX a biosimilar de IFX en un paciente que haya producido anticuerpos anti-IFX, no estaría indicado.

Por último, la producción de anticuerpos anti fármacos anti-TNF α es un proceso dinámico. Los anticuerpos, en un mismo paciente que recibe el mismo tratamiento, pueden detectarse y desaparecer en posteriores determinaciones, o bien pueden detectarse de forma constante [419, 431]. Las diferencias en la trascendencia clínica de la inmunogenicidad persistente o temporal no ha sido todavía estudiada.

3.5.2.2. Inmunogenicidad de los fármacos anti-TNF α en las enfermedades inflamatorias crónicas

La influencia de la inmunogenicidad en la respuesta clínica a los fármacos anti-TNF α , en los últimos años, ha sido ampliamente estudiada en enfermedades inmunomediadas como la AR o la enfermedad inflamatoria intestinal.

Una extensa revisión de la literatura publicada en el año 2013, revisaba la evidencia existente desde el año 1994 hasta el año 2012, en cuanto a la inmunogenicidad de las terapias anti-TNF α en distintas enfermedades (AR, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, psoriasis y artritis psoriásica) [423]. En ella se recogía, por ejemplo, que la presencia de anticuerpos anti-ADA en distintas enfermedades inmunomediadas, se había registrado en un porcentaje muy variable de pacientes, desde el 0,04% hasta el 87%. Los motivos de esta gran variación en los resultados serían los factores expuestos en el anterior apartado, pudiendo considerar los de mayor relevancia: el tiempo de duración del estudio, la presencia tratamiento concomitante y la técnica de laboratorio utilizada [423, 424]. La presencia de estos anticuerpos anti-ADA, en la mayor parte de los estudios publicados, se asocia con una pérdida de eficacia del fármaco y con menores concentraciones en sangre de ADA, aunque no se observó una asociación con el incremento de los efectos adversos de este fármaco [423, 424, 432].

El ETN y al ADA exhiben una respuesta clínica similar en pacientes con artritis reumatoide (AR) pero, en el caso de ADA, la eficacia va directamente relacionada con la producción de anticuerpos anti-ADA [433] y, en cambio, los anticuerpos anti-ETN son detectables en un muy bajo porcentaje de pacientes [433]. La presencia de anticuerpos anti-ADA se ha demostrado entre un 20%-30% de los pacientes [423, 433, 434]. Los anticuerpos anti-ADA se desarrollarían de forma temprana, siendo detectables en las primeras semanas en el 67% de los pacientes que los producirán a lo largo de 3 años [434]. Las concentraciones séricas de ADA eran muy superiores en los pacientes que no producían anticuerpos anti-ADA, con respecto a los pacientes que sí producían anticuerpos anti-ADA [433, 434]. Además, los pacientes en los que se detectan concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA tienen una mayor actividad de la enfermedad, siendo menos probable que se encuentren en remisión clínica o con una mínima actividad de la enfermedad [433]. Por lo tanto, la presencia de anticuerpos anti-ADA en la AR se relaciona con una peor respuesta clínica [434].

El tratamiento con ETN, en los pacientes con AR, tendría una tasa de adherencia a los 4 años mayor que el ADA y, uno de los motivos, es porque no genera anticuerpos neutralizantes anti-ETN [433]. Un bajo porcentaje de los pacientes con AR que reciben ETN desarrollaría anticuerpos anti-ETN, entre un 0% y un 6% de los pacientes, según los estudios [423, 426, 427]. La presencia de anticuerpos anti-ETN no causaría un efecto en la eficacia del fármaco, ni tampoco aumentaría el porcentaje de efectos adversos [423]. Parece que podría haber una relación positiva entre las concentraciones séricas de ETN y la respuesta clínica: los pacientes que alcanzan mejores tasas de respuesta EULAR son los pacientes con mayores concentraciones séricas de ETN [435]. Este hecho no ha sido replicado en todos los estudios, por lo tanto, los datos disponibles con respecto a la relación entre la concentración de ETN y la respuesta clínica son controvertidos.

El tratamiento con IFX, en los pacientes con AR, también puede condicionar una respuesta inmunogénica, habiendo observado la presencia de anticuerpos anti-IFX entre un 10% y un 50% de los pacientes de los distintos estudios [423]. La presencia de anticuerpos anti-IFX se relaciona con menores concentraciones plasmáticas de IFX, con una peor respuesta clínica, con un aumento de las reacciones infusionales y podría disminuir con el tratamiento concomitante con FAMEs [423]. Estas asociaciones con el IFX son incluso clínicamente más evidentes que las observadas con el tratamiento con ADA [423, 436]. En los pacientes con AR en tratamiento con IFX se observó que administrar una mayor dosis de IFX disminuía la probabilidad de desarrollar anticuerpos anti-IFX [437]. En un ensayo clínico del año 1.998, el porcentaje de pacientes que producían anticuerpos anti-IFX variaba de un 53%, a un 21% y un 7% según si recibían, respectivamente, la dosis de 1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg de IFX endovenoso [437]. Por lo tanto, mayores dosis de IFX inducirían una mayor inmunotolerancia al fármaco y un menor riesgo de desarrollar anticuerpos contra el mismo.

En los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, especialmente en la enfermedad de Crohn, también se ha estudiado la influencia de la inmunogenicidad en la pérdida de eficacia de las terapias anti-TNF α . Cuando estos pacientes reciben tratamiento con IFX, entre un 6% y un 55% de los pacientes desarrollan anticuerpos anti-IFX [423]. La presencia de estos anticuerpos se relaciona con reacciones infusionales entre el 6,9% y el 19% de los pacientes [438]. En la enfermedad de Crohn ha sido ampliamente demostrado, que el uso concomitante del IFX con MTX o con la AZA disminuye la prevalencia de anticuerpos anti-IFX y mejora la farmacocinética del fármaco [423, 439]. Aunque la evidencia es menos robusta con el ADA, los datos disponibles también parecen indicar que administrar tratamiento con FAMEs, disminuiría la inmunogenicidad del fármaco [423]. En esta enfermedad,

alcanzar una mayor concentración sérica de fármaco anti-TNF α (IFX, ADA y certolizumab) se relaciona con obtener mejores tasas de respuesta, mayor remisión clínica y endoscópica y menores valores en la PCR [440]. La presencia de anticuerpos anti-fármaco anti-TNF α también se relaciona con una mayor eliminación del fármaco, una pérdida de eficacia y una mayor tasa de reacciones infusionales (especialmente con el IFX) [432, 440].

Tanto en los pacientes con AR como en los pacientes con enfermedad de Crohn, la producción de anticuerpos anti-TNF α se produciría de forma temprana. Los anticuerpos anti-IFX serían detectables ya en las 5 primeras infusiones [438] y los anticuerpos anti-ADA en las primeras 28 semanas desde el inicio del tratamiento [434].

En otras enfermedades inmunomediadas como la espondilitis anquilosante, la psoriasis o la artritis psoriásica, también se ha demostrado que el uso de terapias anti-TNF α puede producir una respuesta inmunogénica, aunque, la información disponible, es menos robusta de la que disponemos en Crohn o en AR.

Los pacientes con espondilitis anquilosante presentan, aproximadamente, anticuerpos anti-IFX en un 15-29%, anti-ADA entre un 30%-63% y no se han detectado anticuerpos anti-ETN [423, 424]. La presencia de anticuerpos contra estos fármacos se relacionó con menores concentraciones de fármaco y con una mayor actividad de la enfermedad [425].

Los pacientes con psoriasis cutánea presentan la presencia de anticuerpos anti-ADA entre un 6%-45%, anti-IFX entre un 15%-52% y anti-ETN entre un 1%-18,3% de los pacientes que recibían el tratamiento [423]. Las concentraciones de anticuerpos anti-ADA y anti-IFX en los pacientes con psoriasis se asoció con menores concentraciones séricas de fármaco y con una peor respuesta clínica [423, 441]. Este hecho no se demostró en los pacientes que presentaban positividad para los anticuerpos anti-ETN.

Por último, en los pacientes con artritis psoriásica, se detectó la presencia de anticuerpos anti-IFX en un 15%, anti-ADA en un 18% y no se detectaron anticuerpos anti-ETN [423]. La presencia de anticuerpos anti-ADA y anti-IFX se asoció con menores concentraciones séricas de fármaco y con una peor respuesta clínica.

3.5.2.3. Inmunogenicidad de los fármacos anti-TNF α en la AIJ

Las terapias anti-TNF α también pueden presentar una respuesta inmunogénica en los pacientes con AIJ. En resumen, los datos disponibles en AIJ, sugieren que la respuesta inmunogénica al:

- ETN no tiene una repercusión clínica demostrable
- ADA e IFX resulta clínicamente relevante porque se asocia a pérdida de eficacia, a disminución de las concentraciones séricas del fármaco y a las reacciones infusionales

A continuación, se detallan los datos de los que disponemos en la literatura científica actual referentes a la respuesta inmunogénica al ETN, ADA e IFX en pacientes con AIJ.

El primer ensayo clínico de **Etanercept**, realizado en pacientes con AIJ poliarticular, identificó la presencia de anticuerpos anti-ETN en el 2,9% de los pacientes [179]. Estos anticuerpos anti-ETN fueron no neutralizantes, transitorios y no se asociaron con una peor respuesta al fármaco. En un ensayo clínico de 12 semanas de duración, realizado en 127 pacientes con distintos subtipos de AIJ, se observó que los anticuerpos anti-ETN eran detectables en el 5,5% de los pacientes [181]. De nuevo, no se detectaron anticuerpos neutralizantes y, la presencia de los mismos, no afectó a la eficacia ni a la seguridad del fármaco. Sin embargo, en otro estudio reciente realizado en 40 niños con AIJ, no se detectó la presencia de anticuerpos anti-ETN [442]. Cabe destacar que, en la propia ficha técnica de ETN, se informa de la presencia de anticuerpos anti-ETN hasta en el 4,8% de los pacientes con AIJ durante los primeros 12 meses [443]. En la misma ficha técnica de ETN también se informa de que en niños de entre 10-17 años de edad, los niveles séricos de ETN fueron similares a los observados en adultos. Sin embargo, en niños pequeños, de unos 4 años el aclaramiento sería distinto y los niveles de ETN en sangre más bajos [443]. Sólo hemos identificado un estudio en el que se haya investigado la correlación entre la actividad clínica en la AIJ y la concentración sérica de ETN, concluyendo que ambos ítems no estaban correlacionados [442]. Sí se constató que la concentración sérica de ETN variaba en función de la dosis administrada.

El primer ensayo de **Adalimumab** en la AIJ poliarticular, administrado tanto en monoterapia como en terapia combinada con MTX, objetivó la presencia de anticuerpos anti-ADA en el 16% de los pacientes [182]. Posteriormente los anticuerpos anti-ADA se han descrito en entre el 10,9% y el 60% de los pacientes con distintos subtipos de AIJ, tratados con distintas pautas de ADA [444-446]. Los pacientes en tratamiento concomitante con MTX presentaron una menor probabilidad de producir anticuerpos

anti-ADA (entre el 6% y el 16%), frente a los pacientes en monoterapia con ADA, entre el 26% y el 60% produjeron anticuerpos anti-ADA [182, 446]. La presencia de anticuerpos anti-ADA se observó en el 32% de los pacientes con AIJ incluidos en un estudio con población española [447]. La presencia de anticuerpos anti-ADA no se asoció, o no se pudo confirmar su asociación, en la mayor parte de los estudios en AIJ con una mayor tasa de efectos adversos ni de discontinuaciones del tratamiento [182, 444, 446]. La presencia de anticuerpos anti-ADA no se ha demostrado asociada a una pérdida de eficacia en todos los estudios de AIJ, pero algunos datos indican que podría ser así [445]. Las concentraciones séricas de ADA también se relacionarían con la respuesta al fármaco, presentando una mejor respuesta clínica los pacientes con mayores concentraciones de ADA [445, 447]. Está descrito que un mayor porcentaje de los pacientes con uveítis activas presentaban positividad de los anticuerpos anti-ADA [447].

El **Infliximab** es un fármaco anti-TNF α que, debido a los resultados obtenidos en los ensayos clínicos en AIJ, su utilización no tiene indicación formal en esta enfermedad [448]. En los distintos ensayos clínicos publicados con IFX en pacientes con AIJ se detectaron anticuerpos anti-IFX entre el 23% y el 43% de ellos [185, 186, 428, 431]. De forma similar a lo observado en AR, la dosis administrada de IFX influía en el porcentaje de anticuerpos detectables. Los anticuerpos anti-IFX fueron detectables en el 38% de los pacientes que recibieron el IFX a dosis de 3 mg/kg, y en el 12% de los que lo recibieron a dosis de 6 mg/kg [185]. También los pacientes que recibían menos dosis del fármaco son los que presentaron mayores concentraciones de anticuerpos anti-IFX. En cuanto a la seguridad, las reacciones infusionales fueron más frecuentes en los pacientes en quienes los anticuerpos anti-IFX eran detectables [185, 186, 431]. Algunos datos indicaban que los pacientes que presentaban las mayores concentraciones de IFX en sangre son los que presentaban una mejor respuesta clínica [185]. Por otro lado, la presencia de anticuerpos anti-IFX en sangre se asociaba con una menor concentración sérica de IFX [428]. En un estudio reciente realizado en población pediátrica, iniciar el tratamiento a una edad más temprana e iniciarlo debido a la artritis en vez de a la uveítis, se asociaba con un mayor riesgo de desarrollar anticuerpos anti-IFX [431]. El motivo de esta última afirmación, probablemente, sea porque los pacientes con uveítis reciben el fármaco a mayor dosis que los pacientes con artritis.

3.5.2.4. Factores que influyen en la inmunogenicidad

Está demostrado que la respuesta inmunogénica puede verse afectada por distintos factores como, por ejemplo, la estructura molecular del fármaco utilizado, la dosis administrada del fármaco o el uso

de terapias concomitantes que regulen la producción de anticuerpos contra el fármaco. A continuación, se detallan algunos de estos factores.

El **uso concomitante de FAMEs** ha demostrado, claramente, ser uno de los factores que más interfieren en la inmunogenicidad de las terapias anti-TNF α [449]. Los FAMEs reducen la probabilidad de desarrollar anticuerpos anti-fármaco y ayudan a mantener concentraciones detectables de fármaco durante más tiempo, especialmente en los fármacos anti-TNF α monoclonales [438]. Por lo tanto, los pacientes en tratamiento anti-TNF α combinado con FAMEs, tendrían mayores concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y durante más tiempo, que los pacientes en monoterapia anti-TNF α [440]. Esto explica, por lo menos en parte, por qué algunos fármacos biológicos mejoran su perfil de eficacia cuando son administrados conjuntamente con FAMEs [437].

El MTX y la AZA son los fármacos en los que existe mayor evidencia clínica [432]. El efecto del MTX previniendo la formación de anticuerpos anti-fármaco se ha demostrado en AR, en enfermedad de Crohn, en artritis psoriásica, en espondiloartritis y, de forma menos robusta, en psoriasis [423]. El hecho de administrar FAMEs conjuntamente con IFX, disminuiría el riesgo de desarrollar anticuerpos anti-IFX tanto en los pacientes con AR [437], como en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal [438, 440]. Con el ADA y con el IFX, la concentración de anticuerpos anti-fármaco detectada, tanto mediante ELISA como mediante radioinmunoensayo, es superior en los pacientes en monoterapia que en los pacientes en terapia combinada con FAMEs [422]. El tratamiento concomitante con FAMEs favorecería la inmunotolerancia a las terapias anti-TNF α , mantiene la eficacia y prolonga la supervivencia del fármaco anti-TNF α en la AR [422].

En los adultos con enfermedad inflamatoria intestinal existe abundante evidencia científica de que el uso de FAMEs disminuye la inmunogenicidad de las terapias anti-TNF α [440]. Sin embargo, en los niños esta afirmación no ha sido confirmada. En una cohorte de 259 pacientes que recibieron IFX en edad pediátrica o adulta joven, no se observó que dosis bajas de MTX disminuyeran la producción de anticuerpos anti-IFX o ayudaran a mantener concentraciones séricas más elevadas de IFX [450]. Una posibilidad es que no se observara una reducción en la respuesta inmunogénica debido a la baja dosis de MTX que se utilizaron en el estudio. Existen publicaciones que indican que la forma en la que el MTX reduciría la respuesta inmunogénica de las terapias anti-TNF α sería dosis dependiente [451].

En la AIJ, el tratamiento concomitante con MTX también reduciría la respuesta inmunogénica al ADA, disminuyendo la presencia de anticuerpos anti-ADA [182, 445, 446]. Los pacientes en tratamiento concomitante con MTX presentan concentraciones de ADA superiores a las observadas en monoterapia [444].

No se ha determinado cuál de los FAMEs sería el que proporcionaría una mayor protección contra la inmunogenicidad [438]. Los datos disponibles permiten afirmar que el MTX disminuye la frecuencia de anticuerpos anti-fármaco en AR, Crohn y en Espondiloartritis [422]. La AZA en la enfermedad de Crohn también ha demostrado tener un efecto similar al del MTX, aunque son necesarios más datos para poder confirmarlo [422, 439]. Con otros fármacos FAMEs, como la LFN, no disponemos de suficiente evidencia para conocer su efecto sobre la inmunogenicidad de las terapias anti-TNF α .

Todavía no se han identificado completamente los mecanismos por los cuales los FAMEs disminuirían la inmunogenicidad de las terapias anti-TNF α [449]. En un estudio realizado en pacientes con AIJ, se observó que los que recibían tratamiento con MTX presentaban un menor número de células B transicionales y una menor concentración de inmunoglobulinas circulantes [417]. Esto podría indicar que el MTX influiría sobre la tolerancia de las células B. En otro estudio realizado en pacientes con lupus, se observó que el tratamiento prolongado con dosis bajas de MTX disminuía la cifra global de linfocitos B y los títulos de autoanticuerpos [409]. Se podría especular que, el MTX, interferiría en la capacidad potencial de estas células B de generar autoanticuerpos [417]. Algunas de las hipótesis acerca del mecanismo por el cual el MTX disminuye los autoanticuerpos serían por su acción inhibitoria sobre la IL-1 [452] o por su acción inhibitoria sobre la síntesis de purinas (que inhibiría las células B) [453].

La **dosis y frecuencia de administración del fármaco anti-TNF α** también es uno de los factores que influye en la inmunogenicidad. El utilizar una mayor concentración de fármaco anti-TNF α , o el administrarlo con mayor frecuencia, reduciría la respuesta inmunogénica tanto para el IFX como para el ADA [423]. Es decir, que al administrar mayores dosis de anti-TNF α disminuye la probabilidad de desarrollar anticuerpos antifármaco [422]. Esto se ha demostrado, especialmente, con el tratamiento con IFX, en el que menores dosis del fármaco se asociaban a mayor producción de anticuerpos y a mayores tasas de efectos adversos [185, 437]. En cambio, en otros estudios, intensificar las dosis del fármaco anti-TNF α no se relacionaban con una mejor eficacia clínica, ni disminuirla con una pérdida de respuesta [423].

La **técnica utilizada para la detección de anticuerpos antifármaco** es otro de los factores que modifican la detección de la respuesta inmunogénica a las terapias anti-TNF α . Se puede observar que las frecuencias de anticuerpos antifármaco varían enormemente entre los estudios. Esto es, en parte, debido a las diferencias en las técnicas de laboratorio utilizadas, las cuales no siempre son especificadas en la literatura [423]. La heterogeneidad en el tipo de técnicas dificulta la comparación entre los datos obtenidos en los distintos estudios. Cada una de las técnicas tiene distinta sensibilidad y especificidad para detectar la presencia de anticuerpos antifármaco [424]. Estas diferencias existen debido a la dificultad en medir anticuerpos anti-anticuerpos y debido a que se desconocen los epítomos inmunogénicos de cada fármaco [419].

El radioinmunoensayo y el ELISA serían los dos métodos más comúnmente utilizados para medir la presencia de anticuerpos antifármaco en sangre. Aunque no existe un método estandarizado, o de referencia, los ensayos utilizados en la literatura han sido validados, son reproducibles y pueden ser útiles en la práctica clínica [419]. El radioinmunoensayo sería la técnica más sensible, en la que menos influye la presencia de fármaco en sangre y es capaz de detectar anticuerpos IgG1 e IgG4, pero tiene el inconveniente de utilizar radioactividad [423]. El ELISA tipo sándwich es una técnica muy específica y ha sido la más frecuentemente utilizada debido a su bajo coste, a la posibilidad de automatización de la prueba y al alto rendimiento de la misma [422]. A pesar de ello, el test de ELISA tiene el inconveniente de no detectar anticuerpos IgG4, que también serían neutralizantes y se producen en respuesta al ADA, y de que su detección está interferida por la presencia del fármaco [454]. En presencia de fármaco, es más probable que se formen inmunocomplejos, que no permitan o dificulten la detección de los anticuerpos anti-fármaco con ambas técnicas [423]. Algunos estudios han solucionado “el problema” de los inmunocomplejos realizando una disociación previa de los mismos mediante cromatografía [455] o mediante un tratamiento ácido de las muestras [423, 456]. No obstante, conviene aclarar que una mayor detección del fármaco no siempre va relacionada con una mayor utilidad clínica, sino que puede darse la situación totalmente contraria. El ensayo de ELISA está admitido como el que mejor reflejaría la repercusión de la inmunogenicidad en un sentido clínico, es decir, la detección de anticuerpos mediante esta técnica se relaciona con menores concentraciones de fármaco y se traduce, con mayor frecuencia, en una pérdida de eficacia del mismo [457].

OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL

Analizar determinadas variaciones del sistema inmune en pacientes con Artritis Idiopática Juvenil pediátricos y adultos, en función de la actividad inflamatoria (determinada mediante la exploración clínica y ecográfica) y el tratamiento inmunosupresor.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Los objetivos secundarios del presente estudio son:

1. Determinar la correlación clínico-ecográfica del índice ecográfico poliarticular en el seguimiento clínico y la monitorización terapéutica de los pacientes con AIJ.
2. Determinar las diferencias en la correlación clínico-ecográfica en función de las características de los pacientes con AIJ.
3. Determinar las diferencias en el inmunofenotipo entre grupos de sujetos sanos y pacientes con AIJ, tanto pediátricos como adultos.
4. Determinar las diferencias en el inmunofenotipo en función del tratamiento inmunomodulador y entre pacientes pediátricos y adultos con AIJ.
5. Determinar las concentraciones séricas de los fármacos anti-TNF α y de los anticuerpos antifármaco en los pacientes pediátricos y adultos con AIJ.
6. Determinar la correlación entre la capacidad inmunogénica de los fármacos anti-TNF α y la respuesta terapéutica evaluada mediante índices clínicos y ecográficos.
7. Determinar las diferencias en el inmunofenotipo en los pacientes con AIJ y anticuerpos antifármaco positivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio prospectivo y no intervencionista de una cohorte de pacientes con Artritis Idiopática Juvenil procedentes de la Unidad de Reumatología Pediátrica, Sección de Reumatología, *Hospital Universitari Vall d'Hebron*.

El diseño varió en función del subestudio:

- Para el subestudio del inmunofenotipo celular se realizó un estudio transversal, con los datos obtenidos en la visita basal (S0).
- Para los subestudios de ecografía y de inmunogenicidad se realizó un estudio longitudinal con los datos obtenidos en las visitas: basal (S0), a los 6 meses (S24) y a los 12 meses (S48).

La duración del estudio fue de 24 meses. Durante el primer año se procedió al proceso de inclusión de los pacientes. Cada uno de los pacientes incluidos en el estudio fue seguido en consultas externas durante un periodo de un año. La visita de inclusión de estos pacientes se realizó entre los meses de abril del 2014 y marzo del 2015, ambos incluidos.

2. SUJETOS DEL ESTUDIO

A continuación, se describe la procedencia de todos los individuos incluidos en el presente proyecto de tesis doctoral. Se define la procedencia y los criterios de inclusión y de exclusión de cada grupo.

2.1. PACIENTES

Se incluyeron a todos los pacientes con AIJ que seguían controles en las consultas externas de la Unidad de Reumatología Pediátrica del *Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH)* y que cumplían con los criterios de inclusión y de exclusión. Los pacientes en edad pediátrica procedían de la consulta externa de Reumatología Pediátrica y los pacientes adultos jóvenes procedían de la consulta externa de transición. La inclusión de los pacientes se realizó de forma consecutiva a partir del primer paciente incluido que cumplía con todos los criterios.

Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión de los pacientes a estudio fueron los siguientes:

- a) Cumplir con los criterios de clasificación de AIJ de la ILAR para alguna de las siguientes categorías: oligoartritis (ya fuera persistente o extendida); poliartritis FR negativo; poliartritis FR positivo; artritis psoriásica; artritis relacionada con entesitis; artritis indiferenciada
- b) Recibir tratamiento con Metotrexato o con alguno de los siguientes fármacos anti-TNF α : Adalimumab, Etanercept e Infliximab. Los pacientes podían recibir tratamiento concomitante con antiinflamatorios no esteroideos, glucocorticoesteroides o infiltraciones intraarticulares
- c) Proceder de las consultas externas de la Unidad de Reumatología Pediátrica

Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión de los pacientes a estudio fueron los siguientes:

- a) Cumplir con los criterios de clasificación de la ILAR para el subtipo de AIJ Sistémica
- b) Recibir tratamiento con fármacos biológicos distintos a los mencionados en los criterios de inclusión
- c) No haber firmado el consentimiento informado en su propio nombre (p.ej. pacientes adultos) o su representante legal (p.ej. niños y adolescentes)

2.2. CONTROLES

Se incluyeron sujetos adultos y pediátricos sanos que no estuvieran diagnosticados de ninguna enfermedad autoinmune y que no tuvieran familiares de primer grado diagnosticados de enfermedad autoinmune conocida (p.ej. psoriasis). Los sujetos control, además, no debían presentar ni estar en estudio por ninguna infección activa ni tampoco por un proceso tumoral. De estos sujetos control se obtenía una única muestra de sangre, utilizada para poder realizar el análisis comparativo de los resultados del estudio de inmunofenotipo celular.

Los niños control eran niños sanos a los cuales se les iba a someter a un proceso quirúrgico programado debido a problemas de salud leves, ninguno de ellos de tipo inflamatorio ni infeccioso (p.ej. intervención quirúrgica de fimosis). En el contexto perioperatorio se les realizaba un análisis de sangre, con lo que se les solicitaba autorización para, en el momento de este análisis programado, extraer una pequeña cantidad de sangre adicional (2,5 mL). Para participar como controles del estudio los padres eran previamente informados, firmaban el consentimiento informado y los niños el asentimiento informado (verbal o escrito según la edad). Para ello contamos con la colaboración del Servicio de Anestesiología y de Cirugía Pediátricos.

Los sujetos control adultos fueron sujetos mayores de 16 años que tenían programado realizarse un análisis de control de salud de rutina. Se informó a los posibles candidatos y se les solicitó autorización por escrito (firmando el correspondiente consentimiento informado) para extraer una muestra de sangre adicional (4 mL) durante el análisis. Para ello contamos con la colaboración de la Unidad de Extracciones del HUVH.

Los criterios de inclusión y de exclusión de los sujetos control del estudio se describen a continuación.

Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión de los sujetos control a estudio fueron los siguientes:

- a) Para ser control del grupo pediátrico debía tratarse de niños y niñas menores de 16 años
- b) Para ser control del grupo de adultos jóvenes debía tratarse de adolescentes, o bien de adultos jóvenes, de 16 a 35 años
- c) Los controles y sus familiares de primer grado no debían tener antecedentes médicos relevantes conocidos

- d) Firmar el consentimiento y el asentimiento informados

Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión de los sujetos control a estudio fueron los siguientes:

- a) Sujeto diagnosticado de una enfermedad reumática o autoinmune conocida
- b) Familiar de primer grado diagnosticado de una enfermedad reumática o autoinmune conocida
- c) Presentar cualquier tipo de infección aguda o crónica conocida en el momento de la extracción (p.ej. portadores del virus de la inmunodeficiencia humana, del virus de la hepatitis C o amigdalitis de repetición)
- d) Estar en tratamiento con fármacos inmunosupresores
- e) Sujeto diagnosticado de cualquiera de las patologías que se enumeran a continuación:
 - Cromosopatías (p.ej. síndrome de Down, síndrome de Turner)
 - Malformaciones cardíacas o de la línea media (p.ej. síndrome de DiGeorge...)
 - Enfermedades oncológicas, hematológicas, o del sistema inmunitario (p.ej. cualquier inmunodeficiencia)
 - Malformaciones óseas que pueden darse como parte de otros síndromes (p.ej. displasias óseas, pie equino-varo)
 - Patología oftalmológica
 - Enfermedad neurológica (p.ej. enfermedades desmielinizantes)
 - Enfermedad inflamatoria intestinal
 - Alergia grave de causa no filiada
 - Lesiones cutáneas de causa inflamatoria

3. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

Los pacientes con AIJ fueron visitados según los controles clínicos rutinarios y en base a las necesidades asistenciales derivadas del estado clínico en el que se encontraran. Para realizar el presente proyecto de investigación se crearon dos consultas externas y así poder cumplir de forma adecuada con los objetivos del proyecto.

- Consulta Clínica del Proyecto
- Consulta Ecográfica del Proyecto (*idem* Gabinete de Ecografía musculo-esquelética)

Las visitas del estudio para los pacientes menores de 16 años se realizaron en la Consulta Clínica del Proyecto, situada en la planta 13 del edificio Materno-Infantil del HUVH. Se trata de un espacio de unos 15m² con camilla de exploración, mesa, ordenador, soporte para el ecógrafo y disponía del material necesario para la higiene y las exploraciones. Esta planta está dedicada a la investigación clínica y cuenta con una sala de enfermería, en la que se realizan las extracciones sanguíneas, y un laboratorio para el procesado de las muestras (p.ej. centrífuga para la extracción de suero). Las visitas del estudio realizadas a los pacientes adultos jóvenes se realizaron en una consulta adyacente a la del reumatólogo responsable de los pacientes (Dra. C. Modesto), situada en el edificio de Traumatología del HUVH. En esta consulta contábamos con una enfermera especializada en Reumatología (Sra. B. Alonso) quién realizaba las extracciones sanguíneas a los pacientes adultos.

La Consulta Ecográfica del Proyecto o Gabinete de Ecografía musculo-esquelético está situada en el edificio Módulo C del HUVH. Ocupa una superficie de unos 15m² y está especialmente habilitada para realizar las exploraciones ecográficas. Se dispone de una mesa de entrevista, soporte informático, camilla, mesa y sillas de exploración, material estéril, gel de ecografía y otros utensilios necesarios. Para el presente proyecto se utilizó el ecógrafo *Siemens Antares*, dotado de sonda multifrecuencia 8-12 MHz, color Doppler y power Doppler, situado en la Consulta Ecográfica del Proyecto. También se utilizó para el presente estudio el ecógrafo *General Electric GE-9*, un ecógrafo cuyas prestaciones son muy similares al anterior: sonda multifrecuencia 8-13 MHz, color Doppler y power Doppler, más sonda volumétrica (ecografía 3D). Ambos ecógrafos permiten almacenar las imágenes para su ulterior estudio, tanto fijas como dinámicas, y permiten la exportación de las imágenes a unidades de almacenamiento externas.

Los pacientes incluidos en el estudio, tanto niños como adultos, inicialmente acudían al gabinete tras la visita médica para realizarse la ecografía. Posteriormente, se trasladó uno de los ecógrafos y el material necesario, a la Consulta Clínica del Proyecto, con lo que facilitaba el realizar las exploraciones causando la menor espera posible al paciente. Con esto conseguimos realizar la visita médica rutinaria del paciente, la visita del estudio, el análisis de sangre y el estudio ecográfico poliarticular en unas 2-3 horas.

En la visita basal lo primero que se hizo fue informar al paciente y a los padres del paciente del estudio, entregar la hoja de información y obtener el consentimiento y el asentimiento informados (adaptados según la edad del paciente). Se firmaron dos hojas, una copia para el investigador y otra copia para el paciente/padres del paciente. En la primera visita o visita basal (S0), y las visitas de los 6 (S24) y los 12 meses (S48) se realizó:

- a) Exploración física completa
- b) Valoración de la actividad de la enfermedad
- c) Entrega de los cuestionarios de capacidad funcional
- d) Exploración ecográfica poliarticular
- e) Extracción sanguínea por venopunción

Revisión de las historias clínicas

En la visita basal (S0) se revisó que los pacientes cumplieran los criterios de inclusión y de exclusión. Se realizó un resumen de la historia clínica del paciente, a partir de la información anotada en la historia clínica en papel y en los cursos clínicos de su reumatólogo pediátrico responsable y de los otros especialistas que visitaban al paciente (p.ej. oftalmólogo pediátrico). Se recogieron con detalle los datos referentes al historial farmacológico del paciente, los antecedentes patológicos, las variables epidemiológicas y las relacionadas con la cronología, la evolución y las características de la AIJ.

3.1. EXPLORACIÓN FÍSICA COMPLETA

Se realizó una exploración física por aparatos en las visitas S0, S24 y S48 a todos los pacientes con AIJ que fueron incluidos en el estudio. Consistía en un registro de peso y talla, estado general del paciente, exploración del aparato cardiovascular, respiratorio, abdominal, neurológico, cutáneo y del aparato locomotor.

En la exploración física del aparato locomotor se exploraron las 71 articulaciones y se contabilizaron: el número de articulaciones dolorosas (NAD), número de articulaciones tumefactas (NAT), número de articulaciones limitadas (NAL) y número de articulaciones activas (tumefactas y/o limitadas y dolorosas; NAA). Se anotaron el número y la localización de las articulaciones cuya exploración física no era compatible con la normalidad. Se creó una plantilla con la finalidad de facilitar la obtención de los datos referidos a la exploración articular del paciente (Tabla 13).

En el caso de que alguna articulación presentara alteraciones debido a cualquier incidencia o patología no relacionadas con la AIJ (p.ej. fractura), se anotó la alteración pero no se contabilizó esa articulación. En el caso de que la articulación hubiera sido sustituida por una prótesis (p.ej. prótesis total de cadera), se anotó la alteración observada y tampoco se contabilizó la articulación (p.ej. no evaluable).

Los sujetos control no fueron explorados físicamente. En ellos se realizó una breve entrevista médica dirigida a identificar una patología relevante asociada tanto al propio sujeto control como a sus familiares de primer grado y se realizó una revisión de la historia clínica electrónica del propio individuo.

Tabla 13. Exploración física de las articulaciones de los pacientes con AIJ.

	Tumef.	Dolor	Limitada	Articulación	Tumef.	Dolor	Limitada
LADO DERECHO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Temporomandibular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		Esternoclavicular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		Acromioclavicular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Hombro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Codo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Carpó	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MCF I	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MCF II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MCF III	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MCF IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MCF V	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFP I	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFP II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFP III	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFP IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFP V	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFD II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFD III	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFD IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	IFD V	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cadera		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Rodilla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tobillo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MTF I	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MTF II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MTF III	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MTF IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MTF V	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dedo pie I	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dedo pie II	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dedo pie III	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dedo pie IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dedo pie V	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>		Sacroilíacas		<input type="checkbox"/>		
COLUMNA			Columna cervical		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
			Columna torácica		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
			Columna lumbar		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

IFP, interfalángica proximal; IFD interfalángica distal; MCF, metacarpofalángica; MTF metatarsofalángica; Tumef, articulación tumefacta.

3.2. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD

La valoración de la actividad de la enfermedad se realizó en base a determinados parámetros clínicos, y de laboratorio incluidos en la analítica de rutina. Se anotaron los siguientes parámetros:

Analítica de rutina

- Velocidad de sedimentación globular en mm/hora (VSG) y proteína C reactiva en mg/dL (PCR)

Exploración física

- En Reumatología pediátrica: número de articulaciones afectas (NAA, NAL, NAD y NAT)
- En Oftalmología pediátrica: estado de la actividad ocular (agudeza visual, Tyndall y flare)

Escalas analógicas visuales

- Valoración global de la actividad según el médico (VASm)
- Valoración global de la actividad según el paciente (VASp)
- Valoración global de la actividad según los padres del paciente (VASpp)

Posteriormente se calcularon los siguientes índices y criterios

- Índices JADAS 10, 27 y 71 (el JADAS clásico calculado utilizando la VSG, el JADAS calculado utilizando la PCR y el JADAS clínico sin los reactantes de fase aguda)
- Criterios de remisión clínica y de inactividad y, en caso de estar activos, se evaluaban los criterios de mínima, de moderada o de alta actividad

La valoración global de la actividad según el médico, el paciente o los padres del paciente, se calculó mediante una escala analógica visual en la que 0 era la mejor puntuación posible (no actividad) y 10 la peor puntuación posible (enfermedad muy activa).

Los índices JADAS, tal y como se había explicado previamente en el apartado de la introducción Evaluación de la actividad articular son índices compuestos creados para evaluar el estado de la actividad en los pacientes con AIJ. Los rangos de puntuaciones de estos índices son:

- JADAS VSG y JADAS PCR: puntuaciones de 0 a 40 para el JADAS 10; de 0 a 57 para el JADAS 27; y de 0 a 101 para el JADAS 71
- cJADAS: puntuaciones de 0-30 para el cJADAS 10; de 0-47 para el cJADAS 27; y de 0-91 para el cJADAS 71

Los distintos estados de actividad clínica de la AIJ (remisión, inactividad, mínima enfermedad, moderada y alta actividad) fueron también evaluados en cada una de las visitas del estudio. Los

criterios de definición de cada uno de ellos, han sido explicados previamente en el apartado de la introducción Evaluación de la actividad articular.

3.3. VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD FUNCIONAL

La evaluación de la capacidad funcional de los pacientes con AIJ se realizó mediante el cuestionario *Childhood Health Assessment Questionnaire* (CHAQ) en los niños, y mediante el *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) en los adultos. A los pacientes adolescentes se les administraron ambos cuestionarios. Tanto el CHAQ como el HAQ han sido traducidos al castellano y han demostrado una buena validez, reproductibilidad y factibilidad, así como una buena sensibilidad a los cambios. Ambos consisten en una serie de preguntas agrupadas en 8 ámbitos de la vida diaria: vestirse y asearse, levantarse, comer, caminar, higiene personal, destreza, prensión, actividades. En cada uno de los 8 ámbitos hay varias preguntas. De cada pregunta se obtiene una puntuación en función del grado de dificultad que tenga el paciente para realizar las actividades (ninguna=0, alguna=1, mucha=2, imposible de realizar=3 o no procede=no se puntúa la pregunta). Para cada ámbito se escoge la puntuación más alta y luego se corrige la puntuación en función de si el paciente necesita utensilios o ayudas externas para realizar sus actividades. El total de puntos obtenidos se divide entre 8. El rango del CHAQ y del HAQ es de mínimo 0 (ninguna limitación funcional) y máximo 3 (limitación funcional muy grave). Ambos cuestionarios se responden en unos 5-6 minutos. El CHAQ se incluye en el ANEXO I y el HAQ en el ANEXO II del presente proyecto.

3.4. EXPLORACIÓN ECOGRÁFICA POLIARTICULAR

La exploración ecográfica se realizó a todos los pacientes con AIJ incluidos en el subestudio, independientemente del tratamiento que siguieran. Se les practicó un estudio ecográfico poliarticular en el momento basal (S0), a los 6 meses (S24) y a los 12 meses (S48), el mismo día que la visita médica y la extracción sanguínea.

Se utilizaron dos índices ecográficos poliarticulares reducidos para determinar la actividad inflamatoria mediante imagen. Ambos índices habían sido previamente validados para su uso en artritis inflamatorias crónicas. En ellos cada articulación se evaluó de forma independiente mediante escala de grises y mediante señal power Doppler (PD), y utilizando distintos cortes anatómicos siguiendo el

protocolo aceptado y validado por la *European Society of Musculoskeletal Radiology* [458]. Para la asignación de las imágenes patológicas se siguieron las definiciones proporcionadas por la OMERACT (*Outcome Measures in Rheumatology*) [284].

La sinovitis articular se evaluó mediante escala de grises, considerando la presencia de derrame y de hipertrofia sinovial, y utilizando una escala semicuantitativa de 4 puntos:

- Grado 0 = normal, ausencia de sinovitis
- Grado 1= sinovitis leve
- Grado 2= sinovitis moderada
- Grado 3 = sinovitis grave

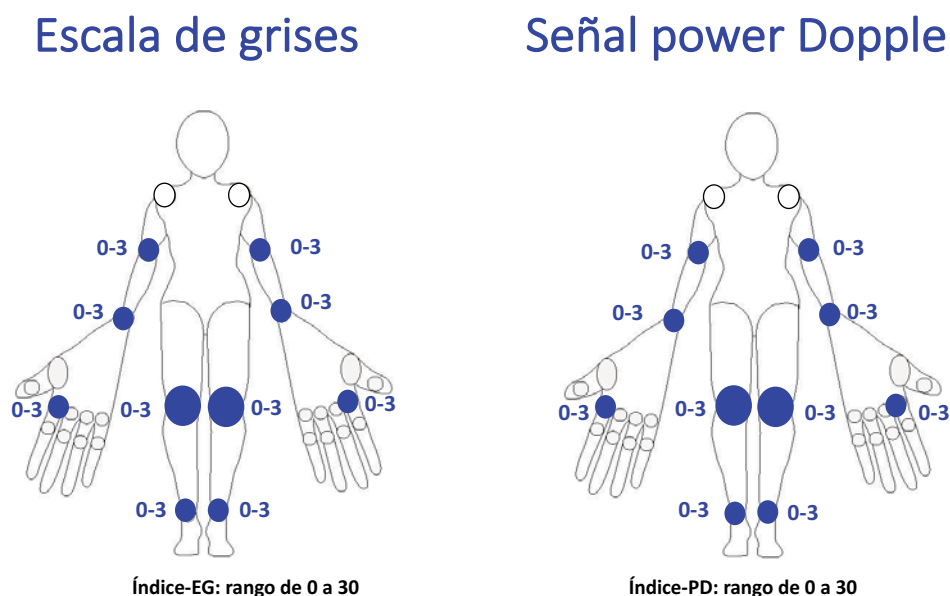
Mediante power Doppler, se consideró patológica la presencia de una señal PD de vascularización dentro de la zona de hipertrofia sinovial. El grado de señal PD fue evaluado utilizando una escala semicuantitativa de 4 puntos:

- Grado 0 = normal, ausencia de señal PD
- Grado 1= leve, presencia de un único vaso o de señales puntiformes aisladas
- Grado 2= sinovitis moderada, vasos confluentes en menos del 50% de la sinovial
- Grado 3 = sinovitis grave, vasos confluentes en más del 50% de la sinovial

En los pacientes con AIJ en edad pediátrica se realizó un estudio ecográfico de 10 articulaciones según un índice ecográfico validado, propuesto por la Dra. P Collado y colaboradores [330]. Este índice fue desarrollado con el objetivo de detectar el mayor número posible de pacientes con enfermedad activa, realizando el menor número de exploraciones ecográficas articulares. Las articulaciones estudiadas fueron: los tobillos, las rodillas, los codos, los carpos y las 2ª metacarpofalángicas (Figura 10).

Una vez obtenidas las evaluaciones de cada articulación por separado se crearon 2 nuevos índices ecográficos: el índice ecográfico de evaluación mediante escala de grises (índice-EG) y el índice ecográfico de evaluación mediante señal power Doppler (índice-PD). Tanto el índice-EG como el índice-PD se obtienen sumando las puntuaciones obtenidas con cada una de las articulaciones, por lo que el rango varía de 0-30 en el caso de los pacientes pediátricos (Figura 10).

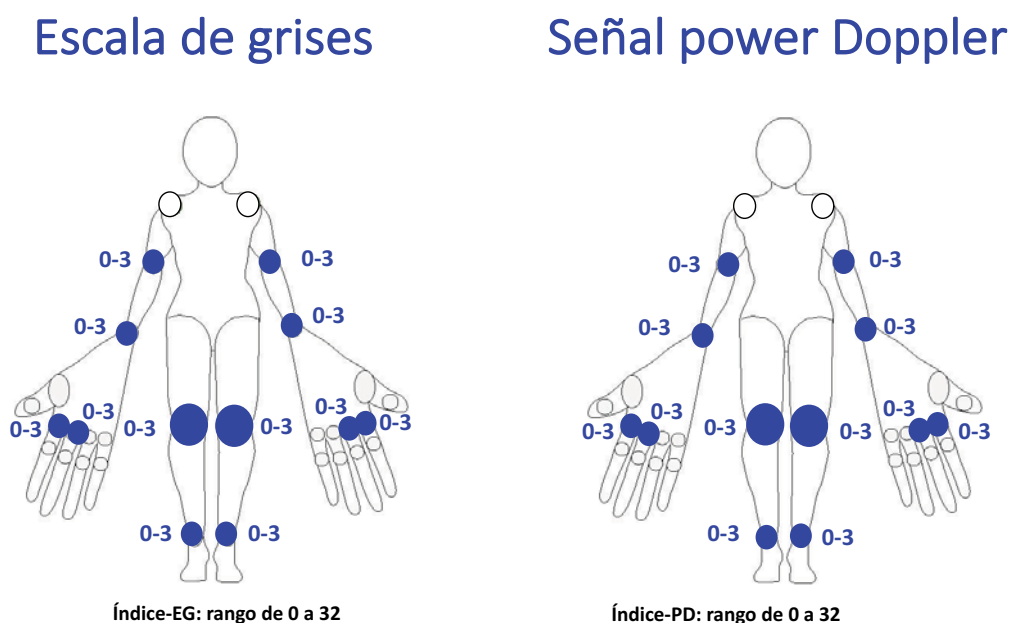
Figura 10. Índice ecográfico reducido en pacientes con AIJ pediátricos: articulaciones exploradas y escala semicuantitativa de puntuación de la actividad inflamatoria.



En los pacientes con AIJ en edad adulta no existen índices ecográficos reducidos validados. Por este motivo decidimos utilizar dos índices: el índice propuesto por la Dra. P Collado previamente descrito y utilizado en pacientes con AIJ pediátricos y el índice propuesto por la Dra. E Naredo y colaboradores [328] utilizado en pacientes con artritis reumatoide. Entre ambos índices sólo existe una diferencia, de forma que en el índice de artritis reumatoide también se estudian las terceras articulaciones metacarpofalángicas. Por este motivo utilizamos también el índice de adultos y nos propusimos investigar cuál de los dos índices era el índice más apropiado para los pacientes adultos con AIJ. Las articulaciones estudiadas en los pacientes adultos con AIJ fueron los tobillos, las rodillas, los codos, los carpos, las 2ª y las 3ª metacarpofalángicas (Figura 11).

En los adultos, igual que habíamos hecho previamente en los niños, una vez obtenidas las evaluaciones de cada articulación por separado se crearon 2 nuevos índices ecográficos: el índice ecográfico de evaluación mediante escala de grises (índice-EG) y el índice ecográfico de evaluación mediante señal power Doppler (índice-PD). Tanto el índice-EG como el índice-PD se obtienen sumando las puntuaciones obtenidas con cada una de las articulaciones, por lo que el rango varía de 0-32 en el caso de los pacientes adultos. También calculamos el índice-EG y el índice-PD usando las 10 articulaciones que exploramos en los pacientes pediátricos y cuyo rango variaba de 0-30 (Figura 11).

Figura 11. Índice ecográfico reducido en pacientes con AIJ adultos: articulaciones exploradas y escala semicuantitativa de puntuación de la actividad inflamatoria.



Las exploraciones ecográficas fueron realizadas por dos reumatólogos pediátricos con formación en ecografía (Dra. C. Modesto y la doctoranda Dra. E. Quesada). Uno de los exploradores era ciego al estado clínico de los pacientes (Dra. E. Quesada). Se analizó posteriormente la concordancia entre exploradores.

Para analizar la concordancia intraobservador e interobservador, se seleccionaron al azar 32 imágenes de articulaciones distintas, realizadas a lo largo del estudio. Dieciséis correspondían a pacientes adultos y 16 a pacientes pediátricos. En las imágenes de las articulaciones podían diferenciarse distintos grados de gravedad de la afectación articular medidos mediante escala de grises y señal PD. Se incluyeron también imágenes articulares compatibles con la normalidad. Una vez finalizado el estudio, las 32 imágenes fueron evaluadas por ambos exploradores en dos ocasiones, con un mínimo de 6 meses de diferencia. Se comparó la concordancia al identificar la presencia de lesión, y la concordancia al graduar la intensidad de la lesión.

Para evaluar la concordancia interaparato se exploró a 5 pacientes (3 niños y 2 adultos) mediante el índice ecográfico reducido de 12 articulaciones. Se realizó por duplicado con los dos ecógrafos utilizados en el estudio. Todo el índice ecográfico fue realizado en el mismo paciente, en el mismo día, con pocas horas de separación entre ambas exploraciones, con ambos ecógrafos. Se obtuvieron 120

imágenes (5 x 12 x 2) y éstas fueron también evaluadas en dos ocasiones. Se calculó entonces la concordancia entre las evaluaciones de ambos conjuntos de imágenes y la concordancia por articulación, medida con ambos ecógrafos.

3.5. EXTRACCIÓN SANGUÍNEA

Las muestras de sangre total se obtuvieron por venopunción y coincidiendo con alguna extracción sanguínea programada. En los pacientes pediátricos con AIJ la obtención de la muestra sanguínea se realizó por parte de las enfermeras de la planta 13 del edificio Materno Infantil donde estaba ubicada la consulta clínica del proyecto (Sras. C. Aguilar y G. Gili). Las extracciones se realizaron en la sala de enfermería adyacente a dicha consulta. Las extracciones a los pacientes adultos con AIJ fueron realizadas en una consulta situada en el edificio de Traumatología del *Hospital Universitari Vall d'Hebron*, por la enfermera especializada en Reumatología (Sra. B. Alonso).

A los sujetos control se les extrajo una muestra de sangre adicional a la muestra necesaria para el análisis que tenían programado para un control de salud o bien en un contexto perioperatorio. Con esta muestra de sangre adicional se realizó el estudio del inmunofenotipo linfocitario.

En los pacientes con AIJ, la extracción de la muestra de sangre necesaria para el estudio coincidió con la realización de un análisis de rutina. Estos análisis de sangre de rutina son, fundamentalmente, realizados para controlar la seguridad de los fármacos. En la visita basal se obtuvo una muestra de sangre adicional de 3mL para realizar el estudio del inmunofenotipo linfocitario a todos los pacientes, independientemente del tratamiento. En las visitas basal (S0), de los 6 (S24) y de los 12 (S48) meses se extrajo una muestra de sangre adicional de 3,5mL a todos los pacientes que recibían tratamiento con anti-TNF α . En estos pacientes, de la muestra de 3,5mL de sangre se obtenía suero para determinar las concentraciones de fármaco y de los anticuerpos antifármaco en sangre.

A los pacientes que recibían tratamiento con anti-TNF α , la muestra de sangre se obtuvo en todos los casos en el momento valle. El valle corresponde al mismo día o al día anterior a la administración de una nueva dosis del fármaco anti-TNF α . Es decir, se obtuvo la muestra de sangre el día en el que era posible detectar una menor concentración de fármaco anti-TNF α y una mayor concentración de anticuerpos antifármaco anti-TNF α . A los pacientes que no recibían tratamiento anti-TNF α sólo se les

realizó la extracción sanguínea de la visita basal (S0) independientemente de la fecha de la siguiente administración del fármaco.

En las primeras horas tras la obtención de la sangre periférica, las muestras fueron procesadas en el laboratorio del Servicio de Inmunología del *Hospital Universitari Vall d'Hebron*. El procesado de las muestras se hizo en estrecha colaboración con determinados miembros del grupo. Los inmunólogos que colaboraron en el presente estudio (Dr. R. Pujol, Sr. D. Álvarez, Dra. A. Marín, Dra. M. Martínez, Sra. M. García), participaron en la realización y en la supervisión de las distintas etapas del estudio del inmunofenotipo y de la respuesta inmunogénica de los pacientes con AIJ.

A continuación, se detallan los protocolos que se utilizaron para el estudio del inmunofenotipo y de la respuesta inmunogénica.

3.5.1. Estudio del inmunofenotipo celular

Se realizó un estudio en profundidad del inmunofenotipo celular de todos los sujetos control y de todos pacientes con AIJ independientemente del tratamiento que siguieran. A efectos prácticos, en texto se utilizan los términos inmunofenotipo celular e inmunofenotipo linfocitario indistintamente. El estudio se realizó mediante una adaptación del protocolo de citometría de flujo establecido por el *Human Immunology Project Consortium* o *HIPC protocol* [459]. Este procedimiento fue introducido en el laboratorio de Inmunología del *Hospital Universitari Vall d'Hebron* con motivo del presente proyecto. De acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio, previamente se procedió a la obtención de valores de referencia propios para el centro incluyendo en el estudio dos grupos control, compuestos por pacientes pediátricos y adultos. El protocolo HIPC original fue creado con el objetivo de homogeneizar el estudio de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica, utilizando la citometría de flujo como técnica fundamental.

El protocolo HIPC estudia un conjunto de cuatro paneles celulares mediante citometría de 8 colores para la identificación de subpoblaciones de linfocitos B, T, células NK, monocitos y células dendríticas. El protocolo original estaba diseñado para citómetros de la serie *Fortessa* de cinco láseres. Modificamos el protocolo para adaptarlo a nuestro modelo de citómetro *FACSCanto II* de 3 láseres. Esto implicó el uso de un menor número de anticuerpos monoclonales distintos en cada panel, lo que nos obligó a prescindir de algunos de ellos, y a fragmentar alguno de los paneles en dos análisis

independientes, siempre tratando de mantener las combinaciones de especificidades esenciales en cada uno de ellos para no perder la capacidad de detectar ninguna población leucocitaria de interés.

3.5.1.1. Protocolo HIPC modificado

Como consideración inicial, en los paneles LB-1 y LB-2 se utilizaron anticuerpos anti-IgD y/o anti-IgM para evaluar la expresión de estas moléculas en la superficie de los linfocitos B. La presencia de anticuerpos endógenos en suero puede dar lugar a señales inespecíficas y, para eliminarlas, es necesario realizar un lavado previo de la sangre con PBS (*BD FACSTFlow, BD Bioscience, San José, CA*).

Una vez la sangre total en tubo de hemograma llegaba al laboratorio, el proceso que seguíamos era el siguiente:

1. Rotular un tubo de ensayo con el código del paciente, fecha y el número de petición de la muestra a analizar y añadir 500µL de sangre total y 2mL de PBS
2. Centrifugar: 1500rpm durante 5min
3. Retirar con una pipeta Pasteur el PBS del tubo y reservar la sangre
4. Marcaje de los tubos para identificarlos durante el proceso. Se rotulaban 6 tubos de ensayo con el código del paciente, fecha y el número de petición y el panel de análisis correspondiente a ese tubo:
 - LT: de células T
 - Th: de células T helper
 - Treg: de células T reguladoras
 - Mono/NK/DC: de monocitos, células *Natural Killers* y células dendríticas
 - LB-1: panel 1 de linfocitos B
 - LB-2: panel 2 de linfocitos B
5. A cada uno de los tubos se les añadían los anticuerpos monoclonales marcados que correspondían tal y como se indica en la siguiente tabla

Tabla 14. Anticuerpos monoclonales marcados utilizados en el estudio del inmunofenotipado celular.

Fluorocromo	LT		T helper		Treg		Mono/DC/NK		LB-1		LB-2	
	Marcador	V (μL)	Marcador	V (μL)	Marcador	V (μL)	Marcador	V (μL)	Marcador	V (μL)	Marcador	V (μL)
Pacific Blue	CD3	5	CD3	5	CD3	5	CD14	5	CD3	5	CD138	7
FITC	CD45RA	5	HLA-DR	20	HLA-DR	20	HLA-DR	20	IgD	10	IgD	10
PE	CCR7	10	CXCR3	5	CD25	20	CD56	20	CD24	10	CD21	5
PerCP-Cy5.5	CD4	5	CD4	5	CD4	5	CD123	5	CD19	5	CD19	5
PE-Cy7			CCR6	10	CCR4	10	CD11c	5	CD27	5	CD27	5
APC			CD38	20	CD127	5	CD16	20	CD38	20	CD38	20
APC-Cy7	CD8	5	CD8	5	CD45RO	5	CD3/CD20/C D19	5	CD20	10	IgM	10

Los volúmenes utilizados en cada caso corresponden a los recomendados por las casas comerciales. DC, células dendríticas; LB-1, linfocitos B panel 1; LB-2; linfocitos B panel 2; LT, linfocitos T; Mono, monocitos; NK, células *natural killers*; T helper, células T colaboradoras; V, volumen.

6. Se añadía a cada uno de los tubos LT, Th, Treg, y Mono/DC/NK, 100μL de sangre total; y a los tubos LB-1 y LB-2 100μL de la sangre total previamente lavada
7. Incubábamos durante 20 minutos en oscuridad
8. Se añadían 3mL de solución lisante 1x (*BD FACS Lysing solution, BD Bioscience, San José, CA*)
9. Incubábamos durante 10 minutos en oscuridad
10. Centrifugábamos a 1.500 rpm durante 5 minutos
11. Decantábamos conservando el botón celular y añadíamos 3mL de PBS
12. Centrifugábamos a 1.500 rpm durante 5min
13. Decantábamos, añadíamos 100μL de PBS y vorteábamos brevemente
14. Por último, las muestras eran procesadas en el citómetro *BD FACSCanto II* usando las plantillas correspondientes para cada panel mediante el software *BD FACSDiva v6*. Los pacientes en el citómetro también eran identificados mediante código asignado, fecha y número de petición.

3.5.1.2. Análisis

El programa utilizado para el análisis de los datos obtenidos es el *FACSDiva software v6.1.3*. Para cada panel se diseñó una plantilla distinta de análisis basada en los marcadores utilizados, con el objetivo de identificar todas las poblaciones leucocitarias posibles de interés. Estas plantillas fueron aplicadas a todas las muestras, tras lo cual, todos los resultados obtenidos fueron exportados en formato Excel para facilitar su posterior análisis estadístico.

Los resultados referentes a cada subgrupo celular se expresaban en la hoja de cálculo en dos columnas:

- número absoluto de células/unidad de volumen
- porcentaje de células

Con el objetivo de estudiar posibles diferencias identificables entre los distintos grupos control y de pacientes con AIJ, para una primera aproximación a la interpretación de los resultados, se realizó un análisis preliminar mediante el *software GraphPad Prism v5*. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico completo de los datos en colaboración con la Unidad de Estadística y Bioinformática (UEB) del *Institut de Recerca Hospital Vall d'Hebron (VHIR)*.

Los principales gráficos de análisis que se obtienen son los diagramas de puntos (p.ej. *dotsplots*) y los histogramas. Los diagramas de puntos son gráficos bidimensionales en los que cada eje muestra la intensidad de señal para un parámetro, pudiendo ser éstos medidas de dispersión de luz (FSC o SSC) o de fluorescencia de un marcador particular. Cada célula queda representada en el área del gráfico según su intensidad para ambas características. Se obtienen nubes de puntos en los que se ven agrupaciones de eventos según su semejanza. Los histogramas, son gráficos unidimensionales. En ellos se representan en cada valor del eje x (que indica los distintos valores de intensidad de fluorescencia), el número de eventos detectados (que indica el número de células que expresan cada una de las intensidades).

A continuación, se presentan de forma sucesiva distintos gráficos de análisis que se corresponden a los diagramas de puntos y sus correspondientes histogramas para cada uno de los paneles celulares analizados en el presente proyecto. Se presentan aquellos gráficos más ilustrativos que corresponden a distintos pacientes (Gráficos 1-12).

Gráfico 1. Diagrama de densidad del panel de células T (análisis mediante el software *Flowjo*).

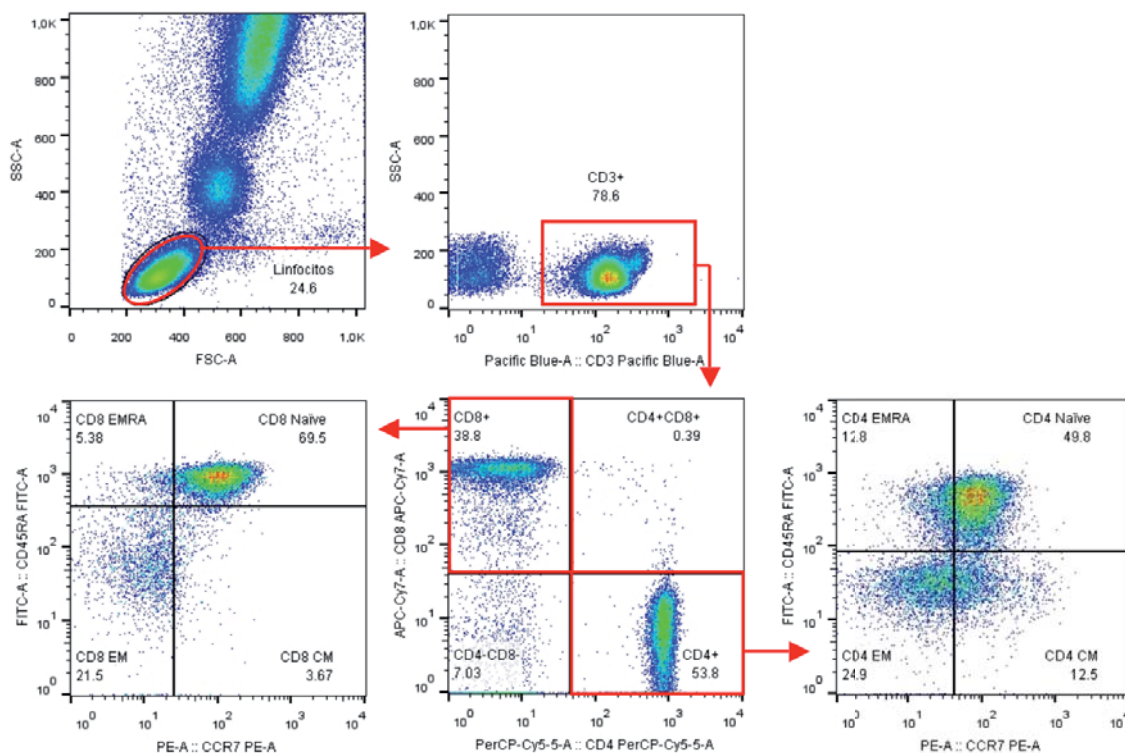


Gráfico 2. Datos obtenidos para el anterior panel de células T (análisis mediante software FACSDiva).

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	179,320	###	100.0
Linfocitos	34,297	19.1	19.1
Singletes	34,231	99.8	19.1
CD3+	28,110	82.1	15.7
CD4+	18,717	66.6	10.4
CD4+Effector	464	2.5	0.3
CD4+ Naive	12,290	65.7	6.9
CD4+ Eff memory	2,293	12.3	1.3
CD4+ Central memory	3,670	19.6	2.0
CD8+	8,472	30.1	4.7
CD8+ Effector	456	5.4	0.3
CD8+ Naive	3,447	40.7	1.9
CD8+ Eff memory	3,558	42.0	2.0
CD8+ Central memory	1,011	11.9	0.6
DP	210	0.7	0.1
DN	656	2.3	0.4
CD3-	27,647	80.8	15.4

Gráfico 3. Diagrama de densidad del panel de células T helper (análisis mediante el software *Flowjo*).

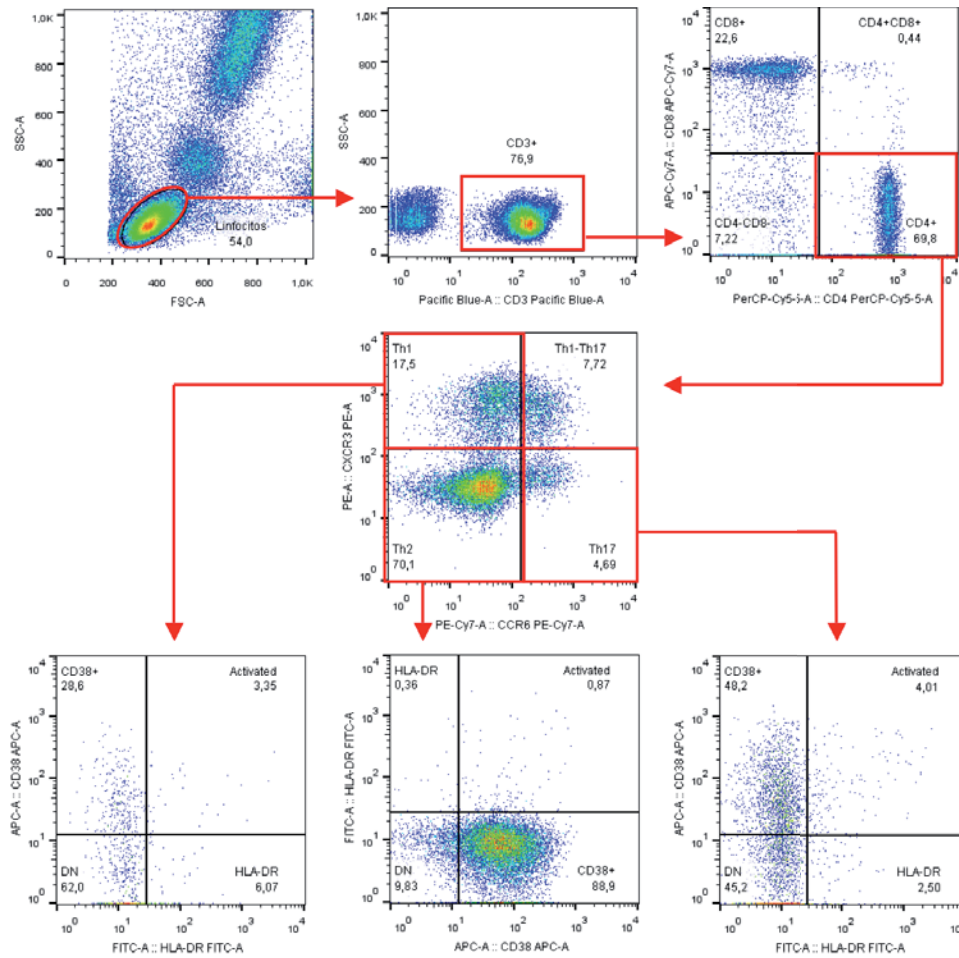


Gráfico 4. Datos obtenidos para el anterior panel de células T helper (análisis mediante el software *FACSDiva*).

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	161,452	###	100.0
SINGLETES	155,177	96.1	96.1
LIMFOS	47,494	30.6	29.4
CD3+	33,231	70.0	20.6
CD8+	11,217	33.8	6.9
CD4+	19,188	57.7	11.9
CD4+ Th1	3,454	18.0	2.1
Th1 HLA-DR+	142	4.1	0.1
Th1 activ	194	5.6	0.1
Q3-2	2,245	65.0	1.4
Th1 CD38+	873	25.3	0.5
CD4+ Th1-Th17	4,233	22.1	2.6
CD4+ Th2	7,011	36.5	4.3
Th2 HLA-DR+	198	2.8	0.1
Th2 activ	63	0.9	0.0
Q3-3	1,984	28.3	1.2
Th2 CD38+	4,766	68.0	3.0
CD4+ Th17	4,490	23.4	2.8
Th17 HLA-DR+	195	4.3	0.1
Th17 actv	66	1.5	0.0
Q3-4	2,363	52.6	1.5
Th17 CD38+	1,866	41.6	1.2
DN	2,642	8.0	1.6
DP	131	0.4	0.1
CD3-	5,863	12.3	3.6

Gráfico 5. Diagrama de densidad del panel de células T reguladoras e histograma de las CD8+CD25+, CD4+CD25+ y células T reguladoras HLA-DR+ (análisis mediante el software *Flowjo*).

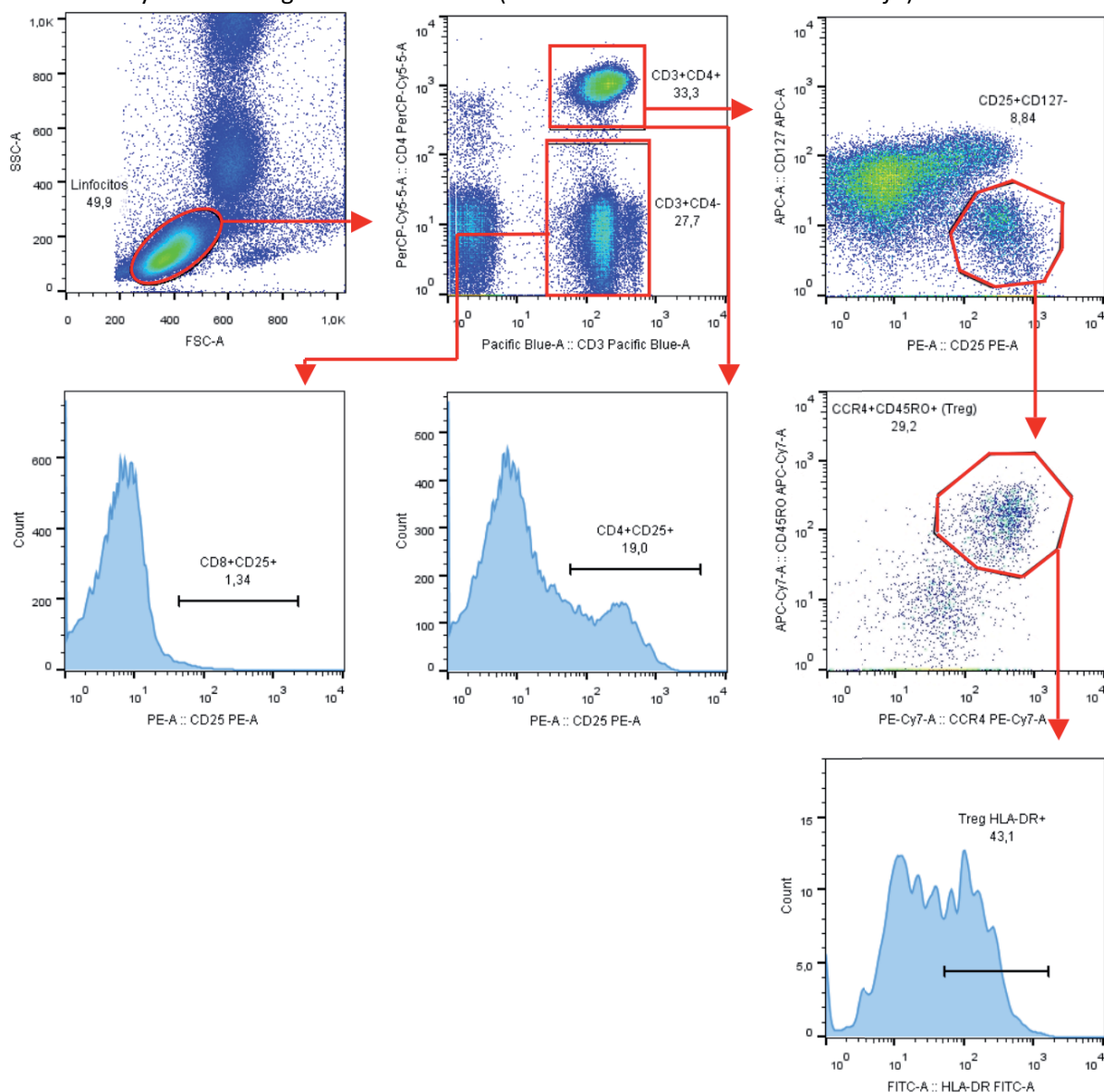


Gráfico 6. Datos obtenidos para el anterior panel de células T reguladoras (análisis mediante el software *FACSDiva*).

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	458,175	####	100.0
No dobletes	391,807	85.5	85.5
Linfocitos	159,660	40.7	34.8
CD4+	79,233	49.6	17.3
Treg	5,786	7.3	1.3
CD4+CD25+	18,294	23.1	4.0
CD8+	41,648	26.1	9.1

Gráfico 7. Diagrama de densidad del panel de células dendríticas, monocitos y NK (análisis mediante el software *Flowjo*).

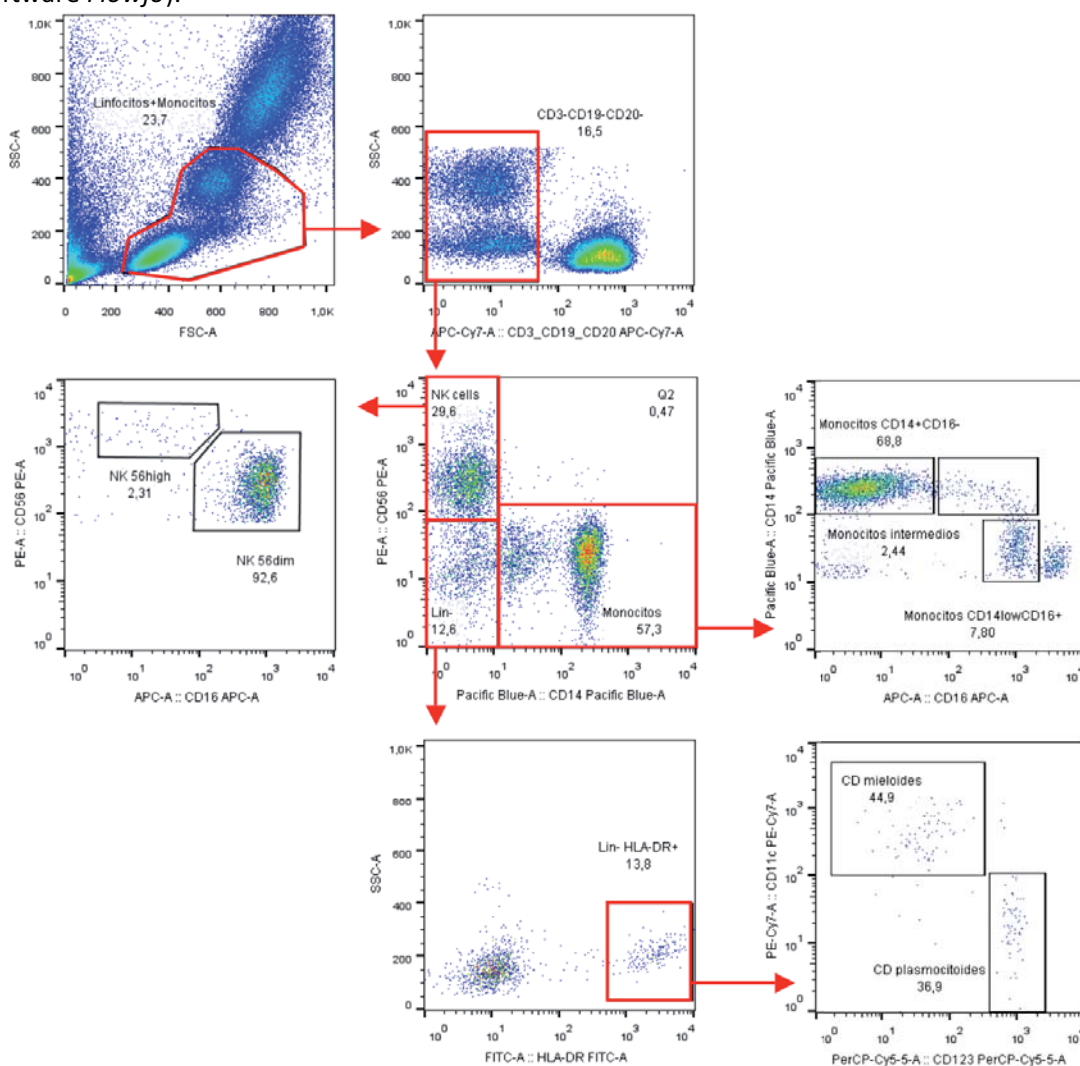


Gráfico 8. Datos obtenidos para el anterior panel de células dendríticas, monocitos y NK (análisis mediante el software *FACSDiva*).

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	294,565	###	100.0
LINFOS + MONOS	58,157	19.7	19.7
CD3-CD19-CD20-	18,193	31.3	6.2
NK	4,988	27.4	1.7
CD56+ bright	308	6.2	0.1
CD56+ dim	4,616	92.5	1.6
Q2	2	0.0	0.0
LINF-	3,587	19.7	1.2
DENDRITICAS	81	2.3	0.0
CD PLASMATIC	13	16.0	0.0
CD MIELOIDES	63	77.8	0.0
CD14+	9,616	52.9	3.3
Monoc class	433	4.5	0.1
Monoc no class	7,470	77.7	2.5
Intermedios	353	3.7	0.1
GRANULOS	1,278	0.4	0.4
LINFOS	38,934	13.2	13.2
NK %	4,810	12.4	1.6

Gráfico 9. Diagrama de densidad del panel 1 de células B (LB-1) (análisis mediante el software *Flowjo*).

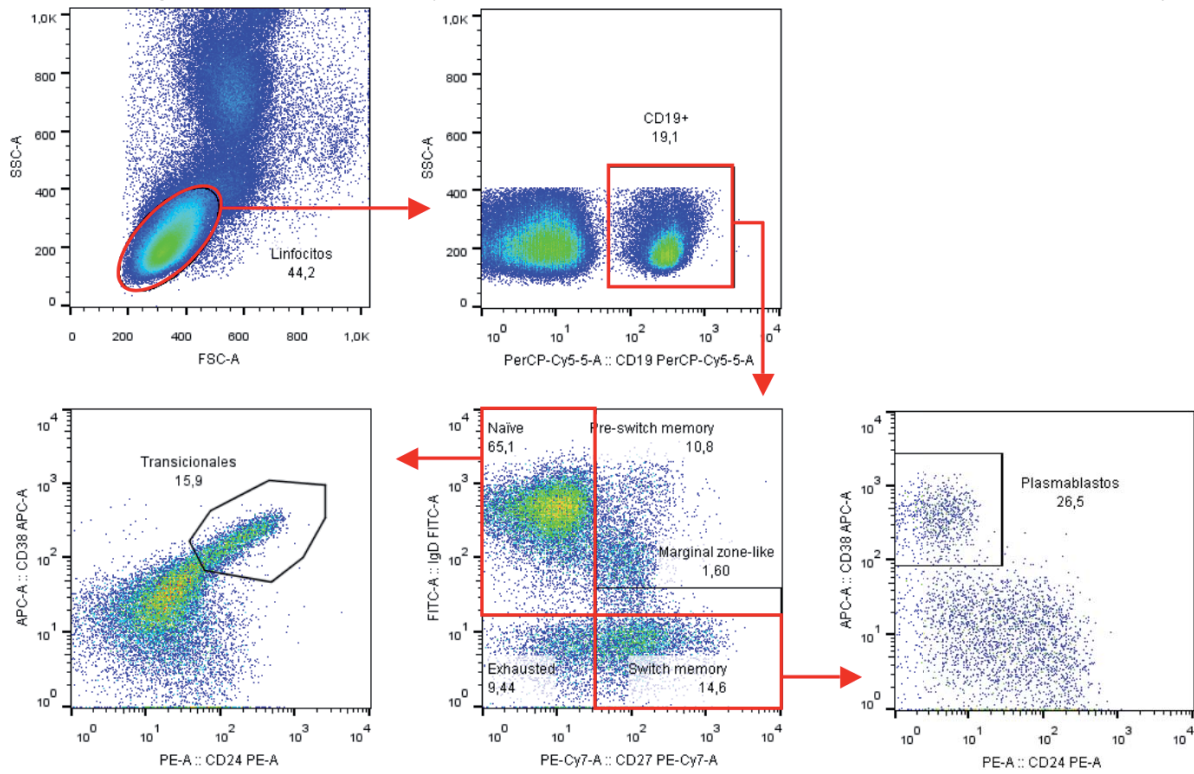


Gráfico 10. Datos obtenidos para el anterior panel 1 de células B (análisis mediante el software *FACSDiva*).

Tube: 130015061

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	608,925	###	100.0
SINGLETES	371,456	61.0	61.0
LIMFOS	69,772	18.8	11.5
BCELL	13,520	19.4	2.2
Bcell CD20-	77	0.6	0.0
NAIVE	5,151	38.1	0.8
TRANSITIONAL	4	0.1	0.0
PRESWITCH MEMORY	2,546	18.8	0.4
MARGINAL ZONE	2	0.1	0.0
EXHAUSTED	1,562	11.6	0.3
SWITCH MEMORY	4,261	31.5	0.7
PLASMABLAST	51	1.2	0.0

Gráfico 11. Diagrama de densidad del panel 2 de células B (LB-2) e histograma de células plasmáticas (análisis mediante el software *Flowjo*).

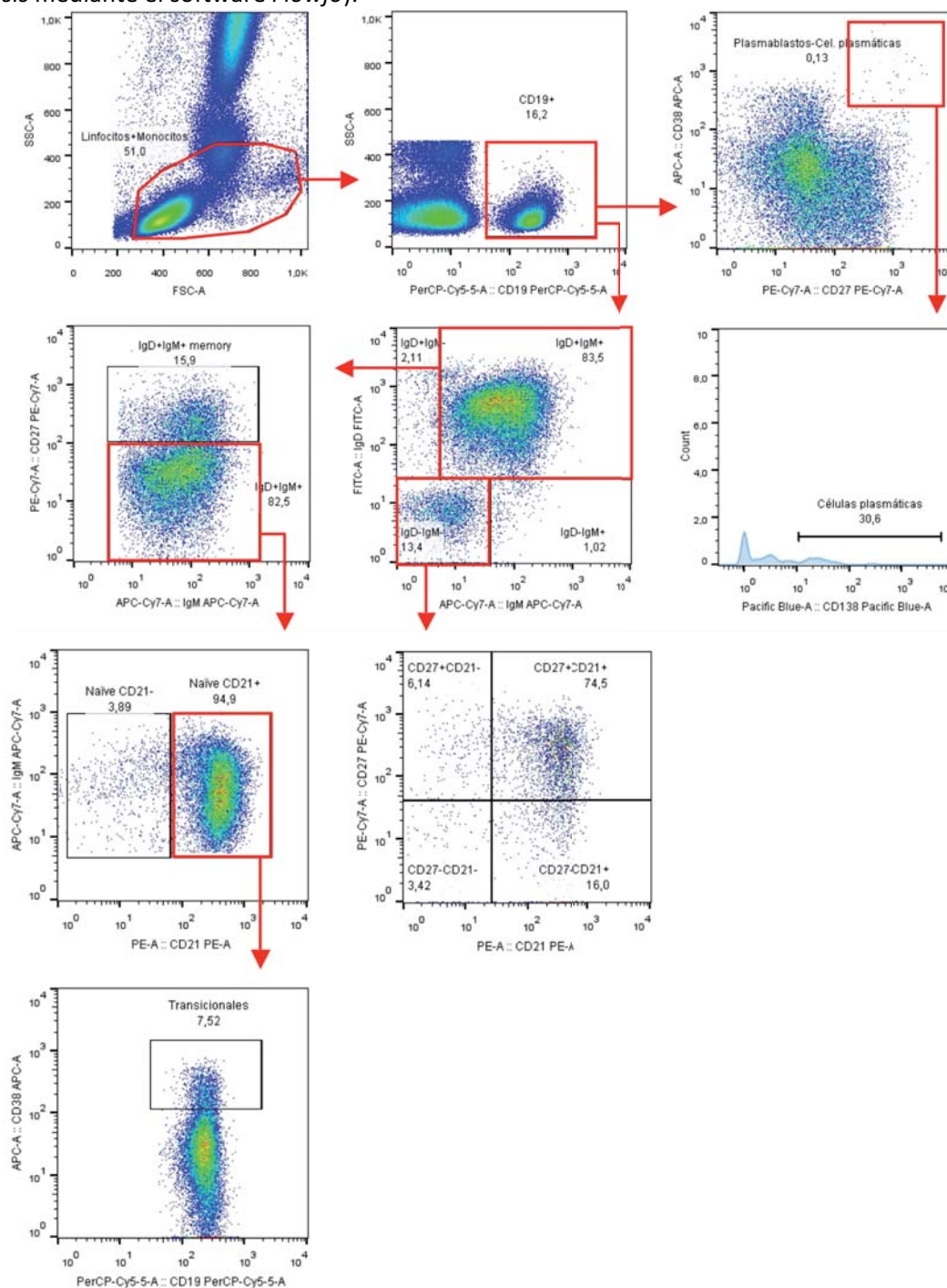


Gráfico 12. Datos obtenidos para el anterior panel 2 de células B (análisis mediante el software *FACSDiva*).

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	753,901	###	100.0
CD19+	2,653	0.4	0.4
Singletons CD19+	2,186	82.4	0.3
LB	2,172	99.4	0.3
Plasma cells/Plasm	6	0.3	0.0
NOT(Plasma cells/P	2,166	99.7	0.3
IgD+ IgM-	6	0.3	0.0
IgD+ IgM+	1,792	82.7	0.2
IgD+ IgM+ Me	165	9.2	0.0
Pre-germinal	1,627	90.8	0.2
Q1	0	0.0	0.0
Transitor	230	14.1	0.0
Q3	0	0.0	0.0
Naive	1,397	85.9	0.2
Naive	1,379	98.7	0.2
Naive	18	1.3	0.0
IgD- IgM-	310	14.3	0.0
CD27+ CD21	14	4.5	0.0
CD27+ CD21	284	91.6	0.0
CD27- CD21	4	1.3	0.0
CD27- CD21	8	2.6	0.0
IgD- IgM+	58	2.7	0.0

Mediante el uso de herramientas de separación subjetivas denominadas *gates*, se pueden seleccionar grupos de eventos y observar su señal para todos los marcadores, pudiendo ser divididas según su grado de semejanza en distintas poblaciones celulares.

El análisis, la selección y la identificación de poblaciones celulares siempre se realizó en base a la literatura publicada más reciente, y fue llevado a cabo por personal cualificado del Servicio de Inmunología del *Hospital Universitari Vall d'Hebron*.

Las poblaciones celulares pueden ser estratificadas en una jerarquía en función de la expresión de moléculas en superficie estudiadas en cada panel. Para cada población se pueden elegir los parámetros que se mostrarán en la tabla de datos, como pueden ser el porcentaje que representan dentro del número total de células o del grupo inmediatamente superior en el árbol jerárquico o su intensidad de fluorescencia para cada uno de los marcadores utilizados.

3.5.1.3. Poblaciones celulares identificadas

En todas las subpoblaciones celulares obtuvimos el resultado referente al número total de células y a su porcentaje. En nuestra adaptación del protocolo HIPC identificamos 62 subpoblaciones linfocitarias definidas por su inmunofenotipo mediante citometría de flujo. Cada una de las subpoblaciones

celulares no se corresponde necesariamente con linajes celulares definidos y funcionalmente estables. Las subpoblaciones linfocitarias que identificamos mediante esta técnica y los marcadores que se utilizaron para definir cada una de ellas se detallan a continuación.

- **Linfocitos y monocitos totales**

- **Células T**

- Células T totales: CD3+
- Índice CD4+/CD8+
- Células T CD8+
 - Células CD8+ totales: CD3+CD8+
 - CD8+ efectoras: CD3+CD8+CCR7-CD45RA+
 - CD8+ *naïve*: CD3+CD8+CCR7+CD45RA+
 - CD8+ efectoras de memoria: CD3+CD8+CCR7-CD45RA-
 - CD8+ de memoria central: CD3+CD8+CCR7+CD45RA-
 - CD8+ CD25+: CD3+CD8+CD25+
- Células T doble negativas
 - CD3+ doble negativas: CD3+CD8-CD4-
- Células T doble positivas
 - CD3+ doble positivas: CD3+CD8+CD4+
- Células T CD4+
 - Células CD4+ totales: CD3+CD4+
 - CD4+ efectoras: CD3+CD4+CCR7-CD45RA+
 - CD4+ *naïve*: CD3+CD4+CCR7+CD45RA+
 - CD4+ efectoras de memoria: CD3+CD4+CCR7-CD45RA-
 - CD4+ de memoria central: CD3+CD4+CCR7+CD45RA-
 - CD4+ CD25+: CD3+CD4+CD25+
- Células T *helper*
 - Th1: CD3+CD4+CXCR3+CCR6-
 - Th1 activadas: CD3+CD4+CXCR3+CCR6-HLADR+CD38+
 - Th1 HLA-DR+: CD3+CD4+CXCR3+CCR6-HLADR+CD38-
 - Th1 CD38+: CD3+CD4+CXCR3+CCR6-HLADR-CD38+
 - Th1-Th17: CD3+CD4+CXCR3+CCR6+
 - Th2: CD3+CD4+CXCR3-CCR6-

- Th2 activadas: CD3+CD4+CXCR3-CCR6-HLADR+CD38+
 - Th2 HLA-DR+: CD3+CD4+CXCR3-CCR6-HLADR+CD38-
 - Th2 CD38+: CD3+CD4+CXCR3-CCR6-HLADR-CD38+
 - Th17: CD3+CD4+CXCR3-CCR6+
 - Th17 activadas: CD3+CD4+CXCR3-CCR6+HLADR+CD38+
 - Th17 HLA-DR+: CD3+CD4+CXCR3-CCR6+HLADR+CD38-
 - Th17 CD38+: CD3+CD4+CXCR3-CCR6+HLADR-CD38+
- Células T reguladoras
 - T reg totales: CD3+CD4+CD25+CD127^{low}
 - T reg de memoria: CD3+CD4+CD25+CD127^{low}CCR4+CD45RO+
 - T reg HLA-DR+: CD3+CD4+CD25+CD127^{low}CCR4+CD45RO+HLADR+
- **Células dendríticas, *Natural Killers* y monocitos**
 - *Natural Killers*
 - NK totales: CD3-CD19-CD14-CD20-CD56+
 - NK CD56^{bright}: CD3-CD19-CD14-CD20-CD16-/+CD56^{high}
 - NK CD56^{dim}: CD3-CD19-CD14-CD20-CD16+CD56^{dim}
 - Dendríticas
 - Dendríticas totales: CD3-CD19-CD14-CD20-CD56-HLADR+
 - Plasmocitoides: CD3-CD19-CD14-CD20-CD56-HLADR+CD123+CD11c-
 - Mieloides: CD3-CD19-CD14-CD20-CD56-HLADR+CD123-CD11c+
 - Monocitos
 - Monocitos CD16+: CD3-CD19-CD14+CD16+
 - Monocitos intermedios: CD3-CD19-CD14+CD16+/-
 - Monocitos CD16-: CD3-CD19-CD14+CD16-
- **Células B**
 - Células B totales: CD3-CD19+
 - Células B *naïve*: CD3-CD19+CD27-IgD+
 - Células B tracionales: CD3-CD19+ CD27-IgD+CD24^{high}CD38^{high}
 - Células B pre-*switch* memoria: CD3-CD19+CD27+IgD+
 - Células B de zona marginal: CD3-CD19+CD27+IgD^{low}
 - Células B *exhausted*: CD3-CD19+CD27-IgD-
 - Células B *switch* memoria: CD3-CD19+CD27+IgD-
 - Plasmablastos: CD3-CD19+CD27+CD24-CD38+

- Índice células plasmáticas/plasmablastos
- IgD+ IgM-: CD3-CD19+IgD+IgM-
- IgD+ IgM+: CD3-CD19+IgD+IgM+
 - IgD+ IgM+ de memoria: CD3-CD19+CD27+IgD+IgM+
 - Pre-centro germinal: CD3-CD19+CD27-IgD+IgM+
 - Transicionales: CD3-CD19+CD27-IgD+IgM+CD38+
 - Naïve: CD3-CD19+CD27-IgD+IgM+CD38-
 - Naïve CD21+: CD3-CD19+CD27-IgD+IgM+CD38-CD21+
 - Naïve CD21-: CD3-CD19+CD27-IgD+IgM+CD38-CD21-
- IgD- IgM-: CD3-CD19+IgD-IgM-
 - CD27+ CD21-: CD3-CD19+CD27+CD21-IgD-IgM-
 - CD27+ CD21+: CD3-CD19+ CD27+CD21+ IgD-IgM-
 - CD27- CD21-: CD3-CD19+ CD27-CD21-IgD-IgM-
 - CD27- CD21+: CD3-CD19+ CD27-CD21+ IgD-IgM-
- IgD- IgM+: CD3-CD19+IgD-IgM+

3.5.2. Estudio de Inmunogenicidad

El estudio de inmunogenicidad se realizó en todos los pacientes con AIJ que recibían tratamiento con fármacos biológicos anti-TNF α en el momento de inclusión del estudio (ETN, ADA e IFX). La concentración de fármaco anti-TNF α y de los anticuerpos antifármaco anti-TNF α se determinó en suero en la visita basal (S0), a los 6 meses (S24) y a los 12 meses (S48). Para optimizar la utilización de las placas de ELISA, las muestras de suero se extrajeron durante las primeras horas desde la extracción de la sangre. Una vez extraído el suero, las muestras fueron alicuotadas y almacenadas a -80°C en una seroteca, situada en el Servicio de Inmunología. Cuando se finalizó la recogida de las muestras biológicas de los pacientes se procedió a determinar las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y la concentración de anticuerpos antifármaco anti-TNF α . El estudio de las muestras de ETN, ADA e IFX se realizó por separado, mediante distintas placas de ELISA con distintas preparaciones según el tratamiento anti-TNF α que recibieran.

3.5.2.1. Kits de ELISA y automatización de la técnica

La determinación de las concentraciones de fármaco anti-TNF α y de los anticuerpos antifármaco se realizó mediante el kit de Promonitor[®] (*Grupo Progenika*). El kit Promonitor[®] es el test de referencia para monitorizar los pacientes tratados con fármacos biológicos anti-TNF α , y es el único test con marcado CE de conformidad de la Unión Europea para diagnóstico *in vitro* y registro sanitario de COFEPRIS. Elegimos el kit Promonitor[®] porque presentaba unas mejores características técnicas que los otros kits disponibles en el mercado, y porque es el que fue utilizado en un mayor número de estudios realizados previamente al nuestro en sujetos con artritis crónicas inflamatorias y con otras enfermedades autoinmunes (p.ej. enfermedad inflamatoria intestinal). A través de dos pruebas de ELISA con el kit Promonitor[®] se pueden determinar las concentraciones séricas del fármaco anti-TNF α y de los anticuerpos antifármaco anti-TNF α . Es una prueba de ELISA “tipo sándwich”. Con cada placa de ELISA podían analizarse un máximo de 40 pacientes.

Para la automatización de las dos pruebas de ELISA con el kit Promonitor[®] se utilizó un automatizador de placas de ELISA (*Triturus, Grifols, Barcelona*) en el que se configuraron previamente los protocolos para cada uno de los fármacos siempre según las indicaciones del fabricante. Esto nos permitió disminuir la variabilidad intraensayo que podía haberse producido debido a realizar la determinación mediante un procesamiento manual (precisión intraensayo CV<10% y precisión intersensayo CV<13%).

3.5.2.2. Protocolo

Para realizar la determinación de las concentraciones de fármaco y de anticuerpos antifármaco seguimos las instrucciones del fabricante y tuvimos el soporte del especialista de producto. Tal y como se ha explicado previamente, las muestras fueron extraídas en el momento valle. Se extrajo el suero del paciente y se almacenó en alícuotas a -80°C. Los sueros se descongelaron y homogeneizaron antes de realizar la prueba. Hasta el momento de realizar la prueba los kits se almacenaron siguiendo las instrucciones de temperatura del fabricante. Los reactivos también se atemperaron dejándolos 10 minutos a temperatura ambiente antes de su uso. Realizamos un protocolo cuantitativo en el que realizamos el siguiente proceso:

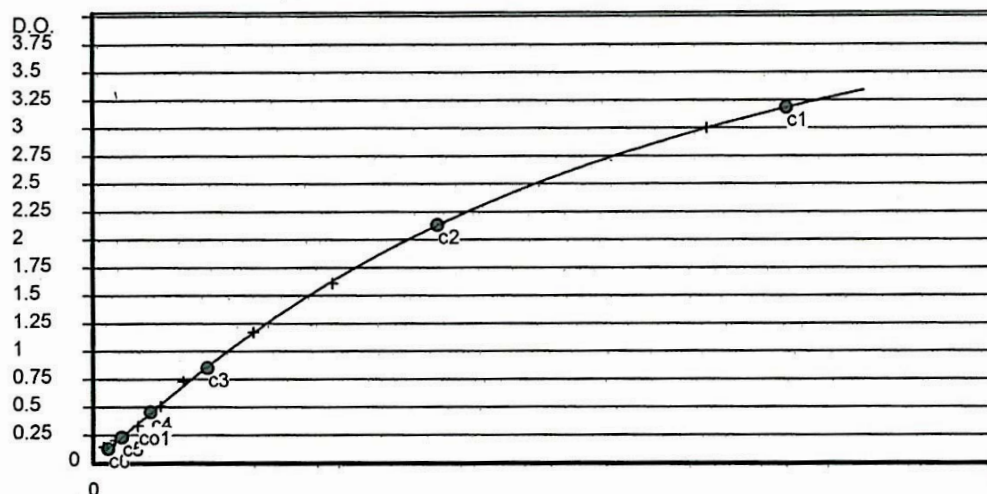
1. Para la obtención de resultados de tipo cuantitativo en cada uno de los ensayos se utilizaron 6 calibradores suministrados en el kit comercial para el cálculo de una curva de regresión.

2. Se realizaron diluciones 1:10 y 1:200 de las muestras de los pacientes. Las diluciones 1:10 se prepararon manualmente. Las diluciones 1:200 de las muestras se realizaron de forma automatizada con el *Triturus*, con el objetivo de minimizar los posibles errores derivados de la técnica manual.
3. Se añadieron 100 μ L de los calibradores por duplicado (2 columnas de 6 pocillos cada una), 100 μ L de los controles negativos dados por la casa comercial por duplicado (2 pocillos) y 100 μ L de los controles positivos dados por la casa comercial por duplicado (2 pocillos) y 100 μ L de las diluciones de las muestras de los pacientes a los otros pocillos.
4. Se cubrían las placas y dejaban incubar 1 hora.
5. Se aspiraba el contenido de los pocillos y se añadían 200 μ L de buffer de lavado (x3).
6. Se añadían 100 μ L del reactivo a cada pocillo y se dejaba cubierto, incubando durante 1 hora.
7. De nuevo, se aspiraba el contenido de los pocillos y se añadían 200 μ L de buffer de lavado (x3).
8. Se añadían 50 μ L de substrato y se incubaban 30 minutos en oscuridad.
9. Se añadían 50 μ L de la solución stop y se incubaban 30 minutos en oscuridad.
10. Las placas de ELISA preparadas se introducían en el *Triturus* que, de forma automatizada, realizaba la lectura de la absorbancia de cada pocillo.
11. Para poder calcular los resultados primero se construía la curva de calibrado utilizando una escala semi-logarítmica, con la concentración de los calibradores en el eje X en ng/mL y las medias de las absorbancias en el eje Y. Las curvas de calibración se realizaban cada vez que se realizaba la prueba, tanto para calcular la concentración de anti-TNF α como de anticuerpo anti-TNF α (Gráficos 13 y 14 de la siguiente página).
12. Por último, se obtenían los resultados de las muestras. Para ello se interpolaban en la curva de calibración todos los valores de absorbancia que se encontraban entre el primer y el último calibrador, con lo que se obtenía el resultado de la concentración. Este resultado se corregía según el factor de dilución y se expresaba el resultado final en μ L/mL para la concentración sérica de anti-TNF α y en AU/mL para la concentración sérica de anticuerpos antifármaco anti-TNF α .

Gráfico 13. Curva de calibración obtenida en el análisis de la concentración de Adalimumab en suero.

Filtro 1 : 450 (nm), Filtro 2 : 620 (nm)

Método de cálculo: 4PL



$r^2 = 1$

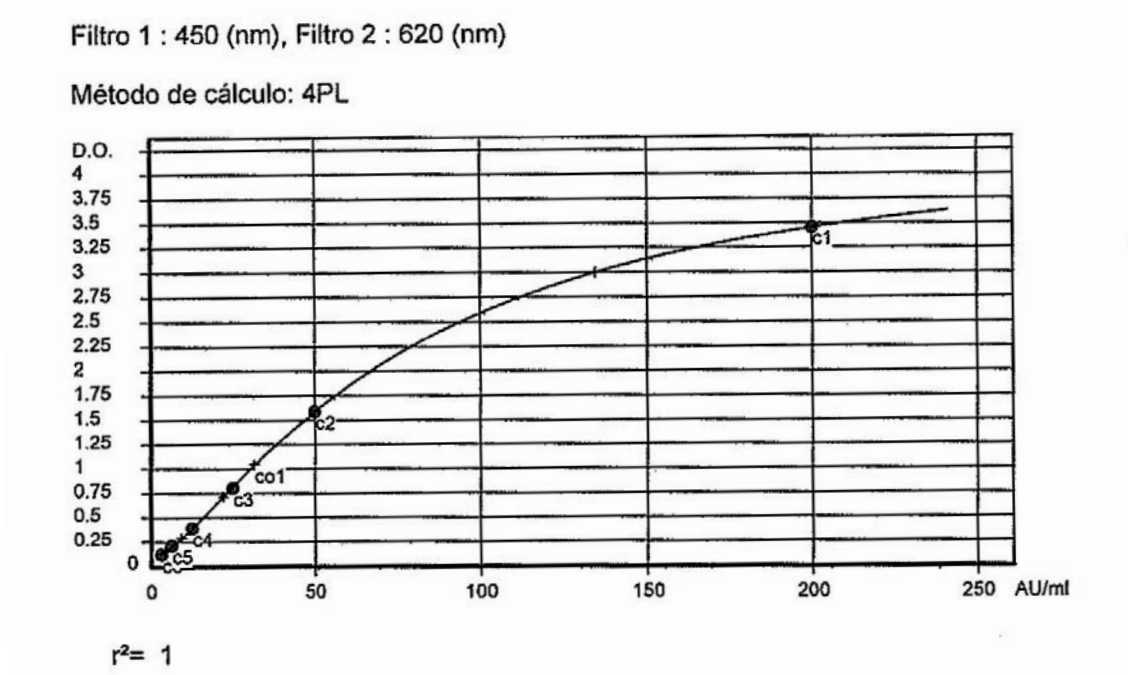
Calibradores	D.O.	Media	CV(%)	ug/ml	C. Calidad
C1 (ADL_CAL-A_60)	3.243 (FLL) 3.124 (FLL)	3.184 (FLL)	2.6	0.6	> 0
C2 (ADL_CAL-B_30)	2.147 2.116	2.132	1	0.3	> 0
C3 (ADL_CAL-C_10)	0.855 0.846	0.85	0.7	0.1	> 0
C4 (ADL_CAL-D_5)	0.447 0.46	0.454	2	0.05	> 0
C5 (ADL_CAL-E_2.5)	0.229 0.23	0.229	0.3	0.03	> 0
C6 (ADL_CAL-F_1.25)	0.128 0.125	0.127	1.7	0.01	> 0

Controles	D.O.	Media	CV(%)	ug/ml	C. Calidad
CO1 (ADL PC)	0.326 0.337	0.331	2.3	0.04	-
CO2 (ADL NC)	0.031 0.033	0.032	4.4	<0.01	-

Criterios de validación		
CO2 < C6	0.032 < 0.127	Cumple
CO1 >= C5	0.331 >= 0.229	Cumple

Bajo la curva se observan los valores numéricos obtenidos de los calibradores, de los controles negativos (NC) y controles positivos (PC) y los criterios de validación.

Gráfico 14. Curva de calibración obtenida en el análisis de la concentración de anticuerpos anti-Adalimumab en suero.



Calibradores	D.O.	Media	CV(%)	AU/ml	C. Calidad
C1 (ANTI-ADL_CAL-A_200)	3.558 (FLL) 3.353 (FLL)	3.456 (FLL)	4.2	200	> 0
C2 (ANTI-ADL_CAL-B_50)	1.616 1.561	1.589	2.4	50	> 0
C3 (ANTI-ADL_CAL-C_25)	0.813 0.784	0.799	2.6	25	> 0
C4 (ANTI-ADL_CAL-D_12.5)	0.362 0.396	0.389	2.5	12.5	> 0
C5 (ANTI-ADL_CAL-E_6.25)	0.214 0.208	0.211	2	6.25	> 0
C6 (ANTI-ADL_CAL-F_3.13)	0.118 0.118	0.118	0	3.12	> 0

Controles	D.O.	Media	CV(%)	AU/ml	C. Calidad
CO1 (ANTI-ADL PC)	1.045 1.034	1.039	0.7	31.7	-
CO2 (ANTI-ADL NC)	0.026 0.028	0.027	5.2	<3.12	-

Criterios de validación		
CO2 < C6	0.027 < 0.118	Cumple
CO1 >= C4	1.039 >= 0.389	Cumple

Bajo la curva se observan los valores numéricos obtenidos de los calibradores, de los controles negativos (NC) y controles positivos (PC) y los criterios de validación.

3.5.2.3. Variabilidad técnica

La variabilidad de la técnica interensayo fue evaluada tras haber realizado una primera determinación de las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y de las concentraciones de los anticuerpos anti-fármaco anti-TNF α . Para ello, se decidió repetir la determinación de ambas concentraciones en algunas de las muestras analizadas. Se seleccionaron las muestras de forma aleatoria, con el fin de descartar posibles sesgos no relacionadas con la técnica. Realizamos estas repeticiones para determinar la semejanza de mediciones de la misma variable continua (concentración de fármaco o de anticuerpos anti-fármaco) en las mismas muestras sanguíneas, realizadas con equipos diferentes o en días diferentes. Repetimos la determinación de la concentración de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos anti-fármaco anti-TNF α en nuestro laboratorio y también en un laboratorio externo. En ambos laboratorios utilizamos los kits de la misma casa comercial y realizamos la técnica de ELISA de forma automatizada.

3.5.2.4. Concentraciones de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos anti-TNF α

Siguiendo con las instrucciones proporcionadas por los distribuidores del propio kit y, tras realizar las pruebas necesarias en nuestro laboratorio, se consideraron detectables, y por lo tanto positivas, las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α que fueran superiores a:

- Etanercept: concentraciones séricas de ETN > 0,035 $\mu\text{g/mL}$
- Adalimumab: concentraciones séricas de ADA > 0,024 $\mu\text{g/mL}$. Entre 0,024 $\mu\text{g/mL}$ y 0,8 $\mu\text{g/mL}$ se consideró que los valores de las concentraciones eran positivos débiles
- Infliximab: concentraciones séricas de IFX > 0,035 $\mu\text{g/mL}$. Entre 0,035 $\mu\text{g/mL}$ y 1,5 $\mu\text{g/mL}$ se consideró que los valores de las concentraciones eran positivos débiles

Por otro lado, se consideraron detectables, y por lo tanto positivas, las concentraciones séricas de anticuerpos antifármaco anti-TNF α que fueran superiores a:

- Etanercept: concentraciones séricas de anticuerpos anti-ETN > 60 AU/mL
- Adalimumab: concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA > 10 AU/mL
- Infliximab: concentraciones séricas de anticuerpos anti-IFX > 5 AU/mL

4. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES A ESTUDIO

Tal y como ya se ha comentado previamente, en las visitas clínicas realizadas en la S0, S24 y S48 se recogieron los distintos datos clínicos, ecográficos y analíticos necesarios para poder cumplir con los objetivos del estudio. En este apartado se describen las variables recogidas en este proyecto y el registro de las mismas. A continuación, se enumeran las distintas variables registradas en el estudio.

- **Demográficas:** Fecha de nacimiento; género; etnia.
- **Relacionadas con la AIJ:** antecedentes patológicos; fecha de inicio de los síntomas articulares; fecha de diagnóstico de la AIJ; subtipo de AIJ; curso articular de la AIJ; afectación ocular; fecha de inicio de la afectación ocular; tipo de afectación ocular; meses de evolución en el momento de introducir el primer FAME; meses de evolución en el momento de introducir el primer anti-TNF α ; tratamientos previos al anti-TNF α actual; motivos de retirada de los tratamientos; duración de los tratamientos; presencia de ANA; presencia de FR; presencia de anti-CCP; presencia del alelo *HLA-B27*.
- **Actividad de la AIJ y de respuesta terapéutica:** número de articulaciones: activas (NAA), limitadas (NAL), dolorosas (NAD) y tumefactas (NAT); valoración global según el médico (VASm); valoración global según los padres del paciente (VASpp); valoración global según el paciente (VASp); reactantes de fase aguda (VSG y PCR); JADAS 10, 27 y 71; cJADAS 10, 27 y 71; JADAS-PCR 10, 27 y 71; criterios de estado de actividad (remisión clínica, inactividad, mínima, moderada y alta); estado de actividad ocular (agudeza visual, Tyndall y flare).
- **Capacidad funcional:** Cuestionarios CHAQ; HAQ.
- **Inmunofenotipo celular:** Determinación de los porcentajes y de los valores absolutos de las células constituyentes de las 62 subpoblaciones linfocitarias descritas previamente.
- **Respuesta inmunogénica:** concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α ; concentraciones séricas de anticuerpos antifármaco anti-TNF α .
- **Ecográfica musculoesquelética:** evaluación mediante escala de grises del grado de derrame e hipertrofia sinovial de las articulaciones descritas (0=ausente, 1=leve, 2=medio y 3=grave); evaluación mediante la señal power Doppler del grado de vascularización de las articulaciones descritas (0=ausente, 1=leve, 2=medio y 3=grave); cálculo del índice de escala de grises (rangos de 0-30 y de 0-36); cálculo del índice de señal power Doppler (rango de 0-30 y de 0-36).

Registro de las variables

Las variables enumeradas fueron registradas en una base de datos diseñada para el presente proyecto. Se desarrolló una base de datos utilizando *MySQL*, un sistema de gestión de bases de datos relacionales muy completo que es ampliamente utilizado en el ámbito biomédico. Se siguió un esquema de diseño que permite una fácil accesibilidad de los datos de forma longitudinal haciendo así la base de datos óptima para su posterior análisis detallado. Para evitar la pérdida de datos se estableció un sistema de *back-up* automático periódico. Como interfaz de acceso a la base de datos se utilizó *PHPMysqlAdmin*, una interfaz gráfica de acceso vía web que permite la consulta, la introducción y la extracción de datos. Para garantizar la confidencialidad de los datos, la base de datos está almacenada en un servidor protegido, accesible sólo mediante una conexión segura (SSL) y el acceso a la interfaz, además, está protegido mediante una doble validación de usuario y contraseña.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con la colaboración de expertos de la Unidad de Estadística y Bioinformática (UEB) del *Institut d'Investigació de l'Hospital Vall d'Hebron (VHIR)* (Dr. S. Pérez-Hoyos). Para los distintos análisis se utilizó el programa de análisis estadístico *Stata 13*.

El presente estudio se realizó en pacientes afectos de AIJ, una enfermedad que se puede clasificar como rara debido a su baja prevalencia en la población. Para realizar el estudio no se calculó el tamaño muestral ya que se dispuso de toda la cohorte de pacientes con AIJ que cumplían los criterios de inclusión y exclusión.

El presente proyecto de investigación contempla distintos tipos de análisis dirigidos a responder preguntas científicas relacionadas con las manifestaciones clínicas y la calidad de vida, la imagen, la inmunogenicidad, el inmunofenotipo y la seguridad farmacológica. Debido a los distintos tipos de variables estudiadas se realizó un análisis estadístico diferente para cada uno de los apartados. A continuación, se explican los análisis estadísticos realizados en cada uno de los apartados del estudio.

5.1. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo mostrando las frecuencias en las que se presentaban las variables cualitativas y de las medias (\pm desviación estándar) calculadas para las variables cuantitativas, tanto en niños como en adultos.

Para comparar los resultados observados en niños y adultos se realizó el análisis estadístico inferencial. En el análisis se utilizaron pruebas paramétricas y no paramétricas y se seleccionó la más adecuada según cuál fuera la simetría de distribución de la variable y según el número de casos evaluados. Se realizó el test de normalidad de *Shapiro-Wilk* para determinar si las variables seguían o no una distribución normal. Se utilizaron dos tipos diferentes de pruebas estadísticas según el tipo de variable que se estudiara, considerándolas estadísticamente significativas con un *P* valor inferior al 5% ($P < 0,05$).

- *Prueba de Fisher y prueba de Chi cuadrado*. Se utilizaron para comparar la existencia de relación entre una variable cualitativa en dos o más grupos si eran independientes. Las frecuencias observadas en cada categoría se obtuvieron en tablas de contingencia y se

calcularon las proporciones observadas. Posteriormente se calcularon las frecuencias esperadas y se calculó la P valor para conocer si las diferencias observadas entre poblaciones eran significativas. En el caso de que la P valor fuera $\leq 0,05$ se aceptó que las diferencias observadas eran significativamente diferentes. Se utilizó la prueba de Fisher cuando el valor de los casos esperados era menor de 5.

- *Pruebas de contraste de hipótesis U de Mann Whitney y T-Student.* Se utilizaron para contrastar la homogeneidad de la distribución o de las medias de variables cuantitativas de dos muestras independientes.

5.2. ANÁLISIS DE LOS DATOS ECOGRÁFICOS

En primer lugar, se realizó un breve análisis descriptivo de las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio ecográfico. A continuación, se realizó un estudio estadístico inferencial en el cual se analizaron:

- La concordancia entre las observaciones intraobservador, interobservador e interaparato
- Las frecuencias de articulaciones afectadas por ecografía y por clínica y la discordancia entre las observaciones clínico-ecográficas patológicas y no patológicas en las distintas articulaciones
- Las diferencias en las distintas variables clínicas estudiadas en función de los valores de los índices ecográficos
- La correlación entre los índices ecográficos y las variables clínicas
- Las diferencias observadas entre niños y adultos

En el análisis de la concordancia se comparó, tanto la concordancia al identificar la presencia de lesión, como la concordancia al graduar la intensidad de la lesión. Para ello se utilizó el *coeficiente kappa de Cohen*. Los valores del *coeficiente de kappa* oscilan entre -1 y +1. En la interpretación de los resultados se consideró que $k = 0$ indicaba ausencia de concordancia (la encontrada por azar), entre $>0 - 0,2$ una mínima concordancia, entre $>0,2 - 0,4$ una baja concordancia, entre $>0,4 - 0,6$ una concordancia moderada, entre $>0,6 - 0,8$ una buena concordancia, entre $>0,8 - 1$ una muy buena concordancia, siendo $k = 1$ la máxima concordancia posible.

El análisis de la frecuencia de las distintas articulaciones afectadas por clínica y ecografía se hizo de forma descriptiva, informando de los porcentajes observados en cada una de ellas. El análisis de las diferencias entre grupos se hizo mediante las pruebas *T de Student*, *U de Mann Whitney*, *ANOVA* y *Kruskal Wallis*, según si eran comparativas realizadas entre 2 o más grupos en el caso de las variables cuantitativas. Se eligieron los resultados correspondientes a las pruebas no paramétricas (*U de Mann Whitney* y *Kruskal Wallis*) al no poder considerar que las variables estudiadas tuvieran una distribución normal. Las diferencias entre grupos cuando se analizaron las variables cualitativas se estudiaron mediante las *pruebas de Fisher* y *Chi cuadrado*, según el número de grupos y de casos esperados. Se calcularon las *P* valor y se consideraron significativas las $P \leq 0,05$.

El análisis de correlación se realizó mediante los *coeficientes de Pearson* y *de Spearman*. Se decidió elegir los resultados del *coeficiente de Spearman* por tratarse de una prueba no paramétrica, puesto que en principio desconocíamos si las variables seguían una distribución normal. En la interpretación de los resultados se consideró que 0 indicaba ausencia de correlación, entre 0 – 0,2 una mínima correlación, entre 0,2 – 0,4 una baja correlación, entre 0,4 – 0,6 una correlación moderada, entre 0,6 – 0,8 una buena correlación, entre 0,8 – 1 una muy buena correlación, siendo 1 la correlación perfecta. El signo nos indica el sentido de la correlación, con lo que un signo positivo indicaría una correlación directa y un signo negativo indicaría una correlación inversa.

Se describieron las diferencias observadas entre los niños y los adultos con AIJ.

5.3. ANÁLISIS DE LAS POBLACIONES CELULARES

En primer lugar, se realizó un breve análisis descriptivo de las características demográficas y clínicas de los pacientes y controles incluidos en el estudio de inmunofenotipo. En esta parte del análisis se realizaron comparaciones entre los resultados obtenidos en el porcentaje y el valor absoluto de las distintas subpoblaciones linfocitarias entre:

- Controles pediátricos y controles adultos
- Pacientes con AIJ pediátricos y pacientes con AIJ adultos
- Pacientes con AIJ pediátricos y controles pediátricos
- Pacientes con AIJ adultos y controles adultos
- Pacientes con AIJ pediátricos según el tratamiento

- Pacientes con AIJ adultos según el tratamiento

Se calcularon las medias, desviación estándar, valores máximo y mínimo y percentiles 25 y 75 de cada subpoblación. Para realizar el análisis comparativo de los distintos grupos se utilizaron dos técnicas estadísticas distintas según si se trataba de comparar dos grupos (p.ej. controles pediátricos vs AIJ pediátricos) o si se trataba de comparar más de dos grupos (p.ej. pacientes con AIJ pediátricos según el tratamiento):

- *Pruebas de contraste de hipótesis, la paramétrica T-Student y la no paramétrica de U-Mann Whitney.* Se realizó el *test de normalidad de Shapiro-Wilk* para determinar si la muestra tenía una distribución normal o no y elegir la prueba de contraste más adecuada en cada caso.
- *Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y paramétrica ANOVA.* Ambas se utilizaron para comparar si había diferencias entre los grupos, cuando se traba de 3 o más grupos a comparar. Cuando la prueba de ANOVA resultó significativa, se realizó el *test de Scheffé*, para comparar las medias de los grupos 2 a 2, e identificar entre qué grupos de pacientes las diferencias eran mayores.

Con las distintas pruebas utilizadas se calculó la *P* valor. Al estar comparando mediciones entre grupos de sujetos (controles y pacientes con AIJ) estratificados por la edad, se ajustaron los valores *P* por la edad de los sujetos en todas las comparaciones incluidas en el estudio del inmunofenotipo celular.

5.4. ANÁLISIS DE INMUNOGENICIDAD

En primer lugar, se realizó un breve análisis descriptivo de las características demográficas y clínicas de los pacientes en tratamiento con terapia anti-TNF α incluidos en el estudio de inmunogenicidad.

Se realizó un estudio estadístico inferencial en el cual se analizaron:

- La concordancia entre las medidas en las repeticiones intralaboratorio e interlaboratorio
- Las diferencias entre adultos y niños en tratamiento con los distintos fármacos anti-TNF α (ETN, ADA e IFX por separado)
- Las diferencias en las concentraciones en suero de fármaco anti-TNF α (ETN, ADA e IFX por separado) entre niños y adultos

- Las diferencias en las concentraciones en suero de fármaco anti-TNF α (ETN, ADA e IFX por separado) entre niños y adultos según la frecuencia de administración del fármaco
- Las diferencias en la producción de anticuerpos antifármaco anti-TNF α (ETN, ADA e IFX por separado) entre niños y adultos
- Las diferencias entre pacientes productores y no productores de anticuerpos anti-ADA.
- La correlación y la variación de las variables clínicas según las concentraciones en suero de anti-TNF α
- La correlación y la variación de las variables clínicas según la presencia en suero de anticuerpos antifármaco anti-TNF α

Se decidió aleatoriamente repetir algunas de las muestras analizadas con el fin de evaluar posibles variaciones relacionadas con la técnica, analizando la concordancia de los resultados obtenidos en nuestro laboratorio y en el laboratorio externo. Realizamos estas repeticiones para determinar la semejanza de mediciones de la misma variable continua (concentración de fármaco o de anticuerpos anti-fármaco) en las mismas muestras, realizadas con equipos diferentes o en días diferentes. Para ello se calculó el *coeficiente de correlación de Pearson* (r) y el *coeficiente de correlación y concordancia de Lin* (1989). El *coeficiente de Lin* 1989 (ρ_c) se consideró más apropiado al considerar la correlación intrínseca de efectuar medidas repetidas. Un valor de $\rho_c > 0,99$ indicaría una correlación de concordancia casi perfecta y valores entre 0,95-0,99 indicarían una muy buena correlación. Además, se calculó el sesgo (sesgo = cociente entre el ρ_c y la r) y se expresó gráficamente. Un valor próximo a 1 indicaría que no hay sesgo. Se calculó el intervalo de confianza y el P valor para demostrar que la concordancia no era debida al azar. Por último, se realizó la comparación mediante el *método de Bland-Altman* para visualizar la diferencia en las mediciones. Se decidió presentar los resultados mediante los *gráficos de Bland-Altman*, por ser los más expresivos visualmente.

En el análisis de las diferencias entre grupos, al tratarse de variables cuantitativas, se utilizaron las *pruebas T de Student, U de Mann Whitney, ANOVA y Kruskal Wallis*, según si eran comparativas realizadas entre 2 o más grupos. Se eligieron los resultados correspondientes a las pruebas no paramétricas (*U de Mann Whitney y Kruskal Wallis*) al no poder demostrar que las variables estudiadas tuvieran una distribución normal. Se calcularon las P valor y se consideraron significativas las $P \leq 0,05$. Al igual que en el estudio ecográfico, el análisis de correlación se realizó mediante los *coeficientes de Pearson y de Spearman*.

6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente trabajo se llevó a cabo cumpliendo los principios éticos básicos contenidos en la Declaración de Helsinki. Durante todo el estudio, los pacientes fueron tratados según la práctica clínica habitual y ésta no se modificó en función de los objetivos del estudio. Si los pacientes entraban en remisión y el médico responsable decidía suspender el tratamiento anti-TNF α , éste se suspendía y se dejaba de realizar el estudio de inmunogenicidad al paciente. Si, por el contrario, empeoraban clínicamente se intensificaba o añadía cualquier medicación que el médico tratante considerara oportuna. Todas las decisiones médicas fueron tomadas de forma independiente al curso del estudio.

El presente proyecto fue clasificado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) como un EPA-AS “Estudio Post-autorización financiado con fondos públicos o promovido por Administraciones Sanitarias”. El código con el que fue asignado fue MOD-ANT-2014-01. Se obtuvo la aprobación del estudio por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del *Hospital Universitari Vall d’Hebron*. La aprobación provisional se obtuvo en fecha 28 de marzo del 2014 y la aprobación definitiva el 14 de mayo del 2014. Los fondos públicos con los que se ha financiado el presente proyecto de investigación biomédica provienen del Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III (PI13/00857).

Se ha seguido en todo momento la legislación nacional vigente contemplada en la Ley de Investigación Biomédica (Ley 14/2007 y RD 1716/2011) y la Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD 15/1999).

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS SUJETOS EN ESTUDIO

En este apartado, se presentan las características demográficas de los sujetos control, y las características demográficas, clínicas y relacionadas con el tratamiento de todos los pacientes con Artritis Crónica Juvenil incluidos en el presente proyecto de tesis doctoral.

Los pacientes incluidos en el presente proyecto de investigación biomédica no se corresponden con toda la cohorte de pacientes con AIJ de nuestro centro. Los pacientes incluidos en el estudio, tal y como se ha detallado en el apartado Material y métodos, son todos aquellos pacientes con AIJ, niños o adultos, que estuvieran recibiendo tratamiento con MTX en monoterapia o bien recibiendo una terapia anti-TNF α , en el momento de ser incluidos en el estudio.

1.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

En el presente apartado se describen las características demográficas de los sujetos control y de los pacientes con AIJ que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión en la visita basal (p.ej. en el momento de su inclusión en el estudio).

Sujetos control

En total, se incluyó un grupo de 59 sujetos control, constituido por 29 niños sanos y 30 adultos sanos. Todos ellos cumplían con los criterios de inclusión y exclusión detallados en el correspondiente apartado de Material y métodos. En el grupo de niños control, el valor de la media de la edad fue de $8,3 \pm 4,5$ años (rango de 2 –15). Entre ellos 18 (62,1%) de los pacientes eran de género masculino y 11 (37,9%) eran de género femenino. En el grupo de adultos control, la media de la edad fue de $27,7 \pm 4,3$ años (rango de 18 – 36). Entre ellos 11 (36,7%) de los pacientes eran de género masculino y 19 (63,3%) eran de género femenino.

Pacientes con Artritis Idiopática Juvenil

Pacientes con AIJ: En total, se incluyeron 106 pacientes con AIJ, incluyendo a la población pediátrica y a la población adulta joven. La media de la edad de esta cohorte en la visita basal era de $14,7 \pm 7,1$

años. En cuanto al género de los pacientes, 72 (67,9%) eran de género femenino y 34 (32,1%) eran de género masculino.

Población pediátrica con AIJ: En total, se incluyeron 68 pacientes pediátricos con edades comprendidas entre los 2 y los 16 años. La media de la edad de estos niños en la visita basal era de $10,3 \pm 4,1$ años. En cuanto al género de los pacientes, 49 (72,1%) eran de género femenino y 19 pacientes (27,9%) eran de género masculino.

Población de adultos con AIJ: En total, se incluyeron 38 pacientes adultos jóvenes, con edades comprendidas entre los 17 y los 32 años. La media de la edad de estos adultos jóvenes en la visita basal era de $22,4 \pm 4,2$ años. En cuanto el género de los pacientes 23 (60,5%) eran de género femenino y 15 pacientes (39,5%) eran de género masculino.

1.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASALES DE LOS PACIENTES

A continuación, se describen las características clínicas de todos los pacientes con AIJ incluidos en el presente proyecto de tesis doctoral. Estas variables están relacionadas con la AIJ y con la actividad de la enfermedad. Se obtuvieron a partir de una revisión exhaustiva de las historias clínicas y de los datos recogidos en la primera visita del estudio (S0).

1.2.1. Clasificación, evolución y curso clínico

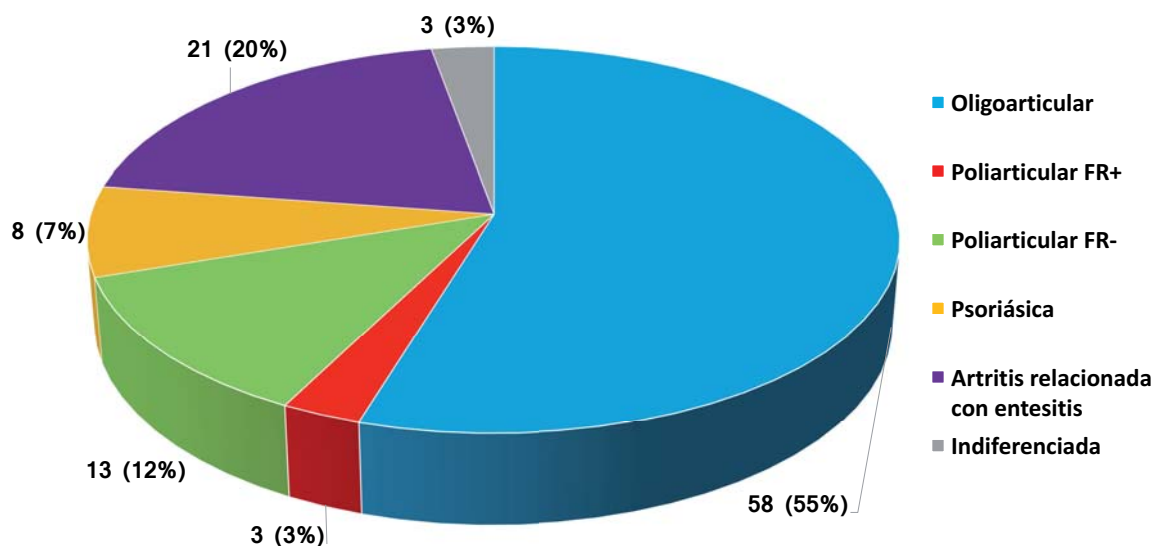
Pacientes con AIJ

La edad al inicio de los primeros síntomas relacionados con la AIJ era de $5,61 \pm 4,44$ años. La edad al diagnóstico de la AIJ era de $6,57 \pm 4,69$ años. El tiempo de retraso desde las primeras manifestaciones clínicas hasta el diagnóstico de AIJ fue de $11,68 \pm 18,20$ meses. El tiempo de evolución de la AIJ en la primera visita del presente proyecto era de $9,09 \pm 6,7$ años.

En referencia al subtipo de la enfermedad, la mayor parte de ellos, 58 (54,72%) pacientes, tenían una AIJ oligoarticular, 3 (2,83%) pacientes una AIJ poliarticular FR positivo, 13 (12,26%) una AIJ poliarticular FR negativo, 21 (19,81%) una AIJ artritis relacionada con entesitis, 8 (7,55%) una AIJ psoriásica y 3 pacientes (2,83%) una AIJ Indiferenciada (Gráfico 15). De los 58 pacientes afectados de una AIJ

oligoarticular 39 pacientes tenían una AIJ oligoarticular persistente y 19 una AIJ oligoarticular extendida.

Gráfico 15. Subtipos de artritis idiopática juvenil.



Si consideramos sólo el número de articulaciones afectadas durante la evolución de la AIJ, 62 de ellos (58,49%) tuvieron una forma oligoarticular y 44 de ellos (41,51%) una forma poliarticular. En cuanto a la afectación ocular, del total de pacientes con AIJ 23 (21,70%) habían tenido por lo menos un episodio de uveítis. El tiempo de evolución de la uveítis en la visita basal era de $7,13 \pm 7,33$ años. El tiempo transcurrido desde el inicio de la inflamación articular hasta el inicio de la inflamación ocular fue de $37,16 \pm 31,89$ meses. Cabe destacar que, dos de los pacientes pediátricos, presentaron uveítis meses antes de presentar la artritis (20,8 y 50,4 meses previos, respectivamente). Las principales características de la uveítis fueron las siguientes:

- 19 (82,61%) pacientes tuvieron una uveítis crónica anterior. De éstos, 10 tuvieron una afectación bilateral y 9 una afectación unilateral.
- 4 (17,39%) pacientes tuvieron una uveítis aguda anterior.

Población pediátrica con AIJ

La edad al inicio de los primeros síntomas relacionados con la AIJ en la población pediátrica era de $4,72 \pm 3,8$ años. La media de la edad al diagnóstico de la AIJ en la población pediátrica era de $5,56 \pm 4,1$ años. El tiempo de retraso desde las primeras manifestaciones clínicas hasta el diagnóstico de la AIJ

fue de $9,25 \pm 15,9$ meses. El tiempo de evolución de la AIJ en la primera visita del presente proyecto era de $5,63 \pm 3,7$ años.

Respecto al subtipo de la enfermedad, la mayor parte de ellos, 45 (66,2%) tenían una AIJ oligoarticular, 2 (2,9%) pacientes una AIJ poliarticular FR positivo, 6 (8,8%) pacientes una AIJ poliarticular FR negativo, 9 (13,3%) pacientes AIJ artritis relacionada con entesitis, 4 (5,9%) pacientes AIJ Psoriásica, 2 pacientes (2,9%) AIJ Indiferenciada. De los 45 pacientes afectados de una AIJ oligoarticular, 35 pacientes tenían una AIJ oligoarticular persistente y 10 una AIJ oligoarticular extendida. El curso de la artritis de los pacientes con AIJ en la población pediátrica en cuanto se refiere al número de articulaciones afectadas fue: curso oligoarticular, historia de una afectación articular de ≤ 4 articulaciones, en 47 (69,1%) de ellos; curso poliarticular, historia de una afectación articular de ≥ 5 articulaciones 21 (30,9%) de ellos. En relación a la afectación ocular, del total de pacientes pediátricos 15 (22,1%) habían tenido algún episodio de uveítis. El tiempo de evolución de la uveítis al realizar la primera visita del estudio era de $4,18 \pm 3,9$ años.

Población de adultos con AIJ

La edad al inicio de los primeros síntomas relacionados con la AIJ en la población adulta era de $7,21 \pm 5,1$ años. La media de la edad al diagnóstico de la AIJ en la cohorte adulta era de $8,37 \pm 5,2$ años. El tiempo de retraso desde las primeras manifestaciones clínicas hasta el diagnóstico en la cohorte adulta de los pacientes con AIJ fue de $14,16 \pm 20,2$ meses. El tiempo de evolución de la AIJ en la primera visita del presente proyecto era de $15,26 \pm 6,5$ años.

En referencia al subtipo de la enfermedad, 13 (34,3%) pacientes tenían una AIJ oligoarticular, 1 (2,6%) paciente una AIJ poliarticular FR positivo, 7 (18,5%) pacientes una AIJ poliarticular FR negativo, 12 (31,6%) pacientes una AIJ artritis relacionada con entesitis, 4 (10,5%) pacientes AIJ psoriásica, 1 (2,6%) paciente una AIJ indiferenciada. De los 13 pacientes afectados de una AIJ oligoarticular 4 pacientes tenían una AIJ oligoarticular persistente y 9 una AIJ oligoarticular extendida. Si consideramos sólo el número de articulaciones afectadas durante la evolución de la AIJ, 14 (36,8%) de ellos tuvieron una forma oligoarticular y 24 (63,2%) de ellos una forma poliarticular. En cuanto a la afectación ocular, del total de pacientes adultos 8 (21,1%) tuvieron algún episodio de uveítis. El tiempo de evolución de la uveítis al realizar la primera visita del estudio era de $13,44 \pm 9,1$ años.

Diferencias entre población pediátrica y adulta

En la siguiente Tabla 15 se resumen las diferencias observadas entre la población pediátrica y la población de adultos, en referencia a las características de la AIJ explicadas previamente.

Tabla 15. Características de los pacientes pediátricos y adultos con artritis idiopática juvenil.

	AIJ Pediátricos N=68	AIJ Adultos N=38	P valor
Edad al inicio de los síntomas (años)	4,72 ± 3,8	7,21 ± 5,1	0,0071
Edad al diagnóstico (años)	5,56 ± 4,1	8,37 ± 5,2	0,0048
Tiempo de retraso diagnóstico (meses)	9,25 ± 15,9	14,16 ± 20,2	0,1052
Uveítis	15 (22,1)	8 (21,1)	0,9041
Curso de la AIJ			
▪ Oligoarticular	47 (69,1)	14 (36,8)	0,0013
▪ Poliarticular	21 (30,9)	24 (63,2)	
Subgrupo de AIJ			
▪ Oligoarticular	45 (66,2)	13 (34,3)	0,0015
▪ Poliarticular FR-	6 (8,8)	7 (18,4)	0,1486
▪ Poliarticular FR+	2 (2,9)	1 (2,6)	0,9266
▪ Psoriásica	4 (5,9)	4 (12,5)	0,3854
▪ Artritis relacionada con entesitis	9 (13,3)	12 (28,1)	0,0231
▪ Indiferenciada	2 (2,9)	1 (2,6)	0,9266

Valores expresados como medias ± desviación estándar o como número de pacientes y porcentaje.

1.2.2. Características inmunológicas

En cuanto a las características inmunológicas, si consideramos a todos los pacientes con AIJ, 75 (70,75%) pacientes eran ANA positivo, 24 (24,64%) pacientes *HLA-B27* positivo, 4 (3,77%) pacientes FR positivo y 3 (2,83%) pacientes anti-CCP positivo. Los 3 pacientes anti-CCP positivo pertenecían al subgrupo de AIJ poliarticular FR+. Uno de los pacientes con FR positivo pertenecía al subgrupo de AIJ indiferenciada. En la cohorte pediátrica, 54 (79,41%) pacientes eran ANA positivo, 11 (16,18%) pacientes *HLA-B27* positivo, 3 (4,41%) pacientes FR positivo y 2 (2,94%) pacientes anti-CCP positivo. En la cohorte de adultos 21 (55,26%) pacientes eran ANA positivo, 13 (34,21%) pacientes *HLA-B27* positivo, 1 (2,63%) paciente FR positivo y 1 (2,63%) paciente anti-CCP positivo. Al comparar el porcentaje de pacientes que presentaban autoanticuerpos y el antígeno *HLA-B27*, entre la cohorte pediátrica y adulta no se observaron diferencias significativas en cuanto al FR y los anticuerpos anti-CCP ($P = 0,64$ y $0,93$ respectivamente). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en cuanto a la presencia de ANA y del antígeno B27 entre ambos grupos ($P = 0,0087$ y $0,0334$, respectivamente).

1.2.3. Tratamiento

Tratamientos previos

Del total de los pacientes incluidos en el presente proyecto de investigación, 105 (99,1%) habían recibido tratamiento con glucocorticoesteroides orales y/o intraarticulares en algún momento desde el diagnóstico de AIJ. Sólo un paciente de la cohorte pediátrica no los había recibido. Por otro lado 88 (83%) de los pacientes habían recibido tratamiento con AINEs en algún momento desde o bien durante el proceso de diagnóstico. De estos 88 pacientes, 55 corresponden a la población pediátrica y 33 a la de adultos.

Los 106 (100%) pacientes incluidos en el presente proyecto de investigación habían recibido tratamiento con FAMEs en algún momento desde el diagnóstico de AIJ. En cuanto al tratamiento con terapias biológicas, 76 (71,70%) pacientes las habían recibido en algún momento desde el diagnóstico de AIJ. Los distintos tratamientos con FAMEs y con terapias biológicas que recibieron los pacientes, y las diferencias en la frecuencia de administración de cada uno de ellos entre población pediátrica y adulta, se resumen en la siguiente Tabla 16.

Tabla 16. Tratamientos previos de los pacientes con artritis idiopática juvenil.

Tratamientos previos	AIJ	AIJ pediátricos	AIJ adultos
Tratamiento con FAMEs	N=106	N=68	N=38
Metotrexato	104 (98,1)	68 (100)	36 (94,7)
Leflunomida	40 (37,7)	23 (33,8)	17 (44,7)
Sulfasalazina	12 (11,3)	2 (2,9)	10 (26,3)
Ciclosporina A	9 (8,5)	1 (1,5)	8 (21,1)
Hidroxicloroquina	6 (5,7)	2 (2,9)	4 (10,5)
Micofenolato	4 (3,8)	3 (4,4)	1 (2,6)
Tacrólimus	15 (14,2)	6 (8,8)	9 (23,7)
Sales de Oro	4 (3,8)	0 (0)	4 (10,5)
Azatioprina	7 (6,6)	1 (1,5)	6 (15,8)
Tratamiento con fármaco biológico	N= 76	N= 41	N= 35
Etanercept	62 (81,6)	34 (82,9)	28 (80)
Adalimumab	32 (42,1)	16 (39)	16 (45,7)
Infliximab	6 (7,9)	1 (2,4)	5 (14,3)
Abatacept	1 (1,3)	1 (2,4)	0 (0)
Tocilizumab	1 (1,3)	1 (2,4)	0 (0)

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje.

El valor de la media del número de FAMEs utilizados en la cohorte de AIJ antes de entrar en el estudio era de $1,96 \pm 1,37$ y de la media de tratamientos biológicos era de $0,93 \pm 0,81$. El número de FAMEs

previos fue significativamente superior en los pacientes adultos que en los pediátricos ($P = 0,001$), independientemente de que hubieran seguido un curso oligoarticular o poliarticular de la AIJ. El número de terapias biológicas previas fue superior en los pacientes adultos pero de forma no significativa ($P = 0,201$).

El periodo transcurrido desde el inicio de la AIJ hasta la introducción del FAME y del biológico fue significativamente menor en la cohorte pediátrica que en la cohorte de adultos ($P = 0,010$ y $P = 0,003$, respectivamente). Las diferencias pormenorizadas según la edad, la presencia de uveítis y la historia de una afectación articular de ≤ 4 articulaciones (curso oligoarticular) o ≥ 5 articulaciones (curso poliarticular) se describen en la siguiente Tabla 17. En todas las situaciones clínicas especificadas el tiempo transcurrido hasta el inicio del fármaco fue significativamente superior en los adultos con respecto a los pacientes pediátricos.

Tabla 17. Periodo transcurrido desde el inicio de la artritis idiopática juvenil hasta la introducción del fármaco (meses).

Tratamiento introducido	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos	
FAMEs	N	Meses	N	Meses	N	Meses
AIJ	106	6,2 ± 15,8	68	4,2 ± 11,6	38	10 ± 11,6
AIJ de curso oligoarticular	61	6,1 ± 13,7	47	5,3 ± 13,7	15	8,9 ± 13,8
AIJ de curso poliarticular	45	6,4 ± 18,5	21	1,6 ± 3,1	23	10,6 ± 24,6
AIJ sin antecedente de uveítis	83	1,8 ± 1,3	53	1,4 ± 0,7	30	8,2 ± 11,6
AIJ con antecedente de uveítis	23	2,7 ± 1,6	15	2,2 ± 0,9	8	16,4 ± 39,1
Biológico	N	Meses	N	Meses	N	Meses
AIJ	76	57,9 ± 57,7	41	33,3 ± 34,7	35	87,4 ± 65,8
AIJ de curso oligoarticular	41	47,9 ± 43,3	29	38,4 ± 37,9	12	71,4 ± 48,4
AIJ de curso poliarticular	35	69,9 ± 70	12	20,4 ± 21,2	23	95,8 ± 72,8
AIJ sin antecedente de uveítis	56	0,9 ± 0,8	29	0,7 ± 0,8	27	79,6 ± 64,4
AIJ con antecedente de uveítis	20	1,2 ± 0,7	12	1,0 ± 0,7	8	113,9 ± 67,7

Valores expresados como medias ± desviación estándar. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; N, número de pacientes.

Por último, respecto a otros tratamientos, entre los pacientes adultos que se incluyeron en el estudio, 2 habían recibido tratamiento con gammaglobulinas endovenosas, uno con inhibidores de la ciclooxigenasa-2 y 9 pacientes habían recibido tratamiento con ácido acetil salicílico.

Tratamiento en la visita basal

Los 106 pacientes con AIJ incluidos en el presente proyecto habían iniciado tratamiento farmacológico de forma previa a la primera visita del estudio. Las terapias recibidas eran MTX en monoterapia (N=32)

o asociado al tratamiento biológico con terapias anti-TNF α (N=74). Las terapias anti-TNF α que recibían los pacientes eran el Etanercept (ETN), el Adalimumab (ADA) o el Infliximab (IFX). Estos tratamientos biológicos podían administrarse o bien en monoterapia, o bien en combinación con un fármaco modificador de la enfermedad no biológico (FAME).

Los datos de todos los pacientes con AIJ incluidos en el estudio, y los datos de la cohorte pediátrica y de adultos se representan en la siguiente tabla.

Tabla 18. Tratamiento de los pacientes con artritis idiopática juvenil en la visita basal.

	AIJ N=106	AIJ pediátricos N=68	AIJ adultos N=38	P valor
Tratamiento concomitante				
▪ AINEs	13 (12,3)	7 (10,3)	6 (15,8)	0,4082
▪ GC orales	52 (49,1)	36 (52,9)	16 (42,1)	0,2845
Tratamiento				
▪ MTX	32 (30,2)	27 (39,7)	5 (13,2)	0,0043
▪ Anti-TNF α	74 (69,8)	41 (60,3)	33 (86,8)	
Tratamiento con anti-TNFα	74	41	33	
▪ Monoterapia	23 (31,1)	8 (19,5)	15 (45,5)	0,0165
▪ Combinada con FAMEs	51 (68,9)	33 (80,5)	18 (54,5)	
Fármacos anti-TNFα				
▪ Etanercept	43 (58,1)	25 (61,0)	18 (54,6)	0,5774
▪ Adalimumab	29 (39,2)	15 (36,6)	14 (42,4)	0,6091
▪ Infliximab	2 (2,7)	1 (2,4)	1 (3,0)	0,8761

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje. AINEs, antiinflamatorios no esteroideos; GC, glucocorticosteroides orales; FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, Metotrexato.

En el momento de realizar la primera visita del presente proyecto de investigación, 51 (68,9%) pacientes que seguían tratamiento con anti-TNF α recibían tratamiento concomitante con FAMEs. Por orden de frecuencia se señalan los FAMEs que recibían los pacientes a estudio:

- MTX fue el FAME usado con mayor frecuencia, en 31 (60,8%) pacientes, 23 niños y 8 adultos
- LFN fue el segundo FAME más utilizado, en un total de 12 (23,5%) pacientes, 6 niños y 6 adultos
- Micofenolato (MCF) era utilizado en 4 (7,8%) pacientes, 3 niños y 1 adulto
- Azatioprina (AZA) en 3 (5,9%) pacientes, 1 niño y 2 adultos
- Sulfasalazina (SSZ) en 2 (3,9%) pacientes, 2 adultos
- Tacrólimus (TCL) en 2 (3,9%) pacientes, 1 niño y 1 adulto

Tres de los pacientes (2 adultos y 1 niño), realizaban tratamiento combinado con anti-TNF α y 2 FAMEs. En dos casos la combinación de FAMEs fue la LFN y el MTX (1 adulto y 1niño) y en el tercero la LFN y el TCL (1 adulto).

1.2.4. Actividad clínica

En este apartado se describen las variables relacionadas con la actividad inflamatoria de la AIJ, tanto en referencia a los datos de todos los pacientes incluidos en el estudio como en referencia a los datos comparativos entre la población pediátrica y la de adultos.

La mayor parte de los pacientes incluidos en el estudio presentaban una situación clínica estable. El estado de actividad de la AIJ en 68 (64,15%) pacientes era de inactividad, por cumplir con los criterios de enfermedad inactiva. Por lo tanto, 38 (35,85%) pacientes tenían una enfermedad activa. Cabe destacar que, de estos 38 pacientes, 15 de ellos cumplían los criterios de mínima enfermedad. De los 15 pacientes que cumplían criterios de alta actividad, 3 de ellos era a consecuencia de un nuevo brote de inflamación ocular. Cuando comparamos los datos de la población pediátrica con los datos de la población adulta, observamos que no había diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia de pacientes activos e inactivos de cada grupo ($P = 0,5608$). En la siguiente tabla se presentan los datos referentes a toda la cohorte, niños y adultos con AIJ, comparando las frecuencias de cada uno de los estados clínicos entre niños y adultos.

Tabla 19. Actividad de los pacientes con artritis idiopática juvenil en la visita basal.

	AIJ	AIJ pediátricos	AIJ adultos	P valor
Sin actividad clínica	68 (64,15)	45 (66,18)	23 (60,53)	
En remisión	51 (75)	34 (75,6)	17 (73,9)	0,6030
Inactivos	17 (25)	11 (24,4)	6 (26,1)	0,9584
Con actividad clínica	38 (35,85)	23 (33,82)	15 (39,47)	
Mínima enfermedad activa	15 (39,5)	9 (39,1)	6 (40)	0,7175
Moderada actividad	8 (21,0)	4 (17,4)	4 (26,7)	0,3854
Alta actividad	15 (39,5)	10 (43,5)	5 (33,3)	0,8264
Total	106 (100)	68 (100)	38 (100)	

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje.

Tal y como se ha comentado previamente, 23 de los pacientes incluidos en el estudio habían presentado por lo menos un episodio de uveítis. De ellos, 3 pacientes presentaban actividad inflamatoria ocular en la primera visita.

El número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas de los pacientes en la primera visita del estudio se describen en la siguiente Tabla 20. Se presenta también el número de pacientes que o bien no presentaban ninguna articulación afectada, o bien presentaban al menos una articulación afectada en la visita basal. Este último dato es de especial relevancia para comprender el estado clínico de nuestra cohorte de pacientes al entrar en el estudio.

Tabla 20. Número de articulaciones afectadas en los pacientes con artritis idiopática juvenil en la visita basal.

	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos		P valor
	N	Valor	N	Valor	N	Valor	
NAA	106	0,31 ± 0,7	68	0,28 ± 0,6	38	0,42 ± 0,8	
NAA = 0	81	76,4	54	79,4	27	71,1	0,3309
NAA ≥ 1	25	23,6	14	20,6	11	28,9	
NAD	106	0,30 ± 0,7	68	0,22 ± 0,5	38	0,45 ± 0,8	
NAD = 0	83	78,3	57	83,8	26	68,4	0,0650
NAD ≥ 1	23	21,7	11	16,2	12	31,6	
NAT	106	0,28 ± 0,6	68	0,25 ± 0,6	38	0,34 ± 0,7	
NAT = 0	84	79,2	55	80,9	29	76,3	0,5782
NAT ≥ 1	22	20,8	13	19,1	9	23,7	
NAL	106	0,47 ± 1,1	68	0,26 ± 0,7	38	0,84 ± 1,5	
NAL = 0	76	71,7	55	80,9	21	55,3	0,0050
NAL ≥ 1	30	28,3	13	19,1	17	44,7	

Valores expresados como medias ± desviación estándar o porcentajes; N, número de pacientes; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas.

Se presenta a continuación, una descripción de la localización de las articulaciones que se evaluaron como clínicamente activas en la exploración física correspondiente a la primera visita del estudio.

Tabla 21. Número y localización de las articulaciones clínicamente activas en la visita basal.

	AIJ	AIJ pediátricos	AIJ adultos
Carpos	10 (28,5)	5 (26,3)	5 (31,2)
Rodillas	9 (25,7)	6 (31,5)	3 (18,8)
Tobillos	8 (22,9)	5 (26,3)	3 (18,8)
Codos	5 (14,3)	1 (5,3)	4 (25)
Hombros	2 (5,7)	1 (5,3)	1 (6,2)
Caderas	1 (2,9)	1 (5,3)	0 (0)
Total articulaciones	35 (100)	19 (100)	16 (100)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

La valoración de la enfermedad mediante las escalas analógicas visuales fue determinada en todos los pacientes que se incluyeron en el estudio por el médico, por el paciente y/o por los padres del paciente.

Se dispone de la valoración según el médico en todos los casos, aunque la valoración según los padres del paciente estuvo determinada por la edad y/o por si los pacientes venían acompañados en la consulta. Los datos de la primera visita de estas valoraciones se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 22. Escalas analógicas visuales en los pacientes con artritis idiopática juvenil en la visita basal.

	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos		P valor
	N	Valor	N	Valor	N	Valor	
VASm	106	0,57 ± 1,0	68	0,53 ± 0,9	38	0,63 ± 1,1	0,428
VASp	104	0,72 ± 1,5	67	0,41 ± 1	37	1,28 ± 2,1	0,017
VASpp	80	0,69 ± 1,4	68	0,57 ± 1,3	12	1,38 ± 2,1	0,963

Valores expresados como medias ± desviación estándar; N, número de pacientes; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

En la siguiente tabla se presentan los valores de los reactantes de fase aguda registrados en la primera visita del estudio.

Tabla 23. Reactantes de fase aguda en los pacientes con artritis idiopática juvenil en la visita basal.

	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos		P valor
	N	Valor	N	Valor	N	Valor	
VSG (mm/h)	100	19,18 ± 15,7	62	20,4 ± 15,8	38	17,18 ± 15,6	0,1211
PCR (mg/dL)	105	0,36 ± 1	68	0,40 ± 1,1	37	0,28 ± 0,6	0,1738

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de pacientes evaluados. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Tal y como se ha comentado en apartados anteriores, existen distintos índices compuestos para medir la actividad en la AIJ. En el presente proyecto de tesis doctoral se han calculado los JADAS clásicos, utilizando la VSG, los JADAS clínicos, sin reactantes de fase aguda, y los JADAS PCR, utilizando la PCR como reactante. No se observaron diferencias significativas en las puntuaciones del JADAS entre niños y adultos (datos nos mostrados). Los resultados obtenidos en cada grupo de pacientes se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 24. Actividad de los pacientes con artritis idiopática juvenil determinada mediante los índices JADAS en la visita basal.

	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos	
	N	Puntuación	N	Puntuación	N	Puntuación
JADAS 10		2,21 ± 3,2		1,92 ± 2,7		2,73 ± 3,9
JADAS 27	99	2,20 ± 3,1	62	1,90 ± 2,7	37	2,73 ± 3,9
JADAS 71		2,21 ± 3,2		1,92 ± 2,7		2,73 ± 3,9
cJADAS 10		1,66 ± 2,6		1,35 ± 2,1		2,23 ± 3,3
cJADAS 27	105	1,65 ± 2,6	68	1,34 ± 2,1	37	2,23 ± 3,3
cJADAS 71		1,66 ± 2,6		1,35 ± 2,1		2,23 ± 3,3
JADAS PCR 10		1,80 ± 2,7		1,56 ± 2,3		2,23 ± 3,3
JADAS PCR 27	104	1,79 ± 2,7	68	1,55 ± 2,3	36	2,23 ± 3,3
JADAS PCR 71		1,80 ± 2,7		1,56 ± 2,3		2,23 ± 3,3

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de pacientes evaluados. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Por último, los resultados relacionados con la capacidad funcional se presentan en la siguiente Tabla 25. Se describen, además, el número de pacientes con puntuaciones en cualquiera de los índices igual a 0, es decir, sin ningún tipo de limitación física, y los que presentan mayores puntuaciones. El motivo de especificar esta diferencia entre pacientes sin limitaciones y pacientes con algún tipo de limitación, reside en la importancia para comprender el estado clínico de nuestros pacientes en la primera visita del estudio. No hubo diferencias significativas entre pacientes pediátricos y adultos en los valores del CHAQ ni los del HAQ ($P = 0,483$ y $P = 0,896$, respectivamente).

Tabla 25. Cuestionarios de capacidad funcional en los pacientes con artritis idiopática juvenil en la primera visita.

	AIJ		AIJ pediátricos		AIJ adultos	
	N	Puntuación	N	Puntuación	N	Puntuación
CHAQ	80	0,09 ± 0,2	68	0,08 ± 0,2	12	0,19 ± 0,4
CHAQ = 0	60	75	52	76,5	8	66,7
CHAQ > 0	20	25	16	23,5	4	33,3
HAQ	44	0,13 ± 0,3	7	0,07 ± 0,1	37	0,15 ± 0,3
HAQ = 0	31	70,5	5	71,4	26	70,3
HAQ > 0	13	29,5	2	28,6	11	29,7

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de pacientes y porcentaje. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Tal y como se ha comentado previamente, el presente apartado incluye la descripción de las características clínico patológicas basales de todos los pacientes con AIJ incluidos en el presente proyecto de tesis doctoral. Prácticamente la totalidad de los pacientes con AIJ que cumplieron los criterios de inclusión en la semana basal, fueron incluidos en los subestudios de la ecografía y del

inmunofenotipo celular, salvo algunas excepciones que se comentarán con detalle en el apartado correspondiente de cada subestudio.

Con el objetivo de optimizar al máximo el tamaño muestral y por tanto el poder estadístico de los análisis en una enfermedad minoritaria y en la que obtener grandes grupos de pacientes clínicamente homogéneos es realmente muy difícil, se optó por incluir en cada uno de los subestudios el conjunto total de los pacientes de los que disponíamos de la información específica para ese subestudio (p. ej. datos completos de las exploraciones ecográficas o del inmunofenotipo celular). Por este motivo el tamaño muestral de cada subestudio varía ligeramente, tal y como se detallará en el correspondiente apartado de los resultados (p. ej. las diferencias entre ellos son menores a 7 pacientes).

A fin de poder extrapolar todos los resultados del presente proyecto al conjunto de pacientes con AIJ de nuestra serie, se analizó si existían diferencias significativas entre todos los pacientes con AIJ ($n=106$) y cada grupo de pacientes incluidos en los estudios ecográfico ($n=102$) y del inmunofenotipo celular ($n=100$), tanto pediátricos como adultos. Para ello se analizó si existían diferencias significativas en cada una de las variables registradas en el estudio entre los tres grupos de pacientes y también en relación a la clasificación en pacientes pediátricos y adultos. Es preciso mencionar que no se objetivaron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas entre todos los pacientes con AIJ, los pacientes incluidos en el estudio ecográfico y los pacientes incluidos en el estudio del inmunofenotipo celular, tanto en relación al conjunto global de pacientes con AIJ como en relación a los subgrupos de pacientes pediátricos y adultos. La mínima diferencia en el tamaño muestral y el hecho de que los pacientes descartados fuera debido al azar, proporcionó un valor de P para cada una de las variables testadas $P > 0,8$ e incluso $P = 1$ en algunas de ellas (datos no mostrados). El subestudio de inmunogenicidad es diferente porque estaba definido por unos criterios de inclusión y de exclusión bien establecidos, de manera que se excluyeron los pacientes que recibían MTX en monoterapia. En el subestudio de inmunogenicidad se incluyeron únicamente a los pacientes con AIJ, tanto pediátricos como adultos, que recibían tratamiento anti-TNF α en el momento de la inclusión en el estudio.

Con el objetivo de proporcionar la máxima información disponible y facilitar la comprensión del presente proyecto, al inicio de la presentación de los resultados de cada subestudio se describen las características clínicas basales de los pacientes que fueron incluidos en dicho estudio. Sin embargo, no se presentan los resultados del análisis comparativo entre grupos y todas las variables del estudio al generar un gran volumen de datos y no aportar información relevante.

2. ANÁLISIS DEL ESTUDIO ECOGRÁFICO

El estudio ecográfico de los pacientes se realizó, tal y como se ha comentado previamente, mediante índices ecográficos poliarticulares validados y reducidos. Las evaluaciones ecográficas y la obtención de los datos clínicos y de laboratorio de rutina especificados en el apartado de Material y métodos se realizaron en cada una de las visitas de inclusión (S0) y de seguimiento (S24 y S48).

El subestudio ecográfico se realizó con el objetivo de analizar las características ecográficas de los pacientes con AIJ en tratamiento y de identificar posibles diferencias existentes entre los pacientes pediátricos y adultos. También era objetivo del presente análisis de ecografía evaluar la correlación clínico-ecográfica en la AIJ y determinar el valor de los índices ecográficos reducidos para detectar la presencia de sinovitis subclínica.

2.1. CONCORDANCIA INTRA OBSERVADOR, INTEROBSERVADOR E INTERAPARATO

Concordancia intraobservador

En la concordancia intraobservador se consideraron los dos exploradores por separado. Se analizó la concordancia en las valoraciones de cada uno de ellos, comparándolas consigo mismos y fue buena o muy buena para ambos exploradores, siendo los índices de kappa $> 0,7$ en todos los casos.

La concordancia en la evaluación ecográfica del explorador 1 (Dra. C. Modesto), fue la siguiente:

- Evaluación de la presencia de lesión: índice de kappa = 0,803 (IC 95% 0,452; 1,155)
- Evaluación de la escala de grises: índice de kappa = 0,723 (IC 95% 0,500; 0,946)
- Evaluación de la señal PD: índice de kappa = 0,875 (IC 95% 0,602; 1,149)

La concordancia en la evaluación ecográficas del explorador 2 (Dra. E. Quesada), fue la siguiente:

- Evaluación de la presencia de lesión: índice de kappa = 0,861 (IC 95% 0,515; 1,208)
- Evaluación de la escala de grises: índice de kappa = 0,871 (IC 95% 0,666; 1,076)
- Evaluación de la señal PD: índice de kappa = 0,775 (IC 95% 0,515; 1,034)

Concordancia interobservador

En el análisis de concordancia interobservador se analizó la concordancia de las evaluaciones ecográficas de ambos exploradores y fue muy buena, siendo los índices de kappa $> 0,8$ en todos los casos.

- Evaluación de la presencia de lesión: índice de kappa = 0,833 (IC 95% 0,586; 1,080)
- Evaluación de la escala de grises: índice de kappa = 0,801 (IC 95% 0,651; 0,951)
- Evaluación de la señal PD: índice de kappa = 0,823 (IC 95% 0,634; 1,011)

Concordancia interaparato

En el análisis de concordancia interaparato se compararon las 120 imágenes obtenidas mediante el ecógrafo Siemens y el ecógrafo General Electric. Se comparó la concordancia en la evaluación ecográfica mediante la escala de grises y la señal PD de ambos aparatos. La concordancia observada fue muy buena con un índice kappa = 0,953 (IC 95% 0,819; 1,088).

2.2. ESTUDIO ECOGRÁFICO EN LA AIJ

En nuestra cohorte de pacientes con AIJ en tratamiento que cumplían con los criterios de inclusión y de exclusión del estudio, 102 pacientes con AIJ participaron en el estudio ecográfico poliarticular. Entre estos 102 pacientes, 65 pacientes eran pediátricos (de 2 a 16 años) y 37 eran adultos (de 17 a 32 años). Los 4 pacientes que no se incluyeron en el estudio ecográfico, fue debido a la dificultad de los padres para permanecer en el hospital, por cuestiones laborales.

2.2.1. Características clínicas

Las características de los pacientes incluidos en el estudio ecográfico se describen a continuación. Estos datos hacen referencia a la visita basal. La media de la edad de todos los pacientes con AIJ incluidos en el estudio ecográfico ($n=102$) era de $14,80 \pm 7,19$ años en la primera visita del estudio. La media de los años de evolución de la enfermedad desde el diagnóstico hasta la realización de la primera exploración ecográfica del estudio fue de $9,15 \pm 6,73$ años. En total, 23 pacientes (22,5%) recibían tratamiento con anti-TNF α en monoterapia, 48 (47,1%) tratamiento con anti-TNF α asociado a FAMES y 31 (30,4%) pacientes recibían tratamiento con MTX en monoterapia.

Respecto a la actividad de la enfermedad, en la primera visita en la que se realizó la exploración ecográfica, 64 pacientes (62,7%) cumplían con los criterios de enfermedad inactiva. Por lo tanto, 38 pacientes (37,3%) tenían una enfermedad activa. Cabe destacar que, de estos 38 pacientes activos, 15 (39,5%) de ellos cumplían los criterios de mínima enfermedad.

En referencia al subtipo de la enfermedad, la mayor parte de ellos, 54 (52,9%) pacientes tenían una AIJ oligoarticular, 3 (2,9%) pacientes una AIJ poliarticular FR positivo, 13 (12,8%) pacientes una AIJ poliarticular FR negativo, 21 (20,6%) una AIJ artritis relacionada con entesitis, 8 (7,9%) una AIJ psoriásica, 3 (2,9%) una AIJ indiferenciada. Si consideramos sólo el curso de la AIJ, refiriéndonos al número de articulaciones afectadas durante la evolución de la AIJ, 57 de ellos (55,9%) tuvieron una forma oligoarticular (la enfermedad había afectado a 4 o menos articulaciones) y 45 de ellos (44,1%) tuvieron un curso poliarticular (la enfermedad había afectado a más de 4 articulaciones simultáneamente durante la evolución).

Para finalizar, teniendo en cuenta las características inmunológicas de los pacientes, 72 de ellos eran ANA positivo (70,6%) y 24 *HLA-B27* positivo (23,5%).

2.2.2. Diferencia entre los índices ecográficos reducidos

Inicialmente desconocíamos cuál sería el índice ecográfico más apropiado para evaluar a los pacientes adultos, si el de 10 articulaciones diseñado para los niños con AIJ, o el de 12 articulaciones diseñado para adultos con AR. Entre ambos índices la diferencia reside en explorar o no la articulación 3ª MCF de forma bilateral.

Con el objetivo de obtener unos resultados los más homogéneos posible, se aplicó el índice de 12 articulaciones a todos los pacientes, niños y adultos, por lo que se exploraron un total de 3.324 articulaciones. De las 554 articulaciones 3ª MCF estudiadas (277 de la mano izquierda y 277 de la mano derecha) ninguna presentaba actividad clínica y sólo una presentó actividad por ecografía (índice-EG=1, PD=0). La paciente en quién se detectó actividad ecográfica subclínica en esta 3ª MCF, era una adolescente de 14 años clasificada como una AIJ poliarticular FR+ y anti-CCP+, que representa el subgrupo de AIJ más similar a la artritis reumatoide del adulto. Por lo tanto, al comprobar el nulo rendimiento de considerar las articulaciones 3ª MCF en el análisis tanto global como de los adultos,

éstas fueron excluidas. Finalmente, se consideró la evaluación ecográfica de un total de 2.770 articulaciones en los pacientes con AIJ incluidos en el análisis del estudio ecográfico.

2.2.3. Evaluación articular clínica y ecográfica

En total se realizaron 277 exploraciones ecográficas poliarticulares y se examinaron 2.770 articulaciones clínica y ecográficamente.

Se determinaron como clínicamente activas (tumefactas y/o dolorosas y limitadas) 63 (2,27%) articulaciones. En la evaluación ecográfica mediante escala de grises 154 (5,56%) articulaciones puntuaron ≥ 1 . En la evaluación mediante power Doppler 28 (1,01%) articulaciones puntuaron ≥ 1 . En total, 46 (1,66%) articulaciones fueron evaluadas como clínica y ecográficamente activas.

La mayor parte de las articulaciones exploradas durante el estudio fueron evaluadas como inactivas tanto clínica como ecográficamente. En total, 2.707 (97,73%) articulaciones fueron evaluadas como clínicamente inactivas y 2.599 (93,83%) fueron evaluadas como inactivas tanto por la exploración clínica como por ecografía.

De las 2.707 articulaciones clínicamente inactivas, en 108 (3,99%) se detectó sinovitis subclínica mediante ecografía: 108 articulaciones (3,99%) mediante escala de grises y 14 articulaciones (0,52%) mediante power Doppler. La mayor parte de estas 108 articulaciones presentaron una hipertrofia sinovial y/o derrame sinovial leves (puntuado como = 1 por escala de grises).

La articulación en la que se observó inflamación clínica y ecográfica con mayor frecuencia fue la rodilla. En total, 23 de las rodillas (4,15% respecto al total de las 554 rodillas exploradas) presentaron actividad clínica y 68 (12,27%) rodillas fueron evaluadas como ecográficamente activas. La articulación en la que se observó inflamación clínica y ecográfica con menor frecuencia fue la 2ª MCF. Ninguna de las articulaciones metacarpofalángicas exploradas fue evaluada como clínicamente activa y sólo una de ellas (0,18%) fue evaluada como ecográficamente activa.

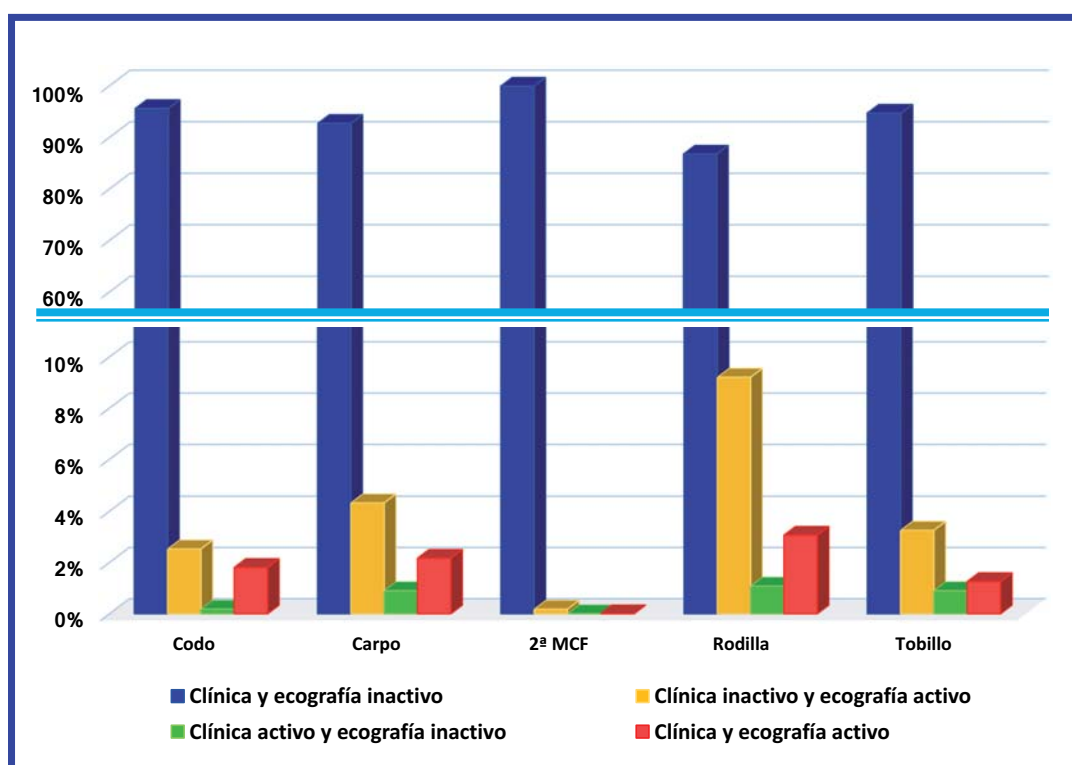
En cuanto a la correlación clínico-ecográfica, la rodilla fue la articulación más discordante y la 2ª MCF la menos discordante. Por orden de frecuencia, se detectó discordancia clínico-ecográfica en:

- 57 rodillas (10,29% del total de rodillas)

- 29 carpos (5,23% del total de carpos)
- 23 tobillos (4,15%)
- 15 codos (2,71%)
- 1 2ª MCF (0,18%)

En el siguiente gráfico se presentan los porcentajes relativos al número total de evaluaciones de cada una de las articulaciones exploradas tanto clínica como ecográficamente.

Gráfico 16. Exploración clínica y ecográfica en los pacientes con artritis idiopática juvenil.



Nota: para facilitar la visualización se indica mediante una línea transversal el cambio de escala en el eje vertical.

2.2.4. Índices ecográficos

Las puntuaciones obtenidas tanto para el índice-EG, como para el índice-PD fueron bajas, probablemente debido al hecho de que 58 (54,7%) pacientes presentaban una AIJ clasificada como oligoarticular y que en la visita basal 68 de ellos (64,6%) cumplían criterios de enfermedad inactiva. La máxima puntuación obtenida mediante el índice-EG fue de 11 y la máxima puntuación obtenida mediante el índice-PD fue de 4. Ambos índices ecográficos presentaron variaciones en sus valores en la misma dirección que la mayor parte de las variables clínicas. Esto significa que, en la mayoría de los

casos, a mayor actividad de la AIJ, se observaron mayores puntuaciones en los índices ecográficos. A continuación, se detalla el análisis de los resultados.

2.2.4.1. Índices ecográficos y actividad

Tanto el índice-EG como el índice-PD presentaron valores significativamente superiores en los pacientes con AIJ clínicamente activa, con respecto a los pacientes con AIJ clínicamente inactiva ($P = 0,000$ y $P = 0,000$, respectivamente). Es decir, los valores observados entre pacientes activos e inactivos fueron significativamente diferentes.

Tabla 26. Índices ecográficos en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil.

	Actividad AIJ		P valor
	Activo N=98	Inactivo N=179	
Índice ecográfico EG	1,47 ± 2,10	0,36 ± 0,93	0,000
Índice ecográfico PD	0,26 ± 0,69	0,03 ± 0,18	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

El porcentaje de pacientes activos fue significativamente superior en los grupos de observaciones con las mayores puntuaciones de ambos índices ecográficos. Además, el valor de ambos índices varió de forma significativa según si los pacientes estaban activos o inactivos.

Tabla 27. Índice ecográfico escala de grises en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil.

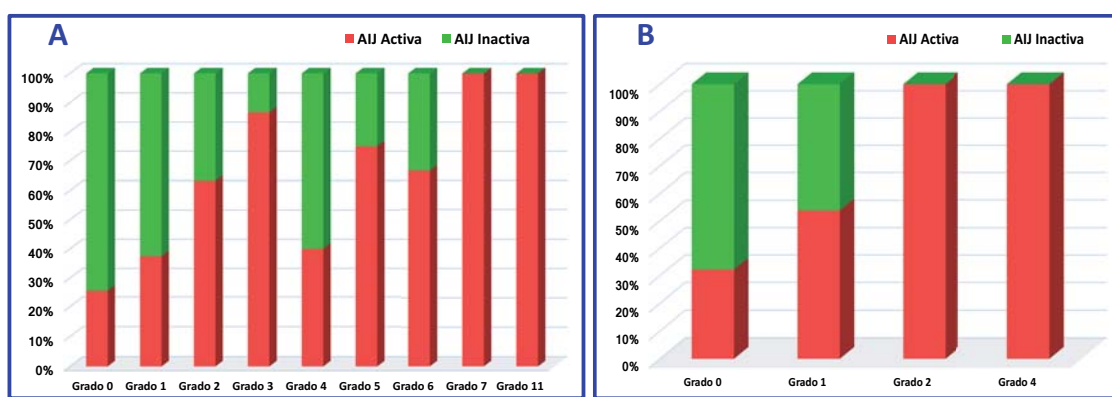
Índice ecográfico EG	N	Actividad AIJ		P valor
		Activa	Inactiva	
0	195 (70,4)	50 (51,02)	145 (81)	0,000
1	32 (11,55)	12 (12,24)	20 (11,17)	
2	19 (6,86)	12 (12,24)	7 (3,91)	
3	15 (5,42)	13 (13,27)	2 (1,12)	
4	5 (1,81)	2 (2,04)	3 (1,68)	
5	4 (1,81)	3 (3,06)	1 (0,56)	
6	3 (1,08)	2 (2,04)	1 (0,56)	
7	3 (1,08)	3 (3,06)	0 (0)	
11	1 (0,36)	1 (1,02)	0 (0)	
Total	277 (100)	98 (35,38)	179 (64,62)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

Tabla 28. Índice ecográfico power Doppler en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil.

Índice ecográfico PD	N	Actividad AIJ		P valor
		Activa	Inactiva	
0	255 (92,06)	82 (83,67)	173 (96,65)	0,000
1	13 (4,69)	7 (7,15)	6 (3,35)	
2	8 (2,89)	8 (8,16)	0 (0)	
4	1 (0,36)	1 (1,02)	0 (0)	
Total	277 (100)	98 (35,38)	179 (64,62)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

Gráfico 17. Actividad de la artritis idiopática juvenil en función del índice-EG (A) y el índice-PD (B).

Valores expresados en porcentajes relativos al número de pacientes activos o inactivos.

Estados de actividad de la AIJ

Los distintos estados de actividad de la AIJ (remisión, inactiva, mínima actividad, moderada actividad y alta actividad) variaron significativamente y en la misma dirección que los índices EG y PD. Los resultados se presentan en la siguiente tabla 31.

Tabla 29. Índices ecográficos en función de los estados de actividad de la artritis idiopática juvenil.

Índice ecográfico	Estados de actividad					P valor
	Remisión N=137	Inactivo N=42	Mínima N=50	Moderada N=22	Alta N=26	
EG	0,25 ± 0,62	0,72 ± 1,55	0,69 ± 1,06	2,19 ± 2,94	2,40 ± 2,27	0,000
PD	0,03 ± 1,17	0,05 ± 0,22	0,04 ± 0,29	0,33 ± 0,66	0,64 ± 1,04	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

Uveítis

En nuestro estudio, la actividad inflamatoria ocular no se relacionó con las puntuaciones obtenidas en los índices ecográficos. En el grupo de pacientes con uveítis activa no se observó una mayor puntuación

en los índices ecográfico EG ni PD con respecto a los que no tenían uveítis (Tabla 30). De hecho, ninguno de los pacientes con uveítis activa presentó articulaciones inflamadas que fueran detectadas mediante ecografía.

Tabla 30. Índices ecográficos en función de la actividad inflamatoria ocular según criterios SUN.

	Uveítis crónica anterior activa		P valor
	Sí (N=7)	No (N=270)	
Índice ecográfico EG	0,00 ± 0,00	0,76 ± 1,55	0,114
Índice ecográfico PD	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,45	0,475

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

También se observó una ausencia de relación entre la puntuación obtenida en los índices ecográficos EG y PD y el porcentaje de pacientes con uveítis activa en cada grupo. Es decir, no se observó un mayor número de pacientes con uveítis activa en los grupos de pacientes con mayores puntuaciones de los índices ecográficos EG y PD ($P = 0,879$ y $P = 1,000$, respectivamente).

2.2.4.2. Índices ecográficos y variables clínico-biológicas

Se objetivaron mayores puntuaciones en el índice-EG y en el índice-PD en los pacientes con más inflamación (p.ej. con mayor número de articulaciones activas) y menores puntuaciones en los pacientes con menos inflamación. Esta variación en la misma dirección que las variables clínicas y de laboratorio fue significativa ($P < 0,05$) para la mayor parte de ellas. A continuación, se presenta el listado de variables que variaron de forma significativa del mismo modo que cada uno de los índices.

Índice-EG

VAS del médico
 VAS del paciente
 VAS padres del paciente
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 VSG
 CHAQ
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

Índice-PD

VAS del médico
 VAS del paciente
 VAS padres del paciente
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 VSG y PCR
 CHAQ y HAQ
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

A continuación, se presentan los resultados correspondientes al análisis de cada una de estas variables con respecto a los valores de los dos índices ecográficos.

VAS del médico, VAS del paciente y VAS de los padres del paciente

Los valores obtenidos en el VAS del médico, en el VAS del paciente y en el VAS de los padres del paciente, variaron del mismo modo que los índices EG y PD. En todos los casos fue una variación significativa. En las siguientes tablas se presentan los resultados de las escalas en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 31) y del índice ecográfico PD (Tabla 32).

Tabla 31. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico escala de grises.

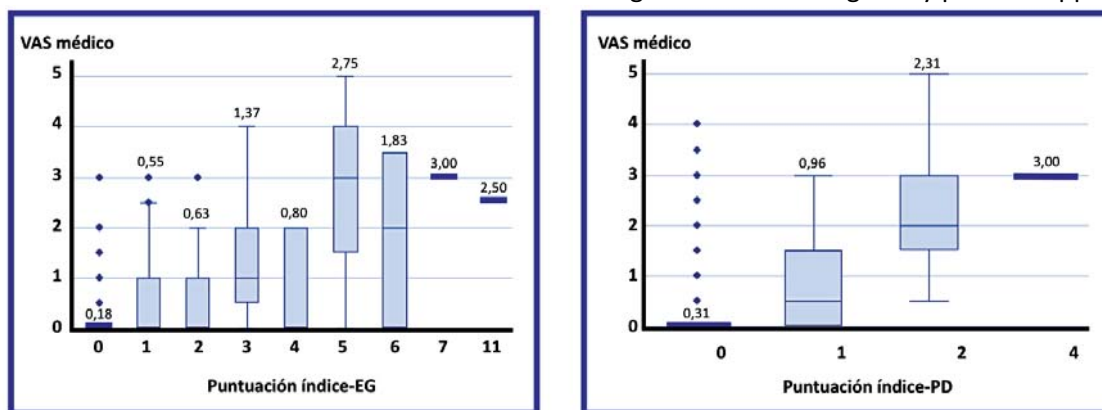
Índice-EG	VASm	P valor	VASp	P valor	VASpp	P valor
0	195 0,18 ± 0,87		191 0,34 ± 0,86		154 0,48 ± 1,18	
1	32 0,55 ± 0,91		32 0,47 ± 0,67		19 0,29 ± 0,51	
2	19 0,63 ± 0,89		18 0,93 ± 1,61		10 1,06 ± 1,86	
3	15 1,37 ± 1,10		15 1,73 ± 2,19		10 1,40 ± 2,17	
4	5 0,80 ± 1,10	0,000	5 2,5 ± 3,00	0,000	3 3,00 ± 4,36	0,001
5	4 2,75 ± 2,06		4 3,63 ± 3,90		2 4,50 ± 3,54	
6	3 1,83 ± 1,76		3 4,33 ± 3,06		1 5,00	
7	3 3,00 ± 0,00		3 0,00 ± 0,00		2 0,75 ± 0,35	
11	1 2,50		1 2,50		0 --	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Tabla 32. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
VASm	255 0,31 ± 0,73	13 0,96 ± 1,18	8 2,31 ± 0,9	1 3,00	0,000
VASp	250 0,52 ± 1,25	13 1,08 ± 1,46	8 2,56 ± 2,77	1 0,00	0,002
VASpp	189 0,55 ± 1,33	7 1,21 ± 1,41	4 4,00 ± 2,94	1 1,00	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Gráfico 18. VAS del médico en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.

Cuestionarios de capacidad funcional CHAQ y HAQ

Los valores obtenidos en la puntuación del CHAQ variaron significativamente del mismo modo que el índice-EG y el índice-PD. Los valores obtenidos en la puntuación del HAQ también variaron significativamente del mismo modo que el índice ecográfico PD. Sin embargo, esta variación no fue significativa con el índice de EG. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los valores del CHAQ y del HAQ en función del índice ecográfico EG (Tabla 33) y del índice ecográfico PD (Tabla 34).

Tabla 33. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función del índice ecográfico escala de grises.

Índice-EG	N	CHAQ	P valor	N	HAQ	P valor
0	154	0,10 ± 0,27	0,045	69	0,09 ± 0,22	0,228
1	19	0,03 ± 0,08		16	0,03 ± 0,10	
2	10	0,10 ± 0,32		13	0,23 ± 0,34	
3	10	0,05 ± 0,06		8	0,13 ± 0,23	
4	3	0,13 ± 0,13		2	0,31 ± 0,27	
5	2	0,69 ± 0,80		3	0,29 ± 0,40	
6	1	0,13		3	0,08 ± 0,14	
7	2	0,06 ± 0,09		2	0,19 ± 0,27	
11	0	--	1	0,00		

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Tabla 34. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
CHAQ	189 0,09 ± 0,25	7 0,05 ± 0,07	4 0,59 ± 0,24	1 0,00	0,034
HAQ	103 0,09 ± 0,21	8 0,03 ± 0,06	5 0,65 ± 0,21	1 0,00	0,001

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Reactantes de fase aguda

La VSG varió significativamente del mismo modo que los índices ecográficos EG y PD. La PCR también varió de forma significativa en la misma dirección que el índice ecográfico PD, aunque esta variación no fue significativa para el índice ecográfico EG. Se presentan los resultados de la PCR y de la VSG en relación a la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 35) y del índice ecográfico PD (Tabla 36).

Tabla 35. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico escala de grises.

Índice-EG	N	PCR	P valor	N	VSG	P valor
0	192	0,26 ± 0,67	0,132	187	20,76 ± 17,88	0,029
1	32	0,53 ± 1,42		32	25,81 ± 20,74	
2	18	0,27 ± 0,47		18	25,78 ± 17,97	
3	15	0,22 ± 0,31		14	30,86 ± 17,91	
4	5	0,24 ± 0,19		5	28,20 ± 33,46	
5	4	2,25 ± 3,93		4	29,00 ± 7,44	
6	3	0,09 ± 0,08		3	24,33 ± 15,04	
7	3	1,37 ± 1,33		3	53,00 ± 11,53	
11	1	0,16	1	120		

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Gráfico 19. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico escala de grises.

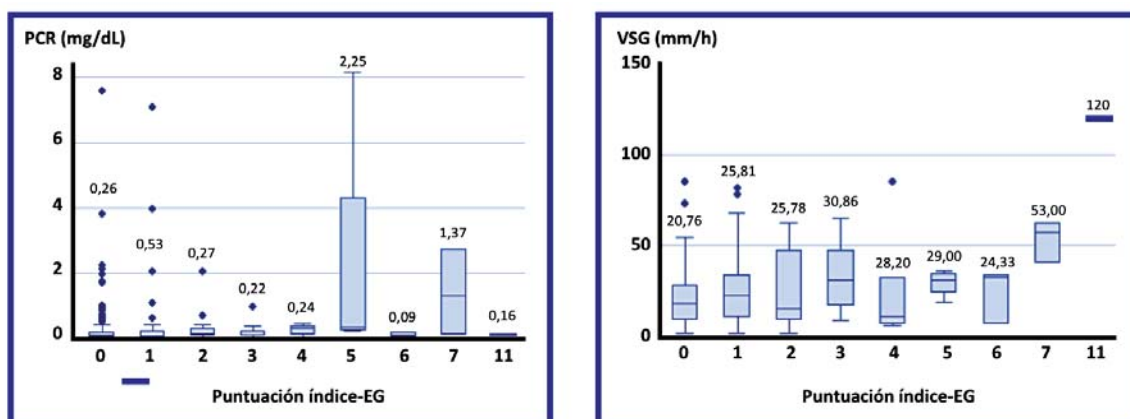
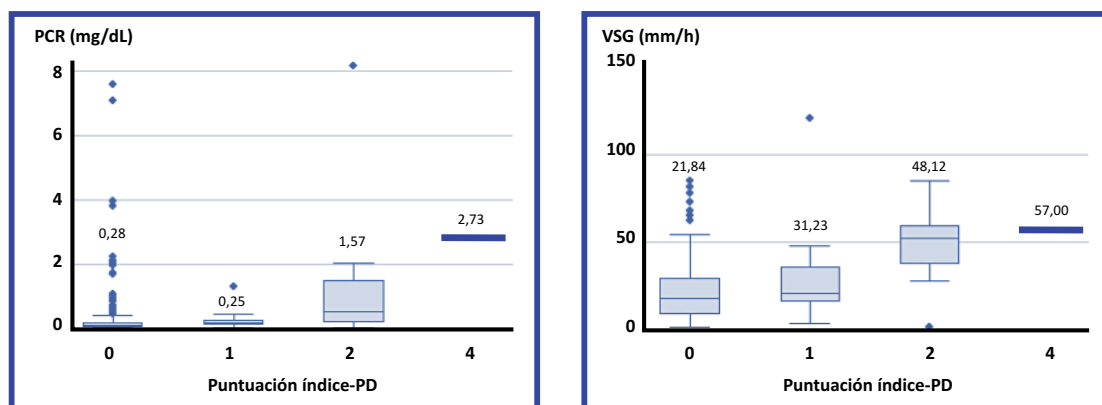


Tabla 36. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
PCR	251 0,28 ± 0,79	13 0,25 ± 0,34	8 1,57 ± 0,96	1 2,73	0,001
VSG	245 21,84 ± 16,28	13 31,23 ± 29,82	8 48,12 ± 17,98	1 57,00	0,005

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Gráfico 20. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico power Doppler.

Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas

El número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas varió de forma significativa, del mismo modo que los índices EG y PD. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los números de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 37) y del índice ecográfico PD (Tabla 38).

Tabla 37. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico escala de grises.

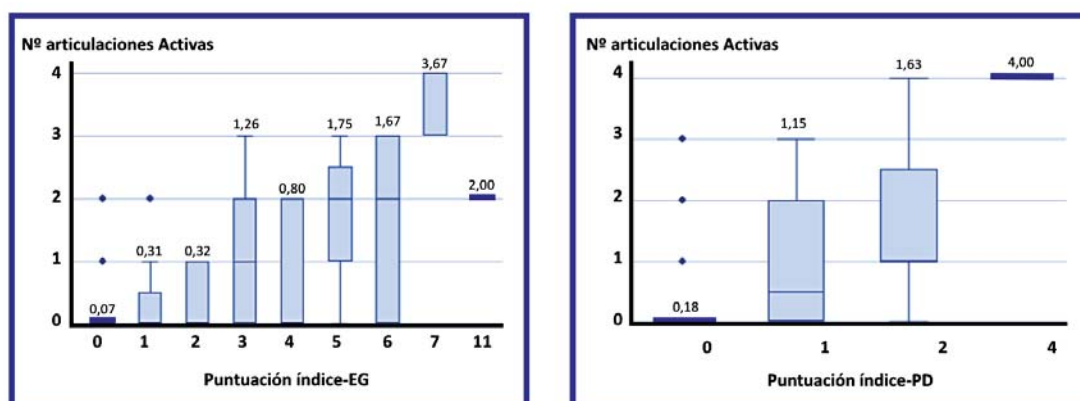
Índice-EG	N	NAA	P	NAD	P	NAT	P	NAL	P
0	195	0,07 ± 0,30		0,11 ± 0,34		0,06 ± 0,26		0,21 ± 0,74	
1	32	0,31 ± 0,59		0,16 ± 0,45		0,25 ± 0,51		0,53 ± 0,76	
2	19	0,32 ± 0,46		0,32 ± 0,48		0,32 ± 0,48		1,26 ± 2,07	
3	15	1,26 ± 1,06		0,40 ± 0,83		1,27 ± 1,03		1,00 ± 1,25	
4	5	0,80 ± 1,10	0,000	0,60 ± 0,89	0,000	0,60 ± 0,89	0,000	1,20 ± 1,30	0,000
5	4	1,75 ± 1,26		1,25 ± 1,50		1,25 ± 0,96		3,75 ± 2,87	
6	3	1,67 ± 1,53		1,33 ± 2,31		1,67 ± 1,53		1,67 ± 0,57	
7	3	3,67 ± 0,58		2,00 ± 0,00		2,00 ± 0,00		4,00 ± 0,00	
11	1	2,00		0,00		2,00		2,00	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; P, P valor.

Tabla 38. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
NAA	255 0,18 ± 0,52	13 1,15 ± 0,71	8 1,63 ± 0,73	1 4,00	0,000
NAD	255 0,12 ± 0,41	13 0,69 ± 1,03	8 1,37 ± 0,57	1 2,00	0,000
NAT	255 0,16 ± 0,48	13 0,85 ± 1,07	8 1,25 ± 0,63	1 2,00	0,000
NAL	255 0,33 ± 0,97	13 1,92 ± 2,29	8 2,13 ± 1,13	1 4,00	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas.

Gráfico 21. Número de articulaciones activas en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.

Índices compuestos de valoración de la AIJ: JADAS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos al analizar los valores de los índices JADAS clásicos (con VSG), los índices JADAS clínicos (sin reactantes de fase aguda) y los índices JADAS-PCR (con PCR) en los pacientes con AIJ.

JADAS 10, JADAS 27, JADAS 71 (JADAS VSG)

Todos los índices JADAS variaron significativamente del mismo modo que los índices ecográficos EG y PD. Los valores obtenidos con el JADAS 10 y el JADAS 71 fueron idénticos y por este motivo se presentan conjuntamente. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 39) y del índice ecográfico PD (Tabla 40).

Tabla 39. Índices JADAS en función del índice ecográfico escala de grises.

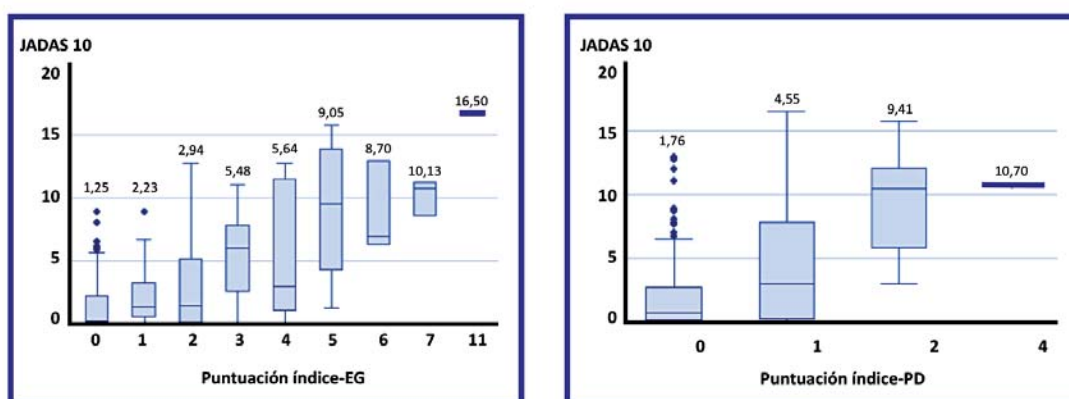
Índice-EG	N	JADAS 10 / 71	P valor	JADAS 27	P valor
0	186	1,25 ± 1,82	0,000	1,25 ± 1,82	0,000
1	32	2,23 ± 2,35		2,23 ± 2,35	
2	18	2,94 ± 3,58		2,94 ± 3,57	
3	14	5,48 ± 3,33		5,48 ± 3,33	
4	5	5,64 ± 6,01		5,64 ± 6,01	
5	4	9,05 ± 6,28		9,05 ± 6,28	
6	3	8,70 ± 3,66		8,70 ± 3,66	
7	3	10,13 ± 1,44		9,80 ± 2,01	
11	1	16,50	16,50		

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 40. Índices JADAS en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
JADAS 10/71	244	13	8	1	0,000
	1,76 ± 2,49	4,55 ± 5,01	9,41 ± 4,29	10,70	
JADAS 27	244	13	8	1	0,000
	1,76 ± 2,49	4,47 ± 4,95	9,41 ± 4,29	10,70	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Gráfico 22. Índice JADAS 10 en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.

cJADAS 10, cJADAS 27, cJADAS 71 (JADAS clínicos)

Todos los índices cJADAS, basados en variables clínicas, variaron significativamente del mismo modo que los índices ecográficos EG y PD. Los valores obtenidos con el cJADAS 10, cJADAS 27 y el cJADAS 71 fueron idénticos y por este motivo se presentan conjuntamente. En las siguientes tablas se presentan

los resultados de los índices cJADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 41) y del índice ecográfico PD (Tabla 42).

Tabla 41. Índices cJADAS en función del índice ecográfico escala de grises.

Índice-EG	N	cJADAS 10 / 71	P valor	cJADAS 27	P valor
0	194	0,67 ± 1,37	0,000	0,66 ± 1,36	0,000
1	32	1,18 ± 1,36		1,18 ± 1,36	
2	19	1,90 ± 2,55		1,90 ± 2,55	
3	15	4,23 ± 2,81		4,23 ± 2,81	
4	5	4,10 ± 4,56		4,10 ± 4,56	
5	4	8,13 ± 6,71		8,13 ± 6,71	
6	3	7,83 ± 3,33		7,83 ± 3,33	
7	3	6,83 ± 0,29		6,50 ± 0,87	
11	1	6,50		6,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 42. Índices cJADAS en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
cJADAS 10 / 71	254 1,07 ± 2,03	13 3,08 ± 2,96	8 6,50 ± 4,27	1 7,00	0,000
cJADAS 27	254 1,06 ± 2,02	13 3,00 ± 2,87	8 6,50 ± 4,27	1 7,00	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

JADAS-PCR 10, JADAS-PCR 27, JADAS-PCR 71

Todos los índices JADAS-PCR variaron significativamente del mismo modo que los índices ecográficos EG y PD. Los valores obtenidos con el JADAS-PCR 10 y el JADAS-PCR 71 fueron idénticos y por este motivo se presentan conjuntamente. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 43) y del índice ecográfico PD (Tabla 44).

Tabla 43. Índice JADAS-PCR en función del índice ecográfico escala de grises.

Índice-EG	N	JADAS-PCR 10 / 71	P valor	JADAS-PCR 27	P valor
0	186	0,78 ± 1,64		0,78 ± 1,63	
1	32	1,49 ± 1,81		1,49 ± 1,81	
2	18	1,95 ± 2,61		1,95 ± 2,61	
3	14	4,23 ± 2,81		4,23 ± 2,81	
4	5	4,10 ± 4,56	0,000	4,10 ± 4,56	0,000
5	4	9,91 ± 9,51		9,91 ± 9,51	
6	3	7,83 ± 3,33		7,83 ± 3,33	
7	3	7,51 ± 1,06		7,17 ± 1,47	
11	1	6,50		6,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 44. Índice JADAS-PCR en función del índice ecográfico power Doppler.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
JADAS-PCR 10/71	250 1,20 ± 2,21	13 3,10 ± 2,99	8 7,52 ± 6,41	1 8,73	0,000
JADAS-PCR 27	250 1,19 ± 2,20	13 3,02 ± 2,92	8 7,52 ± 6,41	1 8,73	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

2.2.5. Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas

Se analizó la correlación entre las distintas variables clínicas y de laboratorio con los índices ecográficos EG y PD. El objetivo de este análisis era identificar cuáles eran las diferencias en la correlación entre ellos.

Se observó una correlación moderada entre el índice-EG y las variables: VAS del médico, número de articulaciones activas, tumefactas y limitadas, y los índices JADAS, cJADAS y JADAS-PCR. Con el resto de variables se observó una mínima o baja correlación. El índice-PD se correlacionó de forma moderada con las variables: VAS del médico, número de articulaciones activas, tumefactas y limitadas. Se observó una mínima o baja correlación con el resto de las variables. Ninguno de los dos índices mostró una correlación buena ni tampoco muy buena con ninguna de las variables clínicas estudiadas. A continuación, se resumen los resultados obtenidos en el análisis de correlación clínico-ecográfica.

Tabla 45. Correlación entre los índices ecográficos escala de grises y power Doppler y las variables clínico-biológicas.

Variables	N	Índice-EG	Índice-PD
Estado de actividad	277	-0,179 [-0,291; -0,062]	-0,060 [-0,177; 0,059]
VASm	277	0,476 [0,379; 0,563]	0,356 [0,248; 0,455]
VASp	272	0,326 [0,216; 0,429]	0,209 [0,092; 0,320]
VASpp	201	0,269 [0,135; 0,392]	0,321 [0,192; 0,440]
CHAQ	201	0,090 [-0,049; 0,225]	0,152 [0,014; 0,284]
HAQ	117	0,130 [-0,053; 0,304]	0,214 [0,034; 0,381]
VSG	267	0,182 [0,063; 0,296]	0,191 [0,073; 0,305]
PCR	273	0,091 [-0,028; 0,208]	0,186 [0,069; 0,298]
NAA	277	0,511 [0,418; 0,594]	0,406 [0,302; 0,501]
NAD	277	0,266 [0,153; 0,373]	0,392 [0,287; 0,488]
NAT	277	0,537 [0,447; 0,616]	0,438 [0,337; 0,529]
NAL	277	0,476 [0,379; 0,563]	0,416 [0,313; 0,510]
JADAS 10/71	266	0,422 [0,320; 0,515]	0,281 [0,168; 0,386]
JADAS 27	266	0,422 [0,320; 0,515]	0,280 [0,167; 0,386]
cJADAS 10/71	276	0,472 [0,375; 0,559]	0,307 [0,195; 0,410]
cJADAS 27	277	0,471 [0,374; 0,559]	0,306 [0,194; 0,410]
JADAS PCR 10/71	273	0,465 [0,367; 0,553]	0,293 [0,180; 0,397]
JADAS PCR 27	273	0,464 [0,366; 0,553]	0,292 [0,179; 0,397]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

2.2.6. Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo

En esta segunda parte del análisis de correlación, se analizaron por separado los pacientes con un curso de la AIJ oligoarticular o poliarticular. Esta diferenciación se realizó independientemente del subtipo

de AIJ según la ILAR en el que estuvieran clasificados. Se analizaron las diferencias en la correlación entre los índices clínicos JADAS y los índices ecográficos EG y PD entre estos dos grupos de pacientes.

Las correlaciones observadas en los pacientes con AIJ oligoarticular fueron mínimas o nulas entre los índices JADAS y el índice-EG. Sin embargo, en la AIJ poliarticular, se observó una buena correlación entre el índice-EG con los JADAS tradicional y clínico. En la AIJ oligoarticular se observó una correlación aparentemente buena con el Índice-PD. Sin embargo, al observar los valores del intervalo, éstos comprenden el cero, por lo que la valoración de cómo se relacionan los valores del JADAS y del Índice-PD entre ellos no es fidedigna. El índice ecográfico PD presentó una correlación clínico-ecográfica moderada, entre los JADAS y el índice-PD, en los pacientes con AIJ de curso poliarticular.

En la siguiente tabla se presentan los resultados del análisis de correlación clínico-ecográfica en función del curso de la AIJ.

Tabla 46. Correlación entre los índices ecográficos y clínicos en función del curso evolutivo de la artritis idiopática juvenil.

JADAS	AIJ Oligoarticular N=153		AIJ Poliarticular N=124	
	Índice-EG	Índice-PD	Índice-EG	Índice-PD
JADAS 10/71	0,042 [-0,323; 0,396]	0,740 [-0,409; 0,982]	0,618 [0,413; 0,764]	0,554 [0,080; 0,823]
JADAS 27	0,042 [-0,323; 0,396]	0,740 [-0,409; 0,982]	0,613 [0,407; 0,760]	0,554 [0,080; 0,823]
cJADAS 10/71	0,154 [-0,218; 0,488]	0,761 [-0,370; 0,983]	0,637 [0,438; 0,776]	0,540 [0,061; 0,817]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

En resumen, se observaron mejores correlaciones entre los índices de evaluación clínica JADAS y los índices ecográficos en los pacientes con AIJ poliarticular que en los pacientes con AIJ oligoarticular.

2.3. ESTUDIO ECOGRÁFICO EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON AIJ

Participaron en el estudio de ecografía del presente proyecto de tesis doctoral, un total de 65 pacientes con AIJ pediátricos, de entre 2 y 16 años de edad. Los resultados del análisis clínico-ecográfico de los pacientes pediátricos se presentan a continuación.

2.3.1. Características clínicas

A continuación, se presentan las principales características de los pacientes pediátricos con AIJ en la primera visita en la cual se realizó el estudio ecográfico. Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar, o bien como número de pacientes y porcentaje:

- **Edad:** 10,37 \pm 4,15 años
- **Duración de la enfermedad:** 5,7 \pm 3,72 años
- **Tratamientos:** 8 pacientes (12,3%) recibían tratamiento con anti-TNF α en monoterapia; 30 pacientes (46,2%) anti-TNF α combinado con FAMES; 27 pacientes (41,5%) MTX en monoterapia
- **Subtipo de la enfermedad:** AIJ oligoarticular 42 (64,6%) pacientes; AIJ poliarticular FR positiva 2 (3,1%) pacientes; AIJ FR negativa 6 (9,2%) pacientes; AIJ psoriásica 4 (6,2%); AIJ artritis relacionada con entesitis 9 (13,8%); AIJ indiferenciada 2 (3,1%)
- **Curso de la AIJ:** oligoarticular 44 (67,7%); poliarticular 21 (32,3%)
- **Actividad clínica:** cumplían criterios de inactividad 42 (64,6%) pacientes; activos 23 (35,4%) pacientes. Cabe destacar que, de los 23 pacientes activos, 9 (39,1%) de ellos cumplían con los criterios de mínima enfermedad.

2.3.2. Evaluación articular clínica y ecográfica

Al tratarse de niños con AIJ en ellos se aplicó el score reducido de 10 articulaciones previamente validado. En total se realizaron 171 exploraciones ecográficas poliarticulares. Se examinaron 1.710 articulaciones clínica y ecográficamente.

Se evaluaron como clínicamente activas 36 (2,11%) articulaciones. En la evaluación ecográfica mediante escala de grises 53 (3,10%) articulaciones puntuaron \geq 1. En la evaluación mediante power Doppler 10 (0,58%) articulaciones puntuaron \geq 1. En total, 22 (1,29%) articulaciones fueron evaluadas como clínica y ecográficamente activas.

La mayor parte de las articulaciones exploradas durante el estudio fueron evaluadas como inactivas tanto clínica como ecográficamente. En total, 1.674 (97,89%) articulaciones fueron evaluadas como clínicamente inactivas y 1.643 (96,08%) fueron evaluadas como inactivas tanto por clínica como por ecografía.

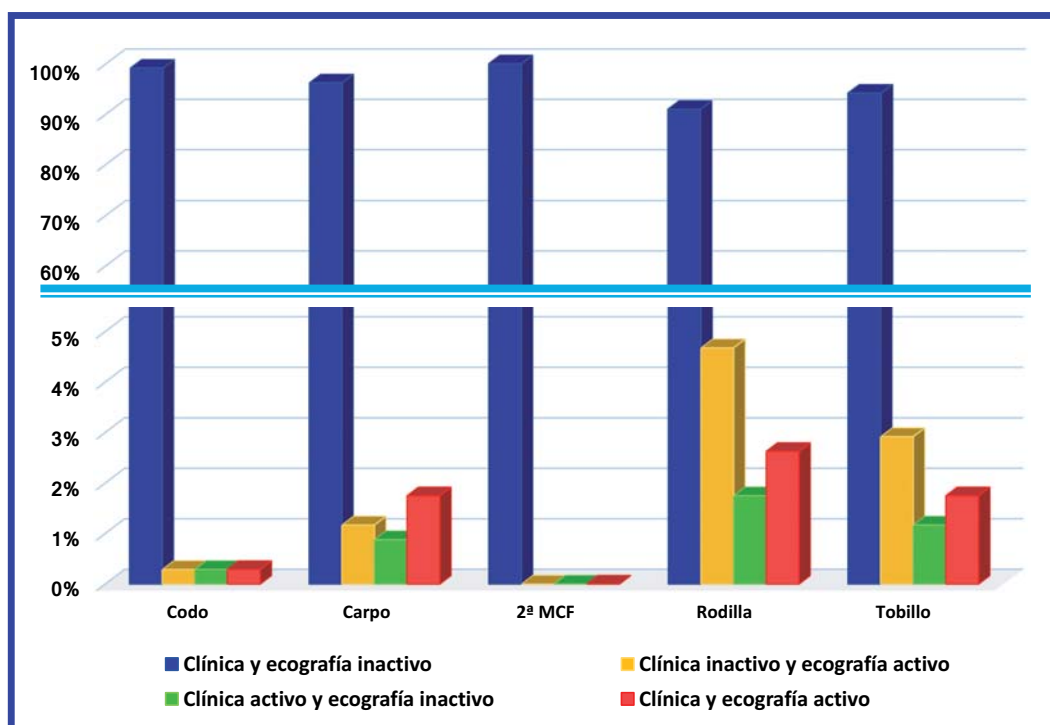
De las 1.674 articulaciones clínicamente inactivas, en 31 (1,85%) se detectó sinovitis subclínica mediante ecografía: 31 (1,85%) presentaron sinovitis subclínica mediante escala de grises y 3 articulaciones (0,18%) mostraron sinovitis subclínica mediante power Doppler. La mayor parte de estas 31 articulaciones con sinovitis subclínica (77,42%) presentaron una hipertrofia sinovial y/o derrame sinovial leves (puntuado como = 1 por escala de grises).

La articulación en la que se observó inflamación clínica y por ecografía con mayor frecuencia fue la rodilla. En total, 15 de las rodillas (4,39% respecto al total de 342 rodillas pediátricas exploradas) presentó actividad clínica y 21 (6,14%) rodillas fueron evaluadas como ecográficamente activas. Ninguna de las articulaciones 2ª MCF exploradas fue evaluada como clínicamente ni ecográficamente activa.

En cuanto a la discordancia clínico-ecográfica, también fue la rodilla la articulación más discordante y la 2ª MCF la articulación menos discordante. Por orden de frecuencia, se detectó discordancia clínico-ecográfica en:

- 22 rodillas (6,43% del total de rodillas pediátricas)
- 14 tobillos (4,09% del total de tobillos pediátricos)
- 7 carpos (2,05%)
- 2 codos (0,58%)
- 0 articulación 2ª MCF (0%)

En el siguiente gráfico se presentan los porcentajes relativos al número total de evaluaciones de cada una de las articulaciones exploradas tanto clínica como ecográficamente.

Gráfico 23. Exploración clínica y ecográfica en los pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil.

Nota: para facilitar la visualización se indica mediante una línea transversal el cambio de escala en el eje vertical

2.3.3. Índices ecográficos

Las puntuaciones obtenidas tanto para el índice-EG, como para el índice-PD fueron bajas, probablemente debido al hecho de que muchos de los pacientes presentaban una AIJ Oligoarticular y que en la visita basal del estudio más del 64% presentaban una enfermedad inactiva. La máxima puntuación obtenida en la población pediátrica mediante el índice-EG fue de 7 y la máxima puntuación obtenida mediante el Índice-PD fue de 2.

Ambos índices ecográficos varían de la misma manera en la que varían la mayor parte de las variables analizadas. Esto significa que, en la mayoría de las variables, a mayor actividad de la AIJ, mayor puntuación obtenida en los índices ecográficos. A continuación, se detallan los resultados del análisis.

2.3.3.1. Índices ecográficos y actividad

Tanto el índice-EG como el índice-PD presentaron valores significativamente superiores en los niños con AIJ clínicamente activa, con respecto a los niños con AIJ clínicamente inactiva ($P = 0,000$, en ambos

casos). Es decir, los valores observados en los índices ecográficos entre pacientes activos e inactivos fueron significativamente diferentes, siendo superiores en los activos.

Tabla 47. Índices ecográficos en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes pediátricos.

	Actividad AIJ		P valor
	Activo N=59	Inactivo N=112	
Índice ecográfico EG	0,93 ± 1,51	0,18 ± 0,60	0,000
Índice ecográfico PD	0,26 ± 0,69	0,03 ± 0,18	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

El porcentaje de pacientes activos fue significativamente superior en los grupos de observaciones con las mayores puntuaciones de ambos índices ecográficos. Además, este mayor porcentaje de pacientes activos en los grupos de mayores puntuaciones de los índices ecográficos fue significativa.

Tabla 48. Índice ecográfico escala de grises en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes pediátricos.

Índice-EG	N	Actividad AIJ		P valor
		Activa	Inactiva	
0	135 (78,95)	35 (59,32)	100 (89,29)	0,000
1	18 (10,53)	11 (18,64)	7 (6,25)	
2	6 (3,51)	3 (5,08)	3 (2,68)	
3	7 (4,09)	6 (10,17)	1 (0,89)	
4	3 (1,75)	2 (3,39)	1 (0,89)	
5	1 (0,58)	1 (1,69)	0 (0)	
7	1 (0,58)	1 (1,69)	0 (0)	
Total	171 (100)	59 (34,5)	112 (65,5)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

En las mayores puntuaciones del índice-EG es donde encontramos el mayor porcentaje de pacientes activos. El 100% de los pacientes que puntuaron 5 y 7 en el índice-EG estaban clínicamente activos.

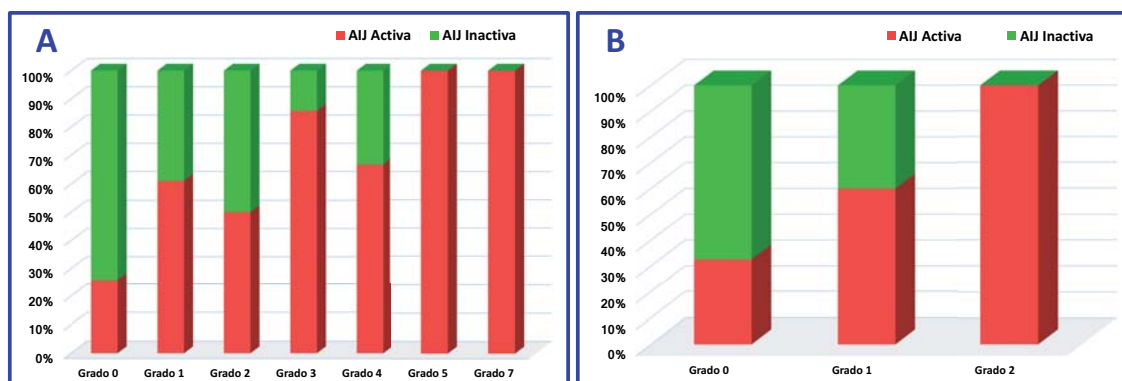
Tabla 49. Índice ecográfico power Doppler en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes pediátricos.

Actividad AIJ	N	Índice ecográfico PD			P valor
		0	1	2	
Activa	59	53 (89,84)	3 (5,08)	3 (5,08)	0,017
Inactiva	112	110 (98,21)	2 (1,79)	0 (0)	
Total	171	163 (95,32)	5 (2,92)	3 (1,75)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

En las mayores puntuaciones del índice-PD es donde se observa el mayor porcentaje de pacientes activos. El 100% de los pacientes que puntuaron 2 en el Índice-PD estaban activos (Gráfico 24).

Gráfico 24. Actividad de la artritis idiopática juvenil en los pacientes pediátricos en función del índice-EG (A) y el índice-PD (B).



Nota: Valores expresados en porcentajes relativos al número de pacientes activos o inactivos

Estados de actividad de la AIJ

Tanto el índice-EG y el índice-PD variaron significativamente en la misma dirección que los distintos estados de actividad de la AIJ. Las mayores puntuaciones en ambos índices corresponden a los pacientes con AIJ clínicamente más activa (estados de moderada y de alta actividad) y los valores menores de ambos índices ecográficos se observan en los pacientes con una AIJ clínicamente menos activa (estados de AIJ inactiva y de mínima actividad).

Tabla 50. Índices ecográficos en función de los estados de actividad de la AIJ en pacientes pediátricos.

Índice ecográfico	Estados de actividad					P valor
	Remisión N=81	Inactivo N=30	Mínima N=29	Moderada N=11	Alta N=20	
EG	0,17 ± 0,53	0,21 ± 0,79	0,32 ± 0,72	0,55 ± 0,93	2,00 ± 1,97	0,000
PD	0,02 ± 0,15	0,00 ± 0,22	0,00 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,45 ± 0,76	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

Uveítis

El hecho de presentar actividad inflamatoria ocular no se relacionó con las puntuaciones obtenidas en los índices ecográficos. En el grupo de pacientes con uveítis activa no se observó una mayor puntuación en los índices ecográfico EG ni PD con respecto a los que no tenían uveítis (Tabla 51). Sólo 6 determinaciones de un total de 5 pacientes presentaban uveítis activa. Ninguno de ellos presentaba articulaciones clínicamente inflamadas. De hecho, el escaso número de pacientes con uveítis activa

presentaron índices ecográficos por EG y PD de 0 (ninguna articulación activa), con lo que la diferencia observada sugiere que los pacientes sin uveítis activa tienen peores índices.

Tabla 51. Índices ecográficos en función de la actividad inflamatoria ocular según criterios SUN en pacientes pediátricos.

	Uveítis crónica anterior activa		P valor
	Sí (N=6)	No (N=165)	
Índice ecográfico EG	0,00 ± 0,00	0,45 ± 1,08	0,368
Índice ecográfico PD	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,45	0,841

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

No se observó una variación en el porcentaje de pacientes con uveítis activa/inactiva en función de las puntuaciones de los índices ecográfico EG ni PD ($P = 1.000$ y $P = 1.000$, respectivamente).

2.3.3.2. Índices ecográficos y variables clínico-biológicas

Se objetivaron mayores puntuaciones en los índices ecográficos EG y PD en los pacientes con más inflamación (p.ej. con mayor número de articulaciones activas) y menores puntuaciones en los pacientes con menos inflamación. Esta variación en el valor de los índices en la misma dirección que las variables clínicas y de laboratorio fue significativa ($P < 0,05$) para la mayor parte de ellas. En el siguiente listado se indican aquellas variables de los pacientes con AIJ pediátricos que variaron de forma significativa del mismo modo que cada uno de los índices ecográficos.

Índice-EG

VAS del médico
 VAS del paciente
 VAS padres del paciente
 CHAQ
 VSG
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

Índice-PD

VAS del médico
 VAS padres del paciente
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

A continuación, se presentan los resultados correspondientes al análisis de cada una de estas variables con respecto a los valores de los dos índices ecográficos, en los pacientes pediátricos con AIJ.

VAS del médico, VAS del paciente y VAS de los padres del paciente

Los valores obtenidos en el VAS del médico y en el VAS de los padres del paciente variaron de forma significativa del mismo modo que los índices EG y PD. En ambos casos fue una variación significativa. Los valores obtenidos en el VAS según el paciente también variaron de forma significativa en función del índice-EG. Sin embargo, esta variación no fue significativa con el índice-PD. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los VAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 52) y del índice ecográfico PD (Tabla 53).

Tabla 52. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

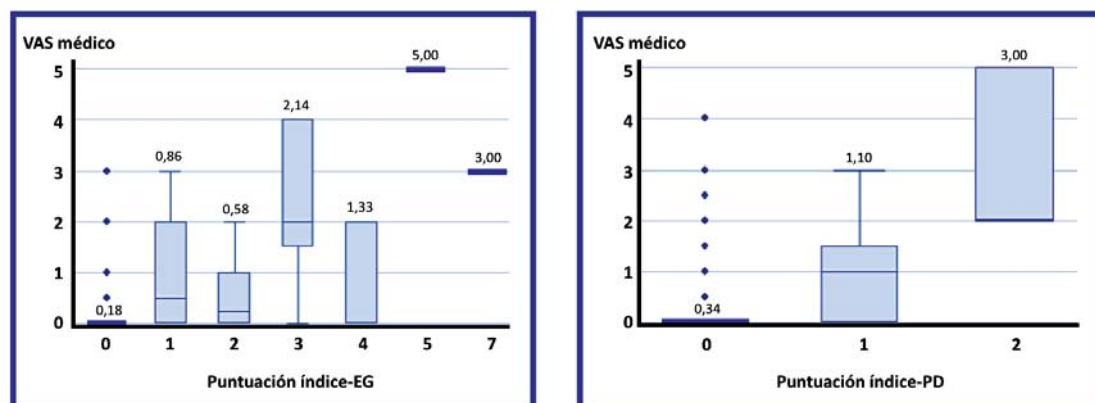
Índice-EG	VASm	P valor	VASp	P valor	VASpp	P valor
0	135 0,18 ± 0,52		131 0,29 ± 0,85		134 0,45 ± 1,15	
1	18 0,86 ± 1,03		18 0,45 ± 0,62		18 0,31 ± 0,52	
2	6 0,58 ± 0,80		6 0,18 ± 0,29		6 0,60 ± 0,80	
3	7 2,14 ± 1,44	0,000	7 0,64 ± 1,18	0,018	7 0,57 ± 1,13	0,034
4	3 1,33 ± 1,15		3 2,83 ± 4,07		3 3,00 ± 4,36	
5	1 5,00		1 7,00		1 7,00	
7	1 3,00		1 0,00		1 0,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Tabla 53. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
VASm	163 0,34 ± 0,78	5 1,10 ± 1,24	3 3,00 ± 1,73	0,000
VASp	159 0,36 ± 1,00	5 0,50 ± 0,71	3 2,67 ± 3,79	0,081
VASpp	162 0,48 ± 1,23	5 0,50 ± 0,50	3 3,33 ± 3,21	0,001

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Gráfico 25. VAS del médico en pacientes pediátricos función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler en pacientes pediátricos.

Cuestionarios de capacidad funcional: CHAQ y HAQ

Los valores obtenidos en la puntuación del CHAQ variaron significativamente del mismo modo que el índice-EG. Sin embargo, esta misma tendencia no se observó con el índice-PD. Sólo 8 pacientes pediátricos en edad adolescente respondieron a un total de 16 cuestionarios HAQ. En las visitas en las que respondieron estos 16 cuestionarios, todos ellos tuvieron puntuaciones del índice-PD de cero. Sólo dos tuvieron un Índice-EG de 1, mientras que en los otros 14 el índice-EG fue de cero. Dado el reducido número de pacientes pediátricos que respondieron al HAQ no es posible realizar cálculos estadísticos válidos con respecto a la variación del HAQ en función de los índices ecográficos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los cuestionarios de calidad de vida en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 54) y del índice ecográfico PD (Tabla 55).

Tabla 54. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

Índice-EG	N	CHAQ	P valor	N	HAQ	P valor
0	134	0,09 ± 0,24	0,033	14	0,05 ± 0,12	0,485
1	18	0,03 ± 0,08		2	0,00 ± 0,00	
2	6	0,00 ± 0,00		0	--	
3	7	0,05 ± 0,07		0	--	
4	3	0,13 ± 0,13		0	--	
5	1	1,25		0	--	
7	1	0,13		0	--	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Tabla 55. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
CHAQ	162 0,08 ± 0,22	5 0,05 ± 0,07	3 0,46 ± 0,69	0,109
HAQ	16 0,05 ± 0,11	0 --	0 --	--

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Reactantes de fase aguda

La VSG varió significativamente del mismo modo que el índice-EG. Sin embargo, esta misma tendencia no se observó con el índice-PD. En los pacientes con AIJ pediátricos no se observaron cambios significativos en los valores de la PCR en función de los índices ecográficos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los reactantes de fase aguda en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 56) y del índice ecográfico PD (Tabla 57).

Tabla 56. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

Índice-EG	N	PCR	P valor	N	VSG	P valor
0	134	0,28 ± 0,80	0,343	129	20,55 ± 14,66	0,022
1	18	0,70 ± 1,83		18	32,50 ± 24,10	
2	6	0,11 ± 0,12		5	12,40 ± 7,50	
3	7	0,24 ± 0,34		6	39,00 ± 18,07	
4	3	0,28 ± 0,23		3	42,67 ± 38,14	
5	1	8,14		1	28,00	
7	1	1,30		1	40,00	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Tabla 57. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
PCR	162 0,32 ± 0,95	5 0,32 ± 0,55	3 2,85 ± 4,59	0,598
VSG	155 22,51 ± 16,57	5 24,60 ± 18,81	3 38,33 ± 42,45	0,868

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas

El número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas varió de forma significativa del mismo modo que los índices EG y PD. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los números de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 58) y del índice ecográfico PD (Tabla 59).

Tabla 58. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

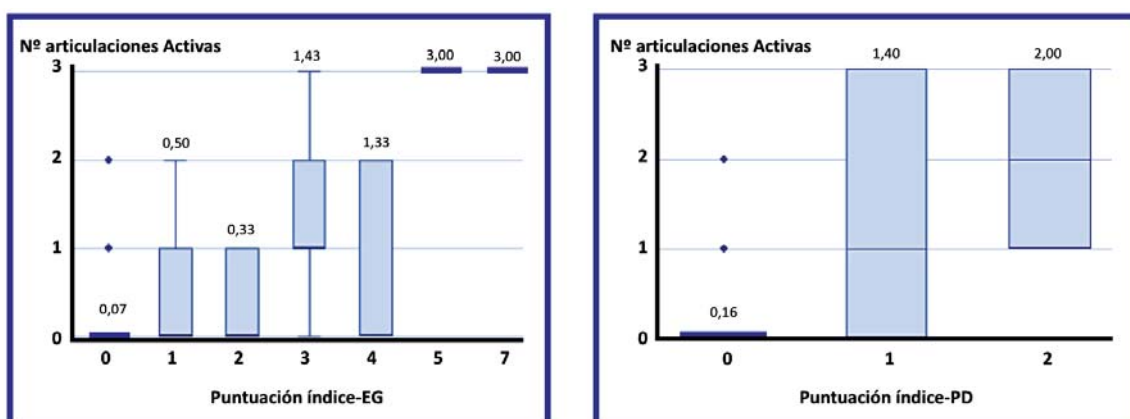
Índice-EG	N	NAA	P	NAD	P	NAT	P	NAL	P
0	135	0,07 ± 0,28		0,10 ± 0,34		0,06 ± 0,27		0,12 ± 0,32	
1	18	0,50 ± 0,71		0,22 ± 0,55		0,44 ± 0,62		0,39 ± 0,78	
2	6	0,33 ± 0,52		0,17 ± 0,41		0,33 ± 0,52		0,33 ± 0,52	
3	7	1,43 ± 0,98	0,000	0,57 ± 1,13	0,000	1,43 ± 0,98	0,000	1,00 ± 1,53	0,000
4	3	1,33 ± 1,15		1,00 ± 1,00		1,00 ± 1,00		1,67 ± 1,53	
5	1	3,00		3,00		2,00		3,00	
7	1	3,00		2,00		2,00		4,00	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; P, P valor.

Tabla 59. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
NAA	163 0,16 ± 0,46	5 1,40 ± 1,52	3 2,00 ± 1,00	0,000
NAD	163 0,11 ± 0,37	5 1,20 ± 1,30	3 2,00 ± 1,00	0,000
NAT	163 0,15 ± 0,42	5 1,20 ± 1,30	3 1,67 ± 0,58	0,000
NAL	163 0,17 ± 0,45	5 1,80 ± 2,05	3 2,33 ± 1,15	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas.

Gráfico 26. Número de articulaciones activas en pacientes pediátricos en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler en pacientes pediátricos.

Índices compuestos de valoración de la AIJ: JADAS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos al analizar en la población pediátrica los valores de los índices JADAS clásicos (con VSG), los índices JADAS clínicos (sin reactantes de fase aguda) y los índices JADAS-PCR (con PCR) en función de los índices ecográficos.

JADAS 10, JADAS 27, JADAS 71 (JADAS VSG)

Los índices de valoración de la actividad de la AIJ JADAS (JADAS 10, JADAS 27 y JADAS 71), variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos JADAS 10 y 71 fueron idénticos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 60) y del índice ecográfico PD (Tabla 61).

Tabla 60. Índices JADAS en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

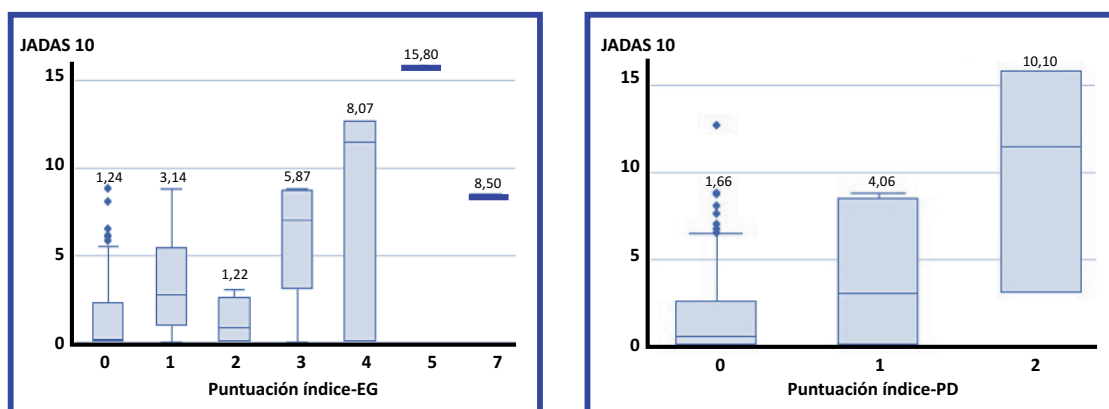
Índice-EG	N	JADAS 10 / 71	P valor	JADAS 27	P valor
0	129	1,24 ± 1,82	0,000	1,24 ± 1,82	0,000
1	18	3,14 ± 2,73		3,14 ± 2,73	
2	5	1,22 ± 1,35		1,22 ± 1,35	
3	6	5,87 ± 3,26		5,87 ± 3,26	
4	3	8,07 ± 7,01		8,07 ± 7,01	
5	1	15,80		15,80	
7	1	8,50		7,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 61. Índices JADAS en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
JADAS 10 / 71	155 1,66 ± 2,35	5 4,06 ± 4,37	3 10,10 ± 6,51	0,018
JADAS 27	155 1,66 ± 2,36	5 3,86 ± 4,13	3 10,10 ± 6,51	0,018

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Gráfico 27. Índice JADAS 10 en pacientes pediátricos en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.

cJADAS 10, cJADAS 27, cJADAS 71 (JADAS clínicos)

Los índices cJADAS, que valoran la AIJ mediante variables clínicas, variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos cJADAS 10 y 71 fueron idénticos, por este motivo se presentan conjuntamente. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices cJADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 62) y del índice ecográfico PD (Tabla 63).

Tabla 62. Índices cJADAS en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

Índice-EG	N	cJADAS 10 / 71	P valor	cJADAS 27	P valor
0	135	0,67 ± 1,43	0,000	0,67 ± 1,43	0,000
1	18	1,54 ± 1,52		1,54 ± 1,52	
2	6	1,18 ± 1,39		1,18 ± 1,39	
3	7	4,21 ± 2,41		4,21 ± 2,41	
4	3	5,50 ± 5,77		5,50 ± 5,77	
5	1	15,00 ± ...		15,00 ± ...	
7	1	6,50 ± ...		5,50 ± ...	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 63. Índices cJADAS en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
cJADAS 10 / 71	163 0,95 ± 1,80	5 3,10 ± 3,13	3 7,67 ± 6,43	0,003
cJADAS 27	163 0,95 ± 1,80	5 2,90 ± 2,88	3 7,67 ± 6,43	0,003

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

JADAS-PCR 10, JADAS-PCR 27, JADAS-PCR 71

Los índices JADAS-PCR variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos JADAS-PCR 10 y 71 fueron idénticos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS-PCR en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 64) y del índice ecográfico PD (Tabla 65).

Tabla 64. Índices JADAS-PCR en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes pediátricos.

Índice-EG	N	JADAS-PCR 10 / 71	P valor	JADAS-PCR 27	P valor
0	134	0,84 ± 1,79	0,000	0,84 ± 1,79	0,000
1	18	2,04 ± 2,12		2,04 ± 2,12	
2	6	1,18 ± 1,39		1,18 ± 1,39	
3	7	4,21 ± 2,41		4,21 ± 2,41	
4	3	5,50 ± 5,77		5,50 ± 5,77	
5	1	22,14		22,14	
7	1	6,80		5,80	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 65. Índices JADAS-PCR en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes pediátricos.

	Índice-PD			P valor
	0	1	2	
JADAS-PCR 10 / 71	162 1,14 ± 2,11	5 3,16 ± 3,21	3 10,05 ± 10,52	0,005
JADAS-PCR 27	162 1,14 ± 2,11	5 2,96 ± 2,95	3 10,05 ± 10,52	0,005

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

2.3.4. Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas

En los pacientes pediátricos con AIJ se observó una moderada correlación entre el índice-EG y las variables: VAS del médico, número de articulaciones activas y número de articulaciones tumefactas, los índices cJADAS y el JADAS-PCR 27. Se observó una baja o mínima correlación con el resto de variables. El índice-PD presentó una moderada correlación con el número de articulaciones dolorosas y se observó una baja o mínima correlación con el resto de las variables clínicas y de laboratorio. No se observaron buenas correlaciones entre ninguno de los índices y las variables. Dado el bajo número de cuestionarios HAQ de los que disponíamos resultado en la población pediátrica (N=16 determinaciones) no se pudo calcular la correlación del HAQ con los índices ecográficos. En la siguiente tabla se presentan los resultados de la correlación de los índices ecográficos con las variables de los pacientes con AIJ pediátricos.

Tabla 66. Correlación entre los índices ecográficos escala de grises y power Doppler y las variables clínico-biológicas en los pacientes pediátricos con artritis idiopáticas juvenil.

Variables	N	Índice-EG	Índice-PD
Estado de actividad	171	-0,069 [-0,217; 0,081]	0,031 [-0,119; 0,180]
VAS del médico	171	0,500 [0,379; 0,604]	0,295 [0,152; 0,426]
VAS del paciente	167	0,224 [0,076; 0,362]	0,155 [0,005; 0,299]
VAS padres del paciente	170	0,204 [0,055; 0,343]	0,252 [0,106; 0,387]
CHAQ	170	0,078 [-0,073; 0,225]	0,138 [-0,012; 0,283]
VSG	163	0,207 [0,056; 0,349]	0,038 [-0,116; 0,190]

PCR	170	0,036 [-0,115; 0,185]	0,067 [-0,084; 0,215]
NAA	171	0,564 [0,452; 0,658]	0,390 [0,256; 0,510]
NAD	171	0,283 [0,140; 0,415]	0,449 [0,321; 0,561]
NAT	171	0,575 [0,465; 0,667]	0,398 [0,264; 0,517]
NAL	171	0,339 [0,200; 0,465]	0,374 [0,237; 0,495]
JADAS 10/71	163	0,359 [0,221; 0,482]	0,189 [0,040; 0,329]
JADAS 27	163	0,358 [0,220; 0,482]	0,187 [0,039; 0,328]
cJADAS 10/71	171	0,403 [0,269; 0,521]	0,245 [0,099; 0,380]
cJADAS 27	171	0,406 [0,273; 0,523]	0,245 [0,101; 0,379]
JADAS-PCR 10/71	170	0,396 [0,262; 0,515]	0,228 [0,082; 0,366]
JADAS-PCR 27	170	0,400 [0,266; 0,517]	0,229 [0,084; 0,365]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

2.3.5. Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo

En esta segunda parte del análisis de correlación, se analizaron por separado los pacientes pediátricos cuyo curso de la AIJ había sido oligoarticular o poliarticular. Se analizó la correlación entre los índices JADAS y los índices ecográficos con el objetivo de identificar diferencias entre estos dos grupos de pacientes. En los pacientes con AIJ de curso oligoarticular se observó una baja correlación entre los JADAS y el índice-EG, y una mínima o nula correlación entre los JADAS y el índice-PD. Sin embargo, en los pacientes con AIJ pediátricos de curso poliarticular, se observó una correlación moderada con el JADAS tradicional y el índice-EG, una buena correlación con el JADAS clínico y el índice-EG y una baja correlación con todos los JADAS y el índice-PD. A continuación, se presentan los resultados del análisis de la correlación entre los índices JADAS y los índices ecográficos en los pacientes pediátricos con AIJ de curso oligoarticular y poliarticular.

Tabla 67. Correlación entre los índices ecográficos y clínicos en función del curso evolutivo de la artritis idiopática juvenil en pacientes pediátricos.

JADAS	AIJ Oligoarticular N=114		AIJ Poliarticular N=57	
	Índice-EG	Índice-PD	Índice-EG	Índice-PD
JADAS 10/71	0,236 [0,057; 0,400]	0,060 [-0,122; 0,239]	0,554 [0,336; 0,715]	0,344 [0,083; 0,560]
JADAS 27	0,236 [0,057; 0,400]	0,060 [-0,122; 0,239]	0,553 [0,335; 0,715]	0,340 [0,079; 0,557]
cJADAS 10/71	0,263 [0,086; 0,425]	0,120 [-0,062; 0,296]	0,637 [0,445; 0,773]	0,388 [0,134; 0,594]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

En resumen, se observaron mejores correlaciones entre los índices JADAS y los índices ecográficos en los pacientes con AIJ pediátricos de curso poliarticular que en los pacientes de curso oligoarticular. El índice ecográfico PD presentó una baja o nula correlación con los índices JADAS en ambos grupos de pacientes.

2.4. ESTUDIO ECOGRÁFICO EN LOS PACIENTES ADULTOS CON AIJ

Participaron en el estudio de ecografía del presente proyecto de tesis doctoral, un total de 37 pacientes con AIJ adultos, de entre 17 y 32 años de edad. Los resultados del análisis clínico-ecográfico de los pacientes adultos se presentan a continuación.

2.4.1. Características clínicas

A continuación, se presentan las principales características de los pacientes adultos con AIJ en la primera visita en la cual se realizó el estudio ecográfico. Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar, o bien como número de pacientes y porcentaje:

- **Edad:** 22,5 \pm 4,1 años.
- **Duración de la enfermedad:** 15,2 \pm 6,5 años.
- **Tratamientos:** 15 (40,6%) pacientes recibían tratamiento con anti-TNF α en monoterapia; 18 (48,6%) pacientes anti-TNF α combinado con FAMEs; 4 pacientes (10,8%) MTX en monoterapia.

- **Subtipo de la enfermedad:** AIJ oligoarticular 12 (32,4%) pacientes; AIJ poliarticular FR positiva 1 (2,7%) paciente; AIJ FR negativa 7 (18,9%) pacientes; AIJ psoriásica 4 (10,9%); AIJ artritis relacionada con entesitis 12 (32,4%); AIJ indiferenciada 1 (2,7%).
- **Curso de la AIJ:** oligoarticular 13 (35,1%); poliarticular 24 (64,9%).
- **Actividad clínica:** cumplían criterios de inactividad 22 (59,5%) pacientes; activos 15 (40,5%) pacientes. Cabe destacar que, de los 15 pacientes que presentaban actividad clínica, 6 (40%) de ellos cumplían los criterios de mínima enfermedad.

2.4.2. Diferencia entre los índices ecográficos reducidos

Al tratarse de adultos con AIJ en ellos se aplicó el índice reducido de 12 articulaciones previamente validado para la artritis reumatoide. Como este índice incluye las 10 articulaciones propuestas en el índice ecográfico reducido desarrollado para los niños con AIJ se calculó cuál de los dos presentaba un mejor perfil de evaluación de estos pacientes. Tal y como se ha comentado previamente la diferencia entre ellos reside en explorar o no la 3ª MCF de forma bilateral.

En un principio se aplicó el índice de 12 articulaciones a todos los pacientes, por lo que se exploraron un total de 1.272 articulaciones a los 38 pacientes adultos con AIJ. Ninguna de las 212 articulaciones 3ª metacarpofalángicas estudiadas en adultos con AIJ presentaba actividad clínica, ni tampoco ecográfica. Por lo tanto, dado su nulo rendimiento en la evaluación de estos pacientes, se decidió prescindir del estudio de esta articulación al analizar los resultados. Los resultados expuestos a continuación hacen referencia a la evaluación ecográfica de los pacientes adultos mediante el índice de 10 articulaciones propuesto para niños con AIJ.

2.4.3. Evaluación articular clínica y ecográfica

En total se realizaron 106 exploraciones ecográficas poliarticulares. Se examinaron 1.060 articulaciones clínica y ecográficamente.

Se evaluaron como clínicamente activas 27 (2,6%) articulaciones. En la evaluación ecográfica mediante escala de grises 101 (9,5%) articulaciones puntuaron ≥ 1 . En la evaluación mediante power Doppler 18 (1,70%) articulaciones puntuaron ≥ 1 . En total, 24 (2,26%) articulaciones fueron evaluadas como clínica y ecográficamente activas.

La mayor parte de las articulaciones exploradas en los pacientes adultos fueron evaluadas como inactivas tanto clínica como ecográficamente. En total, 1.033 (97,45%) articulaciones fueron evaluadas como clínicamente inactivas y 956 (90,19%) fueron evaluadas como inactivas tanto por clínica como por ecografía.

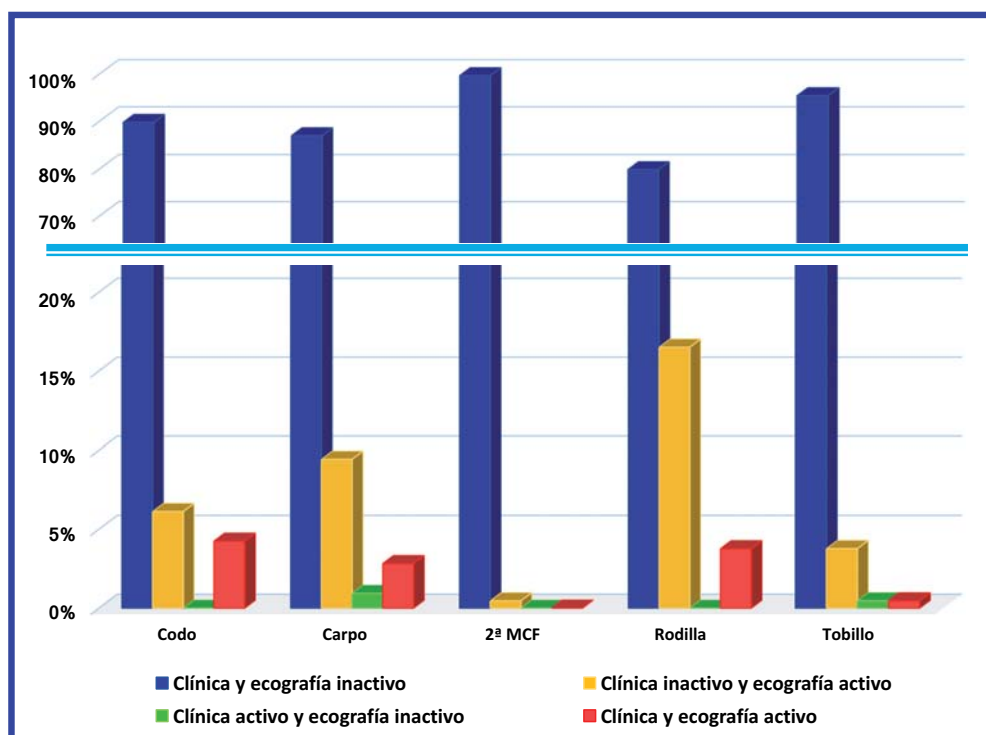
De las 1.033 articulaciones clínicamente inactivas, 77 (7,45%) presentaron sinovitis subclínica mediante escala de grises y 11 articulaciones (1,1%) mostraron sinovitis subclínica mediante PD. En total, 77 (7,5%) articulaciones clínicamente inactivas presentaron actividad inflamatoria por ecografía. La mayor parte de ellas (84,4%) presentaron una hipertrofia sinovial y/o derrame sinovial y/o aumento de la vascularización leves (puntuado como = 1 por EG o PD).

La articulación en la que se observó inflamación clínica con mayor frecuencia fue el codo (4,3% de los codos explorados), y en segundo lugar la rodilla (3,8% de las rodillas exploradas). Fue en el codo donde se detectó actividad por clínica y ecografía con mayor frecuencia (en el 100% de los codos clínicamente activos se detectó presencia de hipertrofia y/o derrame sinovial con/sin señal PD). Sin embargo, la articulación que presentó inflamación por ecografía con mayor frecuencia fue la rodilla (se detectó inflamación por ecografía en el 20,3% de las rodillas exploradas), y en segundo lugar el carpo (12,3% de los carpos explorados). La articulación en la que se observó inflamación clínica y ecográfica con menor frecuencia fue 2ª MCF. Ninguna de las articulaciones metacarpofalángicas exploradas fue evaluada como clínicamente activa y sólo una de ellas (0,47%) fue evaluada como ecográficamente activa.

En cuanto a la correlación clínico-ecográfica, por orden de frecuencia, se detectó discordancia clínico-ecográfica en:

- 35 rodillas (16,51% del total de rodillas)
- 22 carpos (10,38% del total de carpos)
- 13 codos (6,13%)
- 9 tobillos (4,25%)
- 1 articulación 2ª MCF (0,47%)

En el siguiente gráfico se presentan los porcentajes relativos al número total de evaluaciones de cada una de las articulaciones exploradas tanto clínica como ecográficamente.

Gráfico 28. Exploración clínica y ecográfica en los pacientes con AIJ adultos.

Nota: para facilitar la visualización se indica mediante una línea transversal el cambio de escala en el eje vertical.

2.4.4. Índices ecográficos

Las puntuaciones obtenidas tanto para el índice-EG, como para el índice-PD fueron bajas, probablemente debido al hecho de que muchos de los pacientes presentaban una AIJ de curso oligoarticular y que, en la mayoría de las visitas del estudio, ya desde la primera, la mayoría de ellos presentaban una enfermedad inactiva. La máxima puntuación obtenida mediante el índice-EG fue de 11 y la máxima puntuación obtenida mediante el índice-PD fue de 4. Ambos índices ecográficos varían de la misma manera que la mayor parte de las variables clínicas analizadas. Esto significa que, en la mayoría de los casos, a mayor actividad de la AIJ determinada mediante las variables clínicas, mayor puntuación obtenida en los índices ecográficos. A continuación, se detalla el análisis de los resultados.

2.4.4.1. Índices ecográficos y actividad

Tanto el índice-EG como el índice-PD presentaron valores significativamente superiores en los adultos con AIJ clínicamente activa, con respecto a los adultos con AIJ clínicamente inactiva ($P = 0,000$ y $P = 0,005$, respectivamente). Es decir, los valores observados en los índices ecográficos entre pacientes activos e inactivos fueron significativamente diferentes, siendo superiores en los activos.

Tabla 68. Índices ecográficos en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes adultos.

	Actividad AIJ		P valor
	Activo N=39	Inactivo N=67	
Índice ecográfico EG	2,36 ± 2,60	0,66 ± 1,27	0,000
Índice ecográfico PD	0,44 ± 0,91	0,06 ± 0,24	0,005

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

El porcentaje de pacientes activos fue significativamente superior en los grupos de observaciones con las mayores puntuaciones de ambos índices ecográficos. Además, este mayor porcentaje de pacientes activos en los grupos de mayores puntuaciones de los índices ecográficos fue significativa.

Tabla 69. Índice ecográfico escala de grises en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes adultos.

Índice-EG	N	Actividad AIJ		P valor
		Activa	Inactiva	
0	60 (56,60)	15 (38,46)	45 (67,16)	0,000
1	14 (13,21)	1 (2,56)	13 (19,41)	
2	13 (12,26)	9 (23,08)	4 (5,97)	
3	8 (7,55)	7 (17,95)	1 (1,49)	
4	2 (1,89)	0 (0)	2 (2,99)	
5	3 (2,83)	2 (5,13)	1 (1,49)	
6	3 (2,83)	2 (5,13)	1 (1,49)	
7	2 (1,89)	2 (5,13)	0 (0)	
11	1 (0,94)	1 (2,56)	0 (0)	
Total AIJ adultos	106 (100)	39 (36,79)	67 (63,21)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

En las mayores puntuaciones del índice-EG es donde se observaron el mayor porcentaje de pacientes activos. El 100% de los pacientes que puntuaron 7 y 11 en el índice-EG estaban clínicamente activos.

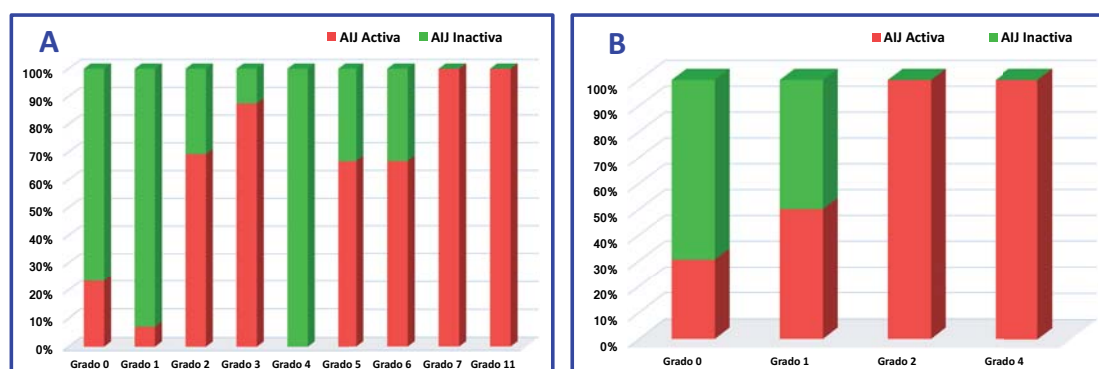
Tabla 70. Índice ecográfico power Doppler en función de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes adultos.

Actividad AIJ	N	Índice ecográfico PD				P valor
		0	1	2	4	
Activa	39	29 (74,36)	4 (10,26)	5 (12,82)	1 (2,56)	0,006
Inactiva	67	63 (94,03)	4 (5,97)	0 (0)	0 (0)	
AIJ adultos	106	92 (86,79)	8 (7,55)	5 (4,72)	1 (0,94)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje.

En las mayores puntuaciones del índice-PD es donde encontramos el mayor porcentaje de pacientes activos. El 100% de los pacientes que puntuaron 2 y 4 en el Índice-PD estaban clínicamente activos (Gráfico 29).

Gráfico 29. Actividad de la artritis idiopática juvenil en los pacientes adultos en función del índice-EG (A) y el índice-PD (B).



Estados de actividad de la AIJ

Los distintos estados de actividad de la AIJ (inactiva, mínima actividad, moderada actividad y alta actividad) variaron de forma significativa y del mismo modo que los índices EG y PD. Las mayores puntuaciones en ambos índices ecográficos se observaron en los estados clínicos correspondientes a la mayor actividad inflamatoria de la AIJ.

Tabla 71. Índices ecográficos en función de los estados de actividad de la AIJ en pacientes adultos.

Índice ecográfico	Estados de actividad					P valor
	Remisión N = 55	Inactivo N = 12	Mínima N = 22	Moderada N = 11	Alta N = 6	
EG	0,38 ± 0,71	1,92 ± 2,19	1,19 ± 1,25	3,82 ± 3,25	3,33 ± 3,08	0,000
PD	0,04 ± 0,19	0,17 ± 0,39	0,10 ± 0,44	0,82 ± 0,87	1,17 ± 1,60	0,036

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

Uveítis

Sólo se observó uveítis activa en un paciente adulto con AIJ en una de las visitas médicas. En esa visita, una de las articulaciones se evaluó como clínicamente activa, aunque mediante ecografía no se confirmó la presencia de inflamación. Durante el episodio de uveítis crónica anterior, el paciente presentó unos índices ecográficos EG y PD de 0. El valor de la media de los índices ecográficos EG y PD en el resto de pacientes que no presentaron uveítis crónica anterior activa, fue de 1,28 ± 2,02 y 0,20 ±

0,60, respectivamente. Debido a que había un único paciente que presentó inflamación ocular, no se observó un cambio en el porcentaje de pacientes con uveítis activa/inactiva en función de las puntuaciones de los índices ecográficos EG ni PD ($P = 1,000$ y $P = 1,000$, respectivamente).

2.4.4.2. Índices ecográficos y variables clínico-biológicas

Se objetivaron mayores puntuaciones en los índices ecográficos EG y PD en los pacientes con más inflamación (p.ej. con mayor número de articulaciones activas) y menores puntuaciones en los pacientes con menos inflamación. Esta variación en el valor de los índices en la misma dirección que las variables clínicas y de laboratorio fue significativa ($P < 0,05$) para la mayor parte de ellas. En el siguiente listado se indican las variables de los pacientes con AIJ adultos que variaron de forma significativa del mismo modo que cada uno de los índices ecográficos.

Índice-EG

VAS del médico
 VAS del paciente
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

Índice-PD

VAS del médico
 HAQ
 VSG
 PCR
 Número de articulaciones activas
 Número de articulaciones dolorosas
 Número de articulaciones tumefactas
 Número de articulaciones limitadas
 JADAS 10 / 27 / 71
 cJADAS
 JADAS-PCR

A continuación, se presentan los resultados correspondientes al análisis de cada una de estas variables con respecto a los valores de los dos índices ecográficos, en los pacientes adultos con AIJ.

VAS del médico, VAS del paciente y VAS de los padres del paciente

Los valores obtenidos en el VAS del médico variaron de forma significativa del mismo modo que los índices EG y PD. El VAS del paciente varió de forma significativa y del mismo modo que el índice-EG. Sin embargo, esta variación no fue significativa con el índice de PD. El VAS de los padres del paciente no varió de forma significativa con el índice-EG, ni tampoco con el índice-PD. Probablemente esta ausencia de cambios estadísticamente significativos entre el VAS de los padres del paciente y los índices ecográficos se deba a que un escaso número de padres de pacientes adultos jóvenes respondieron a los cuestionarios.

En las siguientes tablas se presentan los resultados de los VAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 72) y del índice ecográfico PD (Tabla 73).

Tabla 72. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	VASm	P valor	VASp	P valor	VASpp	P valor
0	60 0,12 ± 0,33		59 0,47 ± 0,89		20 0,71 ± 1,37	
1	14 0,14 ± 0,53		14 0,50 ± 0,76		1 0,00 ± ...	
2	13 0,65 ± 0,97		13 1,27 ± 1,86		4 1,75 ± 2,87	
3	8 0,69 ± 0,59		8 2,69 ± 2,49		3 3,33 ± 3,06	
4	2 0,00 ± 0,00	0,000	2 2,00 ± 1,41	0,002	0 ... ± ...	0,240
5	3 2,00 ± 1,73		3 2,50 ± 3,91		1 2,00 ± ...	
6	3 1,83 ± 1,76		3 4,33 ± 3,06		1 5,00 ± ...	
7	2 3,00 ± 0,00		2 0,00 ± 0,00		1 1,00	
11	1 2,50		1 2,00		0 --	

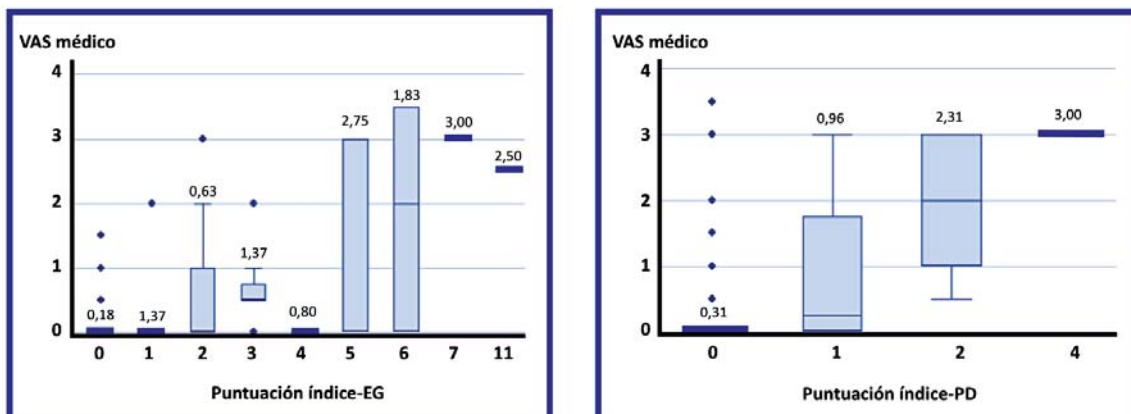
Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Tabla 73. Escalas analógicas visuales en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
VASm	92 0,26 ± 0,66	8 0,88 ± 1,22	5 1,90 ± 1,14	1 3,00	0,000
VASp	91 0,82 ± 1,57	8 1,44 ± 1,72	5 2,5 ± 2,5	1 0,00	0,072
VASpp	27 0,98 ± 1,79	2 3,00 ± 1,41	1 6,00	1 1,00	0,075

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente.

Gráfico 30. VAS del médico en pacientes adultos en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.



Cuestionarios de capacidad funcional: CHAQ y HAQ

Los valores obtenidos en la puntuación del CHAQ no presentaron cambios significativos en relación al valor de ninguno de los dos índices ecográficos. Los valores obtenidos en la puntuación del HAQ variaron significativamente del mismo modo que el índice ecográfico PD, aunque no mostraron cambios significativos con el índice ecográfico EG. A continuación, se presentan los resultados.

Tabla 74. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función de los valores del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	N	CHAQ	P valor	N	HAQ	P valor
0	20	0,21 ± 0,39	0,803	55	0,10 ± 0,25	0,279
1	1	0,00		14	0,04 ± 0,10	
2	4	0,25 ± 0,50		13	0,23 ± 0,34	
3	3	0,04 ± 0,07		8	0,13 ± 0,23	
4	0	--		2	0,31 ± 0,27	
5	1	0,125		3	0,29 ± 0,40	
6	1	0,125		3	0,08 ± 0,14	
7	1	0,00		2	0,19 ± 0,27	
11	0	--		1	0,00	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Tabla 75. Cuestionarios CHAQ y HAQ en función de los valores del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
CHAQ	27 0,16 ± 0,35	2 0,06 ± 0,09	1 1,00	1 0,00	0,301
HAQ	87 0,10 ± 0,22	8 0,03 ± 0,06	5 0,65 ± 0,21	1 0,00	0,000

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*.

Reactantes de fase aguda

Tanto la VSG como la PCR variaron de forma significativa del mismo modo que el índice ecográfico PD. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en los valores de los reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico EG. Se presentan los resultados de los reactantes de fase aguda en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 76) y del índice ecográfico PD (Tabla 77).

Tabla 76. Reactantes de fase aguda en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	N	PCR	P valor	N	VSG	P valor
0	58	0,20 ± 0,23	0,664	58	20,79 ± 15,70	0,064
1	14	0,31 ± 0,57		14	17,21 ± 11,16	
2	12	0,35 ± 0,56		13	30,92 ± 22,73	
3	8	0,21 ± 0,30		8	24,75 ± 16,23	
4	2	0,19 ± 0,14		2	6,50 ± 0,71	
5	3	0,29 ± 0,13		3	29,33 ± 9,07	
6	3	0,09 ± 0,08		3	24,33 ± 15,04	
7	2	1,41 ± 1,87		2	59,50 ± 3,54	
11	1	0,16		1	120	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Tabla 77. Reactantes de fase aguda en función de los valores del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
PCR	89 0,20 ± 0,30	8 0,21 ± 0,12	5 0,80 ± 0,76	1 2,73	0,013
VSG	90 20,55 ± 15,69	8 35,38 ± 35,65	5 54,00 ± 5,52	1 57,00	0,001

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas

El número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas varió de forma significativa, del mismo modo que los índices EG y PD. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los números de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 78) y del índice ecográfico PD (Tabla 79).

Tabla 78. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	N	NAA	P	NAD	P	NAT	P	NAL	P
0	60	0,09 ± 0,35		0,14 ± 0,35		0,05 ± 0,30		0,43 ± 1,26	
1	14	0,07 ± 0,27		0,07 ± 0,27		0,00 ± 0,00		0,71 ± 0,73	
2	13	0,31 ± 0,48		0,38 ± 0,51		0,31 ± 0,48		1,69 ± 2,39	
3	8	1,00 ± 1,15		0,25 ± 0,46		1,12 ± 1,13		1,00 ± 1,07	
4	2	0,00 ± 0,00	0,000	0,00 ± 0,00	0,017	0,00 ± 0,00	0,000	0,50 ± 0,71	0,000
5	3	1,33 ± 1,15		0,67 ± 1,15		1,00 ± 1,00		4,00 ± 3,46	
6	3	1,67 ± 1,53		1,33 ± 2,31		1,67 ± 1,53		1,67 ± 0,58	
7	2	4,00 ± 0,00		2,00 ± 0,00		2,00 ± 0,00		4,00 ± 0,00	
11	1	2,00		0,00		2,00		2,00	

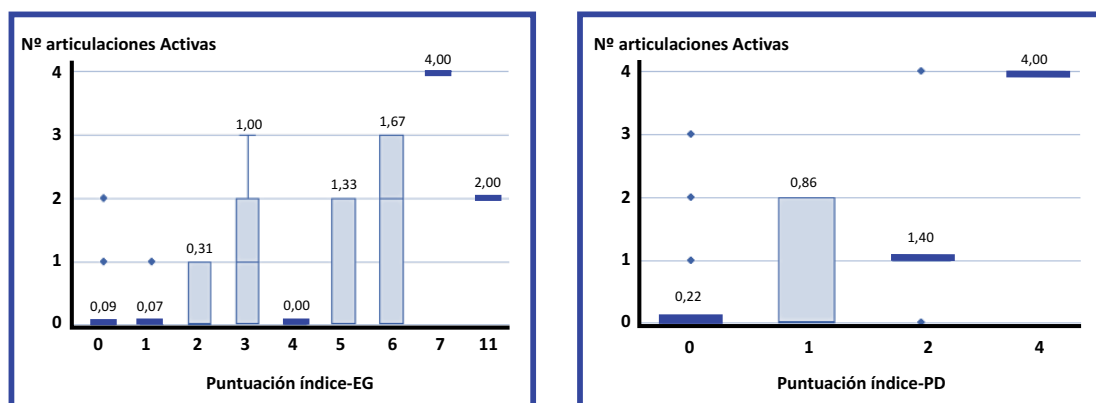
Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; P, P valor.

Tabla 79. Número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice-PD				P valor
	0	1	2	4	
NAA	92 0,22 ± 0,61	8 0,86 ± 1,07	5 1,40 ± 1,52	1 4,00	0,000
NAD	92 0,18 ± 0,54	8 0,38 ± 0,74	5 1,00 ± 0,71	1 2,00	0,000
NAT	92 0,18 ± 0,60	8 0,88 ± 0,99	5 1,00 ± 0,71	1 2,00	0,000
NAL	92 0,70 ± 1,47	8 2,00 ± 2,56	5 2,00 ± 1,22	1 4,00	0,001

Valores expresados como número de determinaciones, media ± desviación estándar. NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas.

Gráfico 31. Número de articulaciones activas en pacientes adultos en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.



Índices compuestos de valoración de la AIJ: JADAS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos al analizar en la población adulta los valores de los índices JADAS clásicos (con VSG), los índices JADAS clínicos (sin reactantes de fase aguda) y los índices JADAS-PCR (con PCR) en función de los índices ecográficos.

JADAS 10, JADAS 27, JADAS 71 (JADAS VSG)

Los índices de valoración de la actividad de la AIJ JADAS (JADAS 10, JADAS 27 y JADAS 71), variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos JADAS 10 y 71 fueron idénticos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 80) y del índice ecográfico PD (Tabla 81).

Tabla 80. Índices JADAS en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

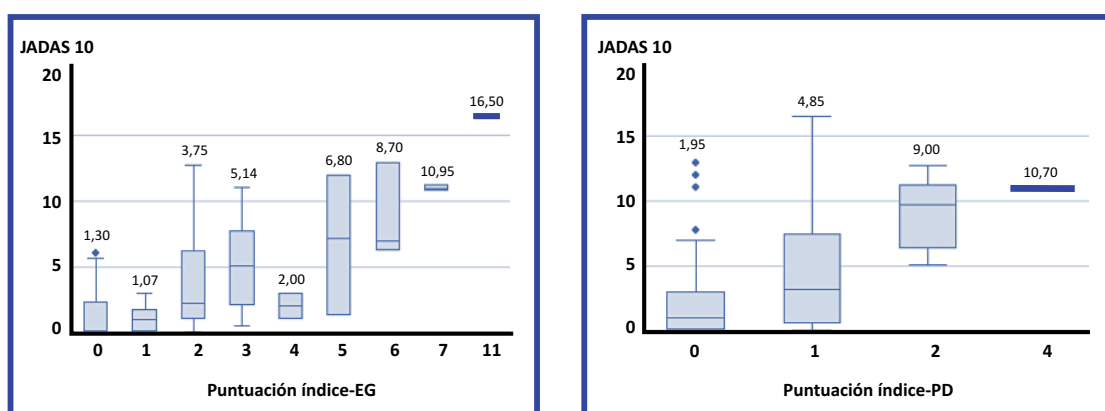
Índice-EG	N	JADAS 10 / 71	P valor	JADAS 27	P valor
0	57	1,30 ± 1,85		1,28 ± 1,83	
1	14	1,07 ± 0,92		1,07 ± 0,92	
2	13	3,75 ± 4,02		3,75 ± 4,02	
3	8	5,14 ± 3,58		5,14 ± 3,58	
4	2	2,00 ± 1,41	0,000	2,00 ± 1,41	0,000
5	3	6,80 ± 5,36		6,80 ± 5,36	
6	3	8,70 ± 3,66		8,70 ± 3,66	
7	2	10,95 ± 0,35		10,95 ± 0,35	
11	1	16,50		16,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 81. Índice JADAS en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
JADAS 10/27/71	89 1,95 ± 2,74	8 4,85 ± 5,64	5 9,00 ± 3,22	1 10,70	0,001
JADAS 27	89 1,94 ± 2,72	8 4,85 ± 5,64	5 9,00 ± 3,22	1 10,70	0,001

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Gráfico 32. JADAS 10 en pacientes adultos en función de los índices ecográficos escala de grises y power Doppler.

cJADAS 10, cJADAS 27, cJADAS 71 (JADAS clínicos)

Los cJADAS, que valoran la actividad de la AIJ mediante variables clínicas, variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos cJADAS 10 y 71 fueron idénticos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices cJADAS en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 82) y del índice ecográfico PD (Tabla 83).

Tabla 82. Índices cJADAS en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	N	cJADAS 10 / 71	P valor	cJADAS 27	P valor
0	59	0,65 ± 1,20	0,000	0,63 ± 1,19	0,000
1	14	0,71 ± 0,99		0,71 ± 0,99	
2	13	2,23 ± 2,93		2,23 ± 2,93	
3	8	4,25 ± 3,30		4,25 ± 3,30	
4	2	2,00 ± 1,41		2,00 ± 1,41	
5	3	5,83 ± 6,01		5,83 ± 6,01	
6	3	7,83 ± 3,33		7,83 ± 3,33	
7	2	7,00 ± 0,00		7,00 ± 0,00	
11	1	6,50	6,50		

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 83. Índices cJADAS en función del índice ecográfico power Doppler en .

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
cJADAS 10/71	91 1,30 ± 2,39	8 3,06 ± 3,06	5 5,80 ± 3,09	1 7,00	0,001
cJADAS 27	91 1,29 ± 2,37	8 3,06 ± 3,06	5 5,80 ± 3,09	1 7,00	0,001

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

JADAS-PCR 10, JADAS-PCR 27, JADAS-PCR 71

Los JADAS-PCR, variaron significativamente del mismo modo que los índices EG y PD. Los valores para los índices clínicos JADAS-PCR 10 y 71 fueron idénticos. En las siguientes tablas se presentan los resultados de los índices JADAS-PCR en función de la puntuación del índice ecográfico EG (Tabla 84) y del índice ecográfico PD (Tabla 85).

Tabla 84. Índice JADAS-PCR en función del índice ecográfico escala de grises en pacientes adultos.

Índice-EG	N	JADAS-PCR 10 / 71	P valor	JADAS-PCR 27	P valor
0	57	0,65 ± 1,20	0,000	0,63 ± 1,18	0,000
1	14	0,79 ± 0,98		0,79 ± 0,98	
2	12	2,31 ± 3,00		2,31 ± 3,00	
3	8	4,25 ± 3,30		4,25 ± 3,30	
4	2	2,00 ± 1,41		2,00 ± 1,41	
5	3	5,83 ± 6,01		5,83 ± 6,01	
6	3	7,83 ± 3,33		7,83 ± 3,33	
7	2	7,87 ± 1,22		7,87 ± 1,22	
11	1	6,50		6,50	

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

Tabla 85. Índice JADAS-PCR en función del índice ecográfico power Doppler en pacientes adultos.

	Índice ecográfico PD				P valor
	0	1	2	4	
JADAS-PCR 10/71	88 1,31 ± 2,39	8 3,06 ± 3,06	5 6,00 ± 2,98	1 8,73	0,002
JADAS-PCR 27	88 1,30 ± 2,37	8 3,06 ± 3,06	5 6,00 ± 2,98	1 8,73	0,002

Valores expresados como media ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

2.4.5. Correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas

Se observó una moderada correlación entre índice-EG y las variables: VAS del médico, VAS de los padres del paciente, número de articulaciones activas, tumefactas y limitadas y con los índices JADAS, cJADAS y JADAS-PCR. Se observó una mínima o baja correlación con el resto de variables. El índice-PD se correlacionó de forma moderada con las siguientes variables: VAS del médico, VAS de los padres del paciente, número de articulaciones activas y número de articulaciones tumefactas. Se observó una mínima o baja correlación el resto de las variables. Ninguno de los dos índices mostró una buena correlación con ninguna de las variables. Los resultados obtenidos en el análisis de correlación entre los índices ecográficos y las variables clínico-biológicas de los pacientes adultos, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 86. Correlación entre los índices ecográficos escala de grises y power Doppler y las variables clínico-biológicas en los pacientes adultos con artritis idiopática juvenil.

Variables	N	Índice-EG	Índice-PD
Estado de actividad	106	-0,383 [-0,537; -0,203]	-0,166 [-0,349; 0,029]
VASm	106	0,505 [0,344; 0,637]	0,442 [0,270; 0,586]
VASp	105	0,381 [0,202; 0,536]	0,208 [0,014; 0,386]
VASpp	31	0,450 [0,107; 0,697]	0,457 [0,115; 0,701]
CHAQ	31	0,068 [-0,300; 0,418]	0,150 [-0,222; 0,484]
HAQ	101	0,133 [-0,064; 0,320]	0,217 [0,022; 0,396]
VSG	104	0,185 [-0,010; 0,366]	0,356 [0,173; 0,515]
PCR	103	0,081 [-0,117; 0,272]	0,302 [0,113; 0,470]
NAA	106	0,488 [0,324; 0,624]	0,430 [0,256; 0,577]
NAD	106	0,224 [0,031; 0,401]	0,345 [0,161; 0,505]
NAT	106	0,549 [0,397; 0,672]	0,488 [0,325; 0,623]
NAL	106	0,511 [0,351; 0,642]	0,397 [0,219; 0,549]

JADAS 10/71	103	0,519 [0,361; 0,648]	0,371 [0,190; 0,527]
JADAS 27	103	0,518 [0,360; 0,647]	0,368 [0,188; 0,524]
cJADAS 10/71	105	0,556 [0,405; 0,677]	0,355 [0,172; 0,514]
cJADAS 27	105	0,555 [0,404; 0,676]	0,353 [0,169; 0,512]
JADAS-PCR 10/71	102	0,566 [0,417; 0,685]	0,357 [0,175; 0,516]
JADAS-PCR 27	102	0,565 [0,416; 0,684]	0,354 [0,171; 0,513]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; NAA, número de articulaciones activas; NAD, número de articulaciones dolorosas; NAL, número de articulaciones limitadas; NAT, número de articulaciones tumefactas; PCR, proteína C reactiva; Valores expresados como media \pm desviación estándar. N, número de determinaciones. VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

2.4.6. Correlación clínico-ecográfica en función del curso evolutivo

En esta segunda parte del análisis de correlación, se analizó por separado la correlación clínico-ecográfica de los pacientes cuyo curso de la AIJ había sido oligoarticular o poliarticular. Para ello se utilizó como variables clínicas los índices de valoración de la actividad de la enfermedad JADAS.

En los pacientes adultos con AIJ de curso oligoarticular se observó una baja o nula correlación entre los JADAS y los índices EG y PD. Sin embargo, en los adultos con AIJ de curso poliarticular, se observó una moderada correlación entre el índice-EG y los JADAS y una baja correlación entre el Índice-PD y los JADAS. A continuación, se presentan los resultados del análisis.

Tabla 87. Correlación entre los índices ecográficos y clínicos en función del curso evolutivo de la artritis idiopática juvenil en pacientes adultos.

JADAS	AIJ Oligoarticular N=39		AIJ Poliarticular N=67	
	Índice-EG	Índice-PD	Índice-EG	Índice-PD
JADAS 10/71	0,266 [-0,073; 0,551]	0,248 [-0,092; 0,537]	0,533 [0,334; 0,686]	0,339 [0,106; 0,537]
JADAS 27	0,266 [-0,073; 0,551]	0,248 [-0,092; 0,537]	0,533 [0,334; 0,686]	0,339 [0,106; 0,537]
cJADAS 10/71	0,267 [-0,073; 0,551]	0,193 [-0,149; 0,495]	0,597 [0,415; 0,733]	0,326 [0,092; 0,527]

Valores expresados como coeficiente de Spearman y su rango. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*.

En resumen, la mejor correlación se observó entre el índice-EG y los índices JADAS en pacientes adultos de curso poliarticular. En general, se observaron peores correlaciones clínico-ecográficas en los pacientes de curso oligoarticular.

2.5. ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD INFLAMATORIA ARTICULAR SUBCLÍNICA

A continuación, se presentan los resultados relacionados con el estudio de la actividad inflamatoria subclínica articular detectada mediante ecografía en los pacientes con artritis idiopática juvenil. En primer lugar, se detallan los resultados correspondientes al análisis de la sensibilidad y la especificidad de la ecografía para detectar la actividad inflamatoria articular subclínica. Una vez identificados los pacientes con actividad subclínica, se definen las principales características de este subgrupo de pacientes. Finalmente se presenta un análisis descriptivo de las articulaciones con sinovitis subclínica identificada por ecografía

2.5.1. Análisis de la ecografía para la detección de la actividad subclínica

En una primera fase, se analizó la sensibilidad y la especificidad de la ecografía en EG y de la ecografía PD para detectar la actividad inflamatoria articular subclínica en todos los pacientes con AIJ incluidos en el estudio ecográfico (n=102), tanto pacientes pediátricos como pacientes adultos.

2.5.1.1. Sensibilidad y especificidad de la ecografía por escala de grises

En el grupo de pacientes con AIJ incluidos en el estudio ecográfico, se examinaron 2.770 articulaciones clínica y ecográficamente. De éstas, 2.707 estaban clínicamente inactivas. Entre las inactivas, 108 (3,99%) presentaron sinovitis subclínica detectada mediante ecografía EG.

En la siguiente tabla se presentan los resultados correspondientes al análisis de la actividad inflamatoria detectada mediante la exploración física y la exploración ecográfica en EG y, a continuación, se exponen los resultados de sensibilidad y especificidad.

Tabla 88. Actividad articular detectada mediante exploración física y ecografía escala de grises.

Activo por EG	Activo por exploración física		Total
	No	Sí	
Grado 0	2.599 (96,01)	17 (26,98)	2.616 (94,44)
Grado ≥ 1	108 (3,99)*	46 (73,02)	154 (5,56)
Total	2.707 (97,73)	63 (2,27)	2.770 (100)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje. * Articulaciones con sinovitis subclínica.

En los pacientes con AIJ, los resultados del análisis de sensibilidad y especificidad de la ecografía en escala de grises para detectar actividad inflamatoria son los siguientes:

- **Sensibilidad** 73,02% (IC 95% [60,35%; 83,43%])
- **Especificidad** 95,08% (IC 95% [94,28%; 96,78%])
- **Valor predictivo positivo (VPP)** 30,26% (IC 95% [25,46%; 35,54%])
- **Valor predictivo negativo (VPN)** 99,35% (IC 95% [99,03%; 99,57%])

Población pediátrica y población adulta

Se examinaron clínica y ecográficamente 1.710 articulaciones a pacientes con AIJ pediátricos, y 1.060 articulaciones a pacientes con AIJ adultos. En los pacientes pediátricos, 1.674 articulaciones estaban clínicamente inactivas y, de éstas, 31 (1,85%) presentaron sinovitis subclínica por escala de grises. De las 1.033 articulaciones clínicamente inactivas de los adultos, 75 (7,26%) presentaron sinovitis subclínica mediante escala de grises. Por lo tanto, se observó presencia de sinovitis subclínica en un mayor porcentaje de articulaciones de los pacientes adultos con respecto a los pediátricos. A continuación, se presentan los resultados referentes a la actividad clínico-ecográfica determinada mediante escala de grises en los pacientes pediátricos y adultos.

Tabla 89. Actividad articular detectada mediante exploración física y ecografía escala de grises, en pacientes pediátricos y adultos.

Actividad EG	AIJ Pediátricos			AIJ Adultos		
	Activo exploración física		AIJ Pediátrico	Activo exploración física		AIJ Adulto
	No	Sí		No	Sí	
Grado 0	1.643 (98,15)	14 (38,89)	1.657 (96,90)	956 (92,55)	3 (11,11)	959 (90,47)
Grado ≥1	31 (1,85)*	22 (61,11)	53 (3,10)	77 (7,45)*	24 (88,89)	101 (9,53)
Total	1.674 (97,89)	36 (2,11)	1.710 (100)	1.033 (97,45)	27 (2,55)	1.060 (100)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje. * Articulaciones con sinovitis subclínica.

Los resultados del análisis de sensibilidad y especificidad de la ecografía en escala de grises para detectar actividad inflamatoria en pacientes pediátricos y adultos son los siguientes:

Pacientes AIJ Pediátricos

- **Sensibilidad** 61,11% (IC95% [43,46%;76,9%])
- **Especificidad** 98,15% (IC95% [97,38%;98,7%])
- **VPP** 41,51% (IC95% [31,47%; 52,31%])
- **VPN** 99,16% (IC95% [98,73%; 99,44%])

Pacientes AIJ Adultos

- **Sensibilidad** 88,99% (IC95% [70,84%;97,65%])
- **Especificidad** 92,94% (IC95% [91,0%; 94,25%])
- **VPP** 24,24% (IC 95% [19,86%; 29,24%])
- **VPN** 99,79% (IC 95% [99,10%; 99,97%])

2.5.1.2. Sensibilidad y especificidad de la ecografía por power Doppler

En el grupo de pacientes con AIJ incluidos en el estudio ecográfico, de las 2.707 articulaciones clínicamente inactivas, 14 presentaron sinovitis subclínica mediante ecografía PD. En la siguiente tabla se presentan los resultados correspondientes a la actividad inflamatoria articular detectada mediante la exploración física y la exploración ecográfica en PD.

Tabla 90. Actividad articular detectada mediante exploración física y ecografía power Doppler.

Activo por PD	Activo por exploración física		Total
	No	Sí	
Grado 0	2.693 (99,48)	49 (77,78)	2.742 (98,99)
Grado ≥1	14 (0,52)	14 (22,22)	28 (1,01)
Total	2.707 (97,73)	63 (2,27)	2.770 (100)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

En los pacientes con AIJ, los resultados del análisis de sensibilidad y especificidad de la ecografía PD para detectar actividad inflamatoria articular subclínica son los siguientes:

- **Sensibilidad** 22,22% (IC 95% [12,72%; 34,46%])
- **Especificidad** 99,48% (IC 95% [99,13%; 99,72%])
- **Valor predictivo positivo (VPP)** 50% (IC 95% [33,25%; 66,75%])
- **Valor predictivo negativo (VPN)** 98,21% (IC 95% [97,97%; 98,43%])

Población pediátrica y población adulta

En los pacientes pediátricos, de las 1.674 articulaciones clínicamente inactivas, 3 articulaciones (0,18%) presentaron sinovitis subclínica mediante PD. En los pacientes adultos, de las 1.033 articulaciones clínicamente inactivas, en 11 (1,06%) se observó sinovitis subclínica mediante PD. De nuevo, se observó sinovitis subclínica por PD en un mayor porcentaje de articulaciones de pacientes adultos que pediátricos. A continuación, se presentan los resultados referentes a la actividad clínico-ecográfica determinada mediante PD en los pacientes pediátricos y adultos.

Tabla 91. Actividad articular detectada mediante exploración física y ecografía power Doppler, en pacientes pediátricos y adultos.

Actividad PD	AIJ Pediátricos			AIJ Adultos		
	Activo exploración física		AIJ Pediátrico	Activo exploración física		AIJ Adulto
	No	Sí		No	Sí	
Grado 0	1.671 (99,82)	29 (80,56)	1.700 (99,42)	1.022 (98,94)	20 (74,07)	1.042 (98,30)
Grado ≥1	3 (0,18)	7 (19,44)	10 (0,58)	11 (1,06)	7 (25,93)	18 (1,70)
Total	1.674 (97,89)	36 (2,11)	1.710 (100)	1.033 (97,45)	27 (2,55)	1.060 (100)

Resultados expresados como número de articulaciones y porcentaje.

En los pacientes con AIJ, pediátricos y adultos, los resultados del análisis de sensibilidad y especificidad de la ecografía PD para detectar la actividad inflamatoria articular son los siguientes:

Pacientes AIJ Pediátricos

- **Sensibilidad** 19,44% (IC 95% [8,19%; 36,02%])
- **Especificidad** 99,82% (IC95% [99,48%; 100%])
- **VPP** 70% (IC 95% [38,60%; 89,65%])
- **VPN** 98,29% (IC 95% [98,00%; 98,54%])

Pacientes AIJ Adultos

- **Sensibilidad** 25,93% (IC95% [11,11%;46,28%])
- **Especificidad** 98,94% (IC95% [98,1%;99,47%])
- **VPP** 38,89% (IC 95% [21,1%; 60,23%])
- **VPN** 98,08% (IC 95% [97,61%; 98,46%])

2.5.2. Características de los pacientes con actividad subclínica

Las 108 articulaciones evaluadas como activas por ecografía y evaluadas como inactivas clínicamente corresponden a 43 pacientes, de los cuales, 19 (44,19%) eran pediátricos y 24 (55,81%) eran adultos. Por lo tanto, el 42% de los pacientes con AIJ de nuestra cohorte presentaron actividad subclínica en por lo menos una articulación. Se observó actividad subclínica en el 29,23% de los pacientes pediátricos y en el 64,86% de los pacientes adultos ($P = 0,0005$). Esto significa que una proporción significativamente superior de pacientes adultos presentó actividad subclínica en por lo menos una articulación. A continuación, se presentan las principales características basales de los pacientes con AIJ en los que se detectó actividad subclínica mediante ecografía en alguna de las visitas del estudio. Los resultados se presentan diferenciando los datos de los pacientes pediátricos, de los datos de los pacientes adultos.

Tabla 92. Características de los pacientes con artritis idiopática juvenil y actividad articular subclínica determinada por ecografía.

	AIJ N=43	AIJ Pediátricos N=19	AIJ adultos N=24
Edad (años)	17,07 ± 7,48	9,81 ± 3,58	22,82 ± 3,78
Mujeres / Hombres	33 / 10	14 / 5	19 / 5
Duración de la AIJ (meses)	12,16 ± 7,50	6,46 ± 3,56	16,68 ± 6,69
Actividad clínica			
▪ Activo	20 (46,5)	9 (47,4)	11 (45,8)
▪ Inactivo	23 (53,5)	10 (52,6)	13 (54,2)
Subgrupo de AIJ			
▪ Oligoarticular	21 (48,84)	12 (63,15)	9 (37,5)
▪ Poliarticular FR+	2 (4,65)	2 (10,53)	0 (0)
▪ Poliarticular FR-	9 (20,93)	2 (10,53)	7 (29,17)
▪ Psoriásica	4 (9,30)	1 (5,26)	3 (12,5)
▪ Artritis relacionada con entesitis	5 (11,63)	0 (0)	5 (20,83)
▪ Indiferenciada	2 (4,65)	2 (10,53)	0 (0)
Curso AIJ			
▪ Oligoarticular	18 (41,86)	12 (63,16)	6 (25)
▪ Poliarticular	25 (58,14)	7 (36,84)	18 (75)
Tratamiento			
▪ Metotrexato	12 (27,91)	9 (47,37)	3 (12,5)
▪ Anti-TNFα	13 (30,23)	3 (15,79)	10 (41,67)
▪ Anti-TNFα + FAMEs	18 (41,86)	7 (36,84)	11 (45,83)
Corticoesteroides	25 (58,14)	12 (63,16)	13 (54,17)

Valores expresados como medias ± desviación estándar y porcentaje. N, número de pacientes. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; FR, factor reumatoide.

Se detectó sinovitis subclínica en 108 (3,99%) de las 2.707 articulaciones clínicamente inactivas. En la cohorte pediátrica, de las 1.674 articulaciones clínicamente inactivas 31 (1,85%) presentaban sinovitis subclínica. En la cohorte de adultos, de las 1.033 articulaciones clínicamente inactivas 77 (7,45%) presentaban sinovitis subclínica. Las 108 articulaciones en las cuales se detectó actividad subclínica correspondían a pacientes cuyo estado de actividad de la AIJ se presenta en la siguiente tabla.

Tabla 93. Estado de la actividad de la artritis idiopática juvenil en pacientes con sinovitis subclínica.

Estado actividad	AIJ N=108	AIJ Pediátricos N=31	AIJ adultos N=77
AIJ inactiva	56 (51,85)	15 (48,39)	41 (53,25)
▪ Remisión	33 (30,55)	11 (35,49)	22 (28,57)
▪ Inactiva	23 (21,30)	4 (12,90)	19 (24,68)
AIJ activa	52 (48,15)	16 (51,61)	36 (46,75)
▪ Mínima enfermedad	21 (19,45)	4 (12,90)	17 (22,08)
▪ Moderada actividad	12 (11,11)	2 (6,45)	10 (12,98)
▪ Alta actividad	19 (17,59)	10 (32,26)	9 (11,69)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje. N, número de determinaciones.

2.5.3. Descripción de las articulaciones con sinovitis subclínica

A continuación, se presenta un análisis descriptivo de las características de las articulaciones en las que se observó la presencia de sinovitis subclínica mediante ecografía.

Puntuación ecográfica

En los pacientes con AIJ se detectaron un total de 108 articulaciones con sinovitis subclínica por EG. En la mayor parte de ellas se observó una hipertrofia sinovial y/o derrame sinovial leves (puntuado como = 1 por escala de grises). En total 19 (17,59%) articulaciones presentaron puntuaciones por EG de 2 o 3. Se trataría de 19 articulaciones con una inflamación moderada-grave, en las cuales la exploración física no fue capaz de detectar dicha inflamación.

Entre los pacientes pediátricos y los adultos, se observó que un mayor porcentaje de articulaciones en los adultos presentó actividad subclínica mediante ecografía con respecto a los niños. Los porcentajes de articulaciones que pertenecían al grado 1 o a los grados 2 y 3 no mostraron diferencias significativas entre niños y adultos ($P = 0,556$). Los resultados de la evaluación del grado de actividad inflamatoria ecográfica, en los pacientes con inflamación subclínica, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 94. Articulaciones con actividad subclínica determinada por ecografía en escala de grises.

Graduación de la sinovitis EG	AIJ	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos
Grado 1	89 (82,41)	24 (77,42)	65 (84,41)
Grado 2	15 (13,89)	5 (16,13)	10 (12,99)
Grado 3	4 (3,70)	2 (6,45)	2 (2,60)
Total	108 (100)	31 (28,70)	77 (71,30)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

Localización articular

En la siguiente tabla se presentan los resultados de la localización de las articulaciones con sinovitis subclínica.

Tabla 95. Articulaciones con actividad subclínica determinada por ecografía.

Articulación	AIJ	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos
Codo	14 (12,96)	1 (3,23)	13 (16,88)
Carpo	24 (22,22)	4 (12,90)	20 (25,97)
2ª MCF	1 (0,93)	0 (0)	1 (1,30)
Rodilla	51 (47,22)	16 (51,61)	35 (45,46)
Tobillo	18 (16,67)	10 (32,26)	8 (10,39)
Total	108 (100)	31 (28,70)	77 (71,30)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

De las 108 articulaciones, 19 fueron evaluadas con grados 2 o 3 mediante EG o mediante señal PD. Estas 19 articulaciones con grados 2 o 3 por EG fueron por orden de frecuencia:

- 8 rodillas (42,11%)
- 4 carpos (21,05%)
- 4 codos (21,05%)
- 3 tobillos (15,79%)

En la siguiente tabla se presenta la población de pacientes a la cual pertenecían estas articulaciones con actividad inflamatoria ecográfica moderada-grave.

Tabla 96. Articulaciones con actividad subclínica determinada mediante ecografía, grados 2 o 3.

Articulación	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos
Codo (N=4)	1 (14,28)	3 (25)
Carpo (N=4)	0 (0)	4 (33,33)
Rodilla (N=8)	3 (42,86)	5 (41,67)
Tobillo (N=3)	3 (42,86)	0 (0)
Total (N=19)	7 (36,84)	12 (63,16)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

Cabe destacar que, las 4 articulaciones con grado 3 por ecografía en escala de grises, que no fueron detectadas clínicamente, eran dos rodillas y dos tobillos. Los dos tobillos pertenecían a pacientes pediátricos, y las dos rodillas a pacientes adultos.

Sinovitis grado 1 por ecografía

El valor clínico de la sinovitis grado 1 en los pacientes con AIJ no está realmente determinado, por lo que hemos considerado de interés analizar aquellas articulaciones que presentaban una sinovitis grado 1 tanto en la escala de grises como en power Doppler. En las dos tablas siguientes, se presentan los resultados correspondientes a la valoración clínica de las articulaciones que se evaluaron como grado 1 mediante ecografía en escala de grises (Tabla 97) y power Doppler (Tabla 98).

En los pacientes con AIJ se exploraron 2.770 articulaciones y de éstas 119 (4,30%) fueron evaluadas como un grado 1 según EG. De éstas, 43 corresponden a los pacientes pediátricos y 76 a los pacientes adultos. En general, la mayor parte de las articulaciones evaluadas por EG como grado 1 correspondían a articulaciones clínicamente inactivas. Esta proporción fue significativamente superior en los pacientes adultos con respecto a los pediátricos ($P = 0,000$).

Tabla 97. Articulaciones con actividad por escala de grises grado, 1 distribuidas en función de la edad y el estado de actividad.

	N articulaciones grado 1	Evaluación clínica	
		Activas	Inactivas
AIJ Pediátricos	43	19 (44,19)	24 (55,81)
AIJ Adultos	76	11 (14,47)	65 (85,53)
Cohorte AIJ	119	30 (25,21)	89 (74,79)

Valores expresados como número de articulaciones y porcentaje.

En los pacientes con AIJ se exploraron 2.770 articulaciones y de éstas 23 (0,83%) fueron evaluadas como un grado 1 según PD. De éstas, 9 corresponden a los pacientes pediátricos y 14 a los pacientes adultos. En la siguiente tabla se presentan los resultados correspondientes a la evaluación clínica de las articulaciones que se evaluaron como grado 1 mediante ecografía PD, que no presentaron diferencias significativas en función del grupo de edad ($P = 0,214$).

Tabla 98. Articulaciones con actividad por power Doppler grado, 1 distribuidas en función de la edad y el estado de actividad.

	N articulaciones grado 1	Evaluación clínica	
		Activas	Inactivas
AIJ Pediátricos	9	6 (66,67)	3 (33,33)
AIJ Adultos	14	5 (35,71)	9 (64,29)
Cohorte AIJ	23	11 (47,83)	12 (52,17)

Resultados expresados como número de articulaciones y porcentaje.

3. ANÁLISIS DEL INMUNOFENOTIPO CELULAR

El estudio avanzado del inmunofenotipo linfocitario se realizó, tal y como se ha comentado previamente, mediante citometría de flujo utilizando una adaptación del protocolo HIPC. Para realizar esta fase del estudio se incluyeron pacientes con AIJ (pediátricos y adultos) que recibían tratamiento tanto con anti-TNF α como con MTX y a todos los controles niños y adultos.

Las muestras sanguíneas se extrajeron en la primera visita (S0) del estudio una vez el paciente había aceptado en participar. El mismo día de la extracción se obtuvieron parte de los datos clínicos (p.ej. valoración de la actividad y de la capacidad funcional) y se llevó a cabo la analítica de rutina. El proceso de obtención de los datos está definido en el apartado de Material y Métodos.

Este estudio se realizó con el objetivo de estudiar las características del inmunofenotipo celular de los pacientes con AIJ y de identificar posibles diferencias existentes entre los pacientes y los sujetos sanos y entre los niños y los adultos con AIJ. Para ello se analizaron los datos correspondientes al número absoluto y a los porcentajes de cada una de las subpoblaciones celulares. Se compararon los datos de los niños y adultos sanos con los pacientes con AIJ en edad pediátrica y adulta. A su vez se evaluó si existían diferencias en el inmunofenotipo en función del tratamiento inmunomodulador y la edad de los pacientes.

3.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS EN ESTUDIO

A continuación, se describen las características de los sujetos control y las características demográficas, clínicas y relacionadas con el tratamiento recibido en los pacientes con AIJ incluidos en el estudio del inmunofenotipo.

3.1.1. Características demográficas

Las características demográficas de los 59 sujetos control, 29 niños sanos y 30 adultos sanos, se han descrito en la primera parte del análisis del presente proyecto de investigación (pág. 157).

Un total de 100 pacientes con AIJ participaron en esta parte del estudio. Las características demográficas de los pacientes con AIJ en los que se les realizó el estudio del inmunofenotipo son las siguientes:

- Pacientes con AIJ pediátricos: se incluyeron 68 niños con una media de edad de $10,3 \pm 4,1$ años (rango de 2-16).
- Pacientes con AIJ adultos: se incluyeron 32 adultos con una media de edad de $22,9 \pm 3,78$ años (rango de 17-32).

De la población total de pacientes con AIJ, 6 pacientes no pudieron ser incluidos en el estudio de inmunofenotipo. Los principales motivos fueron problemas técnicos, la coagulación de las muestras extraídas y un paciente se descartó por presentar un inmunofenotipo atípico, con valores extremos en muchas de las subpoblaciones.

3.1.2. Características inmunológicas y clínico-biológicas

En cuanto a las características inmunológicas, 72 pacientes (72%) eran ANA positivo (18 adultos y 54 niños) y 22 pacientes (22%) *HLA-B27* positivo (13 adultos y 11 niños). No hubo diferencias en las características inmunológicas entre ambos grupos.

De los 100 pacientes, 20 (20%) habían tenido uveítis crónica anterior o uveítis aguda anterior durante la evolución. De estos 20, 15 eran niños (75%) y 5 adultos (25%), no habiendo diferencias significativas en el número de pacientes con uveítis entre ambos grupos ($P = 0,830$).

En cuanto al curso de la AIJ, independientemente del subtipo en el que estuvieran clasificados, 61 pacientes (61%) siguieron un curso oligoarticular y 39 pacientes (39%) siguieron un curso poliarticular. En la siguiente tabla se resumen las características clínicas y biológicas principales de cada uno de los grupos de pacientes.

Tabla 99. Características de los pacientes con artritis idiopática juvenil incluidos en el estudio de inmunofenotipo.

	AIJ Pediátricos N=68	AIJ Adultos N=32	P valor
Edad (años)	10,3 ± 4,1	22,9 ± 3,8	0,000
Tiempo de evolución (meses)	5,6 ± 3,7	14,9 ± 6,6	0,000
Mujeres/Varones	49 / 19	20 / 12	0,335
Pacientes inactivos/activos*	45 / 23	20 / 12	0,876
Pacientes con 0 articulaciones activas	54 (79,41)	24 (75)	0,619
VSG (mm/h)	20,4 ± 15,8	17,34 ± 15,1	0,247
Curso de la AIJ			
▪ Oligoarticular	47 (69,1)	14 (43,8)	0,004
▪ Poliarticular	21 (30,9)	18 (56,3)	
Subgrupo de AIJ			
▪ Oligoarticular	45 (66,2)	11 (34,4)	0,003
▪ Poliarticular FR-	6 (8,8)	6 (18,8)	0,154
▪ Poliarticular FR+	2 (2,9)	1 (3,1)	0,960
▪ Psoriásica	4 (5,9)	4 (12,5)	0,255
▪ Artritis relacionada con entesitis	9 (13,3)	9 (28,1)	0,071
▪ Indiferenciada	2 (2,9)	1 (3,1)	0,960

Valores expresados como medias ± desviación estándar o como número de pacientes y porcentaje. FR, Factor Reumatoide; VSG, velocidad de sedimentación globular.

3.1.3. Tratamiento

Los 100 pacientes con AIJ incluidos en el estudio de inmunofenotipo recibían tratamiento farmacológico inmunosupresor. Recibían MTX en monoterapia 32 pacientes, y tratamiento biológico con terapias anti-TNF α 68 pacientes. Los fármacos anti-TNF α fueron el Etanercept, el Adalimumab y el Infliximab. Los pacientes en tratamiento con terapias anti-TNF α podían recibir también tratamiento inmunosupresor con FAMEs. Las principales diferencias en el tratamiento entre los pacientes pediátricos y adultos con AIJ se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 100. Tratamientos de los pacientes con artritis idiopática juvenil incluidos en el estudio de inmunofenotipo.

	AIJ Pediátricos N=68	AIJ Adultos N=32	P valor
Tratamiento concomitante			
▪ AINEs	7 (10,3)	5 (15,6)	0,444
▪ Corticoesteroides	36 (52,9)	12 (37,5)	0,115
Tratamiento de base			
▪ MTX en monoterapia	27 (39,7)	4 (12,5)	0,006
▪ Anti-TNF α	41 (60,3)	28 (87,5)	
Tratamiento con anti-TNFα			
▪ Monoterapia	8 (19,5)	14 (50)	0,008
▪ Combinado con FAMEs	33 (80,5)	14 (50)	
Fármacos anti-TNFα			
▪ Etanercept	25 (61)	16 (57,1)	0,618
▪ Adalimumab	15 (36,6)	11 (39,3)	0,634
▪ Infliximab	1 (2,4)	1 (3,6)	0,783

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje. AINEs, anti-inflamatorios no esteroideos; FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, metotrexato.

De los 69 pacientes en tratamiento con terapias anti-TNF α , 47 (68,1%) recibían tratamiento concomitante con FAMEs. El MTX fue el FAME usado con mayor frecuencia, en 31 pacientes (66%). Los 16 pacientes restantes recibían como tratamiento combinado con el anti-TNF α otros FAMEs. La leflunomida fue el segundo FAME más utilizado, en un total de 10 (21,3%) pacientes. El micofenolato en 3 (6,4%) pacientes, la azatioprina en otros 3 (6,4%) y en 2 (4,3%) la sulfasalazina. Tres de los pacientes (dos niños y un adulto), recibían tratamiento combinado con anti-TNF α y 2 FAMEs. En dos de los casos la combinación de FAMEs fue la LFN y el MTX y en el tercero la LFN y el tacrólimus (TCL).

3.2. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD EN EL INMUNOFENOTIPO

Se realizó el estudio del inmunofenotipo de todos los pacientes descritos en el apartado anterior. Se comparó el inmunofenotipo de los participantes sanos pediátricos con el de los participantes sanos adultos, objetivándose diferencias estadísticamente significativas en poblaciones linfocitarias del compartimento de células T, en los monocitos y en el compartimento de células B. Muchas de estas diferencias también se observaron entre niños y adultos con AIJ. Si las diferencias observadas en una

determinada población linfocitaria entre niños y adultos control eran similares a las observadas entre niños y adultos con AIJ, se consideró que eran debidas a la edad de los sujetos. A continuación, se presentan las diferencias observadas en el inmunofenotipo linfocitario de los sujetos pediátricos y adultos secundarias a la edad de los pacientes.

Poblaciones linfocitarias de células T

Las siguientes subpoblaciones linfocitarias de células T presentaron menores porcentajes y/o menor número de células en los sujetos pediátricos con respecto a los sujetos adultos. Las diferencias presentadas en la siguiente tabla en las subpoblaciones de células T entre niños y adultos las consideramos como diferencias en el inmunofenotipo propias de la edad.

Tabla 101. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células T.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
CD8+CD25+ (%)	Control	3,05 ± 1,80	7,95 ± 4,01	0,0002
	AIJ	6,11 ± 5,82	7,84 ± 3,75	0,1269
CD4+ (%)	Control	36,04 ± 5,22	43,53 ± 8,18	0,0003
	AIJ	42,39 ± 7,36	44,90 ± 6,64	0,1551
CD4+ (10 ³ /μL)	Control	1,099 ± 0,59	1,075 ± 0,37	0,0012
	AIJ	1,381 ± 0,54	1,151 ± 0,35	0,0483
CD4+ efectoras de memoria (%)	Control	27,64 ± 9,27	30,87 ± 8,04	0,1536
	AIJ	24,27 ± 9,16	31,49 ± 8,80	0,0003
CD4+ efectoras de memoria (10 ³ /μL)	Control	0,267 ± 0,08	0,319 ± 0,11	0,0711
	AIJ	0,311 ± 0,13	0,358 ± 0,13	0,0499
CD4+ centrales de memoria (%)	Control	13,87 ± 4,56	21,92 ± 7,91	0,0000
	AIJ	16,05 ± 4,74	20,38 ± 6,24	0,0008
CD4+ centrales de memoria (10 ³ /μL)	Control	0,144 ± 0,06	0,230 ± 0,09	0,0000
	AIJ	0,218 ± 0,10	0,223 ± 0,07	0,2524
CD4+CD25+ (%)	Control	25,14 ± 8,11	43,47 ± 8,37	0,0000

	AIJ	29,54 ± 8,58	42,80 ± 11,37	0,0000
CD4+CD25+ (10³/μL)	Control	0,258 ± 0,09	0,443 ± 0,15	0,000
	AIJ	0,401 ± 0,18	0,482 ± 0,20	0,0136
Células T reguladoras de memoria (%)	Control	41,11 ± 14,54	45,13 ± 10,35	0,262
	AIJ	38,57 ± 11,48	49,46 ± 14,39	0,0004
Células T reguladoras de memoria (10³/μL)	Control	0,032 ± 0,01	0,042 ± 0,02	0,0656
	AIJ	0,055 ± 0,04	0,047 ± 0,02	0,8564

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

En las siguientes poblaciones linfocitarias de células T se observaron mayores porcentajes y/o mayor número de células en los sujetos pediátricos con respecto a los adultos. Estos valores más altos observados en los niños, fueron independientes de que los pacientes pertenecieran al grupo de controles sanos o al grupo de pacientes con AIJ.

Tabla 102. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células T.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
CD3+ doble negativas (%)	Control	5,33 ± 3,08	3,77 ± 3,71	0,0065
	AIJ	5,69 ± 2,69	3,48 ± 1,69	0,0000
CD3+ doble negativas (10³/μL)	Control	0,161 ± 0,13	0,099 ± 0,12	0,0177
	AIJ	0,189 ± 0,12	0,093 ± 0,06	0,0000
CD4+ naïve (%)	Control	46,10 ± 11,99	38,87 ± 9,09	0,0201
	AIJ	50,27 ± 12,20	39,60 ± 10,67	0,0000
CD4+ naïve (10³/μL)	Control	0,557 ± 0,47	0,44 ± 0,23	0,7438
	AIJ	0,719 ± 0,40	0,46 ± 0,20	0,0008

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

En las siguientes subpoblaciones linfocitarias de células T *helper* se observaron menores porcentajes y/o un menor número de células en los sujetos pediátricos que en los adultos.

Tabla 103. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células T *helper*.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
CD4+ Th1 (%)	Control	18,40 ± 6,27	23,01 ± 5,81	0,0059
	AIJ	15,69 ± 4,61	21,18 ± 6,65	0,0000
CD4+ Th1 (10 ³ /μL)	Control	0,183 ± 0,06	0,239 ± 0,9	0,0287
	AIJ	0,201 ± 0,07	0,223 ± 0,09	0,6726
CD4+ Th1-Th17 (%)	Control	6,38 ± 3,89	10,68 ± 4,08	0,0001
	AIJ	7,85 ± 4,44	12,27 ± 5,33	0,0000
CD4+ Th1-Th17 (10 ³ /μL)	Control	0,062 ± 0,03	0,106 ± 0,04	0,0000
	AIJ	0,097 ± 0,05	0,132 ± 0,07	0,0133
CD4+ Th17 (%)	Control	6,11 ± 2,57	8,50 ± 3,15	0,0041
	AIJ	6,93 ± 3,25	9,57 ± 3,87	0,0002
CD4+ Th17 (10 ³ /μL)	Control	0,060 ± 0,03	0,085 ± 0,03	0,0021
	AIJ	0,089 ± 0,05	0,101 ± 0,05	0,1138

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

En las siguientes subpoblaciones linfocitarias de células T *helper* se observaron mayores porcentajes y/o mayor número de células en los sujetos pediátricos con respecto a los adultos, independientemente de que los pacientes pertenecieran al grupo de controles sanos o de pacientes con AIJ.

Tabla 104. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células T *helper*.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
CD4+ Th1 CD38+ (%)	Control	30,66 ± 8,18	25,63 ± 9,59	0,0228
	AIJ	39,19 ± 11,36	25,89 ± 10,44	0,0000
CD4+ Th2 (%)	Control	69,11 ± 10,18	57,79 ± 8,89	0,0000
	AIJ	69,52 ± 9,92	56,97 ± 11,02	0,0000
CD4+ Th2 (10 ³ /μL)	Control	0,796 ± 0,57	0,627 ± 0,30	0,4271
	AIJ	0,971 ± 0,47	0,626 ± 0,29	0,0001
CD4+ Th2 CD38+ (%)	Control	84,23 ± 3,43	77,46 ± 9,26	0,0016
	AIJ	86,10 ± 7,26	73,44 ± 10,41	0,0000
CD4+Th17 activas (%)	Control	3,38 ± 2,00	1,96 ± 0,88	0,0002
	AIJ	2,88 ± 2,48	2,31 ± 1,44	0,0883
CD4+ Th17 CD38+ (%)	Control	22,25 ± 8,35	14,41 ± 12,02	0,0011
	AIJ	25,54 ± 11,56	15,03 ± 6,52	0,0000

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

No se encontraron diferencias significativas que pudieran ser debidas a la diferencia de la edad entre los sujetos pediátricos y los sujetos adultos en las siguientes subpoblaciones de linfocitos T: células T totales, índice CD4+/CD8+, células CD8+ totales, CD8+ efectoras, CD8+ *naïve*, CD8+ efectoras de memoria, CD8+ de memoria central, células T doble positivas, células CD4+ efectoras, células Th1 activadas, células Th1 HLA-DR+, células Th2 activadas, células Th17 HLA-DR+, Th17 CD38+, células CD25+CD127- y células T reguladoras HLA-DR+.

Poblaciones de células dendríticas, monocitos y NK

En los sujetos pediátricos se observó un mayor número y un mayor porcentaje de monocitos intermedios que en los adultos.

Tabla 105. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: monocitos.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
Monocitos intermedios (%)	Control	6,05 ± 4,21	2,40 ± 1,30	0,0000
	AIJ	5,98 ± 4,97	4,31 ± 2,9	0,2637
Monocitos intermedios (10 ³ /μL)	Control	0,037 ± 0,03	0,013 ± 0,01	0,000
	AIJ	0,053 ± 0,07	0,027 ± 0,16	0,0834

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre niños y adultos, ni tampoco se observaron diferencias que pudieran indicar una tendencia diferencial debida a la edad de los pacientes en las siguientes poblaciones celulares: NK totales, NK CD56^{bright}, NK CD56^{dim}, dendríticas totales, plasmocitoides, mieloides, monocitos CD16+ y monocitos CD16-.

Poblaciones linfocitarias de células B

En las siguientes poblaciones linfocitarias de células B se observaron mayores porcentajes y/o un mayor número de células en sujetos pediátricos con respecto a los adultos.

Tabla 106. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células B.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
Células B totales (%)	Control	15,70 ± 6,09	8,51 ± 2,98	0,0004
	AIJ	13,14 ± 4,47	11,02 ± 4,28	0,0311
Células B totales (10 ³ /μL)	Control	0,477 ± 0,34	0,2086 ± 0,09	0,0002
	AIJ	0,417 ± 0,22	0,2937 ± 0,17	0,0022
LB naïve (%)	Control	76,62 ± 9,65	60,57 ± 12,66	0,0000
	AIJ	76,30 ± 9,98	65,92 ± 12,21	0,0000
LB naïve (10 ³ /μL)	Control	0,3619 ± 0,25	0,1304 ± 0,07	0,0000
	AIJ	0,3215 ± 0,18	0,1964 ± 0,13	0,0000
LB transicionales (%)	Control	12,72 ± 5,12	5,37 ± 3,17	0,0000
	AIJ	8,51 ± 4,98	5,03 ± 3,80	0,0007

LB transicionales ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,0509 \pm 0,05	0,0066 \pm 0,00	0,0000
	AIJ	0,0294 \pm 0,03	0,0100 \pm 0,01	0,0000
IgD-IgM-CD27-CD21+ (%)	Control	5,63 \pm 3,05	4,87 \pm 2,12	0,2342
	AIJ	6,37 \pm 2,83	4,00 \pm 1,90	0,0000
IgD-IgM+ totales ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,0143 \pm 0,01	0,0017 \pm 0,00	0,0001
	AIJ	0,0102 \pm 0,01	0,0091 \pm 0,01	0,3186

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

En las siguientes poblaciones linfocitarias de células B IgD+IgM+ se observaron mayores porcentajes y/o un mayor número de células en sujetos pediátricos con respecto a los adultos.

Tabla 107. Inmunofenotipo controles y AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células B IgD+IgM+.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
IgD+IgM+ totales (%)	Control	82,66 \pm 9,65	75,78 \pm 8,21	0,0018
	AIJ	81,63 \pm 9,38	74,69 \pm 10,52	0,0004
IgD+IgM+ totales ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,3878 \pm 0,27	0,1606 \pm 0,08	0,0000
	AIJ	0,3433 \pm 0,19	0,2172 \pm 0,14	0,0002
IgD+IgM+ preformadoras del centro germinal (%)	Control	92,24 \pm 3,30	81,29 \pm 10,71	0,0006
	AIJ	89,81 \pm 7,57	86,29 \pm 7,06	0,0041
IgD+IgM+ preformadoras del centro germinal ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,3569 \pm 0,25	0,1338 \pm 0,07	0,0000
	AIJ	0,3113 \pm 0,17	0,1901 \pm 0,12	0,0001
IgD+IgM+ naïve ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,3054 \pm 0,21	0,1232 \pm 0,06	0,0000
	AIJ	0,2748 \pm 0,15	0,18 \pm 0,12	0,0005
IgD+IgM+ naïve CD21+ ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,2939 \pm 0,20	0,1208 \pm 0,06	0,0001
	AIJ	0,2645 \pm 0,15	0,1726 \pm 0,12	0,0006
IgD+IgM+ naïve CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	Control	0,0116 \pm 0,01	0,0025 \pm 0,00	0,0003
	AIJ	0,0104 \pm 0,01	0,0064 \pm 0,00	0,0714

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

Las siguientes poblaciones linfocitarias de células B presentaron mayores porcentajes y/o mayores números de células en los adultos con respecto a los niños, debido a la edad.

Tabla 108. Inmunofenotipo en sujetos control y pacientes con AIJ: subpoblaciones linfocitarias de células B.

Poblaciones linfocitarias		Pediátricos	Adultos	P valor
LB pre-switch de memoria (%)	Control	8,06 ± 3,64	16,77 ± 7,74	0,0000
	AIJ	8,73 ± 4,12	12,49 ± 5,97	0,0015
LB pre-switch de memoria (10 ³ /μL)	Control	0,040 ± 0,04	0,033 ± 0,02	0,6572
	AIJ	0,037 ± 0,03	0,036 ± 5,97	0,7275
LB switch de memoria (%)	Control	8,91 ± 5,17	15,30 ± 6,33	0,0000
	AIJ	9,05 ± 5,02	14,61 ± 6,75	0,0000
LB IgD+IgM+ naïve (%)	Control	86,14 ± 5,39	92,55 ± 4,80	0,0003
	AIJ	89,36 ± 6,86	94,21 ± 3,79	0,0005
LB IgD-IgM- (%)	Control	13,16 ± 6,79	20,16 ± 7,58	0,0004
	AIJ	14,79 ± 8,62	20,44 ± 9,44	0,0008

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N=59 individuos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos).

En las siguientes subpoblaciones celulares de estirpe B no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, ni tampoco datos que pudieran indicar una tendencia diferencial, en las subpoblaciones linfocitarias de los sujetos pediátricos y adultos: células B de zona marginal, células B *exhausted*, células B *switch* de memoria, índice células plasmáticas/plasmablastos, plasmablastos, células IgD+IgM- totales, células IgD+IgM+ de memoria, células IgD+IgM+ transicionales, células IgD-IgM- CD27+CD21-, células IgD-IgM- CD27+CD21+ y células IgD-IgM- CD27-CD21-.

3.3. ANÁLISIS DEL INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON AIJ

Se realizó un estudio comparativo del inmunofenotipo linfocitario entre el grupo pediátrico de pacientes con AIJ y el grupo de controles pediátricos.

Poblaciones linfocitarias de células T

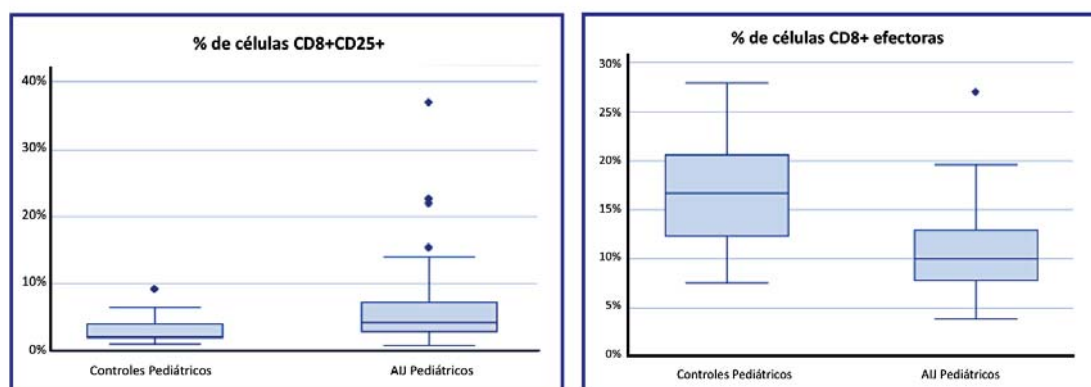
Se observaron diferencias estadísticamente significativas en dos de los subtipos de células CD8+, en las células CD8+ efectoras y en las células CD8+CD25+. Los niños con AIJ presentaron un porcentaje significativamente inferior de linfocitos CD8+ efectoras con respecto a los niños control. El número de células también fue inferior, aunque no fue un descenso estadísticamente significativo. Se observó un porcentaje significativamente superior de linfocitos CD8+CD25+ en los niños con AIJ respecto a los niños control. El número también fue superior, aunque esta tendencia no fue estadísticamente significativa.

Tabla 109. Inmunofenotipo en niños sanos y con artritis idiopática juvenil: células CD8+.

Poblaciones celulares	Controles Pediátricos N=29	AIJ Pediátricos N=68	P valor
CD8+ efectoras (%)	16,92 ± 5,71	10,66 ± 4,43	0,0000
CD8+ efectoras ($10^3/\mu\text{L}$)	0,13 ± 0,09	0,09 ± 0,06	0,0338
CD8+CD25+ (%)	3,05 ± 1,8	6,11 ± 5,81	0,0004
CD8+CD25+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,08	0,0010

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 33. Células CD8+CD25+ y células CD8+ efectoras en niños sanos y con artritis idiopática juvenil.



En los linfocitos CD4+ se observaron diferencias significativas en el total de células CD4+, y en las subpoblaciones de células CD4+ de memoria central y de células CD4+CD25+. Se observó un porcentaje significativamente superior de linfocitos CD4+ en los niños con AIJ respecto a los niños control. El número de estas células CD4+ también fue superior, aunque esta tendencia no fue estadísticamente

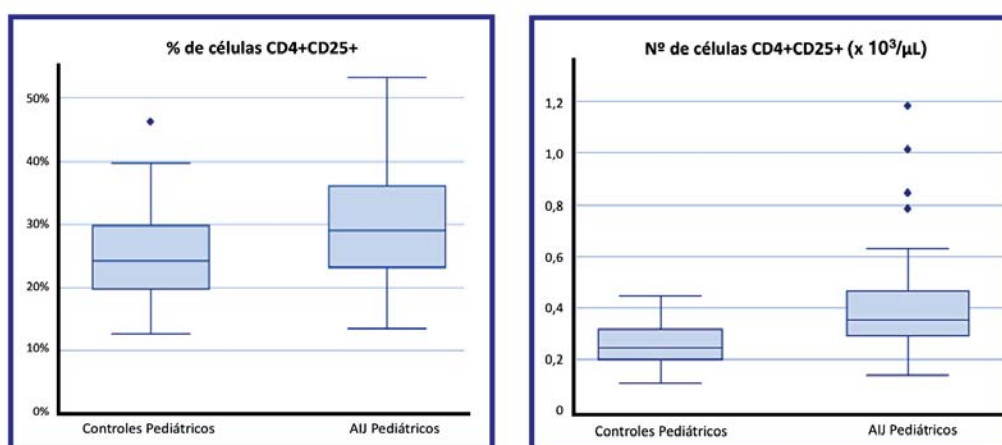
significativa. En los niños con AIJ se observó un número significativamente superior de células CD4+ de memoria central y de células CD4+CD25+ respecto a los niños control. Los porcentajes de ambas células también variaron en la misma dirección, aunque de forma no significativa.

Tabla 110. Inmunofenotipo en niños sanos y con artritis idiopática juvenil: células CD4+.

Poblaciones celulares	Controles Pediátricos N=29	AIJ Pediátricos N=68	P valor
CD4+ (%)	36,04 ± 5,22	42,39 ± 7,36	0,0000
CD4+ ($10^3/\mu\text{L}$)	1,10 ± 0,59	1,38 ± 0,54	0,0011
CD4+ de memoria central (%)	13,87 ± 4,56	16,05 ± 4,74	0,0276
CD4+ de memoria central ($10^3/\mu\text{L}$)	0,14 ± 0,06	0,22 ± 0,10	0,0001
CD4+CD25+ (%)	25,14 ± 8,11	29,55 ± 8,58	0,0175
CD4+CD25+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,26 ± 0,09	0,40 ± 0,18	0,0000

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 34. Células CD4+CD25+ en niños sanos y en niños con artritis idiopática juvenil.

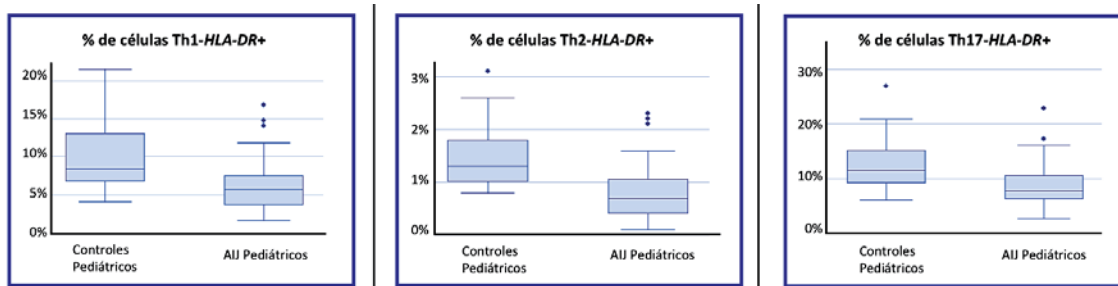


En cuanto al número y porcentaje de células T *helper* no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes pediátricos. Se observó una tendencia no significativa a presentar un mayor número de células Th17 y de células Th1-Th17 (ex-Th1) en los pacientes con AIJ. Cabe destacar, que los niños con AIJ presentaron una menor expresión de HLA-DR y una mayor expresión de CD38+ en las subpoblaciones de células T *helper* Th1, Th2 y Th17. La menor expresión de HLA-DR fue significativa. La mayor expresión de CD38+ en células Th1 también fue significativa.

Tabla 111. Inmunofenotipo en niños sanos y con artritis idiopática juvenil: células CD4+ T helper.

Poblaciones celulares	Controles Pediátricos N=29	AIJ Pediátricos N=68	P valor
CD4+ Th1-Th17 ($10^3/\mu\text{L}$)	0,06 ± 0,03	0,10 ± 0,05	0,0016
CD4+ Th17 ($10^3/\mu\text{L}$)	0,06 ± 0,03	0,09 ± 0,05	0,0005
CD4+ Th1 HLA-DR+ (%)	10,49 ± 5,02	6,14 ± 3,13	0,0000
CD4+ Th2 HLA-DR+ (%)	1,48 ± 0,64	0,80 ± 0,50	0,0000
CD4+ Th17 HLA-DR+ (%)	12,60 ± 4,95	8,47 ± 3,81	0,0001
CD4+ Th1 CD38+ (%)	30,66 ± 8,18	39,18 ± 11,36	0,0004
CD4+ Th2 CD38+ (%)	84,23 ± 3,43	86,10 ± 7,26	0,0129
CD4+ Th17 CD38+ (%)	22,25 ± 8,35	25,54 ± 11,56	0,1709

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 35. Células T helper HLA-DR+ (Th1-HLA-DR+, Th2-HLA-DR+, Th17-HLA-DR+) en niños sanos y en niños con artritis idiopática juvenil.

Las células T reguladoras no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre la población pediátrica del grupo control y del grupo con AIJ. Se observaron algunas diferencias no significativas que, por ir en concordancia con lo expuesto anteriormente, se explican a continuación. En los pacientes pediátricos con AIJ se observó una tendencia a presentar un mayor número de células CD4+ T reguladoras de memoria ($0,06 \pm 0,04$ vs $0,03 \pm 0,01$, $P = 0,0034$) y un mayor número de células T reguladoras totales ($0,15 \pm 0,11$ vs $0,09 \pm 0,06$, $P = 0,0009$) que en los controles con AIJ. Un menor número de células T reguladoras expresaban HLA-DR+ en los pacientes con AIJ aunque no fue una diferencia significativa.

En las siguientes subpoblaciones de células T no se encontraron diferencias entre los sujetos pediátricos sanos y los pacientes pediátricos con AIJ: células T totales, índice CD4+/CD8+, células CD8+ totales, CD8+ *naïve*, CD8+ efectoras de memoria, CD8+ de memoria central, células T doble negativas, células T doble positivas, CD4+ efectoras, CD4+ *naïve*, CD4+ efectoras de memoria, células Th1 totales, Th1 activadas, células Th2 totales, Th2 activadas y células Th17 activadas.

Poblaciones de células dendríticas, monocitos y NK

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ni tampoco que pudieran indicar una tendencia diferencial, entre niños control y niños con AIJ en las siguientes subpoblaciones de monocitos, Natural Killers y células dendríticas: NK totales, NK CD56^{bright}, NK CD56^{dim}, dendríticas totales, plasmocitoides, mieloides, monocitos CD16+, monocitos intermedios y monocitos CD16-.

Poblaciones linfocitarias en células B

En las poblaciones celulares de estirpe B no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, ni tampoco diferencias que pudieran indicar una tendencia diferencial entre niños control y niños con AIJ. Estas son las subpoblaciones de células B en las que no se observaron diferencias: células B totales, células B *naïve*, células B trasicionales, células B pre-*switch* memoria, células B de zona marginal, células B *exhausted*, células B *switch* de memoria, índice células plasmáticas/plasmablastos, plasmablastos, células IgD+IgM- totales, células IgD+IgM+ totales, células IgD+IgM+ de memoria, células IgD+IgM+ pre-centro germinal, células IgD+IgM+ transicionales, células IgD+IgM+ *naïve*, células IgD+IgM+ *naïve* CD21+, células IgD+IgM+ *naïve* CD21-, células IgD-IgM- totales, células IgD-IgM- CD27+CD21-, células IgD-IgM- CD27+CD21+, células IgD-IgM- CD27-CD21-, células IgD-IgM- CD27-CD21+ y células IgD-IgM+.

3.4. ANÁLISIS DEL INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES ADULTOS CON AIJ

Se realizó un estudio comparativo del inmunofenotipo linfocitario entre el grupo de adultos con AIJ y el grupo de adultos control.

Poblaciones linfocitarias en células T

En las poblaciones celulares de estirpe T se identificaron escasas diferencias estadísticamente significativas entre los adultos control y adultos con AIJ. Se observó un número significativamente

superior de células CD3+doble positivas en los pacientes con AIJ con respecto a los controles adultos. El porcentaje de estas células también fue superior, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa.

Tabla 112. Inmunofenotipo en adultos control y con artritis idiopática juvenil: células CD3+.

Poblaciones celulares	Controles Adultos N=30	AIJ Adultos N=32	P valor
CD3+ doble positivas (%)	0,25 ± 0,26	0,65 ± 0,98	0,0006
CD3+ doble positivas (10 ³ /μL)	0,0058 ± 0,01	0,0153 ± 0,02	0,0002

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

En las siguientes subpoblaciones de células T no se encontraron diferencias significativas entre los sujetos adultos sanos y los pacientes adultos con AIJ: células T totales, índice CD4+/CD8+, células CD8+ totales, CD8+ efectoras, CD8+ *naïve*, CD8+ efectoras de memoria, CD8+ de memoria central, CD8+CD25+, células T doble negativas, células CD4+ totales, CD4+ efectoras, CD4+ *naïve*, CD4+ efectoras de memoria, CD4+ de memoria central, CD4+CD25+, células T *helper*: células Th1, Th1 activadas, Th1 HLA-DR+, Th1 CD38+, células Th1-Th17, células Th2, Th2 activadas, Th2 HLA-DR+, Th2 CD38+, células Th17, Th17 activadas, Th17 HLA-DR+, Th17 CD38+, células T reguladoras, células T reguladoras de memoria, células T reguladoras HLA-DR+.

Poblaciones de células dendríticas, monocitos y NK

En las poblaciones celulares de monocitos, NK y células dendríticas se observaron diferencias estadísticamente significativas en los monocitos intermedios. Los adultos con AIJ presentaron un mayor porcentaje y número de monocitos intermedios que los adultos control.

Tabla 113. Inmunofenotipo en adultos control y con artritis idiopática juvenil: células monocitos.

Poblaciones celulares	Controles Adultos N=30	AIJ Adultos N=32	P valor
Monocitos intermedios (%)	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,0003
Monocitos intermedios (10 ³ /μL)	2,40 ± 1,30	4,31 ± 2,29	0,0002

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de pacientes adultos en las siguientes subpoblaciones celulares: NK totales, NK CD56^{bright}, NK CD56^{dim}, dendríticas totales, plasmocitoides, mieloides, monocitos CD16+ y monocitos CD16-.

Poblaciones linfocitarias en células B

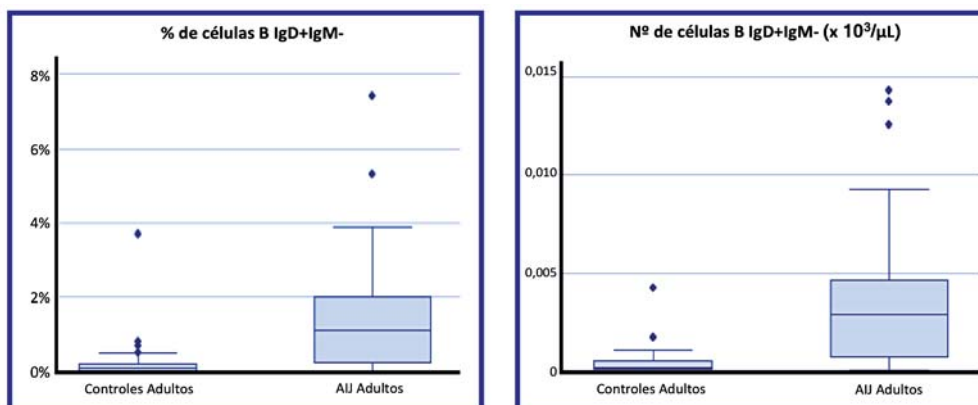
En las poblaciones celulares de estirpe B se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los adultos control y con AIJ en las subpoblaciones linfocitarias de IgD+IgM- totales, en las IgD+IgM+ *naïve* CD21-, y en las subpoblaciones IgD-IgM-CD27+CD21+, IgD-IgM-CD27+CD21- y en la IgD-IgM-CD27-CD21-. En los pacientes con AIJ adultos se observó un aumento significativo tanto en el porcentaje como en el número total de células IgD+IgM- con respecto a los adultos control.

Tabla 114. Inmunofenotipo en adultos control y con artritis idiopática juvenil: células B IgD+IgM-.

Poblaciones celulares	Controles Adultos N=30	AIJ Adultos N=32	P valor
IgD+IgM- (%)	0,27 ± 0,69	1,43 ± 1,62	0,0000
IgD+IgM- (10 ³ /μL)	0,0004 ± 0,001	0,0037 ± 0,004	0,0000

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 36. Células B IgD+IgM- en adultos control y en adultos con artritis idiopática juvenil.

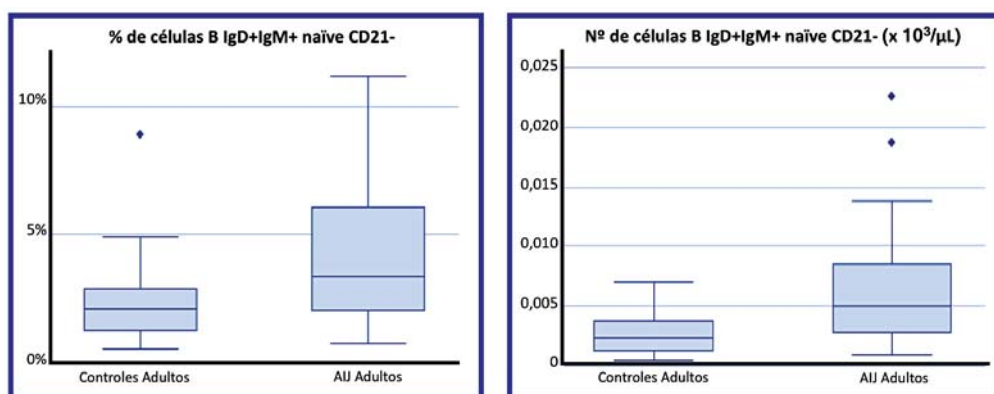


En los pacientes con AIJ adultos se observó un aumento significativo en el número de células IgD+IgM- *naïve* CD21- con respecto a los adultos control. El porcentaje de estas células también fue superior en los adultos con AIJ aunque de forma no significativa.

Tabla 115. Inmunofenotipo en adultos control y con artritis idiopática juvenil: células B IgD+IgM+.

Poblaciones celulares	Controles Adultos N=30	AIJ Adultos N=32	P valor
IgD+IgM+ <i>naïve</i> CD21- (%)	232 ± 1,69	4,09 ± 2,70	0,0036
IgD+IgM+ <i>naïve</i> CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,0025 ± 0,002	0,0064 ± 0,005	0,0000

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

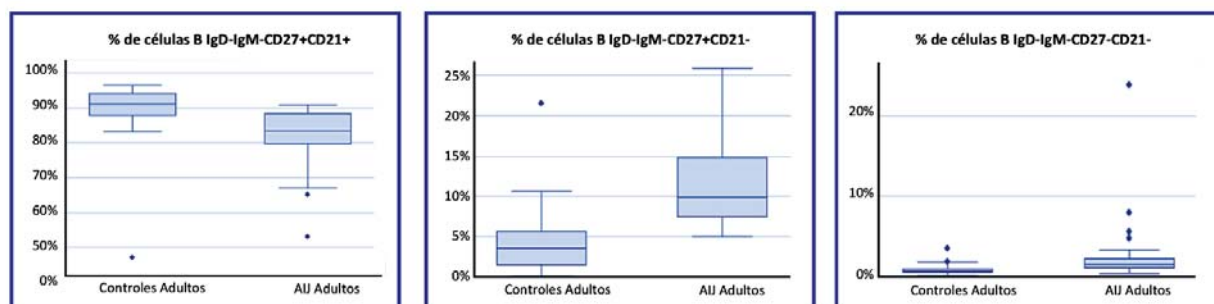
Gráfico 37. Células B IgD+IgM+ *naïve* CD21- en adultos control y en adultos con artritis idiopática juvenil.

En los pacientes con AIJ adultos se observó una disminución significativa en el porcentaje de células IgD-IgM-CD27+CD21+ con respecto a los adultos control. A su vez, presentaron un aumento significativo en los porcentajes de células IgD-IgM-CD27+CD21- y de células IgD-IgM-CD27-CD21-. Los valores absolutos de estas células variaron en la misma dirección que los porcentajes y fueron variaciones estadísticamente significativas para las dos últimas subpoblaciones.

Tabla 116. Inmunofenotipo en adultos control y con artritis idiopática juvenil: subpoblaciones de células B IgD-IgM- según marcadores CD27 y CD21.

Poblaciones celulares	Controles Adultos N=30	AIJ Adultos N=32	P valor
CD27+CD21+ (%)	89,32 ± 8,98	82,06 ± 8,32	0,0000
CD27+CD21+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,0364 ± 0,02	0,0499 ± 0,05	0,3478
CD27+CD21- (%)	4,29 ± 4,33	11,46 ± 5,30	0,0000
CD27+CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,00161 ± 0,002	0,00659 ± 0,006	0,0000
CD27-CD21- (%)	1,52 ± 4,91	2,46 ± 4,21	0,0000
CD27-CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,00055 ± 0,002	0,00192 ± 0,005	0,0000

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 38. Células B IgD-IgM- en adultos control y en adultos con artritis idiopática juvenil.

En las siguientes subpoblaciones de células B no se encontraron diferencias significativas entre los sujetos adultos control y los pacientes adultos con AIJ: células B totales, células B *naïve*, células B trasicionales, células B pre-*switch* memoria, células B de zona marginal, células B *exhausted*, células B *switch* memoria, plasmablastos, índice células plasmáticas/plasmablastos, células B IgD+IgM+ totales, células B IgD+IgM+ de memoria, células B IgD+IgM+ pre-centro germinal, células B IgD+IgM+ transicionales, células B IgD+IgM+ *naïve*, IgD+IgM+ *naïve* CD21+, células B IgD-IgM- totales, IgD-IgM-CD27-CD21+ y células B IgD-IgM+.

3.5. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD EN EL INMUNOFENOTIPO DE LOS PACIENTES CON AIJ

Las diferencias en el fenotipo linfocitario que se observaron tanto entre niños y adultos sanos como entre niños y adultos con AIJ las atribuimos a diferencias propias de la edad. Estas diferencias que consideramos propias de la edad, han sido ya presentadas en detalle en el apartado Análisis de la influencia de la edad en el inmunofenotipo, del presente proyecto de tesis doctoral.

En este apartado se presentan las diferencias en las subpoblaciones linfocitarias entre los pacientes con AIJ pediátricos y adultos que no pueden ser atribuidas a la diferencia de edad. Estas diferencias son las observadas entre los grupos de pacientes con AIJ pediátricos y adultos que:

- no se observaron entre los sujetos sanos pediátricos y adultos
- se observaron entre los grupos de controles sanos, pero en sentido opuesto al observado entre los pacientes con AIJ
- no se observaron entre los dos grupos de pacientes con AIJ, pero sí fueron observadas de forma significativa entre los dos grupos controles sanos

Todas estas diferencias en las subpoblaciones linfocitarias entre pacientes pediátricos y adultos con AIJ, no atribuibles a la edad, se exponen a continuación.

Poblaciones linfocitarias de células T

El porcentaje de la subpoblación de células CD8+CD25+ se observó que era mayor en los niños con AIJ que en los niños sanos y muy similar en adultos. Destaca que es un porcentaje superior en adultos, tanto con AIJ como controles, con respecto a los niños de su mismo grupo. Sin embargo, el número absoluto de estas células no presentó los mayores valores en adultos, sino que los presentó en el grupo de pacientes con AIJ pediátricos.

Tabla 117. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células CD8+CD25+.

Poblaciones celulares	CD8+CD25+ (%)	P valor	CD8+CD25+ (10 ³ /μL)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	3,05 ± 1,80	0,0000	0,0259 ± 0,01	0,0000
Controles Adultos (N=30)	7,95 ± 4,01		0,0543 ± 0,03	
AIJ Pediátricos (N=68)	6,11 ± 5,82	0,0018	0,0602 ± 0,08	0,2940
AIJ Adultos (N=32)	7,84 ± 3,75		0,0531 ± 0,03	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

El porcentaje de células T doble positivas (CD4+ y CD8+) fue significativamente inferior en los pacientes con AIJ pediátricos respecto a los adultos con AIJ. El número de estas células también fue inferior en los niños con AIJ. Sin embargo, en los controles se observó una tendencia inversa a la observada en AIJ: los controles pediátricos tuvieron más porcentaje y más número de células que los controles adultos, aunque esta diferencia observada no fue significativa.

Tabla 118. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células CD3+ doble positivas.

Poblaciones celulares	CD3+ doble positivas (%)	P valor	CD3+ doble positivas (10 ³ /μL)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	1,54 ± 3,85	0,9072	0,0428 ± 0,09	0,4047
Controles Adultos (N=30)	0,25 ± 0,26		0,0058 ± 0,01	
AIJ Pediátricos (N=68)	0,24 ± 0,18	0,0000	0,0076 ± 0,01	0,0015
AIJ Adultos (N=32)	0,65 ± 0,98		0,0154 ± 0,02	

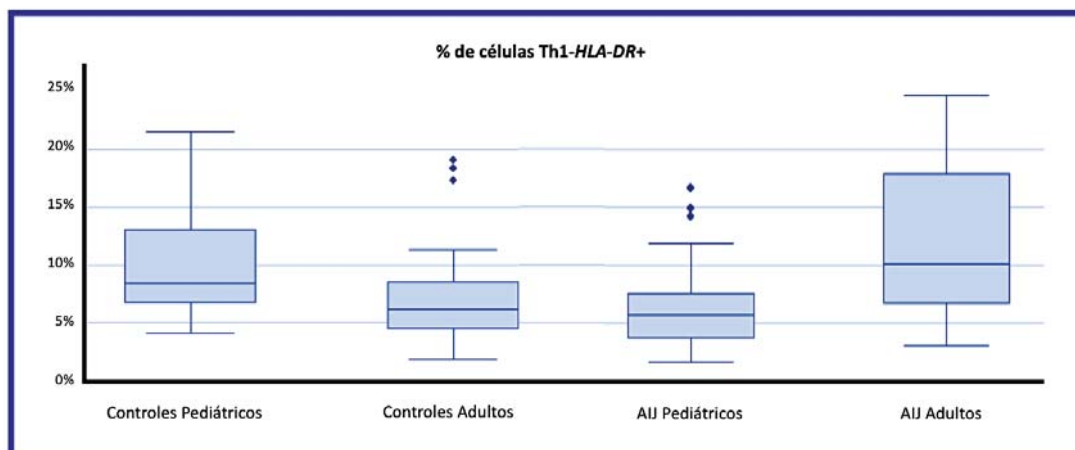
Valores expresados como medias ± desviación estándar.

En las subpoblaciones de células T *helper* Th1 células Th1 activadas y células Th1-HLA-DR+ se encontraron diferencias no atribuibles a la distinta edad entre pacientes con AIJ. El porcentaje de células Th1 activadas fue significativamente superior en niños control que en adultos control. Sin embargo, en los pacientes con AIJ el porcentaje de las células Th1 fue muy similar, e incluso ligeramente superior en los adultos que en los niños. El porcentaje de células Th1-HLA-DR+ resultó significativamente inferior en los niños con AIJ que en los adultos con AIJ. Sin embargo, esta diferencia es contraria a la observada en los controles sanos.

Tabla 119. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células Th1 activadas y Th1 HLA-DR+.

Poblaciones celulares	Th1 activadas (%)	P valor	Th1 HLA-DR+ (%)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	7,58 ± 3,30	0,000	10,49 ± 5,02	0,0068
Controles Adultos (N=30)	3,81 ± 1,55		7,29 ± 4,57	
AIJ Pediátricos (N=68)	5,11 ± 2,73	0,8534	6,14 ± 3,13	0,0000
AIJ Adultos (N=32)	5,87 ± 5,26		11,88 ± 6,53	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Gráfico 39. Células Th1 HLA-DR+ en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil.

En las células T *helper* Th2, también se encontraron diferencias entre grupos pacientes con AIJ no atribuibles a la distinta edad en las subpoblaciones de células Th2 activadas y de células Th2-HLA-DR+. El porcentaje de células Th2 activadas es superior en niños control que en adultos control, pero esta diferencia es inversa en los pacientes con AIJ. El porcentaje de células Th2-HLA-DR+ es significativamente inferior en niños con AIJ que en adultos con AIJ. Sin embargo, esta diferencia no se observa en los controles.

Tabla 120. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células Th2 activadas y Th2 HLA-DR+.

Poblaciones celulares	Th2 activadas (%)	P valor	Th2 HLA-DR+ (%)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	1,43 ± 0,93	0,0079	1,48 ± 0,64	0,8261
Controles Adultos (N=30)	0,85 ± 0,43		1,53 ± 0,84	
AIJ Pediátricos (N=68)	1,21 ± 0,91	0,3454	0,80 ± 0,50	0,0000
AIJ Adultos (N=32)	1,96 ± 2,01		1,98 ± 1,37	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

En la subpoblación de células T *helper* Th17, no hubo diferencias significativas en los porcentajes de células Th17-HLA-DR+. A pesar de esto, se observó una tendencia a presentar un mayor porcentaje de estas células en los niños control respecto a los adultos control que no se observó en los pacientes con AIJ. De hecho, en los niños con AIJ se observó un porcentaje ligeramente inferior de células Th17-HLA-DR+ con respecto al resto de los grupos.

Tabla 121. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células Th17 HLA-DR+.

Poblaciones celulares	LT Th17 HLA-DR+ (%)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	12,60 ± 4,95	0,0023
Controles Adultos (N=30)	8,58 ± 3,56	
AIJ Pediátricos (N=68)	8,47 ± 3,81	0,1423
AIJ Adultos (N=32)	9,97 ± 5,19	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

Poblaciones de células dendríticas, monocitos y NK

No hubo diferencias estadísticamente significativas ni tampoco se observaron tendencias a presentar valores discrepantes o en direcciones opuestas, entre los sujetos pediátricos y adultos de los grupos control y AIJ.

Poblaciones linfocitarias de células B

Se observaron diferencias entre grupos pacientes con AIJ no atribuibles a la distinta edad en las subpoblaciones de células B IgD-IgM-. En los sujetos control, las células B IgD-IgM-CD27+CD21- fueron superiores en porcentaje y número en los niños que en los adultos. Sin embargo, en los pacientes con AIJ, los adultos presentaron un mayor porcentaje y número de estas células que no se observó en los niños con AIJ.

Tabla 122. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células IgD-IgM-CD27+CD21-.

Poblaciones celulares	CD27+CD21- (%)	P valor	CD27+CD21- (10 ³ /μL)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	10,02 ± 11,32	0,0119	0,0094 ± 0,02	0,0120
Controles Adultos (N=30)	4,29 ± 4,33		0,0016 ± 0,00	
AIJ Pediátricos (N=68)	10,40 ± 5,40	0,3298	0,0068 ± 0,01	0,5342
AIJ Adultos (N=32)	11,46 ± 5,30		0,0066 ± 0,01	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

El número y porcentaje de células B IgD-IgM-CD27-CD21- también fue superior en los niños control que en los adultos control. Sin embargo, en los pacientes con AIJ esta relación es inversa. Los adultos con AIJ presentaron mayores porcentajes y números de estas células que los otros grupos de pacientes.

Tabla 123. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células IgD-IgM-CD27-CD21-.

Poblaciones celulares	CD27-CD21- (%)	P valor	CD27-CD21- (10 ³ /μL)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	2,45 ± 3,48	0,0021	0,00156 ± 0,01	0,0019
Controles Adultos (N=30)	1,52 ± 4,91		0,00055 ± 0,00	
AIJ Pediátricos (N=68)	1,81 ± 1,30	0,2535	0,00117 ± 0,00	0,4704
AIJ Adultos (N=32)	2,46 ± 4,21		0,00192 ± 0,01	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

El porcentaje de células IgD-IgM+ fue similar entre niños y adultos control, aunque el número de células fue superior en los niños control. Sin embargo, en los pacientes con AIJ esta diferencia no se observó, ambas poblaciones de pacientes con AIJ tienen un número de células IgD-IgM+ muy similar. En cuanto a los porcentajes celulares, no hay diferencias significativas entre ninguno de los grupos de pacientes.

Tabla 124. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células IgD-IgM+.

Poblaciones celulares	IgD-IgM+(%)	P valor	IgD-IgM+ (10 ³ /μL)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	3,12 ± 2,70	0,0342	0,0143 ± 0,01	0,0000
Controles Adultos (N=30)	3,79 ± 2,16		0,0016 ± 0,00	
AIJ Pediátricos (N=68)	2,71 ± 1,63	0,1647	0,0102 ± 0,01	0,3185
AIJ Adultos (N=32)	3,43 ± 2,21		0,0091 ± 0,01	

Valores expresados como medias ± desviación estándar.

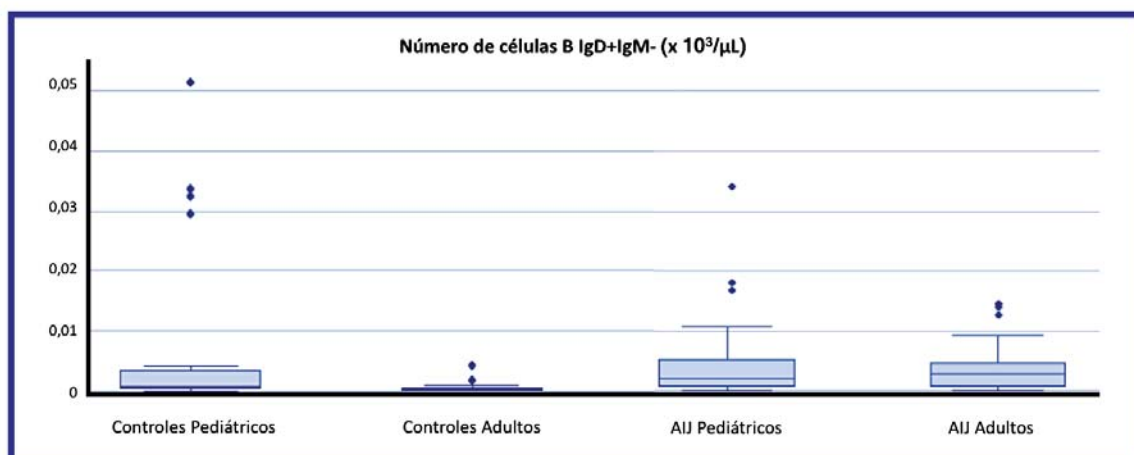
El número de células IgD+IgM- fue superior en los niños control que en los adultos control. Sin embargo, en los pacientes con AIJ esta relación no se observó. Los pacientes pediátricos y los adultos con AIJ presentaron un número similar de células IgD+IgM-. El número de células IgD+IgM- observado en adultos, fue mayor al esperado en los controles sanos. En cuanto a los porcentajes celulares, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los grupos de pacientes, aunque los adultos sanos presentaron el porcentaje más bajo de esta subpoblación linfocitaria.

Tabla 125. Inmunofenotipo en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil: células IgD+IgM-.

Poblaciones celulares	IgD+IgM- (%)	P valor	IgD+IgM- ($10^3/\mu\text{L}$)	P valor
Controles Pediátricos (N=29)	1,07 \pm 2,85	0,0132	0,0062 \pm 0,01	0,0018
Controles Adultos (N=30)	0,27 \pm 0,69		0,0004 \pm 0,00	
AIJ Pediátricos (N=68)	0,86 \pm 1,14	0,0525	0,0036 \pm 0,01	0,4704
AIJ Adultos (N=32)	1,42 \pm 1,63		0,0037 \pm 0,00	

Valores expresados como medias \pm desviación estándar.

Gráfico 40. Células B IgD+IgM- totales en sujetos control y en pacientes con artritis idiopática juvenil.



3.6. ANÁLISIS DEL INMUNOFENOTIPO EN FUNCIÓN DEL TRATAMIENTO

Se analizó el efecto de los distintos tratamientos inmunosupresores en los pacientes con AIJ tanto en edad pediátrica como en edad adulta. En concreto, se evaluó el efecto del tratamiento con terapias

anti-TNF α en monoterapia, en terapias combinada con FAMEs y el efecto del MTX administrado en monoterapia. Finalmente, se comparó si existían diferencias en el efecto de las terapias anti-TNF α en el inmunofenotipo de los pacientes con AIJ, segregados en función de la edad.

3.6.1. Pacientes pediátricos con AIJ

En los niños con AIJ se observaron diferencias en las subpoblaciones linfocitarias de células T probablemente como consecuencia del tratamiento inmunosupresor recibido. Los pacientes pediátricos en tratamiento con MTX presentaron una proporción significativamente inferior de células T CD8+ efectoras y de células T CD8+ efectoras de memoria, y son los que presentaron mayores diferencias con respecto los controles. Consecuentemente con el menor número de células T CD8+ efectoras, en los pacientes pediátricos con AIJ en tratamiento con MTX se observó una proporción significativamente superior de células T *naïve* CD8+. El número de pacientes en el grupo de AIJ en tratamiento con anti-TNF α en monoterapia, fue reducido. A pesar de esto, se observó una tendencia a presentar cifras más elevadas de células CD8+ efectoras de memoria en este grupo de pacientes. Los niños con AIJ en tratamiento con anti-TNF α combinado con FAME presentaron un porcentaje significativamente superior de linfocitos CD8+CD25+ y también una tendencia a presentar un mayor número y porcentaje de células CD8+CD25+.

Tabla 126. Inmunofenotipo en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento: células CD8+.

Poblaciones celulares	Controles N=29	AIJ anti-TNF α N=8	AIJ anti-TNF α + FAMEs N=33	AIJ MTX N=27	P valor
CD8+ efectoras (%)	16,92 \pm 5,71	11,90 \pm 6,89	11,38 \pm 4,37	9,51 \pm 3,46	0,0000
CD8+ efectoras de memoria (%)	37,10 \pm 12,38	42,08 \pm 11,59	37,15 \pm 12,34	26,29 \pm 7,12	0,0001
CD8+ <i>naïve</i> (%)	41,72 \pm 13,64	41,30 \pm 12,33	46,55 \pm 12,99	59,72 \pm 8,60	0,0000
CD8+CD25+ (%)	3,05 \pm 1,80	4,59 \pm 2,32	7,20 \pm 5,41	5,30 \pm 6,79	0,0004
CD8+CD25+ (10 ³ / μ L)	0,026 \pm 0,01	0,034 \pm 0,02	0,070 \pm 0,07	0,056 \pm 0,10	0,0013

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, Metotrexato.

Gráfico 41. Células CD8+ efectoras en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento.

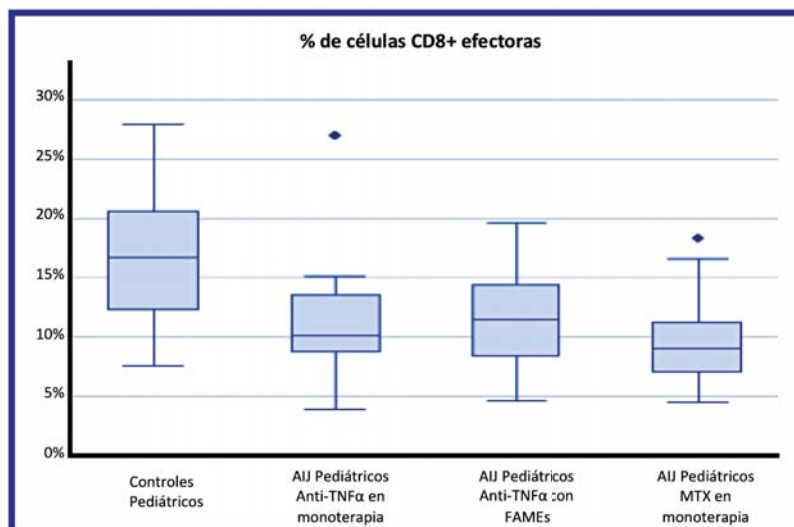
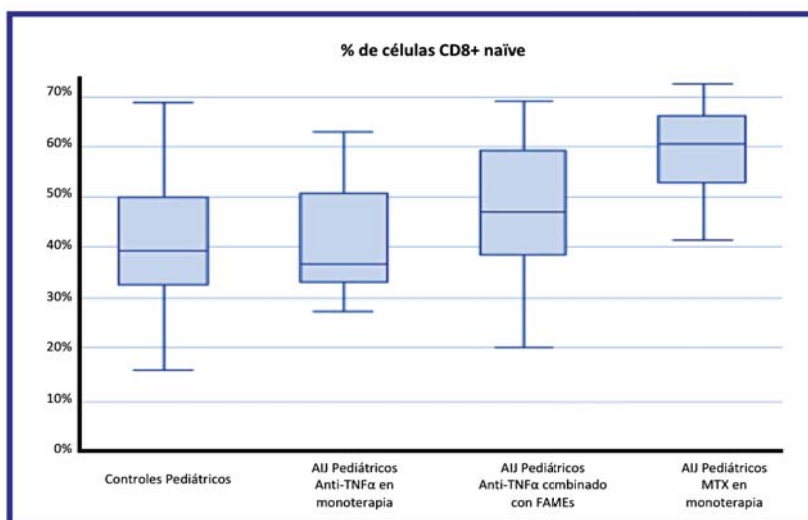


Gráfico 42. Células CD8+ naïve en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento.

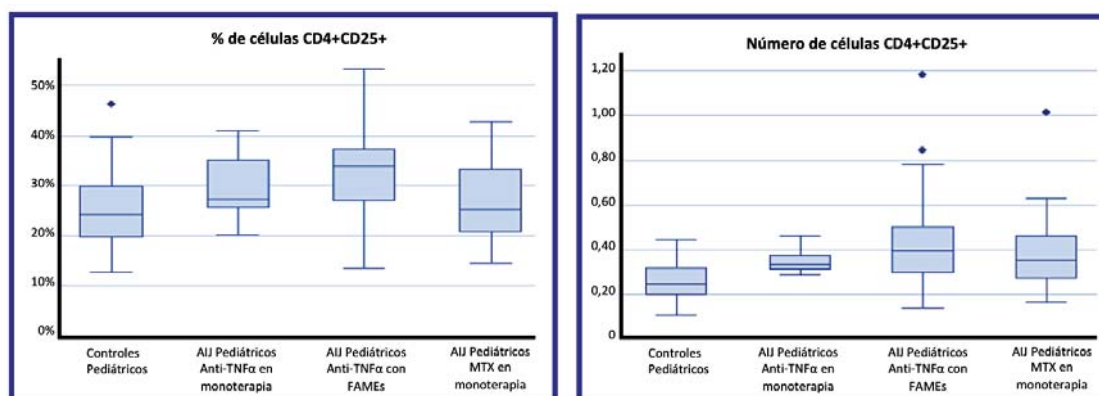


En los niños con AIJ se observaron diferencias en algunas de las subpoblaciones de células T CD4+ según el tratamiento recibido. Todos los pacientes con AIJ presentaron un mayor porcentaje y número de células CD4+ totales con respecto a los controles, siendo estas diferencias más manifiestas en el grupo de niños en tratamiento con MTX. Los pacientes pediátricos en tratamiento con MTX presentaron una proporción inferior de células T CD4+ efectoras de memoria respecto a los 3 otros grupos de pacientes, aunque esta tendencia no fue significativa. Las mayores diferencias se observaron entre los pacientes con AIJ en tratamiento con MTX vs los controles. Los niños con AIJ en tratamiento con anti-TNF α , tanto en monoterapia como combinado con FAMEs, presentaron unas cifras superiores de linfocitos CD4+CD25+.

Tabla 127. Inmunofenotipo pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento: células CD4+.

Poblaciones celulares	Controles N=29	AIJ anti-TNF α N=8	AIJ anti-TNF α + FAMEs N=33	AIJ MTX N=27	P valor
CD4+ (%)	36,04 \pm 5,22	40,25 \pm 4,74	41,56 \pm 8,27	43,91 \pm 8,27	0,0001
CD4+ ($10^3/\mu\text{L}$)	1,099 \pm 0,59	1,151 \pm 0,19	1,352 \pm 0,57	1,479 \pm 0,57	0,0059
CD4+ efectoras de memoria (%)	27,64 \pm 9,27	27,84 \pm 4,27	27,22 \pm 9,92	19,99 \pm 7,62	0,0009
CD4+ naïve (%)	46,10 \pm 11,99	46,44 \pm 7,64	46,68 \pm 12,32	55,34 \pm 11,58	0,0067
CD4+CD25+ (%)	25,14 \pm 8,11	29,55 \pm 6,86	32,22 \pm 9,13	26,49 \pm 7,52	0,0062
CD4+CD25+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,258 \pm 0,09	0,347 \pm 0,06	0,429 \pm 0,21	0,383 \pm 0,17	0,0001

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, Metotrexato.

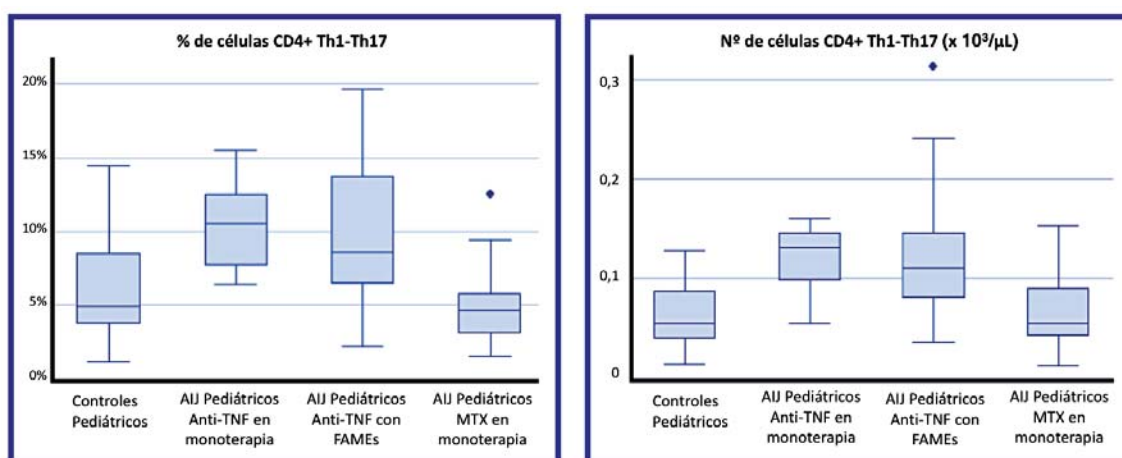
Gráfico 43. Células CD4+CD25+ en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento.

También se observaron diferencias significativas en las subpoblaciones linfocitarias de células T *helper*. En los pacientes en tratamiento con anti-TNF α , tanto en monoterapia como en terapia combinada con FAMEs, se observó un aumento significativo tanto en el porcentaje como en el número de células Th1-Th17 (Tabla 128). Todos los pacientes con AIJ presentaron un porcentaje significativamente inferior de células Th1-HLA-DR+, Th2-HLA-DR+ y Th17-HLA-DR+ que los controles. Mediante el test de Scheffé, se comprobó que esta diferencia era significativa al comparar cualquiera de las poblaciones de AIJ (en tratamiento con MTX, con anti-TNF α o con anti-TNF α + FAMEs) con los controles. Por lo tanto, se objetivó una menor expresión de HLA-DR independiente del tratamiento que siguiera el paciente.

Tabla 128. Inmunofenotipo en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento: células T *helper* Th1-Th17.

Poblaciones celulares	Controles N=29	AIJ anti-TNF α N=8	AIJ anti-TNF α + FAMEs N=33	AIJ MTX N=27	P valor
CD4+ Th1-Th17 (%)	6,38 \pm 3,89	10,45 \pm 3,14	9,87 \pm 4,54	4,81 \pm 2,51	0,0000
CD4+ Th1-Th17 (10 ³ / μ L)	0,062 \pm 0,03	0,121 \pm 0,04	0,118 \pm 0,06	0,065 \pm 0,03	0,0000

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, Metotrexato.

Gráfico 44. Células CD4+ Th1-Th17 en pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas, ni tampoco tendencias relevantes que pudieran explicar un efecto de los fármacos en las células como parte de su mecanismo de acción en los pacientes pediátricos con AIJ en las siguientes subpoblaciones celulares: células T totales, índice CD4+/CD8+, células CD8+ totales, CD8+ de memoria central, células T doble negativas, células T doble positivas, CD4+ efectoras, CD4+ de memoria central, células T *helper*: células Th1, Th1 activadas, Th1 HLA-DR+, Th1 CD38+, células Th1-Th17, células Th2, Th2 activadas, Th2 HLA-DR+, Th2 CD38+, células Th17, Th17 activadas, Th17 HLA-DR+, Th17 CD38+, células T reguladoras, células T reguladoras de memoria, células T reguladoras HLA-DR+. NK totales, NK CD56^{bright}, NK CD56^{dim}, dendríticas totales, plasmocitoides, mieloides, monocitos CD16+, monocitos intermedios, monocitos CD16-, células B totales, células B *naïve*, células B tracionales, células B pre-*switch* memoria, células B de zona marginal, células B *exhausted*, células B *switch* de memoria, índice células plasmáticas/plasmablastos, plasmablastos, células IgD+IgM- totales, células IgD+IgM+ totales, células IgD+IgM+ de memoria, células IgD+IgM+ pre-centro germinal, células IgD+IgM+ tracionales, células IgD+IgM+ *naïve*, células IgD+IgM+ *naïve* CD21+, células IgD+IgM+ *naïve* CD21-, células IgD-IgM- totales, células IgD-IgM-

CD27+CD21-, células IgD-IgM- CD27+CD21+, células IgD-IgM- CD27-CD21-, células IgD-IgM- CD27-CD21+ y células IgD-IgM+.

3.6.2. Pacientes adultos con AIJ

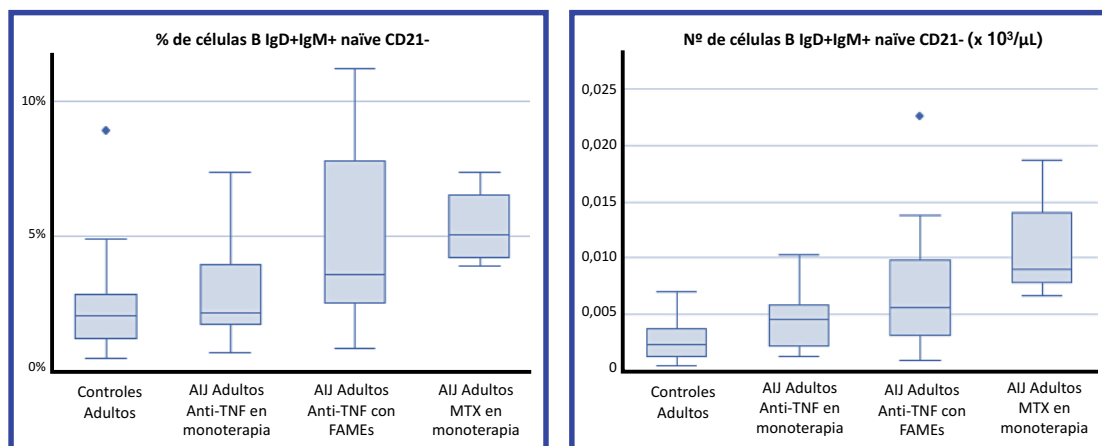
En los pacientes con AIJ adultos en tratamiento inmunosupresor se observaron diferencias en subpoblaciones celulares probablemente como consecuencia del propio tratamiento. En los pacientes con AIJ se observaron un porcentaje y un número significativamente superior de células B IgD+IgM- con respecto a los controles adultos. Las mayores proporciones de estas células se observaron en los pacientes tratamiento con anti-TNF α en monoterapia, seguidos de los pacientes en tratamiento con terapia anti-TNF α combinada con FAMEs y de los pacientes en tratamiento con MTX. Los menores porcentajes fueron observados por los adultos control. También se observó un número significativamente inferior de células B IgD-IgM+ en los pacientes control con respecto a las AIJ. Las mayores cifras fueron observadas en los pacientes adultos en tratamiento con MTX, seguidos de los pacientes en tratamiento combinado con anti-TNF α y FAMEs. También se observaron diferencias significativas en las células B *naïve* CD21-. Los pacientes adultos en tratamiento con MTX presentaron los niveles más altos tanto en el porcentaje como en el número de células B *naïve* CD21-, seguidos de los pacientes en tratamiento con anti-TNF α combinado con FAMEs.

Tabla 129. Inmunofenotipo en adultos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento: células B.

Poblaciones celulares	Controles (N=30)	AIJ anti-TNF α (N=14)	AIJ anti-TNF α + FAMEs (N=14)	AIJ MTX (N=4)	P valor
IgD+IgM- (%)	0,27 \pm 0,69	1,84 \pm 2,12	1,14 \pm 1,16	0,98 \pm 0,67	0,0002
IgD+IgM- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,0004 \pm 0,00	0,0042 \pm 0,00	0,0031 \pm 0,00	0,0043 \pm 0,00	0,0001
IgD-IgM+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,0016 \pm 0,00	0,0066 \pm 0,00	0,0094 \pm 0,00	0,0168 \pm 0,01	0,0000
IgD+IgM+ <i>naïve</i> CD21- (%)	2,32 \pm 1,69	2,95 \pm 1,94	4,86 \pm 3,24	5,38 \pm 1,54	0,0036
IgD+IgM+ <i>naïve</i> CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,0025 \pm 0,00	0,0044 \pm 0,00	0,0072 \pm 0,01	0,0109 \pm 0,01	0,0001

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad; MTX, Metotrexato.

Gráfico 45. Células B IgD+IgM+ *naïve* CD21- en adultos con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento.



En las siguientes subpoblaciones linfocitarias de los pacientes adultos con AIJ no se observaron diferencias estadísticamente significativas, ni tampoco tendencias relevantes que pudieran explicar un efecto de los fármacos en las células del sistema inmune como parte de su mecanismo de acción: células T totales, índice CD4+/CD8+, células CD8+ totales, CD8+ efectoras, CD8+ *naïve*, CD8+ efectoras de memoria, CD8+ de memoria central, CD8+CD25+, células T doble negativas, células T doble positivas, células CD4+ totales, CD4+ efectoras, CD4+ *naïve*, CD4+ efectoras de memoria, CD4+ de memoria central, CD4+CD25+, células Th1, Th1 activadas, Th1 HLA-DR+, Th1 CD38+, células Th1-Th17, células Th2, Th2 activadas, Th2 HLA-DR+, Th2 CD38+, células Th17, Th17 activadas, Th17 HLA-DR+, Th17 CD38+, células T reguladoras, células T reguladoras de memoria, células T reguladoras HLA-DR+, NK CD56+^{bright}, NK CD56+^{dim}, dendríticas totales, plasmocitoides, mieloides, monocitos CD16+, monocitos intermedios, monocitos CD16-, células B totales, células B *naïve*, células B trasicionales, células B pre-*switch* memoria, células B de zona marginal, células B *exhausted*, células B *switch* de memoria, índice células plasmáticas/plasmablastos, plasmablastos, células IgD+IgM+ totales, células IgD+IgM+ de memoria, células IgD+IgM+ pre-centro germinal, células IgD+IgM+ transicionales, células IgD+IgM+ *naïve*, células IgD+IgM+ *naïve* CD21+, células IgD-IgM- totales, células IgD-IgM- CD27+CD21-, células IgD-IgM- CD27+CD21+, células IgD-IgM- CD27-CD21- y células IgD-IgM- CD27-CD21+.

3.6.3. Pacientes con AIJ en tratamiento con terapias anti-TNF α

En esta última parte del estudio del efecto del tratamiento sobre las subpoblaciones celulares, comparamos a los pacientes con AIJ adultos con los pacientes con AIJ pediátricos que estaban en

tratamiento con anti-TNF α en monoterapia y no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las subpoblaciones linfocitarias estudiadas. Las tendencias diferenciales identificadas entre grupos se habían observado previamente en relación a la edad de los pacientes.

Se analizaron también las diferencias entre niños y adultos, seleccionando sólo aquellos pacientes que estaban en tratamiento con terapias anti-TNF α combinadas con FAMEs, con la finalidad de identificar una posible respuesta diferencial a las terapias entre niños y adultos con AIJ. Las escasas diferencias estadísticamente significativas entre grupos ya se habían observado en relación a la edad. No se identificaron nuevas diferencias en las poblaciones linfocitarias que no pudieran ser explicadas por la diferente edad de los pacientes y que, por lo tanto, pudieran explicar un distinto efecto de las terapias en los subtipos celulares en función de la edad.

3.7. ANÁLISIS DEL INMUNOFENOTIPO EN FUNCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA AIJ

En esta última parte del análisis del inmunofenotipo celular se investigó si existía alguna relación entre las distintas poblaciones celulares estudiadas y las características clínicas de los pacientes con AIJ.

Curso evolutivo

Se agrupó a los pacientes con AIJ según el curso que hubiera seguido la artritis, independientemente del subtipo al que pertenecieran y de su edad. Los agrupamos en:

- Oligoarticulares, la artritis había afectado entre 1 y 4 articulaciones (N=61)
- Poliarticulares, la artritis había afectado un mínimo de 5 articulaciones (N=39)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones celulares.

Actividad clínica

De nuevo se consideraron a los pacientes con AIJ como un único grupo y se agruparon en función de si la enfermedad estaba activa o inactiva según los criterios de Wallace:

- Pacientes con AIJ inactiva (N=65)
- Pacientes con AIJ activa (N=35)

La edad de los pacientes inactivos y activos no presentó diferencias significativas ($14,71 \pm 7,71$ vs $14,19 \pm 7,09$; $P = 0,747$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones celulares.

Con el objetivo de investigar con mayor profundidad si las subpoblaciones celulares podían alterarse cuando la artritis estaba activa, se realizó un segundo análisis. Se separaron los pacientes con AIJ pediátricos de los adultos y se investigó si existían diferencias significativas según si tenían alguna articulación activa o ninguna articulación activa.

No se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes pediátricos ($P = 0,969$) ni en la de los pacientes adultos ($P = 0,937$) según si tuvieran o no alguna articulación clínicamente activa. Al comparar los resultados de los pacientes con articulaciones activas con los pacientes sin articulaciones activas no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones linfocitarias.

Presencia de anticuerpos antinucleares y edad de inicio

Se analizaron a los pacientes con AIJ adultos y AIJ pediátricos por separado. Se investigaron si existían diferencias entre los pacientes ANA positivo y los pacientes ANA negativo con respecto a las distintas subpoblaciones linfocitarias.

No se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes pediátricos ($P = 0,235$) ni en la de los pacientes adultos ($P = 0,212$) según si eran ANA+ o bien ANA-. No se observaron tampoco diferencias significativas entre las subpoblaciones linfocitarias entre pacientes ANA+ y ANA-.

A continuación, se investigó si había diferencias en las poblaciones linfocitarias según se tratase de pacientes que hubieran tenido un inicio temprano o un inicio más tardío de la enfermedad y tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes, ni en niños ni en adultos.

Por último, se analizaron por separado los pacientes pediátricos y adultos. Se compararon los pacientes ANA+ con un inicio de la enfermedad \leq a 4 años con el resto de los pacientes y no se observaron diferencias significativas entre las subpoblaciones linfocitarias entre ambos grupos.

Uveítis

Se consideraron los pacientes con AIJ como un único grupo y se clasificaron en función de si habían tenido algún episodio de inflamación ocular como manifestación de su enfermedad. No se observaron diferencias en la edad de ambos grupos de pacientes, ni tampoco en las subpoblaciones linfocitarias de ambos grupos de pacientes.

Actividad ecográfica

Se analizaron a los pacientes con AIJ adultos y AIJ pediátricos de forma independiente. Se investigaron si existían diferencias significativas entre los pacientes con índices ecográficos correspondientes a inactividad clínica (índice ecográfico EG = 0, índice ecográfico PD = 0) y las distintas subpoblaciones linfocitarias. Los pacientes se clasificaron tal y como se muestra en las siguientes tablas.

Tabla 130. Pacientes con artritis idiopática juvenil según la edad y la actividad ecográfica por escala de grises.

	Índice ecográfico EG = 0		Índice ecográfico EG ≥ 1	
	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos
Número de pacientes	51	12	17	20
Edad (años)	10,53 ± 4,45	23,45 ± 4,5	10,60 ± 4,05	22,45 ± 3,43

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de pacientes.

No se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes pediátricos según tuvieran un índice ecográfico EG ≥ 1 o = a 0 ($P = 0,945$). Tampoco se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes adultos según tuvieran un índice ecográfico EG ≥ 1 o = a 0 ($P = 0,490$).

Tabla 131. Pacientes con artritis idiopática juvenil según la edad y la actividad ecográfica por señal power Doppler.

	Índice ecográfico PD = 0		Índice ecográfico PD ≥ 1	
	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos	AIJ Pediátricos	AIJ Adultos
Número de pacientes	66	27	2	5
Edad (años)	10,56 ± 4,34	22,50 ± 3,71	10 ± 5,66	24,40 ± 4,28

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de pacientes.

No se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes pediátricos según tuvieran un índice ecográfico EG ≥ 1 o = a 0 ($P = 0,807$). Tampoco se observaron diferencias en la edad de los pacientes adultos según tuvieran un índice ecográfico PD ≥ 1 o = a 0 ($P = 0,315$).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el inmunofenotipo linfocitario de los pacientes con índices ecográficos = 0, ya hubieran sido determinados por EG o por PD, con respecto a los pacientes que tenían índices ecográficos ≥ 1 .

4. ANÁLISIS DE LA INMUNOGENICIDAD A LAS TERAPIAS ANTI-TNF α

En este apartado se presentan los resultados del análisis de la inmunogenicidad secundaria al tratamiento con fármacos antagonistas del TNF α . Tal y como se ha comentado en el apartado de Material y métodos, en esta fase del estudio se incluyeron los 74 pacientes con AIJ que recibían tratamiento anti-TNF α en el momento de su inclusión en el estudio, tanto los 41 pacientes pediátricos como los 33 pacientes en edad adulta.

Para llevar a cabo el estudio de inmunogenicidad se obtuvieron los datos clínicos (p.ej. actividad y capacidad funcional) y de laboratorio de rutina en la primera visita (S0), a los 6 meses (S24) y al año de seguimiento (S48). Con el objetivo de determinar la respuesta inmunogénica se analizaron las concentraciones séricas del fármaco anti-TNF α y las concentraciones séricas de los anticuerpos antifármaco anti-TNF α tanto en pacientes pediátricos como adultos. Las extracciones de sangre se realizaron en todos los casos, en el momento valle. Asimismo, se investigaron posibles diferencias en la respuesta inmunogénica entre los pacientes pediátricos y los adultos, así como el efecto de la inmunogenicidad en la respuesta terapéutica. Se analizaron las diferencias en el inmunofenotipo en función de la producción de anticuerpos antifármaco anti-TNF α .

4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

En el estudio de la inmunogenicidad participaron 74 pacientes con AIJ (41 pacientes pediátricos y 33 pacientes adultos). Todos ellos recibían tratamiento biológico en la visita basal con una de las siguientes terapias anti-TNF α : Etanercept, Adalimumab o Infliximab. El tratamiento anti-TNF α podía administrarse en monoterapia o podía administrarse en combinación con fármacos modificadores de la enfermedad no biológicos (FAMEs). Todos los pacientes que recibían tratamiento anti-TNF α en el momento de su inclusión en el estudio participaron en el estudio de inmunogenicidad.

A continuación, se presentan los resultados referentes a las características clínicas, biológicas y en los tratamientos de los pacientes con AIJ incluidos en el estudio de inmunogenicidad.

4.1.1. Características clínico-biológicas

Los distintos subtipos de AIJ y las características clínicas y biológicas principales de los pacientes pediátricos y adultos incluidos en el estudio de inmunogenicidad se describen de forma diferenciada y comparativa en la siguiente Tabla 132.

Cabe destacar, que de los 74 pacientes, 20 (27,03%) habían tenido algún episodio de uveítis crónica anterior o uveítis aguda anterior durante la evolución. Respecto al curso articular de la AIJ, independientemente del subtipo en el que estuvieran clasificados, 40 pacientes (54,05%) siguieron un curso oligoarticular y 44 pacientes (45,95%) siguieron un curso poliarticular. En relación a las características inmunológicas, 49 pacientes (66,21%) fueron ANA positivo y 20 pacientes (27,03%) HLA-B27 positivo.

Tabla 132. Características de los pacientes con artritis idiopática juvenil incluidos en el estudio de inmunogenicidad.

	AIJ Pediátricos N=41	AIJ Adultos N=33	P valor
Edad (años)	11,59 ± 3,48	22,58 ± 4,32	0,000
Tiempo de evolución (meses)	5,75 ± 3,75	14,52 ± 6,62	0,000
Mujeres/Varones	29/12	21/12	0,517
Uveítis	12 (29,27)	8 (24,24)	0,628
ANA positivo	32 (78,1)	17 (51,52)	0,017
HLA-B27	9 (21,95)	11 (33,33)	0,273
Curso de la AIJ			
▪ Oligoarticular	29 (70,73)	11 (33,33)	0,0013
▪ Poliarticular	12 (29,27)	22 (66,66)	
Subgrupo de AIJ			
▪ Oligoarticular	25 (60,97)	10 (30,30)	0,009
▪ Poliarticular FR-	3 (7,32)	7 (21,22)	0,082
▪ Poliarticular FR+	2 (4,88)	1 (3,03)	0,689
▪ Psoriásica	3 (7,32)	4 (12,12)	0,483
▪ Artritis relacionada con entesitis	6 (14,63)	10 (30,30)	0,104
▪ Indiferenciada	2 (4,88)	1 (3,03)	0,689

Valores expresados como medias ± desviación estándar o como número de pacientes y porcentaje. ANA, anticuerpos antinucleares; FR, factor reumatoide.

4.1.2. Tratamiento

En la primera visita, todos los pacientes incluidos en el estudio de inmunogenicidad, recibían tratamiento con terapias anti-TNF α . Entre ellas, el ETN fue el fármaco biológico más utilizado, en un total de 43 (58,11%) pacientes.

El anti-TNF α se pautó combinado con FAMEs en 51 (68,92%) pacientes. El MTX fue el FAME utilizado con mayor frecuencia, en 31 (60,78%) pacientes. Los otros pacientes recibían tratamiento con los siguientes FAMEs: la leflunomida en 12 (23,53%), el micofenolato en 4 (7,84%), la azatioprina en 3 (5,88%), la sulfasalazina en 2 (3,92%) y el tacrólimus en 2 (3,92%). Tres de los pacientes recibieron tratamiento combinado con 2 FAMEs. La combinación de FAMEs fue la LFN y el MTX en dos pacientes (uno pediátrico y uno adulto) y la LFN y el TCL en otro paciente (un adulto).

Tabla 133. Tratamiento de los pacientes con artritis idiopática juvenil incluidos en el estudio de inmunogenicidad.

	AIJ Pediátricos N=41	AIJ Adultos N=33	P valor
Tratamiento concomitante			
▪ AINEs	3 (7,32)	4 (12,12)	0,483
▪ Glucocorticoesteroides	15 (36,59)	14 (42,42)	0,609
▪ FAMEs	33 (80,49)	18 (54,54)	0,017
Tratamiento anti-TNFα			
▪ Etanercept	25 (60,98)	18 (54,55)	0,577
▪ Adalimumab	15 (36,58)	14 (42,42)	0,609
▪ Infliximab	1 (2,44)	1 (3,03)	0,876

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje. AINEs, antiinflamatorios no esteroideos; FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad.

4.1.3. Diferencias en el tratamiento anti-TNF α en función de la edad

A continuación, se describen las diferencias en el número de pacientes en tratamiento concomitante con FAMEs y las diferencias en la frecuencia de administración del fármaco anti-TNF α según la edad.

Pacientes que recibían tratamiento concomitante con FAMEs

Los pacientes pediátricos precisaron recibir tratamiento anti-TNF α combinado con FAMEs en un porcentaje significativamente superior que los adultos. Los resultados se presentan en las siguientes Tabla 134, Tabla 135 y Gráfico 46.

Tabla 134. Tratamiento anti-TNF α en monoterapia y combinado en los pacientes con artritis idiopática juvenil.

	AIJ Pediátricos N=41	AIJ Adultos N=33	P valor
Tratamiento anti-TNFα			
▪ Monoterapia	8 (19,51)	15 (45,46)	0,017
▪ Combinado con FAMEs	33 (80,49)	18 (54,54)	

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje. FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad.

Frecuencia de administración del fármaco anti-TNF α

La dosis y la frecuencia de administración recomendadas en la ficha técnica de cada uno de los fármacos anti-TNF α son las siguientes:

- ETN en el adulto: 25 mg/2 veces por semana o 50 mg/semana
- ETN en el niño: 0,4 mg/kg/2 veces por semana o 0,8mg/kg/semana
- ADA en el adulto: 40 mg/2 semanas
- ADA en el niño: 0,8 mg/kg/2 semanas
- IFX en el adulto: 3 mg/kg/8 semanas
- IFX en el niño: 6 mg/kg/8 semanas

Si tomamos como referencia las pautas de tratamiento recomendadas en ficha técnica, los pacientes podrían recibir: una pauta de tratamiento normal (la recomendada en ficha técnica); intensificada (mayor dosis o mayor frecuencia que la recomendada en ficha técnica); desintensificada u optimizada (menor dosis o menor frecuencia que la recomendada).

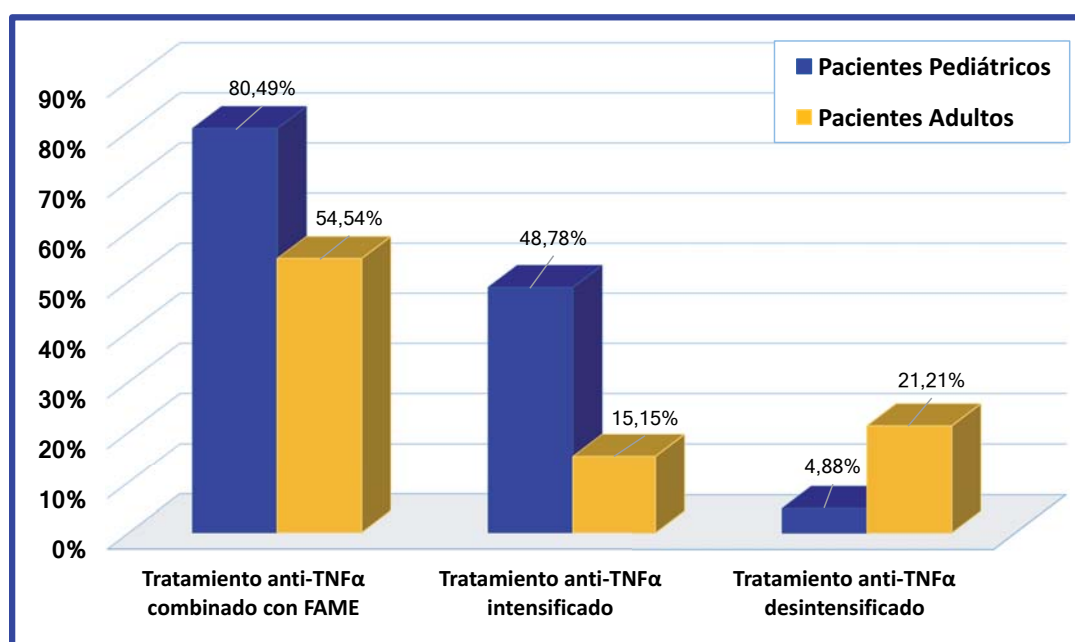
No se observaron diferencias significativas entre pacientes pediátricos y adultos que seguían una pauta de tratamiento normal. Sin embargo, un porcentaje significativamente superior de pacientes pediátricos precisó recibir una pauta de tratamiento intensificado. Por otro lado, un porcentaje significativamente superior de pacientes adultos recibieron una pauta de tratamiento desintensificado. Los resultados con los datos numéricos se presentan en la siguiente tabla y gráfico.

Tabla 135. Esquema de tratamiento anti-TNF α en los pacientes con artritis idiopática juvenil.

Pauta de tratamiento	AIJ Pediátricos N=41	AIJ Adultos N=33	P valor
Normal	19 (46,34)	21 (63,64)	0,138
Intensificada	20 (48,78)	5 (15,15)	0,002
Desintensificada	2 (4,88)	7 (21,21)	0,003

Valores expresados como número de pacientes y porcentaje.

En el siguiente gráfico se presentan las diferencias observadas entre pacientes pediátricos y adultos que precisaban tratamiento anti-TNF α combinado con FAMEs y los porcentajes de pacientes pediátricos y adultos que recibieron una pauta de tratamiento anti-TNF α intensificada o desintensificada.

Gráfico 46. Esquema de tratamiento anti-TNF α en los pacientes con artritis idiopática juvenil.

4.1.4. Actividad en función del tratamiento

A continuación, se describen las características clínicas relacionadas con la actividad de todos los pacientes del estudio de inmunogenicidad, según si recibían tratamiento anti-TNF α : en monoterapia o en terapia combinada con FAMEs; según el tipo fármaco anti-TNF α (ETN, ADA, IFX). Los datos obtenidos se compararon en función de la edad de los pacientes.

Monoterapia vs tratamiento anti-TNF α combinado con FAMES

Se analizaron conjuntamente a todos los pacientes pediátricos y adultos que recibían tratamiento anti-TNF α concomitante con FAMES y se compararon con los pacientes en monoterapia con anti-TNF α . Se analizaron los resultados correspondientes a 194 visitas con muestra disponible (66 de pacientes en monoterapia y 128 de pacientes en terapia combinada). En la siguiente tabla se presentan los resultados de las variables clínicas de los pacientes en función de si realizaban un tratamiento con anti-TNF α en monoterapia o en terapia combinada.

Tabla 136. Características clínico-biológicas registradas en función del esquema de tratamiento anti-TNF α .

Variable clínica		Anti-TNF α monoterapia N=66	Anti-TNF α en terapia combinada con FAMES N=128	P valor
VASm		0,16 \pm 0,46	0,40 \pm 0,75	0,123
VASp		0,42 \pm 1,00	0,74 \pm 1,32	0,234
Actividad AIJ	Activos	19 (28,8)	46 (35,9)	0,317
	Inactivos	47 (71,2)	82 (64,1)	
CHAQ		0,01 \pm 0,05	0,13 \pm 0,27	0,584
HAQ		0,09 \pm 0,19	0,12 \pm 0,23	0,740
N articulaciones activas	≥ 1	8 (12,1)	22 (17,2)	0,355
	0	58 (87,9)	106 (82,8)	
N de articulaciones limitadas	≥ 1	17 (25,8)	34 (26,56)	0,904
	0	49 (74,2)	94 (73,44)	
N articulaciones dolorosas	≥ 1	5 (7,6)	20 (15,6)	0,113
	0	61 (92,4)	108 (84,4)	
N de articulaciones tumefactas	≥ 1	7 (10,6)	19 (14,8)	0,412
	0	59 (89,4)	109 (85,2)	
PCR		0,23 \pm 0,38	0,25 \pm 0,65	0,904
VSG		24,04 \pm 18,49	23,71 \pm 19,06	0,834
JADAS 10		1,56 \pm 2,09	2,38 \pm 2,99	0,129
cJADAS 10		0,73 \pm 1,33	1,53 \pm 2,25	0,057
JADAS-PCR 10		0,71 \pm 1,37	1,67 \pm 2,36	0,030

Valores expresados como medias \pm desviación estándar o como número de determinaciones y porcentaje. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Los pacientes en tratamiento con fármacos anti-TNF α en monoterapia, presentaron unas menores puntuaciones del JADAS-PCR que los pacientes en terapia anti-TNF α combinada con FAMEs. Tal y como puede observarse en la Tabla 137, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con las otras variables clínicas según si los pacientes recibían un tratamiento anti-TNF α combinado con FAMEs o en monoterapia.

Se investigó si existían diferencias significativas en las variables clínicas entre pacientes pediátricos y adultos que recibían tratamiento anti-TNF α en monoterapia y entre pacientes pediátricos y adultos que recibían tratamiento con anti-TNF α combinado con FAMEs. Entre los pacientes que recibían terapia anti-TNF α combinada con FAMEs (76 determinaciones en pediátricos y 52 determinaciones en adultos) no se objetivaron diferencias estadísticamente con ninguna de las variables clínicas.

Entre los pacientes que recibían monoterapia con anti-TNF α , en los pacientes adultos (39 determinaciones) con respecto a los pacientes pediátricos (27 determinaciones) se objetivó:

- un mayor número de articulaciones limitadas (61% vs 3,7%; $P = 0,001$)
- una mayor puntuación en el VAS del paciente ($0,67 \pm 1,24$ vs $0,06 \pm 0,17$; $P = 0,018$)
- una mayor puntuación del JADAS clínico ($1,00 \pm 1,56$ vs $0,28 \pm 0,74$; $P = 0,048$)

Pacientes con AIJ y tratamiento con Etanercept

Se analizaron los datos clínicos en las 109 visitas con muestra disponible de pacientes en tratamiento con ETN. De estas visitas, 61 se realizaron a pacientes pediátricos (N = 25 niños) y 48 visitas a adultos (N = 18 adultos). Se analizaron las posibles diferencias en el estado clínico entre los pacientes pediátricos y los adultos en tratamiento con ETN. Ningún paciente presentó inflamación ocular. No se observaron diferencias significativas entre niños y adultos al analizar los distintos estados de actividad de la enfermedad (remisión, inactivo, mínima, moderada y alta actividad) ($P = 0,425$). Los resultados correspondientes a las diferencias en las variables clínicas de los pacientes pediátricos y adultos en tratamiento con ETN se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 137. Características clínico-biológicas registradas en función de la edad: tratamiento con Etanercept.

Variable clínica		Determinaciones en pacientes pediátricos N=61	Determinaciones en pacientes adultos N=48	P valor
VASm		0,24 ± 0,79	0,20 ± 0,77	0,992
VASp		0,34 ± 1,17	0,92 ± 1,78	0,134
Actividad AIJ	Activos	20 (32,8)	16 (33,3)	1,000
	Inactivos	41 (67,2)	32 (66,7)	
CHAQ		0,12 ± 0,27	0,66 ± 0,36	0,105
HAQ		0,03 ± 0,24	0,16 ± 0,26	0,447
Nº articulaciones activas	≥1	9 (14,7)	6 (12,5)	0,797
	0	52 (85,3)	42 (87,5)	
Nº de articulaciones limitadas	≥1	10 (16,4)	18 (37,5)	0,015
	0	51 (83,6)	30 (62,5)	
Nº articulaciones dolorosas	≥1	7 (11,5)	7 (14,6)	0,775
	0	54 (88,5)	41 (85,4)	
Nº de articulaciones tumefactas	≥1	8 (13,1)	6 (12,5)	1,000
	0	53 (86,9)	42 (87,5)	
PCR		0,20 ± 0,61	0,33 ± 0,36	0,052
VSG		26,6 ± 19,06	24,52 ± 19,29	0,726
JADAS 10		2,10 ± 3,39	2,10 ± 3,66	0,610
cJADAS 10		1,06 ± 2,27	1,26 ± 2,92	0,603
JADAS-PCR 10		1,09 ± 2,39	1,30 ± 2,92	0,542

Valores expresados como medias ± desviación estándar o como número de determinaciones y porcentaje. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

En los pacientes adultos con AIJ se observó un número significativamente superior de articulaciones limitadas. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el resto de variables clínicas.

Pacientes con AIJ y tratamiento con Adalimumab

Se analizaron los datos de 79 visitas médicas en las cuales se obtuvo muestras de sangre de los pacientes que recibían tratamiento con ADA. De estas visitas, 39 pertenecían a niños (N = 15 niños) y 40 pertenecían a adultos (N = 14 adultos). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes pediátricos y adultos en tratamiento con ADA en referencia a los estados de actividad de la enfermedad (mínima, moderada, alta, inactivo) y a la presencia de uveítis ($P = 0,085$ y $P = 0,201$,

respectivamente). En los pacientes adultos se observó una cifra significativamente inferior de PCR y un mayor número de articulaciones limitadas que en los pacientes pediátricos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el resto de variables tal y como se observa en la siguiente tabla.

Tabla 138. Características clínico-biológicas registradas en función de la edad: tratamiento con Adalimumab.

Variable clínica		Determinaciones en pacientes pediátricos N=39	Determinaciones en pacientes adultos N=40	P valor
VASm		0,48 ± 0,86	0,45 ± 0,97	0,741
VASp		0,32 ± 0,73	1,02 ± 1,83	0,124
Actividad AIJ	Activos	16 (41,0)	12 (30,0)	0,306
	Inactivos	23 (59,0)	28 (70,0)	
CHAQ		0,06 ± 0,28	0,01 ± 0,30	0,327
HAQ		0,13 ± 0,23	0,06 ± 0,24	0,471
Nº articulaciones activas	≥1	5 (12,8)	8 (20)	0,390
	0	34 (87,2)	32 (80)	
Nº de articulaciones limitadas	≥1	4 (10,3)	13 (32,5)	0,016
	0	35 (89,7)	27 (67,5)	
Nº articulaciones dolorosas	≥1	4 (10,3)	7 (17,5)	0,352
	0	35 (89,7)	33 (82,5)	
Nº de articulaciones tumefactas	≥1	5 (12,8)	7 (17,5)	0,562
	0	34 (87,2)	33 (82,5)	
PCR		0,35 ± 0,68	0,12 ± 0,50	0,035
VSG		21,05 ± 18,19	22,93 ± 18,90	0,812
JADAS 10		1,56 ± 2,95	2,76 ± 3,40	0,453
cJADAS 10		0,94 ± 2,28	1,90 ± 2,70	0,502
JADAS-PCR 10		1,34 ± 2,41	1,90 ± 2,71	0,818

Valores expresados como medias ± desviación estándar o como número de determinaciones y porcentaje. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Pacientes con AIJ y tratamiento con Infliximab

Se analizaron las características clínicas de los dos pacientes que recibían tratamiento con Infliximab el inicio del estudio. Se realizaron 6 visitas médicas a estos dos pacientes, 3 al paciente pediátrico y 3 al paciente en edad adulta. En 5 de las visitas médicas, ambos pacientes cumplían con los criterios de enfermedad inactiva y en una visita el paciente pediátrico cumplió con los criterios de mínima

enfermedad activa. Se observaron diferencias significativas entre los reactantes de fase aguda VSG y PCR, indicando una mayor inflamación en el niño que en el adulto. Se observó una tendencia a obtener puntuaciones más altas en el paciente pediátrico que en el adulto en las variables clínicas, aunque el resto de ellas no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 139. Variables que presentaron diferencias significativas (VSG y PCR) y diferencias en los valores de los índices JADAS entre el paciente pediátrico y el adulto en tratamiento con Infliximab.

Variable clínica	Determinaciones en pacientes pediátricos N=3	Determinaciones en pacientes adultos N=3	P valor
VSG	30,33 ± 5,86	3,00 ± 1,73	0,046
PCR	0,05 ± 0,04	0,01 ± 0,00	0,037
JADAS 10/27/71	2,36 ± 1,36	0,00 ± 0,00	0,063
cJADAS	1,33 ± 1,52	0,00 ± 0,00	0,196
JADAS-PCR	1,33 ± 1,52	0,00 ± 0,00	0,196

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de determinaciones. JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular.

4.2. CONCORDANCIA ENTRE LABORATORIOS E INTRALABORATORIO

Se determinaron las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco anti-TNF α en el laboratorio del Servicio de Inmunología del HUVH. Se repitieron aleatoriamente las determinaciones de algunas de las muestras analizadas con el fin de evaluar la consistencia de las mediciones y las posibles variaciones relacionadas con la técnica.

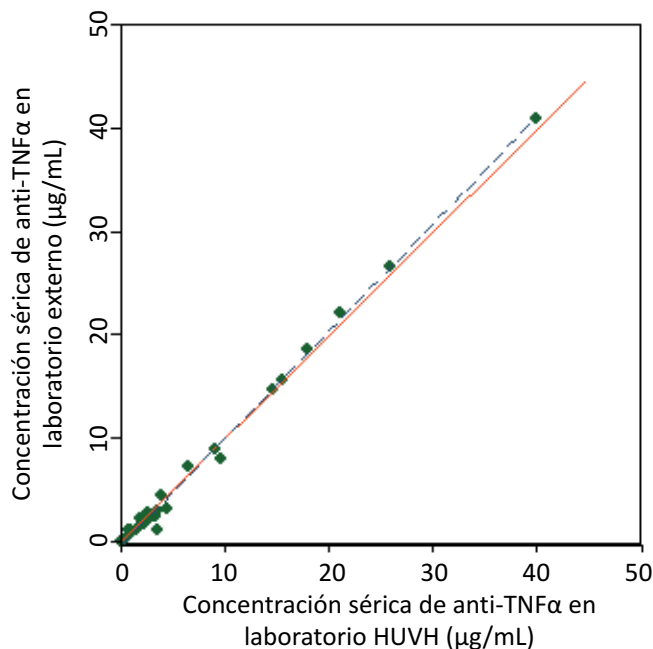
Concordancia y correlación inter-laboratorio

Se calculó la concordancia entre laboratorios, de los resultados obtenidos en las 34 muestras escogidas al azar que también fueron analizadas por un laboratorio independiente. La correlación de concordancia entre ambos laboratorios calculada entre laboratorios, con respecto a la medición de la concentración sérica de fármaco anti-TNF α indican una concordancia casi perfecta, significativa y en la que no existen sesgos:

- Coeficiente de Pearson: $r = 0,997$
- Coeficiente de correlación de concordancia Lin: $r_c = 0,997$; IC 95% [0,994;0,999]; $P = 0,000$
- Coeficiente entre $r_c / r = 0,999$

En el siguiente diagrama de dispersión se representa la concordancia entre las determinaciones de las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α entre ambos laboratorios.

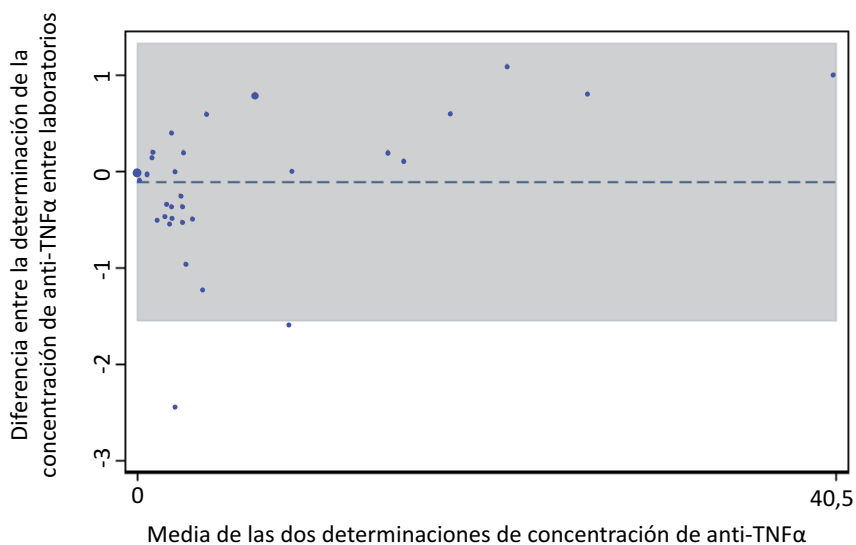
Gráfico 47. Concordancia entre las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α



La línea roja corresponde a la concordancia perfecta. La línea discontinua en verde muestra la relación y el sesgo. Los puntos verdes corresponden a las determinaciones de una misma muestra.

En el siguiente Gráfico de Bland-Altman se representan las diferencias en la concentración de fármaco anti-TNF α sérico entre ambos laboratorios.

Gráfico 48. Diferencias en las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α



El espacio en gris indica los límites de concordancia con un IC del 95%.

La correlación de concordancia entre laboratorios en la medición de las concentraciones séricas de anticuerpos antifármaco anti-TNF α fue excelente, probablemente significativa (no se pudo calcular al no haber diferencia en los resultados obtenidos) y en la que no existe evidencia de sesgo:

- Coeficiente de Pearson: $r = 1,00$
- Coeficiente correlación de concordancia Lin: $r_c = 1,00$; IC 95% [1.000;1.000]; P valor en este caso no es calculable
- Coeficiente entre $r_c / r = 1,00$

Concordancia y correlación intralaboratorio

Se repitió el análisis en nuestro laboratorio de 8 muestras previamente analizadas, elegidas al azar, realizándolo en un día diferente y con una nueva placa de ELISA de la misma casa comercial. Los resultados obtenidos indican, entre las mediciones, una muy buena correlación de concordancia intralaboratorio, la cual es significativa y en la que no existe evidencia de sesgo:

- Coeficiente de Pearson: $r = 0,960$
- Coeficiente correlación de concordancia Lin: $r_c = 0,954$; IC 95% [0,879;1,028]; $P = 0,000$
- Coeficiente entre $r_c / r = 0,993$

4.3. CONCENTRACIÓN SÉRICA DE LOS FÁRMACOS ANTI-TNF α

En el siguiente apartado se presenta el análisis del efecto de la edad de los pacientes, del tratamiento concomitante con FAMEs, de la frecuencia de administración del anti-TNF α y de la actividad clínica de la AIJ en la concentración sérica de los distintos fármacos anti-TNF α .

4.3.1. Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α en función de la edad

Se presentan por separado los resultados obtenidos al determinar las concentraciones en suero de cada uno de los fármacos anti-TNF α : ETN, ADA e IFX. 43 pacientes recibían tratamiento con ETN, 25 pediátricos y 18 adultos. En ellos, se realizaron un total de 109 determinaciones de las concentraciones séricas de ETN. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de ETN entre pacientes pediátricos y adultos. 29 pacientes recibían tratamiento con ADA, 14 adultos y 15 niños. En ellos, se realizaron un total de 79 determinaciones de las concentraciones séricas de ADA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de

ADA entre pacientes pediátricos y adultos. Por último, dos de los pacientes con AIJ recibían tratamiento con IFX. Ambos recibían también tratamiento concomitante con MTX. En las seis determinaciones realizadas en estos pacientes no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el sujeto pediátrico y el adulto.

Tabla 140. Concentraciones séricas de Etanercept, Adalimumab e Infliximab en pacientes con artritis idiopática juvenil.

	AIJ Pediátrico	AIJ Adulto	P valor
Concentración ETN µg/mL	N = 61 1,75 ± 1,01 [0,02; 4,60]	N = 48 1,49 ± 1,15 [0,02; 3,60]	0,289
Concentración ADA µg/mL	N = 39 12,52 ± 9,33 [0,00; 60,60]	N = 40 10,89 ± 6,83 [0,01; 23,50]	0,484
Concentración IFX µg/mL	N = 3 4,62 ± 2,45 [1,96; 6,78]	N = 3 2,32 ± 0,86 [1,34; 2,95]	--

Valores expresados como medias ± desviación estándar y rango [mínimo; máximo]. N, número de determinaciones.

4.3.2. Concentración sérica de los fármacos anti-TNFα en función del tratamiento concomitante con FAMEs

De las 109 determinaciones de ETN, en 52 los pacientes recibían terapia combinada con FAMEs (37 correspondían a sujetos pediátricos y 15 a adultos), y en 57 determinaciones recibían ETN en monoterapia (24 correspondían a pacientes pediátricos y 33 a pacientes adultos). No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de ETN entre los pacientes en monoterapia y los pacientes en terapia combinada con ETN y FAMEs. De las 79 determinaciones de ADA, en 70 determinaciones los pacientes recibían tratamiento combinado con FAMEs (36 corresponden a los pacientes pediátricos y 34 a los pacientes adultos). En las otras 9 determinaciones los pacientes recibían monoterapia con ADA (3 correspondían a los niños y 6 a los adultos). Se observó que los pacientes que recibían tratamiento en monoterapia con ADA presentaban concentraciones séricas de ADA significativamente inferiores que los pacientes que estaban en tratamiento combinado con ADA y con FAMEs. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas al analizar los pacientes pediátricos y los adultos por separado.

Tabla 141. Concentraciones séricas de Etanercept y Adalimumab en pacientes con artritis idiopática juvenil en función del tratamiento concomitante con FAMEs.

	N	Anti-TNF α combinado con FAMEs	Anti-TNF α monoterapia	P valor
Concentración ETN $\mu\text{g/mL}$				
AIJ Pediátricos ETN	61	N=37 1,92 \pm 8,95	N=24 1,46 \pm 10,45	0,097
AIJ Adultos ETN	48	N=15 1,28 \pm 6,26	N=33 1,58 \pm 5,97	0,518
AIJ ETN	109	N=52 1,74 \pm 8,95	N=57 1,53 \pm 9,12	0,310
Concentración ADA $\mu\text{g/mL}$				
AIJ Pediátricos ADA	39	N=36 13,38 \pm 9,33	N=3 2,20 \pm 10,89	0,139
AIJ Adultos ADA	40	N=34 11,83 \pm 6,83	N=6 5,54 \pm 4,52	0,081
AIJ ADA	79	N=70 12,63 \pm 9,33	N=9 4,43 \pm 10,33	0,023

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones.

Por último, dos de los pacientes recibían tratamiento anti-TNF α con IFX y ambos recibían tratamiento concomitante con MTX. En nuestra cohorte de pacientes con AIJ, no se identificó ningún paciente que recibiera tratamiento con Infliximab en monoterapia.

4.3.3. Concentración sérica de los fármacos anti-TNF α en función de la pauta de administración

Se analizó la variación de la concentración de los fármacos anti-TNF α en función de la pauta de administración. Estas diferencias se analizaron en pacientes pediátricos, en adultos y de forma global. La concentración sérica de ETN, disminuía significativamente a medida que disminuía la frecuencia de administración del fármaco. Es decir, se detectó una menor concentración sérica de fármaco si habían pasado más días desde que se administró la última dosis. En adultos, se observó esta misma tendencia, pero no fue estadísticamente significativa.

Tabla 142. Concentraciones séricas de Etanercept en función de la frecuencia de administración.

Concentración de ETN $\mu\text{g/mL}$	Frecuencia de administración de ETN (semanas)				P valor
	0,5	1	2	≥ 3	
AIJ Pediátricos	N=31 1,95 \pm 0,98	N=21 1,92 \pm 0,90	N=5 0,74 \pm 0,64	N=3 0,55 \pm 0,91	0,014
AIJ Adultos	N=18 1,63 \pm 1,03	N=16 1,81 \pm 1,20	N=7 1,15 \pm 1,07	N=6 0,58 \pm 1,10	0,071
AIJ ETN	N=49 1,83 \pm 1,00	N=37 1,87 \pm 1,03	N=12 0,98 \pm 0,90	N=9 0,57 \pm 0,98	0,001

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones.

La concentración sérica de ADA disminuía significativamente a medida que disminuía su frecuencia de administración. En niños, aunque se observó esta misma tendencia, la diferencia no fue estadísticamente significativa.

Tabla 143. Concentraciones séricas de Adalimumab en función de la frecuencia de administración.

Concentración de ADA $\mu\text{g/mL}$	Frecuencia de administración de ADA (semanas)			P valor
	1	2	≥ 3	
AIJ Pediátricos	N=23 15,98 \pm 17,87	N=14 8,25 \pm 6,31	N=2 5,50 \pm 1,27	0,752
AIJ Adultos	N=16 16,01 \pm 7,22	N=16 8,47 \pm 6,41	N=8 4,43 \pm 3,64	0,002
AIJ ADA	N=39 15,99 \pm 14,34	N=30 8,37 \pm 6,25	N=10 4,64 \pm 3,27	0,012

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones.

Tal y como se ha comentado previamente en el presente apartado, la concentración sérica de IFX no presentó diferencias entre el paciente pediátrico y el adulto. A pesar de ello, la media de las determinaciones de la concentración sérica de IFX fue discretamente superior en el paciente pediátrico que en el adulto (4,62 $\mu\text{g/mL}$ vs 2,32 $\mu\text{g/mL}$). El paciente adulto recibía la perfusión de IFX cada 8 semanas y el paciente pediátrico cada 6 semanas.

4.3.4. Correlación entre las variables clínicas y las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α

Se analizaron por separado los pacientes en tratamiento con ETN y los pacientes en tratamiento con ADA. Posteriormente, se analizaron a todos los pacientes en tratamiento con anti-TNF α conjuntamente. Se investigó si existía una correlación entre las concentraciones séricas del anti-TNF α

y las variables clínicas: VAS médico, VAS paciente, VAS padres paciente, CHAQ, HAQ, VSG, PCR, JADAS 10/27/71, cJADAS 10/27/71, JADAS-PCR 10/27/71, actividad/inactividad de la AIJ, y según el número de articulaciones activas, dolorosas, tumefactas y limitadas.

En los pacientes que recibían tratamiento con **Etanercept** se observó una muy baja o una nula correlación entre las concentraciones séricas de ETN y las variables clínicas. Los resultados obtenidos en los coeficientes de Spearman variaron entre -0,157 a 0,079. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa. Se analizó el grupo de pacientes pediátricos y los adultos en tratamiento con ETN por separado. En ambas poblaciones, la correlación entre las variables clínicas y las concentraciones séricas de ETN fue muy baja o nula.

En los pacientes en tratamiento con **Adalimumab** se observó una muy baja o una nula correlación entre las concentraciones séricas de ADA y las variables clínicas. Los coeficientes de Spearman variaban de -0,157 a 0,077. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa. Se analizó a la población pediátrica y adulta en tratamiento con ADA por separado. En ambas poblaciones, la correlación entre las variables clínicas y las concentraciones séricas de ADA fue muy baja o nula.

En una fase posterior se investigó si las variables clínico-biológicas presentaban diferencias estadísticamente significativas en los pacientes que tenían concentraciones séricas de fármaco detectables (positivos), comparados con los pacientes en los que las concentraciones séricas de fármaco fueron indetectables (negativos). La concentración sérica de fármaco anti-TNF α fue positiva en 177 determinaciones y negativa en 17 determinaciones. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el valor de las variables clínicas entre los pacientes con concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α detectables comparados con los pacientes con concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α indetectables.

De los pacientes en tratamiento con ETN, 7 de ellos presentaron concentraciones indetectables de ETN en alguna de las determinaciones (en total 9 determinaciones con concentraciones de ETN negativas). De los pacientes en tratamiento con ADA, 5 de ellos presentaron concentraciones indetectables de ADA en alguna de las determinaciones (en total 8 determinaciones con concentraciones de ADA negativas). Cabe destacar que las concentraciones de ADA fueron positivas a título bajo sólo en 4 de las determinaciones positivas. Ninguno de los dos pacientes en tratamiento con IFX presentaron

concentraciones séricas de fármaco negativas. En la siguiente tabla se presentan las diferencias observadas en la actividad de la enfermedad y en el número de articulaciones afectadas según si las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α habían sido detectables o indetectables.

Tabla 144. Número de articulaciones afectadas en función de las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α .

Variables clínicas		Fármaco indetectable N=17	Fármaco detectable N=177	P valor
Nº articulaciones activas	≥1	4 (23,53)	25 (14,45)	0,301
	0	13 (76,47)	148 (85,55)	
Nº articulaciones limitadas	≥1	3 (17,65)	36 (20,81)	0,532
	0	13 (82,35)	137 (79,91)	
Nº articulaciones dolorosas	≥1	2 (11,76)	20 (11,56)	1,000
	0	15 (88,24)	153 (88,44)	
Nº articulaciones tumefactas	≥1	4 (23,53)	22 (12,72)	0,259
	0	13 (76,47)	151 (87,28)	

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones.

En la siguiente tabla se presentan los resultados de la variación del resto de las variables clínico-biológicas según la presencia de fármaco anti-TNF α fuera detectable o indetectable.

Tabla 145. Variables clínico-biológicas en función de las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α .

Variables clínicas		Fármaco indetectable N=17	Fármaco detectable N=177	P valor
Actividad AIJ	Activos	5 (29,41)	58 (33,53)	1,000
	Inactivos	12 (70,59)	115 (66,47)	
VASm		0,47 \pm 0,72	0,30 \pm 0,71	0,478
VASp		0,12 \pm 1,32	0,68 \pm 1,29	0,073
VAS padres del paciente		0,05 \pm 1,17	0,74 \pm 1,38	0,125
CHAQ		0,03 \pm 0,07	0,11 \pm 0,29	0,423
VSG		17,41 \pm 11,42	24,40 \pm 19,72	0,246
PCR		0,19 \pm 0,32	0,30 \pm 0,97	0,944
HAQ		0,00 \pm 0,00	0,12 \pm 0,24	0,083
JADAS 10/71		1,34 \pm 2,27	2,28 \pm 3,03	0,176
JADAS 27		1,28 \pm 2,08	2,28 \pm 3,03	0,173
cJADAS 10/71		1,03 \pm 1,73	1,27 \pm 2,28	0,646
cJADAS 27		0,97 \pm 1,69	1,26 \pm 2,26	0,648
JADAS-PCR 10/71		1,05 \pm 1,78	1,38 \pm 1,75	0,537
JADAS-PCR 27		0,99 \pm 1,75	1,37 \pm 1,75	0,540

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

4.4. CONCENTRACIÓN SÉRICA DE ANTICUERPOS ANTIFÁRMACO ANTI-TNF α

A continuación, se presentan los resultados del análisis de las concentraciones séricas de anticuerpos antifármaco observadas con las distintas terapias anti-TNF α .

4.4.1. Anticuerpos antifármaco con las distintas terapias anti-TNF α

En las 109 determinaciones correspondientes a pacientes que recibían tratamiento con ETN, no se observó la presencia de anticuerpos anti-ETN detectables. Tampoco se observaron anticuerpos anti-IFX en las 6 determinaciones correspondientes a los dos pacientes que recibían terapia con IFX. Se detectaron anticuerpos antifármaco en los pacientes que recibían tratamiento con ADA. De las 79 determinaciones, se detectaron anticuerpos antifármaco en 9 de ellas (11,39%). Las 9 determinaciones en las que se detectaron anticuerpos anti-ADA correspondían a 5 pacientes (17% respecto al total de 29 pacientes en tratamiento con ADA). Por lo tanto, en el 17% de los pacientes que recibían tratamiento con ADA se objetivaron concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA detectables en una o más determinaciones durante el seguimiento.

4.4.2. Características de los pacientes con anticuerpos anti-ADA

Los 5 pacientes en quienes se detectó la presencia de anticuerpos anti-ADA pertenecían al subgrupo de AIJ oligoarticular y todos eran ANA positivo. Uno de ellos era de género masculino y 4 de género femenino. El subtipo de AIJ en dos de ellos era la AIJ oligoarticular extendida y en 3 de ellos una AIJ oligoarticular persistente.

Tres de los 5 pacientes con concentraciones detectables de anticuerpos anti-ADA pertenecían al grupo pediátrico y dos al grupo adulto. Entre los tres niños y los dos adultos no se observaron diferencias en cuanto a la edad de inicio de la AIJ, el subgrupo de AIJ ni tampoco en cuanto a la presencia de afectación ocular. Se compararon las características clínicas de los 5 pacientes en quienes se detectaron anticuerpos anti-ADA en por lo menos una determinación, con los 24 pacientes en quienes las concentraciones de anticuerpos anti-ADA fueron indetectables. En los pacientes con

concentraciones detectables de anticuerpos anti-ADA se observó un inicio de la enfermedad más temprano y un mayor tiempo de evolución de la AIJ:

- Edad de inicio: $2,52 \pm 4,24$ años vs $5,59 \pm 4,41$ años ($P = 0,158$)
- Años de evolución: $13,91 \pm 6,75$ años vs $9,62 \pm 7,01$ años ($P = 0,126$)

Entre los pacientes que produjeron y los que no produjeron anticuerpos anti-ADA no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las características propias de la AIJ.

4.4.3. Características clínicas en relación a la presencia de anticuerpos anti-ADA

El análisis de las diferencias en las variables clínicas en relación a la presencia de anticuerpos antifármaco, se realizó incluyendo sólo a los pacientes en tratamiento con ADA (N=79 determinaciones). En la siguiente tabla se presentan las diferencias observadas en el número de articulaciones afectadas según si los anticuerpos anti-ADA habían sido detectables o indetectables.

Tabla 146. Articulaciones afectadas en función de la presencia de anticuerpos anti-ADA.

Variable clínica		Anticuerpos anti-ADA	Anticuerpos anti-ADA	P valor
		negativos N=70	positivos N=9	
Nº articulaciones activas	0	57 (83,82)	7 (77,78)	0,643
	≥1	11 (16,18)	2 (22,22)	
Nº articulaciones limitadas	0	56 (82,35)	6 (66,67)	0,366
	≥1	12 (17,65)	3 (33,33)	
Nº articulaciones dolorosas	0	59 (86,76)	7 (77,78)	0,608
	≥1	9 (13,24)	2 (22,22)	
Nº articulaciones tumefactas	0	58 (85,29)	7 (77,78)	0,625
	≥1	10 (14,71)	2 (22,22)	

Valores expresados como medias \pm desviación estándar. N, número de determinaciones.

En la siguiente tabla se presentan las diferencias en los resultados del resto de las variables clínicas según la presencia de los anticuerpos anti-ADA.

Tabla 147. Variables clínico-biológicas en función de la presencia de anticuerpos anti-ADA.

Variable clínica		Anticuerpos anti-ADA negativos N=70	Anticuerpos anti-ADA positivos N=9	P valor
Actividad AIJ	Activos	24 (35,29)	3 (33,33)	1,000
	Inactivos	44 (64,71)	6 (66,67)	
VASm		0,41 ± 0,71	0,78 ± 0,68	0,452
VASp		0,75 ± 1,32	0,22 ± 1,12	0,366
VASpp		0,61 ± 1,37	0,07 ± 0,18	0,394
CHAQ		0,05 ± 0,13	0,05 ± 0,10	0,564
HAQ		0,08 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,243
VSG		22,03 ± 19,71	21,89 ± 12,02	0,489
PCR		0,22 ± 1,47	0,40 ± 0,49	0,059
JADAS 10/71		2,21 ± 3,48	2,09 ± 2,70	0,968
JADAS 27		2,21 ± 3,48	1,98 ± 2,68	0,954
cJADAS 10/71		1,42 ± 2,65	1,50 ± 2,20	0,926
cJADAS 27		1,42 ± 2,65	1,39 ± 2,17	0,903
JADAS-PCR 10/71		1,64 ± 2,91	1,54 ± 2,39	0,939
JADAS-PCR 27		1,64 ± 2,91	1,43 ± 2,37	0,907

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de determinaciones. CHAQ, *Childhood Health Assessment Questionnaire*; HAQ, *Health Assessment Questionnaire*; JADAS, *Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; cJADAS, *clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score*; PCR, proteína C reactiva; VASm, valoración global de la actividad según el médico; VASp, valoración global de la actividad según el paciente; VASpp, valoración global de la actividad según los padres del paciente; VSG, velocidad de sedimentación globular.

En las visitas en las que se detectaron anticuerpos anti-ADA se observaron mayores puntuaciones en el VAS del médico y en la PCR, y menores puntuaciones en el VAS del paciente y de los padres del paciente. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

4.4.4. Correlación entre las concentraciones séricas de Adalimumab y de anticuerpos anti-ADA

Se analizaron las diferencias en la concentración sérica del fármaco anti-TNF α ADA, entre las muestras con anticuerpos anti-ADA detectables (N=9) y las muestras con anticuerpos anti-ADA indetectables (N=70). En las muestras con anticuerpos anti-ADA positivos, la concentración sérica de fármaco ADA observada fue significativamente inferior con respecto a las muestras con anticuerpos anti-ADA negativos.

Sólo en una de las 9 muestras con anticuerpos anti-ADA detectables se observó una baja concentración de fármaco (0,4 μ g/mL). En las otras 8 determinaciones la concentración sérica de ADA fue

indetectable (concentraciones entre 0 y < 0,01 µg/mL). Sin embargo, en las 70 muestras de pacientes en tratamiento con ADA en las cuales no se observaron concentraciones detectables de anticuerpos anti-ADA, todas ellas presentaron concentraciones detectables de ADA. En 3 de estas 70 muestras la concentración sérica de fármaco ADA fue baja (0,03 µg/mL, 0,2 µg/mL y 0,6 µg/mL). En las otras 67 muestras, la concentración sérica de ADA fue claramente positiva (concentraciones > 0,8 µg/mL). Las medias en las concentraciones séricas de ADA también fueron significativamente diferentes en función de la presencia de anticuerpos anti-ADA.

Tabla 148. Concentración sérica de Adalimumab en función de los anticuerpos anti-ADA.

Concentración sérica de ADA	Anticuerpos anti-ADA negativos N=70	Anticuerpos anti-ADA positivos N=9	P valor
Concentración de ADA µg/mL	13,19 ± 9,33	0,05 ± 9,96	0,0000
Negativa < 0,024 µg/mL	0 (0)	8 (88,89)	
Positiva débil ≥ 0,024 – 0,80 µg/mL	3 (4,29)	1 (11,11)	0,0000
Positiva > 0,80 µg/mL	67 (95,71)	0 (0)	

Valores expresados como medias ± desviación estándar o número de determinaciones y porcentaje.

4.4.5. Anticuerpos anti-ADA en función del tratamiento concomitante con FAMES

De las 79 muestras de pacientes que recibían tratamiento con ADA, en 70 de ellas (88,61%) se realizaba un tratamiento combinado con ADA y FAMES, y en 9 de ellas (11,39%) monoterapia con ADA. Los FAMES utilizados en combinación al tratamiento con ADA fueron los siguientes:

- MTX en 29 determinaciones (41,43%)
- LFN en 28 determinaciones (40%)
- MCF en 10 determinaciones (14,29%)
- AZA en 6 determinaciones (8,57%)
- SSZ en 5 determinaciones (7,14%)
- TCL en 3 determinaciones (4,29%)

De estas 70 determinaciones, en 11 de ellas el paciente recibía terapia anti-TNFα con ADA combinada con 2 FAMES. Las combinaciones de FAMES pautadas fueron las siguientes:

- MTX y LFN en 6 determinaciones

- MTX y MCF en 3 determinaciones
- LFN y TCR en 3 determinaciones

En la siguiente tabla se presentan los resultados referentes a las determinaciones en las que los pacientes recibían monoterapia con ADA o terapia combinada con ADA y FAMEs, y la concentración sérica de anticuerpos anti-ADA. Se detectaron anticuerpos anti-ADA en un porcentaje significativamente superior de las muestras en las que los pacientes recibían monoterapia con ADA, en comparación con las muestras en las que los pacientes recibían terapia combinada con ADA y FAMEs.

Tabla 149. Anticuerpos anti-ADA positivos en función del esquema de tratamiento.

Tratamiento con ADA	Anticuerpos anti-ADA negativos N=70	Anticuerpos anti-ADA positivos N=9	P valor
Tratamiento en monoterapia (N=9)	6 (66,67)	3 (33,33)	0,028
Tratamiento combinado con FAMEs (N=70)	64 (91,43)	6 (8,57)	

Valores expresados como número de determinaciones y porcentaje. ADA, Adalimumab; FAMEs, fármacos modificadores de la enfermedad.

En las 6 determinaciones en las que los pacientes produjeron anticuerpos anti-ADA a pesar de recibir tratamiento concomitante con FAMEs, los FAMEs utilizados fueron: el MTX en 3 de ellas y la LFN en las otras 3 determinaciones.

4.4.6. Inmunofenotipo celular en función de los anticuerpos anti-ADA

Se investigó si los pacientes en tratamiento con Adalimumab con anticuerpos antifármaco positivos presentaban diferencias significativas en su inmunofenotipo linfocitario con respecto a los pacientes con anticuerpos antifármaco negativos. Tal y como ya se ha comentado, de los 29 pacientes en tratamiento con ADA 5 de ellos produjeron anticuerpos anti-ADA. Tres de los pacientes no pudieron ser incluidos en esta parte del análisis porque no se realizaron el estudio de las subpoblaciones linfocitarias. Ninguno de estos tres pacientes presentó concentraciones séricas detectables de anticuerpos anti-ADA.

La edad media de los pacientes con concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA detectables (N=5) fue de $16,8 \pm 8,31$ años y la de los pacientes sin anticuerpos anti-ADA (N=21) $16,57 \pm 5,98$ años. No

hubo diferencias significativas en su edad, siendo la $P = 0,922$. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las subpoblaciones linfocitarias entre los pacientes con concentraciones séricas detectables o indetectables de anticuerpos anti-ADA. Se observaron diferencias no significativas en algunas de las subpoblaciones linfocitarias que se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 150. Inmunofenotipo en los pacientes con artritis idiopática juvenil en tratamiento con Adalimumab en función de los anticuerpos anti-ADA.

Poblaciones celulares	AIJ en tratamiento con ADA (N=26)		P valor
	anticuerpos anti-ADA positivos N=21	anticuerpos anti-ADA negativos N=5	
Células T CD4+ Th1-Th17 ($10^3/\mu\text{L}$)	0,144 ± 0,062 [0,04; 0,259]	0,083 ± 0,033 [0,047; 0,131]	0,047
Células T CD4+ Th1-Th17 (%)	11,948 ± 4,777 [5,700; 20,600]	8,180 ± 3,588 [2,400; 11,100]	0,216
Monocitos CD16+ ($10^3/\mu\text{L}$)	0,030 ± 0,028 [0,002; 0,112]	0,015 ± 0,016 [0,005; 0,044]	0,126
Monocitos CD16+ (%)	4,581 ± 3,924 [0,500; 14,500]	1,780 ± 1,108 [1,000; 3,700]	0,037
Células B IgM-IgD- CD27-CD21- ($10^3/\mu\text{L}$)	0,001 ± 0,001 [0,000; 0,004]	0,001 ± 0,002 [0,000; 0,005]	0,057
Células B IgM-IgD- CD27-CD21- (%)	2,520 ± 1,717 [0,600; 7,800]	0,880 ± 0,630 [0,000; 1,500]	0,025

Valores expresados como medias ± desviación estándar y rango [mínimo; máximo]. N, número de pacientes. ADA, Adalimumab.

4.5. CORRELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD INFLAMATORIA DETERMINADA POR ECOGRAFÍA Y LA RESPUESTA INMUNOGÉNICA

Se calculó la correlación entre los dos índices ecográficos (índice-EG e índice-PD) y las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco anti-TNF α . Los resultados obtenidos se presentan a continuación.

Concentración sérica de fármacos anti-TNF α e índices ecográficos

Dado que las concentraciones de los fármacos anti-TNF α diferían en función del fármaco administrado, se calcularon las correlaciones en función de si el paciente recibía ETA o ADA.

Se analizaron los datos de las 109 visitas médicas realizadas a pacientes que recibían tratamiento con Etanercept en quienes se obtuvo muestra sanguínea y se realizó la exploración ecográfica poliarticular. Se observó una baja o muy baja correlación entre las concentraciones séricas de ETN y los índices ecográficos poliarticulares índice-EG e índice-PD. Los resultados obtenidos en los coeficientes de Spearman variaron entre -0,030 y 0,249. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa. Se analizó el grupo de pacientes pediátricos y adultos en tratamiento con ETN por separado. En ambas poblaciones, la correlación entre los dos índices ecográficos y las concentraciones séricas de ETN fue baja o muy baja.

Se analizaron los datos de las 79 visitas médicas realizadas a pacientes en tratamiento con Adalimumab en quienes se obtuvo muestra sanguínea y se realizó la exploración ecográfica poliarticular. Se observó una baja o muy baja correlación entre las concentraciones séricas de ADA y los índices ecográficos poliarticulares índice-EG e índice-PD. Los resultados obtenidos en los coeficientes de Spearman variaron entre -0,385 y 0,065. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa. Se analizó el grupo de pacientes pediátricos y el grupo de pacientes adultos en tratamiento con ADA por separado. En ambas poblaciones, la correlación entre los dos índices ecográficos y las concentraciones séricas de ADA fue baja o muy baja.

Por último, se analizó a todos los pacientes en tratamiento anti-TNF α según si presentaban concentraciones séricas de fármaco detectables o indetectables y se observó que no había variaciones significativas en la puntuación de los índices ecográficos en función de si las concentraciones séricas de fármaco eran detectables o indetectables.

Concentración sérica de anticuerpos antifármaco anti-TNF α e índices ecográficos

Sólo se detectaron concentraciones séricas de anticuerpos antifármaco anti-TNF α , en algunos de los pacientes que recibían tratamiento con ADA. Por este motivo, en el presente apartado, se incluyeron sólo a los pacientes que recibían tratamiento con ADA. Se calculó la correlación entre los dos índices ecográficos poliarticulares (índice-EG e índice-PD) y las concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA.

Al analizar conjuntamente a todos los pacientes en tratamiento con ADA se observó una baja o muy baja correlación entre las concentraciones séricas de anticuerpo anti-ADA y los índices ecográficos poliarticulares índice-EG e índice-PD. Los resultados obtenidos en los coeficientes de Spearman

variaron entre 0,279 y 0,213. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa. Se analizó el grupo de pacientes pediátricos y el grupo de pacientes adultos en tratamiento con ADA por separado. En los pacientes adultos la correlación entre los dos índices ecográficos y las concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA fue baja o muy baja. Los resultados obtenidos en los coeficientes de Spearman variaron entre 0,206 y -0,117. En todos los rangos del coeficiente de Spearman estaba incluido el valor 0 y ninguna de las *P* calculadas fue significativa.

Sin embargo, en los pacientes pediátricos se obtuvieron resultados diferentes. La correlación entre los dos índices ecográficos y las concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA fue:

- baja para el índice ecográfico EG: coeficiente de Spearman = 0,362 (rango 0,043 – 0,614; *P* = 0,028)
- moderada para el índice ecográfico PD: coeficiente de Spearman = 0,641 (rango 0,400 – 0,799; *P* = 0,000)

Se analizó también la variación en las puntuaciones de los índices ecográficos según la presencia de anticuerpos anti-ADA. Las diferencias observadas no fueron significativas, aunque se observó una tendencia a presentar mayores puntuaciones en los pacientes con concentraciones séricas detectables de anticuerpos anti-ADA. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 151. Índices ecográficos poliarticulares según la presencia de anticuerpos anti-ADA.

	Anticuerpos anti-ADA negativos N=70	Anticuerpos anti-ADA positivos N=9	<i>P</i> valor
Índice ecográfico EG	0,72 ± 1,89	1,44 ± 2,19	0,056
Índice ecográfico PD	0,07 ± 0,32	0,22 ± 0,44	0,447

Valores expresados como medias ± desviación estándar. N, número de determinaciones.

DISCUSIÓN

1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS SUJETOS EN ESTUDIO

La cohorte de pacientes incluidos en el presente proyecto de tesis doctoral constaba de 106 pacientes, 68 pediátricos y 38 adultos afectados de AIJ. Todos ellos recibían tratamiento farmacológico con MTX, o bien con terapias anti-TNF α . Estos pacientes no constituyen la totalidad de la cohorte de AIJ de nuestro hospital. Los pacientes del estudio son los que cumplían con todos los criterios de inclusión y de exclusión especificados previamente. De aquí en adelante, cuando hagamos referencia a “la cohorte”, nos referiremos específicamente al grupo de pacientes incluidos en el estudio.

A continuación, se discuten las características más relevantes, en comparación con otros estudios. También se analizan las diferencias clínicas observadas entre los pacientes pediátricos y adultos, puesto que serán de importancia en la interpretación de los resultados referentes al análisis de la ecografía, de la inmunogenicidad y del inmunofenotipo linfocitario.

1.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

El 67,9% de los pacientes eran de género femenino, un porcentaje similar al observado en otras series de AIJ [141, 460, 461]. La media de tiempo de evolución de la AIJ fue de 9,09 años, 5,56 años para los pacientes pediátricos y 15,26 años para los adultos. Esta diferencia refleja el tiempo de seguimiento en ambos grupos que, lógicamente, es mayor en los adultos. La mayor parte de los pacientes pediátricos llevaba varios años de evolución.

En cuanto al subtipo de enfermedad según la ILAR, la mayor parte de ellos estaban clasificados como una AIJ oligoarticular (54,7%), seguido de la AIJ poliarticular FR negativa (19,8%) y la AIJ ARE (7,6%). Los distintos porcentajes de los subtipos de AIJ observados en nuestra cohorte no presentaron diferencias con los estudios epidemiológicos previamente realizados en nuestro medio [3, 462]. Al comparar nuestros datos con los de otros países en los que la población es de predominio caucásico, tampoco se observaron diferencias [461, 463, 464]. Sólo en la cohorte perteneciente a Norte-América CARRA (*Childhood Arthritis & Rheumatology Research Alliance*) se observó un mayor porcentaje de pacientes con AIJ poliarticular con respecto a nuestros pacientes [465]. El 70,8% de los pacientes presentaba positividad de los ANA. Datos similares se han reportado en cohortes de predominio

caucásico, con claras diferencias con respecto a series de pacientes en las que predominan otras etnias [3, 466, 467].

En relación a la afectación ocular, el 21,7% de nuestros pacientes presentó por lo menos un episodio de uveítis durante el tiempo de evolución, antes del inicio del estudio. Dicho porcentaje es similar a los datos previamente publicados [191, 468]. El tipo de uveítis registrada con mayor frecuencia en nuestros pacientes fue la uveítis crónica anterior, de modo similar a lo observado en otros grupos de pacientes [191].

1.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADULTOS

Al comparar los pacientes pediátricos y adultos se observaron algunas diferencias significativas en las características clínicas. Lógicamente, el tiempo de evolución y la edad de los pacientes fue distinto, dado que la variable edad clasifica los dos grupos.

En cuanto a la clasificación de la AIJ, en los pacientes adultos se observó un mayor porcentaje de pacientes con AIJ de curso poliarticular y del subtipo AIJ ARE. En el grupo pediátrico, en cambio, se identificó un mayor porcentaje de pacientes del subtipo oligoarticular. Esta diferencia puede explicarse por varios motivos. Por un lado, todos los pacientes incluidos en el estudio son seguidos en consultas especializadas de un hospital universitario de tercer nivel. Todos los niños siguen los controles médicos en el hospital. Entre los 16 y los 18 años, a todos los pacientes se les ofrece seguir los controles de su enfermedad en la consulta especializada de transición, situada también en el hospital. La cita es dada por el propio médico, que no sólo ha sido su médico especialista durante la edad pediátrica, sino que también seguirá siéndolo en dicha consulta de transición. Con el cambio de tipo de consulta, hay pacientes que se pierden del seguimiento por diversas causas:

- Prefieren seguir los controles en centros más cercanos a su domicilio.
- Abandonan los controles médicos durante largos períodos por cuestiones laborales, familiares o personales.
- Abandonan el seguimiento al entrar en remisión.
- Otros motivos (p.ej. cambio de residencia)

En un estudio realizado en el año 2010, se había puesto de manifiesto que el 52% de los pacientes pediátricos con AIJ no seguían los controles en las consultas de transición al llegar a la edad adulta [469]. También en este estudio se observó que el mayor porcentaje de pacientes que abandonaban los controles especializados en la transición, eran los que se encontraban en remisión clínica. Teniendo en cuenta que el subtipo de AIJ oligoarticular es el que alcanza la remisión con mayor frecuencia al llegar a la edad adulta (entre el 47% y el 60% de los pacientes), parece razonable considerar que la mayor parte de pacientes que abandonan los controles en la etapa de transición pertenezcan a este subgrupo [469, 470].

En general, podríamos concluir que aquellos pacientes que al llegar a la edad adulta dejan de seguir controles en un hospital de referencia, son pacientes con formas menos graves de AIJ. En consecuencia, de forma no intencional, nuestros pacientes adultos seguidos en la consulta externa de transición serían más graves porque, no sólo su médico, sino también el propio paciente, considera que debe seguir controles en un hospital altamente especializado. Este hecho explicaría por qué en nuestro grupo de adultos jóvenes predominan la AIJ de curso poliarticular y la AIJ ARE, dado que ambas son formas clínicas de peor pronóstico [220, 224, 471].

Este mayor número de pacientes adultos con AIJ ARE, junto con la menor proporción de la forma oligoarticular, condicionó también diferencias en cuanto a la edad de diagnóstico de la AIJ entre niños y adultos. Los pacientes del subtipo AIJ oligoarticular, inician los síntomas en edades más tempranas y los pacientes con AIJ ARE en edades más tardías [3, 464]. Por tanto podemos considerar que en nuestros pacientes adultos se constató una edad al inicio de los síntomas y al diagnóstico de la AIJ, significativamente mayor que en los pacientes pediátricos.

Se observó una tendencia estadística no significativa a presentar un mayor retraso en el diagnóstico en los pacientes adultos, con respecto a los pediátricos. Los motivos por los cuales los pacientes pediátricos fueron diagnosticados en un menor lapso de tiempo, probablemente sean el mejor conocimiento de la enfermedad entre la comunidad de pediatras y el establecimiento de consultas especializadas de derivación rápida en Reumatología Pediátrica.

La Reumatología Pediátrica es una especialidad relativamente nueva, que no empezó a establecerse hasta finales de los años 60 y durante los años 70 [472, 473]. En este sentido, es significativo que hasta 1959 los libros de texto de pediatría no separaban las enfermedades reumáticas de inicio en la infancia

de la fiebre reumática [472]. El libro de texto más relevante en la literatura anglosajona dedicado a la Reumatología Pediátrica, editado por el Dr. James Cassidy, no fue publicado hasta 1982 [473]. La mayor parte de las sociedades científicas actuales fueron fundadas entre 1981 y principios del 2000 [473]. Previamente a estas fechas, existían grupos de trabajo, comités y subcomités dentro de otras sociedades científicas [472]. Por ejemplo, el subcomité "*JRA Criteria Subcommittee of the Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association*" fue constituido en el año 1971, dentro de la *American Rheumatism Association*. En España, el primer grupo de trabajo de Reumatología Pediátrica fue creado en 1991, pero no sería hasta 1998 cuando se fundara la Sociedad Española de Reumatología Pediátrica [474]. Por lo tanto, parece bastante evidente que hace 25 años la AIJ era una enfermedad menos conocida que actualmente. Es lógico pensar que el menor conocimiento de las enfermedades reumáticas de inicio en la infancia, retrasara el proceso diagnóstico de los pacientes que actualmente son adultos.

En la primera visita del estudio, 68 pacientes (64,2%) cumplían criterios de inactividad de la AIJ y, de los 38 pacientes activos, 15 (39,5%) de ellos cumplían criterios de mínima actividad. La mayoría de los pacientes estaban inactivos porque este estudio fue realizado en condiciones de práctica clínica habitual y el objetivo terapéutico, es mantener a los pacientes en remisión o, en su defecto, en el menor estado de actividad posible. Se comparó la situación clínica de la primera visita del estudio de los pacientes pediátricos y los adultos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad clínica, ni en los reactantes de fase aguda, ni tampoco en la mayor parte de las variables clínicas. Las puntuaciones del CHAQ, del HAQ y del VAS de los padres del paciente, fueron superiores, aunque de forma no significativa, en los adultos. Las puntuaciones de los índices JADAS también fueron ligeramente superiores en los adultos pero, de nuevo, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Las únicas diferencias significativas se observaron en el número de articulaciones limitadas y en el VAS del paciente, que fueron superiores en los pacientes adultos.

La razón que explica este mayor número de articulaciones limitadas en adultos, sin que se observen diferencias en el número de articulaciones activas o tumefactas, ni tampoco un mayor número de pacientes activos, es debido al daño articular acumulado que es mayor, como cabía esperar, en los pacientes adultos. Este hecho sería debido a dos factores fundamentales: a) el mayor tiempo de evolución de los pacientes adultos (cuanto más tiempo persista la artritis mayor riesgo habría de ocasionar daño articular); b) al más rápido acceso a las terapias de los pacientes pediátricos (aspecto que se explica en profundidad en el próximo apartado). El hecho de que haya una diferencia en el VAS

del paciente, pero no en el VAS del médico, ni en el estado o índices de actividad de la AIJ, indicaría que el VAS del médico refleja de forma más fidedigna la inflamación asociada a la enfermedad y que, en cambio, el VAS del paciente estaría más influido por factores más subjetivos, o bien asociados a la cronicidad.

Debido al mejor conocimiento de la enfermedad, a las nuevas pautas de tratamiento y a los nuevos tratamientos biológicos, el pronóstico a largo plazo de los pacientes con AIJ ha mejorado en los últimos años. Los pacientes que pertenecen a la que podríamos denominar, la “era de los biológicos”, presentan una mejor evolución y una mejor calidad de vida, que lo pacientes tratados con FAMEs pertenecientes a la etapa previa [215-217, 475]. Además, varios estudios han demostrado que los fármacos biológicos son más eficaces previniendo el daño radiológico que los FAMEs [214]. Todos los pacientes pediátricos de nuestra cohorte pertenecen a la “era de los biológicos”, mientras que algunos de los adultos provienen de la etapa anterior en la que se utilizaban sólo inmunomoduladores sintéticos. Por lo tanto, resulta comprensible que el daño y las secuelas observadas en los niños de nuestro estudio, sean menores a las observadas en adultos. En el siguiente apartado se comentarán y razonarán los motivos por los cuales los pacientes pediátricos tuvieron un acceso a las distintas terapias inmunomoduladoras de forma más temprana que los adultos.

Los distintos índices JADAS merecen un comentario aparte. El índice JADAS, publicado en el año 2009, es un índice compuesto validado, creado con el objetivo de medir el grado de actividad de la AIJ [117]. Este índice ha supuesto un avance significativo en la evaluación de los pacientes con AIJ [476]. El índice JADAS original contiene la VSG, como parte de los parámetros a puntuar [117]. Este índice presenta una buena correlación con los distintos estados de actividad de la AIJ [118, 120, 477, 478] y con los grados de respuesta ACR [477]. También se han definido los puntos de corte del índice JADAS para indicar mejoría clínica [479]. En el año 2012, se publicó una versión del índice JADAS que contenía la PCR como reactante de fase aguda, en vez de la VSG [122]. Posteriormente, en el año 2013, se publicó una tercera versión del índice JADAS, esta vez basada únicamente en los criterios clínicos, sin datos de laboratorio [119]. Ambos índices demostraron su validez y una buena correlación con el índice JADAS original [119, 122]. Los 3 índices JADAS (VSG, PCR y clínico) contemplan, a su vez, 3 categorías (JADAS 10, 27 y 71) que se establecieron según el número de articulaciones evaluadas (10, 27 o 71 articulaciones). En los estudios en los que se han evaluado los índices de 10, 27 o 71 articulaciones, no se han observado grandes diferencias entre ellos, en cuanto a su capacidad de identificar distintos estados de actividad clínica y la respuesta al tratamiento [119, 477, 479].

En nuestro estudio, de forma similar a lo observado en estudios previos, la correlación entre los índices JADAS JADAS-VSG, JADAS-PCR y JADAS clínico fue muy buena (datos no presentados). Tal y como ya se había observado, las puntuaciones del JADAS clínico fueron inferiores a las del JADAS-PCR y JADAS-VSG, lo cual es lógico porque este índice suma un parámetro menos que los otros dos. En nuestro estudio, se observaron mayores puntuaciones con el JADAS VSG que con el JADAS PCR. Este hecho no se observó en el estudio de validación del JADAS PCR [122]. En dicho estudio, los valores del JADAS VSG y JADAS PCR eran muy similares, y los autores incluso sugerían que se podrían utilizar, indistintamente, cualquiera de los dos reactantes de fase aguda para calcularlos. La diferencia observada en nuestro estudio podría ser debida, al menos en parte, a que la técnica utilizada en nuestro laboratorio es especialmente sensible en la detección de la VSG. Por otro lado, hasta donde conocemos, el JADAS PCR no ha sido utilizado en otros proyectos salvo el de validación, ni tampoco ha sido nuevamente comparado con el JADAS VSG en otras cohortes.

Como último dato referente al índice JADAS, si tenemos en cuenta las diferencias que hemos observado entre valorar 10, 27 y 71 articulaciones, podemos afirmar que no constituyen diferencias relevantes. Con la evaluación de 27 articulaciones se obtuvieron puntuaciones algo inferiores en algunos pacientes pero, analizando el número global, no son diferencias significativas. Este hallazgo es similar a lo observado en los estudios previos [117]. El JADAS 27 se diseñó escogiendo las articulaciones más frecuentemente implicadas en la AIJ y algunos autores lo han escogido como índice representativo en sus estudios [480]. Este índice presenta algunas fortalezas relevantes, p.ej. es el que mejor evalúa la actividad inflamatoria en los pacientes con AIJ poliarticular grave [117]. No obstante, también hay que valorar que es el más difícil de calcular y de aplicar tanto prospectiva, como retrospectivamente. Debido en parte a la fácil aplicabilidad del JADAS 10, sobre todo en estudios retrospectivos, algunos autores han decidido utilizarlo [479, 481]. Con respecto al JADAS 27 y al JADAS 71, el JADAS 10 también presenta una mejor distribución y una mayor sensibilidad al cambio [117]. También ha demostrado una mejor capacidad de clasificar a los pacientes según su respuesta clínica, calculada mediante los índices ACR pediátricos [477]. En caso de tener que elegir uno de los índices JADAS, teniendo en cuenta que la relación entre los JADAS 10, 27 y 71 es muy buena, consideramos que el JADAS 10, por ser el más fácil de calcular y aplicar, sería el índice de nuestra elección. En nuestra opinión, también es positivo con respecto a sus cualidades métricas, el hecho de que el JADAS 10 otorgue a cada uno de los parámetros el mismo peso en su puntuación, ya que en los otros dos índices el peso relativo del número de articulaciones era superior al de los reactantes de fase aguda o la valoración del médico y del paciente.

Por último, en cuanto a las diferencias en las articulaciones afectadas (activas, limitadas, dolorosas y/o tumefactas) entre niños y adultos, se observó una mayor afectación de rodillas y tobillos en los pacientes pediátricos y una mayor afectación de codos en los adultos. Podríamos atribuir este hecho a las diferencias en el subtipo de AIJ entre poblaciones. La AIJ oligoarticular, más frecuente en el grupo pediátrico, tiene una mayor predisposición a afectar las articulaciones de miembros inferiores [17].

1.3. TRATAMIENTOS

En relación al historial farmacológico de los pacientes, en primer lugar, hay que recordar que todos los pacientes incluidos en el presente proyecto de investigación recibían tratamiento con MTX, y/o con terapias anti-TNF α . Por lo tanto, los datos que exponemos y la discusión que presentamos, hacen referencia a pacientes que estaban recibiendo tratamiento con fármacos inmunomoduladores.

Entre los distintos FAMEs pautados, el MTX fue el más frecuentemente utilizado (98,1%), seguido de la leflunomida (37,7%) y la sulfasalazina (11,3%). En otras cohortes, también el MTX era el FAMEs más utilizado [141, 482]. La diferencia fundamental con respecto a otras series sería el mayor uso de la LFN en nuestros pacientes. La LFN ha demostrado ser un fármaco seguro y eficaz en la AIJ [140]. El motivo por el cual hemos utilizado este fármaco con mayor frecuencia que otros grupos, es por la experiencia y la práctica clínica con este fármaco en nuestra Unidad de Reumatología Pediátrica [91]. En el año 2013, llevamos a cabo un trabajo retrospectivo que recopilaba nuestra experiencia en práctica clínica con el uso del MTX y la LFN en combinación, demostrando que en nuestra serie de pacientes con AIJ constituía una combinación de tratamiento eficaz y con un buen perfil de seguridad [483, 484]. Por lo tanto, entre los pacientes incluidos en el estudio, algunos de ellos recibieron en el pasado tratamiento con LFN en combinación con el MTX.

En cuanto al historial de fármacos biológicos, el ETN fue el más utilizado, seguido del ADA y del IFX. Este hecho es similar a lo descrito previamente por otros expertos de Alemania y de Norte América [141, 176, 485]. El 99,1% de los pacientes había precisado glucocorticoesteroides, intraarticulares o sistémicos, en algún momento desde el diagnóstico. Este porcentaje es algo superior, pero no muy discrepante, al reportado en otras cohortes europeas [486].

Se constató que, durante los años de seguimiento, los pacientes adultos precisaron utilizar un mayor número de FAMEs y de terapias biológicas que los pediátricos.

La media de tiempo transcurrido entre el inicio de la AIJ y el inicio de las terapias inmunomoduladoras con FAMEs y biológicos, en los adultos fue mayor que en los pediátricos. Los pacientes pediátricos iniciaron el tratamiento inmunomodulador, con terapias biológicas y no biológicas significativamente antes que los adultos, debido al mejor conocimiento de la enfermedad y a la evolución en las últimas décadas de los fármacos disponibles en la AIJ. La tendencia actual es a iniciar los tratamientos cada vez antes, con lo que mejora el pronóstico de los pacientes [487].

En los últimos 30 años se han ido incorporando un gran número de nuevas terapias en la AIJ que anteriormente o bien no existían, o no se utilizaban de forma regular [133]. En cuanto a las terapias anti-TNF α , por ejemplo, para ETN, el primer ensayo clínico realizado en pacientes adultos con AR fue publicado en 1998 [488] y el primero realizado en pacientes pediátricos con AIJ fue publicado en el año 2000 [179]. Por supuesto, todos los pacientes que eran niños antes del año 1.998, actualmente y durante el periodo de inclusión de nuestro estudio, serían pacientes adultos que no habían tenido la oportunidad de recibir terapia biológica durante su infancia.

Por otro lado, también hoy en día se conoce mejor el perfil de seguridad y de eficacia de los FAMEs. Esto ha sido posible en parte debido al esfuerzo realizado por las sociedades científicas para realizar estudios multicéntricos, de gran calidad en su diseño, y que incluyeran un gran número de pacientes [134]. Tal y como se ha comentado, estas sociedades han sido constituidas en los últimos años (p.ej. PRINTO –*Pediatric Rheumatology International Trials Organization*– fue constituida en el año 1996) y sus trabajos han permitido obtener conclusiones válidas con respecto al perfil de seguridad y eficacia de algunos de los fármacos [134].

En los pacientes adultos, se comparó la media de meses transcurridos desde el inicio del FAMEs y del anti-TNF α entre las AIJ de curso oligoarticular y las AIJ de curso poliarticular. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. Probablemente esto sea debido, al menos en parte, a que los fármacos se fueron introduciendo a medida que se aprobaban como tratamientos de la AIJ, en aquellos pacientes de difícil control, independientemente del subtipo de AIJ al que pertenecieran.

En cambio, en los pacientes pediátricos, la media de meses transcurridos desde el inicio del FAME y del anti-TNF α fue superior en las AIJ de curso oligoarticular que en las AIJ de curso poliarticular (5,3 vs 1,6 meses y 38,4 vs 20,4 meses). Este dato pone de manifiesto que, una vez disponíamos de acceso a todas las terapias actuales, los tratamientos se incorporan de forma más temprana en los pacientes

más graves. También podría ser debido a que en nuestra práctica clínica se realiza una pauta de tratamiento escalonado, es decir, que se van incorporando fármacos más activos, con una mayor capacidad inmunosupresora, en función de la respuesta clínica del paciente, tal y como recomiendan las guías actuales [135]. Las causas que obligan a iniciar la terapia inmunomoduladora, especialmente con terapias anti-TNF α , en los pacientes con AIJ oligoarticular son varias: la falta de respuesta a las medidas terapéuticas previas; las recaídas; y la presencia de uveítis. La manifestación ocular precedió a la articular en un 3% - 10% de los pacientes con AIJ y uveítis, aunque lo más frecuente es que la uveítis se presente tras el inicio de la artritis, entre los 6 meses y los 2,2 años [191, 489]. En los primeros 4 años, desde el inicio de la artritis, se producirían el 90% de los primeros episodios de uveítis [489].

En ambos grupos de edad, se observó que los pacientes con antecedente de uveítis habían tardado más en iniciar tanto la terapia con FAMEs como la terapia con biológicos. Existen estudios previos que indican que el uso temprano de los FAMEs, en especial del MTX, podría prevenir el desarrollo de la uveítis en los pacientes con AIJ [490, 491]. De hecho, parece que el uso de MTX tendría un papel protector en cuanto al inicio de la uveítis en los pacientes con AIJ [492]. Las terapias anti-TNF α , en especial el ADA, han demostrado ser tratamientos eficaces de la uveítis. Sin embargo, se han descrito casos de nuevos brotes de uveítis y de uveítis de inicio en los pacientes con AIJ que recibían tratamiento con fármacos anti-TNF α , sobre todo con ETN [493, 494]. Este hecho, había suscitado la preocupación en la comunidad científica de si estas terapias podrían causar uveítis como efecto secundario, o bien, si podrían ser factores desencadenantes de la inflamación ocular en individuos predispuestos. En estudios realizados posteriormente con el objetivo de investigar esta cuestión, no se demostró una asociación entre el uso de terapias anti-TNF α (ETN, ADA, IFX) y el riesgo de desarrollar un episodio de uveítis [492, 495]. En una revisión de los efectos adversos asociados a las terapias anti-TNF α , concluyen que el ETN no sería un fármaco capaz de controlar la afectación ocular, pero tampoco aumentaría el riesgo de desarrollar brotes inflamatorios oculares; es decir el ETN, no modificaría el riesgo que tenga el propio paciente [174].

En cuanto a los tratamientos en la visita basal, entre pacientes pediátricos y adultos no hubo diferencias estadísticamente significativas en el uso de glucocorticoesteroides, de AINEs, ni en el tipo de terapia anti-TNF α utilizada. Sin embargo, sí se constató un mayor número de pacientes pediátricos en tratamiento con MTX y un número significativamente superior de pacientes pediátricos en tratamiento con anti-TNF α combinado con FAMEs.

El menor número de pacientes adultos en tratamiento con MTX en monoterapia se explicaría por las características clínicas de estos pacientes. Tal y como se ha comentado previamente, presentarían una mayor gravedad que los pediátricos. Las peculiaridades principales de nuestros pacientes adultos jóvenes ya han sido razonadas. En los pacientes pediátricos, especialmente en los de curso oligoarticular, el MTX es suficiente en muchas ocasiones para controlar los síntomas de la enfermedad, pero no ocurre lo mismo en los pacientes adultos.

En cuanto a los pacientes que recibían terapias anti-TNF α , como ya hemos comentado previamente, los pacientes pediátricos precisaban recibir tratamiento concomitante con FAMEs con mayor frecuencia que los adultos, (80,5% vs 54,5%, $P = 0,0165$). Esta observación, motivó el inicio de este proyecto de investigación. Nos dimos cuenta de que los pacientes pediátricos de nuestra cohorte que recibían terapias anti-TNF α , requerían más tratamiento que los adultos para mantener un estado clínico similar. Este dato no había sido directamente recogido en la literatura con anterioridad. En la revisión realizada, encontramos una cohorte de adultos con AIJ en tratamiento biológico, en la que se especificaba que recibían tratamiento concomitante con FAMEs un 56% de los pacientes [496]. En otra serie de pacientes holandesa, en la que se incluían pacientes de larga evolución, todos ellos mayores de 15 años, el 48,4% de los pacientes que recibían terapias anti-TNF α las precisaban asociadas con FAMEs [217]. Entre las cohortes pediátricas en tratamiento con terapias anti-TNF α (ADA, ETN, IFX), lo precisaban combinado con FAMEs entre un 65% y un 100% de los pacientes [213, 497-504]. En la mayoría de las cohortes pediátricas, un elevado porcentaje de los pacientes precisaban recibir FAMEs concomitantes a las terapias anti-TNF α . Los datos disponibles en adultos con AIJ son escasos, por lo que es difícil establecer una comparación con nuestros datos, si bien podemos considerar que no existen grandes diferencias con lo observado en nuestros pacientes.

Esta observación, basada en la práctica clínica en una unidad de referencia de un hospital de tercer nivel, hizo que nos planteáramos varias cuestiones que intentamos resolver en el presente estudio:

- 1.- ¿Presentan los pacientes pediátricos una mayor respuesta inmunogénica a las terapias anti-TNF α que los adultos?
- 2.- ¿Generan los niños una mayor cantidad de anticuerpos antifármaco que los adultos?
- 3.- ¿Influye la edad y, por lo tanto, el distinto estado madurativo del sistema inmune en la gravedad de la AIJ?
- 4.- Los fármacos inmunomoduladores, a nivel celular, ¿actúan de distinta forma en función de la edad por influencia de las diferencias en el estado madurativo del sistema inmune?

5.- Esta mayor necesidad de tratamiento inmunomodulador observada en los niños, ¿se debe a que éstos presenten una mayor actividad subclínica que los adultos?

6.- ¿Podemos detectar esa actividad subclínica mediante ecografía?

A continuación, se discuten los apartados dirigidos a resolver y discutir en detalle estas cuestiones, empezando por los comentarios a los resultados de la ecografía, seguido del estudio del inmunofenotipo y finalmente comentaremos los resultados del estudio de la inmunogenicidad.

2. ESTUDIO ECOGRÁFICO

La ecografía es una técnica que ha ido ganando cada vez mayor importancia en Reumatología Pediátrica. En algunos estudios ha demostrado ser una técnica válida, útil y más sensible que la exploración clínica en la evaluación de los pacientes con AIJ [310, 505]. Su uso como herramienta de evaluación, monitorización y diagnóstico en la AIJ, está cada vez más extendido entre los reumatólogos pediátricos. A pesar de esto, todavía quedan múltiples cuestiones por resolver. En el presente proyecto de investigación, se consideró de gran interés complementar la evaluación clínica con una evaluación ecográfica poliarticular sistematizada en cada una de las visitas del estudio.

La evaluación articular de los pacientes pediátricos es algo más compleja que la de los adultos, debido a que experimentan cambios madurativos durante el desarrollo, y a que poseen mayor cantidad de cartílago articular, que un explorador poco experimentado puede confundir con derrame sinovial. Los estudios de ecografía en AIJ de los que disponemos, generalmente son recientes y todavía dejan múltiples cuestiones por resolver. El proceso de estandarización de la imagen de la normalidad en las articulaciones de los sujetos pediátricos se ha empezado a realizar en los últimos años [248, 306]. Actualmente, están en proceso de ser publicados los cambios fisiológicos objetivados mediante ecografía observados en los núcleos de osificación y en la vascularización con la edad [506]. Han sido muy recientemente publicadas las definiciones consensuadas por expertos de sinovitis en la AIJ [309]. Se ha desarrollado un sistema de evaluación de la sinovitis en AIJ semi-cuantitativo (grados 0 - 3) tanto para la EG como para la señal PD [506]. Este índice ha sido aplicado en niños con AIJ durante el año 2016 y la factibilidad y la sensibilidad al cambio del mismo está pendiente de ser evaluada [506].

A continuación, se discuten los resultados referentes a: a) la concordancia inter e intraobservador de la ecografía; b) las características de los pacientes que participaron en el estudio de ecografía; c) las diferencias entre los índices ecográficos utilizados; d) la evaluación clínica y articular de los pacientes; e) la relación entre los índices ecográficos con la actividad clínica y las variables clínicas y de laboratorio; f) la sinovitis subclínica; y g) las características de la sinovitis de menor intensidad (grado 1).

2.1. CONCORDANCIA DE LA ECOGRAFÍA

La concordancia intraobservador y la concordancia interobservador fueron buenas o muy buenas para ambos exploradores, siendo los índices de kappa $> 0,7$ en todos los casos. Las concordancias observadas en nuestro estudio son similares a las descritas previamente por otros grupos [9, 330]. La concordancia entre ecógrafos fue excelente, con una kappa = 0,953, lo cual pone de manifiesto que ambos ecógrafos tenían unas características técnicas similares.

2.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

En el estudio ecográfico participaron 102 pacientes con AIJ que recibían tratamiento inmunomodulador con MTX y/o con anti-TNF α . Entre ellos, 65 eran pediátricos y 37 eran adultos. En cuanto a las características clínicas de estos 102 pacientes, cabe destacar que el 62,7% cumplían criterios de inactividad clínica en la primera visita del estudio. Entre los 38 pacientes activos, el 39,5% cumplían criterios de mínima enfermedad y en 3 pacientes el motivo de la actividad era la inflamación ocular. Además, el 55,9% de los pacientes habían presentado un curso oligoarticular. De estos datos se deriva que es poco probable encontrar múltiples articulaciones inflamadas, así como obtener altas puntuaciones en los índices ecográficos de nuestros pacientes.

La principal diferencia observada entre los pacientes pediátricos y adultos fue la mayor frecuencia de pacientes de curso poliarticular en el grupo adulto (64,9% vs 32,3%) con la consecuente menor prevalencia de pacientes de curso oligoarticular con respecto a los niños (35,1% vs 67,7%). También era significativa la mayor proporción de pacientes pediátricos en tratamiento con MTX en monoterapia (41,5% vs 10,8%). Los motivos de ambas diferencias han sido ya discutidos en profundidad en el anterior apartado de la discusión Características basales de los sujetos en estudio.

2.3. DIFERENCIA ENTRE LOS ÍNDICES ECOGRÁFICOS REDUCIDOS

El índice ecográfico reducido de 10 articulaciones fue inicialmente diseñado para monitorizar a los niños con AIJ [330], mientras que el índice reducido de 12 articulaciones fue diseñado para monitorizar a los adultos con AR [328]. La exploración de la articulación 3ª MCF es la diferencia entre ambos índices, y constatamos que no aportaba ninguna ventaja adicional en la evaluación de los pacientes

pediátricos ni adultos de nuestra cohorte. Sólo una articulación 3ª MCF fue evaluada como grado 1 por escala de grises, de entre las 554 exploradas. Por este motivo, decidimos utilizar los datos correspondientes al índice de 10 articulaciones en el análisis.

El hecho de que el índice de 10 articulaciones fuera más apropiado que el de 12 articulaciones para evaluar a los adultos con AIJ era esperable ya que, aunque los pacientes con AIJ y con AR pueden presentar algunas similitudes, se trata de dos patologías claramente diferenciadas [239]. Nuestros pacientes, aun siendo adultos, padecen la misma enfermedad de comiendo en la infancia.

2.4. EVALUACIÓN CLÍNICA Y ARTICULAR

Se realizaron 277 exploraciones ecográficas poliarticulares. Inicialmente, se exploraron un total de 3.324 articulaciones utilizando el índice de 12 articulaciones y, por los motivos que acabamos de exponer, se utilizó el índice ecográfico de 10 articulaciones. Por lo tanto, en total, fueron evaluadas 2.770 articulaciones clínica y ecográficamente.

Articulaciones clínicamente activas

Se consideraron como clínicamente activas 63 (el 2,27%) de las articulaciones exploradas. En otra cohorte de 32 pacientes con AIJ, se observó actividad clínica en un 6,25% de las articulaciones. En dicha cohorte se observaron peores puntuaciones en las variables clínicas a pesar de que recibían tratamiento farmacológico, tenían una media de 3,7 años de evolución y, de media, presentaban una baja actividad de la enfermedad [9]. De las 63 articulaciones clínicamente activas, se confirmó la inflamación mediante ecografía en el 73% de ellas. Este porcentaje es similar al descrito en el estudio mencionado [9].

Articulaciones clínica y ecográficamente activas

En nuestro estudio, 46 articulaciones (el 1,7% de las articulaciones exploradas) fueron consideradas como clínica y ecográficamente activas. Este dato contrasta con otros estudios en los que el 4,7% de las articulaciones exploradas presentaron actividad clínica y ecográfica [9]. La articulación que se presentó clínica y ecográficamente activa con más frecuencia fue la rodilla, seguida del carpo, el codo y el tobillo, en el total de los pacientes del estudio. Esta observación concuerda con lo publicado en referencia a la AIJ oligoarticular, psoriásica, AIJ ARE y poliarticular FR negativo [17] y con lo observado en otros estudios de pacientes pediátricos con AIJ [9, 317, 330]. Al analizar los datos referentes a la

afectación articular en la AIJ, procedentes de 3 ensayos que incluían 4.353 pacientes pediátricos, las articulaciones que presentaron sinovitis clínica con mayor frecuencia fueron, por orden de mayor a menor frecuencia, la rodilla, seguida del tobillo, el carpo, el codo, las IFP y la MCF de las manos [507].

Cabe destacar que en los adultos la articulación con mayor actividad clínica y ecográfica fue el codo, seguida de la rodilla, el carpo y el tobillo. Esto es claramente distinto a lo observado en otras cohortes. A pesar de que en los pacientes adultos había un mayor porcentaje de pacientes de curso poliarticular y del subtipo de AIJ ARE, este dato tampoco acabaría de explicar la diferencia observada. El codo en la AIJ podría estar afectado entre el 20-70% de los casos. Es una articulación que, ante la presencia de sinovitis, se limita con mayor rapidez que otras articulaciones y que incluso puede llegar a precisar intervención quirúrgica [508]. Clínicamente se comporta de forma diferente en niños y en adultos con AIJ: en el niño, tras el tratamiento, se observa con frecuencia una recuperación *ad integrum*, mientras que, en el adulto, la respuesta a la terapia puede no ser tan favorable.

Esta diferencia clínica se correspondería con la diferencia ecográfica en el codo, que podría deberse a las secuelas en una articulación que puede complicarse en un porcentaje no despreciable de casos. Resulta interesante destacar que no se han encontrado artículos en la literatura que informen específicamente sobre el resultado de la afectación de cada una de las articulaciones en adultos con AIJ, y en concreto, no hay artículos que hagan una referencia directa a la articulación del codo.

La 2ª MCF fue la articulación con menor actividad clínica y ecográfica. Este hecho concuerda con lo previamente observado en la mayor parte de cohortes de pacientes con AIJ [507], aunque difiere de lo observado en otros estudios, en los que las MCF fueron las segundas en frecuencia en presentar actividad clínica [9].

Articulaciones ecográficamente activas

Se evaluaron como ecográficamente activas 154 articulaciones, el 5,6% de las articulaciones exploradas. Este porcentaje es menor con respecto al observado en el estudio de la Dra. Magni Manzoni [9]. Por otro lado, de estas 154 articulaciones ecográficamente activas, el 70,1% fueron evaluadas como clínicamente inactivas. Este porcentaje es algo superior al observado previamente, en el cual el 51,5% de las articulaciones con sinovitis ecográfica fueron evaluadas como clínicamente inactivas [9]. La diferencia principal entre nuestros pacientes y los del estudio de la Dra. Magni Manzoni es la edad y, por lo tanto, el tiempo de evolución (media de 3,7 años en el estudio previo vs 9,2 años

en nuestro estudio). Además, en nuestro trabajo de investigación se incluyeron pacientes adultos de larga evolución mientras que el estudio de la Dra. Magni Manzoni comprendía sólo pacientes en edad pediátrica.

Discordancia clínico-ecográfica

De las 2.707 articulaciones consideradas como clínicamente inactivas 108 presentaron sinovitis subclínica por ecografía, mientras que de las 63 articulaciones evaluadas como clínicamente activas, en 17 (27%) no se observó sinovitis por ecografía. La rodilla fue la articulación con mayor discordancia clínico-ecográfica, también al analizar los pacientes pediátricos y adultos por separado. Se había descrito en el estudio al que hemos hecho referencia, que algo más de un 22% de las articulaciones consideradas como clínicamente inactivas no presentaban actividad ecográfica [9]. Este porcentaje relativamente elevado de evaluaciones clínicas falsamente positivas podría ser debido a: a) la exploración física es menos precisa que la ecografía para evaluar la articulación; b) la ecografía identifica estructuras tumefactas, distintas de la articulación. En nuestro estudio el número de falsos positivos fue similar para las rodillas, los tobillos y los carpos, mientras que en el estudio previamente citado predominaban las interfalángicas proximales y los tobillos.

Los resultados observados en otras cohortes de pacientes con AIJ en las cuales se evaluaba la concordancia clínico-ecográfica, no son homogéneos. En la mayor parte de los estudios revisados también se observó que la rodilla era la articulación más frecuentemente discordante [317, 318], incluyendo el estudio de validación del índice ecográfico reducido utilizado en nuestro proyecto de investigación [330]. En algún caso se ha descrito que sería la más discrepante seguida del carpo y el tobillo [316]. Sin embargo, en dos de los estudios revisados, los resultados fueron totalmente opuestos a los observados en el nuestro, siendo la rodilla la articulación más concordante en ambos [9, 318] y, en uno de ellos, además, los carpos y las pequeñas articulaciones de manos y pies fueron los más discordantes [9].

Las diferencias observadas entre estudios serían principalmente debidas a los siguientes motivos:

- **Las características de los pacientes incluidos.** La mayor parte de nuestros pacientes presentaban una enfermedad inactiva y presentaban una AIJ de curso oligoarticular, lo cual difiere de otras cohortes. La edad de los pacientes también sería un factor diferencial porque no disponemos de datos en la literatura con los que comparar los resultados obtenidos en nuestros pacientes adultos.

- **La técnica o protocolo de exploración ecográfica.** La técnica de exploración también es un dato de importancia porque, por ejemplo, en uno de los estudios la rodilla sólo era ecográficamente evaluada en el receso suprapatelar, por lo tanto, es previsible que la mejor correlación observada en rodilla en este estudio se deba a que las alteraciones que pudiera haber en los otros recesos no hubieran sido diagnosticadas [318].
- **Los índices ecográficos reducidos.** El tipo de índice ecográfico utilizado influye en cuanto a las articulaciones que son exploradas y, en nuestro caso, la mayor parte de las pequeñas articulaciones de las manos y de los pies no fueron estudiadas ecográficamente. Otros índices ecográficos utilizados en los distintos estudios evaluaban 52 articulaciones [9, 316], 40 articulaciones [317], entre 3 y 6 articulaciones [318]. El distinto índice ecográfico utilizado podría explicar algunas de las diferencias observadas con respecto a otros grupos.

2.5. RELACIÓN ENTRE LOS ÍNDICES ECOGRÁFICOS Y LA ACTIVIDAD CLÍNICA

Las puntuaciones obtenidas tanto para el índice-EG, como para el índice-PD fueron en general bajas. La máxima puntuación obtenida, mediante el índice-EG, fue de 11 (rango de 0-30) y la máxima puntuación obtenida, mediante el índice PD, fue de 4 (rango de 0-30). Probablemente estas bajas puntuaciones son debidas a que la mayoría de los pacientes cumplía los criterios de enfermedad inactiva y presentaban un curso oligoarticular de la AIJ.

El estudio previo de validación no especificaba las puntuaciones obtenidas con el índice reducido [330], aunque utilizamos el mismo sistema de puntuación en ambos índices (EG y PD). Se especifica que la mediana de las puntuaciones obtenidas con el índice de 44 articulaciones fue de 7 para la escala de grises (rango de 0-132) y 2 para el PD (rango de 0-132), pero desconocemos los valores máximos que se obtuvieron con este índice y con el índice reducido de 10 articulaciones, para poder comparar nuestros resultados. Esperaríamos resultados diferentes a los observados en nuestro estudio porque, en el de validación, todos los pacientes incluidos presentaban por lo menos 4 articulaciones activas, lo cual difiere enormemente de la situación clínica de nuestros pacientes.

Las mayores puntuaciones de ambos índices ecográficos las presentaron pacientes clínicamente activos. También se objetivó una mayor actividad clínica en los pacientes que presentaron las

puntuaciones más altas de ambos índices ecográficos. Sin embargo, las puntuaciones más bajas de ambos índices incluían tanto pacientes clínicamente activos como inactivos. Esto se debe, en parte, a las características de los criterios de inactividad (que pueden no cumplirse por los reactantes de fase aguda) y a la presencia de actividad subclínica. La mayor parte de actividad ecográfica observada, especialmente en estos últimos casos, fue leve (evaluada como grado =1). Por el momento se considera el grado 1 como un hallazgo patológico, aunque este concepto está siendo muy debatido y no existe consenso respecto a esta afirmación, por lo que el valor clínico del grado 1 en escala de grises todavía no ha sido determinado [506, 509]. Este concepto se comentará posteriormente con más detalle.

No se objetivaron diferencias en los índices ecográficos en función de la actividad inflamatoria ocular. Este dato, de nuevo indicaría la no relación entre la inflamación articular y ocular. En la AIJ se ha demostrado que el inicio de la artritis no necesariamente está relacionado con el inicio de la uveítis [191, 489]. Los pacientes con la enfermedad articular inactiva pueden presentar inflamación ocular y viceversa. Por lo tanto, los índices ecográficos nos informan sobre el estado de la inflamación o actividad articular, pero no nos informarían sobre el estado inflamatorio global de la AIJ ni sobre el riesgo de uveítis de los pacientes.

2.6. ASOCIACIÓN ENTRE LOS ÍNDICES ECOGRÁFICOS Y LAS VARIABLES CLÍNICO-BIOLÓGICAS

Los pacientes pediátricos y adultos presentaron distintas puntuaciones en los índices ecográficos EG y PD. Estos índices variaron de forma significativa en paralelo con la mayoría de las variables clínicas y de laboratorio. Es decir, las mayores puntuaciones de los índices ecográficos se registraron en los pacientes con las peores valoraciones en las variables clínicas, independientemente de la edad.

El VAS del médico, el número de articulaciones activas, tumefactas, dolorosas y limitadas y los índices JADAS, son las variables clínicas que variaron de forma significativa y más acorde con los índices ecográficos EG y PD. Sin embargo, el VAS del paciente y el VAS de los padres del paciente, se relacionaron de forma significativa con los índices ecográficos, independientemente de la edad, aunque en menor forma.

Todos los índices JADAS actualmente disponibles han demostrado una buena correlación con las variables clínicas y unas buenas capacidades metrológicas [117-119, 121, 122]. Nuestros datos indican que, además, también varían de forma paralela a los índices ecográficos. Sólo disponemos de un estudio en AIJ en el que se analizó la correlación del índice JADAS 52 con la ecografía, pero no se realizaron otros análisis entre estas dos variables, con lo que no lo podemos comparar con los datos obtenidos en nuestro estudio [9].

La VSG y la PCR variaron de forma significativa con respecto al índice ecográfico PD, en los adultos y en el global de los pacientes estudiados. La VSG también varió de forma significativa y en concordancia con el índice ecográfico EG, pero no así la PCR. Nuestros datos sugieren que es posible que la VSG se relacione mejor con la ecografía que la PCR en los pacientes con AIJ. Sin embargo, se había descrito que la PCR se relacionaría mejor con la actividad inflamatoria de la artritis que la VSG, porque tendría mayor capacidad para detectar a corto plazo los cambios inflamatorios y, además, estaría menos influenciada por otros factores (p.ej. la anemia o el fibrinógeno) [510]. En nuestros pacientes pediátricos este dato no se confirmó. En un estudio previo observaron una mayor sensibilidad de la VSG y una mayor especificidad de la PCR para detectar actividad clínica inflamatoria [311]. Los autores utilizaron la ecografía, pero no relacionaron los resultados obtenidos en la exploración ecográfica mediante PD con los de los reactantes de fase aguda.

Como limitación de este apartado debemos mencionar que, aunque el estudio fue realizado prospectivamente, los pacientes que entraron en el mismo ya recibían tratamiento, la mayoría de ellos estaban inactivos y llevaban meses en una situación clínica estable.

2.7. CORRELACIÓN ENTRE LOS ÍNDICES ECOGRÁFICOS Y LAS VARIABLES CLÍNICO-BIOLÓGICAS

Los índices ecográficos no presentaron una buena ni una muy buena correlación con ninguna de las variables clínicas o de laboratorio, en ninguno de los dos grupos de edad. Las variables que presentaron correlaciones moderadas, independientemente de la edad, con al menos uno de los índices ecográficos fueron: el VAS del médico, el NAA, el NAT, el cJADAS, el JADAS-PCR. El VAS del médico y el número de articulaciones activas y tumefactas son las variables clínicas que mejor se correlacionaron con ambos índices ecográficos, sobre todo, con el índice-EG en ambos grupos de pacientes.

Actualmente hay distintos estudios que ponen de manifiesto la importancia de la valoración del estado de actividad de la AIJ por parte del paciente [511, 512]. Incluso se han desarrollado dos índices compuestos de valoración de la AIJ, que constarían sólo de variables referidas por los padres del paciente o bien por el propio paciente [512]. Estos índices han demostrado una buena validez interna, factibilidad y correlacionarse con los cambios clínicos. A pesar de esto, nuestros datos indicarían que la valoración del médico es un dato más objetivo. También en el estudio de la Dra. Magni Manzoni las correlaciones entre el VAS del médico y la ecografía fueron algo superiores a las correlaciones con el VAS del paciente [9]. Por lo tanto, el VAS del médico probablemente siga siendo un parámetro de importancia en los índices compuestos de la valoración de la AIJ. En un estudio reciente realizado en pacientes con AR, también el VAS del médico obtuvo una mejor correlación que el VAS del paciente con el índice ecográfico reducido de 12 articulaciones [513].

La VSG y la PCR no se correlacionaron con los índices ecográficos en ninguno de los grupos de pacientes. Tampoco en el estudio de la Dra. Magni Manzoni se había observado una buena correlación entre la ecografía por EG o por PD con los reactantes de fase aguda [9]. La baja correlación podría deberse, al menos en parte, a que la mayoría de los pacientes presentaban una AIJ inactiva.

Se obtuvieron mejores correlaciones entre las variables clínicas y de laboratorio con el índice ecográfico EG que con el índice ecográfico PD. Esta mejor correlación clínico-ecográfica con la EG que con el PD, también había sido previamente descrita [9]. Podría deberse a que, incluso en presencia de inflamación articular, el PD se detecta con menor frecuencia que las alteraciones en escala de grises.

Nuestros pacientes presentaron una correlación clínico-ecográfica similar o ligeramente inferior con respecto a los resultados observados en la serie de pacientes del estudio de la Dra. Magni Manzoni [9]. Las diferencias entre nuestros pacientes y la cohorte previa, se han descrito en el apartado de la discusión Evaluación clínica y articular de los pacientes explorados ecográficamente con comparativas según la edad. En un estudio en el que se analizaba la correlación clínico-ecográfica en la evaluación de la rodilla de pacientes con AIJ, objetivaron que en los pacientes con más inflamación clínica la correlación clínico-ecográfica era mejor y significativa y, en los pacientes inactivos o con poca inflamación, la correlación era menor y no significativa [514]. También se observó una pobre correlación clínico-ecográfica en otro estudio previo que analizaba la evaluación del tobillo de los pacientes con AIJ mediante un protocolo muy detallado [515].

En nuestro estudio, se observaron mejores correlaciones clínico-ecográficas entre los índices clínicos JADAS y los índices ecográficos en los pacientes de curso poliarticular que en los pacientes de curso oligoarticular, independientemente de la edad de los pacientes.

Por último, observamos una correlación moderada con un mayor número de variables clínicas y de laboratorio en los pacientes adultos que en los pediátricos. Una posibilidad sería que, la mejor correlación clínico-ecográfica observada en adultos, fuera debida a la mayor prevalencia de pacientes de curso poliarticular en este subgrupo de pacientes.

La baja correlación clínico-ecográfica que, en general, se ha observado en nuestros pacientes con AIJ podría ser debida a que:

- En nuestra cohorte de pacientes predominaban los pacientes de curso y subtipo oligoarticular
- La mayor parte de nuestros pacientes estaban inactivos
- El número de observaciones fuera insuficiente para detectar diferencias significativas

En función de nuestra experiencia clínica y en base a los resultados obtenidos en el presente proyecto, consideramos que la ecografía no sustituiría a la evaluación clínica, pero sí sería una herramienta adecuada para complementar la exploración de determinados pacientes.

2.8. SINOVITIS SUBCLÍNICA

La sinovitis subclínica se definiría como la presencia de inflamación objetivada por ecografía (evaluada como > grado 0), en ausencia de inflamación detectada en la exploración física de la articulación. La sinovitis ecográfica medida por PD, no puede considerarse positiva en ausencia de alteración por escala de grises. Por lo tanto, todas las articulaciones con sinovitis subclínica presentarán alteración por EG, pero no todas la presentarán por PD. La ecografía identificó actividad subclínica en 108 articulaciones de las 2.707 clínicamente inactivas. Estas 108 articulaciones pertenecían a 43 pacientes, 19 pediátricos y 24 adultos. La sinovitis subclínica se observó, por lo tanto, en el 42% de los pacientes de nuestra cohorte.

La especificidad y el valor predictivo negativo de la ecografía (EG y PD) fueron muy elevados y superiores a la sensibilidad y al valor predictivo positivo. Por lo tanto, en nuestro estudio, la ecografía sería una prueba más específica que la exploración clínica, con un muy alto valor predictivo negativo.

Es decir, en caso de que por ecografía se puntuara cero, podríamos estar seguros de que la articulación del paciente está sana. En los pacientes pediátricos la especificidad observada fue mayor, y la sensibilidad menor, que en los pacientes adultos.

La ecografía por PD fue menos sensible y más específica que la ecografía mediante EG, independientemente de la edad de los pacientes. De estos datos podemos deducir que, para diagnosticar la sinovitis, la ecografía PD no sería suficiente y debería seguir siempre a una exploración por EG. En un estudio previo en el cual se exploraban mediante PD las articulaciones activas o recientemente activas en pacientes con AIJ, se observó que el PD tenía una mayor sensibilidad y una especificidad que la obtenida en nuestro estudio [311]. Así, la sensibilidad del PD sería mayor en la evaluación de las articulaciones activas y la especificidad mayor en la evaluación de las articulaciones activas e inactivas.

Otros estudios publicados no serían comparables con el nuestro, porque utilizaron la ecografía como referencia y calcularon la sensibilidad y la especificidad de la exploración física [312, 317, 515]. La exploración física es el método habitual de valoración de la actividad inflamatoria articular en los pacientes con AIJ y la prueba que estábamos evaluando en el estudio era la ecografía.

La principal limitación de los resultados de sensibilidad y especificidad obtenidos es que no han podido ser calculados comparándolos con los resultados de la RMN, que sería el *gold* estándar de la evaluación articular. Los resultados ecográficos se han comparado con los de la exploración física. Aunque la RMN ha demostrado ser más sensible que la ecografía en la detección de sinovitis, la correlación entre ambas técnicas es buena [516]. Además, la RMN presenta limitaciones en cuanto al número de articulaciones que se pueden explorar en cada observación en cuanto a la coste-efectividad; sería económicamente inviable haber explorado 10 articulaciones diferentes en cada uno de los niños incluidos en el estudio.

Características de los pacientes y las articulaciones con sinovitis subclínica

Recordamos que cualquier articulación evaluada como inactiva en la exploración física y que presentara una evaluación ecográfica por EG ≥ 1 , en presencia o ausencia de señal PD, fue considerada como articulación con sinovitis subclínica. A continuación, se discuten las características objetivadas en los pacientes y en las articulaciones, que presentaron actividad subclínica por ecografía.

El género, el distinto tratamiento, el estado de actividad y el curso o el subtipo de AIJ según la ILAR no determinaron la presencia de la actividad subclínica en nuestros pacientes. En otras cohortes se observó sinovitis subclínica entre un 33% y un 76,9% de los pacientes [316, 317]. En nuestro estudio observamos un mayor porcentaje de pacientes activos entre los que presentaron actividad subclínica, pero este aumento no fue significativo. Así que no hemos podido demostrar que presentar una AIJ clínicamente activa aumentase el riesgo de detectar sinovitis subclínica en nuestros pacientes. Los datos disponibles en la literatura sugieren que los pacientes activos podrían presentar sinovitis subclínica con más frecuencia que los que están en remisión, aunque esta afirmación en AIJ no ha sido confirmada [9, 312, 315-317].

Se observó actividad subclínica en un mayor porcentaje de pacientes de curso poliarticular que oligoarticular. También se observó en un porcentaje significativamente superior de pacientes adultos que pediátricos. Esta mayor prevalencia de actividad subclínica en los adultos puede ser debida principalmente a dos motivos: a) el mayor porcentaje de pacientes con AIJ poliarticular en este subgrupo; b) la presencia de sinovitis activa leve que difícilmente pudiera ser evaluada clínicamente; c) debido a la presencia de hipertrofia y/o fibrosis de la membrana sinovial de carácter residual, en algunos adultos clínicamente inactivos. No ha sido aún aclarado cuál es el papel de la ecografía para diferenciar la sinovitis aguda de la crónica [317] y es más probable que los adultos presenten articulaciones con lesiones en la membrana sinovial residuales tras un episodio inflamatorio que no los niños. En los pacientes con AR se postula que parte de las alteraciones observadas por escala de grises podrían corresponder a un engrosamiento y fibrosis residual de la membrana sinovial [298]. Este hecho podría explicar por qué un estudio realizado en pacientes con AIJ en remisión, las articulaciones que habían sido afectadas en el pasado, presentaban actividad subclínica con más frecuencia [318]. En otro estudio, se especificaba que el 20% de las articulaciones que habían estado inflamadas en el pasado presentaban alteraciones ecográficas, y éstas, representaban el 50% de las articulaciones con sinovitis subclínica [316].

En los pacientes adultos con AR en remisión, una enfermedad típicamente de curso poliarticular, los porcentajes de actividad subclínica medidos mediante índices ecográficos, serían iguales o superiores a los informados en los estudios de AIJ [296-299]. Es difícil establecer una comparativa entre los estudios reportados en ambas entidades, no sólo por las diferencias entre enfermedades, sino también porque los criterios de remisión y los índices clínicos utilizados son muy diferentes.

La mayor parte de las articulaciones con actividad inflamatoria subclínica presentaron puntuaciones leves, de grado 1, tanto en pacientes pediátricos como adultos. Las articulaciones que presentaron actividad subclínica con mayor frecuencia, tal y como se ha comentado previamente, fueron las rodillas, tanto en niños como en adultos.

Las articulaciones con mayor frecuencia de actividad subclínica en otras cohortes de pacientes con AIJ fueron muy dispares. La mayor prevalencia de actividad subclínica se observó en carpos [318], en los carpos y pequeñas articulaciones de manos [9] y en la rodilla [316, 317, 507]. En dos estudios que evaluaban sólo rodilla, el 70% y el 35%, respectivamente, de las rodillas clínicamente inactivas presentaban algún grado de alteración ecográfica [514, 517]. En el seguimiento evolutivo de estos pacientes algunos se mantenían inactivos, otros empeoraban clínica y ecográficamente y otros mejoraban. Por lo tanto, la presencia de actividad subclínica podría ser una lesión activa que no acabe de mejorar, una lesión pre-clínica o una lesión residual tras un episodio de inflamación y en fase de mejoría progresiva [514]. Esta última afirmación sería la que probablemente mejor se adecuaría con lo observado en los pacientes adultos de nuestro estudio.

Algunas de las articulaciones con actividad inflamatoria subclínica presentaron grados moderados-grave, puntuados por escala de grises o por PD como grado 2 o grado 3. Podríamos considerar que se trata de articulaciones realmente inflamadas. A pesar de que la exploración física fue realizada por un reumatólogo pediátrico experto, en 19 articulaciones (corresponden al 0,01% del total) no se pudo detectar dicha inflamación. Las articulaciones que con frecuencia presentaron un grado 2 o 3 de actividad inflamatoria por ecografía fueron las rodillas. En los niños fueron seguidas del tobillo y en adultos del carpo. Esta diferencia podría deberse, por lo menos en parte, al distinto porcentaje de los subtipos de AIJ en cada subgrupo (oligoarticular en niños y poliarticular en adultos). La afectación de los carpos se produce con mayor frecuencia en pacientes con AIJ poliarticular o con AIJ oligoarticular que adquiere un curso poliarticular, con respecto a otros subtipos [17, 518]. La AIJ oligoarticular afectaría con mayor frecuencia a articulaciones de miembros inferiores [17]. La exploración de los tobillos de los niños con AIJ es compleja y la clínica no identifica de forma precisa las estructuras anatómicas afectadas en los pacientes con tumefacción de tobillo [515, 519-521]. En la AIJ también es compleja la evaluación de los carpos y, mediante RMN, se detectan compartimentos y estructuras afectadas que no es posible diferenciar mediante la exploración física [520].

Sinovitis grado 1 determinada por escala de grises

En nuestro estudio llama la atención que de las 119 articulaciones que fueron puntuadas como un grado 1 por ecografía EG, la mayor parte de ellas fueron evaluadas clínicamente como inactivas. En los adultos esta diferencia es más pronunciada que en los niños, y sólo el 14,5% de las articulaciones puntuadas como grado 1 habían sido consideradas clínicamente activas. La evaluación clínica de estas articulaciones entre niños y adultos fue significativamente distinta, así que el valor clínico de la ecografía grado 1 variaría en función de la edad. Nuestros datos indicarían que, de forma similar a lo observado en AR [509], en los sujetos adultos con AIJ el valor de la sinovitis grado 1 por escala de grises sería clínicamente limitado.

Se han descrito alteraciones ecográficas en un alto porcentaje de personas sanas. Se demostró que la presencia de sinovitis ecográfica en sujetos sanos adultos era predominantemente de grado 1 y, además, la prevalencia de las lesiones ecográficas aumentaba con la edad [522]. En un estudio reciente, se exploraron ecográficamente manos y pies de 207 adultos sanos y en 182 pacientes (88%) se observó alguna alteración en la exploración ecográfica [523]. Del total de 6.621 articulaciones exploradas 586 (9%) presentaron por lo menos una alteración por ecografía (por EG o PD) y, en el 90% de los casos, fueron evaluadas como grado 1. En los carpos y las MCF el 100% de las alteraciones ecográficas observadas fueron grado 1. Por lo tanto, no es infrecuente observar sinovitis grado 1 incluso en sujetos sanos. Las puntuaciones grados 2 y 3 pertenecían a las articulaciones metatarsofalángicas, sobre todo, del primer y segundo dedo [523]. La sinovitis observada en pies, que en algunos casos obtuvo puntuaciones de 2-3, probablemente se debiera a una reacción fisiológica de la articulación secundaria a la sobrecarga o estrés biomecánico producido por el uso [523]. Sería un mecanismo distinto a la alteración inmunológica que produciría la sinovitis en las artritis inflamatorias crónicas, las cuales son enfermedades inmunomediadas.

En los niños sanos, tal y como se ha comentado previamente, también pueden detectarse alteraciones ecográficas. En un estudio se evaluaron 39 niños sanos, observando alteraciones ecográficas en el 35,9% de los casos y, todas las alteraciones, fueron puntuadas como grado 1 [316]. Podría ser interesante realizar un estudio en el que se siguiera prospectivamente a sujetos sanos que presenten una sinovitis por ecografía grado 1, para comprobar si estas alteraciones observadas son de carácter transitorio, o si bien permanecen en el tiempo. Esto ayudaría a interpretar mejor la sinovitis subclínica grado 1 observada en nuestros pacientes.

Se realizó un estudio para determinar el valor clínico de la sinovitis grado 1 en pacientes con AR [509]. Se examinaron 100 pacientes con AR de inicio o de larga evolución y 30 sujetos sanos y se evaluaron carpos, MCF, IFP de los dedos y metatarsfalángicas. La sinovitis grado 1 se detectó en el 28% de los pacientes con AR de inicio, el 23,2% de las AR establecidas y el 15,2% de los sujetos sanos, lo cual demostró una prevalencia significativamente superior en la AR. A pesar de esto, la sinovitis grado 1 detectada mediante escala de grises en los pacientes con AR, no se correlacionó en la mayoría de los casos con la presencia de afectación clínica, ni tampoco de señal PD, ni mostró cambios significativos con el tratamiento [509]. Los autores concluyen que el valor clínico de la sinovitis por EG grado 1 sería limitado y que, en caso de simplificar los índices actuales en una escala dicotómica de patológico/normal, el grado 1 debería ser considerado normal en ausencia de clínica o de señal PD [509].

Sinovitis grado 1 determinada por power Doppler

Aproximadamente la mitad de las articulaciones que fueron evaluadas como un grado 1 por PD, fueron evaluadas como clínicamente activas. Debido al bajo número de articulaciones con señal PD grado 1 (N=23), no se observaron diferencias significativas entre niños y adultos en la evaluación clínica de las mismas. A pesar de esto, un mayor porcentaje de articulaciones con grado 1 por PD fueron evaluadas como clínicamente activas en los pacientes pediátricos con respecto a los adultos.

Esta observación concuerda con lo previamente publicado. En adultos se había observado que algunos sujetos sanos podían presentar señal PD positiva en las articulaciones [523], mientras que en varios estudios previos que exploraban niños sanos no constataron la presencia de señal PD positiva en ninguno de los recesos articulares [306, 308, 316].

En conclusión, podemos inferir que una articulación con una sinovitis evaluada como grado 1 por ecografía EG o PD, es más probable que presente una actividad inflamatoria leve en los pacientes pediátricos que en los adultos. En general, el valor de la sinovitis ecográfica grado 1, especialmente mediante escala de grises, todavía no ha sido completamente dilucidado. Sería necesario seguir investigando en este campo para poder llegar a conclusiones válidas en los pacientes con AIJ.

3. INMUNOFENOTIPO CELULAR

El estudio del inmunofenotipo linfocitario se realizó mediante citometría de flujo. Para ello, se utilizó una adaptación del protocolo propuesto en el contexto del *Human Immunophenotyping Consortium* (HIPC).

Tal y como se ha comentado en la introducción del presente proyecto, esta iniciativa fue liderada por el *National Institute of Health* (NIH) en Estados Unidos (USA) y por la *Federation of Clinical Immunology Societies* (FOCIS). El HIPC surgió con el objetivo de dar respuesta a la necesidad de armonizar las técnicas para el estudio del sistema inmunológico humano [459]. Entre las distintas técnicas que precisaban ser estandarizadas se encontraba, la citometría de flujo. En el año 2.011, durante la reunión *Flow Immunophenotyping Technical Meeting* (FITMaN) que tuvo lugar en Washington, se diseñó el protocolo que definía los marcadores a utilizar para identificar el inmunofenotipo y el estado de activación de los distintos subtipos de células mononucleares de sangre periférica [459]. El principal objetivo del protocolo HIPC era homogeneizar los estudios de inmunofenotipo linfocitario, para que los resultados observados entre grupos de investigadores fueran comparables.

En el presente proyecto de investigación hemos contado con la colaboración del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Vall d'Hebron. Este Servicio forma parte de los centros internacionales de excelencia FOCIS. Se consideró de especial interés estudiar el inmunofenotipo linfocitario en nuestros pacientes con AIJ, mediante el protocolo del HIPC, porque podría considerarse que era la técnica de referencia en ese momento. Además, era una técnica novedosa, ofrecía una mayor profundidad en el estudio del inmunofenotipo linfocitario y había un buen conocimiento de la misma en nuestro equipo investigador. Se siguió el protocolo original, en la forma más ajustada posible, adaptando algunos de los paneles de marcadores celulares a las características de nuestro citómetro. Estas adaptaciones han sido comentadas en el apartado material y métodos.

El protocolo HIPC de inmunofenotipado celular es un protocolo de reciente implantación en los laboratorios de inmunología diagnóstica, del cual había relativamente poca literatura sistemática en el momento de diseñar el estudio. Fue necesario incluir controles sanos además de los pacientes ya que no disponíamos de valores de referencia para los distintos subtipos celulares. En este subestudio del presente proyecto, se incluyeron 59 sujetos control (29 pediátricos y 30 adultos) y 100 pacientes

con AIJ (68 pediátricos y 32 adultos). Se investigaron las diferencias en el inmunofenotipo linfocitario: a) según la edad; b) entre los sujetos sanos y los pacientes con AIJ; y c) las diferencias que pudieran ser debidas a los distintos tratamientos utilizados en la AIJ.

3.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

En cuanto a las características de los sujetos control y con AIJ, la media de la edad de los sujetos pediátricos sanos era inferior a la de los pacientes pediátricos con AIJ (8,3 vs 10,3). La media de la edad de los adultos sanos era superior a la de los pacientes adultos con AIJ (27,7 vs 22,9). En ambos grupos de edad había diferencias significativas entre la edad de los controles y la de los pacientes. El motivo por el cual la edad fue algo distinta entre los sujetos control y con AIJ fue similar en los dos grupos. Nuestro hospital es un hospital terciario, de alta complejidad y especialización. La mayor parte de los pacientes que acuden a él presentan patología de potencial gravedad y/o complejidad. Por este motivo, entre los adolescentes y los adultos jóvenes sanos que se realizan análisis de sangre de forma programada, fue difícil localizar sujetos sanos. A su vez, los niños sanos eran más pequeños porque fueron elegidos entre aquellos que se sometían a intervenciones quirúrgicas de importancia menor (p.ej. fimosis) más frecuentes en niños de menor edad. En cualquier caso, el análisis de los datos del inmunofenotipo celular, en cualquiera de las comparaciones realizadas, se ajustó por la edad de los individuos. El efecto de la edad sobre la maduración del sistema inmune, es crítica en las primeras etapas de la vida. Por este motivo, independientemente del valor de la media de la edad de los grupos a estudio, la utilización de los test estadísticos más adecuados y ajustando los resultados por la edad nos permite obtener unos resultados robustos.

En cuanto a las diferencias entre los pacientes pediátricos y adultos con AIJ, se observó un mayor porcentaje de pacientes adultos de curso poliarticular (56,3% vs 30,9%) y un mayor porcentaje de pacientes pediátricos de curso oligoarticular (69,1% vs 43,8%) y de subtipo oligoarticular (66,2% vs 34,4%). Se observó esta mayoría de adultos con AIJ poliarticular debido a las características particulares de los pacientes de nuestra consulta de transición, que han sido descritas y discutidas previamente.

Entre los sujetos pediátricos y los adultos con AIJ no se observaron diferencias en cuanto a la actividad de la enfermedad, ni tampoco en las variables de laboratorio. El 74% de los pacientes cumplían con los criterios de inactividad debido a que el estudio se realizó en condiciones de práctica clínica habitual,

en la que el objetivo es mantener a los pacientes en remisión o, en su defecto, en el menor estado de actividad posible.

Entre los tratamientos que recibían los pacientes pediátricos y adultos, no se observaron diferencias en cuanto al tratamiento concomitante con AINES o con glucocorticoesteroides, ni tampoco en los distintos porcentajes de fármacos anti-TNF α utilizados (ETN, ADA e IFX).

Sin embargo, un mayor porcentaje de pacientes pediátricos recibían MTX en monoterapia (39,7% vs 12,5%), sin precisar tratamiento biológico asociado. También se observó que un mayor porcentaje de los pacientes pediátricos recibía terapia anti-TNF α combinada con FAMEs (80,5% vs 50%), con respecto a los adultos. Estas dos observaciones han sido discutidas con detalle en el apartado de la discusión Tratamientos farmacológicos y diferencias entre pacientes pediátricos y adultos.

El hecho de que los niños que reciben terapias anti-TNF α precisen más tratamiento inmunomodulador concomitante que los adultos, sugiere que el sistema inmune podría presentar diferencias relevantes entre ambos grupos. En la AIJ, el desequilibrio en el sistema inmune forma parte de la fisiopatología de la enfermedad. Podríamos especular que algunas de las diferencias que se observen, podrían ser debidas a la progresiva maduración del sistema inmune y a su efecto sobre las características de la AIJ.

3.2. INMUNOFENOTIPO DE LOS SUJETOS SANOS EN FUNCIÓN DE LA EDAD

Se analizaron las diferencias en el inmunofenotipo linfocitario de los sujetos control, pediátricos y adultos. Algunas de las diferencias observadas en los sujetos control fueron comunes a las observadas en los sujetos con AIJ, entendiéndose que se trataba de diferencias debidas a la distinta edad de los sujetos. Estas diferencias nos indicarían los cambios que acontecen en el sistema inmune, a medida que madura de forma fisiológica. Las principales diferencias en el inmunofenotipo de las células mononucleares de sangre periférica, entre sujetos pediátricos y adultos, se comentan de forma pormenorizada a continuación.

En cuanto al total de las **células T CD3+**, se observaron algunas diferencias entre niños y adultos, aunque éstas no fueron significativas. Se observó un mayor porcentaje de células T en los sujetos adultos y un mayor número en cifras absolutas de células T en los pediátricos. En varios estudios

previos de citometría de flujo, se habían registrado cambios muy similares a los nuestros en las células T CD3+ en relación a la edad [333, 347, 524].

En los adultos de nuestro estudio, se observó un mayor porcentaje de **células CD4+**. En un metaanálisis previo, que estudiaba las variaciones de las **células CD4+ y CD8+** con la edad, se objetivó que, a partir de los 2 años de edad, había un descenso en el número de estas células y que, a partir de los 15 años, se produciría un ligero aumento en el número de las mismas [525]. En este metaanálisis no se analizan los datos referentes a los porcentajes celulares. Comparando los datos de nuestro estudio con este metaanálisis, observamos una variación similar en el número absoluto de células CD4+ y CD8+ aunque, en nuestro caso, estos cambios no fueron significativos [525]. El principal motivo por el cual no alcanzamos la significación estadística probablemente sea la distinta estratificación por edades, lo que impide que los datos sean totalmente comparables: en nuestro estudio los diferenciamos de forma dicotómica, mientras que en el metaanálisis los estratificaron cada mes durante el primer año, cada año hasta los 4 años y cada dos años hasta los 14 años de edad [525].

También en los sujetos adultos, se observó un mayor porcentaje de las siguientes **células de memoria**: células T reguladoras de memoria, células T de memoria central y células T efectoras de memoria. Por otro lado, en los controles pediátricos se observó un mayor porcentaje de **células CD4+ naïve**.

La mayor frecuencia de células CD4+ de memoria en adultos jóvenes con respecto a los niños y el mayor número y porcentaje de células CD4+ *naïve* en niños ya habían sido descritos previamente [332, 337, 526]. Estos cambios observados son esperables, y van en concordancia con el proceso madurativo fisiológico del sistema inmune. En los sujetos pediátricos habría un predominio de células CD4+ *naïve* porque un gran número de células todavía no habrían entrado en contacto con los antígenos. A medida que, con la edad, las células CD4+ entran en contacto con los antígenos, se produce un aumento progresivo de las células T de memoria.

Se observó un mayor porcentaje de **CD4+CD25+** y **CD8+CD25+** en los sujetos adultos. El mayor porcentaje de células T con expresión de CD25+ en adultos jóvenes sanos, con respecto a los niños, también había sido previamente descrito en los estudios de citometría [333, 524]. El CD25+, a grandes rasgos, podría considerarse un marcador de activación de las células T. En el nacimiento y hasta los 3 meses de edad, un 5,5% de las células T expresarían CD25 [333]. La menor expresión de CD25 en células T se observaría entre los 3 meses y los 12 años (entre un 2,8-3,8%) y a partir de los 12 años se

expresaría en más del 6% de las células T [333]. La expresión de CD25+ en sangre periférica en sujetos adultos disminuye a partir de los 60 años, con el inicio de la vejez [527]. Por lo tanto, la mayor expresión de CD25+ la observaremos en los sujetos adultos jóvenes.

Los sujetos pediátricos con respecto a los adultos jóvenes presentaron un mayor porcentaje de **células CD3+CD4-CD8-**, también denominadas **células T doble negativas**. Este hecho había sido anteriormente descrito en la población española [346] y en otras poblaciones europeas [347]. En un estudio de estandarización de los valores de las subpoblaciones linfocitarias en los sujetos pediátricos sanos, se observó que las células T CD3+CD4-CD8- son escasas desde el nacimiento hasta los dos años de edad [333]. De los 2 a los 12 años, se observan los mayores porcentajes de células T doble negativas, que disminuyen progresivamente a lo largo de la adolescencia y la edad adulta [333]. Nuestra población pediátrica incluía niños de 2 a 16 años, la mayor parte de ellos dentro del rango de edad en el cual se identificaron los mayores porcentajes de células T doble negativas. Por lo tanto, en nuestro estudio, es lógico que se observaran mayores porcentajes de células T doble negativas en los sujetos pediátricos. Cabe destacar que, en el estudio realizado en población española, los niños más pequeños incluidos tenían 4 años de edad [346] y, en un estudio realizado en la República Checa, los niños se agruparon desde los 10 meses hasta los 11,5 años de edad [347]. Por lo tanto, en ambos casos, también se trataba de una población infantil, dentro del rango de edad que expresa una mayor proporción de células T doble negativas.

En cuanto a las **células T helper**, se pudo constatar un porcentaje significativamente superior de células CD4+ Th1 y Th1-Th17 en los adultos con respecto a los niños. El aumento de las células Th1, Th17, Th1-Th17 y Th2 en adultos jóvenes, con respecto a los niños había sido previamente descrito [332, 347]. Sin embargo, en el presente estudio, observamos un mayor porcentaje de células Th2 en los sujetos pediátricos que en los adultos. En general, nuestro porcentaje y número de células Th2 son muy superiores a los observados en otros estudios. El motivo fundamental de esta diferencia creemos que radica en la técnica utilizada. Disponemos de un citómetro de 3 láseres con lo cual tuvimos que realizar una adaptación técnica del protocolo HIPC para caracterizar estas subpoblaciones celulares del compartimento T. En el protocolo original, se miden los marcadores CD45RA y CCR7, junto con los marcadores CXCR3 y CCR6, caracterizándose así las células T helper de cada una de las subpoblaciones T CD4+. Nosotros separamos dichos marcadores, midiendo la expresión de CXCR3 y CCR6 en el total de las células CD4+ para caracterizar a las células helper, tal y como se especifica en el apartado de Material y Métodos. Resumiendo de nuevo, las células Th1 fueron caracterizadas por

CD3+CD4+CXCR3+CCR6-, las células Th1-Th17 son las CD3+CD4+CXCR3+CCR6+, las células Th17 son CD3+CD4+CXCR3-CCR6+ y, por último, las células Th2 fueron caracterizadas por ser CD3+CD4+CXCR3-CCR6-. Entre las células que hemos considerado Th2 (CXCR3-CCR6-) se encuentran otras células que no expresan estos marcadores pero que no forman parte del subgrupo concreto de células Th2 como, por ejemplo, las células CD4 *naïve*. Por lo tanto, en nuestro estudio, las células Th2 no son exclusivamente células Th2, son en realidad un subgrupo heterogéneo que incluye otros subtipos celulares. Esto explica el mayor porcentaje y número células Th2 que hemos observado en los pacientes pediátricos (debido a las células *naïve*) y también a los altos valores registrados, con respecto a otros estudios. Por este motivo nuestros datos sobre las células Th2 no son comparables con los obtenidos en otros estudios. En cambio, los porcentajes y números de células Th1 y Th17 son muy similares a los previamente publicados.

Los adultos de nuestro estudio expresaban un menor porcentaje de **CD38+** en las **células Th1, Th2 y Th17** que los sujetos pediátricos. El CD38 es una glicoproteína transmembrana que se expresa en las células T activadas y participa en la presentación de antígeno, en el contacto célula T y B, y en la activación y diferenciación de las células T [528]. Puede expresarse también en otras células del sistema inmune. En el estudio de estandarización realizado por el grupo de la Universidad de Padua, Italia, se observó que al nacimiento prácticamente el 100% de las células T y B expresaban CD38+ [333]. La expresión de este marcador descendería progresivamente con la edad, expresándose en aproximadamente el 49% de las células T entre los 12 y los 18 años de edad [422]. En nuestro estudio, pudimos observar que el marcador CD38 en los niños se expresa en torno al 30% de las células Th1 y del 20% de las células Th17. No disponíamos de literatura previa en la que se hubiera analizado en profundidad la expresión de CD38+ en los distintos subtipos de células CD4+, en función de los marcadores CXCR3 y CCR6.

Otros investigadores, habían descrito un descenso gradual en el porcentaje de **células T reguladoras** con la edad, pasando de un 6,7% en los niños a un 3,7% en los adultos [347]. Sin embargo, en todos nuestros grupos de pacientes, tanto los controles como los pacientes con AIJ, se observó un porcentaje total de células T reguladoras similar, en torno al 4%. El motivo principal podría ser metodológico, ya que las células T reguladoras en nuestro estudio fueron determinadas por marcadores celulares de membrana, tal y como indica el protocolo HIPC. En otros estudios se ha utilizado el marcador intracelular Foxp3. Para utilizar un marcador intracelular las células deben lisarse. El uso de distintos marcadores y el distinto procesamiento de las muestras antes de su marcaje podrían determinar las

diferencias observadas [343]. Nuestro protocolo caracteriza a las células T reguladoras por CD4+CD25^{high}CD127-^{low}, y en la literatura se ratifica que existe una correlación entre las células CD127- y la expresión de Foxp3 y la función reguladora de las mismas [336, 343, 344]. Por lo tanto, está aceptado que es una buena estrategia para identificarlas, aunque como hemos señalado siempre puede haber diferencias derivadas de la técnica utilizada.

En los sujetos pediátricos también se observó una mayor proporción y un mayor número de **monocitos intermedios**. Esta población celular, podría estar implicada en varias enfermedades autoinmunes, en las cuales se han observado mayores valores de estas células con respecto a los controles [529]. También se ha descrito un aumento de los monocitos intermedios, que además expresaban un fenotipo aberrante, en los neonatos nacidos pretérmino [530]. Recientemente, incluso se ha observado que el aumento de los monocitos intermedios en sangre periférica, aumentaría el riesgo de desarrollar una diabetes mellitus tipo 1 en los niños [531]. No se había descrito previamente un mayor porcentaje de monocitos intermedios en los sujetos pediátricos sanos con respecto a los adultos sanos.

En el resto de monocitos y de **células dendríticas** no se observaron diferencias significativas entre la población pediátrica y los adultos. En un estudio previo, se había descrito que las células dendríticas mieloides se mantendrían estables con los años, y que las plasmocitoides disminuirían desde los primeros meses hasta los 18 años de edad [348]. En nuestros sujetos pediátricos se observaron valores discretamente superiores en el porcentaje de células plasmocitoides con respecto a los adultos. Aunque estas diferencias serían coherentes con lo previamente publicado, tanto en los controles como en los sujetos con AIJ, fueron diferencias sutiles que no alcanzaron la significación estadística.

En cuanto a las **células B**, se observó un mayor número de células B totales, de **células B naïve** y **transicionales**, en los sujetos pediátricos con respecto a los adultos. Este mayor número y porcentaje de células B totales en los sujetos pediátricos, concuerda con lo descrito previamente en otros estudios que utilizaron la citometría de flujo [347, 524]. La mayor parte de los estudios que analizaron la evolución del número de células B durante el crecimiento demostraron, de forma consistente, que el número de células B aumenta intensamente durante los primeros 6-9 meses de vida y, a partir de esa edad, el número de células B desciende gradualmente hasta la edad adulta [525, 532]. Las células B *naïve* se diferencian a células B de memoria tras entrar en contacto con el antígeno. Por este motivo es lógico observar una mayor proporción de células B *naïve* en el niño que en el adulto. Recientemente

se ha demostrado que el niño en los primeros meses de vida presentaría el mayor número y porcentaje de células B *naïve* y transicionales y que ambos disminuirían progresivamente con la edad [532, 533].

En los sujetos pediátricos, se observó un mayor número y porcentaje de **células B IgD+IgM+** total y preformadoras del centro germinal, y un mayor número (aunque no porcentaje) de las células IgD+IgM+ *naïve*, y de los subtipos de células IgD+IgM+ *naïve* CD21+ y CD21-. Las células IgD+IgM+ son células B maduras, que han pasado un proceso de selección y diferenciación, pero son *naïve*, porque han salido a la circulación sanguínea y todavía no han entrado en contacto con el antígeno. Dado que son células que todavía no han sido estimuladas por los antígenos, resulta lógico que se observe un mayor número de ellas en los sujetos pediátricos. Está descrito que el número total y porcentaje de las células IgD+IgM+CD27+, aumentaría progresivamente desde el nacimiento alcanzando su pico máximo aproximadamente a los 2 años [336]. A partir de los 15 años estos valores se normalizarían con los que se observarían en la edad adulta. Por lo tanto, también en este estudio, los valores observados en la población pediátrica son superiores a los esperados en la población adulta [336]. En otro estudio, se observó que las células IgD+CD27- *naïve* disminuyen desde el nacimiento hasta los 15 años, mientras que el número de IgD+CD27+ de memoria se mantiene relativamente estable también durante la infancia [534]. En cambio, los porcentajes celulares de las células IgD+CD27- *naïve* disminuyen desde el nacimiento y siguen disminuyendo durante la edad adulta, mientras que el número de IgD+CD27+ de memoria aumenta desde el nacimiento y sigue aumentando durante la edad adulta [534].

En cambio, el porcentaje de células B switch de memoria, pre-switch de memoria, IgD-IgM- e IgD+IgM+ *naïve*, fue mayor en los adultos que en los sujetos pediátricos. Se había observado previamente que las **células B de memoria switch y pre-switch** aumentan progresivamente con la edad [532]. También se observó que las células IgD-CD27- son especialmente numerosas en el recién nacido, pero su número desciende durante la niñez y aumenta ligeramente durante la adolescencia, manteniéndose estable en la edad adulta [532]. Con los datos obtenidos no podemos comparar nuestros resultados con los descritos en las células IgD-CD27-.

En conclusión, la mayor parte de las diferencias observadas entre los sujetos pediátricos y los adultos de nuestro estudio están en concordancia con los resultados descritos en la literatura. Estas diferencias son debidas al distinto estado madurativo del sistema inmune en función de la edad de los pacientes. Cabe destacar, la diferencia observada en las poblaciones de monocitos intermedios ya que no sido

descrita previamente y podría ser realmente interesante debido a su posible implicación en las enfermedades inmunomediadas.

3.3. INMUNOFENOTIPO EN LOS CONTROLES SANOS Y PACIENTES

A continuación, se discuten las diferencias observadas entre los sujetos control y los pacientes con AIJ. Se compararon los sujetos pediátricos y los adultos por separado. No podemos discernir si las diferencias constatadas entre los sujetos control y los sujetos con AIJ tienen un poder patogénico causal, o son consecuencia de los cambios producidos durante la propia enfermedad, pero indican un distinto funcionamiento en el sistema inmune con respecto a los sujetos sanos.

3.3.1. Inmunofenotipo en los controles y pacientes pediátricos

Entre sujetos pediátricos sanos y con AIJ, las mayores diferencias se observaron en el compartimento de células T. Éstas se detallan a continuación.

Previamente se ha comentado que los niños sanos presentaban un menor porcentaje de las **células CD3+** y un mayor número absoluto de células CD3+ que los adultos [347]. En nuestros pacientes pediátricos con AIJ, se observó una tendencia a presentar un mayor porcentaje y un mayor número de células CD3+ que en los sujetos pediátricos sanos. El mayor número de células T en los sujetos pediátricos con AIJ oligo y poliarticular con respecto a sus controles sanos, se había observado en otros estudios, no alcanzando tampoco la significación estadística [373].

En los pacientes pediátricos con AIJ se observó un número y porcentaje significativamente superior de **células CD4+ totales** y de **células CD4+ de memoria central** con respecto a los niños sanos. La tendencia a presentar un mayor número de células CD4+ y/o de células CD8+ en sangre periférica en los pacientes con AIJ con respecto a los controles se había observado en otros estudios, pero sin llegar a ser un aumento estadísticamente significativo [372, 373, 535]. Estos estudios tampoco identifican qué subtipos celulares concretos, dentro de las células CD4+ y CD8+, son los que presentan los mayores incrementos celulares en los pacientes con AIJ.

Las **células CD4+ de memoria central**, que expresan CCR7+, están presentes en sangre periférica, recirculando entre tejidos linfoides secundarios [536]. El mecanismo concreto por el cual actuarían aún

no ha sido completamente dilucidado. Se conoce que tienen una vida media más larga que las células efectoras y que, tras el contacto con un determinado antígeno, son rápidamente activadas, proliferando y diferenciándose en varios subtipos de células efectoras, dependiendo de las citoquinas ambientales [536]. Se ha descrito que, durante su migración en sangre periférica, estas células pueden infiltrar los tejidos inflamados, hallándose en la membrana sinovial inflamada y en el líquido sinovial de pacientes con AIJ y de pacientes con AR [537, 538]. El motivo de este acúmulo de células CD4+ de memoria central en la membrana sinovial inflamada es tanto por la migración al tejido como por la linfoneogénesis, que tiene lugar en la membrana sinovial de los pacientes con artritis. En nuestro estudio se observó un aumento significativo en el número y porcentaje de células CD4+ de memoria central en los niños con AIJ, con respecto a los controles. De forma similar, en un estudio previo se había descrito un aumento de estas células en sangre periférica de sujetos pediátricos con AIJ [537].

La proporción de **células CD8+ efectoras** (CD45RA+CCR7-) en los pacientes pediátricos con AIJ, fue significativamente inferior que en los niños sanos. Las células CD8+ efectoras son células activadas, que típicamente reconocen células infectadas por virus o tumorales y que secretan proteínas como, por ejemplo, la perforina, que inducen la lisis celular [536]. Por este motivo se las denomina citotóxicas.

El papel de las células CD8 en la AIJ, en general, ha sido poco estudiado y no disponíamos de datos de la literatura referentes a células CD8+ efectoras en controles sanos con los que comparar nuestros resultados. Una posible explicación de por qué disminuyen las células CD8+ efectoras en sangre periférica, sería su migración a los tejidos inflamados. En la AR, que es una enfermedad inflamatoria articular propia del adulto, algunos estudios han observado datos similares al nuestro, en cuanto a las células CD8+. En un estudio que analizaba la sangre periférica de pacientes con AR en tratamiento, también se observó una proporción significativamente inferior de células CD8+ efectoras con respecto los controles sanos (caracterizadas también con los marcadores CD45RA+CCR7-, aunque hacen referencia a ellas como células efectoras de memoria diferenciadas terminalmente) [539]. Sin embargo, en otro estudio, realizado posteriormente, en pacientes con AR en tratamiento, no se observaron grandes cambios en el número de células CD8+ circulantes entre controles y pacientes activos o inactivos [540]. Los mayores cambios residirían en marcadores específicos de activación, que no fueron investigados en nuestro estudio, y en la secreción de citoquinas según el estado de actividad. Los datos discordantes en los estudios de AR podrían explicarse por los tratamientos que recibían los pacientes y por los distintos marcadores celulares y técnicas de laboratorio utilizadas.

Por otro lado, también se observó en los pacientes con AIJ una expresión significativamente superior de **células CD4+CD25+** y **CD8+CD25+**. También en los pacientes con AIJ se observó una expresión significativamente inferior de **HLA-DR+** en **células CD4+ T helper** (Th1, Th2 y Th17). El marcador CD25+ es un marcador de activación temprano que se expresa en las células T, y el antígeno HLA-DR sería un marcador de activación tardío. En varios estudios previos, se había observado un aumento de células T activadas, con mayor expresión de CD25 y de HLA-DR en la membrana y líquido sinovial de los pacientes con AIJ [373, 541, 542]. Sin embargo, en sangre periférica, los resultados son discordantes. En varios estudios se ha observado una mayor expresión de HLA-DR en células CD3+ [375] y, en uno de ellos, este aumento se relacionaba con los niveles de IgG [373]. En cambio, en otras publicaciones, en los pacientes con AIJ no se observó una mayor expresión de HLA-DR ni de CD25 en sangre periférica [376]. Otros trabajos de investigación, referían un aumento de la expresión del HLA-DR en líquido sinovial pero, o bien no hubo diferencias en sangre periférica [378], o bien este aumento no alcanzó la significación estadística [372]. Los resultados observados, aparentemente contradictorios, podrían ser debidos a: el número de pacientes utilizado, a la heterogeneidad en los subtipos de pacientes con AIJ reclutados entre estudios, las diferencias en el tipo de controles utilizados, y a la diferencia en el tipo de reactivos y técnicas utilizadas. En nuestro estudio, el descenso observado en la expresión de HLA-DR en los pacientes con AIJ es claramente significativo en los subtipos de células CD4+ T helper.

Querriamos hacer énfasis en el hecho de que, entre sujetos pediátricos sanos y con AIJ, no se observaron diferencias significativas en el compartimento de **células T reguladoras**. La tendencia que se observó fue la de un mayor número de células T reguladoras y de células T reguladoras de memoria en los sujetos pediátricos con AIJ con respecto a los sanos. Los resultados observados en otros estudios, en cuanto al número de células T reguladoras en sangre periférica, son controvertidos; se ha descrito un aumento, un descenso e incluso no se han observado cambios con respecto los controles, según las series [543]. En cambio, sí se ha descrito una clara expansión de células T reguladoras en líquido sinovial de los pacientes con AIJ [16]. Esto es similar a lo descrito en la AR y en otras artritis autoinmunes. Actualmente, siguen sin resolverse muchas de las dudas en cuanto al papel de las células T en la AIJ, aunque parece demostrado que tienen un papel en la regulación de la inflamación local y en el control de la progresión de la enfermedad [368].

Entre los sujetos pediátricos control y los pacientes con AIJ no se observaron diferencias significativas en las células dendríticas, los monocitos, ni en las células B. En cuanto a las células dendríticas, se había descrito una disminución significativa tanto del número de células dendríticas mieloides como

plasmocitoides en sangre periférica de sujetos con AIJ con respecto a controles sanos [389]. Los datos obtenidos por nosotros no son del todo comparables con el estudio realizado en el año 2008, por varios motivos. En primer lugar, en nuestro estudio analizamos las diferencias en los porcentajes de las células dendríticas mieloides y plasmocitoides pero no dispusimos del número de células dendríticas totales para poder compararlos, debido a limitaciones técnicas. En segundo lugar, las proporciones observadas en los subtipos de células dendríticas entre sujetos sanos y con AIJ tampoco presentaban grandes diferencias. En tercer lugar, en el estudio previo se incluyeron sujetos con AIJ sistémica que en el nuestro fueron excluidos dado que es un subtipo de AIJ con una etiopatogenia muy distinta. Por último, los pacientes con AIJ del estudio previo no habían realizado aún tratamiento farmacológico.

El análisis de las poblaciones linfocitarias circulantes, en algún trabajo previo, no demostró diferencias entre sujetos pediátricos sanos y con AIJ en las células B totales, las *naïve* ni tampoco en las células B de memoria [385]. En un estudio se observó un aumento, no significativo, de células B totales en pacientes con AIJ oligo y poliarticulares con respecto a los controles [373]. En otros, se observaron diferencias en un perfil particular de células B CD5+. Se trataría de células B autoreactivas, con una mayor expresión del receptor de células B, y capaces de producir autoanticuerpos [385]. En estos estudios, se observó un aumento de linfocitos B CD5+ en los pacientes con AIJ en general [385], en el subtipo de AIJ oligoarticular y poliarticular [373], independientemente del subtipo de la AIJ y de la actividad clínica [386], o bien en el subtipo de AIJ poliarticular y correlacionado con la actividad clínica [387]. No analizamos específicamente las células B CD5+, dado que no forman parte del protocolo HIPC. Por lo tanto, desconocemos si en nuestros pacientes también habría una expansión de este particular subtipo de células B. En nuestra opinión, debido a las particularidades de esta subpoblación de células B, consideramos que sería interesante añadir este marcador en ulteriores análisis.

Cabe destacar que los niños con AIJ de nuestro estudio tenían una media de 5,9 años de evolución de la enfermedad, que todos recibían tratamiento inmunomodulador y la mayor parte de ellos presentaban una AIJ inactiva desde el punto de vista clínico. Por lo tanto, los cambios observados con respecto a los controles sanos, no identificarían una alteración temprana de la respuesta inmune en la AIJ, sino que más bien, corresponderían al mecanismo de perpetuación de la respuesta inmune anómala en esta enfermedad.

Las mayores diferencias entre los sujetos pediátricos sanos y afectados de AIJ se observaron en las células del compartimento T. La mayor parte de ellas habían sido previamente descritas en la AIJ o bien en la AR. Los hallazgos observados en los pacientes pediátricos con AIJ se resumen en, una mayor expresión de CD25+ en las células CD4+ y CD8+, una menor expresión del antígeno HLA-DR en las células helper, una disminución de las células CD8+ efectoras y un aumento en las células CD4+ de memoria central.

3.3.2. Inmunofenotipo en los controles y pacientes adultos

A continuación, se discuten las diferencias observadas entre adultos con AIJ y adultos control. Es importante recordar que no disponemos de estudios previos realizados en adultos con AIJ con los que poder comparar los resultados observados en nuestro estudio ya que, en el pasado, se habían homologado a los pacientes con AR. Por lo tanto, en la discusión, sólo haremos referencia a algunos de los datos observados en AR y en los niños con AIJ.

Como única alteración en el compartimento de células T, en los adultos con AIJ se observó un aumento significativo de células CD3+ doble positivas con respecto a los adultos sanos. Estas diferencias son distintas a las observadas en los pacientes en edad pediátrica.

En los adultos con AIJ, no se observaron cambios en las células dendríticas, sin embargo, sí se identificó un aumento en el número y porcentaje de monocitos intermedios. Tal y como ya se ha comentado, los monocitos intermedios son células que podrían tener un papel en distintas enfermedades autoinmunes [529].

Las mayores diferencias entre pacientes adultos con AIJ y adultos sanos se observaron en el compartimento de células B. Los pacientes con AIJ adultos presentaron un aumento significativo tanto en el porcentaje como en el número total de **células B IgD+IgM-** y en el número de células **IgD+IgM-naïve CD21-**, con respecto a los adultos control. También se observó una disminución significativa en el porcentaje de células **IgD-IgM-CD27+CD21+** en los pacientes con AIJ con respecto a los adultos control y, a su vez, un aumento significativo en los porcentajes y números absolutos de células **IgD-IgM-CD27+CD21-** y de células **IgD-IgM-CD27-CD21-**.

El marcador CD21, sería un marcador de activación de las células B, que forma parte del complejo correceptor de la célula B, aumentando su sensibilidad al antígeno [536]. Está descrito, que las células B CD21- sería células predispuestas a la anergia y/o la apoptosis, presentando una disminución en la regulación de las distintas vías de activación [544]. En un estudio sobre células B en pacientes infectados crónicamente por hepatitis C, se hipotetizaba que el disminuir la regulación de CD21, podría ser un mecanismo homeostático de control que atenuara la respuesta de las células B autorreactivas [544]. Con respecto a los adultos sanos, se ha observado un aumento de las células B CD21- en otras patologías autoinmunes como, por ejemplo, el lupus eritematoso sistémico [545] y la AR [546]. En los pacientes con lupus esta población se acumulaba progresivamente con el tiempo [545]. En concreto, en los pacientes con AR, las células CD21-, que eran más sensibles a sufrir apoptosis, mantenían estable su porcentaje en sangre periférica tras 4 años desde el inicio de la enfermedad, estando en tratamiento [546]. También es interesante de este estudio, la observación de un incremento en el subtipo celular IgD+IgM-CD21- en los pacientes con AR con respecto a los controles [546]. La mayor parte de las células CD21- de los sujetos sanos exhibían un fenotipo de memoria, mientras que las células CD21- en la AR eran fundamentalmente *naïve* [547]. Las células CD21- eran polirreactivas y autorreactivas y, hasta el 22% de ellas, generaban anticuerpos antinucleares [547]. Se desconoce cuál es el papel de estas células en la fisiopatología de las enfermedades autoinmunes.

Nuestros pacientes adultos con AIJ presentaban un aumento en distintos subtipos de células B que no expresaban el marcador CD21 (células IgD+IgM- *naïve* CD21-, células IgD-IgM-CD27+CD21- e IgD-IgM-CD27-CD21-). Podríamos especular, que esto es debido a que, con el tiempo, en los pacientes con AIJ las células B adquieren un fenotipo más anérgico que favorecería la autotolerancia.

El marcador CD27, en las células B es un marcador de memoria [548]. Muchas de ellas expresarán el marcador CD21, porque han sido activadas. En cambio, en nuestros adultos con AIJ observamos menos células IgD-IgM-CD27+CD21+ que en los sanos y un mayor número de células IgD-IgM-CD27+CD21-. También en los pacientes con AIJ adultos se observó un aumento significativo de células IgD-IgM-CD27-CD21-. En la AIJ el aumento de estas células no había sido descrito. En otras entidades se han descrito alteraciones en células que no expresan CD21 y en las células IgD-CD27-. Son células distintas de las que hemos identificado con nuestro estudio, pero comparten parte del fenotipo. Recientemente se ha observado que las células IgD-CD27- son un subtipo de células B que aumenta con el envejecimiento y en distintas enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico [547]. La hipótesis es que se trataría de células B de memoria senescentes, que disminuirían la regulación de CD27+ al ser

estimuladas crónicamente por un antígeno [547]. En los pacientes con esclerosis múltiple se ha descrito un aumento de células CD21- y de células IgD-CD27- en líquido cefalorraquídeo y que, además, estas células contribuyen a la inflamación, induciendo respuestas de células T con la consiguiente producción de citoquinas proinflamatorias [547].

En conclusión, las mayores diferencias observadas entre sujetos pediátricos sanos y con AIJ se objetivaron en el compartimento de células T, mientras que las mayores diferencias entre sujetos adultos sanos y con AIJ se observaron en el compartimento de células B. Se podría especular, que el mecanismo fisiopatológico que perpetuaría el proceso inflamatorio en la AIJ durante los primeros años, no sería el mismo mecanismo que lo perpetuaría en la edad adulta. En otras entidades como, por ejemplo, en el rechazo de un injerto, también se observa que en las primeras fases del rechazo las células T CD4+ y CD8+, NK y dendríticas serían de mayor importancia. Al cronificarse la situación de rechazo, las células B adquirirían un papel más relevante, tanto para promover la tolerancia al injerto, como para la perpetuación de la respuesta inmune anómala [536, 549, 550].

3.4. INMUNOFENOTIPO EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADULTOS

Los datos observados en las poblaciones linfocitarias de los pacientes pediátricos con AIJ se compararon con los datos observados en los pacientes adultos. Las diferencias que se discuten a continuación no se habían observado en los controles en relación a la edad y, por lo tanto, fueron diferencias específicas de los pacientes con AIJ según el grupo de edad al que correspondían.

En los pacientes adultos se observó un porcentaje y un número absoluto de **células T CD8+CD25+** muy similar a los controles. Sin embargo, en los pacientes pediátricos con AIJ se observó un número absoluto de células CD8+CD25+ superior al de los otros 3 grupos de pacientes (niños sanos, adultos sanos y adultos con AIJ). Este dato podría sugerir que, en los pacientes pediátricos, la activación temprana de las células CD8+ jugaría un papel más importante en la patogenia de la enfermedad, que no se precisaría para mantener la actividad de la misma durante la edad adulta. No disponemos de otros datos de la literatura que refuercen esta hipótesis y, por otro lado, es difícil comparar los cambios encontrados en la periferia con los cambios que se producen en los tejidos.

En los pacientes con AIJ pediátricos se observó un número y porcentaje de células **CD3+CD4+CD8+**, también denominadas **células T doble positivas**, inferior al observado en los adultos con AIJ. Dado que

es totalmente opuesto a lo observado en los sujetos sanos, no es una diferencia que pueda ser explicada por la edad.

Clásicamente se aceptaba que las células T circulantes que expresaban CD4+ y CD8+ eran un subtipo celular aberrante porque, cuando las células T maduran y abandonan el timo, expresan sólo uno de los dos marcadores [551]. Hoy en día, sabemos que no es así, y que estas células suponen aproximadamente el 3%-5% de las células T circulantes de los sujetos sanos [551, 552]. Las células CD3+ doble positivas son una subpoblación de células T heterogénea que se produce como una respuesta inmune antiviral [552, 553]. Determinadas infecciones como, por ejemplo, la infección crónica por el virus de la inmunodeficiencia humana, el Epstein-Barr y el herpes virus 6 humano, influyen en este subtipo celular, aumentando su porcentaje en sangre periférica [552, 554]. Varios autores han demostrado que este aumento podría deberse a la síntesis *de novo* de CD4+ en células CD8+, que habían sido previamente estimuladas [554, 555].

El porcentaje de las células T CD3+ doble positivas está aumentado en la sangre periférica de distintas enfermedades autoinmunes y neoplasias [553, 556]. Aunque su función no se conoce completamente, se ha demostrado que estas células T CD3+ doble positivas, son células T maduras, con un fenotipo mayoritario de células antígeno-específicas efectoras de memoria, y que contribuyen a la respuesta inmune adaptativa durante las infecciones virales [557]. En el año 2.000, se describió un aumento fisiológico de estas células en los adultos de mayor edad, con respecto a los adultos jóvenes [555]. No disponemos de valores de normalidad en sujetos pediátricos con los que poder comparar nuestros resultados. En resumen, observamos un mayor porcentaje de estas células en los niños sanos que en los niños con AIJ y en los adultos con AIJ que en los adultos sanos.

Las células **Th1 HLA-DR+**, **Th1 activadas**, **Th2 HLA-DR+** y **Th2 activadas**, en los pacientes con AIJ pediátricos, presentaron menores porcentajes que los observados en los adultos con AIJ. De forma no significativa, también se observó que las **células Th17 HLA-DR+** presentaban una menor expresión en los pacientes con AIJ pediátricos y una mayor expresión en los pacientes con AIJ adultos. La diferencia fundamental en las células T helper, según la edad de los pacientes con AIJ, no se observó en la polarización hacia el fenotipo Th1, Th2 o Th17, sino que residía en el estado de activación de las mismas. Esto es opuesto a lo observado en los sujetos sanos en quienes, de forma no significativa, observamos una mayor expresión de HLA-DR en los sujetos pediátricos que en los adultos. Sin embargo, en la literatura está descrito que el porcentaje total de células T CD3+ que expresan HLA-

DR+ aumenta progresivamente desde el 1-2% al nacimiento hasta el 7% entre los 5-10 años de edad y, posteriormente, se mantiene estable en torno al 5-6% al llegar a la edad adulta, aunque puede incrementarse de nuevo durante la vejez [333, 334, 558]. Una posible explicación de la diferencia observada en nuestros controles, con respecto a la literatura, es el tipo de inmunofenotipado realizado. En los estudios previos se informaba del aumento de expresión del HLA-DR durante la niñez, en el total de células CD3+, independientemente de que fueran CD4+ o CD8+, e independientemente de los otros marcadores de membrana. En un estudio previo realizado en pacientes con AIJ, el porcentaje de células que expresaban HLA-DR en sangre periférica, fue superior en las células CD8+ que en las CD4+ [542]. En nuestros pacientes y controles, en cambio, se determinó la expresión del antígeno HLA-DR en las células CD3+CD4+ (excluyendo las CD8+), y según los marcadores de membrana CXCR3 y CCR6. Por lo tanto, no disponemos de datos de estudios previos que utilizaran nuestra misma estrategia de marcaje celular para poder comparar los resultados.

Los marcadores celulares CD38 y HLA-DR, son marcadores de activación, en este caso, de las células T [331]. Las células Th2, por las cuestiones técnicas que hemos explicado previamente, en nuestro estudio se trata de una población heterogénea que comprende varios subtipos celulares entre los que se incluyen las Th2. Por lo tanto, no podemos extraer conclusiones referentes a este subtipo celular. En cuanto a las células Th1, aquellas que expresan los marcadores celulares HLA-DR y CD38 son células que han sido activadas y que, a su vez, secretarían citoquinas que activarían a macrófagos y otras células T, fundamentalmente, las citotóxicas [536]. Las células Th17 HLA-DR+, serían células Th17 activadas y que, por lo tanto, contribuirían a proteger contra algunas infecciones bacterianas y a mantener la respuesta inflamatoria en enfermedades autoinmunes [536].

En las subpoblaciones linfocitarias del compartimento B, la mayor parte de las diferencias observadas entre los pacientes con AIJ pediátricos y adultos no fueron significativas. Se observaron algunas tendencias opuestas de las identificadas según la edad en los sujetos sanos.

En las **células IgD-IgM-CD27-CD21-**, los valores observados en los pacientes con AIJ pediátricos fueron similares e incluso ligeramente inferiores a los observados en los sanos, mientras que en los adultos con AIJ, los valores fueron significativamente superiores a los adultos sanos. En las **células IgD-IgM-CD27+CD21-** se observó un mayor número y porcentaje de las mismas en los controles pediátricos que en los adultos sanos, sin embargo, en los pacientes con AIJ la relación observada fue inversa, siendo los valores de los sujetos pediátricos sanos similares a los de los pacientes pediátricos con AIJ.

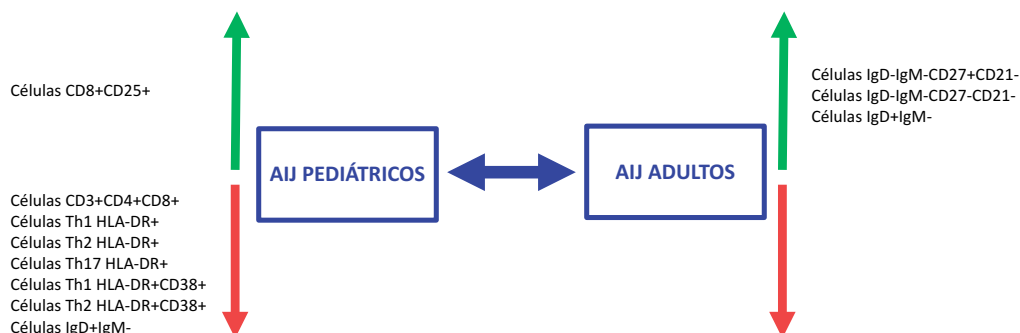
Por lo tanto, en los adultos con AIJ, afectados por una enfermedad de larga evolución, observamos un aumento de distintos subtipos de células B CD21⁻ que, tal y como hemos comentado antes, serían células anérgicas. Podríamos deducir que, con los años, la inflamación persistente modifica los perfiles celulares y, algunas de las células B, adoptarían un fenotipo más compatible con la anergia o con la *exhaustion*. En un futuro, para obtener más información referente a estos subtipos celulares, se podría considerar estudiar las situaciones de activación o de *exhaustion* de estas células utilizando los marcadores celulares específicos de activación.

En los subtipos celulares de **células IgD-IgM⁺** se observaron tendencias opuestas entre los controles sanos y los pacientes con AIJ. Los niños control presentaron un número de células IgD-IgM⁺ significativamente superior a los adultos. No encontramos datos referentes a las células IgD-IgM⁺, ni en sujetos sanos, ni tampoco en distintas patologías. En cambio, sí hallamos datos referentes a las células IgD-IgM⁺CD27⁺. En un estudio del año 2009, se observó que las células IgD-IgM⁺CD27⁺ aumentaban hasta alcanzar su máximo número y porcentaje en los niños de entre 4 y 12 años de edad, presentando menores valores a partir de los 15 años [336]. Podríamos especular que algo similar sucedía con el resto de células IgD-IgM⁺ aunque, al no haber medido la expresión de CD27, no podemos confirmarlo. En los pacientes con AIJ el número de estas células IgD-IgM⁺ fue muy similar entre grupos de edad, observando una tendencia a presentar menores valores en los pacientes pediátricos con respecto a los niños sanos, y mayores valores en los adultos con AIJ con respecto a los sanos. Por este motivo, es de suponer, que el mecanismo por el que actúan estas células estaría presente en los adultos con AIJ, pero no tendría un papel relevante en la actividad de la AIJ en los niños. Las células IgD-IgM⁺ circulantes en sangre periférica, en caso de expresar CD27⁺, se considerarían células B activadas, que evolucionarían de las células switch [559, 560], cuyos valores están aumentados en los pacientes con síndrome de Sjögren y otras enfermedades autoinmunes [561]. Algunos autores les atribuyen un posible papel protector frente a la autoinmunidad [548].

Los subtipos celulares de **células IgD+IgM⁻** presentaron tendencias opuestas entre los controles sanos y los pacientes con AIJ. Los niños control presentaron un número y porcentaje de células IgD+IgM⁻ superior a los adultos. En los pacientes con AIJ el número de estas células fue muy similar y el porcentaje fue inferior en los pacientes pediátricos con AIJ, con respecto a los niños sanos, y el número de células fue superior en los adultos con AIJ, con respecto a los adultos sanos.

Las diferencias observadas entre pacientes con AIJ de distintas edades, podríamos especular que son ocasionadas porque, con la maduración del sistema inmune, los mecanismos que inicialmente desencadenan y perpetúan la respuesta alterada en el sistema inmune, cambian en la edad adulta. Otra posibilidad sería que las diferencias observadas fueran debidas al tratamiento, y no a la distinta fisiopatología de la enfermedad. Esto se discutirá en los siguientes apartados.

Figura 12. Resumen de las diferencias observadas entre los pacientes con AIJ según la edad.



3.5. INMUNOFENOTIPO EN FUNCIÓN DEL TRATAMIENTO

Los pacientes con AIJ fueron estratificados según el tratamiento recibido, con el fin de identificar diferencias en las poblaciones linfocitarias que pudieran ser secundarias al mismo. Se dividieron según recibieran tratamiento con MTX en monoterapia, con terapias anti-TNF α combinadas con FAMEs y con terapias anti-TNF α en monoterapia. De nuevo, las mayores diferencias en los sujetos pediátricos se observaron en el compartimento de células T, mientras que en adultos se observaron en el compartimento de células B. A continuación, se describen las diferencias en los sujetos pediátricos y adultos en función del tratamiento.

En los pacientes pediátricos en tratamiento con MTX se observó una disminución significativa del porcentaje de células CD8+ efectoras y de células CD8+ efectoras de memoria en comparación, tanto con los controles pediátricos como con los otros grupos de tratamiento pediátricos. A su vez, se observó un aumento significativo, esperable, de las células CD8+ *naïve*. También en los pacientes en tratamiento con MTX, se observó un mayor porcentaje y número de células CD4+, un menor porcentaje de células CD4+ efectoras de memoria y un mayor porcentaje de células CD4+ *naïve*. Los pacientes en tratamiento con terapias anti-TNF α combinadas con FAMEs mostraron una tendencia

similar, en cuanto a los cambios en estos subgrupos celulares, aunque ésta no fue significativa. Se podría especular que esto sea debido al efecto de los FAMEs sobre las células.

En nuestro estudio no observamos diferencias relacionadas con el tratamiento en los números y porcentajes de células T reguladoras. En un trabajo realizado en el año 2015, en pacientes con AIJ en tratamiento con MTX, se observó que el fármaco no tenía un efecto sobre la función ni sobre el número o el inmunofenotipo de las células T reguladoras [407]. Además, los autores constataron un aumento en la proliferación de las células T efectoras CD4+ y CD8+, aunque no informaron sobre los cambios en los números de estas células [407]. En el presente proyecto, no investigamos diferencias en la proliferación de los distintos tipos celulares. Observamos que, en los pacientes pediátricos en tratamiento con MTX, se producía una disminución significativa en el número y/o porcentaje de las células CD8+ efectoras y CD8+ efectoras de memoria y en las células CD4+ efectoras de memoria. Por lo tanto, en contraposición a lo previamente expuesto, nuestros datos no parecerían indicar un aumento en la proliferación de las células efectoras. La diferencia principal entre estos dos estudios, es que en el nuestro, en cuanto al inmunofenotipado celular, se utilizó un diseño transversal, no hicimos un seguimiento desde el inicio del tratamiento, sino que la mayoría de ellos habían recibido el MTX durante años antes de analizar sus poblaciones linfocitarias. Por lo tanto, los valores no pueden ser comparados con los suyos propios. Las posibles explicaciones a estas diferencias serían: a) el tipo de estudio realizado; b) el MTX, a lo largo de los años, acabaría influyendo en las células efectoras, inhibiendo su proliferación. Este proceso sería contrario a lo observado en el estudio del año 2015, pero sería coherente con lo observado cuando se administra en grandes dosis y se inhibe la proliferación celular [403]. Podríamos hipotetizar que con la continua acumulación de poliglutamatos del MTX, su efecto antiproliferativo se potenciaría, incluso administrándolo a dosis bajas [403].

Se observó un mayor aumento en la expresión de CD25+, en los pacientes pediátricos con AIJ que recibían en tratamiento combinado con terapias anti-TNF α y FAMEs. En los pacientes pediátricos que recibían tratamiento con terapias anti-TNF α en monoterapia y con MTX en monoterapia, el aumento observado fue similar. En todos los pacientes con AIJ pediátricos, se observó una mayor expresión de CD25+ en las células T que en los controles. Este aumento significativo en los pacientes en tratamiento combinado con terapias anti-TNF α y FAMEs, se observó en el porcentaje y/o número de células CD8+CD25+ y de células CD4+CD25+. Podría especularse que el hecho de administrar conjuntamente el tratamiento con terapias anti-TNF α y FAMEs, potenciaría el efecto de estas terapias sobre la activación celular. Otra posible explicación sería que el efecto de los fármacos se produjera realmente

sobre otras dianas o poblaciones celulares y que, la activación de las células CD4+ y CD8+, fuera un tipo de respuesta secundaria a este primer efecto. Es decir, que se produjera como un intento en perpetuar la respuesta inflamatoria de la AIJ, inhibida por las terapias.

En nuestro estudio no se observaron diferencias significativas en ninguna de las subpoblaciones de células B según la terapia recibida. En otro estudio se analizó mediante citometría de flujo, el perfil inmunofenotípico de células B y de células T foliculares en 110 pacientes pediátricos con AIJ, que recibían distintas pautas de tratamiento: sin tratamiento, AINES, MTX, ETN, o ETN y MTX [417]. Se observó un número significativamente inferior de células B transicionales en los pacientes con AIJ que recibían tratamiento con MTX, con respecto a los que recibían ETN o estaban sin terapia de base. También se observó que en los pacientes que recibían tratamiento con MTX, había un descenso en el número total de linfocitos B y de células B *naïve* [417]. En ambos estudios utilizamos los mismos marcadores celulares. Sin embargo, las diferencias que se habían observado previamente, no se han podido confirmar en nuestro estudio. En cuanto a las células T foliculares, en nuestro estudio no fueron analizadas, por lo que no podemos establecer una comparación con los resultados obtenidos previamente.

Los pacientes pediátricos que recibían tratamiento con terapias anti-TNF α en monoterapia presentaron un aumento significativo en el número y porcentaje de células CD4+ Th1-Th17, con respecto a los controles. Sin embargo, en los pacientes con AIJ en tratamiento con MTX, el número observado fue similar al de los controles y el porcentaje ligeramente inferior. En los pacientes que recibían terapia combinada con anti-TNF α y FAMEs se observó también un aumento significativo en el número y porcentaje de células CD4+ Th1-Th17, con respecto a los controles, ligeramente inferior al observado en los pacientes que recibían terapias anti-TNF α en monoterapia. Se podría especular que el efecto de las terapias anti-TNF α pudiera aumentar esta población celular y que los FAMEs no estarían implicados en este aumento. En estudios realizados previamente en pacientes con AIJ, que recibían tratamiento con fármacos anti-TNF α , se observó que el ETN inhibía la expansión de las células Th1 y aumentaba las proporciones de células Th17 y Th1-Th17 [562]. También en la AR se había descrito un efecto similar al observado en la AIJ del ETN sobre las células T helper [563]. Lo observado en nuestro estudio, sería acorde con los hallazgos previos de la literatura.

Al analizar las diferencias observadas en los pacientes adultos, cabe destacar que, en este grupo de pacientes, sólo 4 pacientes recibían tratamiento con MTX. Se revisaron los datos que habían sido

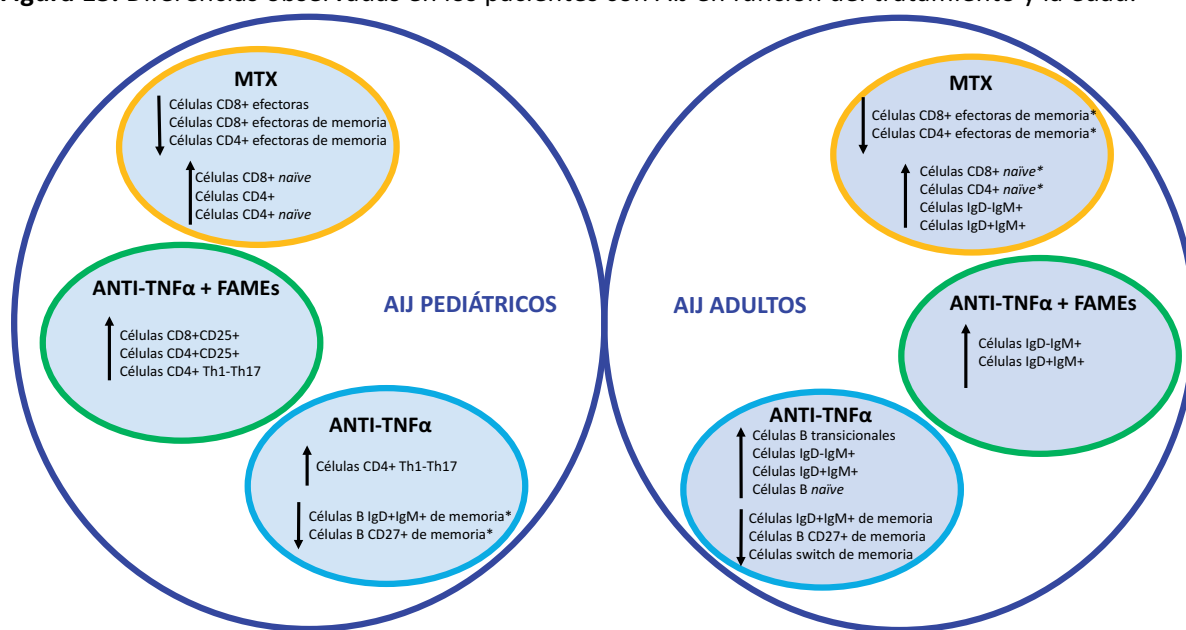
significativos en pacientes pediátricos comprobando que la disminución en células CD4+ y CD8+ efectoras, con el correspondiente aumento de células CD4+ y CD8+ naïve, también se observó en los adultos que recibían MTX en monoterapia, aunque fue una diferencia mínima, no significativa. Posiblemente, el motivo por el que no se llegaron a observar diferencias significativas sea debido al reducido tamaño muestral.

En todos los pacientes adultos con AIJ se observaron valores más altos de células B IgD+IgM-, de células IgD-IgM+ y de células IgD+IgM+ que en los controles adultos. En relación a las células IgD+IgM- se observaron los valores más altos en los pacientes adultos que recibían tratamiento con terapias anti-TNF α en monoterapia. En las células IgD-IgM+ y las células IgD+IgM+, se observaron los valores más elevados en los pacientes adultos que recibían tratamiento con MTX en monoterapia. Aunque algunas de las diferencias significativas observadas entre los pacientes adultos y los controles, podrían ser debidas a la propia AIJ del adulto, es probable que los distintos tratamientos ejercieran un efecto sobre los valores observados.

Al no disponer de datos en la literatura sobre pacientes adultos con AIJ con los que comparar, exponemos a continuación algunos datos obtenidos en AR. En un estudio se observó que, los pacientes con AR tratados con terapias anti-TNF α , presentaban un menor número y porcentaje de células B CD27+ de memoria con respecto a los controles y a los pacientes tratados con MTX [416]. Por otro lado, los pacientes con AR tratados con terapias anti-TNF α también presentaban un menor número de células B de memoria IgD+IgM+, de células switch de memoria, y un aumento en las células B naïve, con respecto a los pacientes tratados con MTX [416]. En nuestros pacientes adultos con AIJ, estas diferencias en las poblaciones linfocitarias no han sido replicadas. En los adultos que recibían tratamiento en monoterapia con anti-TNF α se objetivó, con respecto a los adultos en tratamiento con MTX: un menor número y porcentaje de células B CD27+ de memoria y de células IgD+IgM+ de memoria; un menor porcentaje de células switch de memoria; un mayor porcentaje de células B naïve y un mayor número y porcentaje de células B transicionales. En nuestros pacientes pediátricos que recibían tratamiento anti-TNF α en monoterapia, se observó una sutil disminución del número y porcentaje de células IgD+IgM+ de memoria y en el número de células B CD27+ de memoria. Los resultados observados en nuestro estudio fueron más similares a los publicados en la literatura sobre AR para los pacientes adultos con AIJ, que para los pacientes pediátricos.

En resumen, observamos claras diferencias, probablemente debidas a los distintos efectos de los tratamientos inmunomoduladores sobre las poblaciones linfocitarias de los adultos y los pacientes pediátricos. El distinto estado madurativo del sistema inmune podría condicionar una respuesta diferencial en el mecanismo de acción de estas terapias en función de la edad. En el siguiente figura se resumen las principales diferencias observadas en los pacientes con AIJ en función del tratamiento inmunosupresor y la edad.

Figura 13. Diferencias observadas en los pacientes con AIJ en función del tratamiento y la edad.



* Diferencias no significativas.

3.6. INMUNOFENOTIPO EN FUNCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

En nuestro estudio no se observó una correlación entre las poblaciones linfocitarias y las distintas variables clínicas y ecográficas analizadas. Una de nuestras hipótesis iniciales era que, aunque los pacientes con AIJ estuvieran recibiendo tratamiento farmacológico, la actividad del sistema inmune de los pacientes activos podría diferenciarse de la de los pacientes inactivos. En este estudio no pudimos identificar diferencias significativas en los distintos subtipos celulares en relación a una mayor actividad inflamatoria. Podríamos sugerir distintas explicaciones de por qué no se observaron diferencias en función de la actividad clínica de la AIJ.

En primer lugar, podría ser debido a que no se detectara el momento en que se produjera la alteración inmunológica que causara el nuevo brote, y que lo único que hayamos sido capaces de recoger fuera el momento en el que la enfermedad ya estuviera siendo controlada por los fármacos. En segundo lugar, es posible que, aunque no hayamos sido capaces de observar diferencias en cuanto al fenotipo y a los marcadores de superficie estudiados, sí que existieran diferencias en cuanto a la función de las células. Es decir, no observar cambios significativos en el fenotipo celular y en los porcentajes celulares, indicaría que no habría grandes diferencias en cuanto a la proliferación y muerte de los subtipos celulares. Sin embargo, sí podría haber diferencias en cuanto a los factores de transcripción, a la expresión génica, a la síntesis y al tipo de citoquinas, a los marcadores de adhesión celular o a la producción de anticuerpos. Todos ellos, serían mecanismos de tipo funcional que no han sido objeto de estudio en el presente proyecto.

También investigamos si existían diferencias en el inmunofenotipo linfocitario, según la categoría de AIJ en la que estuvieran clasificados los pacientes, según la ILAR. No observamos diferencias significativas en las subpoblaciones linfocitarias, en ninguna de las categorías clínicas.

La clasificación actual de AIJ, que había sido propuesta por la ILAR, está siendo debatida en la comunidad científica. Actualmente, una de las teorías que ha ido adquiriendo mayor relevancia, es la que sugiere que los pacientes se clasificarían en grupos clínicos más homogéneos si consideráramos la edad de inicio y la presencia de los anticuerpos ANA [4, 6, 564]. Por este motivo, investigamos las diferencias en las subpoblaciones linfocitarias en función de la positividad de los ANA y de la edad de inicio. Tampoco observamos diferencias entre los pacientes que eran ANA positivo y los que eran ANA negativo, ni entre los que tuvieron un inicio anterior o posterior a los 4 años de edad.

En un estudio previo, se demostró que el perfil de citoquinas en los pacientes ANA positivo de inicio precoz, era distinto a los otros pacientes con AIJ [565]. Por este motivo, también se investigó si había alguna diferencia en las subpoblaciones linfocitarias de los sujetos con AIJ que eran ANA positivo y que además tuvieron un inicio de la enfermedad antes de los 4 años de edad. En nuestro estudio no observamos diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las poblaciones linfocitarias estudiadas. Por lo tanto, el perfil de citoquinas podría ser distinto entre los pacientes, pero no hay datos en las poblaciones celulares que lo indiquen.

Por último, se investigó si alguna subpoblación celular presentaba diferencias significativas entre los pacientes con o sin, antecedente de uveítis. Se buscaba si alguna subpoblación en concreto pudiera ser la que desencadenara la respuesta inflamatoria ocular. Sin embargo, en nuestro estudio no se pudo identificar dicha población. Los motivos principales pueden ser el reducido número de pacientes con uveítis activa, el hecho que la subpoblación causal podría alterarse sólo de forma puntual en el inicio del brote, o que con la citometría de flujo, no hayamos podido caracterizar a la población causal.

Una posible explicación de porqué no se han identificado diferencias en estas situaciones clínicas particulares, también podrían ser las limitaciones propias de la citometría de flujo. Por un lado, el protocolo HIPC identifica un conjunto de marcadores celulares que informan fundamentalmente sobre el linaje y sobre el estado de activación de determinados subtipos celulares. Por lo tanto, no se identifican todas las poblaciones celulares ni todos los posibles estados de activación existentes. Algunas poblaciones que no son estudiadas mediante este protocolo, podrían ser relevantes tal y como ya se ha ido comentando durante la discusión.

La citometría de flujo, como técnica en sí misma, puede presentar ciertas limitaciones en cuanto al modo de identificar las poblaciones linfocitarias [361]. Por ejemplo, las distintas longitudes de onda que emiten las células cuando son estimuladas por el láser del citómetro en ocasiones se superponen entre ellas. Con lo cual, se escapan algunas de las células de las distintas poblaciones. Por otro lado, con las estrategias de *gating* automatizado actuales se ha conseguido optimizar la identificación de cada subtipo celular, pero siempre puede haber dificultades en este sentido. Con la citometría de masas probablemente se mejorará el proceso de identificación celular. Es una técnica que permite analizar al mismo tiempo un mayor número de marcadores celulares y no hay superposición en la identificación de los distintos tipos celulares. Por otro lado, tiene el inconveniente de destruir las células al analizarlas, con lo que las muestras no pueden ser reanalizadas, ni se puede hacer el *sorting* celular si fuera necesario y, además, caracteriza un número de células muy inferior al que se caracteriza con la citometría de flujo [361]. No se dispone de información de la aplicación de esta técnica en la AIJ. No planteamos utilizar la citometría de masas en nuestro estudio, aunque consideramos que podría ser de gran utilidad en ulteriores investigaciones.

4. INMUNOGENICIDAD DEL TRATAMIENTO ANTI-TNF α

La respuesta inmunogénica a las terapias anti-TNF α , se determina analizando las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco anti-TNF α . Los mecanismos que intervienen en la respuesta inmunogénica a los distintos fármacos, han sido previamente explicados en la Introducción del presente proyecto.

El creciente interés en conocer los efectos y la repercusión clínica de la respuesta del sistema inmune a las terapias anti-TNF α , puede constatarse en el aumento de publicaciones que investigan su efecto en distintas patologías autoinmunes. Sin embargo, en relación con la AIJ, todavía existe poca literatura científica.

Como hemos descrito previamente, las concentraciones de fármaco y de anticuerpos antifármaco se determinaron mediante el ELISA tipo sándwich. Esta técnica había sido validada y se había demostrado previamente su precisión, coste-efectividad y buen rendimiento para detectar anticuerpos antifármaco [422, 566]. Como técnica tiene algunas limitaciones como, por ejemplo, la dificultad en detectar los anticuerpos antifármaco en presencia de altas concentraciones del fármaco [423, 454]. No obstante, es la prueba que podríamos considerar de mayor utilidad clínica porque, en caso de detectar altas concentraciones de anticuerpos antifármaco éstos se asociarían, presumiblemente, a una posible pérdida de respuesta clínica al fármaco [457]. En nuestro estudio comprobamos que la técnica tiene una muy buena reproductibilidad y fiabilidad. Las correlaciones de la concordancia intra-laboratorio e inter-laboratorio que observamos tras el análisis estadístico, fueron muy buenas o excelentes. Esta buena correlación se observó tanto en relación a las concentraciones séricas del fármaco anti-TNF α , como de los anticuerpos antifármaco anti-TNF α .

Se ha comentado, en el apartado de la discusión “Tratamientos utilizados y diferencias entre pacientes pediátricos y adultos”, que uno de los hechos que motivó el presente proyecto de investigación fue el observar a través de la práctica clínica, distintos requerimientos de tratamiento en los pacientes con AIJ en función de la edad. A continuación, se discutirán los resultados que obtuvimos en el estudio de inmunogenicidad. Primero, se comentarán las diferencias observadas en cuanto a la situación clínica y al tratamiento en función de la edad y, después, se discutirán las diferencias observadas con la edad en la concentración sérica de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco anti-TNF α . Por último,

se analizarán las distintas características clínicas e inmunológicas de los pacientes en quienes fueron detectables los anticuerpos antifármaco anti-TNF α .

4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

El análisis de inmunogenicidad incluyó a todos los pacientes pediátricos (N=41) y adultos (N=33), que recibían tratamiento con terapias anti-TNF α (ETN, ADA, IFX). Entre ellos, el 27 % había tenido al menos un episodio de uveítis. El mayor porcentaje de pacientes con uveítis entre los que recibían tratamiento anti-TNF α se explica precisamente porque uno de los motivos para iniciar la terapia anti-TNF α en la AIJ es la presentación de esta complicación.

Los pacientes fueron divididos en función de la edad. Los pacientes pediátricos presentaron un curso oligoarticular con mayor frecuencia que los adultos. También un mayor porcentaje de ellos pertenecían al subtipo oligoarticular y presentaban positividad para los ANA. Las causas por las cuales se observaron estas diferencias han sido anteriormente discutidas en la discusión.

La mayor parte de las variables clínicas y de laboratorio, que identifican el estado de actividad de la AIJ, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que recibían la terapia anti-TNF α en monoterapia, o combinada con FAMEs. Sólo el JADAS-PCR fue menor en los pacientes que recibían monoterapia con anti-TNF α , no así el resto de JADAS, ni la VSG o la PCR, ni tampoco los distintos VAS. En general, podemos considerar, que la situación clínica global de los pacientes que recibían terapias anti-TNF α en monoterapia o en terapia combinada con FAMEs era muy similar.

Se analizó por separado la situación clínica de los pacientes pediátricos y adultos, comparándolos entre ellos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables clínicas ni de laboratorio, en los pacientes que recibían terapia anti-TNF α combinada con FAMEs. Sin embargo, los adultos que recibían monoterapia con anti-TNF α presentaron un mayor número de articulaciones limitadas, una mayor puntuación del VAS del paciente y un mayor JADAS clínico que los pediátricos. El motivo del mayor número de articulaciones limitadas en los adultos, probablemente, es el mayor daño articular, debido al prolongado tiempo de evolución en este grupo de pacientes. Por lo tanto, los adultos tendrían una mayor probabilidad de tener secuelas articulares por la enfermedad que condicionen un aumento en el número de articulaciones limitadas, tal y como ya ha sido explicado en

el apartado Comparativa entre los pacientes pediátricos y adultos. Esto podría también determinar un peor VAS de los pacientes adultos, por considerar que su situación clínica no es óptima debido a las secuelas de la artritis y no a la propia actividad de la enfermedad. Este hecho explicaría que el VAS del médico, que tiene en cuenta la actividad y no las secuelas, no presente diferencias. Las mayores puntuaciones en el VAS del paciente condicionarían las mayores puntuaciones en los índices JADAS clínicos. Los JADAS en los que los valores objetivos de los reactantes de fase aguda son incluidos para su cálculo, no presentan diferencias entre los dos grupos pacientes. Así pues, podríamos concluir que las escasas diferencias observadas entre los pacientes adultos y pediátricos son sobre todo debidas al distinto tiempo de evolución, y no a la actividad de la AIJ.

Se agruparon los pacientes según si recibían tratamiento con ETN, ADA e IFX, comparándolos según la edad. No se observaron diferencias significativas en la mayor parte de variables clínicas y de laboratorio. Sólo en los pacientes adultos que recibían tratamiento con ETN y ADA, se observó un mayor número de articulaciones limitadas que en los pediátricos, por los motivos ya razonados. En los pacientes pediátricos que recibían tratamiento con ADA, se observaron mayores valores de la PCR que en los adultos. Sin embargo, en los que recibían tratamiento con ETN, los valores de la PCR fueron menores que en los adultos, aunque de forma no significativa. En ninguno de los dos casos se observaron diferencias en la VSG ni en los índices JADAS. Consideramos que las escasas diferencias observadas en el valor de la PCR entre grupos de edad, no se traducen en una situación clínica diferencial entre ellos.

Como resumen, podemos considerar que la situación clínica entre los pacientes pediátricos y adultos incluidos en el estudio de inmunogenicidad era muy similar. Las escasas diferencias observadas, deben ser atribuidas a los años de evolución, y no a la distinta carga inflamatoria de la AIJ entre los dos grupos de edad.

4.2. TRATAMIENTO

El Etanercept fue el fármaco anti-TNF α más utilizado, seguido del Adalimumab y del Infliximab. Este hecho, tal y como ya se ha comentado, es similar a lo descrito en otros estudios [141, 485]. Los pacientes pediátricos y adultos no presentaron diferencias en cuanto al porcentaje de los distintos fármacos anti-TNF α , ni tampoco en cuanto al tratamiento concomitante con glucocorticoesteroides o con AINES.

Sin embargo, sí se observó que un porcentaje significativamente superior de pacientes pediátricos precisaban tratamiento concomitante con FAMEs. Se compararon las pautas de tratamiento según la edad y, de nuevo, un porcentaje significativamente superior de pacientes pediátricos precisaba seguir una pauta de tratamiento anti-TNF α intensificada (mayor dosis o mayor frecuencia según la ficha técnica del fármaco), mientras que un menor porcentaje de los mismos recibía una pauta de tratamiento anti-TNF α desintensificada u optimizada (menor dosis o menor frecuencia según la ficha técnica del fármaco).

Por lo tanto, podemos concluir que los pacientes pediátricos precisan mayor dosis de fármaco y de FAMEs concomitante para mantener una respuesta clínica similar a los adultos al tratamiento anti-TNF α . Esta diferencia en la pauta de medicación necesaria en pacientes con AIJ pediátricos y adultos, no había sido previamente descrita tal y como se ha discutido en el apartado “Tratamientos utilizados y diferencias entre pacientes pediátricos y adultos”.

4.3. CONCENTRACIÓN SÉRICA DE LOS FÁRMACOS ANTI-TNF α

Las concentraciones séricas de ETN, ADA e IFX no fueron estadísticamente diferentes según la edad. Por otro lado, sí se observó que, cuanto más frecuentemente se administrara el fármaco anti-TNF α (tanto para ETN como para ADA), mayores eran los valores de las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α . En un estudio realizado en pacientes con AIJ también se observó que las mayores concentraciones séricas de ETN se detectaron en los pacientes que recibían mayores dosis [442].

Los pacientes que recibían tratamiento con ADA en monoterapia presentaban unas concentraciones séricas de ADA, significativamente inferiores a los que lo recibían en terapia combinada con FAMEs. Esta observación, ha sido ampliamente descrita en la literatura, sobre todo, respecto a los pacientes con AR [422]. En la AIJ, sin embargo, este hecho no había sido demostrado, aunque algunos datos indicaban de forma indirecta la posible asociación entre el tratamiento concomitante con FAMEs y la concentración sérica de ADA [444].

Se ha comentado en el apartado anterior, que los pacientes pediátricos de nuestra cohorte recibían tratamiento anti-TNF α combinado con FAMEs y siguiendo pautas intensificadas con una frecuencia significativamente superior a la de los adultos. Ambas circunstancias disminuirían la respuesta inmunogénica del fármaco y aumentarían la concentración sérica del fármaco en sangre si

consideramos lo publicado en distintas enfermedades inmunomediadas [422, 423, 438, 440]. Sin embargo, no se observó que los pacientes pediátricos presentaran mayores concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α , con respecto a los adultos.

Esta información podría indicar una farmacocinética diferencial entre pacientes de ambos grupos de edad y que, por ejemplo, en los niños hubiera una más rápida metabolización y eliminación del fármaco anti-TNF α con respecto al adulto, aunque la formación de inmunocomplejos no estuviera implicada en ella. Como dato favorable a esta hipótesis, en la ficha técnica del ETN se recoge que en niños de 4 o menos años las concentraciones de fármaco eran inferiores a las observadas en adultos [443]. Otra hipótesis sería que los niños, probablemente, presentarían una respuesta inmunogénica superior a los adultos.

4.4. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE FÁRMACO ANTI-TNF α

Se investigó si existía una correlación entre las variables clínicas y de laboratorio y las concentraciones séricas de ETN y de ADA. No se objetivó que ninguna de ellas se correlacionara con los niveles de fármaco. Tampoco se observaron diferencias entre los pacientes que presentaban concentraciones séricas de fármaco detectables o bien indetectables. Por lo tanto, en nuestra cohorte, la concentración sérica de fármaco anti-TNF α no se correlacionó con obtener un mejor control de la actividad de la AIJ. Existen publicaciones previas con resultados similares [186], si bien en otras cohortes sí se había podido observar una correlación entre determinadas variables clínicas y las concentraciones de ADA [191, 192].

En cambio, en los pacientes con AR está descrito que, tanto las concentraciones séricas de ETN [193] como las concentraciones séricas de ADA [194] se correlacionaban con la actividad de la AR. Una posible explicación de por qué no observamos esta relación, podría ser que la AR y la AIJ se comporten de distinta manera en relación a las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α . Lo importante, podría no ser la cantidad de fármaco circulante, sino la cantidad de fármaco que alcanza el tejido inflamado y, sería esperable, que cuanto más inflamado esté el tejido, mayor vascularización tendrá y mayor cantidad de fármaco pasaría al mismo. Por lo tanto, en la AIJ, las concentraciones séricas de fármaco podrían no estar relacionadas con la actividad de la enfermedad.

Otra posible explicación es que nuestros pacientes llevaban meses, e incluso años, recibiendo tratamiento con anti-TNF α cuando entraron en el estudio, mientras que, en los estudios en AR, se incluían pacientes a quienes se les monitorizaban las concentraciones del fármaco desde el inicio del tratamiento. Desconocemos las concentraciones séricas de anti-TNF α que nuestros pacientes habían alcanzado al inicio de la terapia y si, al inicio del tratamiento, los cambios en las concentraciones de fármaco se relacionaban con la respuesta clínica. Es posible que las dosis del fármaco anti-TNF α , con el tiempo lleguen a alcanzar un plateau en el cual se mantengan estables.

4.5. ANTICUERPOS ANTIFÁRMACO ANTI-TNF α Y CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Los dos pacientes en tratamiento con IFX no presentaron anticuerpos anti-IFX. Disponíamos de 109 muestras correspondientes a 43 pacientes tratados con ETN, y en ninguna se objetivó la presencia de anticuerpos anti-ETN. En los primeros estudios de ETN en AIJ se observó una baja tasa de producción de anticuerpos anti-ETN similar, o incluso inferior, a la que se había observado en AR [179, 443]. Ninguno de nuestros pacientes, ni adulto ni pediátrico, presentó anticuerpos anti-ETN.

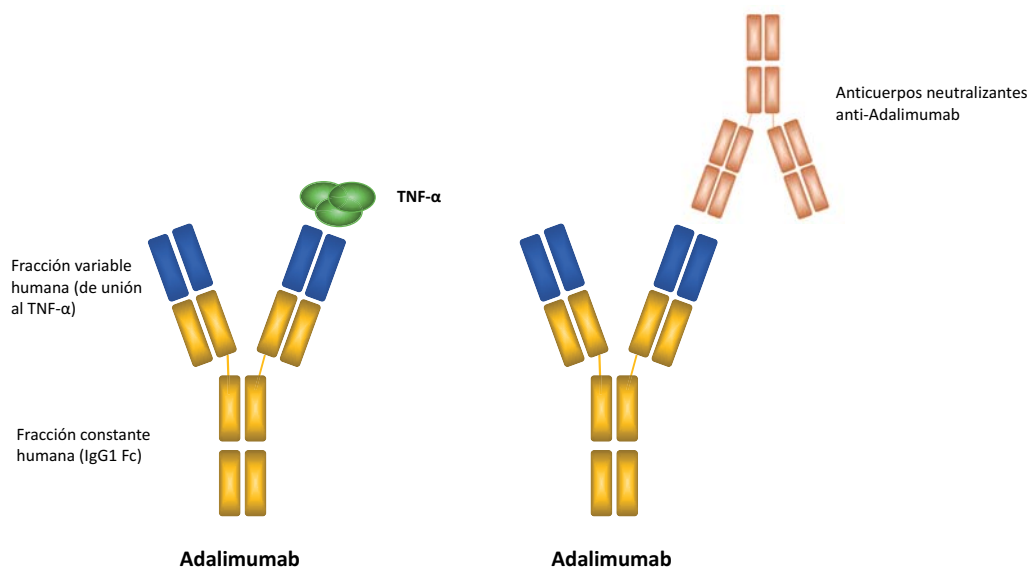
Pertenecían a pacientes que recibían tratamiento con ADA 79 muestras y, en 9 de ellas, se detectaron anticuerpos anti-ADA. El 17% de los 29 pacientes en tratamiento con ADA, presentaron anticuerpos anti-ADA detectables en, por lo menos, una de las muestras. Este porcentaje es similar, o ligeramente inferior, al observado en otros estudios de pacientes con AIJ [182, 447]. Las diferencias entre estudios podrían deberse a múltiples factores como, por ejemplo, la técnica de determinación utilizada, o bien, a las variaciones en la utilización de terapia combinada de ADA con FAMEs. Otro posible factor, sería la dosis de fármaco administrada. Se ha comentado previamente que algunos de nuestros pacientes recibían una pauta de tratamiento anti-TNF α intensificada. La presencia de fármaco anti-TNF α en sangre, puede enmascarar la presencia de anticuerpos antifármaco circulantes. Sería lógico pensar que, si administramos más cantidad de fármaco (por dosis o por frecuencia) que la reportada en otros estudios, habrá más cantidad de fármaco circulante, será más difícil la detección de los anticuerpos antifármaco y se formarán menos anticuerpos antifármaco.

En nuestro estudio el ETN fue un fármaco menos inmunogénico que el ADA. Esta afirmación es acorde con estudios previamente publicados en AR [435] y en AIJ [179, 182]. Además, en las cohortes de

pacientes en las que se habían detectado la presencia de anticuerpos anti-ETN, éstos eran no neutralizantes y no se relacionaban con la actividad inflamatoria de la AR [426], ni de la AIJ [179]. Sin embargo, es conocido que los anticuerpos anti-ADA sí son neutralizantes [418]. Por lo tanto, aunque este particular no fuera analizado en nuestro estudio, el hecho de que sólo se hayan detectado anticuerpos antifármaco para ADA, refuerza la hipótesis de que el ADA, debido a su estructura molecular, sea más inmunogénico que el ETN.

Se compararon las características de los 5 pacientes que produjeron anticuerpos anti-ADA, con los 24 pacientes en quienes no se detectaron anticuerpos anti-ADA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables clínicas, ni de laboratorio, ni en las características relacionadas con la AIJ, entre ambos grupos de pacientes. Es decir que, la presencia de anticuerpos anti-ADA no determinaba una mayor actividad de la AIJ, ni tampoco un peor control de la enfermedad en nuestra cohorte. En la AIJ, los datos disponibles son escasos y controvertidos. Algunos estudios indican que los pacientes con concentraciones séricas detectables de anticuerpos anti-ADA, presentan una peor evolución clínica que los que tienen niveles indetectables [445, 447]. En cambio, en otros estudios de AIJ, no pudo confirmarse esta asociación [182, 444, 446]. Este hecho difiere de los resultados observados en los pacientes con AR. En la mayor parte de ellos, se ha confirmado la asociación entre la presencia de anticuerpos anti-ADA y la pérdida de eficacia del fármaco [433, 434, 567].

Se observó que, en las muestras en las que se detectaron anticuerpos anti-ADA, las concentraciones séricas de ADA fueron significativamente inferiores. Esta correlación, ya había sido previamente demostrada en pacientes afectados de AR [434, 567] y de enfermedad inflamatoria intestinal [568]. Como hemos mencionado previamente, los anticuerpos anti-ADA son anticuerpos neutralizantes que se unen al fármaco en la misma zona de la molécula que se uniría con el TNF α , bloqueando así su acción contra el mismo [418, 569].

Figura 14. Estructura del Adalimumab y anticuerpos anti-Adalimumab neutralizantes.

Los 5 pacientes que produjeron anticuerpos anti-ADA eran 3 niños y 2 adultos y, por lo tanto, la edad no pareció ser un factor determinante en la producción de los mismos. Se detectaron anticuerpos anti-ADA en un porcentaje significativamente inferior de pacientes en terapia combinada con FAMEs con respecto a los pacientes en monoterapia, aunque la muestra es muy pequeña como para poder afirmarlo.

Aparentemente, la terapia con ADA combinada con FAMEs disminuiría la inmunogenicidad del ADA también en los pacientes con AIJ. Este hecho ha sido ampliamente descrito y analizado en múltiples estudios de pacientes con enfermedades inmunomediadas [422]. En los primeros estudios de ADA en AIJ se observó que la producción de anticuerpos anti-ADA estaba influida por las terapias inmunomoduladoras concomitantes [182]. De forma similar a lo que se había observado previamente en la AR [422], los anticuerpos anti-ADA fueron detectables en el 6% de los pacientes con AIJ en tratamiento concomitante con MTX, frente al 26% de los pacientes en monoterapia con ADA [182]. En nuestro estudio los datos observados han sido similares a los previamente descritos en este primer estudio.

4.6. INMUNOFENOTIPO CELULAR EN RELACIÓN A LA INMUNOGENICIDAD

Se analizaron también las diferencias en el inmunofenotipo linfocitario de los pacientes que recibían tratamiento con ADA, comparando los que habían producido anticuerpos anti-ADA, con los que no habían producido anticuerpos anti-ADA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las subpoblaciones linfocitarias.

En un estudio realizado previamente se había observado que la población que expresaba los anticuerpos anti-ADA, era una subpoblación de células B de memoria que expresaban CD27+ [418]. En las subpoblaciones de células CD27+ que analizamos, tampoco observamos una expresión diferente entre pacientes con o sin anticuerpos anti-ADA en sangre. Es posible que el escaso número de pacientes entre los que comparar, sea uno de los motivos por los cuales no se han identificado diferencias en las poblaciones. La técnica que utilizamos para el inmunofenotipado fue una adaptación del protocolo de citometría de flujo HIPC. Podríamos haber intentado identificar el tipo de células en concreto mediante otras técnicas funcionales o complementarias al protocolo de inmunifentipado.

4.7. CORRELACIÓN ENTRE LA ECOGRAFÍA Y LA INMUNOGENICIDAD

Por último, al analizar los resultados de toda la cohorte conjuntamente, no se observó una correlación entre los índices ecográficos utilizados en el presente estudio (ni por escala de grises ni según la señal PD) y las concentraciones de fármaco anti anti-TNF α ni de anticuerpos antifármaco anti-TNF α .

Sólo en los pacientes pediátricos, el índice ecográfico PD se correlacionó de forma moderada con las concentraciones séricas de anticuerpos anti-ADA, observando puntuaciones más altas del índice en los pacientes con mayores concentraciones séricas de anticuerpo anti-ADA. Tanto en el índice ecográfico EG como en el PD, se observó una tendencia no significativa a presentar mayores puntuaciones en los pacientes con anticuerpos anti-ADA positivos, con respecto a los pacientes con anticuerpos anti-ADA negativos. Creemos que este hallazgo es interesante, porque podría indicar que los pacientes que producen anticuerpos anti-ADA, aunque clínicamente estables, podrían presentar actividad subclínica medible mediante ecografía. Por lo tanto, la ecografía, en especial el índice PD, con todas las limitaciones de la señal PD en pacientes pediátricos, podría indicar de forma temprana una posible pérdida de eficacia del fármaco. En el resto de las variables clínicas y de laboratorio, sólo en el VAS del

médico se había observado una tendencia no significativa similar a presentar mayores puntuaciones en los pacientes que producían los anticuerpos anti-ADA. Estos resultados deben ser interpretados con cautela debido a que, como se ha comentado, muy pocos pacientes presentaron anticuerpos anti-ADA.

CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES

1.- En la artritis idiopática juvenil los índices ecográficos en escala de grises y power Doppler variaron de forma paralela y significativa con la mayoría de las variables de actividad de la enfermedad. Las variables de actividad que mejor se correlacionaron con ambos índices ecográficos fueron el número de articulaciones activas y tumefactas.

2.- En los pacientes con artritis idiopática juvenil de curso poliarticular se observó una mejor correlación entre los índices ecográficos y los índices de actividad que en los pacientes con artritis idiopática juvenil de curso oligoarticular.

3.- Se detectó la presencia de sinovitis subclínica determinada por ecografía en un 42% de los pacientes con artritis idiopática juvenil y de forma más frecuente en los pacientes adultos. No se objetivó una relación entre la presencia de sinovitis subclínica y la actividad de la enfermedad.

4.- En los sujetos pediátricos se observó un mayor número de células T *naïve* y de células B *naïve*, y un menor número de células T de memoria y efectoras de memoria que en los sujetos adultos. Las principales diferencias entre los controles sanos y los pacientes con artritis idiopática juvenil se observaron en el compartimento de células T en la población pediátrica, y en el compartimento de células B en la población adulta.

5.- Los pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos presentaron una menor expresión del antígeno HLA-DR en las células T *helper* que los pacientes adultos y los controles pediátricos, y un menor porcentaje de células CD3+CD4+CD8+ que los pacientes adultos.

6.- Los pacientes pediátricos con artritis idiopática juvenil que recibían tratamiento con metotrexato en monoterapia presentaron una disminución de las células T efectoras de memoria y un aumento de las células T *naïve* en relación a los pacientes pediátricos que recibían tratamiento anti-TNF α . En cambio, en los pacientes adultos sólo se observó un efecto del tratamiento inmunosupresor en el compartimento de células B.

7.- No se identificaron diferencias en las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α entre los pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos y adultos, ni tampoco en relación a ninguna de las variables clínicas y biológicas relacionadas con la enfermedad.

8.- Se identificaron anticuerpos antifármaco únicamente en el grupo de pacientes con artritis idiopática juvenil que recibía tratamiento con adalimumab. Se observó una correlación inversa entre la concentración sérica de adalimumab y la concentración sérica de anticuerpos anti-adalimumab. La terapia combinada con fármacos modificadores de enfermedad aumentaba las concentraciones de adalimumab y reducía las concentraciones de anticuerpos antifármaco.

9.- No se observó ninguna asociación entre el inmunofenotipo celular y las características clínico-ecográficas de los pacientes con artritis idiopática juvenil. Tampoco se observaron diferencias en el inmunofenotipo celular ni en los índices ecográficos entre los pacientes con y sin anticuerpos anti-adalimumab.

10.- Los pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos que recibían tratamiento con fármacos anti-TNF α precisaban una pauta de tratamiento intensificada y combinada con fármacos modificadores de enfermedad con mayor frecuencia que los pacientes adultos para mantener una situación clínica similar.

2. CONCLUSIONS

1.- In juvenile idiopathic arthritis, ultrasound grey scale score and power Doppler score changed significantly mirroring most of the variables of disease activity. Number of active and swelling joints were the clinical variables which exhibit a better correlation with both ultrasound scores.

2.- Patients with a polyarticular course of juvenile idiopathic arthritis presented better correlation between clinical and ultrasound scores, than patients with an oligoarticular course.

3.- Subclinical synovitis was detected by ultrasound in 42% of juvenile idiopathic arthritis patients, being more frequent in adults than in children. There was no correlation between the presence of subclinical synovitis and disease activity.

4.- Pediatric subjects presented higher number of naïve T cells and naïve B cells, and lower number of effector memory and memory T cells than adults. The major differences between healthy controls and juvenile idiopathic arthritis patients were observed in the T cell compartment in pediatric population and in the B cell compartment in adult population.

5.- Pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis presented lower expression of HLA-DR antigen in T helper cells than adult patients and pediatric controls, and lower percentage of CD3+CD4+CD8+ cells than adult patients.

6.- Pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis who received methotrexate in monotherapy presented a decrease in effector memory T cells and an increase in naïve T cells in relation to pediatric patients receiving anti-TNF α treatment. Immunosuppressive treatment in adult patients affected B cell compartment.

7.- There were no differences in serum concentrations of anti-TNF α between adult and pediatric juvenile idiopathic arthritis patients, nor with any of the clinical and biological variables related to the disease.

8.- Anti-drug antibodies were only identified in juvenile idiopathic arthritis patients treated with adalimumab. An inverse correlation between adalimumab and anti-adalimumab antibodies

concentrations was observed. Combined therapy with disease modifying antirheumatic drugs increased adalimumab concentration and decrease anti-drug antibodies concentration.

9.- No association was found between cellular immunophenotype and clinical or ultrasonography characteristics in juvenile idiopathic arthritis patients. Patients with or without detectable anti-adalimumab antibodies didn't exhibit differences in cellular immunophenotype nor in ultrasound scores.

10.- Pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis receiving anti-TNF α treatment, needed an intensified treatment schedule and combined treatment with disease modifying antirheumatic drugs more frequently than adult patients to maintain a similar clinical situation.

RESUMEN

1. RESUMEN

Diferencias inmunológicas en la Artritis Idiopática Juvenil en relación a la actividad y la respuesta al tratamiento anti-TNF α entre población pediátrica y adulta joven

Antecedentes

La artritis idiopática juvenil (AIJ) es una enfermedad inflamatoria crónica, de etiología desconocida que sin un tratamiento adecuado produce un marcado deterioro de la calidad de vida de los pacientes. Las terapias biológicas han supuesto un gran avance en el tratamiento de esta enfermedad a pesar de que se conocen muy pocos datos acerca de la pérdida de eficacia de estas terapias en los pacientes con AIJ. En la Unidad de Reumatología Pediátrica de la Sección de Reumatología del Hospital Universitario Vall d'Hebron existe una experiencia de más de 30 años en el seguimiento y tratamiento especializado de esta enfermedad. A lo largo de estos años se ha observado que los pacientes con AIJ que reciben tratamiento anti-TNF α en la edad adulta, éste se administra con mayor frecuencia en monoterapia que en aquellos pacientes con AIJ en edad pediátrica.

Objetivos

El objetivo principal del presente proyecto es analizar las variaciones del sistema inmune en pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos y adultos, en función de la actividad inflamatoria (determinada mediante la exploración clínica y ecográfica) y el tratamiento inmunosupresor. Como objetivos secundarios destaca determinar la correlación clínico-ecográfica, las diferencias en el inmunofenotipo celular y la capacidad inmunogénica de los fármacos anti-TNF α , de forma global y en los pacientes con AIJ pediátricos y adultos.

Metodología

Estudio prospectivo y no intervencionista de una cohorte de 106 pacientes con AIJ en tratamiento con terapias anti-TNF α o metotrexato. Se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y de exclusión procedentes de las consultas externas de Reumatología Pediátrica. Se realizó una visita basal y a los 6 y 12 meses del seguimiento. En cada visita se realizó una exploración física completa, una valoración de la actividad de la enfermedad, una

analítica de rutina y se realizó un índice ecográfico poliarticular reducido en escala de grises y power Doppler. Se obtuvo una muestra de sangre total en cada visita para el estudio de la inmunogenicidad y una muestra en la visita basal para el estudio del inmunofenotipo celular. Se determinó la concentración sérica de fármaco anti-TNF α y de anticuerpos antifármaco mediante la técnica de ELISA. El estudio del inmunofenotipo se realizó mediante citometría de flujo. Los estudios de inmunogenicidad e inmunofenotipo se realizaron en colaboración con el Servicio de Inmunología del Hospital Vall d'Hebron. Se elaboró una base de datos específica para el presente proyecto cumpliendo la normativa vigente. El análisis estadístico se realizó con el programa *Stata 13* y se llevó a cabo en colaboración con la Unidad de Estadística y Bioinformática del Instituto de Investigación del HUVH. El presente proyecto fue aprobado por el CEIC del Hospital Vall d'Hebron.

Resultados y Conclusiones

En la artritis idiopática juvenil los índices ecográficos poliarticulares variaron de forma paralela y significativa con la mayoría de las variables de actividad de la enfermedad. Se observó una mejor correlación entre los índices ecográficos y los índices de actividad en los pacientes con artritis idiopática juvenil de curso poliarticular. Se detectó la presencia de sinovitis subclínica en un 42% de los pacientes y de forma más frecuente en los pacientes adultos. No se objetivó una relación entre la presencia de sinovitis subclínica y la actividad de la enfermedad. En los sujetos pediátricos se observó un mayor número de células T *naïve* y de células B *naïve*, y un menor número de células T de memoria y efectoras de memoria que en los sujetos adultos. Las principales diferencias entre los controles sanos y los pacientes con artritis idiopática juvenil se observaron en el compartimento de células T en la población pediátrica, y en el compartimento de células B en la población adulta. Los pacientes pediátricos que recibían tratamiento con metotrexato en monoterapia presentaron una disminución de las células T efectoras de memoria y un aumento de las células T *naïve* en relación a los pacientes pediátricos que recibían tratamiento anti-TNF α . No se identificaron diferencias en las concentraciones séricas de fármaco anti-TNF α entre los pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos y adultos, ni tampoco en relación a ninguna de las variables clínicas y biológicas relacionadas con la enfermedad. Se identificaron anticuerpos antifármaco únicamente en el grupo de pacientes con artritis idiopática juvenil que recibía tratamiento con adalimumab. Se observó una correlación inversa entre la concentración sérica de adalimumab y la concentración sérica de anticuerpos anti-adalimumab. No se observó ninguna asociación entre el inmunofenotipo celular y las características clínico-ecográficas de los pacientes con artritis idiopática juvenil. Los pacientes con artritis idiopática juvenil pediátricos que recibían tratamiento con fármacos anti-TNF α precisaban una pauta de tratamiento intensificada y

combinada con fármacos modificadores de enfermedad con mayor frecuencia que los pacientes adultos para mantener una situación clínica similar.

2. ABSTRACT

Immunological differences between children and young adults with Juvenile Idiopathic Arthritis in relation with activity and anti-TNF α response

Background

Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA) is a chronic inflammatory condition of unknown origin. Without the proper treatment, this disease can cause a significant deterioration in patients' quality of life. Biological therapies have been a great advancement in JIA treatment, however very few data are published about the loss of efficacy that these therapies can have on patients with JIA. The Pediatric Rheumatology Unit of Vall d'Hebron University Hospital, has more than 30 years' experience in the specialized treatment of this disease. We observed that anti-TNF α therapy was administered in monotherapy more frequently during adulthood than during childhood.

Objectives

The main objective of the present study is to analyze the variations of the immune system in pediatric and adolescent patients with juvenile idiopathic arthritis, depending on the inflammatory activity (determined by clinical and by ultrasound examination) and immunosuppressive treatment. Secondary objectives include to determine correlation of clinical and ultrasound findings, differences in immunophenotype and immunogenicity of anti-TNF α drugs, in pediatric, adult patients and in the group of patients with JIA.

Methodology

A prospective and non-interventional cohort study of 106 patients with JIA treated with anti-TNF α or methotrexate therapies was conducted. Patients meeting inclusion and exclusion criteria from the outpatient clinics of the Pediatric Rheumatology Unit were consecutively included. Follow-up was performed at baseline, 6 and 12 months. In each visit patients had a complete physical examination, an assessment of disease activity, a routine blood test and a reduced polyarticular ultrasound score (grey scale and power Doppler). Peripheral blood samples were obtained in each visit to determine immunogenicity and an extra sample was also obtained in the basal visit to determine immunophenotype. Serum anti-TNF α concentrations and anti-drug antibodies were determined using an ELISA test. Cellular immunophenotyping was performed by flow cytometry. Immunogenicity and

immunophenotyping studies were performed in collaboration with the Vall d'Hebron Immunology Department. A database was created specifically for the project according to the current regulations. Statistical analysis was performed using the Stata 13 program in collaboration with the Statistics and Bioinformatics Unit of Vall d'Hebron Research Institute. The project has the clinical research ethics committee's official approval.

Results and conclusions

In JIA, both ultrasound scores changed significantly mirroring most of the variables of disease activity. Patients with a polyarticular disease course presented better correlation between clinical and ultrasound scores than oligoarticular patients. Subclinical synovitis was detected by ultrasound in 42% of juvenile idiopathic arthritis patients, being more frequent in adults than in children. There was no correlation between the presence of subclinical synovitis and disease activity. Pediatric subjects exhibited higher numbers of naïve T cells and naïve B cells, and lower numbers of effector memory and memory T cells than adults. The major differences between healthy controls and JIA patients were observed in the T cell compartment in pediatric population and in the B cell compartment in adult population. Pediatric JIA patients receiving methotrexate in monotherapy presented a decrease in effector memory T cells and an increase in naïve T cells in relation to pediatric patients receiving anti-TNF α treatment. There were no differences in serum anti-TNF α concentrations between adult and pediatric JIA patients, nor with any of the clinical and biological variables related to the disease. Anti-drug antibodies were only identified in JIA patients treated with adalimumab. An inverse correlation between adalimumab and anti-adalimumab antibodies concentrations was observed. No associations were found between cellular immunophenotype and clinical or ultrasonography characteristics in JIA patients. Pediatric JIA patients receiving anti-TNF α treatment, needed an intensified treatment schedule and combined treatment with disease modifying drugs more frequently than adult patients to maintain a similar clinical situation.

BIBLIOGRAFÍA

1. Still, G.F., *On a Form of Chronic Joint Disease in Children*. Med Chir Trans, 1897. **80**: p. 47-60 9.
2. Petty, R.E., et al., *International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001*. J Rheumatol, 2004. **31**(2): p. 390-2.
3. Modesto, C., et al., *Incidence and prevalence of juvenile idiopathic arthritis in Catalonia (Spain)*. Scand J Rheumatol, 2010. **39**(6): p. 472-9.
4. Martini, A., *Are the number of joints involved or the presence of psoriasis still useful tools to identify homogeneous disease entities in juvenile idiopathic arthritis?* J Rheumatol, 2003. **30**(9): p. 1900-3.
5. Saurenmann, R.K., et al., *Prevalence, risk factors, and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis: a long-term followup study*. Arthritis Rheum, 2007. **56**(2): p. 647-57.
6. Martini, A., *It is time to rethink juvenile idiopathic arthritis classification and nomenclature*. Ann Rheum Dis, 2012. **71**(9): p. 1437-9.
7. Ravelli, A., et al., *Patients with antinuclear antibody-positive juvenile idiopathic arthritis constitute a homogeneous subgroup irrespective of the course of joint disease*. Arthritis Rheum, 2005. **52**(3): p. 826-32.
8. Felici, E., et al., *Course of joint disease in patients with antinuclear antibody-positive juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2005. **32**(9): p. 1805-10.
9. Magni-Manzoni, S., et al., *Comparison of clinical versus ultrasound-determined synovitis in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2009. **61**(11): p. 1497-504.
10. Barnes, M.G., et al., *Biologic similarities based on age at onset in oligoarticular and polyarticular subtypes of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(11): p. 3249-58.
11. Southwood, T.R., et al., *Psoriatic arthritis in children*. Arthritis Rheum, 1989. **32**(8): p. 1007-13.
12. Stoll, M.L., et al., *Comparison of Vancouver and International League of Associations for rheumatology classification criteria for juvenile psoriatic arthritis*. Arthritis Rheum, 2008. **59**(1): p. 51-8.
13. Chan, M.O., et al., *A Family History of Psoriasis in a First-degree Relative in Children with JIA: to Include or Exclude?* J Rheumatol, 2016. **43**(5): p. 944-7.
14. Stoll, M.L., et al., *Patients with juvenile psoriatic arthritis comprise two distinct populations*. Arthritis Rheum, 2006. **54**(11): p. 3564-72.
15. Ravelli, A., et al., *The conundrum of juvenile psoriatic arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2015. **33**(5 Suppl 93): p. S40-3.
16. Prakken, B., S. Albani, and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. Lancet, 2011. **377**(9783): p. 2138-49.
17. Cassidy, J.T., *Textbook of pediatric rheumatology*. 6th ed. 2011, Philadelphia: Saunders. XVI, 794 p.
18. Lin, Y.T., et al., *The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis*. Autoimmun Rev, 2011. **10**(8): p. 482-9.
19. Macaubas, C., et al., *Oligoarticular and polyarticular JIA: epidemiology and pathogenesis*. Nat Rev Rheumatol, 2009. **5**(11): p. 616-26.
20. Ellis, J.A., et al., *CLARITY - Childhood Arthritis Risk factor Identification sTudY*. Pediatr Rheumatol Online J, 2012. **10**(1): p. 37.
21. Berkun, Y. and S. Padeh, *Environmental factors and the geoepidemiology of juvenile idiopathic arthritis*. Autoimmun Rev, 2010. **9**(5): p. A319-24.
22. Lunardi, C., et al., *Human parvovirus B19 infection and autoimmunity*. Autoimmun Rev, 2008. **8**(2): p. 116-20.
23. Chantler, J.K., A.J. Tingle, and R.E. Petty, *Persistent rubella virus infection associated with chronic arthritis in children*. N Engl J Med, 1985. **313**(18): p. 1117-23.

24. Gonzalez, B., et al., *Parvovirus B19 may have a role in the pathogenesis of juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2007. **34**(6): p. 1336-40.
25. Angelini, F., et al., *Role of parvovirus B19 infection in juvenile chronic arthritis. Is more investigation needed?* Clin Exp Rheumatol, 2003. **21**(5): p. 684.
26. Pritchard, M.H., N. Matthews, and J. Munro, *Antibodies to influenza A in a cluster of children with juvenile chronic arthritis*. Br J Rheumatol, 1988. **27**(3): p. 176-80.
27. Oen, K., M. Fast, and B. Postl, *Epidemiology of juvenile rheumatoid arthritis in Manitoba, Canada, 1975-92: cycles in incidence*. J Rheumatol, 1995. **22**(4): p. 745-50.
28. Barash, J. and O. Goldzweig, *Possible role of streptococcal infection in flares of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2007. **57**(5): p. 877-80.
29. Tishler, M. and Y. Shoenfeld, *Vaccination may be associated with autoimmune diseases*. Isr Med Assoc J, 2004. **6**(7): p. 430-2.
30. Borte, S., et al., *Efficacy of measles, mumps and rubella revaccination in children with juvenile idiopathic arthritis treated with methotrexate and Etanercept*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(2): p. 144-8.
31. Herrmann, M., J. Scholmerich, and R.H. Straub, *Stress and rheumatic diseases*. Rheum Dis Clin North Am, 2000. **26**(4): p. 737-63, viii.
32. Straub, R.H., et al., *How psychological stress via hormones and nerve fibers may exacerbate rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2005. **52**(1): p. 16-26.
33. Roupe van der Voort, C., et al., *Stress induces increases in IL-6 production by leucocytes of patients with the chronic inflammatory disease juvenile rheumatoid arthritis: a putative role for alpha(1)-adrenergic receptors*. J Neuroimmunol, 2000. **110**(1-2): p. 223-9.
34. Jaakkola, J.J. and M. Gissler, *Maternal smoking in pregnancy as a determinant of rheumatoid arthritis and other inflammatory polyarthropathies during the first 7 years of life*. Int J Epidemiol, 2005. **34**(3): p. 664-71.
35. Woo, P. and R.A. Colbert, *An overview of genetics of paediatric rheumatic diseases*. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2009. **23**(5): p. 589-97.
36. Prahalad, S., et al., *Quantification of the familial contribution to juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(8): p. 2525-9.
37. Hollenbach, J.A., et al., *Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interactions and age-at-onset effects*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(6): p. 1781-91.
38. Murray, K.J., et al., *Age-specific effects of juvenile rheumatoid arthritis-associated HLA alleles*. Arthritis Rheum, 1999. **42**(9): p. 1843-53.
39. Albert, E.D. and S. Scholz, *Juvenile arthritis: genetic update*. Baillieres Clin Rheumatol, 1998. **12**(2): p. 209-18.
40. Smerdel, A., et al., *Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is primarily associated with HLA-DR8 but not DQ4 on the DR8-DQ4 haplotype*. Ann Rheum Dis, 2002. **61**(4): p. 354-7.
41. Hall, P.J., et al., *HLA and complement C4 antigens in polyarticular onset seronegative juvenile chronic arthritis: association of early onset with HLA-DRw8*. J Rheumatol, 1989. **16**(1): p. 55-9.
42. Hinks, A., et al., *Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis*. Nat Genet, 2013. **45**(6): p. 664-9.
43. Butbul Aviel, Y., et al., *Juvenile Psoriatic Arthritis (JPsA): juvenile arthritis with psoriasis?* Pediatr Rheumatol Online J, 2013. **11**(1): p. 11.
44. Ho, P.Y., et al., *Investigating the role of the HLA-Cw*06 and HLA-DRB1 genes in susceptibility to psoriatic arthritis: comparison with psoriasis and undifferentiated inflammatory arthritis*. Ann Rheum Dis, 2008. **67**(5): p. 677-82.
45. Flato, B., et al., *Juvenile psoriatic arthritis: longterm outcome and differentiation from other subtypes of juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2009. **36**(3): p. 642-50.
46. Fernandez-Vina, M., C.W. Fink, and P. Stastny, *HLA associations in juvenile arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 1994. **12**(2): p. 205-14.

47. Forre, O., et al., *HLA antigens in juvenile arthritis. Genetic basis for the different subtypes.* Arthritis Rheum, 1983. **26**(1): p. 35-8.
48. Berglin, E., et al., *A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis.* Arthritis Res Ther, 2004. **6**(4): p. R303-8.
49. Vehe, R.K., A.B. Begovich, and B.S. Nepom, *HLA susceptibility genes in rheumatoid factor positive juvenile rheumatoid arthritis.* J Rheumatol Suppl, 1990. **26**: p. 11-5.
50. Gorman, J.D. and L.A. Criswell, *The shared epitope and severity of rheumatoid arthritis.* Rheum Dis Clin North Am, 2002. **28**(1): p. 59-78.
51. Berglin, E., et al., *Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-RF at disease onset.* Ann Rheum Dis, 2006. **65**(4): p. 453-8.
52. Chapel, H., *Essentials of clinical immunology.* 6th ed. 2015, Chichester: Wiley Blackwell. VIII, 365 p.
53. Cortes, A. and M.A. Brown, *Promise and pitfalls of the Immunochip.* Arthritis Res Ther, 2011. **13**(1): p. 101.
54. Hinks, A., et al., *Association between the PTPN22 gene and rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis in a UK population: further support that PTPN22 is an autoimmunity gene.* Arthritis Rheum, 2005. **52**(6): p. 1694-9.
55. Hinks, A., et al., *Subtype specific genetic associations for juvenile idiopathic arthritis: ERAP1 with the enthesitis related arthritis subtype and IL23R with juvenile psoriatic arthritis.* Arthritis Res Ther, 2011. **13**(1): p. R12.
56. Barnes, M.G., et al., *Subtype-specific peripheral blood gene expression profiles in recent-onset juvenile idiopathic arthritis.* Arthritis Rheum, 2009. **60**(7): p. 2102-12.
57. de Jager, W., et al., *Blood and synovial fluid cytokine signatures in patients with juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional study.* Ann Rheum Dis, 2007. **66**(5): p. 589-98.
58. Kutukculer, N., S. Caglayan, and F. Aydogdu, *Study of pro-inflammatory (TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6) and T-cell-derived (IL-2, IL-4) cytokines in plasma and synovial fluid of patients with juvenile chronic arthritis: correlations with clinical and laboratory parameters.* Clin Rheumatol, 1998. **17**(4): p. 288-92.
59. Scardapane, A., et al., *TNF-alpha Polymorphisms in Juvenile Idiopathic Arthritis: Which Potential Clinical Implications?* Int J Rheumatol, 2012. **2012**: p. 756291.
60. Scardapane, A., et al., *TNF-alpha gene polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: Influence on disease outcome and therapeutic response.* Semin Arthritis Rheum, 2015. **45**(1): p. 35-41.
61. Mellins, E.D., C. Macaubas, and A.A. Grom, *Pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis: some answers, more questions.* Nat Rev Rheumatol, 2011. **7**(7): p. 416-26.
62. Pascual, V., et al., *Role of interleukin-1 (IL-1) in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade.* J Exp Med, 2005. **201**(9): p. 1479-86.
63. Frosch, M. and J. Roth, *New insights in systemic juvenile idiopathic arthritis--from pathophysiology to treatment.* Rheumatology (Oxford), 2008. **47**(2): p. 121-5.
64. Beukelman, T., *Treatment advances in systemic juvenile idiopathic arthritis.* F1000Prime Rep, 2014. **6**: p. 21.
65. van den Ham, H.J., et al., *Differential cytokine profiles in juvenile idiopathic arthritis subtypes revealed by cluster analysis.* Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(8): p. 899-905.
66. Hinze, C.H., et al., *Immature cell populations and an erythropoiesis gene-expression signature in systemic juvenile idiopathic arthritis: implications for pathogenesis.* Arthritis Res Ther, 2010. **12**(3): p. R123.

67. Fall, N., et al., *Gene expression profiling of peripheral blood from patients with untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis reveals molecular heterogeneity that may predict macrophage activation syndrome*. *Arthritis Rheum*, 2007. **56**(11): p. 3793-804.
68. Cazzola, M., et al., *Defective iron supply for erythropoiesis and adequate endogenous erythropoietin production in the anemia associated with systemic-onset juvenile chronic arthritis*. *Blood*, 1996. **87**(11): p. 4824-30.
69. Grom, A.A. and E.D. Mellins, *Macrophage activation syndrome: advances towards understanding pathogenesis*. *Curr Opin Rheumatol*, 2010. **22**(5): p. 561-6.
70. Vastert, S.J., et al., *Mutations in the perforin gene can be linked to macrophage activation syndrome in patients with systemic onset juvenile idiopathic arthritis*. *Rheumatology (Oxford)*, 2010. **49**(3): p. 441-9.
71. Kaufman, K.M., et al., *Whole-exome sequencing reveals overlap between macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis and familial hemophagocytic lymphohistiocytosis*. *Arthritis Rheumatol*, 2014. **66**(12): p. 3486-95.
72. Foell, D. and J. Roth, *Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease*. *Arthritis Rheum*, 2004. **50**(12): p. 3762-71.
73. Modesto, C., et al., *Systemic onset juvenile chronic arthritis, polyarticular pattern and hip involvement as markers for a bad prognosis*. *Clin Exp Rheumatol*, 2001. **19**(2): p. 211-7.
74. Al-Matar, M.J., et al., *The early pattern of joint involvement predicts disease progression in children with oligoarticular (pauciarticular) juvenile rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2002. **46**(10): p. 2708-15.
75. Oen, K., et al., *Radiologic outcome and its relationship to functional disability in juvenile rheumatoid arthritis*. *J Rheumatol*, 2003. **30**(4): p. 832-40.
76. Rostom, S., et al., *Hip involvement in juvenile idiopathic arthritis*. *Clin Rheumatol*, 2008. **27**(6): p. 791-4.
77. Silva, V.B., et al., *Association between the ultrasonographic and clinical findings in the hips of patients with juvenile idiopathic arthritis*. *Rev Bras Reumatol*, 2013. **53**(4): p. 322-7.
78. Elhai, M., et al., *Radiological cervical spine involvement in young adults with polyarticular juvenile idiopathic arthritis*. *Rheumatology (Oxford)*, 2013. **52**(2): p. 267-75.
79. Hensinger, R.N., P.D. DeVito, and C.G. Ragsdale, *Changes in the cervical spine in juvenile rheumatoid arthritis*. *J Bone Joint Surg Am*, 1986. **68**(2): p. 189-98.
80. Twilt, M., et al., *Long-term followup of temporomandibular joint involvement in juvenile idiopathic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2008. **59**(4): p. 546-52.
81. Zerlin, J.M., D.B. Sullivan, and W. Martel, *Distal interphalangeal joint abnormalities in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis*. *J Rheumatol*, 1991. **18**(6): p. 889-92.
82. Robertson, D.M., et al., *Juvenile psoriatic arthritis: followup and evaluation of diagnostic criteria*. *J Rheumatol*, 1996. **23**(1): p. 166-70.
83. Huemer, C., et al., *Patterns of joint involvement at onset differentiate oligoarticular juvenile psoriatic arthritis from pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis*. *J Rheumatol*, 2002. **29**(7): p. 1531-5.
84. Scarpa, R., et al., *Nail and distal interphalangeal joint in psoriatic arthritis*. *J Rheumatol*, 2006. **33**(7): p. 1315-9.
85. Stoll, M.L. and P.A. Nigrovic, *Subpopulations within juvenile psoriatic arthritis: a review of the literature*. *Clin Dev Immunol*, 2006. **13**(2-4): p. 377-80.
86. Tuttle, K.S., et al., *Enthesitis as a component of dactylitis in psoriatic juvenile idiopathic arthritis: histology of an established clinical entity*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2015. **13**: p. 7.
87. Carvounis, P.E., et al., *Incidence and outcomes of uveitis in juvenile rheumatoid arthritis, a synthesis of the literature*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006. **244**(3): p. 281-90.
88. Petty, R.E., J.R. Smith, and J.T. Rosenbaum, *Arthritis and uveitis in children. A pediatric rheumatology perspective*. *Am J Ophthalmol*, 2003. **135**(6): p. 879-84.

89. Foeldvari, I., *Ocular Involvement in Juvenile Idiopathic Arthritis: Classification and Treatment*. Clin Rev Allergy Immunol, 2014.
90. Jabs, D.A., et al., *Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop*. Am J Ophthalmol, 2005. **140**(3): p. 509-16.
91. Molina, C., et al., *Leflunomide, a valid and safe drug for the treatment of chronic anterior uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis*. Clin Rheumatol, 2013. **32**(11): p. 1673-5.
92. Kanski, J.J., *Screening for uveitis in juvenile chronic arthritis*. Br J Ophthalmol, 1989. **73**(3): p. 225-8.
93. Campanilho-Marques, R., et al., *Prognostic value of antinuclear antibodies in juvenile idiopathic arthritis and anterior uveitis. Results from a systematic literature review*. Acta Reumatol Port, 2014. **39**(2): p. 116-22.
94. Malagon, C., et al., *The iridocyclitis of early onset pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis: outcome in immunogenetically characterized patients*. J Rheumatol, 1992. **19**(1): p. 160-3.
95. Paiva, E.S., et al., *Characterisation of uveitis in patients with psoriatic arthritis*. Ann Rheum Dis, 2000. **59**(1): p. 67-70.
96. Stoll, M.L., et al., *Spondyloarthritis in a pediatric population: risk factors for sacroiliitis*. J Rheumatol, 2010. **37**(11): p. 2402-8.
97. Vastert, S.J. and B.J. Prakken, *Paediatric rheumatic disease: Diagnosing macrophage activation syndrome in systemic JIA*. Nat Rev Rheumatol, 2014. **10**(11): p. 640-2.
98. Ravelli, A., et al., *Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis*. J Pediatr, 2005. **146**(5): p. 598-604.
99. Ravelli, A., et al., *2016 Classification Criteria for Macrophage Activation Syndrome Complicating Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis: A European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative*. Ann Rheum Dis, 2016. **75**(3): p. 481-9.
100. Reddy, V.V., et al., *Soluble CD25 in serum: a potential marker for subclinical macrophage activation syndrome in patients with active systemic onset juvenile idiopathic arthritis*. Int J Rheum Dis, 2014. **17**(3): p. 261-7.
101. Minoia, F., et al., *Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients*. Arthritis Rheumatol, 2014. **66**(11): p. 3160-9.
102. Minoia, F., et al., *Dissecting the heterogeneity of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2015. **42**(6): p. 994-1001.
103. Athreya, B.H., et al., *Pulmonary manifestations of juvenile rheumatoid arthritis. A report of eight cases and review*. Clin Chest Med, 1980. **1**(3): p. 361-74.
104. Watkin, L.B., et al., *COPA mutations impair ER-Golgi transport and cause hereditary autoimmune-mediated lung disease and arthritis*. Nat Genet, 2015. **47**(6): p. 654-60.
105. Benoit, S. and H. Hamm, *Childhood psoriasis*. Clin Dermatol, 2007. **25**(6): p. 555-62.
106. Ansell, B.M., *Juvenile chronic arthritis with persistently positive tests for rheumatoid factor (sero-positive juvenile rheumatoid arthritis)*. Ann Pediatr (Paris), 1983. **30**(8): p. 545-50.
107. Paul, A., P. Estanqueiro, and M. Salgado, *[Accelerated nodulosis during methotrexate therapy for idiopathic juvenile arthritis]*. Acta Reumatol Port, 2011. **36**(1): p. 83-4.
108. Roth, J., et al., *Osteoporosis in juvenile idiopathic arthritis--a practical approach to diagnosis and therapy*. Eur J Pediatr, 2007. **166**(8): p. 775-84.
109. Brabnikova Maresova, K., *Secondary osteoporosis in patients with juvenile idiopathic arthritis*. J Osteoporos, 2011. **2011**: p. 569417.
110. Bechtold, S. and D. Simon, *Growth abnormalities in children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatol Int, 2014. **34**(11): p. 1483-8.
111. Ansell, B.M., *Prognosis in juvenile arthritis*. Adv Exp Med Biol, 1999. **455**: p. 27-33.

112. Prieur, A.M. and G. Chedeville, *Prognostic factors in juvenile idiopathic arthritis*. *Curr Rheumatol Rep*, 2001. **3**(5): p. 371-8.
113. Wallace, C.A., et al., *Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis*. *J Rheumatol*, 2004. **31**(11): p. 2290-4.
114. Wallace, C.A., et al., *Preliminary validation of clinical remission criteria using the OMERACT filter for select categories of juvenile idiopathic arthritis*. *J Rheumatol*, 2006. **33**(4): p. 789-95.
115. Magni-Manzoni, S., et al., *Development and validation of a preliminary definition of minimal disease activity in patients with juvenile idiopathic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2008. **59**(8): p. 1120-7.
116. Consolaro, A., et al., *Defining criteria for high disease activity in juvenile idiopathic arthritis based on the juvenile arthritis disease activity score*. *Ann Rheum Dis*, 2014. **73**(7): p. 1380-3.
117. Consolaro, A., et al., *Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2009. **61**(5): p. 658-66.
118. Consolaro, A., et al., *Remission, minimal disease activity, and acceptable symptom state in juvenile idiopathic arthritis: defining criteria based on the juvenile arthritis disease activity score*. *Arthritis Rheum*, 2012. **64**(7): p. 2366-74.
119. McErlane, F., et al., *Validity of a three-variable Juvenile Arthritis Disease Activity Score in children with new-onset juvenile idiopathic arthritis*. *Ann Rheum Dis*, 2013. **72**(12): p. 1983-8.
120. Consolaro, A., et al., *Defining criteria for high disease activity in juvenile idiopathic arthritis based on the juvenile arthritis disease activity score*. *Ann Rheum Dis*, 2014. **73**(7): p. 1380-3.
121. Consolaro, A., et al., *Defining criteria for disease activity states in nonsystemic juvenile idiopathic arthritis based on a three-variable juvenile arthritis disease activity score*. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2014. **66**(11): p. 1703-9.
122. Nordal, E.B., et al., *Validity and predictive ability of the juvenile arthritis disease activity score based on CRP versus ESR in a Nordic population-based setting*. *Ann Rheum Dis*, 2012. **71**(7): p. 1122-7.
123. Giannini, E.H., et al., *Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis*. *Arthritis Rheum*, 1997. **40**(7): p. 1202-9.
124. Ruperto, N., et al., *Performance of the preliminary definition of improvement in juvenile chronic arthritis patients treated with methotrexate*. *Italian Pediatric Rheumatology Study Group*. *Ann Rheum Dis*, 1998. **57**(1): p. 38-41.
125. Lovell, D.J., et al., *Long-term efficacy and safety of Etanercept in children with polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: interim results from an ongoing multicenter, open-label, extended-treatment trial*. *Arthritis Rheum*, 2003. **48**(1): p. 218-26.
126. Consolaro, A., et al., *Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2009. **61**(5): p. 658-66.
127. McErlane, F., et al., *Validity of a three-variable Juvenile Arthritis Disease Activity Score in children with new-onset juvenile idiopathic arthritis*. *Ann Rheum Dis*, 2013. **72**(12): p. 1983-8.
128. Consolaro, A., et al., *Remission, minimal disease activity, and acceptable symptom state in juvenile idiopathic arthritis: defining criteria based on the juvenile arthritis disease activity score*. *Arthritis Rheum*, 2012. **64**(7): p. 2366-74.
129. Ruperto, N., et al., *Cross-cultural adaptation and psychometric evaluation of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ) in 32 countries. Review of the general methodology*. *Clin Exp Rheumatol*, 2001. **19**(4 Suppl 23): p. S1-9.
130. Norgaard, M., M. Thastum, and T. Herlin, *The relevance of using the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) in revised versions for the assessment of juvenile idiopathic arthritis*. *Scand J Rheumatol*, 2013. **42**(6): p. 457-64.
131. Goycochea-Robles, M.V., et al., *Validation of a Spanish version of the Childhood Health Assessment Questionnaire*. *J Rheumatol*, 1997. **24**(11): p. 2242-5.

132. Garcia-Garcia, J.J., et al., *Development of a Spanish (Castilian) version of the Childhood Health Assessment Questionnaire. Measurement of health status in children with juvenile chronic arthritis.* Clin Exp Rheumatol, 2000. **18**(1): p. 95-102.
133. Hinze, C., F. Gohar, and D. Foell, *Management of juvenile idiopathic arthritis: hitting the target.* Nat Rev Rheumatol, 2015. **11**(5): p. 290-300.
134. Lovell, D.J., et al., *Advances from clinical trials in juvenile idiopathic arthritis.* Nat Rev Rheumatol, 2013. **9**(9): p. 557-63.
135. Beukelman, T., et al., *2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features.* Arthritis Care Res (Hoboken), 2011. **63**(4): p. 465-82.
136. Stoll, M.L. and R.Q. Cron, *Treatment of juvenile idiopathic arthritis: a revolution in care.* Pediatr Rheumatol Online J, 2014. **12**: p. 13.
137. Tynjala, P., et al., *Aggressive combination drug therapy in very early polyarticular juvenile idiopathic arthritis (ACUTE-JIA): a multicentre randomised open-label clinical trial.* Ann Rheum Dis, 2011. **70**(9): p. 1605-12.
138. Albers, H.M., et al., *Time to treatment as an important factor for the response to methotrexate in juvenile idiopathic arthritis.* Arthritis Rheum, 2009. **61**(1): p. 46-51.
139. Bartoli, M., et al., *The magnitude of early response to methotrexate therapy predicts long-term outcome of patients with juvenile idiopathic arthritis.* Ann Rheum Dis, 2008. **67**(3): p. 370-4.
140. Silverman, E., et al., *Leflunomide or methotrexate for juvenile rheumatoid arthritis.* N Engl J Med, 2005. **352**(16): p. 1655-66.
141. Beukelman, T., et al., *Disease-modifying antirheumatic drug use in the treatment of juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional analysis of the CARRA Registry.* J Rheumatol, 2012. **39**(9): p. 1867-74.
142. Schmeling, H., et al., *Pharmacogenetics: can genes determine treatment efficacy and safety in JIA?* Nat Rev Rheumatol, 2014. **10**(11): p. 682-90.
143. Morgan, S.L. and J.E. Baggott, *Folate supplementation during methotrexate therapy for rheumatoid arthritis.* Clin Exp Rheumatol, 2010. **28**(5 Suppl 61): p. S102-9.
144. Giannini, E.H., et al., *Methotrexate in resistant juvenile rheumatoid arthritis. Results of the U.S.A.-U.S.S.R. double-blind, placebo-controlled trial. The Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group and The Cooperative Children's Study Group.* N Engl J Med, 1992. **326**(16): p. 1043-9.
145. Woo, P., et al., *Randomized, placebo-controlled, crossover trial of low-dose oral methotrexate in children with extended oligoarticular or systemic arthritis.* Arthritis Rheum, 2000. **43**(8): p. 1849-57.
146. Foeldvari, I. and A. Wierk, *Methotrexate is an effective treatment for chronic uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis.* J Rheumatol, 2005. **32**(2): p. 362-5.
147. Heiligenhaus, A., et al., *Methotrexate for uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis: value and requirement for additional anti-inflammatory medication.* Eur J Ophthalmol, 2007. **17**(5): p. 743-8.
148. Malik, A.R. and C. Pavesio, *The use of low dose methotrexate in children with chronic anterior and intermediate uveitis.* Br J Ophthalmol, 2005. **89**(7): p. 806-8.
149. Kalinina Ayuso, V., et al., *Relapse rate of uveitis post-methotrexate treatment in juvenile idiopathic arthritis.* Am J Ophthalmol, 2011. **151**(2): p. 217-22.
150. Becker, M.L., et al., *Effectiveness and toxicity of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis: comparison of 2 initial dosing regimens.* J Rheumatol, 2010. **37**(4): p. 870-5.
151. Ruperto, N., et al., *A randomized trial of parenteral methotrexate comparing an intermediate dose with a higher dose in children with juvenile idiopathic arthritis who failed to respond to standard doses of methotrexate.* Arthritis Rheum, 2004. **50**(7): p. 2191-201.

152. Ramanan, A.V., P. Whitworth, and E.M. Baildam, *Use of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis*. Arch Dis Child, 2003. **88**(3): p. 197-200.
153. Kocharla, L., et al., *Monitoring methotrexate toxicity in juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2009. **36**(12): p. 2813-8.
154. Lahdenne, P., et al., *Hepatotoxicity in patients with juvenile idiopathic arthritis receiving longterm methotrexate therapy*. J Rheumatol, 2002. **29**(11): p. 2442-5.
155. Bulatovic, M., et al., *High prevalence of methotrexate intolerance in juvenile idiopathic arthritis: development and validation of a methotrexate intolerance severity score*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(7): p. 2007-13.
156. Foeldvari, I. and A. Wierk, *Effectiveness of leflunomide in patients with juvenile idiopathic arthritis in clinical practice*. J Rheumatol, 2010. **37**(8): p. 1763-7.
157. Silverman, E., et al., *Long-term open-label preliminary study of the safety and efficacy of leflunomide in patients with polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2005. **52**(2): p. 554-62.
158. Robertson, S.M. and L.S. Lang, *Leflunomide: inhibition of S-antigen induced autoimmune uveitis in Lewis rats*. Agents Actions, 1994. **42**(3-4): p. 167-72.
159. Fang, C.B., et al., *Amelioration of experimental autoimmune uveitis by leflunomide in Lewis rats*. PLoS One, 2013. **8**(4): p. e62071.
160. Roy, M., *Early clinical experience with leflunomide in uveitis*. Can J Ophthalmol, 2007. **42**(4): p. 634.
161. Bichler, J., et al., *Leflunomide is associated with a higher flare rate compared to methotrexate in the treatment of chronic uveitis in juvenile idiopathic arthritis*. Scand J Rheumatol, 2015. **44**(4): p. 280-3.
162. Tugwell, P., et al., *Low-dose cyclosporin versus placebo in patients with rheumatoid arthritis*. Lancet, 1990. **335**(8697): p. 1051-5.
163. Tugwell, P., et al., *Combination therapy with cyclosporine and methotrexate in severe rheumatoid arthritis. The Methotrexate-Cyclosporine Combination Study Group*. N Engl J Med, 1995. **333**(3): p. 137-41.
164. Ruperto, N., et al., *Cyclosporine A in juvenile idiopathic arthritis. Results of the PRCSG/PRINTO phase IV post marketing surveillance study*. Clin Exp Rheumatol, 2006. **24**(5): p. 599-605.
165. Ringold, S., et al., *2013 update of the 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: recommendations for the medical therapy of children with systemic juvenile idiopathic arthritis and tuberculosis screening among children receiving biologic medications*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2013. **65**(10): p. 1551-63.
166. van Rossum, M.A., et al., *Sulfasalazine in the treatment of juvenile chronic arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study. Dutch Juvenile Chronic Arthritis Study Group*. Arthritis Rheum, 1998. **41**(5): p. 808-16.
167. Hertzberger-ten Cate, R. and A. Cats, *Toxicity of sulfasalazine in systemic juvenile chronic arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 1991. **9**(1): p. 85-8.
168. van Rossum, M.A., et al., *Long-term outcome of juvenile idiopathic arthritis following a placebo-controlled trial: sustained benefits of early sulfasalazine treatment*. Ann Rheum Dis, 2007. **66**(11): p. 1518-24.
169. Brewer, E.J., et al., *Penicillamine and hydroxychloroquine in the treatment of severe juvenile rheumatoid arthritis. Results of the U.S.A.-U.S.S.R. double-blind placebo-controlled trial*. N Engl J Med, 1986. **314**(20): p. 1269-76.
170. Kvien, T.K., H.M. Hoyeraal, and B. Sandstad, *Gold sodium thiomalate and D-penicillamine. A controlled, comparative study in patients with pauciarticular and polyarticular juvenile rheumatoid arthritis*. Scand J Rheumatol, 1985. **14**(4): p. 346-54.

171. Giannini, E.H., et al., *Auranofin in the treatment of juvenile rheumatoid arthritis. Results of the USA-USSR double-blind, placebo-controlled trial. The USA Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. The USSR Cooperative Children's Study Group.* Arthritis Rheum, 1990. **33**(4): p. 466-76.
172. Shimizu, M., et al., *Treatment of refractory polyarticular juvenile idiopathic arthritis with tacrolimus.* Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(11): p. 2120-2.
173. Savolainen, H.A., et al., *Azathioprine in patients with juvenile chronic arthritis: a longterm followup study.* J Rheumatol, 1997. **24**(12): p. 2444-50.
174. Horneff, G., *Safety of biologic therapies for the treatment of juvenile idiopathic arthritis.* Expert Opin Drug Saf, 2015. **14**(7): p. 1111-26.
175. Windschall, D. and G. Horneff, *Safety and efficacy of Etanercept and Adalimumab in children aged 2 to 4 years with juvenile idiopathic arthritis.* Clin Rheumatol, 2016. **35**(12): p. 2925-2931.
176. Horneff, G., et al., *Comparison of treatment response, remission rate and drug adherence in polyarticular juvenile idiopathic arthritis patients treated with Etanercept, Adalimumab or tocilizumab.* Arthritis Res Ther, 2016. **18**(1): p. 272.
177. Otten, M.H., et al., *Factors associated with treatment response to Etanercept in juvenile idiopathic arthritis.* JAMA, 2011. **306**(21): p. 2340-7.
178. DeWitt, E.M., et al., *Consensus treatment plans for new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis.* Arthritis Care Res (Hoboken), 2012. **64**(7): p. 1001-10.
179. Lovell, D.J., et al., *Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group.* N Engl J Med, 2000. **342**(11): p. 763-9.
180. Lovell, D.J., et al., *Safety and efficacy of up to eight years of continuous Etanercept therapy in patients with juvenile rheumatoid arthritis.* Arthritis Rheum, 2008. **58**(5): p. 1496-504.
181. Horneff, G., et al., *Efficacy and safety of open-label Etanercept on extended oligoarticular juvenile idiopathic arthritis, enthesitis-related arthritis and psoriatic arthritis: part 1 (week 12) of the CLIPPER study.* Ann Rheum Dis, 2014. **73**(6): p. 1114-22.
182. Lovell, D.J., et al., *Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis.* N Engl J Med, 2008. **359**(8): p. 810-20.
183. Balevic, S.J. and C.E. Rabinovich, *Profile of Adalimumab and its potential in the treatment of uveitis.* Drug Des Devel Ther, 2016. **10**: p. 2997-3003.
184. Lahdenne, P., P. Vahasalo, and V. Honkanen, *Infliximab or Etanercept in the treatment of children with refractory juvenile idiopathic arthritis: an open label study.* Ann Rheum Dis, 2003. **62**(3): p. 245-7.
185. Ruperto, N., et al., *A randomized, placebo-controlled trial of Infliximab plus methotrexate for the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis.* Arthritis Rheum, 2007. **56**(9): p. 3096-106.
186. Ruperto, N., et al., *Long-term efficacy and safety of Infliximab plus methotrexate for the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: findings from an open-label treatment extension.* Ann Rheum Dis, 2010. **69**(4): p. 718-22.
187. Zannin, M.E., et al., *Safety and efficacy of Infliximab and Adalimumab for refractory uveitis in juvenile idiopathic arthritis: 1-year followup data from the Italian Registry.* J Rheumatol, 2013. **40**(1): p. 74-9.
188. van Schouwenburg, P.A., T. Rispens, and G.J. Wolbink, *Immunogenicity of anti-TNF biologic therapies for rheumatoid arthritis.* Nat Rev Rheumatol, 2013. **9**(3): p. 164-72.
189. Ruperto, N., et al., *Abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled withdrawal trial.* Lancet, 2008. **372**(9636): p. 383-91.
190. Ruperto, N., et al., *Long-term safety and efficacy of abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis.* Arthritis Rheum, 2010. **62**(6): p. 1792-802.
191. Sen, E.S., A.D. Dick, and A.V. Ramanan, *Uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis.* Nat Rev Rheumatol, 2015. **11**(6): p. 338-48.

192. Yokota, S., et al., *Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial*. Lancet, 2008. **371**(9617): p. 998-1006.
193. De Benedetti, F., et al., *Randomized trial of tocilizumab in systemic juvenile idiopathic arthritis*. N Engl J Med, 2012. **367**(25): p. 2385-95.
194. Brunner, H.I., et al., *Efficacy and safety of tocilizumab in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: results from a phase 3, randomised, double-blind withdrawal trial*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(6): p. 1110-7.
195. Imagawa, T., et al., *Safety and efficacy of tocilizumab, an anti-IL-6-receptor monoclonal antibody, in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis*. Mod Rheumatol, 2012. **22**(1): p. 109-15.
196. Calvo-Rio, V., et al., *Anti-IL6-R Tocilizumab for Severe Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis Refractory to anti-TNF therapy. A multicenter study of 25 patients*. Arthritis Rheumatol, 2016.
197. Alexeeva, E.I., et al., *Efficacy and safety of repeat courses of rituximab treatment in patients with severe refractory juvenile idiopathic arthritis*. Clin Rheumatol, 2011. **30**(9): p. 1163-72.
198. Heiligenhaus, A., et al., *Treatment of severe uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab)*. Rheumatology (Oxford), 2011. **50**(8): p. 1390-4.
199. Miserocchi, E., et al., *Long-term treatment with rituximab in severe juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis*. Br J Ophthalmol, 2016. **100**(6): p. 782-6.
200. Quartier, P., et al., *A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial with the interleukin-1 receptor antagonist anakinra in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis (ANAJIS trial)*. Ann Rheum Dis, 2011. **70**(5): p. 747-54.
201. Ilowite, N., et al., *Anakinra in the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: safety and preliminary efficacy results of a randomized multicenter study*. Clin Rheumatol, 2009. **28**(2): p. 129-37.
202. Ruperto, N., et al., *Two randomized trials of canakinumab in systemic juvenile idiopathic arthritis*. N Engl J Med, 2012. **367**(25): p. 2396-406.
203. Dueckers, G., et al., *Evidence and consensus based GKJR guidelines for the treatment of juvenile idiopathic arthritis*. Clin Immunol, 2012. **142**(2): p. 176-93.
204. Davies, K., et al., *BSPAR Standards of Care for children and young people with juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2010. **49**(7): p. 1406-8.
205. Ravelli, A. and A. Martini, *Early predictors of outcome in juvenile idiopathic arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2003. **21**(5 Suppl 31): p. S89-93.
206. Oen, K., et al., *Early predictors of longterm outcome in patients with juvenile rheumatoid arthritis: subset-specific correlations*. J Rheumatol, 2003. **30**(3): p. 585-93.
207. McErlane, F., et al., *Trends in paediatric rheumatology referral times and disease activity indices over a ten-year period among children and young people with Juvenile Idiopathic Arthritis: results from the childhood arthritis prospective Study*. Rheumatology (Oxford), 2016. **55**(7): p. 1225-34.
208. Szer, I.S., *Arthritis in children and adolescents : juvenile idiopathic arthritis*. 2006, Oxford: Oxford University Press. xvi, 456 p.
209. Ravelli, A. and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. Lancet, 2007. **369**(9563): p. 767-78.
210. Minden, K., et al., *Long-term outcome in patients with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2002. **46**(9): p. 2392-401.
211. Espada, G., *[Juvenile idiopathic arthritis: Part 2. Prognosis and current therapeutic approach]*. Arch Argent Pediatr, 2009. **107**(6): p. 536-41.

212. Kotaniemi, K., et al., *The frequency and outcome of uveitis in patients with newly diagnosed juvenile idiopathic arthritis in two 4-year cohorts from 1990-1993 and 2000-2003*. Clin Exp Rheumatol, 2014. **32**(1): p. 143-7.
213. Nielsen, S., et al., *Preliminary evidence that Etanercept may reduce radiographic progression in juvenile idiopathic arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2008. **26**(4): p. 688-92.
214. Ravelli, A., *The time has come to include assessment of radiographic progression in juvenile idiopathic arthritis clinical trials*. J Rheumatol, 2008. **35**(4): p. 553-7.
215. Packham, J.C., M.A. Hall, and T.J. Pimm, *Long-term follow-up of 246 adults with juvenile idiopathic arthritis: predictive factors for mood and pain*. Rheumatology (Oxford), 2002. **41**(12): p. 1444-9.
216. Peterson, L.S., et al., *Psychosocial outcomes and health status of adults who have had juvenile rheumatoid arthritis: a controlled, population-based study*. Arthritis Rheum, 1997. **40**(12): p. 2235-40.
217. Anink, J., et al., *Long-term quality of life and functional outcome of patients with juvenile idiopathic arthritis in the biologic era: a longitudinal follow-up study in the Dutch Arthritis and Biologicals in Children Register*. Rheumatology (Oxford), 2015. **54**(11): p. 1964-9.
218. Giancane, G., et al., *Frequency of radiographic damage and progression in individual joints in children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2014. **66**(1): p. 27-33.
219. Elhai, M., et al., *Radiological peripheral involvement in a cohort of patients with polyarticular juvenile idiopathic arthritis at adulthood*. J Rheumatol, 2013. **40**(4): p. 520-7.
220. van Dijkhuizen, E.H. and N.M. Wulffraat, *Early predictors of prognosis in juvenile idiopathic arthritis: a systematic literature review*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(11): p. 1996-2005.
221. Wallace, C.A., et al., *Patterns of clinical remission in select categories of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2005. **52**(11): p. 3554-62.
222. Oen, K., et al., *Disease course and outcome of juvenile rheumatoid arthritis in a multicenter cohort*. J Rheumatol, 2002. **29**(9): p. 1989-99.
223. Ringold, S., et al., *Inactive disease in polyarticular juvenile idiopathic arthritis: current patterns and associations*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(8): p. 972-7.
224. Albers, H.M., et al., *Clinical course and prognostic value of disease activity in the first two years in different subtypes of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2010. **62**(2): p. 204-12.
225. Aggarwal, A. and D.P. Misra, *Enthesitis-related arthritis*. Clin Rheumatol, 2015. **34**(11): p. 1839-46.
226. Gmuca, S. and P.F. Weiss, *Evaluation and Treatment of Childhood Enthesitis-Related Arthritis*. Curr Treatm Opt Rheumatol, 2015. **1**(4): p. 350-364.
227. Lomater, C., et al., *Systemic onset juvenile idiopathic arthritis: a retrospective study of 80 consecutive patients followed for 10 years*. J Rheumatol, 2000. **27**(2): p. 491-6.
228. Lanni, S., et al., *Towards a role of ultrasound in children with juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2013. **52**(3): p. 413-20.
229. Magni-Manzoni, S., et al., *Advances and challenges in imaging in juvenile idiopathic arthritis*. Nat Rev Rheumatol, 2012. **8**(6): p. 329-36.
230. Damasio, M.B., et al., *Synovial and inflammatory diseases in childhood: role of new imaging modalities in the assessment of patients with juvenile idiopathic arthritis*. Pediatr Radiol, 2010. **40**(6): p. 985-98.
231. Sheybani, E.F., et al., *Imaging of juvenile idiopathic arthritis: a multimodality approach*. Radiographics, 2013. **33**(5): p. 1253-73.
232. Filippucci, E., L. Di Geso, and W. Grassi, *Progress in imaging in rheumatology*. Nat Rev Rheumatol, 2014. **10**(10): p. 628-34.
233. Ostergaard, M. and S. Moller-Bisgaard, *Rheumatoid arthritis: Is imaging needed to define remission in rheumatoid arthritis?* Nat Rev Rheumatol, 2014. **10**(6): p. 326-8.

234. Boesen, M., *NEW IMAGING MODALITIES FOR RA REMISSION – IS RHEUMATOLOGY READY TO INCLUDE ADVANCED MULTI PARAMETRIC IMAGING INTO THE CLINICAL REMISSION CRITERIAS?* Annals of the Rheumatic Diseases, 2015. **74**(Suppl 2): p. 47.
235. Haavardsholm, E.A., E. Lie, and S. Lillegraven, *Should modern imaging be part of remission criteria in rheumatoid arthritis?* Best Pract Res Clin Rheumatol, 2012. **26**(6): p. 767-85.
236. Colebatch, A.N., et al., *EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of rheumatoid arthritis.* Ann Rheum Dis, 2013. **72**(6): p. 804-14.
237. Moller-Bisgaard, S., et al., *Impact of a magnetic resonance imaging-guided treat-to-target strategy on disease activity and progression in patients with rheumatoid arthritis (the IMAGINE-RA trial): study protocol for a randomized controlled trial.* Trials, 2015. **16**: p. 178.
238. Colebatch-Bourn, A.N., et al., *EULAR-PReS points to consider for the use of imaging in the diagnosis and management of juvenile idiopathic arthritis in clinical practice.* Ann Rheum Dis, 2015.
239. Prahallad, S. and D.N. Glass, *Is juvenile rheumatoid arthritis/juvenile idiopathic arthritis different from rheumatoid arthritis?* Arthritis Res, 2002. **4**(Suppl 3): p. 303-10.
240. Breton, S., et al., *Imaging approaches for evaluating peripheral joint abnormalities in juvenile idiopathic arthritis.* Semin Arthritis Rheum, 2012. **41**(5): p. 698-711.
241. Wilson-Gerwing, T.D., et al., *Age-related differences in collagen-induced arthritis: clinical and imaging correlations.* Comp Med, 2013. **63**(6): p. 498-502.
242. Hoshino, K., et al., *Mineral density and histomorphometric assessment of bone changes in the proximal tibia early after induction of type II collagen-induced arthritis in growing and mature rats.* J Bone Miner Metab, 2001. **19**(2): p. 76-83.
243. Fathalla, B., et al., *Effects of aging and cytokine blockade on inflammatory cachexia.* Clin Exp Rheumatol, 2004. **22**(1): p. 85-90.
244. Johnson, K. and J. Gardner-Medwin, *Childhood arthritis: classification and radiology.* Clin Radiol, 2002. **57**(1): p. 47-58.
245. Doria, A.S., et al., *Inter- and intrareader variability in the interpretation of two radiographic classification systems for juvenile rheumatoid arthritis.* Pediatr Radiol, 2003. **33**(10): p. 673-81.
246. Navallas, M., et al., *[Magnetic resonance imaging in juvenile idiopathic arthritis: peculiarities of imaging children].* Radiologia, 2013. **55**(5): p. 373-84.
247. Lang, B.A., et al., *Radiologic features of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis.* J Rheumatol, 1995. **22**(1): p. 168-73.
248. Roth, J., et al., *Definitions for the sonographic features of joints in healthy children.* Arthritis Care Res (Hoboken), 2015. **67**(1): p. 136-42.
249. Laurell, L., et al., *Comparison of ultrasonography with Doppler and MRI for assessment of disease activity in juvenile idiopathic arthritis: a pilot study.* Pediatr Rheumatol Online J, 2012. **10**(1): p. 23.
250. Ostergaard, M. and E.A. Haavardsholm, *Imaging: MRI in healthy volunteers - important to do, and do correctly.* Nat Rev Rheumatol, 2016. **12**(10): p. 563-4.
251. Mangnus, L., et al., *Magnetic Resonance Imaging-Detected Features of Inflammation and Erosions in Symptom-Free Persons From the General Population.* Arthritis Rheumatol, 2016. **68**(11): p. 2593-2602.
252. Mangnus, L., J.W. Schoones, and A.H. van der Helm-van Mil, *What is the prevalence of MRI-detected inflammation and erosions in small joints in the general population? A collation and analysis of published data.* RMD Open, 2015. **1**(1): p. e000005.
253. Bird, P., et al., *The development of the EULAR-OMERACT rheumatoid arthritis MRI reference image atlas.* Ann Rheum Dis, 2005. **64** Suppl 1: p. i8-10.
254. Johnson, K., et al., *The early magnetic resonance imaging features of the knee in juvenile idiopathic arthritis.* Clin Radiol, 2002. **57**(6): p. 466-71.

255. Azouz, E.M., *Juvenile idiopathic arthritis: how can the radiologist help the clinician?* *Pediatr Radiol*, 2008. **38 Suppl 3**: p. S403-8.
256. McQueen, F.M., et al., *Bone edema scored on magnetic resonance imaging scans of the dominant carpus at presentation predicts radiographic joint damage of the hands and feet six years later in patients with rheumatoid arthritis.* *Arthritis Rheum*, 2003. **48**(7): p. 1814-27.
257. Malattia, C., et al., *Development and preliminary validation of a paediatric-targeted MRI scoring system for the assessment of disease activity and damage in juvenile idiopathic arthritis.* *Ann Rheum Dis*, 2011. **70**(3): p. 440-6.
258. Muller, L.S., et al., *The paediatric wrist revisited: redefining MR findings in healthy children.* *Ann Rheum Dis*, 2011. **70**(4): p. 605-10.
259. Laor, T. and D. Jaramillo, *MR imaging insights into skeletal maturation: what is normal?* *Radiology*, 2009. **250**(1): p. 28-38.
260. Shabshin, N., et al., *High-signal T2 changes of the bone marrow of the foot and ankle in children: red marrow or traumatic changes?* *Pediatr Radiol*, 2006. **36**(7): p. 670-6.
261. Molenaar, E.T., et al., *Progression of radiologic damage in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission.* *Arthritis Rheum*, 2004. **50**(1): p. 36-42.
262. Gardner-Medwin, J.M., et al., *Magnetic resonance imaging identifies features in clinically unaffected knees predicting extension of arthritis in children with monoarthritis.* *J Rheumatol*, 2006. **33**(11): p. 2337-43.
263. van der Heijde, D., *Remission by imaging in rheumatoid arthritis: should this be the ultimate goal?* *Ann Rheum Dis*, 2012. **71 Suppl 2**: p. i89-92.
264. Dohn, U.M., et al., *No overall progression and occasional repair of erosions despite persistent inflammation in Adalimumab-treated rheumatoid arthritis patients: results from a longitudinal comparative MRI, ultrasonography, CT and radiography study.* *Ann Rheum Dis*, 2011. **70**(2): p. 252-8.
265. Peterfy, C.G., et al., *Monitoring cartilage loss in the hands and wrists in rheumatoid arthritis with magnetic resonance imaging in a multi-center clinical trial: IMPRESS (NCT00425932).* *Arthritis Res Ther*, 2013. **15**(2): p. R44.
266. Jones, G., et al., *Sex and site differences in cartilage development: a possible explanation for variations in knee osteoarthritis in later life.* *Arthritis Rheum*, 2000. **43**(11): p. 2543-9.
267. Malattia, C., et al., *MRI versus conventional measures of disease activity and structural damage in evaluating treatment efficacy in juvenile idiopathic arthritis.* *Ann Rheum Dis*, 2013. **72**(3): p. 363-8.
268. Malattia, C., et al., *Magnetic resonance imaging, ultrasonography, and conventional radiography in the assessment of bone erosions in juvenile idiopathic arthritis.* *Arthritis Rheum*, 2008. **59**(12): p. 1764-72.
269. Ording Muller, L.S., et al., *MRI of the wrist in juvenile idiopathic arthritis: erosions or normal variants? A prospective case-control study.* *Pediatr Radiol*, 2013. **43**(7): p. 785-95.
270. McQueen, F., et al., *Pitfalls in scoring MR images of rheumatoid arthritis wrist and metacarpophalangeal joints.* *Ann Rheum Dis*, 2005. **64 Suppl 1**: p. i48-55.
271. Vaid, Y.N., et al., *Imaging of the temporomandibular joint in juvenile idiopathic arthritis.* *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2014. **66**(1): p. 47-54.
272. Magni-Manzoni, S., *Ultrasound in juvenile idiopathic arthritis.* *Pediatr Rheumatol Online J*, 2016. **14**(1): p. 33.
273. American College of Rheumatology Musculoskeletal Ultrasound Task, F., *Ultrasound in American rheumatology practice: report of the American College of Rheumatology musculoskeletal ultrasound task force.* *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2010. **62**(9): p. 1206-19.
274. Pineda, C., et al., *Pan-American League of Associations for Rheumatology (PANLAR) recommendations and guidelines for musculoskeletal ultrasound training in the Americas for rheumatologists.* *J Clin Rheumatol*, 2010. **16**(3): p. 113-8.

275. Kissin, E.Y., et al., *Musculoskeletal ultrasound training and competency assessment program for rheumatology fellows*. J Ultrasound Med, 2013. **32**(10): p. 1735-43.
276. Brown, A.K., et al., *Ultrasonography for rheumatologists: the development of specific competency based educational outcomes*. Ann Rheum Dis, 2006. **65**(5): p. 629-36.
277. Terslev, L., et al., *EFSUMB Minimum Training Requirements for Rheumatologists Performing Musculoskeletal Ultrasound*. Ultraschall Med, 2013.
278. Naredo, E., et al., *Recommendations for the content and conduct of European League Against Rheumatism (EULAR) musculoskeletal ultrasound courses*. Ann Rheum Dis, 2008. **67**(7): p. 1017-22.
279. Iagnocco, A., et al., *Educational recommendations for the conduct, content and format of EULAR musculoskeletal ultrasound Teaching the Teachers Courses*. RMD Open, 2015. **1**(1): p. e000139.
280. Iagnocco, A., et al., *The Italian MSUS Study Group recommendations for the format and content of the report and documentation in musculoskeletal ultrasonography in rheumatology*. Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(2): p. 367-73.
281. Naredo, E., J. Uson, and R. Escuela de Ecografía de la Sociedad Española de, *[Teaching ultrasonography to Spanish rheumatologists: 15 years of experience]*. Reumatol Clin, 2011. **7**(6): p. 354-6.
282. Bruyn, G.A., et al., *The OMERACT Ultrasound Working Group 10 Years On: Update at OMERACT 12*. J Rheumatol, 2015. **42**(11): p. 2172-6.
283. Backhaus, M., et al., *Guidelines for musculoskeletal ultrasound in rheumatology*. Ann Rheum Dis, 2001. **60**(7): p. 641-9.
284. Wakefield, R.J., et al., *Musculoskeletal ultrasound including definitions for ultrasonographic pathology*. J Rheumatol, 2005. **32**(12): p. 2485-7.
285. Walther, M., et al., *Correlation of power Doppler sonography with vascularity of the synovial tissue of the knee joint in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2001. **44**(2): p. 331-8.
286. Ramirez, J., et al., *Immunopathologic characterization of ultrasound-defined synovitis in rheumatoid arthritis patients in clinical remission*. Arthritis Res Ther, 2016. **18**: p. 74.
287. Anandarajah, A., et al., *Patients with rheumatoid arthritis in clinical remission manifest persistent joint inflammation on histology and imaging studies*. J Rheumatol, 2014. **41**(11): p. 2153-60.
288. Terslev, L., et al., *Doppler ultrasound and magnetic resonance imaging of synovial inflammation of the hand in rheumatoid arthritis: a comparative study*. Arthritis Rheum, 2003. **48**(9): p. 2434-41.
289. Terslev, L., et al., *Effects of treatment with Etanercept (Enbrel, TNRF:Fc) on rheumatoid arthritis evaluated by Doppler ultrasonography*. Ann Rheum Dis, 2003. **62**(2): p. 178-81.
290. Naredo, E., et al., *Assessment of inflammatory activity in rheumatoid arthritis: a comparative study of clinical evaluation with grey scale and power Doppler ultrasonography*. Ann Rheum Dis, 2005. **64**(3): p. 375-81.
291. Filippucci, E., et al., *Power Doppler sonography monitoring of synovial perfusion at the wrist joints in patients with rheumatoid arthritis treated with Adalimumab*. Ann Rheum Dis, 2006. **65**(11): p. 1433-7.
292. Ramirez, J., et al., *Patients with rheumatoid arthritis in clinical remission and ultrasound-defined active synovitis exhibit higher disease activity and increased serum levels of angiogenic biomarkers*. Arthritis Res Ther, 2014. **16**(1): p. R5.
293. Taylor, P.C., et al., *Comparison of ultrasonographic assessment of synovitis and joint vascularity with radiographic evaluation in a randomized, placebo-controlled study of Infliximab therapy in early rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2004. **50**(4): p. 1107-16.

294. Ten Cate, D.F., et al., *Role of ultrasonography in diagnosing early rheumatoid arthritis and remission of rheumatoid arthritis--a systematic review of the literature*. *Arthritis Res Ther*, 2013. **15**(1): p. R4.
295. Murayama, G., et al., *Clinical miscount of involved joints denotes the need for ultrasound complementation in usual practice for patients with rheumatoid arthritis*. *Clin Exp Rheumatol*, 2013. **31**(4): p. 506-14.
296. Ozgocmen, S., et al., *Clinical evaluation and power Doppler sonography in rheumatoid arthritis: evidence for ongoing synovial inflammation in clinical remission*. *South Med J*, 2008. **101**(3): p. 240-5.
297. Saleem, B., et al., *Should imaging be a component of rheumatoid arthritis remission criteria? A comparison between traditional and modified composite remission scores and imaging assessments*. *Ann Rheum Dis*, 2011. **70**(5): p. 792-8.
298. Brown, A.K., et al., *Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug-induced clinical remission: evidence from an imaging study may explain structural progression*. *Arthritis Rheum*, 2006. **54**(12): p. 3761-73.
299. Zufferey, P., et al., *Persistence of ultrasound synovitis in patients with rheumatoid arthritis fulfilling the DAS28 and/or the new ACR/EULAR RA remission definitions: results of an observational cohort study*. *Joint Bone Spine*, 2014. **81**(5): p. 426-32.
300. Saleem, B., et al., *Can flare be predicted in DMARD treated RA patients in remission, and is it important? A cohort study*. *Ann Rheum Dis*, 2012. **71**(8): p. 1316-21.
301. Scire, C.A., et al., *Ultrasonographic evaluation of joint involvement in early rheumatoid arthritis in clinical remission: power Doppler signal predicts short-term relapse*. *Rheumatology (Oxford)*, 2009. **48**(9): p. 1092-7.
302. Nguyen, H., et al., *Prevalence of ultrasound-detected residual synovitis and risk of relapse and structural progression in rheumatoid arthritis patients in clinical remission: a systematic review and meta-analysis*. *Rheumatology (Oxford)*, 2014. **53**(11): p. 2110-8.
303. Naredo, E., et al., *Power Doppler ultrasonographic monitoring of response to anti-tumor necrosis factor therapy in patients with rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2008. **58**(8): p. 2248-56.
304. Brown, A.K., et al., *An explanation for the apparent dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2008. **58**(10): p. 2958-67.
305. Wakefield, R.J., et al., *After treat-to-target: can a targeted ultrasound initiative improve RA outcomes?* *Ann Rheum Dis*, 2012. **71**(6): p. 799-803.
306. Collado, P., et al., *Toward Standardized Musculoskeletal Ultrasound in Pediatric Rheumatology: Normal Age-Related Ultrasound Findings*. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2016. **68**(3): p. 348-56.
307. Grechenig, W., et al., *Sonoanatomy of the Achilles tendon insertion in children*. *J Clin Ultrasound*, 2004. **32**(7): p. 338-43.
308. Collado, P., et al., *Assessment of the joint recesses and tendon sheaths in healthy children by high-resolution B-mode and power Doppler sonography*. *Clin Exp Rheumatol*, 2007. **25**(6): p. 915-21.
309. Roth, J., et al., *Preliminary definitions for the sonographic features of synovitis in children*. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2016.
310. Collado, P., et al., *Is ultrasound a validated imaging tool for the diagnosis and management of synovitis in juvenile idiopathic arthritis? A systematic literature review*. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012. **64**(7): p. 1011-9.
311. Sparchez, M., D. Fodor, and N. Miu, *The role of Power Doppler ultrasonography in comparison with biological markers in the evaluation of disease activity in Juvenile Idiopathic Arthritis*. *Med Ultrason*, 2010. **12**(2): p. 97-103.

312. Janow, G.L., et al., *Detection of active disease in juvenile idiopathic arthritis: sensitivity and specificity of the physical examination vs ultrasound*. J Rheumatol, 2011. **38**(12): p. 2671-4.
313. Laurell, L., et al., *Ultrasonography and color Doppler in juvenile idiopathic arthritis: diagnosis and follow-up of ultrasound-guided steroid injection in the ankle region. A descriptive interventional study*. Pediatr Rheumatol Online J, 2011. **9**(1): p. 4.
314. Bugni Miotto e Silva, V., et al., *Do patients with juvenile idiopathic arthritis in remission exhibit active synovitis on joint ultrasound?* Rheumatol Int, 2014. **34**(7): p. 937-45.
315. Collado, P., et al., *Detection of synovitis by ultrasonography in clinically inactive juvenile idiopathic arthritis on and off medication*. Clin Exp Rheumatol, 2014. **32**(4): p. 597-603.
316. Magni-Manzoni, S., et al., *Ultrasound-detected synovial abnormalities are frequent in clinically inactive juvenile idiopathic arthritis, but do not predict a flare of synovitis*. Ann Rheum Dis, 2013. **72**(2): p. 223-8.
317. Haslam, K.E., et al., *The detection of subclinical synovitis by ultrasound in oligoarticular juvenile idiopathic arthritis: a pilot study*. Rheumatology (Oxford), 2010. **49**(1): p. 123-7.
318. Rebollo-Polo, M., et al., *Ultrasound findings on patients with juvenile idiopathic arthritis in clinical remission*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2011. **63**(7): p. 1013-9.
319. Spannow, A.H., et al., *Ultrasound and MRI measurements of joint cartilage in healthy children: a validation study*. Ultraschall Med, 2011. **32 Suppl 1**: p. S110-6.
320. Pradsgaard, D.O., et al., *Cartilage thickness of the knee joint in juvenile idiopathic arthritis: comparative assessment by ultrasonography and magnetic resonance imaging*. J Rheumatol, 2015. **42**(3): p. 534-40.
321. Spannow, A.H., et al., *Ultrasonographic measurements of joint cartilage thickness in healthy children: age- and sex-related standard reference values*. J Rheumatol, 2010. **37**(12): p. 2595-601.
322. Pradsgaard, D.O., et al., *Decreased cartilage thickness in juvenile idiopathic arthritis assessed by ultrasonography*. J Rheumatol, 2013. **40**(9): p. 1596-603.
323. Janow, G. and N.T. Ilowite, *Ultrasound and cartilage thickness in juvenile idiopathic arthritis: new findings, new questions*. J Rheumatol, 2013. **40**(9): p. 1466-8.
324. Naredo, E., et al., *Ultrasound joint inflammation in rheumatoid arthritis in clinical remission: how many and which joints should be assessed?* Arthritis Care Res (Hoboken), 2013. **65**(4): p. 512-7.
325. Damjanov, N., et al., *Construct validity and reliability of ultrasound disease activity score in assessing joint inflammation in RA: comparison with DAS-28*. Rheumatology (Oxford), 2012. **51**(1): p. 120-8.
326. Aga, A.B., et al., *First step in the development of an ultrasound joint inflammation score for rheumatoid arthritis using a data-driven approach*. Ann Rheum Dis, 2016. **75**(8): p. 1444-51.
327. Backhaus, M., et al., *Evaluation of a novel 7-joint ultrasound score in daily rheumatologic practice: a pilot project*. Arthritis Rheum, 2009. **61**(9): p. 1194-201.
328. Naredo, E., et al., *Validity, reproducibility, and responsiveness of a twelve-joint simplified power doppler ultrasonographic assessment of joint inflammation in rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2008. **59**(4): p. 515-22.
329. Mandl, P., et al., *A systematic literature review analysis of ultrasound joint count and scoring systems to assess synovitis in rheumatoid arthritis according to the OMERACT filter*. J Rheumatol, 2011. **38**(9): p. 2055-62.
330. Collado, P., et al., *Reduced joint assessment vs comprehensive assessment for ultrasound detection of synovitis in juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2013. **52**(8): p. 1477-84.
331. Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, *Inmunología básica : funciones y trastornos del sistema inmunitario*. 4a ed. 2014, Barcelona: Elsevier. x, 319 p.

332. Simon, A.K., G.A. Hollander, and A. McMichael, *Evolution of the immune system in humans from infancy to old age*. Proc Biol Sci, 2015. **282**(1821): p. 20143085.
333. Tosato, F., et al., *Lymphocytes subsets reference values in childhood*. Cytometry A, 2015. **87**(1): p. 81-5.
334. Comans-Bitter, W.M., et al., *Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations*. J Pediatr, 1997. **130**(3): p. 388-93.
335. Huenecke, S., et al., *Age-matched lymphocyte subpopulation reference values in childhood and adolescence: application of exponential regression analysis*. Eur J Haematol, 2008. **80**(6): p. 532-9.
336. van Gent, R., et al., *Refined characterization and reference values of the pediatric T- and B-cell compartments*. Clin Immunol, 2009. **133**(1): p. 95-107.
337. Shearer, W.T., et al., *Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study*. J Allergy Clin Immunol, 2003. **112**(5): p. 973-80.
338. Amadori, A., et al., *Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans*. Nat Med, 1995. **1**(12): p. 1279-83.
339. Strindhall, J., et al., *The inverted CD4/CD8 ratio and associated parameters in 66-year-old individuals: the Swedish HEXA immune study*. Age (Dordr), 2013. **35**(3): p. 985-91.
340. Pesenacker, A.M. and L.R. Wedderburn, *T regulatory cells in childhood arthritis--novel insights*. Expert Rev Mol Med, 2013. **15**: p. e13.
341. Hori, S., T. Takahashi, and S. Sakaguchi, *Control of autoimmunity by naturally arising regulatory CD4+ T cells*. Adv Immunol, 2003. **81**: p. 331-71.
342. Fontenot, J.D., M.A. Gavin, and A.Y. Rudensky, *Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells*. Nat Immunol, 2003. **4**(4): p. 330-6.
343. Yu, N., et al., *CD4(+)/CD25 (+)/CD127 (low/-) T cells: a more specific Treg population in human peripheral blood*. Inflammation, 2012. **35**(6): p. 1773-80.
344. Liu, W., et al., *CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells*. J Exp Med, 2006. **203**(7): p. 1701-11.
345. Seddiki, N., et al., *Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells*. J Exp Med, 2006. **203**(7): p. 1693-700.
346. Garcia-Dabrio, M.C., et al., *Influence of age, gender and lifestyle in lymphocyte subsets: report from the Spanish Gait-2 Study*. Acta Haematol, 2012. **127**(4): p. 244-9.
347. Holcar, M., et al., *Age-Related Differences in Percentages of Regulatory and Effector T Lymphocytes and Their Subsets in Healthy Individuals and Characteristic STAT1/STAT5 Signalling Response in Helper T Lymphocytes*. J Immunol Res, 2015. **2015**: p. 352934.
348. Teig, N., et al., *Age-related changes in human blood dendritic cell subpopulations*. Scand J Immunol, 2002. **55**(5): p. 453-7.
349. Gubbels Bupp, M.R., *Sex, the aging immune system, and chronic disease*. Cell Immunol, 2015. **294**(2): p. 102-10.
350. Linehan, E. and D.C. Fitzgerald, *Ageing and the immune system: focus on macrophages*. Eur J Microbiol Immunol (Bp), 2015. **5**(1): p. 14-24.
351. Pinti, M., et al., *Aging of the immune system: Focus on inflammation and vaccination*. Eur J Immunol, 2016. **46**(10): p. 2286-2301.
352. Rich, R.R., *Clinical immunology: principles and practice*. 3rd ed. ed. 2008: St. Louis, Mo.: Mosby/Elsevier, 2008.
353. Takemura, S., et al., *Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis*. J Immunol, 2001. **167**(2): p. 1072-80.
354. Canete, J.D., et al., *Clinical significance of synovial lymphoid neogenesis and its reversal after anti-tumour necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis*. Ann Rheum Dis, 2009. **68**(5): p. 751-6.

355. Nistala, K., et al., *Th17 plasticity in human autoimmune arthritis is driven by the inflammatory environment*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(33): p. 14751-6.
356. Aloisi, F. and R. Pujol-Borrell, *Lymphoid neogenesis in chronic inflammatory diseases*. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(3): p. 205-17.
357. Kruithof, E., et al., *Distinct synovial immunopathologic characteristics of juvenile-onset spondylarthritis and other forms of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2006. **54**(8): p. 2594-604.
358. Gattorno, M., et al., *Phenotypic and functional characterisation of CCR7+ and CCR7- CD4+ memory T cells homing to the joints in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Res Ther, 2005. **7**(2): p. R256-67.
359. Wedderburn, L.R., et al., *Selective recruitment of polarized T cells expressing CCR5 and CXCR3 to the inflamed joints of children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2000. **43**(4): p. 765-74.
360. Sellam, J., et al., *Blood memory B cells are disturbed and predict the response to rituximab in patients with rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(12): p. 3692-701.
361. Ermann, J., et al., *Immune cell profiling to guide therapeutic decisions in rheumatic diseases*. Nat Rev Rheumatol, 2015. **11**(9): p. 541-51.
362. Rebhahn, J.A., et al., *An animated landscape representation of CD4+ T-cell differentiation, variability, and plasticity: insights into the behavior of populations versus cells*. Eur J Immunol, 2014. **44**(8): p. 2216-29.
363. Geginat, J., et al., *Plasticity of human CD4 T cell subsets*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 630.
364. Nistala, K., et al., *Interleukin-17-producing T cells are enriched in the joints of children with arthritis, but have a reciprocal relationship to regulatory T cell numbers*. Arthritis Rheum, 2008. **58**(3): p. 875-87.
365. Marek-Szydlowska, T., et al., *Juvenile rheumatoid arthritis. Monocyte dysfunction in selected patients*. Clin Pediatr (Phila), 1988. **27**(11): p. 551-6.
366. Hunter, P.J., et al., *Biologic predictors of extension of oligoarticular juvenile idiopathic arthritis as determined from synovial fluid cellular composition and gene expression*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(3): p. 896-907.
367. Murray, K.J., et al., *Immunohistological characteristics of T cell infiltrates in different forms of childhood onset chronic arthritis*. J Rheumatol, 1996. **23**(12): p. 2116-24.
368. de Kleer, I.M., et al., *CD4+CD25bright regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis*. J Immunol, 2004. **172**(10): p. 6435-43.
369. Piper, C., et al., *T cell expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in juvenile arthritis is contingent upon Th17 plasticity*. Arthritis Rheumatol, 2014. **66**(7): p. 1955-60.
370. Pelletier, M., et al., *Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells*. Blood, 2010. **115**(2): p. 335-43.
371. Nistala, K. and L.R. Wedderburn, *Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(6): p. 602-6.
372. Thoen, J., et al., *Phenotypes of T lymphocytes from peripheral blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. Evidence in favour of normal helper and suppressor functions of T lymphocytes from patients with juvenile rheumatoid arthritis*. Scand J Rheumatol, 1987. **16**(4): p. 247-56.
373. Wouters, C.H., J.L. Ceuppens, and E.A. Stevens, *Different circulating lymphocyte profiles in patients with different subtypes of juvenile idiopathic arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2002. **20**(2): p. 239-48.

374. Smolewska, E., et al., *Relationship between impaired apoptosis of lymphocytes and distribution of dendritic cells in peripheral blood and synovial fluid of children with juvenile idiopathic arthritis*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2008. **56**(4): p. 283-9.
375. Tsokos, G.C., et al., *Immunoregulatory aberrations in patients with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis*. Clin Immunol Immunopathol, 1988. **47**(1): p. 62-74.
376. Odum, N., et al., *Increased prevalence of late stage T cell activation antigen (VLA-1) in active juvenile chronic arthritis*. Ann Rheum Dis, 1987. **46**(11): p. 846-52.
377. Sediva, A., et al., *Immunological investigation in children with juvenile chronic arthritis*. Med Sci Monit, 2001. **7**(1): p. 99-104.
378. Forre, O., et al., *Detection of T-lymphocyte subpopulation in the peripheral blood and the synovium of patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies*. Scand J Immunol, 1982. **15**(2): p. 221-6.
379. Daien, C.I., et al., *High levels of memory B cells are associated with response to a first tumor necrosis factor inhibitor in patients with rheumatoid arthritis in a longitudinal prospective study*. Arthritis Res Ther, 2014. **16**(2): p. R95.
380. Marston, B., A. Palanichamy, and J.H. Anolik, *B cells in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis*. Curr Opin Rheumatol, 2010. **22**(3): p. 307-15.
381. Souto-Carneiro, M.M., et al., *Alterations in peripheral blood memory B cells in patients with active rheumatoid arthritis are dependent on the action of tumour necrosis factor*. Arthritis Res Ther, 2009. **11**(3): p. R84.
382. Roll, P., et al., *RF positivity has substantial influence on the peripheral memory B-cell compartment and its modulation by TNF inhibition*. Scand J Rheumatol, 2012. **41**(3): p. 180-5.
383. Morbach, H., et al., *Activated memory B cells may function as antigen-presenting cells in the joints of children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(11): p. 3458-66.
384. Thompson, S.D., et al., *Heterogeneity in juvenile idiopathic arthritis: impact of molecular profiling based on DNA polymorphism and gene expression patterns*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(9): p. 2611-5.
385. Morbach, H. and H.J. Girschick, *Do B cells play a role in the pathogenesis of juvenile idiopathic arthritis?* Autoimmunity, 2009. **42**(4): p. 373-5.
386. Martini, A., et al., *CD5 positive B lymphocytes in seronegative juvenile arthritis*. J Rheumatol, 1990. **17**(7): p. 932-5.
387. Jarvis, J.N., J. Kaplan, and N. Fine, *Increase in CD5+ B cells in juvenile rheumatoid arthritis. Relationship to IgM rheumatoid factor expression and disease activity*. Arthritis Rheum, 1992. **35**(2): p. 204-7.
388. Shi, K., et al., *Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients*. J Immunol, 2001. **166**(1): p. 650-5.
389. Smolewska, E., et al., *Distribution and clinical significance of blood dendritic cells in children with juvenile idiopathic arthritis*. Ann Rheum Dis, 2008. **67**(6): p. 762-8.
390. Jongbloed, S.L., et al., *Enumeration and phenotypical analysis of distinct dendritic cell subsets in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis*. Arthritis Res Ther, 2006. **8**(1): p. R15.
391. Jongbloed, S.L., et al., *Plasmacytoid dendritic cells regulate breach of self-tolerance in autoimmune arthritis*. J Immunol, 2009. **182**(2): p. 963-8.
392. Dalbeth, N. and M.F. Callan, *A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints*. Arthritis Rheum, 2002. **46**(7): p. 1763-72.
393. E. Ramiro-Puig, F.J.P.r.-C., C. Castellote, A. Franch, M. Castell, *El intestino: pieza clave del sistema inmunitario*. Revista Española de Enfermedades Digestivas, 2008. **100**(1): p. 29-34.
394. Mangge, H. and K. Schauenstein, *Cytokines in juvenile rheumatoid arthritis (JRA)*. Cytokine, 1998. **10**(6): p. 471-80.
395. Woo, P., *Cytokines and juvenile idiopathic arthritis*. Curr Rheumatol Rep, 2002. **4**(6): p. 452-7.

396. Kaminiarczyk-Pyzalka, D., et al., *Proinflammatory cytokines in monitoring the course of disease and effectiveness of treatment with Etanercept (ETN) of children with oligo- and polyarticular juvenile idiopathic arthritis (JIA)*. Clin Lab, 2014. **60**(9): p. 1481-90.
397. Walters, H.M., et al., *The impact of disease activity and tumour necrosis factor-alpha inhibitor therapy on cytokine levels in juvenile idiopathic arthritis*. Clin Exp Immunol, 2016. **184**(3): p. 308-17.
398. de Kleer, I.M., et al., *The spontaneous remission of juvenile idiopathic arthritis is characterized by CD30+ T cells directed to human heat-shock protein 60 capable of producing the regulatory cytokine interleukin-10*. Arthritis Rheum, 2003. **48**(7): p. 2001-10.
399. Agarwal, S., R. Misra, and A. Aggarwal, *Interleukin 17 levels are increased in juvenile idiopathic arthritis synovial fluid and induce synovial fibroblasts to produce proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases*. J Rheumatol, 2008. **35**(3): p. 515-9.
400. Smith, A.J. and S.E. Humphries, *Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality*. Cytokine Growth Factor Rev, 2009. **20**(1): p. 43-59.
401. van Dijkhuizen, E.H. and N.M. Wulffraat, *Prediction of methotrexate efficacy and adverse events in patients with juvenile idiopathic arthritis: a systematic literature review*. Pediatr Rheumatol Online J, 2014. **12**: p. 51.
402. Toonen, E.J., et al., *Validation study of existing gene expression signatures for anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e33199.
403. Brown, P.M., A.G. Pratt, and J.D. Isaacs, *Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers*. Nat Rev Rheumatol, 2016. **12**(12): p. 731-742.
404. Genestier, L., et al., *Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells*. J Clin Invest, 1998. **102**(2): p. 322-8.
405. Peres, R.S., et al., *Low expression of CD39 on regulatory T cells as a biomarker for resistance to methotrexate therapy in rheumatoid arthritis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. **112**(8): p. 2509-14.
406. Kremer, J.M., et al., *Long-term study of the impact of methotrexate on serum cytokines and lymphocyte subsets in patients with active rheumatoid arthritis: correlation with pharmacokinetic measures*. RMD Open, 2016. **2**(1): p. e000287.
407. Bulatovic Calasan, M., et al., *Methotrexate treatment affects effector but not regulatory T cells in juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2015. **54**(9): p. 1724-34.
408. Szalay, B., et al., *The impact of conventional DMARD and biological therapies on CD4+ cell subsets in rheumatoid arthritis: a follow-up study*. Clin Rheumatol, 2014. **33**(2): p. 175-85.
409. Bohm, I., *Decrease of B-cells and autoantibodies after low-dose methotrexate*. Biomed Pharmacother, 2003. **57**(7): p. 278-81.
410. Wascher, T.C., et al., *Cell-type specific response of peripheral blood lymphocytes to methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis*. Clin Investig, 1994. **72**(7): p. 535-40.
411. Ehrenstein, M.R., et al., *Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy*. J Exp Med, 2004. **200**(3): p. 277-85.
412. McGovern, J.L., et al., *Th17 cells are restrained by Treg cells via the inhibition of interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis responding to anti-tumor necrosis factor antibody therapy*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(10): p. 3129-38.
413. Byng-Maddick, R. and M.R. Ehrenstein, *The impact of biological therapy on regulatory T cells in rheumatoid arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2015. **54**(5): p. 768-75.
414. Wehrens, E.J., et al., *Functional human regulatory T cells fail to control autoimmune inflammation due to PKB/c-akt hyperactivation in effector cells*. Blood, 2011. **118**(13): p. 3538-48.
415. Wehrens, E.J., et al., *Anti-tumor necrosis factor alpha targets protein kinase B/c-Akt-induced resistance of effector cells to suppression in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2013. **65**(12): p. 3279-84.

416. Anolik, J.H., et al., *Cutting edge: anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis inhibits memory B lymphocytes via effects on lymphoid germinal centers and follicular dendritic cell networks*. J Immunol, 2008. **180**(2): p. 688-92.
417. Glaesener, S., et al., *Distinct effects of methotrexate and Etanercept on the B cell compartment in patients with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheumatol, 2014. **66**(9): p. 2590-600.
418. van Schouwenburg, P.A., et al., *Adalimumab elicits a restricted anti-idiotypic antibody response in autoimmune patients resulting in functional neutralisation*. Ann Rheum Dis, 2013. **72**(1): p. 104-9.
419. Balsa, A., C. Plasencia, and D. Pascual-Salcedo, *Reply to: <<understanding the immunogenicity concept>>*. Reumatol Clin, 2013. **9**(4): p. 252-3.
420. Wolbink, G.J., L.A. Aarden, and B.A. Dijkmans, *Dealing with immunogenicity of biologicals: assessment and clinical relevance*. Curr Opin Rheumatol, 2009. **21**(3): p. 211-5.
421. Valor, L. and I. de la Torre, *Understanding the immunogenicity concept*. Reumatol Clin, 2013. **9**(1): p. 1-4.
422. Jani, M., et al., *The role of DMARDs in reducing the immunogenicity of TNF inhibitors in chronic inflammatory diseases*. Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(2): p. 213-22.
423. Vincent, F.B., et al., *Antidrug antibodies (ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory diseases: a real issue, a clinical perspective*. Ann Rheum Dis, 2013. **72**(2): p. 165-78.
424. Mok, C.C., et al., *Immunogenicity of anti-TNF biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis*. Expert Opin Biol Ther, 2016. **16**(2): p. 201-11.
425. Arends, S., et al., *The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-alpha blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis*. Clin Exp Rheumatol, 2010. **28**(5): p. 661-8.
426. Dore, R.K., et al., *The immunogenicity, safety, and efficacy of Etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2007. **25**(1): p. 40-6.
427. Keystone, E.C., et al., *Once-weekly administration of 50 mg Etanercept in patients with active rheumatoid arthritis: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Arthritis Rheum, 2004. **50**(2): p. 353-63.
428. Kosmac, M., et al., *Exploring the binding sites of anti-Infliximab antibodies in pediatric patients with rheumatic diseases treated with Infliximab*. Pediatr Res, 2011. **69**(3): p. 243-8.
429. Ben-Horin, S., et al., *Cross-immunogenicity: antibodies to Infliximab in Remicade-treated patients with IBD similarly recognise the biosimilar Remsima*. Gut, 2016. **65**(7): p. 1132-8.
430. Ruiz-Arguello, M.B., et al., *Antibodies to Infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars*. Ann Rheum Dis, 2016. **75**(9): p. 1693-6.
431. Aeschlimann, F.A., et al., *Prevalence of Anti-Infliximab Antibodies and Their Associated Co-factors in Children with Refractory Arthritis and/or Uveitis: A Retrospective Longitudinal Cohort Study*. J Rheumatol, 2017. **44**(3): p. 334-341.
432. Maneiro, J.R., E. Salgado, and J.J. Gomez-Reino, *Immunogenicity of monoclonal antibodies against tumor necrosis factor used in chronic immune-mediated Inflammatory conditions: systematic review and meta-analysis*. JAMA Intern Med, 2013. **173**(15): p. 1416-28.
433. Krieckaert, C.L., et al., *Comparison of long-term clinical outcome with Etanercept treatment and Adalimumab treatment of rheumatoid arthritis with respect to immunogenicity*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(12): p. 3850-5.
434. Bartelds, G.M., 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): p. 1460-8.
435. Jamnitski, A., et al., *Patients non-responding to Etanercept obtain lower Etanercept concentrations compared with responding patients*. Ann Rheum Dis, 2012. **71**(1): p. 88-91.

436. Radstake, T.R., 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): p. 1739-45.
437. Maini, R.N., et al., *Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 1998. **41**(9): p. 1552-63.
438. Baert, F., et al., *Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of Infliximab in Crohn's disease*. *N Engl J Med*, 2003. **348**(7): p. 601-8.
439. Vermeire, S., et al., *Effectiveness of concomitant immunosuppressive therapy in suppressing the formation of antibodies to Infliximab in Crohn's disease*. *Gut*, 2007. **56**(9): p. 1226-31.
440. Singh, N. and M.C. Dubinsky, *Therapeutic Drug Monitoring in Children and Young Adults With Inflammatory Bowel Disease: A Practical Approach*. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 2015. **11**(1): p. 48-55.
441. Lecluse, L.L., et al., *Extent and clinical consequences of antibody formation against Adalimumab in patients with plaque psoriasis*. *Arch Dermatol*, 2010. **146**(2): p. 127-32.
442. Alcobendas, R., et al., *Monitoring serum Etanercept levels in juvenile idiopathic arthritis: a pilot study*. *Clin Exp Rheumatol*, 2016. **34**(5): p. 955-956.
443. *Summary of product characteristics: Enbrel*. 2017 09/02/2017; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000262/WC500027361.pdf.
444. Burgos-Vargas, R., et al., *A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Multicenter Study of Adalimumab in Pediatric Patients With Enthesitis-Related Arthritis*. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2015. **67**(11): p. 1503-12.
445. Skrabl-Baumgartner, A., et al., *Anti-Adalimumab antibodies in juvenile idiopathic arthritis: frequent association with loss of response*. *Scand J Rheumatol*, 2015. **44**(5): p. 359-62.
446. Imagawa, T., et al., *Efficacy, pharmacokinetics, and safety of Adalimumab in pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis in Japan*. *Clin Rheumatol*, 2012. **31**(12): p. 1713-21.
447. Murias, S., et al., *Anti-Adalimumab antibodies in paediatric rheumatology patients: a pilot experience*. *Rheumatology (Oxford)*, 2014. **53**(11): p. 2124-6.
448. *Summary of product characteristics: Remicade*. 21/11/2016; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000240/WC500050888.pdf.
449. Swart, J.F., S. de Roock, and N.M. Wulffraat, *What are the immunological consequences of long-term use of biological therapies for juvenile idiopathic arthritis?* *Arthritis Res Ther*, 2013. **15**(3): p. 213.
450. Vahabnezhad, E., S. Rabizadeh, and M.C. Dubinsky, *A 10-year, single tertiary care center experience on the durability of Infliximab in pediatric inflammatory bowel disease*. *Inflamm Bowel Dis*, 2014. **20**(4): p. 606-13.
451. Krieckaert, C.L., M.T. Nurmohamed, and G.J. Wolbink, *Methotrexate reduces immunogenicity in Adalimumab treated rheumatoid arthritis patients in a dose dependent manner*. *Ann Rheum Dis*, 2012. **71**(11): p. 1914-5.
452. Segal, R., et al., *The effects of methotrexate on the production and activity of interleukin-1*. *Arthritis Rheum*, 1989. **32**(4): p. 370-7.
453. Rosenthal, G.J., et al., *Suppression of B cell function by methotrexate and trimetrexate. Evidence for inhibition of purine biosynthesis as a major mechanism of action*. *J Immunol*, 1988. **141**(2): p. 410-6.
454. Real-Fernandez, F., et al., *Surface plasmon resonance-based methodology for anti-Adalimumab antibody identification and kinetic characterization*. *Anal Bioanal Chem*, 2015. **407**(24): p. 7477-85.

455. Imaeda, H., A. Andoh, and Y. Fujiyama, *Development of a new immunoassay for the accurate determination of anti-Infliximab antibodies in inflammatory bowel disease*. *J Gastroenterol*, 2012. **47**(2): p. 136-43.
456. van Schouwenburg, P.A., et al., *A novel method for the detection of antibodies to Adalimumab in the presence of drug reveals "hidden" immunogenicity in rheumatoid arthritis patients*. *J Immunol Methods*, 2010. **362**(1-2): p. 82-8.
457. Hart, M.H., et al., *Differential effect of drug interference in immunogenicity assays*. *J Immunol Methods*, 2011. **372**(1-2): p. 196-203.
458. Radiology, E.E.S.o.M. *ESSR Ultrasound Guidelines - Group Protocols*. 2017; Available from: <https://essr.org/subcommittees/ultrasound/>.
459. Maecker, H.T., J.P. McCoy, and R. Nussenblatt, *Standardizing immunophenotyping for the Human Immunology Project*. *Nat Rev Immunol*, 2012. **12**(3): p. 191-200.
460. Simard, J.F., et al., *Juvenile idiopathic arthritis and risk of cancer: a nationwide cohort study*. *Arthritis Rheum*, 2010. **62**(12): p. 3776-82.
461. Oliveira, S., et al., *Proxy-reported health-related quality of life of patients with juvenile idiopathic arthritis: the Pediatric Rheumatology International Trials Organization multinational quality of life cohort study*. *Arthritis Rheum*, 2007. **57**(1): p. 35-43.
462. Martinez Mengual, L., et al., *[Epidemiological study of juvenile idiopathic arthritis in the last sixteen years in Asturias (Spain)]*. *An Pediatr (Barc)*, 2007. **66**(1): p. 24-30.
463. Pruunsild, C., et al., *Prevalence and short-term outcome of juvenile idiopathic arthritis: a population-based study in Estonia*. *Clin Exp Rheumatol*, 2007. **25**(4): p. 649-53.
464. Nordal, E., et al., *Ongoing disease activity and changing categories in a long-term nordic cohort study of juvenile idiopathic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2011. **63**(9): p. 2809-18.
465. Ringold, S., et al., *Race, ethnicity, and disease outcomes in juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional analysis of the Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance (CARRA) Registry*. *J Rheumatol*, 2013. **40**(6): p. 936-42.
466. Abdwani, R., et al., *Epidemiology of juvenile idiopathic arthritis in Oman*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2015. **13**: p. 33.
467. Arguedas, O., et al., *Juvenile chronic arthritis in urban San Jose, Costa Rica: a 2 year prospective study*. *J Rheumatol*, 1998. **25**(9): p. 1844-50.
468. Heiligenhaus, A., et al., *Review for disease of the year: epidemiology of juvenile idiopathic arthritis and its associated uveitis: the probable risk factors*. *Ocul Immunol Inflamm*, 2013. **21**(3): p. 180-91.
469. Hazel, E., et al., *High rates of unsuccessful transfer to adult care among young adults with juvenile idiopathic arthritis*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2010. **8**: p. 2.
470. Oen, K., *Long-term outcomes and predictors of outcomes for patients with juvenile idiopathic arthritis*. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2002. **16**(3): p. 347-60.
471. Flato, B., et al., *Long-term outcome and prognostic factors in enthesitis-related arthritis: a case-control study*. *Arthritis Rheum*, 2006. **54**(11): p. 3573-82.
472. Schaller, J.G., *The history of pediatric rheumatology*. *Pediatr Res*, 2005. **58**(5): p. 997-1007.
473. Woo, P. and R.E. Petty, *Looking at paediatric rheumatology over the past 50 years*. *Rheumatology (Oxford)*, 2011. **50**(9): p. 1533-6.
474. Antón, J. *Resumen de la historia de la reumatología pediátrica en España*. 2012; Available from: <http://www.reumaped.es/>.
475. Minden, K., *Adult outcomes of patients with juvenile idiopathic arthritis*. *Horm Res*, 2009. **72 Suppl 1**: p. 20-5.
476. Webb, K. and L.R. Wedderburn, *Advances in the treatment of polyarticular juvenile idiopathic arthritis*. *Curr Opin Rheumatol*, 2015. **27**(5): p. 505-10.
477. Ringold, S., et al., *Performance of rheumatoid arthritis disease activity measures and juvenile arthritis disease activity scores in polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: Analysis of*

- their ability to classify the American College of Rheumatology pediatric measures of response and the preliminary criteria for flare and inactive disease. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2010. **62**(8): p. 1095-102.
478. Horneff, G., [Definition of criteria for high disease activity using the Juvenile Rheumatoid Arthritis Disease Activity Score]. *Z Rheumatol*, 2014. **73**(5): p. 398.
479. Horneff, G. and I. Becker, Definition of improvement in juvenile idiopathic arthritis using the juvenile arthritis disease activity score. *Rheumatology (Oxford)*, 2014. **53**(7): p. 1229-34.
480. Bulatovic Calasan, M., et al., Interpretation of the Juvenile Arthritis Disease Activity Score: responsiveness, clinically important differences and levels of disease activity in prospective cohorts of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 2014. **53**(2): p. 307-12.
481. Backstrom, M., et al., Finding specific 10-joint Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS10) and clinical JADAS10 cut-off values for disease activity levels in non-systemic juvenile idiopathic arthritis: a Finnish multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*, 2016. **55**(4): p. 615-23.
482. Zamora-Legoff, J.A., et al., Treatment of patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA) in a population-based cohort. *Clin Rheumatol*, 2016. **35**(6): p. 1493-9.
483. Quesada-Masachs, E., Efectividad y seguridad del tratamiento combinado con Metotrexato y Leflunomida en la Artritis Idiopática juvenil, in *Departament de Medicina*. 2013, Universitat Autònoma de Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). p. 44.
484. Quesada-Masachs, E. and C. Modesto, PREs-FINAL-2048: Treatment with methotrexate plus leflunomide for juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology*, 2013. **11**(2): p. P61.
485. Becker, I. and G. Horneff, Risk of serious infection in juvenile idiopathic arthritis patients associated with TNF-inhibitors and disease activity in the German BIKER registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2016.
486. Davies, R., et al., Treatment prescribing patterns in patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA): Analysis from the UK Childhood Arthritis Prospective Study (CAPS). *Semin Arthritis Rheum*, 2016. **46**(2): p. 190-5.
487. Otten, M.H., et al., Trends in prescription of biological agents and outcomes of juvenile idiopathic arthritis: results of the Dutch national Arthritis and Biologics in Children Register. *Ann Rheum Dis*, 2015. **74**(7): p. 1379-86.
488. Weinblatt, M.E., et al., A trial of Etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med*, 1999. **340**(4): p. 253-9.
489. Heiligenhaus, A., et al., Prevalence and complications of uveitis in juvenile idiopathic arthritis in a population-based nation-wide study in Germany: suggested modification of the current screening guidelines. *Rheumatology (Oxford)*, 2007. **46**(6): p. 1015-9.
490. Kostik, M.M., et al., Methotrexate treatment may prevent uveitis onset in patients with juvenile idiopathic arthritis: experiences and subgroup analysis in a cohort with frequent methotrexate use. *Clin Exp Rheumatol*, 2016. **34**(4): p. 714-8.
491. Papadopoulou, C., et al., Methotrexate therapy may prevent the onset of uveitis in juvenile idiopathic arthritis. *J Pediatr*, 2013. **163**(3): p. 879-84.
492. Foeldvari, I., I. Becker, and G. Horneff, Uveitis Events During Adalimumab, Etanercept, and Methotrexate Therapy in Juvenile Idiopathic Arthritis: Data From the Biologics in Pediatric Rheumatology Registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2015. **67**(11): p. 1529-35.
493. Smith, J.R., et al., Differential efficacy of tumor necrosis factor inhibition in the management of inflammatory eye disease and associated rheumatic disease. *Arthritis Rheum*, 2001. **45**(3): p. 252-7.
494. Quartier, P., et al., Efficacy of Etanercept for the treatment of juvenile idiopathic arthritis according to the onset type. *Arthritis Rheum*, 2003. **48**(4): p. 1093-101.

495. Saurenmann, R.K., et al., *Risk of new-onset uveitis in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with anti-TNFalpha agents*. J Pediatr, 2006. **149**(6): p. 833-6.
496. McErlane, F., et al., *Biologic treatment response among adults with juvenile idiopathic arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register*. Rheumatology (Oxford), 2013. **52**(10): p. 1905-13.
497. Becker, I. and G. Horneff, *Risk of Serious Infection in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients Associated With Tumor Necrosis Factor Inhibitors and Disease Activity in the German Biologics in Pediatric Rheumatology Registry*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2017. **69**(4): p. 552-560.
498. Horneff, G., et al., *Safety and efficacy of combination of Etanercept and methotrexate compared to treatment with Etanercept only in patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA): preliminary data from the German JIA Registry*. Ann Rheum Dis, 2009. **68**(4): p. 519-25.
499. Ungar, W.J., et al., *The use of biologic response modifiers in polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: a systematic review*. Semin Arthritis Rheum, 2013. **42**(6): p. 597-618.
500. Southwood, T.R., et al., *Duration of Etanercept treatment and reasons for discontinuation in a cohort of juvenile idiopathic arthritis patients*. Rheumatology (Oxford), 2011. **50**(1): p. 189-95.
501. Papsdorf, V. and G. Horneff, *Complete control of disease activity and remission induced by treatment with Etanercept in juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2011. **50**(1): p. 214-21.
502. Sauvain, M.J., et al., *[Swiss registry for TNF-alpha blockers in children and adolescents with rheumatological diseases]*. Praxis (Bern 1994), 2010. **99**(11): p. 649-54.
503. Trachana, M., et al., *Safety and efficacy of Adalimumab treatment in Greek children with juvenile idiopathic arthritis*. Scand J Rheumatol, 2011. **40**(2): p. 101-7.
504. Zuber, Z., et al., *Etanercept treatment in juvenile idiopathic arthritis: the Polish registry*. Med Sci Monit, 2011. **17**(12): p. SR35-42.
505. Magni-Manzoni, S., et al., *Current state of musculoskeletal ultrasound in paediatric rheumatology: results of an international survey*. Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(3): p. 491-6.
506. Terslev, L., et al., *The OMERACT Ultrasound Group: A Report from the OMERACT 2016 Meeting and Perspectives*. J Rheumatol, 2017.
507. Bazso, A., et al., *Development and testing of reduced joint counts in juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2009. **36**(1): p. 183-90.
508. Ibrahim, E.F., A. Rashid, and M. Thomas, *Linked semiconstrained and unlinked total elbow replacement in juvenile idiopathic arthritis: a case comparison series with mean 11.7-year follow-up*. J Shoulder Elbow Surg, 2017. **26**(2): p. 305-313.
509. Witt, M., et al., *Relevance of grade 1 gray-scale ultrasound findings in wrists and small joints to the assessment of subclinical synovitis in rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2013. **65**(7): p. 1694-701.
510. Gaujoux-Viala, C., *C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate in estimating the 28-joint disease activity score*. J Rheumatol, 2013. **40**(11): p. 1785-7.
511. Taxter, A.J., et al., *Patient-reported Outcomes across Categories of Juvenile Idiopathic Arthritis*. J Rheumatol, 2015. **42**(10): p. 1914-21.
512. Consolaro, A., et al., *Development and initial validation of composite parent- and child-centered disease assessment indices for juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2011. **63**(9): p. 1262-70.
513. Cerqueira, M., et al., *Relationship between clinical evaluation and ultrasound assessment of rheumatoid arthritis patients using a 12 joint score*. Int J Rheum Dis, 2017.
514. Cellerini, M., et al., *Correlation between clinical and ultrasound assessment of the knee in children with mono-articular or pauci-articular juvenile rheumatoid arthritis*. Pediatr Radiol, 1999. **29**(2): p. 117-23.

515. Pascoli, L., et al., *Prospective evaluation of clinical and ultrasound findings in ankle disease in juvenile idiopathic arthritis: importance of ankle ultrasound*. J Rheumatol, 2010. **37**(11): p. 2409-14.
516. El-Miedany, Y.M., et al., *Ultrasound versus MRI in the evaluation of juvenile idiopathic arthritis of the knee*. Joint Bone Spine, 2001. **68**(3): p. 222-30.
517. Sureda, D., et al., *Juvenile rheumatoid arthritis of the knee: evaluation with US*. Radiology, 1994. **190**(2): p. 403-6.
518. Mason, T., et al., *Frequency of abnormal hand and wrist radiographs at time of diagnosis of polyarticular juvenile rheumatoid arthritis*. J Rheumatol, 2002. **29**(10): p. 2214-8.
519. Rooney, M.E., C. McAllister, and J.F. Burns, *Ankle disease in juvenile idiopathic arthritis: ultrasound findings in clinically swollen ankles*. J Rheumatol, 2009. **36**(8): p. 1725-9.
520. Javadi, S., et al., *Wrist and ankle MRI of patients with juvenile idiopathic arthritis: identification of unsuspected multicompartamental tenosynovitis and arthritis*. AJR Am J Roentgenol, 2014. **202**(2): p. 413-7.
521. Lanni, S., et al., *Delineating the Application of Ultrasound in Detecting Synovial Abnormalities of the Subtalar Joint in Juvenile Idiopathic Arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2016. **68**(9): p. 1346-53.
522. Ellegaard, K., et al., *Ultrasound in finger joints: findings in normal subjects and pitfalls in the diagnosis of synovial disease*. Ultraschall Med, 2007. **28**(4): p. 401-8.
523. Padovano, I., et al., *Prevalence of ultrasound synovial inflammatory findings in healthy subjects*. Ann Rheum Dis, 2016. **75**(10): p. 1819-23.
524. Hulstaert, F., et al., *Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. II. Varying kinetics of percentage and absolute count measurements*. Clin Immunol Immunopathol, 1994. **70**(2): p. 152-8.
525. Sack, U., F. Gerling, and A. Tárnok, *Age-Related Lymphocyte Subset Changes in the Peripheral Blood of Healthy Children – a Meta-Study*. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2007. **34**(3): p. 176-181.
526. Osugi, Y., et al., *Age-related changes in surface antigens on peripheral lymphocytes of healthy children*. Clin Exp Immunol, 1995. **100**(3): p. 543-8.
527. Orson, F.M., et al., *Interleukin 2 receptor expression by T cells in human aging*. Cell Immunol, 1989. **124**(2): p. 278-91.
528. Sandoval-Montes, C. and L. Santos-Argumedo, *CD38 is expressed selectively during the activation of a subset of mature T cells with reduced proliferation but improved potential to produce cytokines*. J Leukoc Biol, 2005. **77**(4): p. 513-21.
529. Hijdra, D., et al., *Phenotypic characterization of human intermediate monocytes*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 339.
530. Frankenberger, M., et al., *Intermediate CD14⁺⁺CD16⁺ blood monocytes are elevated in preterm neonates*. European Respiratory Journal, 2014. **44**(Suppl 58).
531. Ren, X., et al., *Increase in Peripheral Blood Intermediate Monocytes is Associated with the Development of Recent-Onset Type 1 Diabetes Mellitus in Children*. Int J Biol Sci, 2017. **13**(2): p. 209-218.
532. Piatosa, B., et al., *B cell subsets in healthy children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood*. Cytometry B Clin Cytom, 2010. **78**(6): p. 372-81.
533. Berron-Ruiz, L., et al., *Variations of B cell subpopulations in peripheral blood of healthy Mexican population according to age: Relevance for diagnosis of primary immunodeficiencies*. Allergol Immunopathol (Madr), 2016. **44**(6): p. 571-579.
534. Morbach, H., et al., *Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood*. Clin Exp Immunol, 2010. **162**(2): p. 271-9.

535. Minira, B. and A. Aida, *Dissociation of T lymphocyte subpopulations in patients with juvenile idiopathic arthritis*. Pediatric Rheumatology Online Journal, 2014. **12**(Suppl 1): p. P210-P210.
536. Owen, J.A., et al., *Kuby immunology*. 7th ed. 2013, New York: W.H. Freeman.
537. Chiesa, S., et al., *Cytokine flexibility of early and differentiated memory T helper cells in juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2004. **31**(10): p. 2048-54.
538. Campbell, J.J., et al., *CCR7 expression and memory T cell diversity in humans*. J Immunol, 2001. **166**(2): p. 877-84.
539. Maldonado, A., et al., *Decreased effector memory CD45RA+ CD62L- CD8+ T cells and increased central memory CD45RA- CD62L+ CD8+ T cells in peripheral blood of rheumatoid arthritis patients*. Arthritis Res Ther, 2003. **5**(2): p. R91-6.
540. Carvalheiro, H., et al., *CD8+ T cell profiles in patients with rheumatoid arthritis and their relationship to disease activity*. Arthritis Rheumatol, 2015. **67**(2): p. 363-71.
541. Silverman, E.D., et al., *Synovial fluid cells in juvenile arthritis: evidence of selective T cell migration to inflamed tissue*. Clin Exp Immunol, 1993. **91**(1): p. 90-5.
542. Black, A.P., et al., *T-cell activation without proliferation in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Res, 2002. **4**(3): p. 177-83.
543. Stelmaszczyk-Emmel, A., et al., *Identification, frequency, activation and function of CD4+ CD25(high)FoxP3+ regulatory T cells in children with juvenile idiopathic arthritis*. Rheumatol Int, 2012. **32**(5): p. 1147-54.
544. Charles, E.D., et al., *Clonal B cells in patients with hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia contain an expanded anergic CD21low B-cell subset*. Blood, 2011. **117**(20): p. 5425-37.
545. Wehr, C., et al., *A new CD21low B cell population in the peripheral blood of patients with SLE*. Clin Immunol, 2004. **113**(2): p. 161-71.
546. Isnardi, I., et al., *Complement receptor 2/CD21- human naive B cells contain mostly autoreactive unresponsive clones*. Blood, 2010. **115**(24): p. 5026-36.
547. Claes, N., et al., *Age-Associated B Cells with Proinflammatory Characteristics Are Expanded in a Proportion of Multiple Sclerosis Patients*. J Immunol, 2016. **197**(12): p. 4576-4583.
548. Kaminski, D.A., et al., *Advances in human B cell phenotypic profiling*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 302.
549. Shiu, K.Y. and A. Dorling, *Optimising long-term graft survival: establishing the benefit of targeting B lymphocytes*. Clin Med (Lond), 2014. **14 Suppl 6**: p. s84-8.
550. Clatworthy, M.R., *B-cell regulation and its application to transplantation*. Transpl Int, 2014. **27**(2): p. 117-28.
551. Blue, M.L., et al., *Coexpression of T4 and T8 on peripheral blood T cells demonstrated by two-color fluorescence flow cytometry*. J Immunol, 1985. **134**(4): p. 2281-6.
552. Kitchen, S.G., et al., *CD4 on CD8(+) T cells directly enhances effector function and is a target for HIV infection*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(23): p. 8727-32.
553. Parel, Y. and C. Chizzolini, *CD4+ CD8+ double positive (DP) T cells in health and disease*. Autoimmun Rev, 2004. **3**(3): p. 215-20.
554. Kitchen, S.G., et al., *The CD4 molecule on CD8+ T lymphocytes directly enhances the immune response to viral and cellular antigens*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(10): p. 3794-9.
555. Laux, I., et al., *Response differences between human CD4(+) and CD8(+) T-cells during CD28 costimulation: implications for immune cell-based therapies and studies related to the expansion of double-positive T-cells during aging*. Clin Immunol, 2000. **96**(3): p. 187-97.
556. Zahran, A.M., et al., *Characterization of circulating CD4+ CD8+ double positive and CD4- CD8- double negative T-lymphocyte in children with beta-thalassemia major*. Int J Hematol, 2017. **105**(3): p. 265-271.
557. Nascimbeni, M., et al., *Peripheral CD4(+)CD8(+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions*. Blood, 2004. **104**(2): p. 478-86.

558. Regeczy, N., G. Gorog, and K. Paloczi, *Developing an expert system for immunophenotypical diagnosis in immunodeficiency. Age-related reference values of peripheral blood lymphocyte subpopulations in Hungary*. Immunol Lett, 2001. **77**(1): p. 47-54.
559. Kerr, W.G., L.M. Hendershot, and P.D. Burrows, *Regulation of IgM and IgD expression in human B-lineage cells*. J Immunol, 1991. **146**(10): p. 3314-21.
560. Seifert, M. and R. Kuppers, *Molecular footprints of a germinal center derivation of human IgM+(IgD+)CD27+ B cells and the dynamics of memory B cell generation*. J Exp Med, 2009. **206**(12): p. 2659-69.
561. Weill, J.C., S. Weller, and C.A. Reynaud, *Human marginal zone B cells*. Annu Rev Immunol, 2009. **27**: p. 267-85.
562. Maggi, L., et al., *Brief report: Etanercept inhibits the tumor necrosis factor alpha-driven shift of Th17 lymphocytes toward a nonclassic Th1 phenotype in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheumatol, 2014. **66**(5): p. 1372-7.
563. Aerts, N.E., et al., *Increased IL-17 production by peripheral T helper cells after tumour necrosis factor blockade in rheumatoid arthritis is accompanied by inhibition of migration-associated chemokine receptor expression*. Rheumatology (Oxford), 2010. **49**(12): p. 2264-72.
564. Ravelli, A., et al., *Antinuclear antibody-positive patients should be grouped as a separate category in the classification of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(1): p. 267-75.
565. van den Broek, T., et al., *Cytokine profiling at disease onset: support for classification of young antinuclear antibody-positive patients as a separate category of juvenile idiopathic arthritis*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(2): p. 470-2.
566. Llinares-Tello, F., et al., *Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of Infliximab and Adalimumab*. Clin Chem Lab Med, 2012. **50**(10): p. 1845-7.
567. Chen, D.Y., et al., *Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of Adalimumab and Etanercept treatment in rheumatoid arthritis*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(3): p. e16.
568. Guidi, L., D. Pugliese, and A. Armuzzi, *Update on the management of inflammatory bowel disease: specific role of Adalimumab*. Clin Exp Gastroenterol, 2011. **4**: p. 163-72.
569. van Schie, K.A., et al., *The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(1): p. 311-4.