

Departament de Medicina / Universitat Autònoma de Barcelona

Autor: Anna Moltó Revilla

Responsable de direcció: Dr. Xavier Tena i Marsà.

LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN LA ARTRITIS

REUMATOIDE:

¿FACTORES PREDICTORES DE INEFICACIA DEL TRATAMIENTO

CON ANTI-TNF α ?

Trabajo de investigación del Doctorado de Medicina. Junio 2010.

CERTIFICAT DEL DIRECTOR O CO-DIRECTOR DEL TREBALL DE RECERCA

Xavier Tena i Marsà, Professor Associat del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona,

FA CONSTAR,

que el treball titulat **LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN LA ARTRITIS REUMATOIDE: ¿FACTORES PREDICTORES DE INEFICACIA DEL TRATAMIENTO CON ANTI-TNF α ?** ha estat realitzat sota la meva direcció per la llicenciada ANNA MOLTÓ REVILLA, i es troba en condicions de poder ser presentat com a treball d'investigació de 12 crèdits, dins el programa de doctorat en Medicina Interna/Diagnòstic per la Imatge (curs 2009-2010), a la convocatòria de juny

Barcelona, divuit de juny de dos mil deu.

INDICE

1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS:	8
3.1. SUJETOS	8
3.1.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS SUJETOS:	8
3.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:	8
3.1.3. REPRESENTATIVIDAD	9
3.1.4. CONFIDENCIALIDAD	9
3.2. MEDICIONES Y VARIABLES	9
3.3. RECOGIDA DE DATOS.....	17
4. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS.....	17
4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
5. RESULTADOS:.....	17
6. DISCUSIÓN:.....	23
6. CONCLUSIONS:.....	25
7. BIBLIOGRAFÍA.....	26

1. RESUMEN

OBJETIVO: Determinar si la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) en pacientes con artritis reumatoide (AR) condiciona una peor respuesta al tratamiento con anti-TNF α .

DISEÑO: Estudio piloto observacional tipo cohorte retrospectiva. Se incluyeron 66 pacientes que cumplían los criterios de clasificación de la AR del American College of Rheumatology que iban a iniciar tratamiento con anti-TNF α y tenía una determinación basal de ANA. Se disponía de un índice de actividad DAS28 a los 0, 3 y 6 meses. La respuesta EULAR se definió en 3 categorías: buena, moderada y sin respuesta¹. Se recogieron otras variables secundarias (sexo, edad, duración de la enfermedad, factor reumatoide, anticuerpos antipéptidos citrulinados, erosiones óseas, tratamiento con glucocorticoides e inmunomoduladores previos).

RESULTADOS: Se incluyeron 66 pacientes: 37 (56,06%) eran ANA frente a 29 ANA negativos (44%). Fármacos anti-TNF α : 17 infliximab (26%), 22 adalimumab (33%) y 27 etanercept (41%).

Se realizó un análisis univariante mediante ji-cuadrado de las frecuencias de buena, moderada y sin respuesta en los pacientes ANA negativos y ANA positivos a los 3 y 6 meses. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las categorías de respuesta entre ambos grupos a los 3 meses de tratamiento biológico ($p=0,61$). Se observó sin embargo una tendencia a los 6 meses de tratamiento de los pacientes ANA negativos a presentar una buena respuesta y en los pacientes ANA positivos a no presentar respuesta (19% en los ANA positivos frente a 11% en los ANA negativos), sin poder establecer diferencias estadísticamente significativas ($p=0,081$).

La diferencia de los pacientes sin respuesta EULAR a los 6 meses de tratamiento anti-TNF α en los ANA positivos frente a los ANA negativos fue del 8% (19% frente a 11%, respectivamente). El tamaño muestral necesario para poder establecer diferencias estadísticamente significativas es de 167.

CONCLUSIÓN: Pese a no haber podido establecer diferencias estadísticamente significativas entre la respuesta EULAR al tratamiento biológico en los pacientes ANA positivos y los pacientes ANA negativos, sí se ha podido observar una tendencia a la falta de respuesta a los 6 meses en los pacientes ANA positivos.

2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha demostrado que el tratamiento precoz de la artritis reumatoide (AR) con fármacos inmunomoduladores ofrece mayores posibilidades de modificar el curso de la enfermedad para mejorar su pronóstico. Por ello, un diagnóstico precoz y un tratamiento intensivo que permita alcanzar los mayores beneficios en el menor tiempo posible constituyen actualmente principios básicos del tratamiento de la AR.

La eficacia de los antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa (anti-TNF α) está bien establecida tanto en AR resistentes a los inmunomoduladores convencionales (metotrexato, leflunomida, etc.) como en algunos casos de inicio reciente.

No obstante, existe un porcentaje no despreciable, de hasta un 30% de pacientes que parecen no presentar respuesta a estos fármacos², y en este sentido, se están desarrollando estudios para intentar establecer si existen factores predictores de mala respuesta a estos tratamientos. Los anti-TNF α son fármacos muy eficaces, pero conllevan ciertos efectos secundarios potencialmente graves (infecciones, neoplasias), por lo que parece crucial acotar al máximo una población diana para este tipo de tratamiento y seleccionar a los pacientes que más se beneficiarán de estos fármacos.

Hasta ahora los factores relacionados con una peor respuesta al tratamiento son: un alto índice de actividad de la enfermedad al inicio del tratamiento, una importante impotencia funcional evaluada por el cuestionario HAQ, y el tabaquismo.

Existe una impresión clínica de que los pacientes con AR y anticuerpos antinucleares (ANA) a títulos altos presentan una enfermedad más agresiva, pero sin poder establecerse hasta ahora una relación causal. Asimismo parecen presentar también una peor respuesta al tratamiento con agentes biológicos tipo

anti-TNF α . Una de las hipótesis formuladas es que se trataría de una enfermedad más inmunogénica, con más capacidad de generar anticuerpos contra los agentes biológicos.

No obstante, hasta ahora, no se ha establecido si existe realmente una relación entre la presencia de títulos altos de ANA previos al inicio de tratamiento con anti-TNF α en pacientes con AR y la respuesta al tratamiento y, en caso de existir, si ésta constituiría efectivamente un factor predictor de peor respuesta.

3. OBJETIVO:

El objetivo del estudio fue intentar establecer si la presencia de ANA positivos al inicio del tratamiento con anti-TNF α en los pacientes era un factor predictor de mala respuesta a éste.

4. PACIENTES Y MÉTODOS:

4.1. Diseño del estudio:

Estudio observacional tipo cohorte retrospectiva de pacientes con AR que iban a iniciar tratamiento con anti-TNF α durante un periodo de observación de 6 meses.

4.2. Sujetos

Los sujetos fueron seleccionados en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, hospital universitario de tercer nivel con una población de referencia de 800.000 habitantes.

4.2.1. Criterios de selección:

Se incluyeron aquellos pacientes que cumplían en el momento de la selección o habían cumplido en algún momento los criterios de clasificación de la AR del American College of Rheumatology de 1987³ que iban a ser tratados por primera vez con agentes anti-TNF α (infliximab o etanercept o adalimumab) y que tuvieran una determinación basal de ANA antes del inicio del tratamiento biológico.

Los pacientes incluidos no precisaban encontrarse en ningún momento preestablecido de su enfermedad (reciente comienzo, avanzada, remisión)..

4.2.2. Criterios de exclusión:

Fueron excluidos aquellos pacientes que habían recibido previamente un tratamiento con anti-TNF α y aquéllos en los que no se hubieran determinado lo ANA en algun momento previo al inicio del tratamiento con anti-TNF α

4.2.3. Representatividad

A pesar de limitarse a una población seleccionada de pacientes visitados en la consulta de Reumatología de un hospital de tercer nivel con una población de referencia de 800.000 habitantes, esto no debe suponer ningún sesgo pues nuestro objetivo es evaluar la respuesta al tratamiento de pacientes con AR que precisa de tratamiento biológico, enfermos que generalmente son seguidos en consultas hospitalarias.

4.2.4. Confidencialidad.

Los datos fueron tratados de forma confidencial en todo momento. El fichero con los datos identificativos de todos los pacientes con AR fue y es responsabilidad del investigador principal y sólo fue utilizado para comprobar la existencia de duplicados entre listados de pacientes.

4.3. Mediciones y variables

4.3.1. Variable principal

4.3.1.a Respuesta al tratamiento:

Basados en los criterios de respuesta de la European League against Rheumatism (EULAR)¹ usando el índice de actividad DAS28, que combina diferente información clínica en un único índice con el que puede clasificarse a los pacientes en diferentes categorías.

La creación del DAS se remonta a 1985, cuando van der Heijde DMFM et al presentaron una clasificación de sus enfermos de AR en alta y baja actividad⁴. El DAS original incluía el índice articular de Ritchie, el recuento de 44 articulaciones, la velocidad de sedimentación globular (VSG) y una evaluación general de salud evaluada mediante escala visual analógica (EVA). Posteriormente se validó que el

recuento en 28 articulaciones (dolorosas y tumefactas) permitía establecer el grado de actividad con la misma fiabilidad que con 44, tras lo que nació el DAS-28.⁵

La fórmula para calcular el DAS-28 es la siguiente:

$$\text{DAS28} = 0.56 * \sqrt{(\text{art dolorosas}/28)} + 0.28 * \sqrt{(\text{art tumefactas}/28)} + 0.70 * \ln(\text{VSG}) + 0.014 * \text{EVA}$$

Comparando el DAS-28 de un paciente en 2 momentos de la evolución de la enfermedad, es posible definir el grado de respuesta o mejoría, según se observa en la tabla 1

		DIFERENCIA DEL DAS-28		
		>1.2	1.2 - 0.6	<0.6
DAS-28 ACTUAL	<3.2	Buena respuesta		
	3.2 - 5.1		Respuesta moderada	Sin respuesta
	>5.1			

Tabla 1. Criterios EULAR de respuesta.

Definimos la respuesta al tratamiento como la diferencia entre el DAS-28 basal y del DAS-28 medidos a los 3 y 6 meses, y se clasificaron a los pacientes en 3 grupos: Respuesta buena, moderada o nula. Un buen respondedor debe demostrar una mejoría en el DAS-28 de al menos 1,2 puntos y conseguir una puntuación absoluta menor de 3,2. Consideraremos una respuesta nula aquella con una disminución del DAS-28 menor de 0,6 o tener un DAS-28 final mayor de 5,1. Los respondedores moderados son el resto. Aquellos que hubiesen interrumpido su tratamiento antes de los 3 meses, por cualquier razón, se consideraron como no respondedores.

4.3.2. Variables secundarias

Anticuerpos antinucleares: Los ANA se encuentran en el suero de muchos pacientes con enfermedades autoinmunes, y hasta en un 25% de los pacientes con AR. Se recogieron las determinaciones de ANA iniciales en los pacientes que cumplían los criterios de inclusión. Definimos como ANA positivos aquellos individuos con títulos igual o superiores a 1/40 por inmunofluorescencia indirecta según el Servicio de Inmunología del Hospital Germans Trias i Pujol.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI). En 1957 Friou et al. describieron el uso de la inmunofluorescencia indirecta para demostrar que en el suero de los pacientes con lupus había inmunoglobulinas que se unían al núcleo de las células. Esta prueba para la demostración de los ANA ha sido desde entonces el patrón con el que se han comparado las demás tecnologías y el método de elección en la búsqueda inicial de autoanticuerpos en las enfermedades autoinmunes. Mediante la inmunofluorescencia los autoanticuerpos pueden dar lugar a una tinción nuclear (antinucleares) o citoplásmica (anticitoplasmáticos). Esta técnica es más sensible, reproducible y fácil de realizar en la mayoría de los laboratorios. Generalmente se usa como un primer ensayo de exclusión para la detección de los ANA. Consiste en incubar el suero diluido de los pacientes con un sustrato adecuado (fijado previamente a un portaobjetos), de modo que se pueda formar el complejo entre el antígeno nuclear y el anticuerpo del paciente. El exceso de suero se elimina después de la incubación por lavados sucesivos en tampón fosfato-salino pH 7,2. En una segunda incubación, el complejo inicial reacciona con un antisuero anti-inmunoglobulinas humanas (polivalente específico anti-IgG, IgA o IgM), conjugado con fluoresceína. El antisuero que no ha reaccionado se elimina, de modo similar al anterior, por lavados sucesivos en tampón. Cuando se observa en el microscopio de fluorescencia, la tinción específica de estructuras nucleares o citoplásmicas puede visualizarse como fluorescencia verde-manzana cuando se utiliza

isotiocianato de fluoresceína o roja cuando el fluorocromo es isotiocianato de tetrametilrodamina.

Las discrepancias, que con bastante frecuencia se encuentran entre los resultados obtenidos por este método, se deben a múltiples factores (modo de fijación de los sustratos, tipo de microscopio, etc.), pero entre todos, el más importante es la gran diversidad de fuente nucleares que los distintos laboratorios emplea. Pueden usarse una gran variedad de sustratos que incluyen secciones de tejido de hígado riñón de rata o ratón, riñón humano, etc. En actualidad se tiende a utilizar líneas de cultivos celulares; las más usadas son células epiteliales HEp-2 (derivadas de carcinoma humano de laringe), que serán las utilizadas en este estudio. Estos sustratos celulares se utilizan cada vez más por tener, sobre los cortes de tejidos, una serie de ventajas muy importantes. Las células en cultivo poseen núcleos y nucléolos mayores que los expuestos en los tejidos, lo que implica una mayor sensibilidad en la detección de cantidades pequeñas de anticuerpos y una mayor comodidad a la hora de la observación al microscopio.

Las líneas celulares de origen humano poseen cantidades detectables de ciertos antígenos como el SSA o Ro, que están ausentes o pobremente expresados en el hígado o riñón de rata. Por ello, el empleo de éstos sustratos ha permitido detectar la presencia de ANA en un número de sueros (sobre todo de lupus) los cuales, ensayados previamente sobre tejidos rata, eran considerados como "ANA negativos"

Un suero que contiene ANA permite observar los núcleos del sustrato, los cuales aparecen con distintas imágenes o patrones de fluorescencia dependiendo, en parte, de la especificidad de los Ac presentes en el suero. Es importante señalar que la mayoría de los patrones de IFI ni son específicos de ningún tipo de autoanticuerpo ni tienen valor diagnóstico de enfermedad. Sólo indican la

presencia de autoanticuerpos en pacientes con enfermedades autoinmunes y esa presencia debe ser identificada.

Aunque ciertas especificidades de anticuerpos se ha correlacionado con patrones reproducibles, es evidente que muchos otros factores pueden influir en una determinada tinción de fluorescencia. Por una parte unos patrones pueden enmascarar a otros y por otra, anticuerpos frente a antígenos diferentes pueden producir patrones similares. Por lo tanto, es muy difícil asegurar una especificidad antigénica concreta con la sola observación de un patrón.

A la hora de interpretar los resultados positivos es necesario tener en cuenta que personas normales y pacientes con alguna otra enfermedad no reumática - hepatopatías, neoplasias, o infecciones agudas como tuberculosis, malaria, y endocarditis bacteriana- pueden presentar patrones similares. Se encuentran a títulos más bajos que los detectados en las enfermedades autoinmunes y frecuentemente preceden durante algunos años al comienzo de la enfermedad en individuos normales y asintomáticos. El valor diagnóstico de los auto-anticuerpos depende fundamentalmente en la presentación clínica del paciente y será considerada cuidadosamente en el contexto de la información clínica.

4.3.3. Variables de confusión

Factor reumatoide (FR): Se trata de un autoanticuerpo dirigido contra la fracción Fc de la IgG. Suele ser del isotipo IgM, aunque también pueden aparecer isotipos IgG e IgA. En la actualidad se suele determinar por nefelometría aunque para algunos isotipos es preciso emplear técnicas de ELISA. El isotipo IgM es característico de la AR y se detecta en el 40-80% de los casos, según el diagnóstico sea hospitalario o extrahospitalario. Su presencia en un paciente con poliartritis hace muy probable el diagnóstico de AR pero su ausencia no lo excluye. Puede aparecer años antes de que se presenten los síntomas de la artritis o con menos frecuencia después y

puede desaparecer en respuesta al tratamiento. Aparece en el 50% de los casos de reumatismo palindrómico (episodios recurrentes de inflamación mono u oligoarticular, que aparecen a intervalos que oscilan entre semanas y meses). En estos casos su presencia aumenta la probabilidad de evolución a AR.

También puede aparecer en personas mayores sanas pero a títulos bajos, y en pacientes con otras enfermedades como el lupus, síndrome de Sjögren, cirrosis biliar primaria, infecciones crónicas y neoplasias.

Su utilidad diagnóstica varía en función de que la prueba se realice en personas con síntomas compatibles con la enfermedad o sin ellos. En pacientes con artritis diagnosticada en el ámbito hospitalario, los valores predictivos positivo y negativo son de 70-80% y más del 95%, respectivamente⁶. Además del valor diagnóstico, tiene valor pronóstico ya que se asocia a enfermedad más grave, con más extensión del compromiso articular, mayor destrucción y mayor discapacidad⁷.

En este estudio se definieron como seropositivos aquellos pacientes con FR a títulos superiores a 40 UI/mL determinados por nefelometría por el Servicio de Inmunología del Hospital Germans Trias i Pujol . Para considerar una AR como seropositiva, es necesaria una sola determinación del FR positiva, mientras que para considerarla seronegativa, se debe comprobar la existencia de al menos dos determinaciones negativas.

Anticuerpos anti-péptidos citrulinados: La citrulina es una modificación post-translacional de la arginina, producida por el enzima peptidoarginildeaminasa. Desde hace décadas, los anticuerpos se han detectado en el suero de los pacientes con AR en diferentes formas, como el factor antiperinuclear o los anticuerpos antiqueratina. En la actualidad se usan péptidos sintéticos citrulinados como sustrato de ELISA, lo que mejora notablemente la sensibilidad de la técnica y permite su cuantificación.

Tienen una sensibilidad para el diagnóstico de la AR similar a la del FR pero mayor especificidad (95%) y sólo aparecen en el 1-3% de las personas sana⁸ por lo que para algunos autores su utilidad es superior a la del FR. El hecho de que alrededor del 40% de los pacientes con AR y FR negativo tengan estos anticuerpos positivos aumenta su valor diagnóstico⁹. Al igual que el FR, pueden preceder a la aparición de la enfermedad durante varios años y su presencia se relaciona con la gravedad. También aparece en el 50% de los casos de reumatismo palindrómico, y al igual que el FR, constituyen un factor pronóstico de evolución hacia la AR.

En nuestro estudio se definieron como positivos títulos superiores a 20 UI/mL, realizados por técnica ELISA por el Servicio de Inmunología del Hospital Germans Trias i Pujol (LiRAD).

Duración de la enfermedad: Para conocerla se recogieron la fecha, lo más aproximada posible del inicio de los síntomas y la fecha del diagnóstico.

Presencia de erosiones óseas: Alrededor del 70% de los enfermos de AR presenta erosiones en las manos o en los pies al final de los dos o tres primeros años¹⁰. Su presencia y la rapidez con la que aparecen se asocian a un or pronóstico. Las alteraciones radiológicas tienen una clara relación con la persistencia de la actividad inflamatoria, mayor al principio de la enfermedad, y una relación moderada con la discapacidad física, que aumenta con el tiempo. Actualmente está demostrada la capacidad de detección de cambios radiográficos en grupos de enfermos en periodos de tan sólo 6 meses¹¹.

Se han descrito numerosos métodos para cuantificar las alteraciones radiológicas articulares. Casi todos se basan en la lectura de radiografías de las manos, aunque algunos autores han destacado la importancia de incluir la evaluación sistemática de los pies. Todos ellos ofrecen buenos resultados pero tienen el inconveniente de precisar mucho tiempo para su aplicación, por lo que parecen reservados a la

investigación. La realización de radiografías de ambas manos y pies se justifica por la aparición asimétrica de erosiones (derecha o izquierda) y por la observación de que en los primeros 2-3 años de la enfermedad las erosiones pueden aparecer sólo en los pies, sin síntomas clínicos, hasta en un 23-36% de los pacientes¹².

Por otra parte, la resonancia magnética (RM) ha demostrado ser más sensible que el examen físico y la radiografía convencional para la detección de cambios articulares inflamatorios y destructivos en la AR temprana. También ha demostrado una mayor sensibilidad que la exploración física en la detección de artritis. La aparición de edema óseo articular se relaciona con la inflamación y con la aparición posterior de erosiones¹³.

En pacientes con AR temprana de 6 meses de evolución, la RM permite visualizar erosiones óseas de forma precoz en un porcentaje moderado-alto, comparada con la radiografía, por lo que es una técnica recomendable en el pronóstico de AR.

Dado que se trata de un estudio retrospectivo y que los datos han sido recogidos de la historia clínica, definimos como artritis reumatoide erosiva aquella en la que de forma cualitativa se hubiese objetivado la presencia de erosiones óseas en manos o pies en una radiografía simple o en la RM.

Tratamiento coadyuvante: La recogida de datos referentes al tratamiento ha sido lo más exhaustiva posible, vía de administración,

Se ha recogido al menos la utilización o no de los siguientes tratamientos:

1. *Glucocorticoides*, especificando si ha estado al menos tres meses en tratamiento continuo y, en caso afirmativo, la duración aproximada del mismo.
2. *Fármacos modificadores de enfermedad no biológicos*: metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, hidroxicloroquina, cloroquina, sales de oro, azatioprina, ciclosporina, ciclofosfamida, D-penicilamina, indicando cuando fue posible, la dosis, vía de administración, las fechas de inicio y terminación.

Edad: La del momento de la recogida de datos. Para ello se recogieron la fecha de nacimiento del paciente y la fecha de registro de datos.

Sexo: se recogió a partir de las historias clínicas.

4.4. Recogida de datos

La información de cada paciente ha sido recogida por una misma persona a través de la revisión de las historias clínicas y registrada en una base de datos informatizada.

5. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

5.1. Análisis estadístico

Se han realizado los siguientes análisis estadísticos mediante los paquetes estadísticos Stata¹⁴. y SPSS¹⁵:

1. Para responder al objetivo principal se han realizado pruebas t-Student para cuantificar la asociación entre un resultado positivo de ANA y una peor respuesta al tratamiento con aTNF.
2. Se ha estudiado la posible asociación de las variables de confusión y ANA positivo o negativo al tratamiento con aTNF mediante t-Student. y ji-cuadrado.

6. RESULTADOS:

Finalmente se incluyeron 66 pacientes (53 mujeres y 13 hombres), con una media de edad de 54 años (± 16 años), y una duración media de la enfermedad de 11 años (± 6 años). (ver tabla 2) Las erosiones óseas se observaron en un 71,64% de los pacientes. De estos 66 pacientes, 37 (56%) eran ANA positivos al inicio del tratamiento frente a 29 ANA negativos (44%). En cuanto a las características analíticas, un 89,4% de los pacientes eran seropositivos para FR con un valor medio de 266,3 UI/mL ($\pm 323,80$ UI/mL) y un 74,2% tenían anticuerpos antipéptidos citrulinados con una titulación media de 436,47 UI/mL (DE $\pm 1229,5$ UI/mL).

TABLA 2. Características demográficas	(n=66) n (%)
Sexo	
Mujeres	53 (80,30%)
Hombres	13 (19,70%)
Edad	54 (± 16) años
Duración de la enfermedad	11 (± 6) años
ANA	
Positivos	37 (56,06%)
Negativos	29 (43,39%)
Títulos: (n=35)	
1/40	1 (3,23%)
1/80	9 (29,03%)
1/160	5 (16,13%)
1/320	13 (41,94%)
1/640	6 (19,36%)
1/1280	1 (3,23%)
FR	
Positivo	59 (89,39%)
Negativo	7 (10,61%)
Títulos	266,37 ($\pm 324,80$) UI/mL
Anticuerpos antipéptidos citrulinados	
Positivos	49 (74,24%)
Negativos	17 (25,76%)
Títulos	463,47 ($\pm 1229,05$) UI/mL.
Erosiones óseas	48 (72,73%)
Glucocorticoides (> 3 meses)	47 (71,21%)
Fármacos inmunomoduladores	
Metotrexato	65 (98,48%)
Leflunomida	31 (46,97%)
Cloroquina	18 (27,27%)
Hidroxicloroquina	15 (22,73%)
Tacrolimus	1 (1,52%)
Salazopyrina	4 (6,06%)
Ciclosporina	3 (4,54%)
D-penicilamina	3 (4,54%)
Sales de oro	21 (31,82%)
Anakinra	8 (12,12%)
DAS 28 basal	4,81 ($\pm 1,32$)

En cuanto al tratamiento, un 71,2% de los pacientes había recibido tratamiento con glucocorticoides durante al menos 3 meses en algún momento de su enfermedad, y todos ellos habían recibido o estaban recibiendo un inmunomodulador en el momento de la recogida de datos. Entre éstos, el Metotrexate fue el más frecuentemente usado (98,5% de los pacientes), seguido por Leflunomida (46,97%) y las sales de oro (31,82%). (ver gráfico 1)

IMMUNOMODULADORES PREVIOS

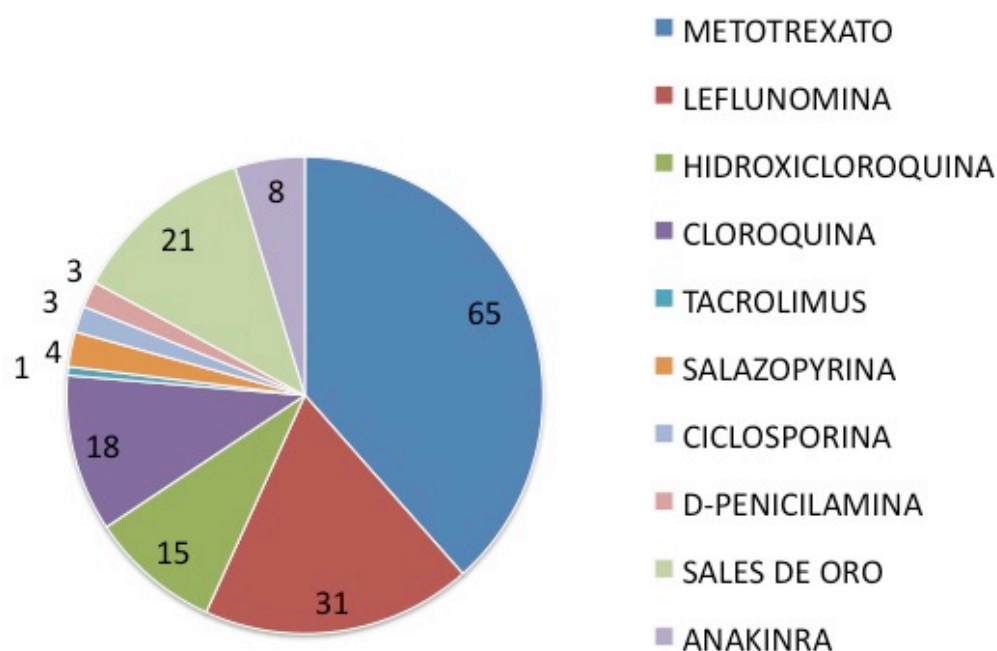


Gráfico 1: Farmacos Inmunomoduladores previos

Se incluyeron pacientes que iban a recibir los tres anti-TNF α disponibles: 17 fueron tratados con infliximab (25,8%), 22 con adalimumab (33,3%) y 27 con etanercept (41%). (gráfico 2)

TRATAMIENTO ANTI-TNF

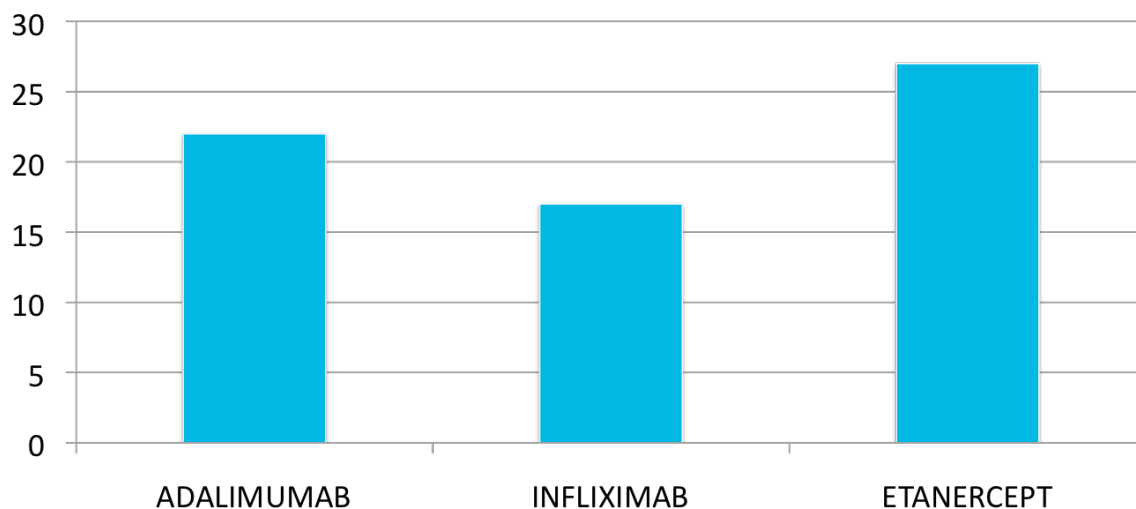


Gráfico 2: Tratamiento con anti-TNF α

Se recogió la medida del DAS28 en estos pacientes en 3 momentos concretos: antes de iniciar el tratamiento biológico, y a los 3 y 6 meses una vez iniciado. La media del DAS-28 al inicio del tratamiento fue de 4,81 ($\pm 1,32$).

La medición del DAS-28 a los 3 meses permitió clasificar a los pacientes ANA-negativos y ANA-positivos en cada una de las 3 categorías definidas de respuesta al tratamiento (se excluyó un paciente del que no se disponía de medición del DAS28 a los 3 meses). Entre los pacientes ANA-negativos, un 48,15% presentó una buena respuesta, un 33,33% una respuesta moderada y un 18,52% no respondió al tratamiento. Entre los ANA-positivos, un 41,67% presentó buena respuesta al tratamiento, un 30,56% una respuesta moderada y un 27,78% no respondió. (ver tabla 2.)

	ANA	
Respuesta EULAR	Negativos	Positivos
BUENA	13 (48,15%)	15 (41,67%)
MODERADA	9 (33,33%)	11 (30,56%)
NO RESPUESTA	5 (18,52%)	10 (27,78%)

($p=0,691$)

Tabla 2. Respuesta EULAR a los 3 meses

Se realizó un análisis univariante mediante ji-cuadrado de las frecuencias de buena, moderada y sin respuesta en los pacientes ANA negativos y ANA positivos a los 3 meses. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tres categorías de respuesta entre ambos grupos a los tres meses de tratamiento biológico ($p=0,61$).

La medición del DAS28 a los 6 meses permitió también clasificar a los pacientes ANA-negativos y ANA-positivos en cada una de las 3 categorías definidas de respuesta al tratamiento: entre los primeros, un 48,15% presentó una buena respuesta, un 40,74% una respuesta moderada y un 11,11% no presentó respuesta. Entre los segundos un 32,62% presentó buena respuesta al tratamiento, un 59,46% una respuesta moderada y un 18,92% no respondió. (ver tabla 3.)

Respuesta EULAR	ANA	
	Negativos	Positivos
BUENA	13 (48,15%)	8 (21,62%)
MODERADA	11 (40,74%)	22 (59,46%)
NO RESPUESTA	3(11,11%)	7(18,92%)

($p=0,081$)

Tabla 2. Respuesta EULAR a los 6 meses

Se realizó un análisis univariante mediante ji-cuadrado de las frecuencias de buena, moderada y sin respuesta en los pacientes ANA negativos y ANA positivos a los 6 meses. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tres categorías de respuesta entre ambos grupos a los seis meses de tratamiento biológico. Sin embargo, se observó una tendencia a los 6 meses de tratamiento de los pacientes ANA negativos a presentar una buena respuesta (48,15% en los ANA negativos frente a 21,62% en los ANA positivos) y en los pacientes ANA positivos a no presentar respuesta (18,92% en los ANA positivos frente a 11,11% en los ANA negativos), sin poder establecer no obstante diferencias estadísticamente significativas ($p=0,081$).

En el grupo ANA-positivo se realizó un subanálisis con las diferentes variables demográficas, de laboratorio y de tratamiento para intentar establecer si éstas, asociadas al hecho de ser ANA positivo condicionaban respuesta EULAR a los 6 meses. Para ello se realizó un análisis univariante mediante ji-cuadrado para las variables categóricas (sexo, presencia de factor reumatoide, presencia de anticuerpos antipéptidos citrulinados, tratamiento con glucocorticoides e inmunomoduladores) y pruebas de t-Student para variables continuas (edad, y

duración de la enfermedad). No se pudieron establecer diferencias estadísticamente significativas.

7. DISCUSIÓN:

El tratamiento con fármacos anti- α se ha demostrado altamente eficaz en un gran número de pacientes con AR, pero existe un porcentaje no despreciable de pacientes no respondedores. En este sentido y dada la creciente oferta de fármacos biológicos y el coste que éstos suponen, urge el encontrar factores predictores de no respuesta.

Si bien el mecanismo fisiopatológico que explique la falta de respuesta no está claro, el reconocer parámetros clínicos y analíticos que permitan predecirla es esencial hasta que se llegue a dilucidar dichos mecanismos

En este sentido se han llevado a cabo numerosos estudios para intentar establecer qué parámetros clínicos (HAQ inicial), analíticos (proteína C reactiva, anticuerpos antipéptidos citrulinados)^{16,17} y hasta genéticos¹⁸ son capaces de predecir la respuesta de un determinado individuo a un determinado tratamiento. Nuestra hipótesis de estudio fue que la presencia de ANA en la artritis reumatoide constituía un factor predictor de mala respuesta al tratamiento con anti-TNF α .

Sólo se han realizado escasos estudios sobre la prevalencia de los ANA en la AR: un estudio japonés demostró una prevalencia de ANA en el 35% de los pacientes, principalmente en aquéllos con enfermedad de larga evolución, sin que se hallase relación alguna entre los ANA y el tratamiento con inmunomoduladores^{19,20}. Paulus et al demostraron en su serie una prevalencia de ANA positivos en la AR de inicio de hasta un 41%, y observaron títulos más elevados de FR en el grupo de ANA positivos²¹. Por otra parte, algunos autores han observado una mayor prevalencia de ANA positivos en la AR nodular, así como mayor prevalencia de FR.

En nuestra serie de pacientes (N=66), un 56,06% eran ANA positivos, con una prevalencia de FR positivo en ambos grupos del 89%, valores ligeramente superiores a las series publicadas; a diferencia de éstas, en nuestra serie, la presencia de FR positivo era muy similar en ambos grupos: del 89,65% en los ANA-negativos frente al 89,20% en los ANA-positivos.

Para evaluar la respuesta al tratamiento con anti-TNF α tomamos como medida de desenlace la respuesta EULAR a los 3 y 6 meses en ambos grupos. A los 3 meses de tratamiento se observó una buena respuesta al tratamiento en ambos grupos (48,15% en los ANA-negativo frente a un 41,67% en los ANA-positivo), sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,691$). De hecho, al reagrupar las tres categorías de respuesta en dos a los 3 meses de tratamiento (es decir, buena y moderada frente a no respuesta), los pacientes ANA-positivos presentaban una menor tasa de respuesta (del 72,22%) que los ANA-negativos (81,48%). Tampoco pudieron establecerse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,393$).

A los 6 meses de tratamiento se observaron diferencias de distribución en las distintas categorías de respuesta entre los pacientes ANA-negativos y los pacientes ANA-positivos: un 48% de los primeros se clasificaron como buenos respondedores, frente a un 21,62% de los segundos; pese a no poder establecer diferencias estadísticamente significativas ($p=0,081$), se puede observar una tendencia a responder mejor entre los pacientes ANA-negativos. En este sentido, a los 6 meses de tratamiento se observó en el grupo ANA negativo una falta de respuesta del 11,11% frente al 18,92% en los pacientes ANA-positivos. Al reagrupar las categorías de la variable respuesta EULAR a los 6 meses en pacientes respondedores o no, los pacientes ANA-positivos presentaban una tasa de respuesta del 81,08%, frente al 88,89% en los ANA-negativos, sin poder establecer tampoco diferencias estadísticamente significativas ($p=0,396$).

Probablemente la falta de significación estadística sea debida al pequeño tamaño muestral, la principal limitación del estudio. No obstante puede considerarse que se trata de un estudio piloto para calcular el tamaño de la muestra necesario para poder establecer diferencias estadísticamente significativas

En la predeterminación inicial del tamaño de la muestra, se partió de una asunción de falta de respuesta en los pacientes ANA-positivos del 50% frente al 30% en los ANA-negativos. Parece ser que la realidad no es así, sino que la tasa de no respondedores entre los ANA-positivos es del 19% mientras que entre los ANA-negativos es del 11%. Con esta diferencia de porcentajes el tamaño muestral necesario para poder establecer diferencias estadísticamente significativas sería de 167 pacientes ($\alpha = 0,05$ -bilateral y $\beta = 0,20$).

6. CONCLUSIONES:

En este estudio no hemos podido demostrar que la presencia de ANA en los pacientes con AR al inicio del tratamiento con anti-TNF α condicione una peor respuesta a los 3 meses puesto que tanto los pacientes ANA-positivos como los negativos presentaban cifras alrededor del 50% de buena respuesta. No obstante se ha podido observar una tendencia no significativa en el grupo de pacientes ANA-negativos a presentar buena respuesta a los 6 meses de tratamiento. Dado que todo ello probablemente se deba al pequeño tamaño de la muestra, el estudio ha permitido estimar las diferencias de respuesta esperables y con ello calcular el tamaño de la muestra necesario para un futuro estudio prospectivo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1 van Gestel AM, Prevoo ML, van't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996;39:34–40.
- 2 Koczan D, Drynda S, Hecker M, Drynda A, Guthke R, Kekow J, Thiesen HJ. Molecular discrimination of responders and non-responders to anti-TNF alpha therapy in rheumatoid arthritis by etanercept. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:50.
- 3 Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
- 4 Judging disease activity in clinical practice in rheumatoid arthritis. First step in the development of a 'disease activity score'. van der Heijde DMFM, van 't Hof MA, van Riel PLCM, Theunisse HAM, Lubberts EW, van Leeuwen MA, van Rijswijk MH, van de Putte LBA *Ann Rheum Dis* 1990; 49:916-920 40
- 5 Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. *Arthritis Rheum* 1995 Jan;38(1):44-8
- 6 Wolfe F. A comparison of IgM rheumatoid factor by nephelometry and latex methods: clinical and laboratory significance. *Arthritis Care Res*. 1998;11:89-93.
- 7 Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2000 ;39:24-9.
- 8 Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. Use and significance of anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2006;45:20-5.
- 9 Quinn MA, Gough AK, Green MJ, Devlin J, Hensor EM, Greenstein A, et al. Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology*. 2006;45:478-80.
- 10 Hulsmans HM, Jacobs JW, van der Heijde DM, van Albada-Kuipers GA, Schenk Y, Bijlsma JW. The course of radiologic damage during the first six years of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1927-40.

-
- 11 Sharp JT, Strand V, Leung H, Hurley F, Loew-Friedrich I. Treatment with leflunomide slows radiographic progression of rheumatoid arthritis: results from three randomized controlled trials of leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arthritis Rheum.* 2000;43:495-505. Erratum in: *Arthritis Rheum* 2000 Jun;43(6):1345.
 - 12 Van Der Heijde D, Boonen A, Boers M, Kostense P, van Der Linden S Reading radiographs in chronological order, in pairs or as single films has important implications for the discriminative power of rheumatoid arthritis clinical trials. *Rheumatology.* 1999;38:1213-20.
 - 13 Scheel AK, Hermann KG, Ohrndorf S, Werner C, Schirmer C, Detert J, et al. Prospective 7 year follow up imaging study comparing radiography, ultrasonography, and magnetic resonance imaging in rheumatoid arthritis finger joints. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:595-600.
 - 14 StataCorp. 1997. *Stata Statistical Software*: Release 5.0. College Station, TX: Stata Corporation.
 - 15 SPSS. Statistical Package for the Social Sciences for Windows. Release 7.5.1. SPSS Inc., 1989-1996.
 - 16 Buch MH, Seto Y, Bingham SJ, Bejarano V, Bryer D, White J, et al. C-reactive protein as a predictor of infliximab treatment outcome in patients with rheumatoid arthritis: defining subtypes of nonresponse and subsequent response to etanercept. *Arthritis Rheum.* 2005 Jan;52(1):42-8.
 - 17 Braun-Moscovici Y, Markovits D, Zinder O, Schapira D, Rozin A, Ehrenburg M, et al. Anti-cyclic citrullinated protein antibodies as a predictor of response to anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2006 Mar;33(3):497-500.
 - 18 Suarez-Gestal M, Perez-Pampin E, Calaza M, Gomez-Reino J, Gonzalez A. Lack of replication of genetic predictors for the rheumatoid arthritis response to anti-TNF treatments: a prospective case-only study. *Arthritis Res Ther.* 2010, 12:R72
 - 19 Nishimura S, Nishiya K, Hisakawa N, Chikazawa H, Ookubo S, Nakatani K, et al. Positivity for antinuclear antibody in patients with advanced rheumatoid arthritis. *Acta Med Okayama* 1996;50:261-5.
 - 20 Shin YS, Choi JH, Nahm DH, Park HS, Cho JH, Suh CH. Rheumatoid factor is a marker of disease severity in Korean rheumatoid arthritis. *Yonsei Med J.* 2005 Aug 31;46(4):464-70.
 - 21 Paulus HE, Wiesner J, Bulpitt KJ, Patnaik M, Law J, Park GS, et al. Autoantibodies in early seropositive rheumatoid arthritis, before and during disease modifying antirheumatic drug treatment. *J Rheumatol.* 2002 Dec;29(12):2513-20.