



GRUPO ESPAÑOL DE TRABAJO
EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

Enfermedad Inflamatoria Intestinal al Día

www.elsevier.es/eii



COMENTARIOS A ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y BÁSICA

Artículos más relevantes en investigación básica

Articles more relevant basic research

Oikonomopoulos, Angelos et al. Identification of circulating microRNA signatures in Crohn's disease using the Nanostring nCounter technology. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(9):2063-9.

Identificación de microARN circulantes en pacientes con enfermedad de Crohn mediante el uso de la tecnología Nanostring nCounter

A pesar de la existencia de marcadores clínicos y de laboratorio, el seguimiento de pacientes con enfermedad de Crohn (EC) no siempre llega a ser del todo adecuado. Surge por ello la necesidad de nuevos biomarcadores para lograr un buen control de la evolución de la enfermedad. Se ha sugerido que la expresión de los microARN en suero puede relacionarse con la actividad de la enfermedad, pudiendo superar incluso a los tradicionales métodos clínicos y de laboratorio, lo que supone una mejora en el seguimiento de los pacientes con EC.

Las decisiones actuales tomadas en pacientes con EC se basan en índices clínicos que en ocasiones no son lo suficientemente precisos, y en técnicas de imagen que, además de suponer un gasto sanitario, son incómodas e invasivas para los pacientes. Además, algunos parámetros de laboratorio, como la proteína C reactiva o la calprotectina fecal, pueden ayudarnos a decidir cómo debemos actuar. Sin embargo, en ocasiones estos métodos no son suficientes. Es por ello que siguen buscándose otros marcadores no invasivos que permitan valorar con precisión la actividad de la EC. A partir de estas necesidades surgen los microARN, biomarcadores presentes en el suero de los pacientes y que podrían representar nuevas opciones válidas en el diagnóstico y seguimiento de la EC.

Este trabajo determinó el perfil de expresión de microARN en pacientes con EC y pacientes sanos con el

fin de identificar diferencias que permitan diagnosticar la enfermedad, así como determinar el grado de actividad.

Se aisló por centrifugación el suero de 45 pacientes con EC (21 con actividad y 24 en remisión) y de 21 pacientes sanos que constituyeron el grupo control. Los pacientes con EC fueron clasificados mediante el Índice de Harvey-Bradshaw (IHB). El ARN se aisló del suero de los pacientes usando el *kit miRNeasy Serum/Plasma* y desde células mononucleares de sangre periférica utilizando el *miRCURY Cell and Plant RNA Isolation kit*. Las muestras de ARN se procesaron con nCounter Prep Station seguido de nCounter Digital Analyzer y fueron analizadas mediante el software nSolver, v1.1. La normalización se llevó a cabo en todos los microARN con un coeficiente de variación menor del 70%.

En el estudio, se identifica un perfil de microARN para pacientes con EC diferente del grupo control. Hasta 10 microARN se expresaron de forma diferente, 9 de ellos con mayor expresión en el grupo de pacientes sanos (hsa-miR-1183, hsa-miR-1827, hsa-miR-1286, hsa-miR-504, hsa-miR-188-5p, hsa-miR-574-5p, hsa-miR-192-5p, hsa-miR-149-5p, and hsa-miR-378e), mientras un único microARN (hsa-miR-30e-5p) se expresó más en EC. Además, 2 microARN (hsa-miR-1286 y hsa-miR-1273d) tenían menor expresión en pacientes con enfermedad activa que en pacientes en remisión. Si se comparan estos resultados con marcadores de laboratorio habituales, estos últimos no muestran diferencias significativas a la hora de distinguir entre pacientes con enfermedad activa y pacientes en remisión.

Se investigó además la correlación entre los niveles de microARN y el IHB. Los pacientes se dividieron en 3 grupos: pacientes en remisión (IHB \leq 4), pacientes con actividad moderada (IHB: 8-16) y pacientes con enfermedad grave (IHB $>$ 16). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de determinados microARN (hsa-miR-1286 y hsa-miR-1273d), con una mayor expresión en pacientes en remisión. Sin embargo, aunque también la expresión variaba dependiendo si la actividad era moderada o grave, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por el contrario, la proteína C reactiva no mostró relación estadísticamente significativa con la clínica en ninguno de los 3 grupos. Además los microARN también demostraron variar su expresión en función de la localización de la enfermedad definida por la clasificación de Montreal. De esta forma, los niveles de los microARN

hsa-miR-1286 y hsa-miR-1273d fueron menores en pacientes con afectación ileal e ileocólica y enfermedad activa. En pacientes con afectación exclusivamente del colon no se encontraron diferencias independientemente del grado de enfermedad. Estos datos sugieren que los niveles de microARN pueden relacionarse con fenotipos particulares de la enfermedad.

Los microARN pueden considerarse nuevas herramientas en el diagnóstico y seguimiento de la EC, una idea que ha sido demostrada en numerosos trabajos, siendo este estudio que analizamos el primero que utiliza la tecnología Nanostring nCounter. Los resultados de este trabajo demuestran que la expresión de microARN en suero representa marcadores más fiables en relación con el grado de actividad de la enfermedad que otros parámetros de laboratorio tales como la proteína C reactiva y que la combinación de los microARN con métodos actuales podría mejorar el manejo de la enfermedad de forma no invasiva.

Thomas Billiet, et al. A genetic variation in the neonatal Fc-receptor affects anti-TNF drug concentrations in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2016;111(10):1438-1445.

Variaciones genéticas en el Fc-receptor neonatal afectan a la concentración de fármacos anti-TNF en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

La monitorización farmacológica ha mejorado el manejo de los fármacos antifactor de necrosis tumoral (anti-TNF). Los más usados en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) son el infliximab (IFX) y el adalimumab (ADA), ambos anticuerpos monoclonales en los que se ha demostrado que las concentraciones durante el periodo de inducción están relacionadas con la respuesta a corto y largo plazo. El conocimiento de aquellos factores que influyen en los niveles del fármaco durante este periodo precoz puede contribuir a optimizar y mejorar la eficacia del tratamiento. Entre estos factores destaca la influencia de los anticuerpos contra los anti-TNF y la velocidad de aclaramiento del fármaco; de esta forma cuanto mayor sea el aclaramiento, menor será la vida media y la concentración del fármaco en sangre. Para disminuir el aclaramiento, tanto las Ig endógenas como los anticuerpos monoclonales se unen al receptor Fc neonatal (FcRn), evitando su catabolismo y prolongando su vida media. El FcRn está codificado por un gen localizado en el cromosoma 19, el FCGTR. Un número variable de repeticiones en tándem (VNTR) se ha descrito en la región promotora de este gen. Este VNTR consiste en 5 alelos diferentes (VNTR1-VNTR5), siendo VNTR2 y VNTR3 los más prevalentes. En este estudio se plantea cómo los polimorfismos VNTR (heterocigoto VNTR2/VNTR3 y homocigoto VNTR3/VNTR3) en el gen FCGTR son uno de los factores que afectan a la concentración de anti-TNF durante la inducción en pacientes con EII.

Se trata de un estudio de cohortes retrospectivo. La primera cohorte (n = 395), pacientes IFX-naïve, que recibieron IFX a 5 mg/kg en las semanas 0,2 y 6, aquellos que

respondieron continuaron con dosis de mantenimiento. La segunda cohorte (n = 139), fueron pacientes ADA-naïve, iniciaron ADA 160, 80 y 40 mg en las semanas 0, 2 y 4, aquellos con respuesta continuaron con la dosis de mantenimiento. Se midieron las concentraciones de anti-TNF y de anticuerpos contra anti-TNF y se calculó el área bajo la curva (AUC) correspondiente a la concentración del fármaco en los sueros de los pacientes. Las variables, entre las que se encontraba el genotipo VNTR se analizaron según su asociación con AUC del fármaco. Se realizaron análisis univariantes y multivariantes y se construyeron paneles de riesgo para la exposición al anti-TNF.

En el análisis univariado no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de IFX en las semanas 2 y 4 entre las variantes VNTR2/VNTR3 y VNTR3/VNTR3. Sin embargo, las diferencias de concentración de ADA en la semana 2 sí que resultaron estadísticamente significativas (p = 0,02), siendo menores en los pacientes heterocigotos. Por otro lado, estas diferencias no se detectaron en la semana 6. De la misma forma no se detectaron diferencias que alcanzaran la significación estadística en el AUC correspondiente a la concentración de IFX entre pacientes heterocigotos y homocigotos. Sí que alcanzaron la significación estadística las diferencias entre ambos grupos en los pacientes con ADA. En ambas cohortes, IFX y ADA, la aparición de anticuerpos contra el anti-TNF se vio favorecida por el tratamiento previo con otros biológicos y por una menor AUC durante la inducción. El nivel de anticuerpos era menor si se asociaba otro fármaco inmunosupresor de forma concomitante.

En el análisis multivariado de los pacientes que recibieron IFX, únicamente si se excluían aquellos pacientes con anticuerpos, el genotipo VNTR resultó estadísticamente significativo, existiendo menor concentración de IFX y una menor AUC en los pacientes heterocigotos. En el grupo de ADA, se detectaron varios factores relacionados de forma independiente con el AUC durante la inducción. Esta fue menor si se asociaban varios factores como el genotipo VNTR2/VNTR3, género masculino y el uso previo de IFX. Se crearon además con los factores predictivos del AUC extraídos de la regresión lineal múltiple los paneles de riesgo. En el caso del IFX fueron el diagnóstico de colitis ulcerosa, género masculino, genotipo VNTR2/VNTR3, tratamiento previo con biológicos, bajo índice de masa corporal, proteína C reactiva elevada e hipoalbuminemia. En cuanto a ADA, los factores que se asociaron a menores concentraciones del fármaco fueron el género masculino, las variantes VNTR2/VNTR3, el uso previo de IFX, un elevado índice de masa corporal (> 30), proteína C reactiva alta e hipoalbuminemia.

Se pudo demostrar que los pacientes con EII y genotipo VNTR2/VNTR3 presentaban una menor concentración de IFX y ADA durante el periodo de inducción en comparación con los pacientes VNTR3/VNTR3. Estas concentraciones disminuidas durante la inducción se han asociado a una peor evolución de la enfermedad. Los efectos de estos polimorfismos parecen resultado de una menor expresión del receptor FcRn, dando lugar a un menor «rescate» de fármaco y, por tanto, una menor vida media de los anticuerpos monoclonales. Las diferencias fueron más evidentes en el grupo tratado con ADA que en la cohorte que recibió tratamiento con IFX y parecen relacionarse con la forma de administración subcutánea la cual parece estar sujeta a procesos de catabolismo

antes de llegar a la circulación sistémica. En estos procesos de catabolismo es donde la acción del FcRn podría tener más efecto protector y, por tanto, ocasionar más diferencias entre pacientes heterocigotos y homocigotos.

El objetivo de este trabajo es poder trasladar los resultados obtenidos a la práctica clínica de forma que puedan tomarse decisiones sobre el tratamiento antes de iniciar la terapia con anti-TNF. Sin embargo, son necesarios más estudios prospectivos para confirmar la validez externa de los datos hallados en este estudio.

En conclusión, la detección de polimorfismos en el gen del receptor FcRn, así como la identificación de factores

que se relacionan con menores concentraciones de anti-TNF durante la inducción, podrían ayudar a optimizar el tratamiento con fármacos anti-TNF de forma individual en pacientes con EII, mejorando los resultados a corto y largo plazo.

M. García-Campos y M. Iborra*

Gastroenterología, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marisaiborra@hotmail.com (M. Iborra).

Disponible en Internet el 7 de diciembre de 2016