

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ**

Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas



**Nivel de fármaco, anticuerpos antifármaco y actividad clínica en  
pacientes con espondiloartritis en tratamiento con adalimumab**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR

**José Miguel Senabre Gallego**

DIRECTOR DE TESIS

**Francisco Javier Fernández Sánchez**

CODIRECTORES DE TESIS

**Emilio Flores Pardo**

**José Carlos Rosas Gómez de Salazar**

San Juan de Alicante, 2020



## Indicios de Calidad (Tesis en formato convencional)

La tesis **“Nivel de fármaco, anticuerpos antifármaco y actividad clínica en pacientes con espondiloartritis en tratamiento con adalimumab”** se presenta en formato convencional y como indicio de calidad se adjunta el artículo **“Clinical relevance of monitoring serum adalimumab levels in axial spondyloarthritis”** aceptado el 16 de marzo de 2019 para publicación en la revista *Rheumatology International* (Editor: Springer Heldeilerg). ISSN 0172-8172 (Online ISSN 1437-160X). Esta revista está indexada en *Journal Citation Reports*, con un factor de impacto de 2,2 (2018).

La referencia bibliográfica completa del artículo que constituye el cuerpo de la tesis es:

*Senabre Gallego JM, Rosas J, Marco Mingot M, García Gómez JA, Santos Soler G, Salas Heredia E, Pons Bas A, Barber Vallés X, Bernal Vidal JA, Cano Pérez C, García Carrasco M, Flores Pardo E; AIRE-MB Group. Clinical relevance of monitoring serum adalimumab levels in axial spondyloarthritis. Rheumatol Int. 2019 May;39(5):841-849. Doi: 10.1007/s00296-019-04288-7. Epub 2019 Mar 21.*





PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

Don Francisco Javier Fernández Sánchez, director, D. Emilio Flores Pardo, codirector y D. José Carlos Rosas Gómez de Salazar, codirector, de la tesis doctoral titulada “NIVEL DE FÁRMACO, ANTICUERPOS ANTI-FÁRMACO Y ACTIVIDAD CLÍNICA EN PACIENTES CON ESPONDILOARTRITIS EN TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB”

CERTIFICAN:

Que D. José Miguel Senabre Gallego ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “NIVEL DE FÁRMACO, ANTICUERPOS ANTI-FÁRMACO Y ACTIVIDAD CLÍNICA EN PACIENTES CON ESPONDILOARTRITIS EN TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos en Sant Joan d’Alacant, a 18 de octubre de dos mil diecinueve.

Fdo. Don Francisco Javier Fernández Sánchez  
Director de tesis

Fdo. Don Emilio Flores Pardo  
Co-director de tesis

Fdo. Don José Carlos Rosas Gómez de Salazar  
Co-director de tesis



PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS  
Campus de Sant Joan d’Alacant. Ctra. de Valencia (N-332), Km. 87 – 03550 Sant Joan d’Alacant  
Telf.: 96 5233755 c.electrónico: [malmarcha@umh.es/](mailto:malmarcha@umh.es/)





PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

D. Félix Gutiérrez Rodero, Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

AUTORIZA:

La presentación y defensa como tesis doctoral del trabajo “NIVEL DE FÁRMACO, ANTICUERPOS ANTI-FÁRMACO Y ACTIVIDAD CLÍNICA EN PACIENTES CON ESPONDILOARTRITIS EN TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB” realizado por D. José Miguel Senabre Gallego, bajo la dirección del Dr. D. Francisco Javier Fernández Sánchez, la co-dirección de los Dres. D. Emilio Flores Pardo y D. José Carlos Rosas Gómez de Salazar.

De acuerdo a la información recibida sobre las evaluaciones previas realizadas en cumplimiento de la normativa general vigente y la propia de la Universidad Miguel Hernández y según lo certificado por las personas que han realizado la tutoría y dirección, la tesis cumple los requisitos para proceder a su defensa pública.

En Sant Joan d'Alacant, a 18 de octubre de dos mil diecinueve.

Firmado: Prof. Félix Gutiérrez Rodero

Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas







## Financiación

El presente trabajo ha sido posible gracias a la aportación de fondos de la Asociación para la Investigación en Reumatología de la Marina Baixa (AIRE-MB) para la determinación de niveles séricos de fármaco y anticuerpos antifármaco, y de una beca de la Fundación Española de Reumatología (FER 2012).





*“Corto y hábil es el sendero de la especulación,  
pero no conduce a ninguna parte;  
largo y penoso es el camino del experimento,  
pero nos lleva a conocer la verdad.”*

**Galeno de Pérgamo**

*“Extraordinary claims require  
extraordinary evidence”*

**Carl Sagan**



**A mi familia.**



## Agradecimientos

A mis padres, por haber sabido guiarme durante los años de adolescencia y juventud.

A Nuria, por su paciencia y comprensión.

A Leo y Román, por sus gritos y sus risas.

A mis directores de tesis. A los Dres. Javier Fernández y Emilio Flores, por su tutela eficaz durante todo el proceso de elaboración de la Tesis. En especial, al Dr. Rosas, líder de esta línea de investigación, sin cuya constante motivación nunca me hubiera embarcado en esta aventura. A mis maestros por su paciencia y esfuerzo en transmitir sus conocimientos y experiencia. A mis compañeros durante la residencia en Valencia, donde inicié mis andaduras como reumatólogo y, personalmente, al Dr. Román Ivorra, por haber fomentado mi interés en esta bonita especialidad. A mis compañeros de la Sección de Reumatología del Hospital Marina Baixa, tanto médicos como enfermeras, y del grupo de investigación en reumatología de la Marina Baixa (AIRE-MB), por su inestimable colaboración en el diseño, reclutamiento, análisis y redacción del presente estudio. En especial, al Dr. Xavier Barber y a José Alberto García, por su valiosísima ayuda en el análisis estadístico.

A los pacientes. Particularmente a todos aquellos que, de forma desinteresada, se ofrecen voluntarios para participar en estudios de investigación clínica, con la esperanza de colaborar en la construcción de un futuro mejor.

A todas las personas que han colaborado de una forma u otra en este estudio de investigación y que han hecho posible la publicación de la presente Tesis Doctoral.



# ÍNDICE

<b>Abreviaturas.....</b>	<b>17</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>19</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>22</b>
<b>1.Introducción:.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1 Las espondiloartritis .....</b>	<b>25</b>
Concepto de espondiloartritis .....	25
Epidemiología de las espondiloartritis.....	25
Etiopatogenia de las espondiloartritis .....	26
Diagnóstico de las espondiloartritis.....	26
Tratamiento de las espondiloartritis.....	27
<b>1.2 Inmunogenicidad de los anti-TNF.....</b>	<b>29</b>
Concepto de inmunogenicidad.....	29
Relación con la eficacia clínica.....	29
<b>1.3 Situación actual del conocimiento .....</b>	<b>30</b>
Relación entre AAF, niveles de ADL y actividad clínica.....	30
Punto de corte óptimo de nivel de fármaco .....	32
<b>1.4 Justificación .....</b>	<b>32</b>
<b>2. Hipótesis y objetivos de investigación .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1 Hipótesis.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2 Objetivo general .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3 Objetivos específicos .....</b>	<b>34</b>
<b>3. Materiales y métodos: .....</b>	<b>35</b>
<b>3.1 Diseño de investigación .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2 Población de estudio .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3 Criterios de selección .....</b>	<b>35</b>
<b>3.4 Muestra .....</b>	<b>36</b>
<b>3.5 Definición de variables y recogida de datos .....</b>	<b>36</b>
Variables del estudio.....	36
Evaluación de la actividad de la enfermedad.....	37
Medición de los niveles de ADL y de los AAF .....	37
<b>3.7 Proceso y análisis de los datos .....</b>	<b>39</b>
<b>3.8 Cronograma y presupuesto.....</b>	<b>40</b>
<b>3.9 Ética y buenas prácticas clínicas.....</b>	<b>41</b>
<b>3.10 Conflicto de interés.....</b>	<b>41</b>
<b>4. Resultados: .....</b>	<b>42</b>
<b>4.1 Características basales .....</b>	<b>42</b>
<b>4.2 Nivel de ADL y AAF .....</b>	<b>43</b>
<b>4.3 Relación entre niveles de ADL, AAF y actividad clínica .....</b>	<b>44</b>

4.5 Actividad de la enfermedad según la distribución por terciles de los niveles de ADL .....	48
4.4 Modelo multivariante .....	50
4.6 Punto de corte de nivel de ADL para discriminar baja actividad de la enfermedad .....	52
<b>5. Discusión de los resultados.....</b>	<b>55</b>
5.1 Características basales .....	55
5.2 Nivel de ADL y AAF .....	56
5.3 Relación entre niveles de ADL, AAF y actividad clínica .....	56
5.4 Influencia del uso de FAME en el desarrollo de AAF .....	58
5.5 Influencia del IMC en el desarrollo de AAF .....	58
5.6 Punto de corte de nivel de ADL para discriminar baja actividad de la enfermedad .....	59
5.7 Sesgos y limitaciones .....	61
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>63</b>
<b>7. Anexo .....</b>	<b>64</b>
7.1 Certificado del Comité Ético de Investigación Clínica .....	64
7.2 Hoja de información al paciente. ....	65
7.3 Consentimiento Informado .....	68
7.4 Publicación.....	69
<b>8. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>85</b>





## Abreviaturas

AAF	Anticuerpos antifármaco
ADL	Adalimumab
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
APs	Artritis psoriásica
AR	Artritis reumatoide
ASAS	Assessment of Spondyloarthritis International Society
ASAS 20	ASAS International Working Group 20% response criteria
ASDAS	Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score
AUC	Area under the curve
BASDAI	Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
BASFI	Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index
BMI	Body mass index
CRP	C reactive protein
csDMARD	Conventional synthetic disease modifying antirheumatic drug
CTZ	Certolizumab
DAS28	Disease activity score 28
DMARD	Disease modifying antirheumatic drug
EA	Espondilitis anquilosante
ECA	Ensayo controlado aleatorizado
EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EspA	Espondiloartritis
ESR	Eritrocite sedimentation rate

ETN	Etanercept
EULAR	European League Against Rheumatism
FAME	Fármaco antirreumático modificador de la enfermedad
FAMEb	FAME biológico
FAMEcs	FAME convencional sintético
GOL	Golimumab
HLAB27	Antígeno leucocitario humano B*27
IFX	Infliximab
IMC	Índice de masa corporal
MTX	Metotrexato
NYm	(criterios) modificados de Nueva York
PASI	Psoriasis Activity Severity Index
PCR	Proteína C reactiva
PGA	Patient Global Assessment
RIA	Radioinmunoanálisis
ROC	Receiver Operating Characteristic
SpA	Spondyloarthritis
SSZ	Sulfasalazina
TNF	Factor de necrosis tumoral
VSG	Velocidad de sedimentación globular

## Resumen

Los fármacos inhibidores del factor de necrosis tumoral (anti-TNF) están indicados en las espondiloartritis (EspA) axiales que han fallado al tratamiento convencional con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Sin embargo, un elevado porcentaje de pacientes no responden al tratamiento y en algunos pacientes esto puede deberse a la producción de anticuerpos antifármaco (AAF) y a la disminución de los niveles séricos de fármaco.

**Objetivo:** Establecer la relación entre los niveles séricos de adalimumab (ADL) y de AAF con los índices de actividad de la enfermedad en los pacientes con EspA axial.

**Métodos:** estudio observacional descriptivo transversal en pacientes con EspA axial, según los criterios ASAS (Assessment of Spondyloarthritis International Society) de 2009, atendidos en consultas externas de reumatología del Hospital Marina Baixa, que reciben tratamiento con ADL.

En todos los pacientes se recogieron datos demográficos, índice de masa corporal (IMC), fecha de diagnóstico de EspA, datos de laboratorio (incluyendo HLAB27, velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR)), tratamiento previo para la EspA, tanto con fármacos anti-reumáticos modificadores de la enfermedad convencionales sintéticos (FAMEcs) como biológicos (FAMEb), razones de interrupción y duración del tratamiento con ADL.

La actividad de la EspA se evaluó a través de los índices BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index), ASDAS (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score) y PGA (Patient Global Assessment), y la capacidad funcional se evaluó a través del índice BASFI (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index). Se extrajo suero a todos los pacientes justo antes de la siguiente dosis de fármaco

y se analizó mediante el kit comercial ELISA Promonitor<sup>®</sup>, (Proteomika, Progénica, Griffols, Derio, Vizcaya) por un analista que desconocía los datos clínicos.

Se realizó un estudio estadístico descriptivo y se analizaron las diferencias utilizando la T-Student en variables paramétricas y el método de Kruskal-Wallis o U-Mann Whitney en las no paramétricas. Se dividió a los pacientes por terciles según el nivel de ADL para observar el comportamiento de las diferentes variables. Para analizar el efecto de las variables confusoras se realizaron modelos lineales multivariantes utilizando ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y BASDAI como variables dependientes. Se obtuvo una curva ROC (Receiver Operating Characteristic) obteniendo un valor de corte óptimo de niveles de ADL, para discriminar entre los pacientes con baja actividad de la enfermedad y los que tienen una actividad moderada o alta según los índices BASDAI o ASDAS.

**Resultados:** Hasta enero de 2016 se incluyeron 51 pacientes, de los que 24 son mujeres (47,1%), con una edad media de 46,9 años (rango: 18-68). El HLAB27 fue positivo en 42 pacientes (82,4%). El tiempo medio de evolución de la enfermedad fue de 122,9 meses (rango: 2-408) y el tiempo medio del tratamiento con ADL fue de 17,8 meses (rango: 69-1). En 36 pacientes (70,6%) ADL fue el 1er FAMEb y 11 (21,6%) estaban en tratamiento concomitante con FAMEcs, principalmente metotrexato (15,7%) y sulfasalacina (5,9%). Las medias ( $\pm$  DE) de los índices de actividad fueron: BASDAI  $4,0 \pm 2,3$ ; ASDAS-PCR  $2,1 \pm 1,1$  y ASDAS-VSG  $2,1 \pm 1,0$ .

Se detectaron AAF positivos ( $>3,5$  UA/ml) en 14 pacientes (27,5%), ninguno de los cuales estaba recibiendo FAMEcs. Se detectaron niveles normales de ADL ( $>3$  mg/L) en 36 pacientes (70,6%), en ninguno de estos se detectaron AAF. Se detectaron niveles infra terapéuticos de ADL ( $<3$  mg/L) en 15 pacientes (29,4%), de los cuales 14 mostraron AAF (93%).

Los pacientes con AAF tuvieron significativamente mayor actividad clínica, según los índices BASDAI, ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y PGA. Además, estos pacientes con AAF tuvieron mayor discapacidad física según el índice BASFI, mayores niveles de VSG y PCR, mayor edad, mayor IMC y mayor tiempo de evolución de la enfermedad.

EL nivel medio de ADL (mg/L) fue significativamente mayor en pacientes con baja actividad/remisión clínica según BASDAI <4:  $8,9 \pm 4,1$  vs  $4,7 \pm 5,4$  ( $p < 0,01$ ); ASDAS-PCR <2,1:  $10,1 \pm 4,8$  vs  $3,7 \pm 4,9$  ( $p < 0,001$ ) y ASDAS-VSG <2,1:  $10,5 \pm 3,2$  vs  $4,9 \pm 6,1$  ( $p < 0,001$ ). También se observó en estos pacientes menor nivel de AAF, menor índice BASFI y menor IMC. Los pacientes que se encontraban en el primer tercil de nivel de ADL (<4 mg/L) mostraron mayor nivel medio de AAF y una puntuación media mayor en los índices BASDAI, ASDAS-PCR y ASDAS-VSG, así como mayor media de edad y de IMC.

Tras ajustar por sexo, edad, IMC, uso previo de FAMEb y uso de FAMEcs concomitante, en los modelos multivariantes, se mantuvo la relación negativa entre el nivel de ADL y la actividad de la enfermedad según ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y BASDAI.

Los puntos de corte obtenidos en las curvas ROC según los índices de actividad fueron: ASDAS-PCR (< 2,1) 4,6 mg/l (AUC 81,2%; 95% CI 67,5–94,9;  $p < 0,001$ ); ASDAS-VSG (< 2,1) 7,7 mg/l (AUC 82,4%; 95% CI 69,3–95,5;  $p < 0,001$ ); BASDAI (< 4) 6,4 mg/l (AUC 73,5%; 95% CI 58,6–88,3;  $p < 0,01$ ).

**Conclusiones:** En pacientes con EspA axial en tratamiento con ADL la presencia de AAF se asocia con menores niveles séricos de ADL. Los pacientes con EspA en tratamiento con ADL en remisión o baja actividad clínica según los índices BASDAI y ASDAS presentan mayores niveles séricos de ADL y menor nivel de AAF. Asegurar un nivel sérico de ADL por encima de 4,6 mg/L es recomendable para no comprometer la eficacia del fármaco.

## **Abstract**

Anti-tumor necrosis factor (anti-TNF) drugs are indicated in patients with axial spondyloarthritis (SpA) who have failed to conventional treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. However, a high percentage of patients do not respond to this treatment and, in some patients, this could be related to the production of anti-drug antibodies causing low serum anti-TNF levels.

**Objective:** To assess the relationship between serum adalimumab (ADL) levels, anti-drug antibodies (ADA) and disease activity in patients with axial SpA.

**Methods:** We carried out a single-center cross-sectional study in patients with axial SpA according to ASAS (Assessment of Spondyloarthritis International Society) 2009 criteria, being treated with ADL by the rheumatology section of our center.

Information was collected on age, gender, body mass index (BMI), date of diagnosis of SpA, laboratory data, including HLAB27, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP), prior biological treatment for SpA, concomitant conventional synthetic disease modifying anti-rheumatic drugs (csDMARDs), reasons for interruption of ADL and duration of treatment with ADL.

SpA disease activity was assessed by BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index), ASDAS (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score) and PGA (Patient Global Assessment) scores. Functional disability was assessed by BASFI (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index) index. A serum sample was taken from all patients just before the next ADL dose. ADL and ADA levels were

analysed with ELISA Promonitor<sup>®</sup>, (Proteomika, Progénica, Griffols, Derio, Vizcaya) and correlated with SpA activity using BASDAI and ASDAS scores.

The descriptive study of variables with normal distribution were analysed using Student's T test and not-normally distributed variables using the Kruskal-Wallis method or the Mann-Whitney U test. Categorical variables were analysed using Chi-square and the Fischer's exact test when necessary. Patients were divided into tertiles according ADL levels. Linear multivariate models were created, using ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI as dependent variables. ADL cut-off value was calculated to discriminate inactive disease/low disease activity (BASDAI <4; ASDAS <2,1) from moderate/high disease activity (BASDAI ≥ 4; ASDAS ≥ 2.1), using a receiver operating characteristic (ROC) curve.

**Results:** Up to January 2016, 51 consecutive patients were included. The mean (range) age was 46,9 (18–68) and 47.1% were women. HLAB27 was positive in 82,4% of patients. Mean disease duration was 122,9 months (2-408) and mean duration of treatment with adalimumab was 17,8 months (1-69). ADL was the first biological agent received in 36 patients (70.6%). Eleven patients (21.6%) were on concomitant treatment with receiving concomitant csDMARDs, mainly methotrexate (MTX) (15.7%) and sulfasalazine (5.9%). The mean (SD) activity scores were BASDAI  $4,0 \pm 2,3$ ; ASDAS-PCR  $2,1 \pm 1,1$  and ASDAS-VSG  $2,1 \pm 1,0$ .

ADA prevalence was 27.5%, with none detected in the 21.6% taking csDMARDs ( $p = 0.021$ ). ADL level was normal ( $> 3$  mg/l) in 36 patients (70.6%), all without ADA. Fifteen patients (29.4%) had subtherapeutic ADL levels ( $< 3$  mg/l), with ADA in 14 (93%).

Significantly higher disease activity scores were observed among patients with ADA (e.g., BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-ESR, PGA, ESR and CRP). In addition, these ADA positive patients were older and had a higher BASFI, BMI and longer disease duration.

Median ADL (mg/l) was significantly higher in patients with inactive disease/low disease activity: BASDAI < 4 vs  $\geq 4$ :  $8.9 \pm 4.1$  vs  $4.7 \pm 5.4$  ( $p < 0.01$ ); ASDAS-CRP < 2.1 vs  $\geq 2.1$ :  $10.1 \pm 4.8$  vs  $3.7 \pm 4.9$  ( $p < 0.001$ ) y ASDAS-ESR < 2.1 vs  $\geq 2.1$ :  $10.5 \pm 3.2$  vs  $4.9 \pm 6.1$  ( $p < 0.001$ ). Lower ADA level, lower BASFI score and lower BMI was also observed in these patients. Patients in the first tertile of ADL levels (<4 mg/L) had higher ADA levels, were older, and had higher BMI. Higher disease activity scores were also observed in these patients.

After adjusting by gender, age, BMI, previous anti-TNF use and concomitant csDMARD, multivariate models shown a significative negative relation between ADL levels and ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI scores.

The ADL level cut-offs and area under the curve (AUC) obtained in the ROC curves were: ASDAS-CRP (< 2.1) 4.6 mg/l (AUC 81.2%; 95% CI 67.5–94.9;  $p < 0.001$ ); ASDAS-ESR (< 2.1) 7.7 mg/l (AUC 82.4%; 95% CI 69.3–95.5;  $p < 0.001$ ); BASDAI (< 4) 6.4 mg/l (AUC 73.5%; 95% CI 58.6–88.3;  $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** Presence of ADA in axial SpA patients treated with ADL was associated with lower serum drug levels. ADA levels were lower and ADL levels were higher in patients with inactive disease/low disease activity based on BASDAI and ASDAS indices. Concomitant treatment with MTX reduces de likelihood of finding ADA. Serum ADL levels above 4.6 mg/l are recommended to avoid compromising efficacy.



# **1.INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Las espondiloartritis**

### **Concepto de espondiloartritis**

Las espondiloartritis (EspA) son un grupo heterogéneo de enfermedades que comparten características clínicas, patogénicas y hereditarias, que incluye la espondilitis anquilosante (EA), la artritis psoriásica (APs), la artritis reactiva y la artritis asociada a la enfermedad inflamatoria intestinal(1). En los últimos años, se ha añadido a este grupo la EspA axial no radiográfica, previamente denominada EspA “indiferenciada”, que presenta las manifestaciones clínicas de la EA, pero sin mostrar alteraciones concluyentes en la radiografía de articulaciones sacroilíacas. Las EspA se caracterizan por la inflamación crónica de las entesis con una tendencia a la anquilosis ósea. Las manifestaciones clínicas más características son la sacroilitis, la entesitis, la uveítis, la oligoartritis, la dactilitis, la psoriasis y la enfermedad intestinal inflamatoria (EII).

### **Epidemiología de las espondiloartritis**

La prevalencia de las EspA se estima entre el 0,07 y el 0,32% de la población(2). En España aproximadamente existen 181.000 pacientes con EA, correspondiente al 0,4% de la población(3). Su incidencia varía entre 0,3 a 7,3/100.000 habitantes por año(4).

La EspA axial suele comenzar en la tercera década de la vida, y su debut tras los 45 años de edad es excepcional(5). Los pacientes habitualmente son portadores del gen para el antígeno leucocitario

humano HLAB27 y el riesgo de desarrollar la enfermedad es mayor en los familiares de un paciente afectado, en torno al 8,2% en familiares de 1er grado(6). La EA es más frecuente en hombres, pero en la EspA axial no radiográfica las frecuencias entre sexos son similares(7).

El impacto en la calidad de vida puede ser muy negativo, dado que el dolor y la incapacidad funcional afecta a los pacientes tanto física como psicológicamente.

### **Etiopatogenia de las espondiloartritis**

La entesis parece ser el órgano diana en la patogenia de las EspA. Las entesis son estructuras anatómicas encargadas del anclaje de los tendones y ligamentos al hueso, así como de la transmisión de fuerzas mecánicas. La entesitis es un proceso diferente a la artritis y puede ocurrir de forma independiente. Aunque la entesitis puede ser consecuencia de la sobrecarga mecánica, por ejemplo, en la epicondilitis, en las EspA la entesitis aparece en múltiples localizaciones y tiende a la cronicidad. Además, otros factores podrían actuar como desencadenantes, como las infecciones y la activación del sistema inmune innato. Se ha demostrado en las entesis la presencia de células, con receptores para la IL-23, que son capaces de aumentar la inflamación a través de la producción de diversas citoquinas, como la IL-17A, la IL-22 y el TNF. Una de las consecuencias finales es la formación ósea con el desarrollo de entesofitos y la subsecuente anquilosis.

### **Diagnóstico de las espondiloartritis**

En 2009, la Sociedad ASAS (Assessment of SpondyloArthritis international Society) validó unos nuevos criterios clasificatorios para las EspA, que incluyen tanto a la EspA axial no radiográfica como a la EA(8). La necesidad de nuevos criterios estaba justificada por el hecho de que los criterios

modificados de Nueva York (NYM) de 1984(9), ampliamente utilizados, requerían la presencia de alteraciones en la radiografía de sacroilíacas, lo que les confería una elevada especificidad, pero una baja sensibilidad, especialmente en fases tempranas de la enfermedad. La disponibilidad de nuevas técnicas de imagen, como la resonancia magnética, y de nuevos tratamientos más eficaces, hizo necesario establecer estrategias para evitar el retraso diagnóstico y prevenir el daño crónico. Los criterios ASAS son aplicables a pacientes con dolor lumbar de al menos 3 meses de duración y de inicio antes de los 45 años. Requieren la presencia de la sacroileitis por imagen, bien por resonancia magnética o por radiografía (según los criterios NYM). Es necesario presentar al menos otra manifestación de EspA entre las que se encuentran: el dolor lumbar inflamatorio, la artritis, la entesitis, la uveítis, la dactilitis, la psoriasis, la EII, la buena respuesta a anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), los antecedentes familiares de EspA, la presencia de HLAB27 y el aumento de PCR. En caso de no existir el criterio de imagen, se admite la presencia de HLAB27 junto con 2 o más manifestaciones de EspA.

### **Tratamiento de las espondiloartritis**

Los AINEs y el ejercicio físico han sido el principal tratamiento para las EspA durante muchos años, aunque no son efectivos en muchos pacientes y su capacidad para detener la progresión radiográfica sigue cuestionada(10). En un ensayo clínico aleatorizado (ECA) comparado con placebo y naproxeno, etoricoxib mostró mejor eficacia clínica según la valoración del dolor espinal, PGA (patient global assessment) y el índice BASFI (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index). Sin embargo, la proporción de pacientes respondedores al índice ASAS 20 (ASsessment in Ankylosing Spondylitis (ASAS) International Working Group 20% response criteria)(11) no superaba el 65%(12). Por otro lado, los AINEs se deben utilizar con precaución en pacientes con EII y en pacientes con factores de

riesgo cardiovascular y gastrointestinal. No obstante, los AINEs siguen siendo el tratamiento de primera elección para pacientes que presentan afectación axial, artritis periférica, entesitis o dactilitis según las últimas recomendaciones de las sociedades ASAS y EULAR (European League Against Rheumatism)(13).

Otros fármacos anti-reumáticos modificadores de la enfermedad convencionales sintéticos (FAMEcs) como sulfasalazina (SSZ), metotrexato (MTX) o leflunomida, se recomiendan para el tratamiento de la artritis periférica o algunas manifestaciones extraarticulares como la dactilitis, la psoriasis o la uveítis. Sin embargo, en casos de afectación exclusivamente axial, que no responden al tratamiento con AINEs, la única opción es el uso de fármacos biológicos (FAMEb)(13).

Hasta la fecha, dentro de la terapia biológica, existen dos dianas terapéuticas que han demostrado ser eficaces en pacientes con afectación axial: el bloqueo del  $TNF\alpha$  y la inhibición de la interleuquina 17a (IL-17). Los fármacos anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNF) se unen al  $TNF\alpha$  e impiden su interacción con los receptores celulares, deteniendo la cascada inflamatoria. Fueron los primeros biológicos en obtener la indicación para la artritis reumatoide (AR), la APs, la EA y posteriormente también para las EspA no radiográficas. Su llegada supuso un avance notable en la mejoría de los síntomas de estos pacientes y su uso se ha extendido en las últimas décadas. Además, los anti-TNF reducen las lesiones de actividad en la resonancia magnética, como el edema óseo(14), aunque su utilidad en la prevención del daño estructural sigue estando en discusión. Las extensiones abiertas de los estudios pivotaes de los anti-TNF no han demostrado diferencias(15-17) en este sentido, mientras que existen estudios observacionales que indican menor progresión radiográfica respecto a pacientes no expuestos(18, 19).

Actualmente, existen cinco fármacos anti-TNF aprobados para el tratamiento de las EspA, incluyendo cuatro anticuerpos monoclonales, infliximab (IFX), adalimumab (ADL), golimumab (GOL) y certolizumab (CTZ), y un receptor de TNF soluble, etanercept (ETN). Todos ellos son eficaces en las manifestaciones axiales de la EspA, alrededor del 60% de pacientes alcanzan una respuesta ASAS 20, frente al 20% de los pacientes asignados a placebo(20), y no existen ECAs que demuestren superioridad de uno frente a otro. Todos los anti-TNF han demostrado su eficacia en el tratamiento de la artritis periférica, la entesitis, la dactilitis y la psoriasis, mientras que solo los anticuerpos monoclonales son útiles en el tratamiento de la EII y la uveítis, donde ETN no es eficaz. En este sentido, ADL es uno de los anti-TNF con mayor desarrollo clínico y con mayor número de indicaciones(21) por lo que es uno de los más prescritos en pacientes con EspA.

## **1.2 Inmunogenicidad de los anti-TNF**

### **Concepto de inmunogenicidad**

La inmunogenicidad es la capacidad del sistema inmune para reaccionar frente a un antígeno a través de la respuesta inmunitaria celular y humoral, y se trata de un proceso fisiológico(22). La relevancia clínica de este concepto aparece cuando se demuestra que los anticuerpos monoclonales utilizados como agentes terapéuticos también son susceptibles de ocasionar el desarrollo de anticuerpos antiidiotipo que se unen al fármaco y comprometen su eficacia.

### **Relación con la eficacia clínica**

A pesar de la elevada eficacia que han demostrado los anti-TNF, una proporción significativa de pacientes no responde al tratamiento inicialmente o pierden eficacia a lo largo del tiempo. Los

mecanismos subyacentes a estos fracasos no están claramente dilucidados, pero la inmunogenicidad y la producción de anticuerpos anti-fármaco (AAF), con la eliminación del fármaco de la sangre y/o la neutralización de su efecto, parece jugar un papel importante(23), especialmente con IFX y ADL. Los AAF pueden reducir la eficacia de los anti-TNF al competir por el punto de unión con el TNF (anticuerpos neutralizantes) o al promover un mayor aclaramiento del fármaco (anticuerpos no neutralizantes). La mayoría de los AAF contra ADL son neutralizantes por lo que antagonizan la inhibición del TNF(24).

### **1.3 Situación actual del conocimiento**

#### **Relación entre AAF, niveles de ADL y actividad clínica**

Numerosa evidencia científica demuestra la relación existente entre la producción de AAF y la respuesta clínica de los anti-TNF en el tratamiento de enfermedades inmunomediadas(25, 26). En dos metaanálisis se concluye que la presencia de AAF reduce la respuesta clínica y que el uso de inmunosupresión concomitante reduce la prevalencia de AAF. Sin embargo, la mayoría de los estudios analizados incluyen pacientes con AR o enfermedad de Crohn. Una revisión sistemática reciente investiga la utilidad del monitorizar los niveles de terapia biológica en pacientes con AR y EspA(27). Los autores concluyen que conocer los niveles de fármaco podría ser útil para ajustar el tratamiento, tanto en pacientes en remisión, para optimizar la dosis, como en aquellos que han fallado al biológico.

En pacientes tratados con ADL la prevalencia reportada de AAF es muy variable. Esta variabilidad se atribuye a las diferencias en la enfermedad y población estudiada, uso de FAMEcs, régimen terapéutico, período de seguimiento y técnicas de detección. En nuestros pacientes con AR tratados

con ADL encontramos AAF en el 7%, lo que se relacionó con menores niveles séricos de ADL y una peor respuesta clínica(28). Nuestro porcentaje es menor a otras series publicadas que reportan un 28% de AAF, si bien la mayor parte de nuestros pacientes con AR en tratamiento con ADL reciben MTX u otro FAMEcs de forma concomitante(29). En pacientes con APs tratados con ADL el porcentaje de AAF también es variable, según las series, de 18 a 29%, también relacionados con una peor eficacia(30, 31). En pacientes con EA tratados con IFX se han encontrado AAF en el 20-29%, lo que se ha relacionado con peor respuesta clínica(32-35). En pacientes con EspA o EA tratados con ETN no se han encontrado AAF (34-36). En un estudio reciente con GOL la detección de AAF no se relacionó con la respuesta al tratamiento(37). La prevalencia de AAF contra CTZ en enfermedad de Crohn es del 22%, y su presencia se ha relacionado con menores niveles séricos de CTZ y mayores niveles de PCR y calprotectina fecal(38). Por otro lado, la ineficacia de un anti-TNF debido a la presencia de AAF se ha relacionado con una mejor respuesta a un 2º anti-TNF(39).

Las técnicas más utilizadas en los estudios para la detección de AAF y niveles de fármaco son: ELISA (del inglés: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) y radioinmunoanálisis (RIA). Las ventajas de ELISA son el menor coste, la automatización y la posibilidad de realización en la mayoría de los laboratorios(40). Sin embargo, la técnica ELISA es menos tolerante a los efectos del fármaco circulante dado que ambas regiones variables (Fab) deben estar disponibles para unirse al fármaco que recubre la placa y al fármaco marcado para la detección. Las técnicas RIA utilizan proteína A Sepharose® para captar los AAF del suero del paciente y posteriormente se añade el fármaco radiomarcado que se une a los AAF específicos. Las técnicas RIA son más específicas, menos susceptibles a artefactos y pueden detectar algunas inmunoglobulinas que son funcionalmente

“monovalentes”. Sin embargo, son más costosas, más complejas y tienen el inconveniente del uso de radioisótopos(40).

### **Punto de corte óptimo de nivel de fármaco**

Hasta donde conocemos, no existen estudios que reporten un punto de corte óptimo para niveles de ADL en pacientes con EspA axial que permita discriminar a los pacientes con baja actividad clínica. En nuestros pacientes con AR, utilizando la técnica ELISA, un punto de corte de nivel sérico de ADL >4.3 mg/L fue el óptimo para discriminar a los respondedores con DAS28-VSG <3.2(28). Otros estudios han investigado en AR el nivel sérico de ADL que predice una remisión clínica persistente tras la reducción de la dosis. Chen et al. obtienen un punto de corte de nivel de ADL de >6.4 mg/L, utilizando DAS28-VSG (41) y Bouman et al. obtienen >7.8 mg/L, utilizando DAS28-PCR(42). En enfermedad de Crohn otros estudios han investigado el punto de corte de nivel sérico de ADL que mejor predice la remisión clínica, reportando niveles de >5.85 mg/L por Mazor et al.(43) y >5.0 mg/L por Nakase et al(44). En todos estos estudios se empleó la técnica ELISA. Otro estudio, utilizando la técnica “liquid-phase mobility shift assay” encuentra un punto de corte >8.14 mg/L para discriminar los pacientes con enfermedad de Crohn en los que desaparecen de las lesiones mucosas en íleo-colonoscopia(45). Por último, en pacientes con psoriasis, un nivel sérico de ADL >7.84 mg/L, obtenido mediante ELISA, fue el óptimo para discriminar a los pacientes con PASI  $\geq$ 75 (46).

## **1.4 Justificación**

Dado el elevado coste de la terapia biológica, en los últimos años se han propuesto estrategias para disminuir la dosis de fármaco en aquellos pacientes que se encuentran en remisión clínica, evitando el sobretratamiento y reduciendo efectos secundarios(47-49). De hecho, niveles elevados de fármaco



biológico en sangre se han relacionado con un aumento del riesgo de infección(50). En este sentido, conocer el nivel sérico de fármaco por encima del cual la mayoría de los pacientes se encuentran en remisión o en baja actividad clínica, permitiría reducir la dosis sin comprometer su eficacia.



## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN**

### **2.1 Hipótesis**

De acuerdo con lo referido anteriormente planteamos la siguiente hipótesis de trabajo:

Los pacientes con EspA tratados con ADL presentan menor actividad de la enfermedad en relación inversa al nivel sérico de fármaco.

### **2.2 Objetivo general**

Establecer la relación entre los niveles séricos de ADL y de AAF con los índices de actividad de la enfermedad en los pacientes con EspA.

### **2.3 Objetivos específicos**

Establecer el punto de corte de niveles séricos de fármaco por encima del cual la mayoría de los pacientes con EspA se encuentran en remisión clínica o baja actividad.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Diseño de investigación**

Estudio observacional transversal descriptivo.

El diseño del estudio propuesto es válido para alcanzar los objetivos. Observar el nivel de fármaco y AAF a determinadas concentraciones y a la vez determinar la presencia o ausencia de remisión clínica en los pacientes según los índices establecidos, es adecuado para investigar la hipótesis planteada. La principal limitación del trabajo, como cualquier trabajo transversal, será la imposibilidad de establecer causalidad entre las variables observadas.

#### **3.2 Población de estudio**

##### **Población diana**

Pacientes con EspA en tratamiento con ADL.

##### **Población accesible**

Pacientes con EspA en tratamiento con ADL en el Departamento de Salud 16 en seguimiento en Consultas Externas de Reumatología.

#### **3.3 Criterios de selección**

Pacientes consecutivos atendidos en Consultas Externas del Hospital Marina Baixa. Los pacientes pueden ser de ambos sexos han de ser mayores de 18 años, estar diagnosticados de EspA axial según

los criterios ASAS y haber recibido tratamiento con ADL, según la práctica clínica habitual, durante al menos 3 meses.

### **3.4 Muestra**

Para el cálculo del tamaño muestral se aceptó un riesgo alfa de 0,95 y una precisión de +/- 0,1 unidades en un contraste bilateral, para una prevalencia estimada de un 25% de pacientes con EspA en tratamiento con ADL que tuvieran mayor actividad de la enfermedad por bajos niveles séricos de fármaco. Se obtuvo un tamaño muestral estimado de 80 pacientes, asumiendo que la población es de infinitos sujetos y una reposición del 10%.

Dado el escaso número de pacientes se realizó un muestreo consecutivo no probabilístico.

### **3.5 Definición de variables y recogida de datos**

#### **VARIABLES DEL ESTUDIO**

En todos los pacientes se recogió información sobre la edad, género, índice de masa corporal, fecha de diagnóstico de EspA, datos de laboratorio, incluyendo HLAB27, velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR), tratamiento previo para la EspA, tanto FAMEcs como FAMEb, razones de interrupción y duración del tratamiento con ADL. Las pautas de tratamiento con ADL corresponden a la práctica clínica habitual, de 40 mg, vía subcutánea, cada 14 días, según el criterio del reumatólogo responsable del paciente.

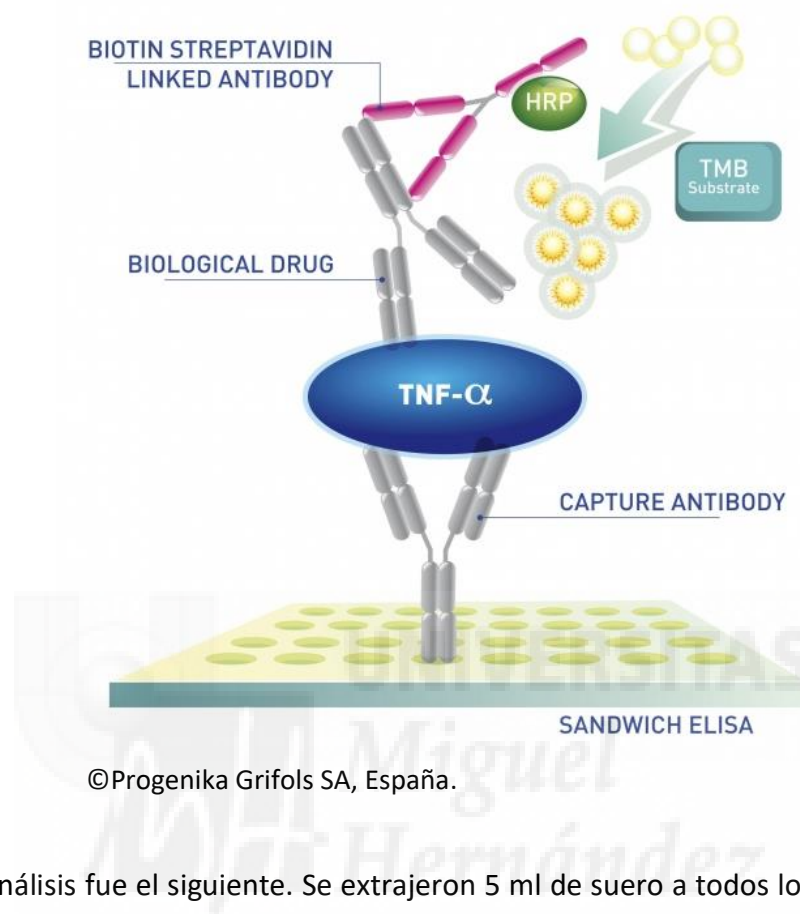
## **Evaluación de la actividad de la enfermedad**

La actividad de la EspA se evaluó a través de PGA en escala visual analógica de 100 mm, BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index)(51) y ASDAS (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score)(52). Los puntos de corte preestablecidos para BASDAI fueron: <4 baja actividad de la enfermedad y  $\geq 4$  enfermedad activa, y para ASDAS fueron: <1,3 enfermedad inactiva, 1,3 – 2,1 actividad moderada, 2,1 – 3,5 actividad alta y >3,5 actividad muy alta. Los pacientes fueron clasificados como respondedores cuando tuvieron un índice ASDAS <2,1 y BASDAI <4. Para evaluar la función física se obtuvo el índice BASFI (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index).

## **Medición de los niveles de ADL y de los AAF**

Para la medición de niveles de ADL y AAF se utilizó la segunda versión del Kit comercial Promonitor<sup>®</sup>, (Progenika Grifols SA, España) que ha sido validada clínica y analíticamente(53-55). Se trata de una prueba ELISA en sustrato sólido que contiene anticuerpos antiidiotipo contra ADL fijados a los micropocillos (figura 1). Al añadir el suero, el ADL libre hibridiza con estos anticuerpos. La cuantificación se realiza tras la hibridización de un segundo anticuerpo monoclonal dirigido contra ADL y acoplado a la enzima HRP (peroxidasa de rábano). La reacción enzimática, que utiliza el cromógeno TMB (tetrametil-benzidina), permite la cuantificación del número de complejos TNF $\alpha$ /ADL a través de espectrofotometría, utilizando una curva de calibración. La intensidad de la señal obtenida es proporcional a la cantidad de ADL en el suero del paciente. Para la medición de AAF se utilizó el mismo kit comercial, pero en este caso con ADL fijado a los micropocillos.

Figura 1: Representación esquemática de la prueba de ELISA tipo “Sandwich”



El proceso de análisis fue el siguiente. Se extrajeron 5 ml de suero a todos los pacientes justo antes de la siguiente dosis de ADL. La muestra se conservó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Todos los sueros fueron analizados bajo las condiciones estándar especificadas por el fabricante. Se realizaron 6 diluciones de las muestras séricas para cada curva (1,25–60 ng/mL para los niveles séricos de ADL y 3,13–200 AU/mL para los AAF). Todo el desarrollo analítico se llevó a cabo sin conocer los datos clínicos. La sensibilidad de la técnica es  $>0,024$  mg/L para los niveles séricos de ADL y  $>3,5$  AU/mL para los AAF. Las muestras con niveles de fármaco inferiores a 3 mg/L se consideraron subterapéuticas.

Cuando ambos resultados de niveles de ADL y AAF fueron negativos, se realizó un protocolo de disociación ácida pretratamiento recomendado por el fabricante, que permite la detección de AAF

en presencia de antígeno, cuando los posibles complejos fármaco-anticuerpo son desagregados(56). El protocolo de la técnica es el siguiente. Veinte  $\mu\text{L}$  de suero se mezclaron con 100 mL de ácido acético 300 mM hasta un pH final de 3.0. Tras incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos, las muestras fueron neutralizadas añadiendo 31  $\mu\text{L}$  de solución base Tris 1 M. Tras 5 minutos de agitación 49  $\mu\text{L}$  del tampón se añadieron para obtener un factor de dilución 1:10.

### **3.7 Proceso y análisis de los datos**

Para el registro de los datos se utilizó una base de datos de Microsoft Excell® que permite la entrada de registros de forma normalizada. El tratamiento estadístico se realizó utilizando en programa SPSS® 22.0 y R Core Team® para Windows®. El estudio descriptivo de las variables cuantitativas de los sujetos se realizó mediante la estimación puntual, tratando las variables como medias, desviaciones estándar o medianas y rango intercuartílico, según la distribución de cada una de ellas. El análisis de las variables continuas de distribución normal se llevó a cabo a través de la prueba t-Student, y el análisis de las no paramétricas mediante el método de Kruskal Wallis o U-Mann Whitney. Las variables categóricas se analizaron utilizando la prueba de Chi-cuadrado con la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Las asociaciones entre variables continuas se realizaron utilizando el coeficiente de correlación de Spearman. Se consideraron cambios significativos cuando la probabilidad asociada a la comparación fue menor de 0.05. Se dividieron los pacientes por terciles según el nivel de ADL para observar el comportamiento de las diferentes variables. Para evaluar la diferencia entre las medias se utilizó la prueba de Friedman.

Se realizó un modelo lineal multivariante utilizando ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y BASDAI como variable dependiente. Se comprobó la normalidad de la variable mediante el contraste de Shapiro-Wilks. Para

el análisis de la homocedasticidad se aplicó el contraste de Breusch-Pagan. La posible correlación en los residuos se analizó con el contraste de Durbin-Watson. Se calculó una curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para obtener un valor de corte para los niveles valle de ADL que discriminara a los pacientes considerados respondedores según los índices BASDAI<4 y ASDAS<2.1.

### 3.8 Cronograma y presupuesto

#### Cronograma

El estudio se planteó en 24 meses con tres fases diferenciadas (tabla 1).

Tabla 1. Cronograma

Mes	Diseño	Recogida de datos	Análisis de datos	Conclusiones
1-2	X			
2-20		X		
21-22			X	
22-24				X

#### Presupuesto

Los recursos necesarios para el desarrollo del trabajo fueron propios exceptuando la determinación de niveles séricos de ADL y AAF que se subvencionó a través de la Asociación para la Investigación en Reumatología de la Marina Baixa (AIRE-MB) y de una beca de la Fundación Española de Reumatología (FER 2012).



### **3.9 Ética y buenas prácticas clínicas**

El estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitario de San Juan (Alicante) (Anexo 1) y todos los participantes firmaron el consentimiento informado antes de participar (Anexo 2 y 3). Todos los procedimientos del estudio se realizaron de acuerdo con los Principios Éticos de la Declaración de Helsinki de 1964 y sus revisiones posteriores. Se trata de un estudio observacional y el reumatólogo del paciente fue el único responsable de la indicación del tratamiento, según la práctica clínica habitual en el departamento.

### **3.10 Conflicto de interés**

El autor declara haber recibido pagos por ponencias, asesorías o gastos de traslados y alojamiento de las siguientes compañías farmacéuticas: Abbvie, BMS, Celgene, Janssen, Lilly, MSD, Novartis, Pfizer, Roche y UCB.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Características basales

Hasta enero de 2016 se incluyeron en el estudio 51 pacientes, de un total de 60 pacientes cribados. Dos se excluyeron por no cumplir con los criterios diagnósticos y otros 7 por no disponer de datos de actividad clínica en la fecha de la extracción de niveles. Las características basales de los pacientes se resumen en la tabla 2. La edad media  $\pm$  DE fue de  $46,9 \pm 12,0$  años (rango: 18-68) y un 47,1% fueron mujeres. El HLAB27 fue positivo en 42 pacientes (82,4%) y 25 pacientes tuvieron signos de sacroilitis radiográfica (52,1%). El tiempo medio de evolución de la enfermedad fue de  $122,9 \pm 125,5$  meses (rango: 2-408) y el tiempo medio del tratamiento con ADL fue de  $17,8 \pm 18,6$  meses (rango: 1-69). En 36 pacientes (70,6%) ADL fue el primer biológico y 11 (21,6%) estaban en tratamiento concomitante con FAMEcs, principalmente MTX (15,7%) y SSZ (5,9%). Las dosis de MTX utilizadas variaron desde 10 hasta 25 mg por semana, con una mediana de 20 mg por semana. Las puntuaciones medias de BASDAI, ASDAS-PCR y ASDAS-VSG fueron 4,0 (DE: 2,3), 2,1 (DE: 2,1) y 2,1 (DE: 1,0) respectivamente.

Tabla 2. Características demográficas e índices de actividad según la presencia de AAF.

	Todos	AAF negativos	AAF positivos	p-valor
<b>n (%)</b>	51 (100)	37 (72,6)	14 (27,4)	
<b>Edad, años</b>	$46,9 \pm 12,0$	$44,9 \pm 11,9$	$52,2 \pm 10,9$	0.048251
<b>Mujeres, n (%)</b>	24 (47,1)	16 (43,2)	8 (57,1)	0.537231
<b>IMC</b>	$27,0 \pm 4,2$	$26,1 \pm 4,1$	$29,3 \pm 3,6$	0.0144
<b>Tiempo evolución, meses</b>	$122,9 \pm 125,5$	$85,8 \pm 91,0$	$220,8 \pm 153,0$	0.007012
<b>HLAB27 +, n (%)</b>	42 (82,4)	31 (83,8)	11 (78,6)	0.685657
<b>Sacroilitis Rx, n (%)</b>	25 (52,1)	17 (50,0)	8 (57,1)	0.51

	Todos	AAF negativos	AAF positivos	p-valor
<b>BASFI</b>	4,0 ± 2,5	3,2 ± 2,4	6,0 ± 1,5	0.000352
<b>BASDAI</b>	4,0 ± 2,3	3,3 ± 2,3	5,8 ± 1,1	0.000003
<b>ASDAS-PCR</b>	2,1 ± 1,1	1,8 ± 0,9	3,2 ± 0,7	0.00003
<b>ASDAS-VSG</b>	2,1 ± 1,0	1,8 ± 0,9	3,0 ± 0,4	0.000131
<b>PCR (mg/L)</b>	3,5 ± 5,1	1,9 ± 1,4	8,2 ± 8,2	0.000011
<b>VSG (mm/h)</b>	10,3 ± 13,7	7,5 ± 9,9	17,7 ± 19,5	0.0064
<b>PGA</b>	4,0 ± 2,6	3,4 ± 2,7	5,7 ± 1,7	0.008315
<b>Anti-TNF previo, n (%)</b>	15 (29,4)	11 (29,7)	4 (28,6)	1
<b>Tiempo ADL, meses</b>	17,8 ± 18,6	24 ± 21,1	12,9 ± 5,7	0.249369
<b>FAME, n (%)</b>	11 (21,6)	11 (29,7)	0 (0)	0.022989

Todos los datos mostrados son medias ± desviación estándar, excepto que se especifique. ADL: adalimumab; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; PGA: Patient global assessment; FAME: fármaco antirreumático modificador de la enfermedad; IMC: Índice de masa corporal; MTX: metotrexato; PCR: proteína C reactiva; SSZ: sulfasalacina; VSG: velocidad de sedimentación globular.

## 4.2 Nivel de ADL y AAF

El nivel medio de ADL en nuestros pacientes fue de  $7.05 \pm 5.66$  mg/L. Se detectaron niveles terapéuticos de ADL ( $>3$  mg/L) en 36 pacientes (70,6%), en ninguno de estos pacientes se detectaron AAF (tabla 3). Se detectaron AAF ( $>3,5$  UA/ml) en 14 pacientes (27,45%) todos ellos con niveles séricos de ADL subterapéuticos ( $<3$  mg/L) (tabla 3), con un nivel medio de ADL de  $0,17 \pm 0,4$  mg/L. En un paciente no se detectaron niveles de fármaco ni AAF, a pesar de realizar la disociación ácida, lo que se atribuyó a falta de adherencia al tratamiento.

Tabla 3. Relación entre niveles de ADL y AAF

Nivel ADL	AAF		
	<3,5 UA/mL	>3,5 UA/mL	Todos
>3 mg/L	36	0	36
<3 mg/L	1	14	15
Todos	37	14	51

AAF: anticuerpos antifármaco; ADL: adalimumab.

### 4.3 Relación entre niveles de ADL, AAF y actividad clínica

La presencia de AAF, se relacionó de forma estadísticamente significativa con empeoramiento en todas las variables de actividad clínica, de modo que los pacientes con AAF tuvieron mayor índice BASDAI, ASDAS-PCR, ASDAS-VSG, PGA, mayores cifras de VSG y PCR, y peor capacidad funcional evaluada por el índice BASFI (tabla 2). Asimismo, estos pacientes AAF positivos se observó mayor edad, mayor índice de masa corporal (IMC) y mayor tiempo de evolución de la enfermedad. No se observaron diferencias en cuanto al sexo, la presencia de HLAB27, ni el uso previo de anti-TNF. El uso concomitante de FAMEcs se relacionó con la ausencia de AAF, destacando que ninguno de los pacientes con AAF positivos los estaba utilizando en el momento de la medición ( $p < 0,05$ ) (tabla 2). Además, el uso de FAMEcs se relacionó con baja actividad de la EspA según BASDAI <4 de forma estadísticamente significativa (tabla 6), pero no con los índices ASDAS <2.1 (tablas 4 y 5). Asimismo, los pacientes clasificados como remisión/baja actividad respecto a los que presentaban alta actividad (ASDAS-PCR <2.1, ASDAS-VSG <2.1 y BASDAI <4), tuvieron mayor nivel medio de ADL:  $10.1 \pm 4.8$  vs  $3.7 \pm 4.9$  mg/L,  $10.5 \pm 3.2$  vs  $4.9 \pm 6.1$  mg/L y  $8.9 \pm 4.1$  vs  $4.7 \pm 5.4$  mg/L respectivamente (tablas 4, 5 y 6; figuras 2, 3 y 4). También se observó en estos pacientes con baja actividad de la EspA, de forma estadísticamente significativa, menor nivel de AAF, menor índice BASFI y menor IMC (tablas 4, 5 y 6). No se observaron diferencias en la edad ni en el tiempo en tratamiento con ADL.

Tabla 4. Variables demográficas y nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por ASDAS-PCR.

	ASDAS-PCR < 2,1 (n=25)	ASDAS-PCR ≥ 2,1 (n=21)	p-valor
<b>Edad, años</b>	45,0 ± 12,7	49,2 ± 11,9	N.S.
<b>BASFI</b>	2,6 ± 2,2	6,1 ± 1,0	<0,001
<b>IMC</b>	25,5 ± 3,8	28,8 ± 4,1	<0,01
<b>Tiempo ADL, meses</b>	20,8 ± 19,3	13,5 ± 15,0	N.S.
<b>Nivel ADL, mg/L</b>	10,1 ± 4,8	3,7 ± 4,9	<0,001
<b>AAF, mg/L</b>	9,2 ± 27,9	283,6 ± 606,0	<0,001
<b>AAF, n (%)</b>	1 (4,0)	11 (52,4)	<0,001
<b>FAME, n (%)</b>	8 (32,0)	3 (14,2)	N.S.

Todos los datos mostrados son medias ± desviación estándar, excepto que se especifique. AAF: anticuerpos antifármaco; ADL: adalimumab; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; FAME: fármaco anti-reumático modificador de enfermedad; IMC: Índice de masa corporal; PCR: proteína C reactiva.

Figura 2. Nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por ASDAS-PCR.

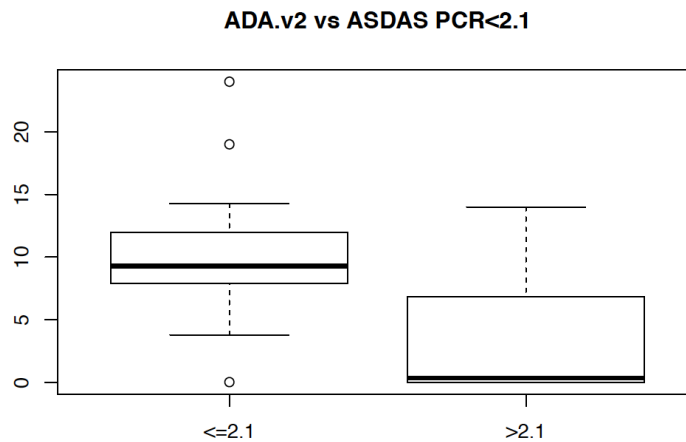


Tabla 5. Variables demográficas y nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por ASDAS-VSG.

	ASDAS-VSG < 2,1 (n=19)	ASDAS-VSG ≥ 2,1 (n=26)	p-valor
Edad, años	41,7 ± 11,0	49,6 ± 12,5	<0,05
BASFI	1,5 ± 1,3	6,1 ± 1,3	<0,001
IMC	24,9 ± 3,5	28,5 ± 4,0	<0,01
Tiempo ADL, meses	22,9 ± 22,4	13,0 ± 11,2	N.S.
Nivel ADL, mg/L	10,5 ± 3,2	4,9 ± 6,1	<0,001
AAF, mg/L	3,5 ± 0,0	233,0 ± 549,6	<0,001
AAF, n (%)	0 (0)	12 (46,2)	<0,01
FAME, n (%)	6 (31,5)	4 (15,3)	N.S.

Todos los datos mostrados son medias ± desviación estándar, excepto que se especifique. AAF: anticuerpos antifármaco; ADL: adalimumab; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; IMC: Índice de masa corporal; FAME: fármaco anti-reumático modificador de enfermedad; VSG: velocidad de sedimentación globular.

Figura 3. Nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por ASDAS-VSG.

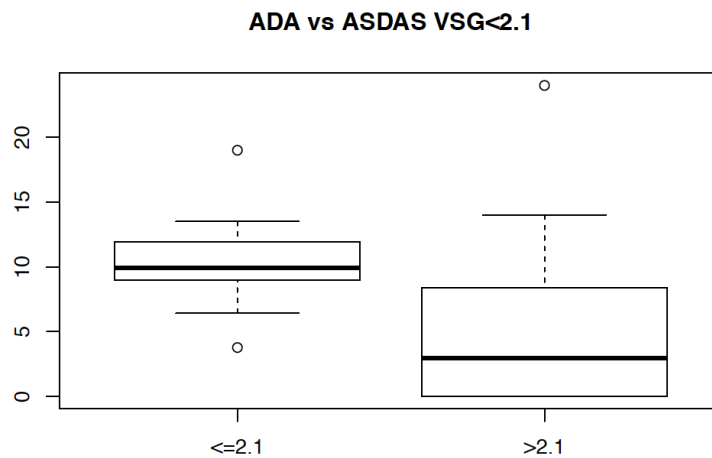
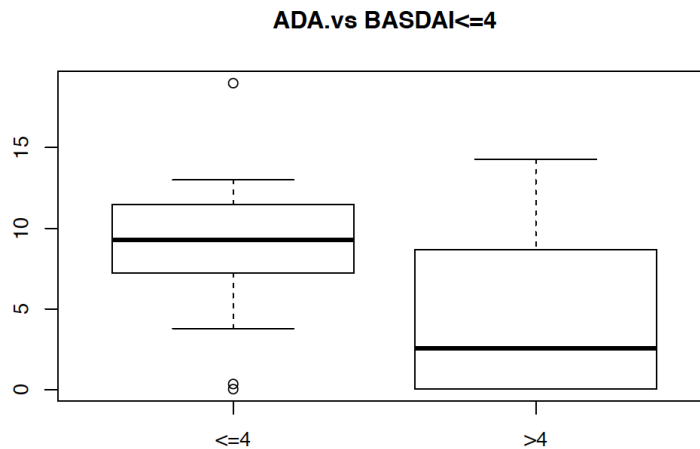


Tabla 6. Variables demográficas y nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por BASDAI.

	BASDAI < 4 (n=20)	BASDAI ≥ 4 (n=30)	P-valor
Edad, años	45,0 ± 11,8	47,8 ± 11,6	0,34
BASFI	2,3 ± 2,3	5,7 ± 1,3	0,0001
IMC	25,6 ± 3,7	28,2 ± 4,4	0,03
Tiempo ADL, meses	19,2 ± 20,8	15,8 ± 16,4	0,96
Nivel ADL, mg/L	8,9 ± 4,1	4,7 ± 5,4	0,0065
AAF, mg/L	11,1 ± 29,6	241,1 ± 550,4	0,0036
AAF, n (%)	0 (0)	14 (46,7)	<0,001
FAME, n (%)	7 (35,0)	3 (10,0)	<0,05

Todos los datos mostrados son medias ± desviación estándar, excepto que se especifique. AAF: anticuerpos antifármaco; ADL: adalimumab; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; FAME: fármaco anti-reumático modificador de enfermedad; IMC: Índice de masa corporal.

Figura 4. Nivel de ADL según actividad de la enfermedad evaluada por BASDAI.



## 4.5 Actividad de la enfermedad según la distribución por terciles de los niveles de ADL

Se dividió el conjunto de pacientes en terciles según el nivel de ADL (<4, 4-9,2 y >9,2 mg/L) y se observó el comportamiento de las diferentes variables (tabla 7). Los pacientes que se encontraban en el primer tercil mostraron mayor nivel medio de AAF y una puntuación media mayor en los índices BASDAI, ASDAS-PCR y ASDAS-VSG, frente a los que se encontraban en el 2º y 3er tercil (tabla 7 y figura 5). Asimismo, los pacientes en el primer tercil tuvieron mayor media de edad y de IMC (tabla 7).

Tabla 7. Descriptivos básicos según los niveles de ADL en terciles.

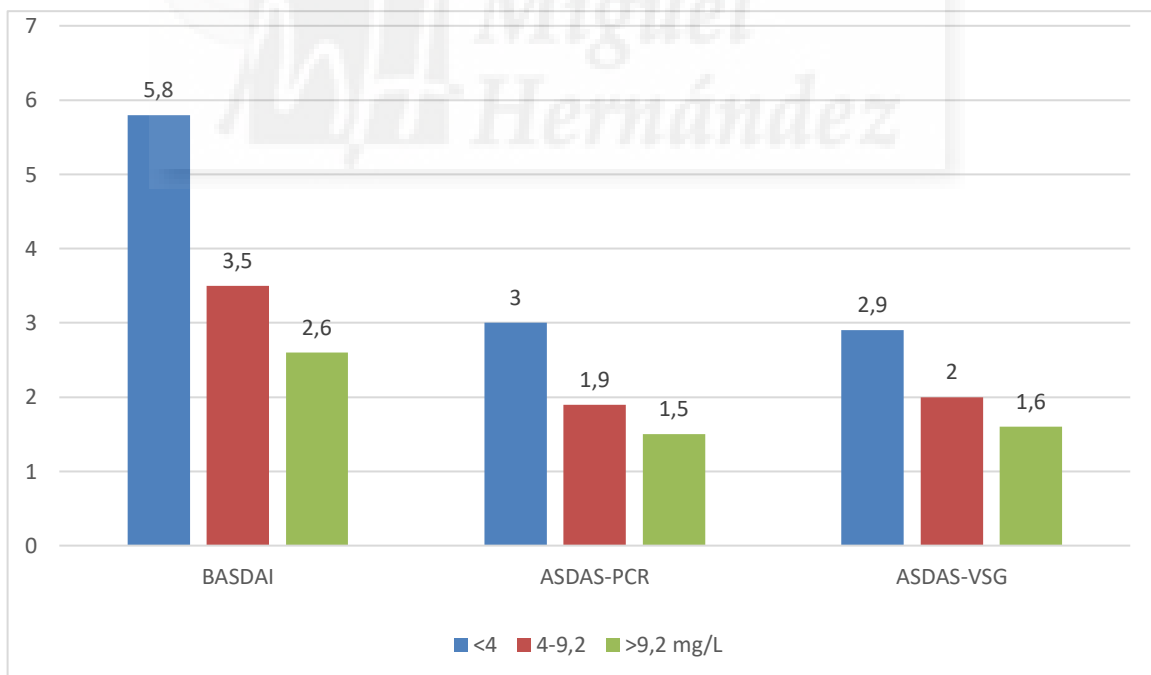
	Niveles	n	Min	Max	Media	Mediana	RIC
<b>Edad</b>	<4	17	25,9	67,9	52,8	51,9	15,9
	4-9,2	17	18,5	62,1	40,8	37,0	16,8
	>9,2	17	29,1	68,5	47,0	46,4	10,4
	<b>p=0,01</b>	todos	51	18,5	68,5	46,9	46,6
<b>IMC</b>	<4	17	23,1	36,1	29,2	28,7	4,0
	4-9,2	16	18,8	32,3	25,7	27,0	7,2
	>9,2	17	20,4	33,6	26,1	26,3	4,6
	<b>p=0,04</b>	todos	50	18,8	36,1	27,0	27,5
<b>AAF</b>	<4	17	3,5	2000,0	362,7	80,0	142,4
	4-9,2	15	3,5	3,5	3,5	3,5	0,0
	>9,2	16	3,5	3,5	3,5	3,5	0,0
	<b>p=0,0001</b>	todos	48	3,5	2000,0	130,7	3,5
<b>BASDAI</b>	<4	17	2,0	9,6	5,8	5,9	2,0
	4-9,2	17	0,0	7,0	3,5	3,8	3,4
	>9,2	16	0,0	5,2	2,6	2,0	3,0
	<b>p=0,00014</b>	todos	50	0,0	9,6	4,0	4,2



	Niveles	n	Min	Max	Media	Mediana	RIC
<b>ASDAS-PCR</b>	<4	15	1,1	4,3	3,0	3,0	1,2
	4-9,2	16	0,4	3,3	1,9	1,9	1,0
	>9,2	15	0,6	2,8	1,5	1,2	1,1
	<b>p=0,00026</b> todos	46	0,4	4,3	2,1	2,0	1,7
<b>ASDAS-VSG</b>	<4	14	1,1	3,9	2,9	2,8	0,8
	4-9,2	15	0,6	3,5	2,0	2,2	1,2
	>9,2	16	0,6	3,6	1,6	1,5	1,1
	<b>p=0,00035</b> todos	45	0,6	3,9	2,1	2,3	1,6

AAF: anticuerpos anti-fármaco; ADL: adalimumab; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; RIC: Rango intercuartílico.

Figura 5. Índices de actividad según los niveles de ADL en terciles.

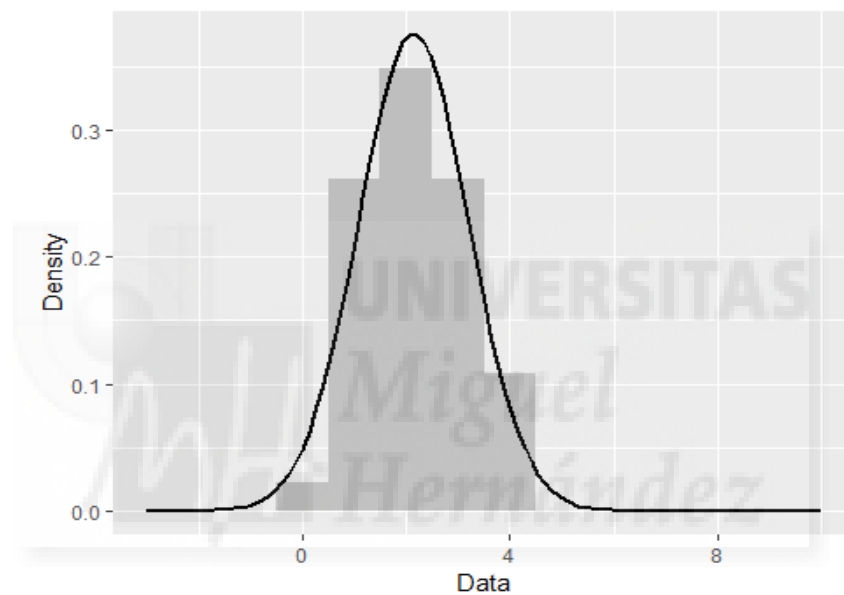


ADL: adalimumab; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index.

#### 4.4 Modelo multivariante

Para la estimación multivariante se utilizó un modelo lineal. Se comprobó normalidad en la variable dependiente ASDAS-PCR mediante el contraste de Shapiro-Wilks, obteniendo un p-valor de 0,21, por lo que podemos suponer que la variable es normal (figura 6).

Figura 6. Curva de distribución de la variable ASDAS-PCR.



Para comprobar la homocedasticidad se aplicó el contraste de Breusch-Pagan. Se evaluó el efecto de las variables: sexo, edad, IMC, nivel de ADL, uso previo de anti-TNF y FAME concomitante. El modelo mostró una relación negativa entre el nivel de ADL y la actividad de la EspA según ASDAS-PCR (tabla 8). En el resto de las variables no se encontraron diferencias, aunque IMC se acercó a la significancia estadística. Este mismo modelo se replicó para ASDAS-VSG y BASDAI obteniendo la misma relación negativa entre actividad de la EspA y nivel de ADL (tablas 9 y 10).

Tabla 8. Modelo lineal multivariante. Variable dependiente ASDAS-PCR

	<b>Coficiente</b>	<b>Intervalos</b>	<b>p-valor</b>	<b>n</b>
<b>Sexo</b>	0,018	-0,6 – 0,56	0,951	46
<b>Edad</b>	0,0003	-0,02 – 0,03	0,807	46
<b>Nivel de ADL</b>	-0,080	-0,13 – - 0,03	0,004	46
<b>IMC</b>	0,077	0 – 0,16	0,051	46
<b>Anti-TNF previo</b>	0,267	-0,34 – 0,87	0,376	46
<b>FAME</b>	-0,205	-0,84 – 0,43	0,515	46

ADL: adalimumab; TNF: factor de necrosis tumoral; FAME: fármaco antirreumático modificador de la enfermedad.

Tabla 9. Modelo lineal multivariante. Variable dependiente ASDAS-VSG

	<b>Coficiente</b>	<b>Intervalos</b>	<b>p-valor</b>	<b>n</b>
<b>Sexo</b>	0,189	-0,35 – 0,73	0,480	45
<b>Edad</b>	0,013	-0,01 – 0,04	0,285	45
<b>Nivel de ADL</b>	-0,070	-0,12 – - 0,02	0,006	45
<b>IMC</b>	0,070	0 – 0,14	0,062	45
<b>Anti-TNF previo</b>	0,134	-0,42 – 0,68	0,624	45
<b>FAME</b>	0,039	-0,56 – 0,63	0,896	45

ADL: adalimumab; TNF: factor de necrosis tumoral; FAME: fármaco antirreumático modificador de la enfermedad.

Tabla 10. Modelo lineal multivariante. Variable dependiente BASDAI

	Coefficiente	Intervalos	p-valor	n
<b>Sexo</b>	0,386	-0,87 – 1,64	0,539	49
<b>Edad</b>	-0,013	-0,07 – 0,05	0,655	49
<b>Nivel de ADL</b>	-0,211	-0,34 – -0,09	0,002	49
<b>IMC</b>	0,109	0,06 – 0,28	0,211	49
<b>Anti-TNF previo</b>	0,110	-1,21 – 1,43	0,868	49
<b>FAME</b>	-0,627	-2,1 – 0,85	0,396	49

ADL: adalimumab; TNF: factor de necrosis tumoral; FAME: fármaco antirreumático modificador de la enfermedad.

#### **4.6 Punto de corte de nivel de ADL para discriminar baja actividad de la enfermedad**

Se calcularon las curvas ROC para el nivel de fármaco por encima del cual la mayoría de los pacientes se encontraban en moderada o baja actividad de la enfermedad (figuras 7, 8 y 9). Los puntos de corte obtenidos fueron 4,6 mg/L, 7,7mg/L y 6,4 mg/L para ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y BASDAI respectivamente. La sensibilidad, especificidad y área bajo la curva (AUC) de cada punto de corte se detallan en la tabla 11.

Figura 7. Curva ROC para nivel de ADL respecto a actividad ASDAS-PCR.

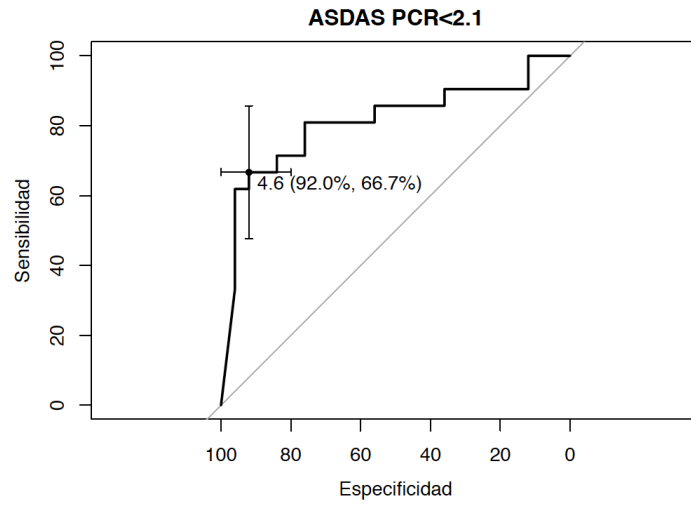


Figura 8. Curva ROC para nivel de ADL respecto a actividad ASDAS-VSG.

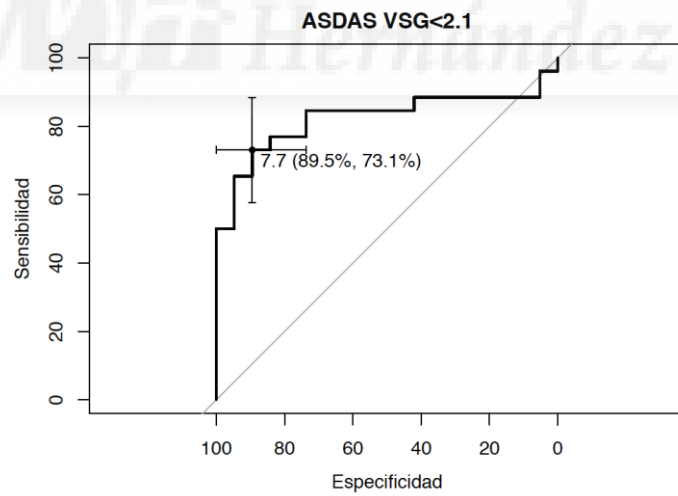


Figura 9. Curva ROC para nivel de ADL respecto a actividad BASDAI.

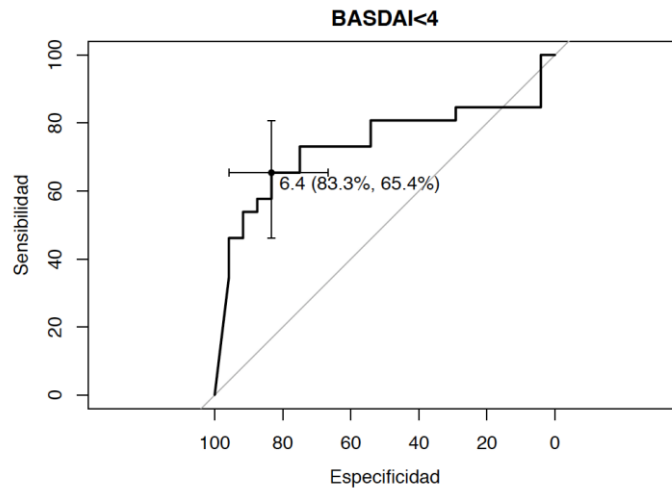


Tabla 11. Puntos de corte y AUC de las curvas ROC para nivel de ADL respecto a actividad.

	Punto de corte mg/L	Sensibilidad	Especificidad	AUC
<b>ASDAS-PCR &lt;2,1</b>	4,6	92,0%	66,7%	81,24%
<b>ASDAS-VSG &lt;2,1</b>	7,7	89,5%	73,1%	82,39%
<b>BASDAI &lt;4</b>	6,4	83,3%	65,4%	73,48%

ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; AUC: área bajo la curva.

## 5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La terapia biológica es el tratamiento de elección para las manifestaciones axiales de los pacientes con EspA que no responden a AINEs. El fracaso primario o secundario de los anti-TNF para reducir la actividad de la enfermedad constituye una barrera en el tratamiento de estos pacientes, puesto que las alternativas actualmente se limitan a la inhibición de la IL-17. ADL es uno de los anti-TNF con más eficacia en las diferentes manifestaciones de la EspA, incluyendo psoriasis, uveítis, artritis y enfermedad inflamatoria intestinal, por lo que se ha convertido en uno de los fármacos biológicos más utilizados en el mundo. Sin embargo, no todos los pacientes responden al tratamiento y en otros se observa una pérdida posterior de la eficacia. La inmunogenicidad, es decir, la formación de AAF, se ha relacionado con esta falta de respuesta, por la rápida eliminación del fármaco de la sangre y, por ende, la disminución de sus niveles séricos.

### 5.1 Características basales

Las características basales de nuestros pacientes son acordes a otras cohortes publicadas de pacientes con EspA. Un 47% de nuestros pacientes son mujeres. Aunque en la EA los pacientes son predominantemente varones, los estudios con EspA no radiográfica reportan un porcentaje similar de mujeres y hombres(7, 57, 58). Nuestro análisis muestra que los pacientes con AAF tienen mayor edad y mayor tiempo de evolución (Tabla 2). Esta observación no se ha reportado en estudios previos con un menor número de pacientes(59).

## 5.2 Nivel de ADL y AAF

El nivel medio de ADL en nuestros pacientes es de 7,05 mg/L. Estos resultados son acordes con un estudio previo con más de 14000 muestras de suero donde se encontró un nivel medio de ADL de 8.8 mg/L con la dosis estándar (40 mg cada 14 días)(60). En nuestro estudio encontramos AAF contra ADL es del 27,5% de los pacientes. En los estudios previos el porcentaje de pacientes con AAF contra ADL reportado es muy variable, desde 13% hasta 58%(23, 30, 31, 34, 59, 61-63).

## 5.3 Relación entre niveles de ADL, AAF y actividad clínica

Nuestros pacientes con AAF muestran, de forma estadísticamente significativa, mayor índice BASDAI, BASFI, ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y PGA, así como mayores niveles de VSG y PCR. Del mismo modo, los pacientes que se encontraban en el primer tercil de nivel de ADL (<4 mg/L), mostraron mayor nivel medio de AAF y una puntuación media mayor en los índices de actividad de la enfermedad. Estos hallazgos se confirman en el modelo multivariante, donde el nivel de ADL se relaciona de forma estadísticamente significativa con menor actividad clínica en los 3 índices, tras ajustar por edad, sexo, IMC, uso previo de anti-TNF y uso concomitante de FAMEcs. Estos resultados son similares a los publicados por otros autores (tabla 12). De Vries et al. obtuvieron un 31% de AAF, mediante ELISA, en 35 pacientes con EA, lo que se relacionó con peor respuesta clínica(23). En el estudio de Arends et al., en 20 pacientes con EA, obtienen un porcentaje de AAF del 30%, utilizando RIA, lo que se correlacionó con menores niveles séricos de ADL y mayor actividad clínica(34). En el trabajo de Paramarta et al., también con RIA, detectan AAF en el 23% de 26 pacientes con EspA periférica tratados con ADL(61). Sin embargo, este estudio no encuentra relación con la respuesta clínica ni con el uso de FAMEcs. Uno de los motivos de este resultado podría ser el número limitado de pacientes.



Kneepkens et al., utilizando ELISA, reportan AAF en 27% de 115 pacientes con EA, correlacionándose con menor nivel de ADL y mayor actividad clínica(62). Los pacientes proceden de 2 cohortes de Holanda y Taiwán, encuentran mayor porcentaje de AAF en los taiwaneses, 40% vs 22% (p=0,06), que tienen una enfermedad más grave y de mayor tiempo de evolución. El estudio de Cludts et al., es un ensayo prospectivo que utilizó electroquimioluminiscencia e incluyó a 21 pacientes con EA, de los cuales un 58% desarrollaron AAF. Encontraron menores niveles de ADL en estos pacientes, pero no encontraron diferencias en cuanto al BASDAI a las 12 ni a las 24 semanas. Sin embargo, sí que existía una correlación negativa entre los niveles de ADL y el BASDAI ( $r = -0,27$ ;  $p = 0,032$ )(63). Por último, Bornstein et al., con técnicas de ELISA, encuentran AAF en 13% de los 16 pacientes con EspA axial y lo correlacionan con peor respuesta clínica(59).

Tabla 12. Porcentaje de AAF y relación con la actividad clínica en estudios previos.

Autor (año)	n	Diagnóstico	Método	AAF	Relación con actividad clínica
De Vries (2009)(23)	35	EA	ELISA	31%	Si
Arends (2010)(34)	20	EA	RIA	30%	Si
Paramarta (2014)(61)	26	EspA periférica	RIA	23%	No
Kneepkens (2015)(62)	115	EA	ELISA	27%	Si
Cludts (2017)(63)	21	EA	EQL	58%	Si
Bornstein (2018)(35)	16	EspA axial	ELISA	13%	Si
<b>Marina Baixa</b>	51	EspA axial	ELISA	27%	Si

AAF: anticuerpos antifármaco; EA: espondilitis anquilosante; ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; EspA: espondiloartritis; EQL: electroquimioluminiscencia; RIA: radioinmunoanálisis.

## 5.4 Influencia del uso de FAMEcs en el desarrollo de AAF

Ciertos factores pueden influir en el nivel sérico de ADL y en el desarrollo de AAF, especialmente el uso concomitante de FAMEcs y el IMC. El 21,6% de nuestros pacientes recibió FAMEcs, la mayor parte MTX (15,7%), y ninguno de estos pacientes desarrolló AAF. Esta asociación se ha reportado previamente en AR y de forma menos frecuente en los estudios con EspA axial, puesto que su uso concomitante es menos común. En 272 pacientes con AR en tratamiento con ADL, Bartelds et al. reportaron una prevalencia de AAF del 28%, el uso de FAMEcs fue menor en estos pacientes: 63%, frente a un 88% en los pacientes sin AAF(64). En nuestro departamento, encontramos una prevalencia de AAF del 7%, en 57 pacientes con AR en tratamiento con ADL, de los que el 100% estaba en tratamiento con FAMEcs(65). En el trabajo de Krieckaert et al. en 272 pacientes con AR en tratamiento con ADL, los que utilizaron MTX tuvieron menor riesgo de desarrollar AAF (OR 0.20 (95% CI 0.12- 0.34,  $p < 0.001$ ) de forma dosis-dependiente(66). En el estudio de Plasencia et al., en 94 pacientes con EspA en tratamiento con INF, el desarrollo de AAF fue más frecuente en pacientes que no recibían MTX concomitante (34% vs 11%;  $p = 0,011$ )(67).

## 5.5 Influencia del IMC en el desarrollo de AAF

En nuestros pacientes, la presencia de AAF y la alta actividad tanto por ASDAS como por BASDAI, se relacionó con un mayor IMC (tablas 2, 3, 4 y 5). También los pacientes en el primer tercil de nivel de ADL ( $< 4$  mg/L) mostraron mayor media de IMC. Sin embargo, en el modelo multivariante, la relación entre los índices de actividad y el IMC, aunque se acerca, no alcanza diferencias estadísticamente significativas, lo que se atribuye al tamaño de la muestra. Otros estudios han analizado la relación entre IMC y una menor respuesta clínica en EA o EspA tratados con anti-TNF. En un estudio previo,

en nuestros pacientes con EA, el IMC  $>30$  Kg/m<sup>2</sup> se relacionó con menor nivel de ADL y mayor actividad clínica por ASDAS y BASDAI, pero no con la presencia de AAF(68). En el estudio de Ottaviani et al, de 155 pacientes con EA en tratamiento con IFX, a los 6 meses los pacientes con mayor IMC presentaron peor respuesta BASDAI-50(69). En el estudio de Simone et al, de 153 pacientes con EA en tratamiento con anti-TNF, el sexo femenino y el IMC se relacionaron con una menor probabilidad de eficacia clínica (OR 40, 95%CI; 4.2- 333.3)(70). En el estudio de Gremese et al, de 170 pacientes con EA en tratamiento con IFX, ADL o ETN, aquellos con IMC elevado alcanzaron peor respuesta clínica, y el mejor factor predictor de falta de respuesta BASDAI-50 a los 12 meses fue un IMC $>30$  kg/m<sup>2</sup> (OR 3.57 95% CI: 1.15-11.11)(71). Algunos autores atribuyen estos hallazgos a una probable infra-dosificación en estos pacientes(72), mientras que otra explicación, no excluyente, sería un aumento de la producción de adipocinas proinflamatorias por el tejido graso(73).

## **5.6 Punto de corte de nivel de ADL para discriminar baja actividad de la enfermedad**

Un aspecto relevante para el clínico es conocer cuál es el nivel sérico de fármaco con el que se consigue un control adecuado de la enfermedad. Para contestar a esta pregunta se utilizan las curvas ROC en busca del punto de corte óptimo para discriminar a las pacientes que presentan baja o moderada actividad de la enfermedad frente a los pacientes con elevada actividad. En nuestro estudio, el punto de corte obtenido es diferente según el índice utilizado. Para ASDAS-PCR, ASDAS-VSG y BASDAI se obtuvieron 4.6 mg/L, 7.7mg/L y 6.4 mg/L respectivamente. Hasta donde conocemos, este es el primer estudio que reporta un punto de corte óptimo para clasificar a los pacientes con EspA axial con baja actividad clínica. En nuestros pacientes con AR, utilizando la técnica ELISA, un punto de

corte de nivel sérico de ADL >4.3 mg/L fue el óptimo para discriminar a los respondedores con DAS28-VSG <3.2 (65). Otros estudios han investigado en AR el nivel sérico de ADL que predice una remisión clínica persistente tras la reducción de la dosis (tabla 13). Chen et al. obtienen un punto de corte de nivel de ADL de >6.4 mg/L, utilizando DAS28-VSG (41) y Bouman et al. obtienen >7.8 mg/L, utilizando DAS28-PCR(42). En enfermedad de Crohn otros estudios han investigado el punto de corte de nivel sérico de ADL que mejor predice la remisión clínica, reportando niveles de >5.85 mg/L por Mazor et al.(43) y >5.0 mg/L por Nakase et al(44). En todos estos estudios se empleó la técnica ELISA. Otro estudio, utilizando la técnica “liquid-phase mobility shift assay” encuentra un punto de corte >8.14 mg/L para discriminar los pacientes con enfermedad de Crohn en los que desaparecen de las lesiones mucosas en íleo-colonoscopia(45). Por último, en pacientes con psoriasis, un nivel sérico de ADL >7.84 mg/L, obtenido mediante ELISA, fue el óptimo para discriminar a los pacientes con PASI ≥75 (46).

Tabla 13. Puntos de corte para discriminar a pacientes con enfermedad activa.

Autor (año)	Dco	n	Variable	Tiempo (meses)	Estimación	AUC
Rosas (2014) (28)	AR	57	DAS28	-	4.3	80 %
Chen (2016)(41)	AR	64	DAS28	6	6.4	99%
Bouman (2017)(42)	AR	42	DAS28	12-18	7.8	86%
Mazor (2014)(43)	EC	71	PhGA	-	5.85	75%
Nakase (2017) (44)	EC	176	CDAI	12	5.0	68%
Zittan (2016)(45)	EC	60	EMH	-	8.14	84%
Takahashi (2013)(46)	PsO	32	PASI75	-	7.84	-
<b>Marina Baixa</b>	<b>EspA</b>	<b>51</b>	<b>ASDAS</b>	-	<b>4.6</b>	<b>82%</b>

AR: artritis reumatoide; ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; AUC: área bajo la curva; CDAI: Crohn’s Disease Activity Index; DAS: Disease Activity Score; EC: enfermedad de Crohn; EMH: Endoscopic

Mucosal Healing; EspA: espondiloartritis; PASI: Psoriasis Area Severity Index; PhGA: Physician Global Assessment; PsO: Psoriasis.

Por tanto, no existe un único punto de corte de nivel sérico de ADL que discrimine a los pacientes con elevada actividad con independencia de la enfermedad a estudio. Esta variabilidad podría deberse a varios motivos. En primer lugar, los índices de actividad incluyen diferentes parámetros, que en el caso de BASDAI son completamente subjetivos, mientras que ASDAS y DAS28 incluyen parámetros analíticos objetivos. Por otro lado, el umbral utilizado para clasificar a los pacientes como respondedores condiciona el punto de corte de nivel de ADL en las curvas ROC. En nuestro trabajo seleccionamos el umbral de ASDAS  $< 2.1$  que clasifica como actividad moderada, en lugar de ASDAS  $< 1.3$  que clasifica como enfermedad inactiva, por ser este último demasiado exigente en la práctica clínica habitual. Esta elección ha aumentado el número de pacientes clasificados como respondedores y ha condicionado un punto de corte menor en las curvas ROC. Por último, es probable que los pacientes con EspA requieran un nivel superior de ADL para obtener la respuesta clínica adecuada, respecto a los pacientes con AR, que en su mayoría utilizan FAMEcs de forma concomitante.

## **5.7 Sesgos y limitaciones**

Una de las limitaciones de nuestro estudio es el tamaño muestral. Aunque se incluyeron de forma consecutiva a todos los pacientes que cumplían los criterios, no se alcanzó el tamaño muestral estimado de 80 pacientes. Sin embargo, un análisis post-hoc mostró un poder  $>90\%$  para encontrar diferencias en los niveles de ADL según la actividad de la enfermedad. Además, todos los pacientes provienen del mismo centro lo que homogeniza la muestra.

Por otro lado, se trata de un estudio transversal y las relaciones causales no pueden ser directamente establecidas, por lo que sería recomendable hacer estudios prospectivos que confirmen los resultados obtenidos.

Otra limitación de nuestro estudio podría ser la presencia de factores de confusión, como la toma concomitante de fármacos analgésicos, como los AINEs, o la existencia de comorbilidades causantes de dolor, como la artrosis, que pueden influenciar la actividad que se refleja en los índices. Desafortunadamente, no se recogieron datos al respecto.

Por último, reconocemos la dificultad de implementar la medición de niveles de fármaco en la práctica clínica, ya que supone añadir un procedimiento extra a nuestra rutina. Además, la extracción debe hacerse justo antes de la siguiente dosis de fármaco por lo que hay que calcular la fecha del análisis y asegurarnos de que el paciente puede acudir a la cita. Por otro lado, se añade el precio del kit de análisis, aunque se trata de un coste asequible, de aproximadamente 50 euros, y se justifica por el ahorro que puede suponer si ayuda a detectar precozmente fallos de eficacia y a espaciar el intervalo entre dosis en los pacientes que se encuentran en remisión clínica que tienen suficiente nivel sérico de fármaco. De forma adicional, puede ayudar a descubrir la falta de adherencia al tratamiento cuando no se encuentran niveles séricos de fármaco ni AAF a pesar de realizar la disociación ácida.

## 6. CONCLUSIONES

1. En conclusión, los pacientes con EspA axial en tratamiento con ADL que presentan AAF tienen menor nivel sérico de fármaco y mayor actividad de la enfermedad.
2. La obesidad aumenta la probabilidad de AAF y el uso concomitante de MTX la reduce.
3. Un punto de corte de ADL por encima de 4,6 mg/L discrimina a los pacientes que se encuentran en baja o moderada actividad de la EspA axial según ASDAS-PCR.



## 7. ANEXO

### 7.1 Certificado del Comité Ético de Investigación Clínica



AGÈNCIA VALENCIANA DE SALUT

DEPARTAMENTO DE SALUD ALICANTE - SANT JOAN D'ALACANT  
HOSPITAL UNIVERSITARI SANT JOAN  
C.E. STMA. FAZ Y ATENCIÓN PRIMARIA

#### COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN JUAN DE ALICANTE

D. DOMINGO OROZCO BELTRÁN, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario San Juan de Alicante,

#### CERTIFICA

Que este Comité, en su Reunión de fecha 28 de Enero de 2014, ha evaluado la propuesta del investigador principal **Dr. José Carlos Rosas Gómez** del Servicio de Reumatología del Hospital Marina Baixa, para que sea realizado el proyecto de investigación titulado **“EVALUACIÓN DE LA MONITORIZACIÓN DE LOS NIVELES DE ADALIMUMAB, ETANERCEPT Y GOLIMUMAB Y DE ANTICUERPOS ANTI-ADALIMUMAB, ANTI-ETANERCEPT Y ANTI-GOLIMUMAB, EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE ARTRITIS REUMATOIDE, ARTRITIS PSOTIÁTICA O ESPONDILITIS ANQUILOSANTE, EN TRATAMIENTO CON PAUTA ESTANDARIZADA Y EN PACIENTES EN REMISION CLÍNICA CON PAUTA ALARGADA”** Código de Comité: 14/303.

y que considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Son adecuados los procedimientos para obtener el consentimiento informado.
- El tratamiento de la información del estudio se realizará conforme a la legislación vigente de protección y confidencialidad de los datos en relación a los métodos, riesgos y tratamiento de los mismos tal y como se contempla en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos.

y que este Comité da su aprobación a dicho estudio para que sea realizado por el **Dr. José Carlos Rosas Gómez** del Servicio de Reumatología del Hospital Marina Baixa.

Lo que firmo en San Juan, a 29 de Enero de 2014



**Pdo.: Domingo Orozco Beltrán**



## 7.2 Hoja de información al paciente.

### HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

**Proyecto de Investigación titulado:** “Evaluación de la monitorización de los niveles de adalimumab, etanercept y golimumab, y de anticuerpos anti-adalimumab, anti-etanercept y anti-golimumab, en pacientes diagnosticados de artritis reumatoide, artritis psoriática o espondilitis anquilosante, en tratamiento con pauta estandarizada y en pacientes en remisión clínica con pauta alargada”.

**Investigador principal en el Hospital Marina Baixa:** Dr. José Rosas

**Servicio:** Reumatología

**Promotor del estudio:** Sección de Reumatología, del Hospital Marina Baixa

#### **Naturaleza y propósito del estudio**

Se solicita su participación en este Proyecto de Investigación, cuyos objetivos son analizar, en un grupo de pacientes, que reciben la dosis estandarizada o establecida y aprobada en la ficha técnica de los fármacos del estudio (adalimumab, etanercept o golimumab), la relación del nivel del fármaco y la detección de anticuerpos anti-fármaco con la eficacia clínica. En el grupo de pacientes en los que se ha conseguido la remisión de la enfermedad mantenida durante al menos 6 meses con uno de los fármacos del estudio con la dosis establecida, evaluar la eficacia clínica del alargamiento de la dosis de estos fármacos. El estudio tendrá una duración de 1 año.

En realidad, el ajuste del tratamiento de cualquier fármaco, ya sea el aumento o su reducción de la dosis, es una práctica rutinaria en Medicina. En muchas ocasiones se realiza teniendo en cuenta controles o datos objetivos, que se puedan medir y repetir sin dificultad, como por ejemplo el control de las cifras de tensión arterial o de glucemia.

Los fármacos anti-TNF, bloquean el mediador inflamatorio TNF-alfa, que tiene estrecha relación con su enfermedad, por lo que son compuesto de elevada eficacia. Sin embargo, en algunas ocasiones estos fármacos pueden perder su eficacia, debido a la formación de anticuerpos anti-fármaco, lo que puede provocar la disminución de la respuesta clínica.

#### **Derechos del paciente**

Este estudio está promovido por el Servicio de Reumatología del Hospital Marina Baixa. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y si Ud decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que Ud. Precise, sin que se vea afectada su relación con el Equipo Médico que le atiende..

Si decide participar, se le comunicará el resultado del estudio, así como cualquier información importante que se descubra a lo largo del mismo y que pudiera afectar a su condición o a su voluntad de seguir participando en el estudio.

#### **Deberes y responsabilidad del paciente**

1. Acudir a las citas concertadas del estudio cada 4 meses. Si no pudiera acudir, debe contactar con su reumatólogo o con alguna de las personas del equipo, para reprogramar una cita lo antes posible.

2. Comunicar a su reumatólogo o a alguna de las personas del equipo cualquier efecto secundario que aparezca durante el periodo del estudio.
3. Comunicarse con el equipo investigador, si cree estar embarazada.
4. Cumplimentar los cuestionarios del estudio, tal y como se le han indicado.
5. Comunicar al equipo investigador si en algún momento desea abandonar el estudio.
6. Si finalmente decide participar, debe firmar este documento de consentimiento informado.

### **Beneficios de su participación**

La participación en este estudio, en el caso de pauta estandarizada, implica que su equipo médico dispondrá de datos para un mejor seguimiento clínico, especialmente en el aspecto novedoso de los niveles de fármacos anti-TNF. Sin embargo, no podemos garantizarle que obtenga mayor beneficio clínico.

La participación en el apartado de pauta alargada, implica que usted ha alcanzado una remisión clínica prolongada con el tratamiento actual. No podemos garantizarle que obtenga mayor beneficio. Sin embargo, conseguir una reducción de la dosis del fármaco anti-TNF, disminuye probablemente la posibilidad de efectos secundarios y también disminuye el coste del tratamiento.

En ambos apartados, su participación en el estudio puede ayudar a otros pacientes y a otros médicos en el futuro al proporcionar información relevante sobre el uso de estos fármacos en estas enfermedades reumáticas.

### **Cuestiones económicas**

Ni usted, ni el equipo investigador, al ser el Promotor del estudio, recibirán compensación económica, por la realización del estudio.

### **Procedimientos del estudio**

Si Ud. decide participar, se le realizará una valoración al inicio del estudio (o basal) y posteriormente en las visitas al reumatólogo cada 4 meses, se llevará a cabo una evaluación similar a la realizada en la práctica clínica cotidiana, en el Servicio de Reumatología, y que consiste en:

- 1) Evaluación clínica de sus articulaciones, para saber las que están dolorosas e inflamadas, junto con los controles analíticos de sangre habituales en la práctica cotidiana, para evaluar posible toxicidad de los fármacos y evaluar marcadores de inflamación como la velocidad de sedimentación o la proteína C reactiva.
- 2) Se le solicitará que usted se autoevalúe, acerca del dolor y de la actividad de la enfermedad en la última semana y que rellene algunos cuestionarios que analizan diversos aspectos de su enfermedad reumática.
- 3) Se le extraerán, además, 5 cc de sangre, para medir el nivel del fármaco anti-TNF que está tomando y los posibles anticuerpos anti fármaco anti-TNF. La muestra sobrante se mantendrá congelada en un congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$ , situado en el Servicio de Laboratorio del Hospital Marina Baixa, durante no más de 5 años, para posibles determinaciones posteriores de la muestra. En ningún caso se realizarán estudios genéticos u otro tipo de análisis sin su consentimiento por escrito.

- 4) Se le realizará una evaluación con ecografía, de sus articulaciones, para comprobar que se mantiene la remisión de la enfermedad. La ecografía es una técnica muy sensible para detectar inflamación articular, siendo incluso superior a la propia exploración clínica.

#### **Riesgos del estudio**

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma, que desaparecen en pocos días. Más raramente puede producirse mareo en el momento de la extracción de sangre.

La ecografía articular, es una técnica totalmente inocua e indolora que utiliza ultrasonidos y no radiaciones ionizantes. De hecho, se utiliza con total seguridad durante el seguimiento de los embarazos de la población general.

En caso de que se produjera un empeoramiento clínico al alargar la dosis del fármaco anti-TNF que esté recibiendo, se le evaluará inmediatamente en el Servicio de Reumatología y se tomará la decisión más adecuada para usted, con el fin de intentar conseguir nuevamente la remisión clínica de la enfermedad.

#### **Confidencialidad de la historia clínica y de los datos del estudio**

Se le solicita también permiso para incluir sus datos clínicos en relación con la enfermedad reumatológica de base en una Base de Datos diseñada para este tipo de estudios. Sus datos personales serán tratados de forma confidencial según la LOPD 15/1999 y Ud tendrá derecho al acceso, rectificación, cancelación y oposición a los mismos.

El acceso a su información personal quedará restringida a su médico reumatólogo del estudio y a sus colaboradores de la Sección de Reumatología. Representantes del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y de las Autoridades Sanitarias Españolas podrán tener acceso a sus registros médicos con el fin de controlar y garantizar la correcta realización del estudio.

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, Congresos Médicos o publicaciones científicas, manteniendo siempre una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

Si Ud precisa mayor información sobre este estudio puede contactar con el Investigador Principal, el Dr. José Rosas del Servicio de Reumatología. Tel: 96 685 98 00.

## 7.3 Consentimiento Informado

### MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

**Título del estudio:** “Evaluación de la monitorización de los niveles de adalimumab, etanercept y golimumab, y de anticuerpos anti-adalimumab, anti-etanercept y anti-golimumab, en pacientes diagnosticados de artritis reumatoide, artritis psoriática o espondilitis anquilosante, en tratamiento con pauta estandarizada y en pacientes en remisión clínica con pauta alargada”.

**Promotor del estudio:** Sección de Reumatología del Hospital de la Marina Baixa.

**Investigador responsable del estudio, en el Hospital Marina Baixa:** Dr. José Rosas

1. Yo ..... declaro bajo mi responsabilidad que he leído la Hoja de Información sobre el estudio y acepto participar en este estudio
2. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro.
4. Entiendo que el objetivo del estudio es evaluar la población objeto del estudio
5. Entiendo que la evaluación clínica de mi enfermedad reumática y la realización de la ecografía articular, se realiza en concordancia con la práctica clínica habitual

**Punto 1.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio referente al tratamiento con el fármaco biológico.

**Punto 2.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que se guarden congeladas mis muestras de suero, utilizadas para la medición del nivel del fármaco y posibles anticuerpos anti-TNF, en el Servicio de Laboratorio del Hospital Marina Baixa. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los factores que afectan a la respuesta clínica al tratamiento con fármacos biológicos.

**Punto 3.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar la ecografía de 12 articulaciones referente al estudio actual.

Consiento en participar voluntariamente en este estudio.

Fecha:

Firma del paciente:

Firma del Investigador o la persona que proporciona la información y el consentimiento.

Nombre en letra impresa del Investigador o la persona designada de proporcionar la información

Fecha:

Firma del investigador

## 7.4 Publicación

### *Clinical relevance of monitoring serum adalimumab levels in axial spondyloarthritis*

*Rheumatology International (2019) 39:841–849 <https://doi.org/10.1007/s00296-019-04288-7>*

*José Miguel Senabre Gallego<sup>1</sup>, Jose Rosas<sup>1</sup>, Mariana Marco-Mingot<sup>2</sup>, José Alberto García-Gómez<sup>3</sup>, Gregorio Santos-Soler<sup>1</sup>, Esteban Salas-Heredia<sup>1</sup>, Ana Pons-Bas<sup>1</sup>, Xavier Barber-Vallés<sup>4</sup>, José Antonio Bernal-Vidal<sup>1</sup>, Catalina Cano-Pérez<sup>1</sup>, Mario García-Carrasco<sup>5,6</sup>, Emilio Flores-Pardo<sup>7</sup>, AIRE-MB Group.*

- 1. Sección de Reumatología, Hospital Marina Baixa, Villajoyosa, Alicante, Spain.*
- 2. Laboratory Department, Hospital Marina Baixa, Villajoyosa, Alicante, Spain.*
- 3. Infectious Disease Department, Hospital General Universitario de Elche, Elche, Alicante, Spain.*
- 4. Center of Operations Research, Universitas Miguel Hernández, Elche, Alicante, Spain.*
- 5. Systemic Autoimmune Disease Research Unit, HGR-36-CIBIOR IMSS, Puebla, Mexico.*
- 6. Department of Rheumatology and Immunology, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mexico.*
- 7. Clinical Medicine Department, Universitas Miguel Hernández, Elche, Alicante, Spain*

### **Abstract**

*Our aim was to assess the relationship between serum adalimumab levels, anti-drug antibodies (ADA) and disease activity in patients with axial spondylarthritis (SpA). We have carried out a single-centre cross-sectional study. adalimumab and ADA levels were analysed with ELISA and correlated with SpA activity using BASDAI and ASDAS scores. Adalimumab cut-off value was calculated to discriminate inactive disease/low disease activity (BASDAI < 4; ASDAS < 2.1) from moderate/high disease activity (BASDAI ≥ 4; ASDAS ≥ 2.1), using a receiver operating characteristic (ROC) curve. Up to January 2016, 51 consecutive patients were included. The median (range) age was 46.6 (18–68) and 47.1% were women. ADA prevalence was 27.5%, with none detected in the 21.6% receiving concomitant disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) ( $p = 0.021$ ). Adalimumab level was normal ( $> 3$  mg/l) in 36 patients (70.6%), all without ADA. Fifteen patients (29.4%) had subtherapeutic adalimumab levels ( $< 3$  mg/l), with ADA in 14 (93%). Median adalimumab (mg/l) was significantly higher in patients with inactive disease/low disease activity: BASDAI < 4 vs ≥ 4: 9.5 vs 2.6 ( $p < 0.01$ ); ASDAS-*

CRP < 2.1 vs ≥ 2.1: 9.3 vs 0.3 ( $p < 0.001$ ); ASDAS-ESR < 2.1 vs ≥ 2.1: 9.9 vs 3.0 ( $p < 0.001$ ), and this finding was consistent with the result of the multivariate model. Patients with inactive disease/low disease activity presented significantly lower ADA levels. The adalimumab level cut-offs and area under the curve (AUC) obtained in the ROC curves were: ASDAS-CRP (< 2.1) 4.6 mg/l (AUC 81.2%; 95% CI 67.5–94.9;  $p < 0.001$ ); ASDAS-ESR (< 2.1) 7.7 mg/l (AUC 82.4%; 95% CI 69.3–95.5;  $p < 0.001$ ); BASDAI (< 4) 6.4 mg/l (AUC 73.5%; 95% CI 58.6–88.3;  $p < 0.01$ ). In conclusion, presence of ADA in axial SpA patients treated with adalimumab was associated with lower serum drug levels. ADA levels were lower and adalimumab levels were higher in patients with inactive disease/low disease activity based on BASDAI and ASDAS indices. Concomitant treatment with MTX reduces the likelihood of finding ADA. Serum adalimumab levels above 4.6 mg/l are recommended to avoid compromising efficacy.

**Keywords:** Spondylarthritis · Adalimumab · Antibody formation · Enzyme-linked immunosorbent assay · ROC curve · Treatment outcome.

## Introduction

Anti-tumour necrosis factor (anti-TNF) drugs have enabled great advances in the treatment of spondylarthritis (SpA) and, until the recent arrival on the scene of IL17 inhibitors, were the only effective biological agents in its axial manifestations, for which other disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) are not recommended. There are currently five anti-TNF drugs approved for the treatment of SpA, including four monoclonal antibodies—infliximab, adalimumab, golimumab and certolizumab—and one soluble TNF receptor, etanercept. All of these drugs have demonstrated efficacy in clinical trials and around 60% of patients achieve an ASAS 20 response, vs 20% of patients assigned to placebo [1]. However, approximately 30–40% of patients do not respond to treatment initially or lose efficacy over time [2–4]. The mechanisms underlying these failures are not clearly understood, but the production of anti-drug antibodies (ADA), causing the drug to be cleared from the blood and/or neutralising its effect, appears to play an important role [5]. These antibodies have also been associated with adverse events such as infusion reactions and injection site reactions [6]. Furthermore, given the high cost and adverse events that can be associated with biological therapies, in recent years strategies have been proposed to reduce drug doses in patients in prolonged clinical remission, thereby avoiding overtreatment [7]. Many studies have demonstrated the relationship between disease activity, serum levels of anti-TNF agents and their

immunogenicity, including meta-analyses and systematic reviews [6, 8, 9], however, most of them were conducted in patients with rheumatoid arthritis (RA) or Crohn's disease. The available studies in SpA report controversial results. With regard to infliximab and adalimumab, some groups of researchers have reported that the existence of ADA was associated with reduced efficacy [5, 10–15], while others failed to find this relationship and concluded that drug levels were not associated with response to treatment [16]. In studies with etanercept, golimumab and certolizumab, the reported prevalence of ADA is very low [17–20]. The objective of this study was to assess the prevalence of ADA in patients with axial SpA receiving treatment with adalimumab, and to investigate their relationship with serum adalimumab levels and disease activity indices. A secondary objective was to establish a cut-off point for serum adalimumab levels at which patients have inactive disease/low disease activity.

## **Methods**

### *Design and study population*

This study was a cross-sectional study that included all patients with axial SpA being treated with adalimumab by the rheumatology section of our centre. Patients had to be over 18 years of age, be diagnosed with axial SpA according to the Assessment of Spondyloarthritis International Society (ASAS) 2009 criteria [21] and have received treatment with adalimumab, as per routine clinical practice, without interruptions, for at least 3 months.

### *Variables and data collection*

Information was collected on age, body mass index (BMI), date of diagnosis of SpA, laboratory data, including HLAB27, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP), prior biological treatment for SpA, concomitant DMARDs, reasons for the interruption of adalimumab and duration of treatment with adalimumab. Treatment regimens with adalimumab correspond to routine clinical practice, at a dose of 40 mg every 14 days, at the discretion of the rheumatologist responsible for the patient [22].

### *Clinical assessments*

Spondylarthritis disease activity was assessed using patient global assessment of disease activity (PGA) on a 100 mm visual analogue scale, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) [23] and Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS) [24]. The pre-established cut-off points for BASDAI were: <4 inactive disease activity and  $\geq 4$  active disease, and for ASDAS were: < 1.3 inactive disease, < 2.1 moderate activity, 2.1–3.5 high activity and > 3.5 very high activity. Patients were classified as responders if they had an ASDAS < 2.1 and BASDAI < 4. The Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI) was used to assess physical function.

#### *Measurement of serum adalimumab and ADA levels*

A 5-ml serum sample was taken from all patients just before the next adalimumab dose. It was stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. The second version of the commercial enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) -Promonitor<sup>®</sup> kit (Progenika Grifols SA, Spain), which has been clinically and analytically validated [25–27] was used. All serum samples were analysed under the standard conditions specified by the manufacturer. The serum samples underwent six dilutions for each curve (1.25–60 ng/ml for serum adalimumab levels and 3.13–200 AU/ml for ADA levels). All analytical work was conducted without knowledge of the clinical data. The technique's sensitivity is > 0.024 mg/l for serum adalimumab levels and > 3.5 AU/ml for ADA levels. Samples with drug levels below 3 mg/l were considered subtherapeutic. In those with negative levels and ADA results, an acid dissociation pre-treatment protocol recommended by the manufacturer was implemented, enabling the detection of ADA in the presence of antigen when possible drug-antibody complexes have broken down [28].

#### *Statistical analysis*

Statistical processing was performed using the SPSS 22.0 and R Core Team for Windows programs. The descriptive study of the subjects' quantitative variables was conducted using point estimation, processing the variables as means and standard deviations or medians and ranges depending on the distribution of each. Continuous variables with normal distribution were analysed using Student's t test and not-normally distributed variables with the Kruskal–Wallis method or the Mann–Whitney U test. Categorical variables were analysed using Chi-square and with the Fisher's exact test when necessary. Associations between continuous variables were computed using Spearman Rank Correlation. The changes were considered significant when the probability associated with the comparison was < 0.05. A receiver operating characteristic (ROC) curve was calculated to obtain a cut-off value for trough adalimumab levels that would discriminate



responder patients (BASDAI < 4 and ASDAS < 2.1). Linear multivariate models were created, using ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI as dependent variables. The normality of the variable was tested using the Shapiro–Wilk test. The Breusch–Pagan test was used for the homoscedasticity analysis. The possible correlation between the residues was analysed with the Durbin–Watson statistic.

## **Results**

### *Baseline characteristics*

Up to January 2016, 51 consecutive patients were included from a total of 60 screened patients. Two patients were excluded because they did not meet the diagnostic criteria, and another seven patients were excluded because clinical activity data were not available on the date when the levels were taken. The patients' baseline characteristics are summarised in Table 1. The median (range) age was 46.6 (18–68) and 47.1% were women. HLAB27 was positive in 42 patients (82.4%) and 25 patients (52.1%) had objective signs of sacroiliitis on X-ray. The median disease duration was 71 months (2–408) and the median duration of treatment with adalimumab was 9.8 months (1–69). Adalimumab was the first biological agent received in 36 patients (70.6%). Eleven patients (21.6%) were on concomitant treatment with DMARDs, mainly methotrexate (MTX) (15.7%) and sulfasalazine (5.9%). MTX doses varied from 10 to 25 mg per week, and median MTX dose was 20 mg. The median (range) BASDAI, ASDAS-CRP and ASDAS-ESR scores were 4.2 (0–9.6), 2.0 (0.1–4.3) and 2.3 (0.6–3.9), respectively.

**Table 1** Demographic characteristics and activity scores by ADA presence

	All	ADA-negative	ADA-positive
<i>n</i> (%)	51 (100)	37 (72.6)	14 (27.4)
Age (years)	46.6 (18.5–68.5)	44.1 (18.5–68.5)	51.9 (25.9–67.9)*
Women [ <i>n</i> (%)]	24 (47.1)	16 (43.2)	8 (57.1)
BMI	27.5 (18.8–36.1)	26.9 (18.8–33.6)	29.0 (23.1–36.1)*
Disease duration (months)	71.2 (2.3–408.4)	52.9 (2.3–338.2)	242.2 (10.9–408.4)**
HLAB27+ [ <i>n</i> (%)]	42 (82.4)	31 (83.8)	11 (78.6)
X-ray sacroiliitis [ <i>n</i> (%)]	25 (52.1)	8 (57.1)	17 (50.0)
BASFI	4.6 (0–8.7)	2.4 (0–8)	6.2 (2.4–8.7)***
BASDAI	4.2 (0–9.6)	2.6 (0–9.6)	5.9 (4–7.5)***
ASDAS-CRP	2.0 (0.1–4.3)	1.8 (0.1–4.3)	3.2 (2.0–4.3)***
ASDAS-ESR	2.3 (0.6–3.9)	1.7 (0.6–3.9)	2.8 (2.6–3.8)***
CRP (mg/l)	2.0 (0.1–30.0)	1.0 (0.1–6.0)	4.7 (2.0–30.0)***
ESR (mm/h)	5 (2–76)	4 (2–42)	13.5 (2–76)**
PGA	4.0 (0–10)	3 (0–10)	5 (3–8)**
Previous anti-TNF [ <i>n</i> (%)]	15 (29.4)	11 (29.7)	4 (28.6)
Time on adalimumab (months)	9.8 (3.0–69.1)	9.4 (3.0–69.1)	11.9 (3.0–20.1)
Concomitant DMARD [ <i>n</i> (%)]	11 (21.6)	11 (29.7)	0 (0)*

All data shown are median (range), otherwise specified

ADA anti-drug antibody, Anti-TNF anti-tumour necrosis factor, ASDAS Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, BASDAI Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASFI Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, BMI body mass index, CRP C-reactive protein, DMARD disease-modifying antirheumatic drug, ESR erythrocyte sedimentation rate, PGA patient global assessment of disease activity

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

#### Adalimumab and ADA levels and disease activity

The median adalimumab level was 7.9 mg/l (0.0–24.0). Therapeutic adalimumab levels (> 3 mg/l) were detected in 36 patients (70.6%), with ADA not being detected in any of these patients. Positive ADA levels (> 3.5 UA/ml) were detected in 14 patients (27.45%), all of whom had subtherapeutic serum adalimumab levels (< 3 mg/l), with a median adalimumab level of 0.024 mg/l (0.0–1.5). In one patient, neither the drug nor ADA was detected, despite performing acid dissociation. Since sample collection failure or detection method error is very unlikely, this finding was attributed to a lack of adherence to treatment. Significantly higher disease activity scores were observed among patients with ADA (e.g., BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-ESR, PGA, ESR and CRP) (Table 1). In addition, these ADA positive patients were older and had a higher BASFI, BMI and longer disease duration. No differences were observed in regard to gender, HLAB27 presence, X-ray sacroiliitis, or previous use of anti-TNF agents. Concomitant use of DMARDs was associated with an absence of ADA, and it was notable that no patient with positive ADA was using DMARDs at the time of measurement ( $p < 0.05$ ) (Table 1). Moreover, DMARDs use was associated with inactive disease/low disease activity, assessed with BASDAI, but not with ASDAS (Table 2). Likewise, patients classified as inactive disease/low activity (ASDAS-CRP < 2.1, ASDAS-ESR < 2.1 and BASDAI < 4) had

higher median adalimumab levels (mg/l) compared to those with moderate/ high activity: 9.3 vs 0.3, 9.9 vs 3.0 and 9.5 vs 2.6, respectively (Table 2; Fig. 1). In addition, these inactive disease/ low disease activity patients had lower ADA levels, lower BASFI scores and lower BMI (Table 2). No differences were observed in age and the duration of treatment with adalimumab. The prevalence of ADA was lower in patients with inactive disease/low disease activity, assessed with ASDASCRP, ASDAS-ESR and BASDAI (Table 2). The inverse correlation between adalimumab and clinical activity according to the ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI indices was also observed in the multivariate model after adjusting for age, gender, BMI, concomitant use of DMARDs and previous use of anti-TNF agents. The adalimumab level cut-offs and area under the curve (AUC) obtained in the ROC curves were 4.6 mg/l (AUC 81.2%; 95% CI 67.5–94.9), 7.7 mg/l (AUC 82.4%; 95% CI 69.3–95.5) and 6.4 mg/l (AUC 73.5%; 95% CI 58.6–88.3) for ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI, respectively (Table 3). Sensitivity and specificity of each cut-off point are detailed in Table 3.

**Table 2** Demographic variables and drug level by disease activity assessed by ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI

	ASDAS-CRP < 2.1 (n = 25)	ASDAS-CRP ≥ 2.1 (n = 21)	ASDAS-ESR < 2.1 (n = 19)	ASDAS-ESR ≥ 2.1 (n = 26)	BASDAI < 4 (n = 20)	BASDAI ≥ 4 (n = 30)
Age (years)	41.9 (18.5–68.5)	49.7 (22.0–67.9)	40.8 (18.5–62.1)	50.7 (22.0–68.5) <sup>†</sup>	40.8 (18.5–62.1)	49.2 (22.0–67.9)
BASFI	2.1 (0.0–8.7)	6.2 (3.8–8.0) <sup>***</sup>	1.2 (0.0–4.5)	6.1 (3.1–8.7) <sup>†††</sup>	1.2 (0.0–6.0)	6.0 (2.4–8.7) <sup>§§§</sup>
BMI	26.3 (18.8–31.2)	28.7 (19.2–36.1) <sup>**</sup>	25.5 (18.8–30.4)	28.4 (19.2–36.1) <sup>††</sup>	26.0 (18.8–31.2)	28.2 (19.2–36.1) <sup>§</sup>
Time on adalimumab (months)	10.0 (1.4–65.9)	9.3 (1.5–69.1)	12.6 (1.4–66.5)	9.4 (1.5–44.1)	7.2 (1.0–65.9)	11.1 (1.5–69.1)
Adalimumab level (mg/l)	9.3 (0.0–24.0)	0.3 (0.0–14.0) <sup>***</sup>	9.9 (3.8–19.0)	3.0 (0.0–24.0) <sup>†††</sup>	9.5 (3.8–19.0)	2.6 (0.0–14.3) <sup>§§</sup>
ADA (mg/l)	3.5 (0.0–140.0)	35.0 (0.0–2000) <sup>***</sup>	3.5 (0.0–3.5)	3.5 (0.0–2000.0) <sup>††</sup>	3.5 (0.0–3.5)	3.5 (0.0–2000.0) <sup>§§</sup>
ADA [n (%)]	1 (4.0)	11 (52.4) <sup>***</sup>	0 (0.0)	12 (46.2) <sup>††</sup>	0 (0.0)	14 (46.7) <sup>§§§</sup>
DMARD [n (%)]	8 (32.0)	3 (14.2)	6 (31.5)	4 (15.3)	7 (35.0)	3 (10.0) <sup>§</sup>

All data shown are median (range), otherwise specified

ADA anti-drug antibody, ASDAS Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, BASDAI Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASFI Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, BMI body mass index, CRP C-reactive protein, DMARD disease-modifying antirheumatic drug, ESR erythrocyte sedimentation rate

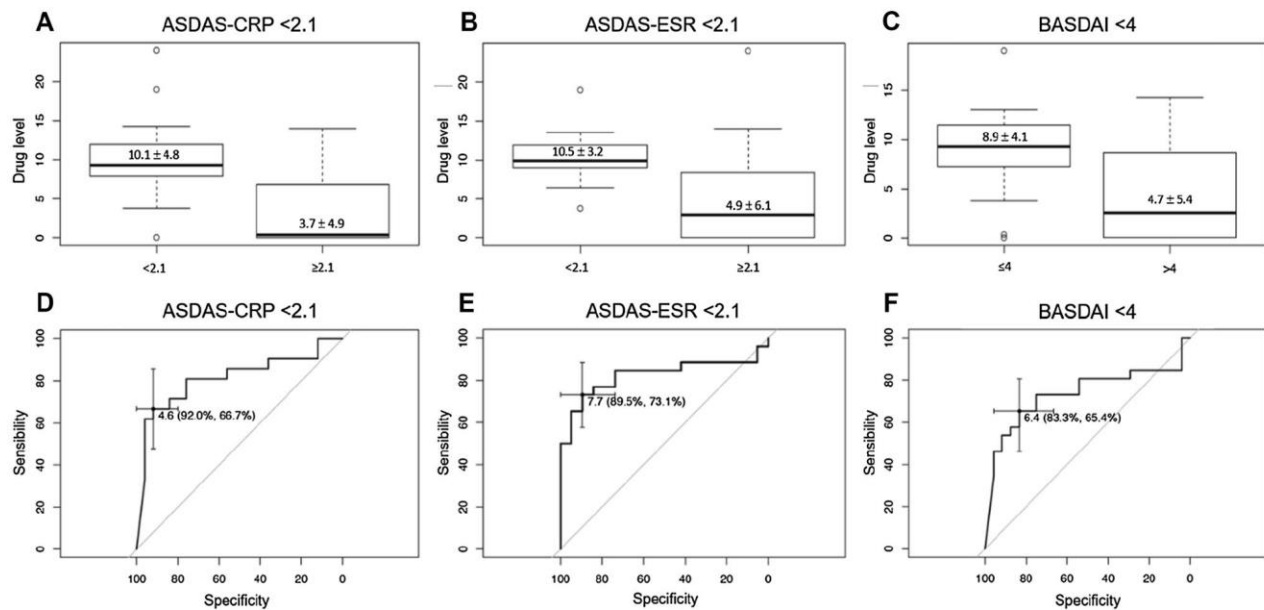
\*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001 vs ASDAS-CRP < 2.1; <sup>†</sup>*p* < 0.05, <sup>††</sup>*p* < 0.01, <sup>†††</sup>*p* < 0.001 vs ASDAS-ESR < 2.1; <sup>§</sup>*p* < 0.05, <sup>§§</sup>*p* < 0.01, <sup>§§§</sup>*p* < 0.001 vs BASDAI < 4

**Table 3** Cut-off points and AUC of ROC curves for drug level vs activity

	Cut-off point (mg/l)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	AUC (%)	95% CI
ASDAS-CRP < 2.1	4.6	92.0	66.7	81.2	67.5–94.9 <sup>***</sup>
ASDAS-ESR < 2.1	7.7	89.5	73.1	82.4	69.3–95.5 <sup>***</sup>
BASDAI < 4	6.4	83.3	65.4	73.5	58.6–88.3 <sup>**</sup>

ASDAS Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, AUC area under the curve, BASDAI Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, CRP C-reactive protein, ESR erythrocyte sedimentation rate

\*\**p* < 0.1, \*\*\**p* < 0.001



**Fig. 1** Drug level by disease activity and ROC curves. *ASDAS* Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, *BASDAI* Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, *CRP* C-reactive protein, *ESR* erythrocyte sedimentation rate. **a** Adalimumab level (mg/dl) by ASDAS-CRP <2.1. **b** Adalimumab level (mg/dl) by ASDAS-

ESR <2.1. **c** Adalimumab level (mg/dl) by BASDAI <4. **d** ROC curve of adalimumab level by ASDAS-CRP <2.1. **e** ROC curve of adalimumab level by ASDAS-ESR <2.1. **f** ROC curve of adalimumab level by BASDAI <4

## Discussion

In this study, the prevalence of ADA in axial SpA patients on treatment with adalimumab is 27.5%. In previous studies, the reported ADA against adalimumab varies greatly from 13 to 58% [5, 10, 13, 14, 16, 29]. Significantly, our patients with ADA had lower serum adalimumab levels, and higher BASDAI, BASFI, ASDAS-CRP and ASDAS-ESR scores, and PGA, ESR and CRP levels. These results are similar to studies published by other authors [5, 10, 13, 14, 29]. de Vries et al. obtained 31% ADA using ELISA in 35 patients with ankylosing spondylitis (AS), and ADA were associated with a worse clinical response [5]. In the study by Arends et al., in 20 AS patients, an ADA rate of 30% was obtained using a radioimmunoassay, and ADA were correlated with lower serum adalimumab levels and increased clinical activity [10]. In the study by Paramarta et al., also using a radioimmunoassay, ADA were detected in 23% of 26 patients with peripheral SpA treated with adalimumab [16], but they found no relationship between ADA and clinical response or DMARDs use. One of the reasons for this result could be the limited number of patients. Using ELISA, Kneepkens et al. found ADA in 27% of 115 AS patients, and ADA were correlated with lower adalimumab levels and increased clinical activity [13]. The patients came from two cohorts in the Netherlands and Taiwan, and a higher ADA rate was found in the Taiwanese patients, at 40% vs

22% ( $p = 0.06$ ), who had more severe disease and longer disease duration. The study by Cludts et al. is a prospective trial that used electrochemiluminescence in 21 AS patients, 58% of whom developed ADA. Lower adalimumab levels were found in these patients, but no differences were found in BASDAI scores at either 12 or 24 weeks. However, there was a negative correlation between adalimumab levels and BASDAI score ( $r = -0.27$ ;  $p = 0.032$ ) [14]. Finally, using ELISA, Bornstein et al. found ADA in 13% of 16 patients with axial SpA and correlated this with a worse clinical response [29]. Certain factors can influence serum adalimumab levels and the development of ADA, especially concomitant DMARDs use and BMI. In our study, 21.6% of patients received DMARDs, primarily MTX (15.7%), and none of these patients developed ADA. This correlation has previously been reported in RA studies [30–32], but seldom in axial SpA studies, since their concomitant use is less common. In the study by Plasencia et al. in 94 SpA patients treated with infliximab, development of ADA was more common in patients not receiving concomitant MTX (34% vs 11%;  $p = 0.011$ ) [33]. Patients with non-radiographic SpA could had less clinical activity than AS patients. In our patients, we found a 52.1% prevalence of objective sacroiliitis signs on X-ray, with no differences regarding ADA presence (Table 1). For this reason, X-ray sacroiliitis does not seem to be a bias in our study. In our patients, the presence of ADA was associated with higher BMI, and the high clinical activity patients, as measured with both the ASDAS and BASDAI scores, had higher BMI (Tables 1 and 2). Other studies have analysed the relationship between BMI and poorer clinical response in AS or SpA treated with anti-TNF agents. In a previous study in AS patients, BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> was associated with lower adalimumab levels and greater clinical activity as measured by ASDAS and BASDAI, but not with the presence of ADA [34]. In the study by Ottaviani et al., of 155 AS patients treated with IFX, at 6 months the patients with the highest BMIs presented the worst BASDAI-50 response [35]. In the study by Simone et al., of 153 patients with AS treated with anti-TNF agents, the female gender and BMI were associated with a lower probability of clinical efficacy (OR 40; 95% CI 4.2–333.3) [36]. In the study by Gremese et al., of 170 patients with AS treated with IFX, adalimumab or etanercept, those with a high BMI achieved a worse clinical response, and the best predictive factor of lack of BASDAI-50 response at 12 months was a BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> (OR 3.57; 95% CI 1.15–11.11) [37]. Some authors attribute these findings to adalimumab under-dosing in these patients [38], while another explanation could be an increase in the production of proinflammatory adipokines by fatty tissue [39]. It is relevant to the clinician to know the serum drug level at which adequate disease control is achieved. This question can be answered using ROC curves and obtaining the optimum serum drug level cut-off point to discriminate patients with low or moderate activity vs high activity. In our study, we obtained different cut-off points depending on the index used: 4.6

mg/l, 7.7 mg/l and 6.4 mg/l for ASDAS-CRP, ASDAS-ESR and BASDAI, respectively. To our knowledge, this is the first study to investigate this serum adalimumab level cut-off point in SpA patients. In RA patients, using ELISA, a serum adalimumab level cut-off point of > 4.3 mg/l was optimum to differentiate responders with a DAS28-ESR < 3.2 [31]. Other studies have investigated the serum adalimumab level that predicts persistent clinical remission after dose reduction in RA. Chen et al. obtain a serum adalimumab cut-off point of > 6.4 mg/l using DAS28ESR [40], while Bouman et al. obtain > 7.8 mg/l using DAS28-CRP [41]. In Crohn's disease, other studies have investigated the serum adalimumab level cut-off point that best predicts clinical remission, with levels of > 5.85 mg/l reported by Mazor et al. [42] and > 5.0 mg/l by Nakase et al. [43] The ELISA technique was used in all of these studies. Another study, using the liquid-phase mobility shift assay technique, found a cut-off point of > 8.14 mg/l to distinguish patients with Crohn's disease in whom mucosal lesions had disappeared on the ileocolonoscopy [44]. Lastly, in patients with psoriasis, a serum adalimumab level > 7.84 mg/l, using ELISA, was the optimum to discriminate patients with PASI scores  $\geq 75$  [45]. This variability could exist for a number of reasons.

First, the activity indices include different parameters. In the case of the BASDAI, they are completely subjective, while the ASDAS and DAS28 include objective analytical parameters. In addition, the threshold used to classify patients as responders determines a lower adalimumab level cut-off point on ROC curves. In our study, we chose the ASDAS threshold of < 2.1, classified as moderate activity, rather than < 1.3, classified as inactive disease, considering the latter to be too stringent. This choice raised the number of patients classified as responders, leading to a lower cut-off point on the ROC curves. Finally, it is likely that patients with SpA may need higher adalimumab levels to achieve an adequate clinical response, compared to patients with RA, since the majority of RA patients use DMARDs concomitantly. One of the limitations of our study is its sample size.

Although all patients who met the criteria were included consecutively, the estimated sample size was not reached. Nevertheless, a post-hoc analysis showed a power > 90% to find differences in adalimumab serum levels by disease activity. On the other hand, this was a cross-sectional study and causal relationships cannot be directly established. Other limitation of our study could be the presence of confounding factors as concomitant nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) intake or concurrence of other causes of pain, such as osteoarthritis, since both can influence the measure of SpA activity. Unfortunately, no data were collected about it. We recognise the difficulty of measuring drug levels in routine clinical practice but knowing it may help us to detect non-responder patients, as well as to avoid dose reduction in patients

with low drug levels. Additionally, it could help us to detect non-adherent patients, when neither the drug nor ADA was found, despite performing acid dissociation.

To conclude, in our study we found ADA in 27.5% of SpA patients treated with adalimumab, which is associated with lower serum adalimumab levels and greater clinical activity based on the BASDAI and ASDAS indices. Concomitant treatment with MTX reduces the likelihood of finding ADA. The adalimumab serum cut-off point to achieve optimum disease control according to the ASDAS-CRP index was 4.6 mg/l.

**Acknowledgements** Jordi Bozzo Ph.D. CMPP (Grifols, S.A.) is acknowledged for his editorial assistance in the preparation of the manuscript.

**Author contributions** JMS-G: conception, design, interpretation of data, writing original draft, final approval. JR: conception, data acquisition (patient recruitment), review and editing draft. MM-M: laboratory analysis. JAG-G: statistical analysis. GS-S: data acquisition (patient recruitment). ES-H: data acquisition (patient recruitment). AP-B: study coordination and data acquisition (sample collection). XB-V: statistical analysis. JAB-V: data acquisition (patient recruitment). CC-P: data acquisition (sample collection). MG-C: conception, review and editing draft. EF-P: conception, design, review and editing draft.

**Funding** The study was supported by a grant from “Asociación para la Investigación en Reumatología de la Marina Baixa” (AIRE-MB) and from the “Fundación Española de Reumatología” (FER 2012). The funds were used for the acquisition of the ELISA kits.

#### **Compliance with ethical standards**

#### *Conflict of interest*

Dr. Senabre Gallego reports grants from Fundación Española de Reumatología, grants from Asociación para la Investigación en Reumatología de la Marina Baixa, assistance with translation of the manuscript from Grifols, S.A., during the conduct of the study; personal fees and non-financial support from Abbvie, nonfinancial support from BMS, personal fees from Celgene, personal fees from Janssen, non-financial support from Lilly, non-financial support from MSD, personal

fees from Novartis, non-financial support from Pfizer, non-financial support from Roche, non-financial support from UCB, outside the submitted work. Dr. Rosas reports payment for the development of educational presentations including service on speakers' bureaus from Abbvie, MSD, Pfizer and UCB. Dr. Santos Soler reports travel/accommodations expenses covered from Pfizer, outside the submitted work. Mrs. Pons Bas reports travel/accommodations expenses covered from Pfizer, outside the submitted work. Dr. Bernal Vidal reports travel/accommodations expenses covered from Pfizer, outside the submitted work. Mrs. Cano Pérez reports travel/accommodations expenses covered from Pfizer, outside the submitted work.

#### *Ethical approval*

The study was approved by our local Ethics Committee for Clinical Research of Hospital de San Juan, Alicante. All study procedures were performed according to the ethical principles of the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice.

#### *Informed consent*

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

#### **References**

1. van der Heijde D, Sieper J, Maksymowych WP, Dougados M, Burgos-Vargas R, Landewé R, Rudwaleit M, Braun J (2011) 2010 Update of the international ASAS recommendations for the use of anti-TNF agents in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 70(6):905–908. <https://doi.org/10.1136/ard.2011.151563>
2. van der Heijde D, Schiff MH, Sieper J, Kivitz AJ, Wong RL, Kupper H, Dijkmans BA, Mease PJ, Davis JC (2009) Adalimumab effectiveness for the treatment of ankylosing spondylitis is maintained for up to 2 years: long-term results from the ATLAS trial. *Ann Rheum Dis* 68(6):922–929. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.087270>
3. van der Heijde D, Dijkmans B, Geusens P, Sieper J, DeWoody K, Williamson P, Braun J (2005) Efficacy and safety of infliximab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, placebo-controlled trial (ASSERT). *Arthritis Rheumatol* 52(2):582–591. <https://doi.org/10.1002/art.20852>
4. Senabre-Gallego JM, Santos-Ramirez C, Santos-Soler G, SalasHeredia E, Sanchez-Barrioluengo M, Barber X, Rosas J (2013) Long-term safety and efficacy of etanercept in the treatment of ankylosing spondylitis. *Patient Prefer Adherence* 7:961–972
5. de Vries MK, Brouwer E, van der Horst-Bruinsma IE, Spoorenberg A, van Denderen JC, Jamnitski A, Nurmohamed MT, Dijkmans BA, Aarden LA, Wolbink GJ (2009) Decreased clinical response to adalimumab in ankylosing spondylitis is associated with antibody formation. *Ann Rheum Dis* 68(11):1787–1788. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.109702>



6. Martín-López M, Carmona L, Balsa A, Calvo-Alén J, Sanmartí R, Tornero J, Rosas J (2018) Serum drug levels of biologic agents in the management of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis: a systematic review. *Rheumatol Int* 38(6):975–983. <https://doi.org/10.1007/s00296-018-4022-4>
7. Navarro-Compán V, Plasencia-Rodríguez C, de Miguel E, Balsa A, Martín-Mola E, Seoane-Mato D, Cañete JD (2016) Anti-TNF discontinuation and tapering strategies in patients with axial spondyloarthritis: a systematic literature review. *Rheumatology* 55(7):1188–1194. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew033>
8. Garcês S, Demengeot J, Benito-Garcia E (2013) The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 72(12):1947–1955. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202220>
9. Maneiro JR, Salgado E, Gomez-Reino JJ (2013) Immunogenicity of monoclonal antibodies against tumor necrosis factor used in chronic immune-mediated inflammatory conditions: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med* 173(15):1416–1428. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2013.7430>
10. Arends S, Lebbink HR, Spoorenberg A, Bungener LB, Roozendaal C, van der Veer E, Houtman PM, Griep EN, Limburg PC, Kallenberg CG, Wolbink GJ, Brouwer E (2010) The formation of autoantibodies and antibodies to TNF- $\alpha$  blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 28(5):661–668
11. de Vries MK, Wolbink GJ, Stapel SO, de Groot ER, Dijkmans BA, Aarden LA, van der Horst-Bruinsma IE (2007) Inefficacy of infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with antibody formation. *Ann Rheum Dis* 66(1):133–134. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.057745>
12. Krzysiek R, Breban M, Ravaut P, Prejean MV, Wijdenes J, Roy C, Henry YD, Barbey C, Trappe G, Dougados M, Emilie D (2009) Circulating concentration of infliximab and response to treatment in ankylosing spondylitis: results from a randomized control study. *Arthritis Rheumatol* 61(5):569–576. <https://doi.org/10.1002/art.24275>
13. Kneepkens EL, Wei JC, Nurmohamed MT, Yeo KJ, Chen CY, van der Horst-Bruinsma IE, van der Kleij D, Rispen T, Wolbink G, Kriekaert CL (2015) Immunogenicity, adalimumab levels and clinical response in ankylosing spondylitis patients during 24 weeks of follow-up. *Ann Rheum Dis* 74(2):396–401. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204185>
14. Cludts I, Spinelli FR, Morello F, Hockley J, Valesini G, Wadhwa M (2017) Anti-therapeutic antibodies and their clinical impact in patients treated with the TNF antagonist adalimumab. *Cytokine* 96:16–23. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.02.015>
15. Bornstein G, Lidar M, Langevitz P, Fardman A, Ben-Zvi I, Grossman C (2018) The prevalence and clinical effect of immunogenicity of TNF- $\alpha$  blockers in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 36(2):228–232
16. Paramarta JE, Baeten DL (2014) Adalimumab serum levels and antidrug antibodies towards adalimumab in peripheral spondyloarthritis: no association with clinical response to treatment or with disease relapse upon treatment discontinuation. *Arthritis Res Ther* 16(4):R160. <https://doi.org/10.1186/ar4675>
17. de Vries MK, van der Horst-Bruinsma IE, Nurmohamed MT, Aarden LA, Stapel SO, Peters MJ, van Denderen JC, Dijkmans BA, Wolbink GJ (2009) Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 68(4):531–535. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.089979>
18. Inman RD, Davis JC, Heijde D, Diekman L, Sieper J, Kim SI, Mack M, Han J, Visvanathan S, Xu Z, Hsu B, Beutler A, Braun J (2008) Efficacy and safety of golimumab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, double-blind, placebocontrolled, phase III trial. *Arthritis Rheumatol* 58(11):3402–3412. <https://doi.org/10.1002/art.23969>

19. Gehin JE, Goll GL, Warren DJ, Syversen SW, Sexton J, Strand EK, Kvien TK, Bolstad N, Lie E (2018) FRI0645 Anti-drug antibodies to certolizumab pegol are associated with low drug levels and reduced clinical response at 3 months in patients with inflammatory joint diseases. Data from the NOR-DMARD study. *Ann Rheum Dis* 77(Suppl 2):844. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-eular.5257>
20. Martínez-Feito A, Plasencia-Rodríguez C, Navarro-Compán V, Jurado T, Kneepkens EL, Wolbink GJ, Martín S, Ruiz Del Agua A, Navarro R, Mezcua A, Jochems A, Peiteado D, Bonilla MG, Balsa A, Pascual-Salcedo D (2018) Optimal concentration range of golimumab in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 36(1):110–114
21. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, Listing J, Akkoc N, Brandt J, Braun J, Chou CT, Collantes-Estevez E, Dougados M, Huang F, Gu J, Khan MA, Kirazli Y, Maksymowych WP, Mielants H, Sørensen IJ, Ozgocmen S, Rousou E, Valle-Oñate R, Weber U, Wei J, Sieper J (2009) The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis* 68(6):777–783. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.108233>
22. European Medicines Agency (2008) -Humira® EPAR—Product Information. [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/humira-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/humira-epar-product-information_en.pdf), Accessed Dec 2017
23. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A (1994) A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 21(12):2286–2291
24. van der Heijde D, Lie E, Kvien TK, Sieper J, Van den Bosch F, Listing J, Braun J, Landewé R, (ASAS) AoSIS (2009) ASDAS, a highly discriminatory ASAS-endorsed disease activity score in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 68(12):1811–1818. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.100826>
25. Llinares-Tello F, Rosas J, Senabre-Gallego J, Santos-Soler G, Santos-Ramirez C, Salas-Heredia E, Molina-Garcia J (2012) Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med* 50(10):1845–1847. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0050>
26. Llinares-Tello F, Rosas J, De La Torre I, Valor L, Senabre JM, Barber X, Hernandez D, Carreno L, Santos-Soler G, Salas E, Santos-Ramirez C, Sanchez-Barrioluengo M, Molina-Garcia J (2013) Comparative study of both versions of an immunoassay commercialized for therapeutic drug monitoring of adalimumab. *Ann Rheum Dis* 72:A234
27. Ruiz-Argüello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martínez A, Nagore D (2013) Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med* 51(12):e287–e289. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0461>
28. Llinares-Tello F, Rosas-Gómez de Salazar J, Senabre-Gallego JM, Santos-Soler G, Santos-Ramírez C, Salas-Heredia E, BarberVallés X, Molina-García J (2014) Practical application of acid dissociation in monitoring patients treated with adalimumab. *Rheumatol Int* 34(12):1701–1708. <https://doi.org/10.1007/s00296-014-3032-0>
29. Bornstein G, Lidar M, Langevitz P, Fardman A, Ben-Zvi I, Grossman C (2018) The prevalence and clinical effect of immunogenicity of TNF- $\alpha$  blockers in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 36:228–232
30. Bartelds GM, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JW, Dijkmans BA, Aarden L, Wolbink GJ (2011) Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 305(14):1460–1468. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.406>
31. Rosas J, Llinares-Tello F, de la Torre I, Santos-Ramírez C, Senabre-Gallego JM, Valor L, Barber-Vallés X, Hernández-Flórez D, Santos-Soler G, Salas-Heredia E, Carreño L (2014) Clinical relevance of monitoring serum levels of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in daily practice. *Clin Exp Rheumatol* 32(6):942–948

32. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink GJ (2012) Methotrexate reduces immunogenicity in adalimumab treated rheumatoid arthritis patients in a dose dependent manner. *Ann Rheum Dis* 71(11):1914–1915. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012201544>
33. Plasencia C, Pascual-Salcedo D, Nuño L, Bonilla G, Villalba A, Peiteado D, Díez J, Nagore D, del Agua AR, Moral R, MartínMola E, Balsa A (2012) Influence of immunogenicity on the efficacy of longterm treatment of spondyloarthritis with infliximab. *Ann Rheum Dis* 71(12):1955–1960. <https://doi.org/10.1136/annrh eumdis-2011-200828>
34. Rosas J, Llinares-Tello F, Senabre-Gallego JM, Barber-Vallés X, Santos-Soler G, Salas-Heredia E, Pons Bas A, Cano Pérez C, García-Carrasco M, Group atA-M (2017) Obesity decreases clinical efficacy and levels of adalimumab in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 35(1):145–148
35. Ottaviani S, Allanore Y, Tubach F, Forien M, Gardette A, Pasquet B, Palazzo E, Meunier M, Hayem G, Job-Deslandre C, Kahan A, Meyer O, Dieudé P (2012) Body mass index influences the response to infliximab in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther* 14(3):R115. <https://doi.org/10.1186/ar3841>
36. Simone D, Canestri S, Nowik M, Messuti L, Miceli M, Gremese E, Di Mario C, Tolusso B, Ferraccioli G (2014) Genetic and clinical predictors of response to TNF blocker in an Italian axial-SPA cohort. *Clin Exp Rheumatol* 32:802
37. Gremese E, Bernardi S, Bonazza S, Nowik M, Peluso G, Massara A, Tolusso B, Messuti L, Miceli MC, Zoli A, Trotta F, Govoni M, Ferraccioli G (2014) Body weight, gender and response to TNF- $\alpha$  blockers in axial spondyloarthritis. *Rheumatology* 53(5):875–881. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev433>
38. Micheroli R, Hebeisen M, Wildi LM, Exer P, Tamborrini G, Bernhard J, Möller B, Zufferey P, Nissen MJ, Scherer A, Ciurea A (2017) Impact of obesity on the response to tumor necrosis factor inhibitors in axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther* 19(1):164. <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1372-3>
39. Gómez R, Conde J, Scotece M, Gómez-Reino JJ, Lago F, Gualillo O (2011) What's new in our understanding of the role of adipokines in rheumatic diseases? *Nat Rev Rheumatol* 7(9):528–536. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.107>
40. Chen DY, Chen YM, Hsieh TY, Hung WT, Hsieh CW, Chen HH, Tang KT, Lan JL (2016) Drug trough levels predict therapeutic responses to dose reduction of adalimumab for rheumatoid arthritis patients during 24 weeks of follow-up. *Rheumatology* 55(1):143–148. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev298>
41. Bouman C, van Herwaarden N, van den Hoogen F, van der Maas A, van den Bemt B, den Broeder AA (2017) Prediction of successful dose reduction or discontinuation of adalimumab, etanercept, or infliximab in rheumatoid arthritis patients using serum drug levels and antidrug antibody measurement. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 13(6):597–604. <https://doi.org/10.1080/17425255.2017.1320390>
42. Mazor Y, Almog R, Kopylov U, Ben Hur D, Blatt A, Dahan A, Waterman M, Ben-Horin S, Chowars Y (2014) Adalimumab drug and antibody levels as predictors of clinical and laboratory response in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 40(6):620–628. <https://doi.org/10.1111/apt.12869>
43. Nakase H, Motoya S, Matsumoto T, Watanabe K, Hisamatsu T, Yoshimura N, Ishida T, Kato S, Nakagawa T, Esaki M, Nagahori M, Matsui T, Naito Y, Kanai T, Suzuki Y, Nojima M, Watanabe M, Hibi T (2017) Significance of measurement of serum trough level and anti-drug antibody of adalimumab as personalised pharmacokinetics in patients with Crohn's disease: a subanalysis of the DIAMOND trial. *Aliment Pharmacol Ther* 46(9):873–882. <https://doi.org/10.1111/apt.14318>
44. Zittan E, Kabakchiev B, Milgrom R, Nguyen GC, Croitoru K, Steinhart AH, Silverberg MS (2016) Higher adalimumab drug levels are associated with mucosal healing in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 10(5):510–515. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw014>

45. Takahashi H, Tsuji H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H (2013) Plasma trough levels of adalimumab and infliximab in terms of clinical efficacy during the treatment of psoriasis. *J Dermatol* 40(1):39–42. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2012.01679.x>



## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carmona Ortells L, Loza Santamaría E, ESPOGUIA g. Guía práctica para el manejo de las espondiloartritis (ESPOGUIA): metodología y datos generales del documento. *Reumatol Clin*. 2010;6 Suppl 1:1-5.
2. Dean LE, Jones GT, MacDonald AG, Downham C, Sturrock RD, Macfarlane GJ. Global prevalence of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(4):650-7.
3. Seoane-Mato D, Sánchez-Piedra C, Díaz-González F, Bustabad S. THU0684 Prevalence of rheumatic diseases in adult population in Spain. EPISE 2016 study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2018;77(Suppl 2):535-6.
4. Hukuda S, Minami M, Saito T, Mitsui H, Matsui N, Komatsubara Y, et al. Spondyloarthropathies in Japan: nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society. *J Rheumatol*. 2001;28(3):554-9.
5. Zink A, Listing J, Klindworth C, Zeidler H, Centres GCA. The national database of the German Collaborative Arthritis Centres: I. Structure, aims, and patients. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(3):199-206.
6. Brown MA, Laval SH, Brophy S, Calin A. Recurrence risk modelling of the genetic susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(11):883-6.
7. de Winter JJ, van Mens LJ, van der Heijde D, Landewé R, Baeten DL. Prevalence of peripheral and extra-articular disease in ankylosing spondylitis versus non-radiographic axial spondyloarthritis: a meta-analysis. *Arthritis Res Ther*. 2016;18:196.
8. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, Listing J, Akkoc N, Brandt J, et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(6):777-83.
9. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum*. 1984;27(4):361-8.
10. Kroon FP, van der Burg LR, Ramiro S, Landewé RB, Buchbinder R, Falzon L, et al. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs for Axial Spondyloarthritis: A Cochrane Review. *J Rheumatol*. 2016;43(3):607-17.
11. Anderson JJ, Baron G, van der Heijde D, Felson DT, Dougados M. Ankylosing spondylitis assessment group preliminary definition of short-term improvement in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2001;44(8):1876-86.
12. van der Heijde D, Baraf HS, Ramos-Remus C, Calin A, Weaver AL, Schiff M, et al. Evaluation of the efficacy of etoricoxib in ankylosing spondylitis: results of a fifty-two-week, randomized, controlled study. *Arthritis Rheum*. 2005;52(4):1205-15.
13. van der Heijde D, Ramiro S, Landewé R, Baraliakos X, Van den Bosch F, Sepriano A, et al. 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):978-91.

14. Braun J, Baraliakos X, Hermann KG, Landewé R, Machado PM, Maksymowych WP, et al. Effect of certolizumab pegol over 96 weeks of treatment on inflammation of the spine and sacroiliac joints, as measured by MRI, and the association between clinical and MRI outcomes in patients with axial spondyloarthritis. *RMD Open*. 2017;3(1):e000430.
15. van der Heijde D, Landewé R, Einstein S, Ory P, Vosse D, Ni L, et al. Radiographic progression of ankylosing spondylitis after up to two years of treatment with etanercept. *Arthritis Rheum*. 2008;58(5):1324-31.
16. van der Heijde D, Salonen D, Weissman BN, Landewé R, Maksymowych WP, Kupper H, et al. Assessment of radiographic progression in the spines of patients with ankylosing spondylitis treated with adalimumab for up to 2 years. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(4):R127.
17. van der Heijde D, Landewé R, Baraliakos X, Houben H, van Tubergen A, Williamson P, et al. Radiographic findings following two years of infliximab therapy in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2008;58(10):3063-70.
18. Molnar C, Scherer A, Baraliakos X, de Hooge M, Micheroli R, Exer P, et al. TNF blockers inhibit spinal radiographic progression in ankylosing spondylitis by reducing disease activity: results from the Swiss Clinical Quality Management cohort. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(1):63-9.
19. Haroon N, Inman RD, Leach TJ, Weisman MH, Lee M, Rahbar MH, et al. The impact of tumor necrosis factor  $\alpha$  inhibitors on radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2013;65(10):2645-54.
20. van der Heijde D, Sieper J, Maksymowych WP, Dougados M, Burgos-Vargas R, Landewé R, et al. 2010 Update of the international ASAS recommendations for the use of anti-TNF agents in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):905-8.
21. Ficha técnica de Humira (R). European Medicines Agency. [http://www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000481/WC500050870.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000481/WC500050870.pdf). Visitado en diciembre de 2017.
22. Valor L, de la Torre I. Understanding the immunogenicity concept. *Reumatol Clin*. 2013;9(1):1-4.
23. de Vries MK, Brouwer E, van der Horst-Bruinsma IE, Spoorenberg A, van Denderen JC, Jamnitski A, et al. Decreased clinical response to adalimumab in ankylosing spondylitis is associated with antibody formation. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(11):1787-8.
24. van Schie KA, Hart MH, de Groot ER, Kruithof S, Aarden LA, Wolbink GJ, 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):311-4.
25. Maneiro JR, Salgado E, Gomez-Reino JJ. Immunogenicity of monoclonal antibodies against tumor necrosis factor used in chronic immune-mediated Inflammatory conditions: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2013;173(15):1416-28.
26. Garcês S, Demengeot J, Benito-Garcia E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(12):1947-55.

27. Martín-López M, Carmona L, Balsa A, Calvo-Alén J, Sanmartí R, Tornero J, et al. Serum drug levels of biologic agents in the management of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis: a systematic review. *Rheumatol Int.* 2018;38(6):975-83.
28. Rosas J, Llinares-Tello F, de la Torre I, Santos-Ramírez C, Senabre-Gallego JM, Valor L, et al. Clinical relevance of monitoring serum levels of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in daily practice. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32(6):942-8.
29. Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, Stapel S, Lems WF, Aarden L, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(7):921-6.
30. van Kuijk AW, de Groot M, Stapel SO, Dijkmans BA, Wolbink GJ, Tak PP. Relationship between the clinical response to adalimumab treatment and serum levels of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(3):624-5.
31. Zisapel M, Zisman D, Madar-Balakisri N, Arad U, Padova H, Matz H, et al. Prevalence of TNF- $\alpha$  blocker immunogenicity in psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 2015;42(1):73-8.
32. de Vries MK, Wolbink GJ, Stapel SO, de Groot ER, Dijkmans BA, Aarden LA, et al. Inefficacy of infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with antibody formation. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(1):133-4.
33. Krzysiek R, Breban M, Ravaud P, Prejean MV, Wijdenes J, Roy C, et al. Circulating concentration of infliximab and response to treatment in ankylosing spondylitis: results from a randomized control study. *Arthritis Rheum.* 2009;61(5):569-76.
34. Arends S, Lebbink HR, Spoorenberg A, Bungener LB, Roozendaal C, van der Veer E, 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):661-8.
35. Bornstein G, Lidar M, Langevitz P, Fardman A, Ben-Zvi I, Grossman C. The prevalence and clinical effect of immunogenicity of TNF-alpha blockers in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2018;36(2):228-32.
36. de Vries MK, van der Horst-Bruinsma IE, Nurmohamed MT, Aarden LA, Stapel SO, Peters MJ, et al. Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(4):531-5.
37. Inman RD, Davis JC, Heijde D, Diekman L, Sieper J, Kim SI, et al. Efficacy and safety of golimumab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. *Arthritis Rheum.* 2008;58(11):3402-12.
38. Sandborn WJ, Wolf DC, Kosutic G, Parker G, Schreiber S, Lee SD, et al. Effects of Transient and Persistent Anti-drug Antibodies to Certolizumab Pegol: Longitudinal Data from a 7-Year Study in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(7):1047-56.
39. Plasencia C, Pascual-Salcedo D, García-Carazo S, Lojo L, Nuño L, Villalba A, et al. The immunogenicity to the first anti-TNF therapy determines the outcome of switching to a second anti-TNF therapy in spondyloarthritis patients. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(4):R79.

40. Jani M, Isaacs JD, Morgan AW, Wilson AG, Plant D, Hyrich KL, et al. Detection of anti-drug antibodies using a bridging ELISA compared with radioimmunoassay in adalimumab-treated rheumatoid arthritis patients with random drug levels. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(11):2050-5.
41. Chen DY, Chen YM, Hsieh TY, Hung WT, Hsieh CW, Chen HH, et al. Drug trough levels predict therapeutic responses to dose reduction of adalimumab for rheumatoid arthritis patients during 24 weeks of follow-up. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(1):143-8.
42. Bouman C, van Herwaarden N, van den Hoogen F, van der Maas A, van den Bemt B, den Broeder AA. Prediction of successful dose reduction or discontinuation of adalimumab, etanercept, or infliximab in rheumatoid arthritis patients using serum drug levels and antidrug antibody measurement. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2017;13(6):597-604.
43. Mazor Y, Almog R, Kopylov U, Ben Hur D, Blatt A, Dahan A, et al. Adalimumab drug and antibody levels as predictors of clinical and laboratory response in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(6):620-8.
44. Nakase H, Motoya S, Matsumoto T, Watanabe K, Hisamatsu T, Yoshimura N, et al. Significance of measurement of serum trough level and anti-drug antibody of adalimumab as personalised pharmacokinetics in patients with Crohn's disease: a subanalysis of the DIAMOND trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(9):873-82.
45. Zittan E, Kabakchiev B, Milgrom R, Nguyen GC, Croitoru K, Steinhart AH, et al. Higher Adalimumab Drug Levels are Associated with Mucosal Healing in Patients with Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2016;10(5):510-5.
46. Takahashi H, Tsuji H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Plasma trough levels of adalimumab and infliximab in terms of clinical efficacy during the treatment of psoriasis. *J Dermatol*. 2013;40(1):39-42.
47. Plasencia C, Kneepkens EL, Wolbink G, Krieckaert CL, Turk S, Navarro-Compán V, et al. Comparing Tapering Strategy to Standard Dosing Regimen of Tumor Necrosis Factor Inhibitors in Patients with Spondyloarthritis in Low Disease Activity. *J Rheumatol*. 2015;42(9):1638-46.
48. Fong W, Holroyd C, Davidson B, Armstrong R, Harvey N, Dennison E, et al. The effectiveness of a real life dose reduction strategy for tumour necrosis factor inhibitors in ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(10):1837-42.
49. Paccou J, Baclé-Boutry MA, Solau-Gervais E, Bele-Philippe P, Flipo RM. Dosage adjustment of anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibitor in ankylosing spondylitis is effective in maintaining remission in clinical practice. *J Rheumatol*. 2012;39(7):1418-23.
50. Jani M, Dixon WG, Lunt M, De Cock D, Isaacs JD, Morgan AW, et al. OP0229 The association of biologic drug-levels with infection risk: results from the british society for rheumatology biologics register for rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2018;77(Suppl 2):163-4.
51. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol*. 1994;21(12):2286-91.
52. van der Heijde D, Lie E, Kvien TK, Sieper J, Van den Bosch F, Listing J, et al. ASDAS, a highly discriminatory ASAS-endorsed disease activity score in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(12):1811-8.



53. Llinares-Tello F, De Salazar JRG, Gallego JS, Soler GS, Ramirez CS, Heredia ES, et al. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2012;50(10):1845-7.
54. Llinares-Tello F, Rosas J, De La Torre I, Valor L, Senabre JM, Barber X, et al. Comparative study of both versions of an immunoassay commercialized for therapeutic drug monitoring of adalimumab. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2013;72(Suppl 3):220-39.
55. Ruiz-Argüello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martínez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(12):e287-9.
56. Llinares-Tello F, Rosas-Gómez de Salazar J, Senabre-Gallego JM, Santos-Soler G, Santos-Ramírez C, Salas-Heredia E, et al. Practical application of acid dissociation in monitoring patients treated with adalimumab. *Rheumatol Int*. 2014;34(12):1701-8.
57. Landewé R, Braun J, Deodhar A, Dougados M, Maksymowych WP, Mease PJ, et al. Efficacy of certolizumab pegol on signs and symptoms of axial spondyloarthritis including ankylosing spondylitis: 24-week results of a double-blind randomised placebo-controlled Phase 3 study. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(1):39-47.
58. Rudwaleit M, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, et al. The early disease stage in axial spondylarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Arthritis Rheum*. 2009;60(3):717-27.
59. Bornstein G, Lidar M, Langevitz P, Fardman A, Ben-Zvi I, Grossman C. The prevalence and clinical effect of immunogenicity of TNF- $\alpha$  blockers in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017.
60. Rubin DT, Naik S, Kondragunta V, Rao T, Jain A. Detection of adalimumab and antibodies to adalimumab using a homogeneous mobility shift assay. *Curr Med Res Opin*. 2017;33(5):837-43.
61. Paramarta JE, Baeten DL. Adalimumab serum levels and antidrug antibodies towards adalimumab in peripheral spondyloarthritis: no association with clinical response to treatment or with disease relapse upon treatment discontinuation. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(4):R160.
62. Kneepkens EL, Wei JC, Nurmohamed MT, Yeo KJ, Chen CY, van der Horst-Bruinsma IE, et al. Immunogenicity, adalimumab levels and clinical response in ankylosing spondylitis patients during 24 weeks of follow-up. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(2):396-401.
63. Cludts I, Spinelli FR, Morello F, Hockley J, Valesini G, Wadhwa M. Anti-therapeutic antibodies and their clinical impact in patients treated with the TNF antagonist adalimumab. *Cytokine*. 2017;96:16-23.
64. Bartelds GM, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JW, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA*. 2011;305(14):1460-8.
65. Rosas J, Llinares-Tello F, de la Torre I, Santos-Ramírez C, Senabre-Gallego JM, Valor L, et al. Clinical relevance of monitoring serum levels of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in daily practice. *Clin Exp Rheumatol*. 2014;32(6):942-8.

66. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink GJ. Methotrexate reduces immunogenicity in adalimumab treated rheumatoid arthritis patients in a dose dependent manner. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(11):1914-5.
67. Plasencia C, Pascual-Salcedo D, Nuño L, Bonilla G, Villalba A, Peiteado D, et al. Influence of immunogenicity on the efficacy of longterm treatment of spondyloarthritis with infliximab. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(12):1955-60.
68. Rosas J, Llinares-Tello F, Senabre-Gallego JM, Barber-Vallés X, Santos-Soler G, Salas-Heredia E, et al. Obesity decreases clinical efficacy and levels of adalimumab in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35(1):145-8.
69. Ottaviani S, Allanore Y, Tubach F, Forien M, Gardette A, Pasquet B, et al. Body mass index influences the response to infliximab in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R115.
70. Simone D, Canestri S, Nowik M, Messuti L, Miceli M, Gremese E, et al. Genetic and clinical predictors of response to TNF blocker in an Italian axial-SPA cohort. *Clin Exp Rheumatol* 2014;32:802.
71. Gremese E, Bernardi S, Bonazza S, Nowik M, Peluso G, Massara A, et al. Body weight, gender and response to TNF- $\alpha$  blockers in axial spondyloarthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2014;53(5):875-81.
72. Micheroli R, Hebeisen M, Wildi LM, Exer P, Tamborrini G, Bernhard J, et al. Impact of obesity on the response to tumor necrosis factor inhibitors in axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2017;19(1):164.
73. Gómez R, Conde J, Scotece M, Gómez-Reino JJ, Lago F, Gualillo O. What's new in our understanding of the role of adipokines in rheumatic diseases? *Nat Rev Rheumatol.* 2011;7(9):528-36.