

**SAN VICENTE MÁRTIR**



**Universidad  
Católica de  
Valencia**  
San Vicente Mártir

**EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LA CALPROTECTINA PLASMÁTICA COMO  
MARCADOR DE INFLAMACIÓN EN LAS UVEÍTIS NO INFECCIOSAS.**

**TESIS DOCTORAL**

DOCTORANDA: ELIA VALLS PASCUAL

DIRECTORES DE TESIS: DR. D. JOSÉ ANDRÉS ROMÁN IVORRA

DRA. D<sup>a</sup>. LUCÍA MARTÍNEZ-COSTA PÉREZ

**2022**



ÍNDICE DE CONTENIDO.

<b>RESUMEN.....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>18</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>21</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>23</b>
<b>OBJECTIVES.....</b>	<b>23</b>
<b>MATERIAL AND METHODS.....</b>	<b>23</b>
<b>RESULTS.....</b>	<b>24</b>
<b>CONCLUSIONS.....</b>	<b>24</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1. DEFINICIÓN DE UVEÍTIS.....</b>	<b>27</b>
<b>1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS UVEÍTIS.....</b>	<b>28</b>
<b>1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA UVEÍTIS.....</b>	<b>30</b>
<b>1.4. RELEVANCIA DE LA UVEÍTIS EN LA SOCIEDAD E IMPACTO EN LA CALIDAD DE VIDA DE LOS PACIENTES.....</b>	<b>32</b>
<b>1.5. CONCEPTOS BÁSICOS EN INMUNOLOGÍA OCULAR.....</b>	<b>33</b>
1.5.1. Tipos de respuesta inmune.....	33
1.5.2. Privilegio inmune ocular.....	36
1.5.3. Respuestas inmunitarias en la uveítis.....	37

<b>1.6. RELEVANCIA DE LA UVEÍTIS PARA LA REUMATOLOGÍA.....</b>	<b>38</b>
1.6.1. Enfermedades inflamatorias sistémicas con mayor prevalencia de uveítis.....	40
1.6.2. Experiencia de una consulta multidisciplinar de inflamación ocular.....	53
<b>1.7. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN LA UVEÍTIS.....</b>	<b>54</b>
1.7.1. Valoración clínica.....	55
1.7.2. Fotometría con láser.....	58
1.7.3. Métodos de imagen cuantitativos.....	59
1.7.4. Índices compuestos de actividad.....	61
1.7.5. Biomarcadores en sangre periférica.....	62
<b>1. 8.CALPROTECTINA.....</b>	<b>64</b>
1.8.1. Definición y características de la molécula.....	64
1.8.2. Funciones de la calprotectina.....	66
1.8.3. Papel potencial de la calprotectina en la inmunidad adaptativa.....	68
1.8.4. Calprotectina como biomarcador de actividad y respuesta terapéutica en enfermedades inflamatorias y autoinmunes sistémicas.....	69
1.8.5. Proteínas S100A8 y S100A9 circulantes y uveítis. Estudios preclínicos.....	73
1.8.6. Calprotectina circulante y uveítis. Estudios clínicos.....	74
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y ALCANCE DEL ESTUDIO.....</b>	<b>81</b>
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>85</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>89</b>

4.1. OBJETIVO				
PRIMARIO.....				91
4.2. OBJETIVOS				
SECUNDARIOS.....				91
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....				93
5. 1.DISEÑO	DEL	ESTUDIO	Y	ASPECTOS
ÉTICOS.....				95
5.2. ÁMBITO				DEL
ESTUDIO.....				95
5.3. POBLACIÓN	DEL	ESTUDIO	Y	TAMAÑO
MUESTRAL.....				96
5.3.1. Población del				
estudio.....				96
5.3.2. Tamaño				
muestral.....				96
5.4. CRITERIOS	DE	INCLUSIÓN	Y	
EXCLUSIÓN.....				97
5.4.1. Criterios				de
inclusión.....				97
5.4.2. Criterios				de
exclusión.....				98
5.5. VARIABLES	INCLUIDAS	EN	EL	
ESTUDIO.....				98
5.5.1. Variable		principal		o
dependiente.....				98
5.5.2. Variables		secundarias		o
independientes.....				98
5.6. RECOGIDA				DE
INFORMACIÓN.....				101
5.7. MATERIAL.....				101
5.7.1. Pruebas				
oftalmológicas.....				101

5.7.2. Prueba de laboratorio: determinación de calprotectina.....	103
<b>5.8. PROCEDIMIENTOS.....</b>	<b>.....104</b>
<b>5.9. ESTUDIO ESTADÍSTICO.....</b>	<b>.....105</b>
5.9.1. Análisis univariante o estadística descriptiva.....	105
5.9.2. Análisis bivariante.....	....106
5.9.3. Análisis multivariante.....	...108
5.9.4. Programa informático.....	...108
<b>6. DIFICULTADES.....</b>	<b>.....109</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>.....113</b>
<b>7.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO.....</b>	<b>.....115</b>
<b>7.2. ESTUDIO TRANSVERSAL.....</b>	<b>.....120</b>
7.2.1. Análisis bivariante.....	.....120
7.2.2. Análisis multivariante.....	.....126
<b>7. 3.ESTUDIO PROSPECTIVO.....</b>	<b>.....126</b>
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>.....129</b>
<b>8.1. COMPARACIÓN DE NIVELES DE CALPROTECTINA ENTRE PACIENTES CON NIU Y CONTROLES.....</b>	<b>.....131</b>
<b>8.2. RELACIÓN ENTRE NIVELES DE CALPROTECTINA Y ACTIVIDAD DE LA UVEÍTIS.....</b>	<b>.....132</b>
<b>8.3. CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE CALPROTECTINA</b>	

<b>Y GRADO DE CELULARIDAD EN CÁMARA ANTERIOR.....</b>	<b>135</b>
<b>8.4. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.....</b>	<b>135</b>
<b>8.5. INFLUENCIA DE LA LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LA UVEÍTIS EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.....</b>	<b>137</b>
<b>8. 6.INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD SISTÉMICA EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.....</b>	<b>138</b>
<b>8.7. EFECTO DEL TRATAMIENTO INMUNOMODULADOR EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.....</b>	<b>139</b>
<b>9. LIMITACIONES.....</b>	<b>143</b>
<b>10. CONCLUSIONES.....</b>	<b>147</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>151</b>
<b>12. ANEXOS.....</b>	<b>175</b>
<b>-ANEXO 1. Flujograma de atención a los pacientes en la Unidad Funcional de Inflamación Ocular del Hospital Universitari Doctor Peset.....</b>	<b>177</b>
<b>- ANEXO 2. Índice de actividad del Lupus Eritematoso Sistémico.....</b>	<b>178</b>
<b>- ANEXO 3. Carta de aprobación del CEIm del Hospital Universitari Doctor Peset.....</b>	<b>179</b>
<b>- ANEXO 4. Recogida de datos.....</b>	<b>180</b>
<b>- ANEXO 5. Hoja de información a los pacientes.....</b>	<b>181</b>
<b>- ANEXO 6. Hoja de información a los controles.....</b>	<b>183</b>
<b>- ANEXO 7. Hoja de consentimiento informado.....</b>	<b>185</b>
<b>- ANEXO 8. Características de las variables incluidas en el estudio.....</b>	<b>186</b>
<b>- ANEXO 9. Modelo multivariante. Análisis de la influencia de las distintas variables en la variable principal o desenlace.....</b>	<b>187 -</b>

**ANEXO 10. Modelo mixto para medidas repetidas. Análisis de la variabilidad entre los niveles basales de calprotectina y los niveles en el momento de la resolución del brote de uveítis.....187**

**- ANEXO 11. Comunicaciones a congresos derivadas de este trabajo.....188**

**- ANEXO 12. Artículo publicado derivado de este trabajo.....193**

**ABREVIATURAS Y SIGLAS.....195**

**ÍNDICE DE TABLAS.....199**

**ÍNDICE DE FIGURAS.....200**



**RESUMEN.**

## **INTRODUCCIÓN.**

La uveítis está considerada una afección grave que causa entre el 5 y el 20% de los casos de ceguera legal y hasta un 10% de las alteraciones visuales asociadas con discapacidad laboral. Además, la uveítis no infecciosa, que es la forma más prevalente de uveítis en nuestro medio, se ha asociado a altos costes económicos, relacionados tanto con su diagnóstico como con su tratamiento. Hasta la fecha, no se han validado biomarcadores de inflamación ocular. La evaluación de la actividad de las uveítis se basa en general en sistemas de gradación semicuantitativos subjetivos. Los niveles de calprotectina circulante están elevados en diferentes enfermedades inflamatorias, habiéndose propuesto como indicadores sensibles de actividad en pacientes con uveítis.

## **OBJETIVOS.**

**Objetivo principal:** Comparar los niveles de calprotectina plasmática en pacientes con uveítis no infecciosa activa con los de controles sin uveítis.

**Objetivos secundarios:** Evaluar la correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y el grado de celularidad en cámara anterior en pacientes con uveítis anterior. Evaluar los cambios en los niveles de calprotectina plasmática en pacientes con uveítis entre el inicio del brote de uveítis y su resolución.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se llevó a cabo un estudio observacional, transversal y prospectivo. Se reclutaron pacientes con uveítis no infecciosa activa y controles sin uveítis. Se programó un seguimiento de 3 meses para el grupo de pacientes. Se determinó la concentración de calprotectina plasmática y se realizaron exploraciones oftalmológicas en pacientes y

controles. Se recogieron y se analizaron las variables independientes que pudiesen influenciar los niveles de calprotectina. Para llevar a cabo el análisis estadístico se utilizaron los programas R (versión 3.6.0) y SPSS (versión 11).

## **RESULTADOS.**

En el estudio transversal se incluyeron 74 pacientes y 40 controles, y en el estudio prospectivo, 36 pacientes. Los niveles de calprotectina plasmática de los pacientes con uveítis fueron superiores a los de los controles. Esta diferencia se observó tanto en las uveítis activas como en las inactivas. La concentración de calprotectina se vio influenciada por la edad de los pacientes y por la localización anatómica de las uveítis, siendo más elevada en los pacientes más jóvenes, y en aquellos con uveítis anterior y posterior. En los pacientes con enfermedad sistémica asociada a la uveítis, los valores de calprotectina fueron superiores en aquellos que presentaban actividad sistémica. No se encontró correlación entre los niveles de calprotectina y el grado de celularidad en cámara anterior. La concentración de calprotectina no se vio influenciada por el uso de corticosteroides, tópicos o sistémicos, en el momento de la determinación analítica. En el estudio prospectivo, no se encontraron diferencias significativas entre los niveles de calprotectina de la fase de uveítis activa y tras su resolución.

## **CONCLUSIONES.**

Las concentraciones de calprotectina plasmática difieren entre pacientes con uveítis y controles sanos y están influenciadas por la edad, la localización anatómica de la uveítis y la presencia de enfermedad inflamatoria sistémica activa. Teniendo en cuenta la muestra

del estudio, la concentración de calprotectina plasmática no resultó ser un buen marcador de actividad clínica.



**ABSTRACT.**



## **INTRODUCTION.**

Uveitis is considered a serious disease that causes 5 to 20% of legal blindness cases and up to 10% of visual disturbances associated with laboral disability. Non-infectious uveitis, which is the most predominant form of uveitis in our environment, has been associated with high costs, both with its diagnosis and its treatment. Up until now, no biomarkers have been validated to assess ocular inflammation and the evaluation of disease activity depends basically on semiquantitative subjective grading systems. Circulating calprotectin levels are increased in different inflammatory conditions and they have been proposed to be sensitive indicators of disease activity in patients with uveitis.

## **OBJECTIVES.**

**Main objective:** To compare levels of plasma calprotectin in patients with active noninfectious uveitis with those of nonuveitic controls.

**Secondary objectives:** To evaluate the correlation between levels of plasma calprotectin and anterior chamber cell grade in anterior uveitis and evaluate the changes of plasma calprotectin levels in uveitic patients between flare beginning and its resolution.

## **MATERIALS AND METHODS.**

This is an observational both cross-sectional and prospective study. Patients with active noninfectious uveitis were recruited as well as nonuveitic controls. A 3 month follow-up was conducted for uveitis patients. Plasma calprotectin was determined and an ophthalmological examination was performed for both patients and controls. Independent variables possibly influencing levels of plasma calprotectin were recorded and analyzed.



R software (version 3.6.0) and SPSS software (version 11) were used to perform the statistical analysis.

## **RESULTS.**

74 patients and 40 controls were included in the cross-sectional study, and 36 patients in the prospective study. Plasma calprotectin levels were higher in uveitis patients compared to those of controls. This difference was observed for active uveitis as well as for inactive uveitis. Calprotectin levels were influenced by age and anatomical location of uveitis, being higher in younger patients and patients with anterior and posterior uveitis. Among patients with systemic inflammatory disease associated to uveitis, calprotectin levels were higher in those who showed systemic activity of the disease. We found no influence of corticosteroid use, topical or systemic, on calprotectin levels. No correlation between calprotectin and anterior chamber inflammation degree was found. No significant differences in calprotectin levels between active and inactive uveitis were found.

## **CONCLUSIONS.**

Plasma calprotectin levels in uveitis patients are different from those of nonuveitic controls and are influenced by age, anatomical location of the uveitis and systemic inflammatory disease activity. Considering this study sample, plasma calprotectin concentration didn't prove to be a good marker of clinical activity.

## **1. INTRODUCCIÓN.**

## 1. INTRODUCCIÓN.

### 1.1. DEFINICIÓN DE UVEÍTIS.

Se denomina uveítis a la inflamación de las estructuras incluidas en el tracto uveal (iris, cuerpo ciliar y coroides) y, por extensión, de las estructuras adyacentes (vítreo, retina, nervio óptico y vasos). La localización anatómica de estas estructuras puede apreciarse en la Figura 1. Por tanto, se asume que el término de uveítis hace referencia a cualquier inflamación de las estructuras intraoculares.

**Figura 1. Anatomía ocular.**

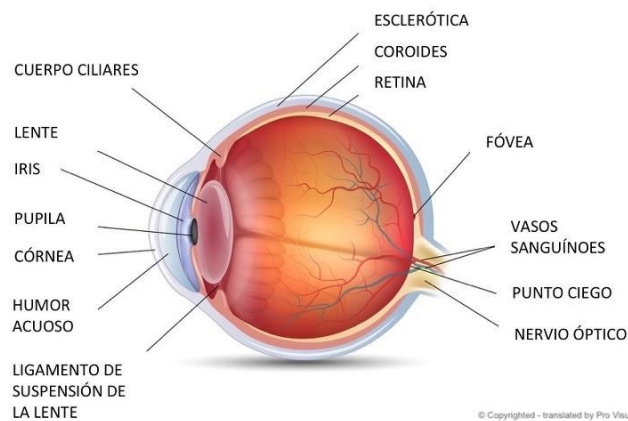


Imagen reproducida según las condiciones de la página web [www.provisu.ch](http://www.provisu.ch)

## 1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS UVEÍTIS.

Desde el punto de vista etiológico, podemos dividir las uveítis en infecciosas y no infecciosas (NIU por sus siglas en inglés), pudiendo dividirse éstas últimas en uveítis puramente oftalmológicas y uveítis asociadas a enfermedades autoinmunes o inflamatorias sistémicas. Algunos autores incluyen también en esta clasificación los síndromes de enmascaramiento, es decir, procesos no inflamatorios, fundamentalmente neoplásicos, que pueden simular una uveítis (1).

Desde el punto de vista histopatológico, las uveítis pueden ser diferenciadas en granulomatosas o no granulomatosas en función del infiltrado celular que tenga lugar. Las primeras se caracterizan por la infiltración de linfocitos, células plasmáticas y, ocasionalmente, monocitos. Las segundas se caracterizan por la infiltración de células epitelioides y células gigantes rodeadas de macrófagos que van a conformar los granulomas. Algunos oftalmólogos prefieren no usar esta diferenciación debido a que algunas uveítis no granulomatosas acaban evolucionando a uveítis granulomatosas y dado que la diferenciación se basa en la imagen clínica y casi nunca se pueden obtener muestras para estudio anatomopatológico.

El grupo *Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group* propuso en 2005 (2) un sistema de clasificación de las uveítis en función de su localización anatómica (Tabla 1). Adicionalmente, este grupo definió elementos descriptivos para ayudar a la clasificación de la uveítis en función de la forma de comienzo, la duración y la evolución (Tabla 2). A día de hoy, esta forma de clasificación de las uveítis sigue estando vigente y es globalmente aceptada por los expertos en uveítis.

**Tabla 1. Clasificación anatómica de las uveítis del grupo de trabajo SUN (2).**

Tipo	Localización primaria de la inflamación	Inlcuye
Uveítis anterior	Cámara anterior	Iritis Iridociclitis Ciclitis anterior
Uveítis intermedia	Vítreo	Pars planitis Ciclitis posterior Hialitis
Uveítis posterior	Retina o coroides	Coroiditis focal multifocal o difusa Coriorretinitis Retinocoroiditis Retinitis Neurorretinitis
Panuveítis	Cámara anterior, vítreo y retina o coroides	

**Tabla 2. Descriptores de uveítis del grupo de trabajo SUN (2).**

Categoría	Descriptor	Comentario
Comienzo	Súbito	
	Insidioso	
Duración	Limitada	≤ 3 meses
	Persistente	> 3 meses
Curso	Agudo	Episodio caracterizado por inicio súbito y duración limitada
	Recurrente	Episodios repetidos separados por periodos de inactividad sin tratamiento de duración ≥ 3 meses
	Crónico	Uveítis persistente con recidiva en < 3 meses tras la retirada del tratamiento

### 1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA UVEÍTIS.

Existen pocos trabajos que evalúen la frecuencia de uveítis en la población. Los datos sobre prevalencia e incidencia son dispares y son obtenidos de estudios de baja calidad.

Según los resultados aportados por estudios llevados a cabo hace varias décadas, se ha estimado que la incidencia de uveítis se sitúa entre los 17 y los 52 casos por 100.000 habitantes/año y la prevalencia de uveítis fluctuaría entre 38 y 714 casos por 100.000 habitantes (3–7).

Recientemente se ha publicado un estudio consistente en una revisión sistemática y un metanálisis cuyo objetivo es evaluar los trabajos publicados sobre la frecuencia de las uveítis (8). En este artículo se resumen los datos disponibles y se analiza la metodología de los trabajos, de cara a facilitar la interpretación de los resultados de dichas publicaciones. Los principales motivos por los se explica la gran heterogenicidad de los

datos sobre incidencia y prevalencia de uveítis son el estar realizados en diferentes poblaciones teniendo en cuenta edad y localización geográfica, los distintos diseños utilizados en los estudios, las diferencias en cuanto a las etiologías consideradas (fundamentalmente uveítis infecciosas vs NIU o ambas) y las diferencias en la población en la que se basan los estudios (estudios poblacionales vs hospitalarios).

Considerando sólo los estudios poblacionales, que son los más adecuados para estimar frecuencias de enfermedades en la población, en esta revisión se detalla que la prevalencia obtenida de los estudios transversales (diseño más adecuado para este propósito) varía entre 2 y 730 casos por 100.000 habitantes. La incidencia estimada en el metanálisis realizado en base a estudios longitudinales, tanto prospectivos como retrospectivos, fue de 50.45 casos por 100.000 habitantes / año. Los autores destacan que el índice de heterogenicidad fue muy elevado ( $I^2= 99.88\%$ ).

También de forma reciente se ha publicado un estudio nacional en el que se estima la prevalencia de uveítis en la provincia de Toledo (9), encontrándose que ésta es de 58.7 casos por 100.000 habitantes.

En nuestro medio, las uveítis infecciosas son menos frecuentes que las NIU (10). Dentro de las NIU, una revisión publicada en 2018 por Tsirouki y colaboradores (3) sitúa la uveítis anterior aguda idiopática como la forma más prevalente.

#### **1.4. RELEVANCIA DE LA UVEÍTIS EN LA SOCIEDAD E IMPACTO EN LA CALIDAD DE VIDA DE LOS PACIENTES.**

La uveítis está considerada una afección grave que causa entre el 5 y el 20% de los casos de ceguera legal y hasta un 10% de las alteraciones visuales asociadas con discapacidad laboral (11). Además, la NIU, que es la forma más prevalente de uveitis en nuestro medio, se ha asociado a altos costes económicos, relacionados tanto con su diagnóstico como con su tratamiento (10).

En un estudio en el que se evaluó el impacto en la calidad de vida de las NIU a través del cuestionario '36-item Short-Form Health Survey' (SF-36 por sus siglas en inglés), se encontraron diferencias significativas entre pacientes con NIU y controles sanos (12). Dichas diferencias se circunscribieron al componente físico del cuestionario, de modo que los pacientes con NIU reflejaron tener una peor función física, más dolor corporal, peor salud general y un peor desarrollo social. Previamente, en un trabajo que evalúa el impacto en la calidad de vida de las NIU tratadas con inmunomoduladores sistémicos a través también del cuestionario SF-36, se encontraron diferencias significativas frente a los valores reportados por la población general. En este mismo estudio se evaluaron los aspectos que pudieran influir en los resultados del cuestionario, encontrando que los peores resultados se relacionaban con una mayor edad, el sexo femenino, una baja agudeza visual (AV), y una duración de la enfermedad mayor de 6 años (13).

Recientemente se ha publicado un estudio exploratorio cualitativo cuyo objetivo fue evaluar distintos aspectos asociados con la calidad de vida e identificar aquellos que resultasen relevantes de cara a desarrollar un conjunto de ítems relacionado con la calidad de vida específico para pacientes con uveítis (14). En este estudio se identificaron siete dominios, previamente descritos para otras enfermedades oculares, pero con sub-temas específicos para uveítis en cada uno de los dominios. Los participantes en el estudio describieron su sintomatología, la frustración que les suponía la incertidumbre acerca de su pronóstico y el discomfort derivado de la enfermedad. Les preocupaba tener brotes de



inflamación pero también los efectos secundarios derivados de los tratamientos sistémicos. La uveítis afectaba en distintos aspectos de su vida diaria como utilizar el ordenador, conducir y leer. Por otro lado, la enfermedad suponía un impacto directo a nivel económico, ya que podían trabajar menos horas y además debían asumir el coste del seguimiento y el tratamiento de la enfermedad (el estudio fue llevado a cabo en Australia).

## **1.5. CONCEPTOS BÁSICOS EN INMUNOLOGÍA OCULAR.**

### **1.5.1. Tipos de respuesta inmune.**

El sistema inmune protege al organismo de la acción de distintos patógenos a través de dos tipos de respuesta: la respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa. Ambas precisan de la acción de neutrófilos, eosinófilos y monocitos como células efectoras inespecíficas, y usan mediadores moleculares idénticos como sistemas de amplificación. Pero difieren en una serie de aspectos que se detallan a continuación.

#### ***Respuesta inmune innata.***

Los fagocitos (macrófagos, células dendríticas y neutrófilos) reconocen patrones moleculares conservados: patrones moleculares asociados a patógeno (PAMPs por sus siglas en inglés) y patrones moleculares asociados al daño (DAMPs por sus siglas en inglés). Estos patrones son estructuras moleculares que pueden corresponder a distintas secuencias de aminoácidos, ciertas lipoproteínas o fosfolípidos entre otras estructuras. El reconocimiento se produce a través de receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs por sus siglas en inglés), como los ‘toll-like receptors’ (TLRs) o los ‘nucleotide-binding

oligomerization domain (NOD)-like receptors' (NLRs) (15). Este tipo de reconocimiento ha evolucionado poco a lo largo de los años y es inespecífico.

La interacción entre estos receptores y los patrones moleculares conservados desencadena la activación de vías de señalización intracelulares que conllevan el desarrollo de la inflamación. Un ejemplo de estas vías de señalización es la del factor de necrosis kappa-B (NF- $\kappa$ B por sus siglas en inglés), la cual induce la transcripción de diferentes genes proinflamatorios como los que codifican para las citoquinas interleuquina (IL)-1 e IL-6, o el factor de necrosis tumoral (TNF por sus siglas en inglés).

La respuesta innata se caracteriza por ser inmediata por estar pre-programada, por lo que la respuesta efectora se inicia directamente tras la activación de los receptores por patrones moleculares conservados. A diferencia de esto, la respuesta adaptativa precisa de varios días para completarse.

### ***Respuesta inmune adaptativa.***

A diferencia de lo que ocurre en la respuesta inmune innata, en la respuesta adaptativa tiene lugar un reconocimiento de antígenos que precisa del procesamiento de los mismos y del desarrollo de receptores específicos *de novo*, los cuales van a reconocer estructuras moleculares específicas. Esto es así para la primera vez que el organismo entra en contacto con los antígenos.

La respuesta inmune adaptativa se divide en tres fases: aferente, de procesamiento y efectora. En la fase aferente, los antígenos son reconocidos por los receptores de las células presentadoras de antígeno (CPA), las cuales transportan estos antígenos a los ganglios linfáticos, donde se produce su procesamiento para formar fragmentos peptídicos

que van a situarse en una zona especializada de reconocimiento antigénico, localizada en las moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA por sus siglas en inglés) de la superficie celular. Los linfocitos T, tanto los citotóxicos (T CD8) como los cooperadores (T CD4) van a reconocer a través de sus receptores los complejos formados por el antígeno y la molécula HLA (HLA de clase I en el caso de los linfocitos T CD 8, y HLA de clase II en el caso de los linfocitos T CD 4) y, con la colaboración de moléculas coestimuladoras, se sensibilizarán y se activarán. Los linfocitos cooperadores van a regular la activación y la producción de anticuerpos de los linfocitos B. Estos anticuerpos son glucoproteínas con capacidad para unirse con una sustancia antigénica específica, pudiendo encontrarse en la superficie celular de los linfocitos B o bien de forma soluble en el torrente circulatorio. Durante la fase efectora, gracias a la actividad de los linfocitos B y los linfocitos T, tendrá lugar la eliminación de la sustancia antigénica del organismo a través de la acción de diferentes citoquinas y mediadores solubles que van a reclutar a células efectoras inespecíficas como neutrófilos, eosinófilos y monocitos, y también gracias a la acción directa de los linfocitos T citotóxicos.

La respuesta adaptativa es más lenta en su inicio, pero más potente dado que posee memoria. Así, tras una segunda exposición al antígeno, se produce una liberación de células efectoras mayor y más rápida.

Paralela a esta respuesta al contacto con antígenos exógenos existe un mecanismo de tolerancia a las moléculas del propio organismo. Este mecanismo se inicia en el timo, donde se produce la maduración de los linfocitos T. Algunos de los linfocitos en desarrollo en el timo son capaces de reconocer con gran avidez a moléculas propias por lo que pueden generar autorreactividad. Estos linfocitos son eliminados en el timo en un proceso que se conoce como 'tolerancia central'. Algunos de estos linfocitos escapan a este mecanismo de tolerancia central, pero son generalmente bloqueados por los llamados mecanismos de

‘tolerancia periférica’, mediados, entre otras células, por un subtipo de linfocitos T CD 4 llamados linfocitos T reguladores (Treg). Estas células tienen la capacidad de inhibir la proliferación y la producción de citoquinas de los linfocitos T efectores (16).

### **1.5.2. Privilegio inmune ocular.**

La córnea, la cámara anterior, el vítreo y el espacio subretiniano constituyen las estructuras oculares con privilegio inmune (17). Este fenómeno inmunológico tiene lugar gracias a la expresión de factores inmunosupresores locales que inhiben la respuesta inflamatoria que puede dañar las estructuras oculares. Uno de estos factores es el ligando Fas (FasL), cuya expresión constitutiva es capaz de inducir la apoptosis de células inflamatorias infiltrantes (18).

Otro de los factores, en este caso pasivo, que contribuyen al mantenimiento del privilegio inmune ocular es la presencia de barreras hemato-oculares. En el polo anterior encontramos la barrera hematoacuosa, formada por el endotelio de los vasos del iris y el epitelio no pigmentado del cuerpo ciliar. En el polo posterior se encuentra la barrera hematorretiniana, que consta de dos partes: la interna, formada por el endotelio de los vasos retinianos, con uniones estrechas que evitan el paso de moléculas hacia el espacio extravascular retiniano, y la externa, formada por el epitelio pigmentario retiniano, con sus zónula occludens, que evitan el paso de sustancias desde la coroides hacia la retina.

Además de las mencionadas, otras características que contribuyen al mantenimiento del privilegio inmune ocular son la carencia de drenaje linfático y la presencia de CPA (macrófagos y células dendríticas) que promueven el fenómeno de tolerancia inmune (19). La función de las CPA presentes en la cámara anterior está alterada por su exposición a determinadas citoquinas inmunorreguladoras del humor acuoso y el tejido uveal como,

por ejemplo, el factor de crecimiento transformador (TGF por sus siglas en inglés)  $\beta 2$ . Tras el contacto con el antígeno, estas CPA atraviesan la malla trabecular y el canal de Schlemm hasta alcanzar la circulación venosa y, una vez allí, se dirigen hacia el bazo. En este órgano, se produce el procesamiento antigénico dando lugar a la activación de linfocitos T y B. A través de la acción de un subgrupo de células T que ejercen como reguladoras, se suprime la expresión y la respuesta de linfocitos T CD4 frente al antígeno específico (19). Esta variante de respuesta inmunitaria se conoce como desviación inmunitaria asociada a la cámara anterior (DIACA).

### **1.5.3. Respuestas inmunitarias en la uveítis.**

Se considera que la uveítis se inicia con la pérdida de la tolerancia inmunológica a las proteínas de la retina y productos relacionados con la tirosinasa, y que está dirigida por la actividad de dos subtipos de linfocitos T CD4 $\beta$ , los cuales secretan interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e IL-17 (20).

Para prevenir los fenómenos de autoinmunidad, los linfocitos Treg inhiben la acción de los linfocitos T autorreactivos que han escapado a los mecanismos de tolerancia central.

En pacientes con uveítis en el contexto de enfermedad de Behçet se ha objetivado una reducción significativa en el porcentaje de linfocitos Treg en sangre periférica previo al inicio de un brote de uveítis comparado con el porcentaje de estas células tras el brote (21). De modo similar, Chen y colaboradores (22) encontraron porcentajes más bajos así como una disminución de la función de linfocitos Treg en pacientes con uveítis activa en contexto del síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada.

Se cree que la debilidad en la tolerancia periférica a los antígenos de la retina es el motivo por el que el estímulo antigénico es capaz de desencadenar la respuesta inflamatoria a través de la activación de los linfocitos T efectores (20).

A pesar de que la uveítis es considerada básicamente una enfermedad mediada por linfocitos T CD4, existe evidencia de la importancia y la implicación de células que intervienen en la inmunidad innata como los macrófagos, los neutrófilos y las células dendríticas (23–27).

### **1.6. RELEVANCIA DE LA UVEÍTIS PARA LA REUMATOLOGÍA.**

La uveítis puede constituir una manifestación extrarticular de diversas enfermedades reumáticas inflamatorias (Tabla 3). Por tanto, es necesario que el reumatólogo conozca la afección y sea capaz tanto de saber incluirla como manifestación de la enfermedad que esté valorando como de tratarla en conjunto con el oftalmólogo. Además, en no pocas ocasiones, la uveítis representa el signo inicial de la enfermedad, de manera que gracias a su detección y al estudio de posibles enfermedades relacionadas, se puede llegar al diagnóstico concreto de la enfermedad reumática. En un estudio realizado en nuestro centro, se estimó que un 64,5% de los pacientes con uveítis relacionada con espondiloartritis asociadas a la positividad del antígeno HLA B27 fueron diagnosticados de la espondiloartritis a raíz de la derivación desde oftalmología a reumatología tras un primer episodio de uveítis (28).

**Tabla 3. Asociación de uveítis con las enfermedades reumatológicas.**

Tipo de uveítis	Enfermedad reumática asociada
Uveítis anterior	Espondilitis anquilosante Otras espondiloartritis Artritis idiopática juvenil Sarcoidosis Policondritis recidivante Enfermedad de Behçet Enfermedad de Kawasaki Síndrome de Blau
Uveítis intermedia	Sarcoidosis Síndrome de Blau
Uveítis posterior	Enfermedad de Behçet Síndrome antifosfolípido Lupus eritematoso sistémico Sarcoidosis Artritis psoriásica Panarteritis nodosa Arteritis de células gigantes Síndrome de Blau
Panuveítis	Enfermedad de Behçet Sarcoidosis Síndrome de Blau

En los últimos años se ha producido un gran avance en cuanto a la difusión de los conocimientos sobre la uveítis dentro del colectivo de la reumatología. Desde la Sociedad Española de Reumatología se organizan cursos sobre inflamación ocular que cuentan ya

con varias ediciones, y se incluyen ponencias sobre esta patología en sus congresos nacionales. En la misma dirección, vemos que la colaboración de reumatólogos y oftalmólogos en el desarrollo de estudios que permiten un mejor manejo de las uveítis, es muy amplia (29–45).

### **1.6.1. Enfermedades inflamatorias sistémicas con mayor prevalencia de uveítis.**

#### ***Espondiloartritis, psoriasis y enfermedad inflamatoria intestinal.***

La forma de uveítis más frecuente con la que nos encontramos los reumatólogos es la uveítis anterior aguda recurrente o alternante relacionada con las espondiloartritis (EspA) sobretodo si éstas se asocian con la positividad para el antígeno HLA B27 (Figura 2). En un estudio realizado en 2007 por Vander Cruyssen y colaboradores, se objetivó que del total de pacientes con espondilitis anquilosante analizados, un 42% había presentado manifestaciones extrarticulares, y, de estos, un 51% lo había hecho en forma de uveítis (46). Esta forma de uveítis suele responder bien al tratamiento tópico y generalmente no precisa modificación del tratamiento de fondo, pero en algunas ocasiones, cuando la uveítis es muy recurrente o si los episodios revisten especial gravedad, puede necesitar iniciar o intensificar el tratamiento inmunomodulador.

La forma de uveítis que se asocia con más frecuencia a la enfermedad inflamatoria intestinal, relacionada o no con EspA, es también la anterior, pero en este caso los pacientes tienden a presentar formas crónicas. La afectación del polo posterior en forma de coriorretinitis es relativamente frecuente (47). Se ha descrito que hasta un 17% de los pacientes pueden presentar uveítis (47).



En el caso de la artritis psoriásica (APs), se describe que pueden presentar uveítis hasta un 10% de los pacientes, especialmente los varones con afectación cutánea a nivel de cuero cabelludo y/o la región ciliar. El desarrollo de uveítis se puede dar en pacientes con afectación cutánea pero es más frecuente si existe además afectación articular. La forma de afectación más frecuentes es la uveítis anterior aguda recurrente unilateral, pero cierto porcentaje de pacientes puede presentar formas crónicas y/o bilaterales (47).

**Figura 2. Uveítis anterior. Se observa inyección mixta de los vasos (conjuntival y ciliar), Tyndall denso en el humor acuoso, y miosis.**



Imagen reproducida según las condiciones de la página [www.atlasophthalmology.net](http://www.atlasophthalmology.net). Autor: Michelson, Georg, Prof. Dr. med., Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

### ***Enfermedad de Behçet.***

El ojo es el órgano vital que se afecta con mayor frecuencia en la enfermedad de Behçet (EB). La uveítis suele aparecer entre los 2 y los 4 años desde el diagnóstico de la enfermedad pero se ha descrito que hasta en un 20% de los casos puede ser el primer signo (48–50). La forma de afectación más frecuente es la panuveítis asociada a vasculitis

retiniana que suele ser bilateral y recurrente, pero hasta un 10% de los pacientes pueden presentar una uveítis anterior aislada (50).

La uveítis anterior se presenta con hipopion de forma frecuente. La reacción inflamatoria en la cámara anterior se caracteriza por no asociarse a exudación fibrinosa, por lo que las células se mueven de manera 'libre'. Por ello, el hipopion que puede verse en la uveítis asociada a la EB se caracteriza por cambiar de posición con los movimientos de la cabeza a diferencia de lo que ocurre en el hipopion que tiene lugar en el contexto de otras uveítis.

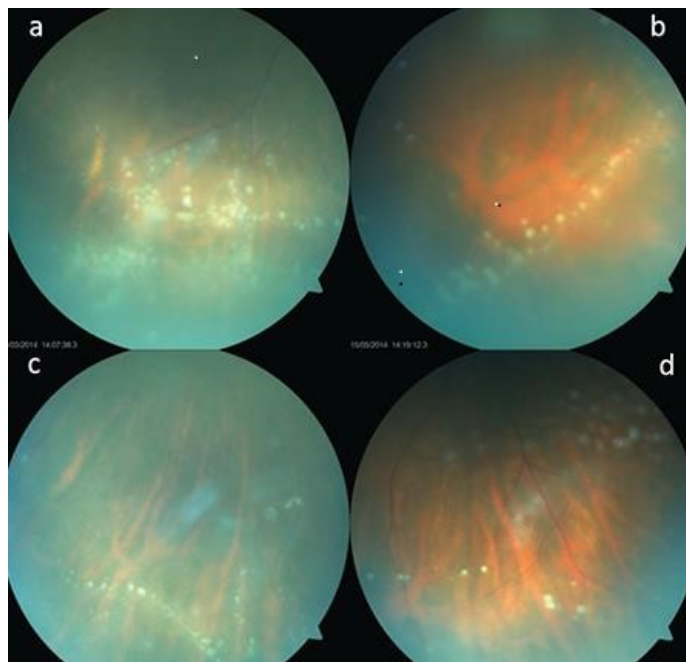
A nivel del vítreo, es típica la formación de precipitados inflamatorios dispuestos en cadena, como si de un collar de perlas se tratase (Figura 3). Esta lesión suele afectar a la porción inferior de la retina periférica.

La vasculitis retiniana en el contexto de la EB se caracteriza por afectar tanto a venas como a arterias, siendo más frecuente afectadas las primeras en forma de periflebitis oclusiva (Figura 4). La afectación vascular puede darse en vasos de todos los tamaños y en cualquier localización de la retina, tanto central como periférica. La oclusión vascular, puede conllevar exudación y hemorragias. La fuga capilar que tiene lugar cuando se afectan los vasos de este calibre se objetiva mediante angiografía fluoresceínica (AF) y puede verse a nivel de la papila óptica y a nivel de retina central o periférica. La afectación de la retina periférica puede pasar desapercibida si se utilizan cámaras convencionales, las cuales abarcan un ángulo de entre 30 a 60°. Por ello, para la monitorización de la vasculitis retiniana de la EB (y otras) es importante utilizar retinógrafos de campo ultraamplio que permiten obtener imágenes con un ángulo de 200° (51).

La uveítis de la EB es una afección grave que requiere un inicio precoz del tratamiento, no sólo con corticosteroides sistémicos sino con la asociación a éstos de inmunosupresores

sintéticos, tanto sintéticos como biológicos. Los más utilizados son la azatioprina (antimetabolito), ciclosporina (anticalcineurínico), infliximab (anticuerpo monoclonal quimérico anti-TNF) o adalimumab (anticuerpo monoclonal completamente humanizado). El tratamiento precoz puede prevenir en muchos casos complicaciones como la atrofia retiniana y del nervio óptico, el edema macular y la membrana epirretiniana, y la isquemia retiniana, la cual puede además complicarse con neovascularización que dará lugar a zonas más o menos extensas de hemorragia (Figura 5). Otras complicaciones prevenibles a nivel de cámara anterior son las sinequias, las cataratas y el glaucoma.

**Figura 3. Precipitados inflamatorios en el vítreo en forma de ‘collar de perlas’.**



Çakar 2020. Imágenes reproducidas con el permiso de la revista y de la autora para la correspondencia.

**Figura 4. Vasculitis retiniana en contexto de EB. a) Periflebitis, exudados, hemorragias. b) Fuga capilar en AF.**

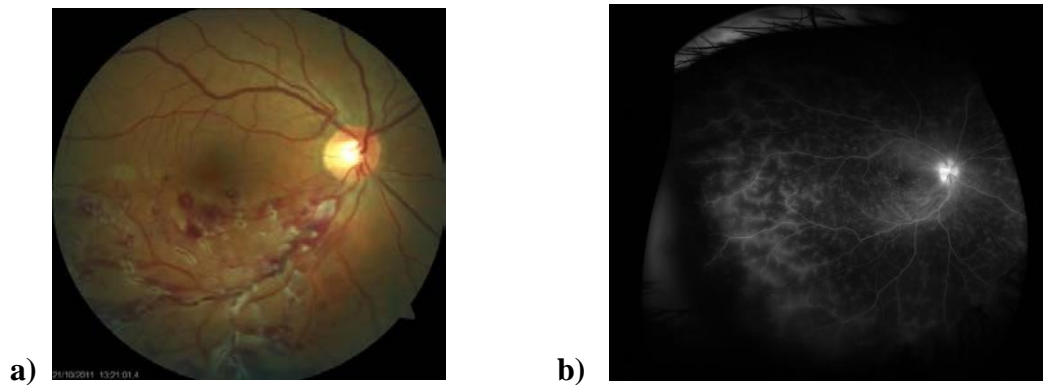


Imagen reproducida con el permiso del paciente.

**Figura 5. Neovascularización y hemorragia extensa. Impactos de láser empleado para la fotocoagulación.**



Imagen reproducida con el permiso del paciente.

### ***Sarcoidosis.***

Se ha descrito una prevalencia de manifestaciones oculares de entre el 12.9 y el 79.2% en pacientes con sarcoidosis sistémica (52–55). Estas diferencias puede deberse a razones

étnicas pero también a la importante variabilidad en los criterios diagnósticos de la sarcoidosis ocular.

La base del diagnóstico de la sarcoidosis es el hallazgo de granulomas no caseificantes en una muestra histológica, con la exclusión de otras enfermedades granulomatosas, fundamentalmente la tuberculosis. Pero rara vez se llegan a biopsiar las estructuras intraoculares. Cuando la clínica ocular aparece en pacientes con manifestaciones pulmonares típicas y/o con una biopsia compatible, el diagnóstico puede ser sencillo. Pero en hasta un 20-30% de los casos, la inflamación ocular puede ser la primera manifestación de la sarcoidosis (56,57) y en ocasiones, la única, con lo que la dificultad para llegar al diagnóstico se incrementa. En este sentido, la publicación en 2009 de los criterios tras el primer taller internacional sobre sarcoidosis ocular (IWOS por sus siglas en inglés) y sobretodo la revisión de estos criterios que se publicó en 2019 (58,59), han supuesto una ayuda considerable a la hora de definir la enfermedad (Tablas 4 y 5).

Se puede ver afectada prácticamente cualquier estructura ocular, siendo la uveítis la manifestación más frecuente. Asimismo, considerando la uveítis podemos encontrar diferentes formas, con afectación de cualquier estructura de la úvea y las estructuras adyacentes. En el primer taller IWOS se definieron las manifestaciones clínicas más características (Tabla 6 y Figuras 6-8).

**Tabla 4. Criterios IWOS para el diagnóstico de la sarcoidosis ocular (Herbort et al.**

**2009).**

Es necesario haber descartado otras etiologías, fundamentalmente la tuberculosis.	
Uveítis compatible + biopsia positiva.	Sarcoidosis ocular definida.
Uveítis compatible + linfadenopatías hiliares bilaterales; biopsia no realizada.	Sarcoidosis ocular presunta.
Presencia de 3 signos intraoculares sugestivos + 2 pruebas complementarias positivas*; biopsia no realizada y ausencia de linfadenopatías hiliares bilaterales.	Sarcoidosis ocular probable.
Presencia de 4 signos intraoculares sugestivos + 2 pruebas complementarias positivas*; biopsia no realizada.	Sarcoidosis ocular posible.

\* 1. Prueba de tuberculina negativa en paciente vacunado con el bacilo de Calmette-Guerin (BCG) o con test previo positivo; 2. Elevación de los niveles séricos de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y/o elevación de la lisozima sérica (necesario en pacientes en tratamiento con inhibidores de la ECA); 3. Linfadenopatías hiliares bilaterales en radiografía de tórax; 4. Pruebas enzimáticas hepáticas alteradas [al menos dos de las siguientes: aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gammaglutamil transferasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), lactato deshidrogenasa (LDH)]; 5. Tomografía computarizada (TC) pulmonar en pacientes con radiografía negativa.

**Tabla 5. Criterios IWOS para el diagnóstico de la sarcoidosis ocular revisados**

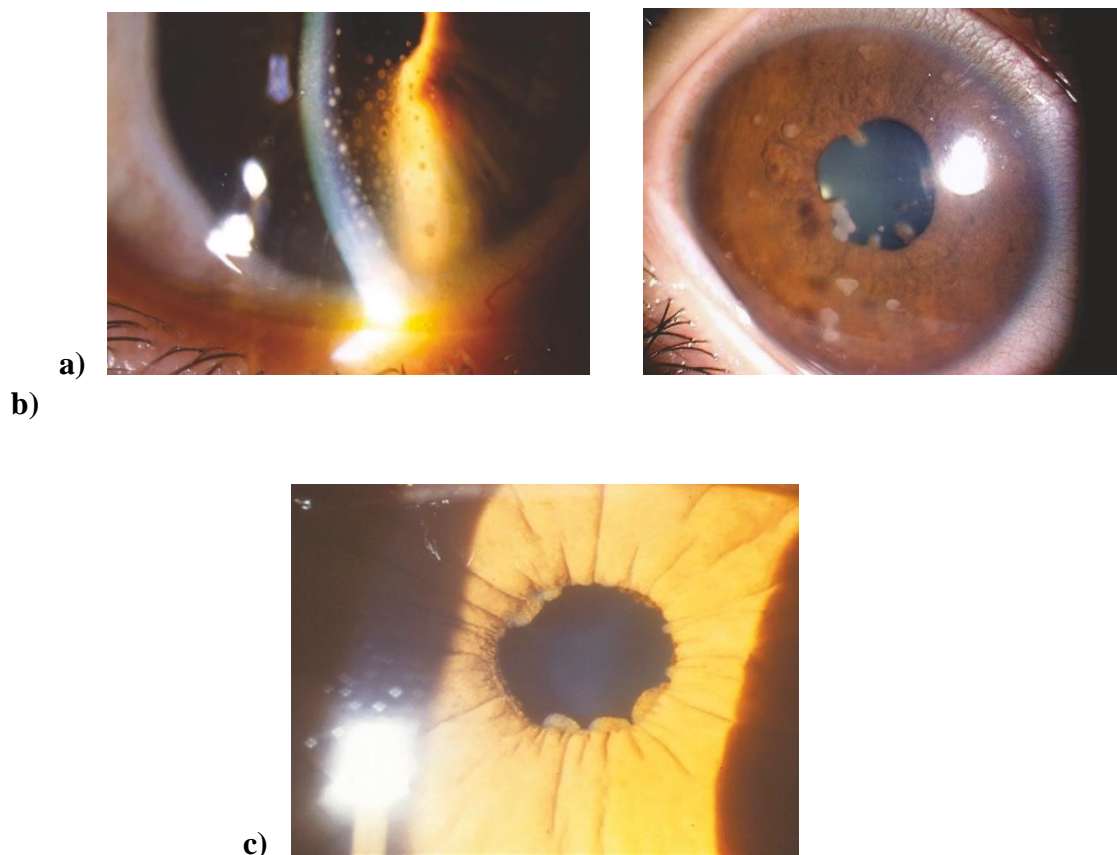
**(Mochizuki et al. 2019).**

I.	Es necesario descartar otras causas de uveítis granulomatosa.
II.	Signos intraoculares sugestivos de sarcoidosis ocular. <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Precipitados queráticos en grasa de carnero y/o nódulos de Busacca (estroma) o Koepe (borde pupilar) en el iris.</li> <li>2. Granulomas en el ángulo camerular y/o sinequias anteriores en forma de ‘tienda de campaña’.</li> </ol>

<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Grupos blancos de células ('bolas de nieve') / infiltrados vítreos en forma de 'collar de perlas'.</li> <li>4. Lesiones coriorretinianas periféricas múltiples (activas y atróficas).</li> <li>5. Periflebitis nodular y/o segmentaria (con o sin imágenes en 'gota de cera') y/o un macroaneurisma en el contexto de inflamación ocular.</li> <li>6. Nódulo(s) / granuloma(s) en el disco óptico y/o nódulo coroideo solitario.</li> <li>7. Bilateralidad.</li> </ol>
<p>III. Resultados de pruebas complementarias en sospecha de sarcoidosis ocular.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Linfadenopatías hiliares bilaterales en una radiografía de tórax y/o TC pulmonar.</li> <li>2. Prueba de tuberculina o prueba de liberación de interferón gamma (IGRA por sus siglas en inglés) negativos.</li> <li>3. Elevación de la ECA sérica.</li> <li>4. Elevación de la lisozima sérica.</li> <li>5. Elevación del cociente CD4/CD8 (&gt;3.5) en el fluido del lavado bronquioalveolar.</li> <li>6. Captación anormal en la gammagrafía con galio-67 o en la tomografía por emisión de positrones con 18-fluorodesoxiglucosa.</li> <li>7. Linfopenia.</li> <li>8. Cambios en parénquima pulmonar sugestivos de sarcoidosis, según neumólogos / radiólogos.</li> </ol>
<p>IV. Criterios diagnósticos.</p> <p>Sarcoidosis definida: uveítis compatible + biopsia positiva.</p> <p>Sarcoidosis presunta: presencia de 2 signos intraoculares sugestivos + linfadenopatías hiliares bilaterales en ausencia de biopsia positiva.</p> <p>Sarcoidosis probable: presencia de 3 signos intraoculares sugestivos + 2 pruebas complementarias positivas en ausencia de linfadenopatías hiliares bilaterales y biopsia positiva.</p>

**Tabla 6. Signos típicos de sarcoidosis ocular.**

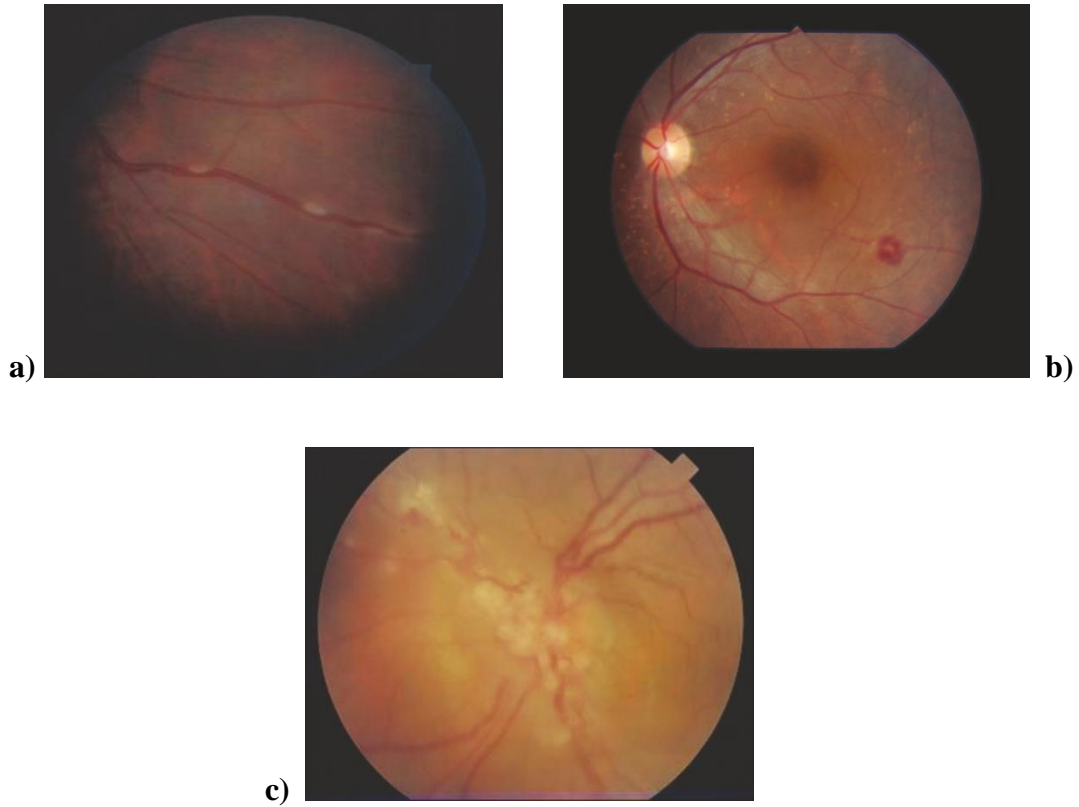
1. Precipitados queráticos en grasa de carnero y/o nódulos de Busacca (estroma) o Koeppe (borde pupilar) en el iris.
2. Granulomas en el ángulo camerular y/o sinequias anteriores en forma de ‘tienda de campaña’.
3. Grupos bancos de células (‘bolas de nieve’) / infiltrados vítreos en forma de ‘collar de perlas’.
4. Lesiones coriorretinianas periféricas múltiples (activas y atróficas).
5. Periflebitis nodular y/o segmentaria (con o sin imágenes en ‘gota de cera’) y/o un macroaneurisma en el contexto de inflamación ocular.
6. Nódulo(s) / granuloma(s) en el disco óptico y/o nódulo coroideo solitario.
7. Bilateralidad.

**Figura 6. Signos típicos de sarcoidosis ocular. a) Precipitados queráticos en grasa de carnero. b) Nódulos de Busacca. c) Nódulos de Koeppe.**

Herbort 2009. Imágenes reproducidas con el permiso de la revista y del autor para la correspondencia.



**Figura 7. Signos típicos de sarcoidosis ocular 2. a) Periflebitis segmentaria en ‘gota de cera’. b) Macroaneurisma en el contexto de inflamación ocular. c) Nódulos / granulomas en el disco óptico.**



Herbert 2009. Imágenes reproducidas con el permiso de la revista y del autor para la correspondencia.

**Figura 8. Vasculitis segmentaria y oclusiva en un paciente con sarcoidosis.**



Imagen reproducida con el permiso del paciente.

*Lupus eritematoso sistémico.*

La prevalencia de lupus eritematoso sistémico (LES) entre los pacientes con uveítis varía en función de las publicaciones consultadas. En un estudio publicado en 1996, Rodríguez et al describieron una prevalencia de LES del 4.8% en una cohorte de pacientes con uveítis estudiada de forma retrospectiva (60). En 2015, Gallagher et al publicaron una revisión de la literatura en la que estimaron que la prevalencia de LES como causa de uveítis era del 0.47% (61). Estas diferencias están muy probablemente debidas a las distintas poblaciones incluidas en los estudios, los diferentes criterios diagnósticos utilizados y las distintas idiosincrasias de los centros en los que se llevaron a cabo los estudios.

La uveítis es una forma de afectación poco frecuente dentro de las manifestaciones oculares de pacientes con LES, en los que la afección más prevalente es la queratoconjuntivitis seca en el contexto del síndrome de Sjögren secundario. El segmento ocular más afectado, cuya patología está mejor descrita en la uveítis secundaria a LES es el posterior, pudiendo encontrar vasculopatía en forma de exudados algodonosos asociados o no a hemorragias intrarretinianas, vasculitis retiniana oclusiva (asociada con frecuencia a la presencia de anticuerpos antifosfolípido), coroiditis asociada o no a desprendimientos serosos de retina (Figura 9), y neuritis óptica. Estas formas de afectación de polo posterior se han relacionado en distintos estudios con la actividad sistémica del LES y, en algunos de estos estudios, con la actividad a nivel del sistema nervioso central.

Dentro de las formas de uveítis mencionadas, cabe decir que la afectación vascular de la retina está incluida en el Índice de Actividad de LES (SLEDAI por sus siglas en inglés) con una elevada puntuación si está presente (Anexo 2).

La uveítis anterior también están descritas en el contexto de LES, pero con una menor frecuencia.

**Figura 9. Imagen de autofluorescencia de una paciente con LES en la que se pueden apreciar varios focos de desprendimiento seroso de la retina en ambos ojos.**



Imagen reproducida con el permiso del paciente.

### *Enfermedades reumáticas pediátricas.*

#### *- Artritis idiopática juvenil.*

Considerando las uveítis de presentación en edad pediátrica, la artritis idiopática juvenil (AIJ) representa la segunda causa etiológica en nuestro medio, suponiendo entre un 9.4 y un 47% de los casos, según las series (62–67). También según las series, se ha estimado que entre un 7.3 y un 30% de los pacientes con AIJ desarrollan uveítis (68,69). La aparición de uveítis es más frecuente en la forma oligoarticular de la AIJ, fundamentalmente en niñas que presentan positividad para los anticuerpos antinucleares. Se trata en la mayoría de casos de uveítis anteriores de curso crónico, pauci o asintomáticas, con tendencia a generar complicaciones como cataratas, glaucoma o queratopatía en banda (Figura 10). En esta forma de AIJ se aconseja realizar revisiones

oftalmológicas periódicas cada 3 ó 6 meses, de cara a detectar y tratar las uveítis asintomáticas de manera que se puedan evitar las complicaciones mencionadas.

**Figura 10. Queratopatía en banda en paciente con uveítis asociada a AIJ.**



Imagen reproducida con permiso del administrador del sitio web <http://eyerounds.org>, de la Iowa University.

### ***- Sarcoidosis de inicio precoz y síndrome de Blau.***

Como se ha comentado previamente, la sarcoidosis es una enfermedad inflamatoria sistémica que se caracteriza por la formación de granulomas no caseificantes. Existe una forma de aparición precoz, en niños menores de 4 años, que consiste en la presencia de uveítis, erupción cutánea y artritis.

El síndrome de Blau es una entidad relacionada con la sarcoidosis de aparición precoz. Ambas están producidas por mutaciones en el gen NOD2/CARD15. Pero a diferencia de la última, que sería una enfermedad de aparición espontánea, el síndrome de Blau tiene una herencia autosómica dominante. En la actualidad, el término de sarcoidosis de aparición precoz está en desuso y se habla de forma familiar o forma esporádica del síndrome de Blau.

La prevalencia exacta de estas enfermedades es desconocida. Según un estudio danés, la incidencia anual se estimaba en 0.05/100000/año en niños menores de 5 años (70). Es probable que la frecuencia sea algo mayor, por un lado por el cambio en la terminología que actualmente incluye, tal y como se ha comentado, las formas esporádicas, y por otro, por la posible clasificación como AIJ, enfermedad que constituye el principal diagnóstico diferencial de estas entidades.

Un aspecto que puede ayudar a la diferenciación con la AIJ es que la afectación ocular característica en estas patologías, a diferencia de la AIJ en la que la forma de afectación ocular más frecuente es la uveítis anterior no granulomatosa, es la panuveítis granulomatosa, pudiendo encontrarse también una coroiditis multifocal (71–74).

### **1.6.2. Experiencia de una consulta multidisciplinar en inflamación ocular.**

La consulta multidisciplinar de inflamación ocular del Hospital Universitari Doctor Peset se crea en 2006 gracias a la colaboración entre oftalmología y reumatología. En 2021 se constituye como Unidad Funcional de Inflamación Ocular (UFUIO). En esta Unidad se tratan enfermedades inflamatorias que afectan al globo ocular y a la órbita, incluyendo las uveítis, las escleritis, las queratitis y la patología inflamatoria orbitaria. La función de la reumatóloga es la de colaborar en el despistaje de enfermedades inflamatorias sistémicas que puedan estar relacionadas con la afección ocular en cuestión, así como asesorar en el manejo de la patología inflamatoria, consensuando con las oftalmólogas el mejor tratamiento sistémico para el paciente que lo precise. Desde el punto de vista asistencial, el enfoque multidisciplinar ha permitido evitar demoras y duplicidad de visitas, así como dar información consensuada a nuestros pacientes. En el Anexo 1 se muestra el flujograma de atención a los pacientes de la UFUIO. A nivel docente, desde la Unidad se ha impulsado

la formación pregrado a estudiantes de medicina y enfermería, la formación de médicos internos residentes de oftalmología y reumatología tanto del propio hospital como de otros centros mediante rotatorios externos, y la formación a facultativos especialistas a través de diversos programas formativos de las sociedades científicas correspondientes. Asimismo, se ha llevado a cabo la divulgación de conocimientos mediante participación en cursos y congresos. Desde el punto de vista de la investigación, se ha participado y se está participando en diversos proyectos, hecho que se plasma en diversas publicaciones científicas nacionales e internacionales (29–36,75– 77).

### **1.7. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN LA UVEÍTIS.**

La evaluación de la actividad inflamatoria en la uveítis depende en general de sistemas de gradación semicuantitativos subjetivos. A pesar de que se ha avanzado en la propuesta y desarrollo de diferentes métodos que tienen como objetivo constituir medidas cuantitativas objetivas del grado de inflamación intraocular, a día de hoy la mayoría de ellos siguen sin haber sido validados ni se utilizan de forma sistemática en práctica clínica habitual ni en estudios, lo cual constituye una importante limitación tanto para la comparación de estudios como para el seguimiento de los pacientes con uveítis.

A continuación se detallan las distintas herramientas para la valoración de la actividad inflamatoria en la uveítis que se han definido hasta la fecha.

#### **1.7.1. Valoración clínica.**

A nivel de cámara anterior, contamos con los sistemas de gradación propuestos por el grupo SUN que a día de hoy siguen siendo globalmente aceptados y utilizados tanto en práctica clínica habitual como en ensayos clínicos (2). Dichos sistemas cuantifican la celularidad y la presencia de proteínas o 'flare' (Tablas 7 y 8). Tanto la presencia de células como de proteínas en la cámara anterior son indicativas de la ruptura de la barrera hemato-acuosa, pero sólo la celularidad refleja estrictamente la actividad de la inflamación.

Debemos tener en cuenta que estos sistemas están sujetos a una considerable variabilidad, hecho que se refleja en el artículo de Kempen et al, en el que se describe un grado de acuerdo interobservador de leve a moderado para la celularidad y moderado para la cuantificación de proteínas (78).

El grupo SUN no llegó al grado de consenso suficiente para elaborar un sistema de gradación de la celularidad presente en el vítreo y recomendó utilizar el sistema de cuantificación de turbidez vítrea ('vitreous haze') propuesto por el 'National Eye Institute' (79) (Tabla 9). Este sistema tiene también limitaciones: es igualmente subjetivo, discrimina mal los grados bajos de inflamación y ha presentado un grado de acuerdo interobservador igualmente moderado (78). Asimismo, tampoco se alcanzó un consenso suficiente para elaborar recomendaciones sobre otros aspectos de la actividad inflamatoria.

**Tabla 7. Sistema de gradación de la celularidad en cámara anterior.**

Grado	Células en campo*
-------	-------------------

0	<1
0.5+	1-5
1+	6-15
2+	16-25
3+	26-50
4+	<50

\* Hendidura del haz de luz de 1x 1 mm.

**Tabla 8. Sistema de gradación de proteínas presentes en cámara anterior ('flare').**

Grado	Descripción
0	Ausente
1+	Leve
2+	Moderado (detalles claros de iris y cristalino)
3+	Acusado (detalles borrosos de iris y cristalino)
4+	Intenso (fibrina o humor acuoso plasmoide)

**Tabla 9. Sistema de gradación de la turbidez vítreo ('haze').**

Grado	Descripción
0	Ausente
0.5+	Discreta borrosidad del margen del disco óptico
1+	Discreta borrosidad del nervio óptico y los vasos
2+	Moderada borrosidad del nervio óptico y los vasos
3+	Borde de la papila óptica muy borroso pero visible
4+	Papila óptica no visible

Se reconocen otros signos de inflamación ocular como la presencia de hipopion (Figura 11), la congestión de los vasos perilímbicos o los precipitados queráticos en la uveítis anterior, las opacidades vítreas en bola de nieve o los exudados en forma de bancos de nieve en la pars plana y en la uveítis intermedia, y los infiltrados inflamatorios en retina o



coroides (retinitis / coroiditis), el envainamiento inflamatorio de arterias o venas, o la tumefacción de la papila óptica (papilitis) en la uveítis posterior. El edema macular (EM) constituye un signo inflamatorio sea cual sea la localización anatómica de la uveítis (Figura 12).

En la jornada sobre medidas de desenlace en las enfermedades inflamatorias oculares del ‘National Eye Institute’ y la ‘Food and Drug Administration’ que tuvo lugar en 2015, el grupo de Holland propuso un listado de manifestaciones a tener en cuenta como signos fundamentales de inflamación ocular. Las manifestaciones a las que se hizo referencia fueron la celularidad en cámara anterior, el grado de turbidez vítrea, la fuga vascular retiniana, los infiltrados retinianos y los infiltrados coroideos (80). Se excluyó el EM al considerarlo más una complicación de la inflamación que un signo de actividad inflamatoria propiamente dicho. Sin embargo, otros autores sí consideran el EM como un signo inflamatorio dado que se asocia a otros signos de actividad y además responde al tratamiento de la uveítis llegando a ser reversible en la mayor parte de los casos a diferencia de lo que ocurre en las complicaciones de la uveítis (81). A nivel clínico, el EM es un signo que revierte especial importancia, ya que constituye la causas más importante de pérdida de visión reversible en la uveítis (81,82).

**Figura 11. Hipopion en paciente con uveítis anterior.**



Imagen reproducida con el permiso del paciente.

**Figura 12. Imagen de tomografía de coherencia óptica (OCT por sus siglas en inglés) en la que se puede apreciar un edema macular quístico.**

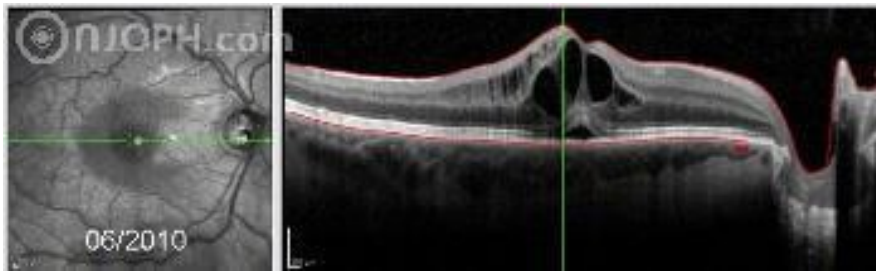


Imagen reproducida según las condiciones de la página [www.atlasophthalmology.net](http://www.atlasophthalmology.net). Autor: Michelson, Georg, Prof. Dr. med., Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

### 1.7.2. Fotometría con láser.

La fotometría con láser se ha postulado como método de medición de la actividad inflamatoria en cámara anterior, habiéndose publicado numerosos estudios que hablan a favor de esta técnica y que incluso sugieren que debería considerarse la prueba de oro para valorar la actividad inflamatoria en cámara anterior (83–86).

La ventaja fundamental de este método es que permite realizar una cuantificación objetiva de la presencia de proteínas en el humor acuoso. Además, ha demostrado una mayor

sensibilidad que la medición de la celularidad en cámara anterior en la monitorización de la actividad inflamatoria de la uveítis anterior (83,85). Pero a pesar de suponer un importante avance en cuanto a la valoración de la actividad inflamatoria en las uveítis anteriores, a día de hoy esta técnica no ha sustituido a la exploración mediante lámpara de hendidura en la práctica clínica habitual .

### **1.7.3. Métodos de imagen cuantitativos.**

#### *Tomografía de coherencia óptica.*

El método más extendido es el de la OCT para la cuantificación del grosor y el edema macular. A pesar de su gran valor tanto en práctica clínica como en ensayos clínicos, está sujeto a cierta variabilidad de interpretación así como a diferencias a la hora de definir medidas de desenlace. Así, en los ensayos clínicos pueden encontrarse diferentes medidas de desenlace relacionadas con el grosor y el edema macular: presencia/ausencia de engrosamiento macular en base a un umbral preestablecido que además varía en función del ensayo clínico (87,88), cambio absoluto en el grosor (89), porcentaje de cambio (90), cambio en el grosor macular en función de un sistema de puntuación logarítmica (91), cambio en el área y la altura del quiste macular (92), y estimación del área conservada de la capa plexiforme de la retina (81,93).

La OCT se ha propuesto además como técnica para realizar una cuantificación objetiva tanto de la celularidad en cámara anterior (94–98) como de la turbidez vítrea (99–101). Sharma y colaboradores (94) definieron un sistema de gradación continuo de la celularidad en cámara anterior utilizando la OCT de dominio espectral, en el que se medía la cantidad de células incluidas en una unidad volumétrica ( $1 \text{ mm}^3$ ). En su estudio prospectivo encontraron una buena correlación entre la medición por OCT y la medición

por biomicroscopía con lámpara de hendidura. Además, en el estudio se puso de manifiesto la falta de precisión de la medición basada en la lámpara de hendidura, ya que, para un mismo grado de celularidad la OCT detectó un amplio rango de células.

En 2014 Keane y colaboradores publicaron un trabajo en el que evaluaban la correlación entre el grado de turbidez vítrea y el cociente de intensidad de señal entre el vítreo y el epitelio pigmentario de la retina, analizado mediante un programa informático específico aplicado a las imágenes obtenidas mediante OCT (101). Los autores encontraron una correlación positiva moderada. Además observaron que la intensidad de señal era superior en los pacientes con uveítis y turbidez vítrea frente a aquellos pacientes con uveítis que no presentaban turbidez vítrea, y frente a controles no uveícticos. Estos hallazgos fueron reproducidos en un estudio posterior con un aparato y en una población distintos (99).

La OCT ha sido también utilizada para explorar posibles nuevas herramientas para la monitorización de la uveítis a través de la medición del grosor coroideo y de la computerización del índice de vascularización coroidea (IVC). El IVC se define como la proporción entre el área luminal y el área estromal, segmentos en los que se subdivide el área coroidea subfoveal total (102). Agrawal y colaboradores encontraron que el porcentaje de cambio del IVC en pacientes con panuveítis a los 3 meses de la evaluación inicial era superior al porcentaje de cambio del IVC en controles sanos, por lo que sugirieron que éste podía ser un buen parámetro para monitorizar la actividad en panuveítis (103).

### ***Angiografía.***

En 2010, Tugal-Tutkun y colaboradores definieron un sistema de puntuación para valorar la inflamación en polo posterior mediante una angiografía dual (con fluoresceína y verde de indocianina) de manera que pudiera servir para monitorizar la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento (104,105). Este sistema fue utilizado posteriormente para la evaluación de la progresión a largo plazo de la vasculitis retiniana de la EB (106). De las nueve categorías incluidas en el sistema de puntuación, se incluyeron las cuatro que se consideraron más relevantes: hiperfluorescencia del disco óptico (puntuación de 0 a 3), edema macular (puntuación de 0 a 4), tinción y/o fuga de contraste en los vasos retinianos (puntuación de 0 a 7), y fuga capilar (puntuación de 0 a 10). Estudios similares se han llevado a cabo para evaluar sistemas de puntuación mediante la angiografía fluoresceínica de campo ultra-amplio, con el valor añadido que supone la ampliación del ángulo de visualización de la retina, de manera que puede evaluarse mejor la tinción y la fuga de contraste en los vasos periféricos (107,108).

#### **1.7.4. Índices compuestos de actividad.**

Gracias a la colaboración entre oftalmólogos y reumatólogos, en 2017 se publicó el desarrollo del primer índice compuesto de actividad para pacientes con uveítis (75). Este índice (UVEDAI por sus siglas en inglés) se diseñó para valorar la actividad inflamatoria ocular de forma global. Se seleccionaron siete ítems: celularidad en cámara anterior (de 0 a 4), grado de turbidez vítrea (definida como leve si la puntuación era 1 ó 2, y grave si la puntuación era 3 ó 4), presencia de edema macular (con un punto de corte de 315  $\mu\text{m}$ ), de envainamiento vascular y de papilitis, presencia de lesiones coroideas / retinianas en número mayor / igual o inferior a seis, así como la valoración del paciente). En base a la puntuación de este índice, se establecieron tres categorías de uveítis: leve, moderada y

grave. El índice mostró una gran capacidad discriminatoria en cuanto a la evaluación y la clasificación de la actividad inflamatoria ocular de forma global, quedando pendiente su validación.

Recientemente Llorenç y colaboradores publicaron el desarrollo de un índice compuesto de actividad de uveítis basado en los hallazgos de la OCT con fuente de barrido (109). Se estudiaron ocho biomarcadores de imagen en tres dominios (anterior, intermedio y posterior) que fueron clasificados y seleccionados en función de su capacidad de discriminación y de su correlación con los sistemas de puntuación clínicos. Los ítems que compusieron finalmente el índice fueron: los puntos hiperreflectivos en cámara anterior, la intensidad relativa del vítreo en alta definición, y el promedio del índice de engrosamiento de la retina. Este índice demostró una gran capacidad de discriminación entre uveítis activa e inactiva, así como entre uveítis activa y controles sanos.

#### **1.7.5. Biomarcadores en sangre periférica.**

A nivel serológico, los reactantes de fase aguda, como la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG), han sido estudiados sin poder encontrar una buena correlación con el grado de inflamación ocular (110).

Tal y como se ha comentado previamente, Nanke et al (21) encontraron porcentajes de linfocitos Treg en sangre periférica significativamente más bajos previos al inicio de un brote de uveítis en el contexto de enfermedad de Behçet, comparándolos con los porcentajes encontrados tras la resolución del brote. Los autores postulan que la disminución de linfocitos Treg en estos pacientes podría ser un factor predictivo de brote de uveítis. Cabe tener en cuenta que en este estudio se incluyeron 19 pacientes, 11 con actividad a nivel ocular y 8 inactivos.

Mesquida et al (111) encontraron niveles significativamente más elevados de IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  en suero de pacientes con uveítis asociada a enfermedad de Behçet frente al de controles sanos. En un subgrupo de 10 pacientes seguidos de forma prospectiva analizaron las diferencias en la concentración de diferentes citoquinas en las fases activa e inactiva de la enfermedad, encontrando nuevamente niveles significativamente más elevados de IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  en suero de pacientes con uveítis activa. Además, observaron que aquellos pacientes con enfermedad activa presentaban niveles de PCR de alta sensibilidad significativamente más elevados que los de los pacientes con enfermedad inactiva. Este último resultado se obtuvo comparando sueros de pacientes de forma transversal. Considerando sólo los 16 pacientes incluidos en su estudio que no habían recibido tratamiento (3 activos y 13 inactivos), encontraron niveles significativamente más elevados de IL-17 comparados con los de los sujetos sanos. No se observó correlación entre los niveles de ninguna de las citoquinas analizadas y la agudeza visual o la gravedad de la uveítis.

Yang et al (112) objetivaron niveles significativamente más elevados de las interleuquinas IL-21, IL-23 y TGF- $\beta$ 1 en suero de pacientes con coriorretinitis de Birdshot activa naïve a tratamiento sistémico frente al de controles sanos. No encontraron diferencias entre los controles y aquellos pacientes inactivos o que esuviesen o hubiesen estado en tratamiento con inmunosupresores sistémicos. En este estudio se incluyeron 17 pacientes coriorretinitis de Birdshot, 4 de ellos naïve a tratamiento sistémico, y 12 controles sanos.

## **1.8. CALPROTECTINA.**

### **1.8.1. Definición y características de la molécula.**

La calprotectina es un heterodímero formado por las proteínas S100A8 o proteína mielóide-relacionada (MRP por sus siglas en inglés) 8, que constituye la cadena ligera del

heterodímero, y S100A9 o proteína MRP-14, que constituye la cadena pesada. Las secuencias de aminoácidos de las cadenas, han sido determinadas y se encuentran en el brazo largo del cromosoma 1 (1q21) (113–115). Tiene un peso molecular de 36 kilodaltons (36 kDa), y se expresa fundamentalmente en granulocitos y monocitos activados en sangre y en tejidos inflamados, representando aproximadamente la mitad de las proteínas del citosol de estas células (116). La expresión de esta molécula también se encuentra incrementada en macrófagos en estadios precoces de diferenciación, disminuyendo cuanto mayor es la diferenciación del macrófago. Aunque en menor proporción, la calprotectina también se expresa en otras células, como por ejemplo, en las células endoteliales tras un estímulo inflamatorio, o en los queratinocitos (117–119).

Esta molécula fue aislada por primera vez en granulocitos en 1980 por Fagerhol y colaboradores, recibiendo el nombre de proteína L1, por ser derivada de leucocitos (120). En 1987, el grupo de Odink describió el heterodímero MRP-8/14, aislado en macrófagos infiltrantes en pacientes con artritis reumatoide (121). Previamente, en 1973, Wilson y colaboradores habían descrito un antígeno asociado a la fibrosis quística (122). Gracias a tinciones inmunistoquímicas y a la secuenciación de ADN y aminoácidos, en 1988 Anderson y colaboradores lograron esclarecer que estas tres moléculas (proteína L1, heterodímero MRP-8/14 y antígeno asociado a la fibrosis quística) constituían la misma entidad (114). Posteriormente fue renombrada como calprotectina, tras la objetivación de su actividad antimicrobiana (123).

Pertenece a la familia de proteínas S100, llamadas así por que son 100% solubles. Estas proteínas se caracterizan por su bajo peso molecular y por poseer dos sitios de unión de calcio. La unión de las proteínas S100A8 y S100A9 para conformar la calprotectina así como su interacción con estructuras del citoesqueleto y de la membrana celular, lo cual permite desarrollar su actividad, son procesos dependientes de la concentración



intracelular de calcio (124,125). La calprotectina contiene además dominios de unión de zinc con una capacidad de unión de zinc mayor a la de otras proteínas de la familia S100, lo que se ha relacionado con su actividad antibacteriana (126).

La calprotectina se considera un activador endógeno de la respuesta inmune innata dado que se une al TLR4 de la misma forma que lo hacen los DAMPs o los PAMPs, promoviendo la expresión de citoquinas proinflamatorias, lo que influye en la quimiotaxis leucocitaria (127,128).

Los niveles circulantes de calprotectina están incrementados en distintos procesos inflamatorios, como en las infecciones bacterianas (129), en diferentes enfermedades reumáticas (130–142), en neoplasias (143), y en la fibrosis quística (144). Esta proteína es liberada durante el proceso de infiltración de los tejidos inflamados (145) y refleja la actividad de la inmunidad innata.

Dado que la calprotectina se encuentra preformada y lista para ser liberada por los leucocitos activados circulantes, sus concentraciones en plasma aumentan de forma más rápida en respuesta a los estímulos que otros reactantes de fase aguda sintetizados en el hígado (146). Además, la elevación de los niveles de calprotectina se mantiene más tiempo que la de la PCR posiblemente por la participación de granulocitos y macrófagos en los procesos de reparación de los tejidos (147).

### **1.8.2. Funciones de la calprotectina.**

#### ***Funciones intracelulares.***

La elevación de la concentración de calcio en el citosol de los fagocitos favorece la formación de moléculas de calprotectina así como de heterotetrámeros a partir de las

proteínas S100A8 y S100A9, los cuales intervienen en la reorganización del citoesqueleto así como en la migración celular tras la activación de estas células (145,148,149).

Los heterotetrámeros translocan hacia la membrana celular permitiendo la polimerización de tubulinas, la agregación de microtúbulos y la estabilización de filamentos de tubulina (116). Estos procesos son dependientes de la activación de la protein kinasa C (PKC).

También en presencia de calcio y gracias a la activación de la PKC, la subunidad S100A9 se une al ácido araquidónico y lo transporta al complejo nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH por sus siglas en inglés) oxidasa, localizado en la membrana celular. Gracias a la interacción entre la calprotectina y la NADPH oxidasa activada produce especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), las cuales son fundamentales para la actividad inflamatoria de los neutrófilos.

La calprotectina se une a distintas proteínas de la superficie celular, como los proteoglicanos de heparán sulfato, los glicanos carboxilados, el receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE por sus siglas en inglés) y TLR4, siendo este último su principal receptor (150).

Cuando la calprotectina (u otros DAMPs o PAMPs) se unen a TLR4, se desencadena la activación celular a través de una cascada de transducción de señal mediada por el factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88 por sus siglas en inglés) y el NF- $\kappa$ B, los cuales translocan al núcleo y facilitan la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  y las interleuquinas IL-1b, IL-6, IL-8 e IL-23 así como la liberación de calprotectina al medio extracelular a través de la activación de la PKC (116,127,128).

Las funciones intracelulares de la calprotectina se reflejan, de forma resumida, en la Figura 13.

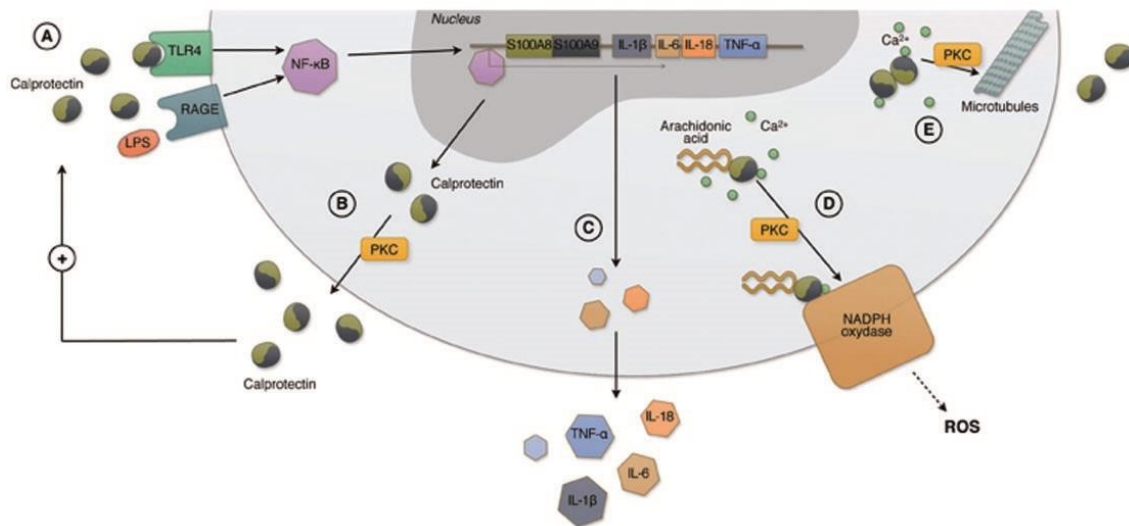
**Figura 13. Funciones intracelulares de la calprotectina.**

Figura reproducida según las normas para reproducción de fragmentos de artículos editados por SAGE Publishing. Ometto et al, Exp Biol Med (Maywood) 2017. A) La unión de calprotectina a TLR4 y a RAGE desencadena la activación celular a través de una cascada de transducción de señal mediada por MyD88 y NF-κB. B) Expresión de moléculas de calprotectina que, gracias a la activación de la PKC será liberada al medio extracelular. C) Expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF-α y las interleuquinas IL-1b, IL-6 e IL-18. D) En presencia de calcio y gracias a la activación de la PKC, la subunidad S100A9 se une al ácido araquidónico y lo transporta al complejo NADPH oxidasa, localizado en la membrana celular. Gracias a la interacción con la calprotectina, la NADPH oxidasa activada produce ROS. E) Concentraciones elevadas de calcio favorecen la interacción de la calprotectina con estructuras del citoesqueleto celular, favoreciendo su reorganización y la migración celular.

### ***Funciones extracelulares.***

La calprotectina se une a las células endoteliales gracias a la interacción con glicanos carboxilados y TLR4 lo que conlleva la activación celular endotelial y consecuentemente la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF-α y las interleuquinas IL-1b, IL6, IL-8 e IL-23 (127,128).

El incremento de calprotectina extracelular conlleva la regulación al alza de moléculas de adhesión leucocitarias como la integrina CD11b/CD18, lo que favorece la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales (151). Además, la liberación de calprotectina favorece la pérdida de contacto entre las células endoteliales gracias a la disminución de la expresión de proteínas de unión celular, alterando la permeabilidad del endotelio lo que conlleva la extravasación de leucocitos (152). De esta forma se inicia su migración hacia los tejidos diana. Tras haberse producido el daño tisular, las células necróticas pueden también liberar calprotectina de forma pasiva (153).

### **1.8.3. Papel potencial de la calprotectina en la inmunidad adaptativa.**

Se ha postulado que, a parte de su conocido papel como activador de la respuesta inmunológica innata, la calprotectina puede servir de nexo entre este tipo de inmunidad y la inmunidad adaptativa (116).

Se ha observado en un modelo murino que la producción local de calprotectina es esencial en la inducción de linfocitos T CD8 $\beta$  autorreactivos lo cual favorece el desarrollo de la autoinmunidad sistémica (154).

También en un modelo murino, Averill y colaboradores (117) objetivaron que la adición de calprotectina exógena tanto a células dendríticas con fenotipo silvestre como a células dendríticas deficientes en proteína S100A9 y estimuladas mediante lipopolisacárido (LPS) e IFN $\gamma$ , indujo una reducción en la proliferación de células T.

Lin y colaboradores (155) mostraron en su trabajo que la calprotectina es el ligando natural del receptor CD69 de las células mononucleares, y que la interacción entre la calprotectina y CD69 favorece la diferenciación de linfocitos T CD4 $\beta$  en células T reguladoras. Por otro

lado, observaron que la calprotectina regula la producción de citoquinas, favoreciendo en particular la expresión de una citoquina anti-inflamatoria, el TGF $\beta$ .

En base a estos hallazgos puede decirse que la calprotectina tiene un efecto proinflamatorio pero paralelamente ejerce también una función reguladora de la inmunidad adaptativa.

#### **1.8.4. Calprotectina como biomarcador de actividad y respuesta terapéutica en enfermedades inflamatorias y autoinmunes sistémicas.**

Se han encontrado concentraciones elevadas de calprotectina tanto en los tejidos afectados como en la sangre de pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias y autoinmunes, incluyendo la artritis reumatoide, las espondiloartritis, la enfermedad de Still del adulto, la gota, el LES, el síndrome de Sjögren, la esclerosis sistémica, las miopatías inflamatorias, la sarcoidosis, la enfermedad de Behçet, las vasculitis asociadas a los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) y la arteritis de células gigantes (116,125,142,156).

A continuación se describen los principales hallazgos en cuanto a los niveles de calprotectina circulante en las enfermedades reumáticas inflamatorias y autoinmunes en las que la uveítis es una manifestación frecuente.

##### ***Espondiloartritis.***

Se han encontrado niveles elevados de calprotectina en la membrana y en el líquido sinovial de pacientes con EspA, lo cual refleja la predominancia de neutrófilos y monocitos, que son las células que producen esta molécula con mayor frecuencia y en mayor cantidad, en estos tejidos (157,158).

A nivel serológico, los datos comunicados son discordantes. Por un lado hay autores que han encontrado niveles séricos de calprotectina significativamente más elevados que en controles (159–161), mientras que otros autores han descrito niveles similares a los de los controles (162,163).

Se ha sugerido que las concentraciones de calprotectina en sangre periférica podrían ser un buen marcador de respuesta clínica en pacientes con EspA tratados con fármacos antiTNF (159,161,164). En estos pacientes se ha objetivado un descenso rápido de los niveles de esta molécula tras la aplicación de dichos tratamientos. Kane y colaboradores (159) observaron que, en pacientes con APs tratados con metotrexato, se produjo una reducción significativa tanto en los valores del índice articular de Ritchie y el número de articulaciones inflamadas, como en los niveles de calprotectina sérica.

Además, las concentraciones de calprotectina en sangre periférica se han asociado con la progresión del daño estructural de la columna en la EspA axial (165).

Sin embargo, no se ha encontrado correlación entre los principales índices de actividad de la EspA axial y los niveles séricos de calprotectina, por lo que su uso como biomarcador de actividad clínica en estos pacientes sería discutible (158,161–163). A diferencia de esto, en la APs sí se ha encontrado asociación entre los niveles séricos de calprotectina y otros marcadores de actividad clínica. Aochi y colaboradores encontraron diferencias entre pacientes con 10 o más de 10 articulaciones afectadas, tras analizar una cohorte de 16 pacientes con APs (136). Así mismo, tal y como se ha comentado previamente, Kane y colaboradores (159) observaron que, tras el tratamiento con metotrexato, se produjo una reducción significativa tanto en los valores de los recuentos articulares como en los niveles de calprotectina sérica.

***Enfermedad de Behçet.***

Se han publicado dos trabajos en los que se evalúa el papel de la calprotectina sérica en la EB. En ambos se encontraron niveles de calprotectina sérica significativamente más elevados en pacientes que en controles sanos (132,133). En el estudio de Omma y colaboradores (133), aunque no significativa, se encontró una tendencia al alza en los niveles de calprotectina sérica en los pacientes con enfermedad activa frente a los pacientes con enfermedad inactiva. En ninguno de los dos estudios se observó correlación de dichos niveles con los índices de actividad ni de calidad de vida.

***Sarcoidosis.***

En un estudio publicado en 2007 (142) en el que se evaluaba el papel de la calprotectina sérica en la sarcoidosis con afectación miocárdica se encontraron niveles significativamente superiores en pacientes con esta afectación frente a aquellos pacientes con sarcoidosis sin compromiso cardiaco. En dicho estudio no se encontró correlación entre los niveles de calprotectina y los de la enzima convertidora de angiotensina. Al margen de este trabajo, no se han encontrado otras publicaciones que determinen el rol de la calprotectina circulante en esta enfermedad.

***Lupus eritematoso sistémico.***

Soyfoo y colaboradores (166) encontraron niveles de calprotectina sérica significativamente más elevados en pacientes con LES que en controles sanos y en pacientes con síndrome de Sjögren. En este mismo trabajo y en una publicación previa realizada por otro grupo se observó correlación significativa (aunque baja) entre los niveles de calprotectina sérica y el índice de actividad SLEDAI (138,166). En dicha

publicación previa encontraron además diferencias en relación con la presencia de artritis, de modo que los pacientes con LES que presentaban artritis mostraron niveles significativamente más elevados de calprotectina sérica (138).

El papel de la calprotectina como biomarcador de actividad y respuesta terapéutica ha sido posteriormente estudiado en pacientes con nefropatía lúpica, encontrándose que los niveles de ácido ribonucleico mensajero (mRNA por sus siglas en inglés) de las proteínas MRP-8 y MRP-14 en leucocitos periféricos eran significativamente más elevados en aquellos pacientes con una nefritis activa frente aquellos que no tenían actividad y frente a controles (168). Además, estos niveles mostraron correlación con la respuesta terapéutica.

Cabe destacar la identificación de la proteína S100A9 como diana terapéutica en relación con paquinimod, una molécula relacionada con la 3-carboxamina-quinolona (167). Este compuesto ha sido evaluado en un ensayo fase II en pacientes con LES leve activo (168). Este estudio fue finalizado en 2010 pero no se han reportado resultados.

### *Artritis idiopática juvenil.*

Las concentraciones de calprotectina sérica han mostrado una buena correlación con la actividad de la AIJ, tanto con los índices articulares como con otros marcadores serológicos, observándose diferencias significativas entre pacientes activos e inactivos y entre pacientes activos y controles (170,171). Asimismo, ha mostrado ser un buen biomarcador de respuesta en pacientes con AIJ pauciarticular y en pacientes con AIJ sistémica, ya que se ha observado un descenso significativo tras inducir la remisión (171,172).



Cabe mencionar que en pacientes con la forma sistémica de la enfermedad se han encontrado niveles de calprotectina sérica hasta 20 veces superiores a los detectados en pacientes con sepsis o con otras enfermedades inflamatorias (172), por lo que su determinación podría ser útil en la diferenciación de una AIJ sistémica de inicio y una infección generalizada (125).

#### **1.8.5. Proteínas S100A8 y S100A9 circulantes y uveítis. Estudios preclínicos.**

Existen distintos modelos animales de uveítis, tanto de uveítis endógena como de uveítis infecciosa (173). El trabajo con estos modelos ha permitido entender los mecanismos básicos por los que se producen las uveítis así como trasladar estos conocimientos a la búsqueda de terapias efectivas.

En 2007, Chi y colaboradores (174) publicaron un trabajo en el que se pretendía esclarecer el papel de las células S100A9 positivas en la patogénesis de la uveítis inducida por endotoxina (modelo de uveítis infecciosa) en ratones, el efecto de la aplicación intraperitoneal de dexametasona en la migración de dichas células, y examinar el papel de la vía del NF- $\kappa$ B en la expresión de la proteína S100A9. Los autores del estudio concluyeron que los monocitos y granulocitos S100A9 positivos pueden jugar un papel en la remoción de células inflamatorias que tiene lugar en la fase tardía de la uveítis inducida por endotoxina, que la aplicación de dexametasona podría inhibir la migración de células S100A9 positivas desde la sangre periférica a los tejidos diana, y que la vía del NF- $\kappa$ B puede estar implicada en la expresión de S100A9.

Wang et al encontraron resultados similares en un estudio en el que se utilizó también un modelo murino de uveítis inducida por endotoxina (175). En este caso se evaluó el papel de las células S100A8 positivas en la uveítis. Los autores encontraron niveles elevados de

estas células tanto en el iris y el cuerpo ciliar como en sangre periférica, en esta última localización de forma paralela al grado de inflamación ocular. La administración de corticosteroides incrementó levemente la concentración de S100A8 en los leucocitos pero redujo su presencia en el iris y el cuerpo ciliar. La inhibición de la vía del NF- $\kappa$ B supuso una reducción tanto de la progresión de la uveítis como de los niveles de S100A8 en los leucocitos y en el iris y el cuerpo ciliar.

La implicación de las proteínas S100A8 y S100A9 se ha evaluado también en un modelo murino de uveítis autoinmune. Yun et al (176) demostraron la relación entre niveles locales (en iris y cuerpo ciliar) de la proteína S100A8 y la recurrencia de la uveítis. Además encontraron mayores niveles sistémicos de calprotectina en ratones con uveítis que en ratones control. Los niveles de calprotectina no se correlacionaron con el grado de actividad de la uveítis.

#### **1.8.6. Calprotectina circulante y uveítis. Estudios clínicos.**

En la mayoría de las enfermedades inflamatorias articulares o sistémicas relacionadas con la uveítis se ha descrito una elevación de la concentración de calprotectina circulante (132,133,136–138,140–142).

En la Tabla 10 se resumen las principales características y hallazgos de los estudios que evalúan el papel de la calprotectina circulante en la uveítis.

La primera comunicación sobre el posible papel de la calprotectina como marcador de actividad en la uveítis en humanos tiene lugar en 1996. Olson y colaboradores (177) propusieron que los títulos de calprotectina plasmática podrían ser un buen indicador de actividad de la enfermedad en pacientes con uveítis posterior endógena tras observar

valores de esta proteína significativamente más elevados en pacientes activos comparados con los de pacientes con uveítis en resolución o inactiva, así como con los de controles sanos. El trabajo consistió en un estudio transversal en el que se incluyeron 27 pacientes con uveítis infecciosa y NIU, asociada o no a enfermedad sistémica (sobretudo posteriores pero también panuveítis y uveítis intermedia), tanto activos como inactivos, y 6 controles sanos. En sus resultados detallan que al incluir a los pacientes con enfermedad sistémica asociada en el análisis, las diferencias entre pacientes activos y controles se mantuvieron, no así las diferencias entre pacientes activos e inactivos.

Posteriormente se ha estudiado el papel de la calprotectina sérica en la uveítis anterior en población pediátrica. Walscheid y colaboradores (178) llevaron a cabo un estudio en el que incluyeron 79 pacientes con uveítis asociada a AIJ, 24 pacientes con uveítis anterior idiopática, y 24 controles sin uveítis. Existían diferencias significativas en cuanto a la edad entre los pacientes con uveítis y los controles, siendo la media de edad de estos últimos, superior. Encontraron niveles de calprotectina significativamente más altos en pacientes con uveítis, tanto asociada a AIJ como idiopática, comparados con los de controles sanos. En cuanto a la relación de los niveles de calprotectina y la actividad de la uveítis, observaron que los pacientes con uveítis asociada a AIJ activa (en ausencia de artritis activa) tenían niveles de calprotectina sérica más elevados que aquellos con uveítis inactiva; esta observación no se reprodujo en los pacientes con uveítis anterior idiopática.

Estudiaron además la relación de los niveles de calprotectina sérica con el grado de celularidad en cámara anterior, no observando diferencias significativas en función del grado de inflamación. En 6 de los pacientes con uveítis asociada a AIJ con artritis inactiva, realizaron una evaluación prospectiva para determinar variaciones en los niveles de calprotectina en función de la actividad de la uveítis. Así, los 6 pacientes, que basalmente estaban inactivos, desarrollaron un brote de uveítis durante el tiempo de seguimiento,

pudiendo observarse un incremento significativo en los valores de calprotectina entre el momento basal y el momento del brote de la uveítis.

Estudios más recientes han evaluado la asociación entre la calprotectina y la actividad de la uveítis en población adulta.

El mismo grupo que estudió el papel de la calprotectina sérica en población pediátrica, publicó en 2018 un trabajo cuyo objetivo principal era caracterizar las poblaciones de monocitos circulantes en pacientes con uveítis anterior aguda relacionada con el antígeno HLA B27 y en pacientes con uveítis anterior idiopática, en comparación con un grupo de controles (179). En este trabajo se incluyeron exclusivamente pacientes que no presentaban enfermedades inflamatorias sistémicas asociadas, pudiendo presentar uveítis activa o inactiva en el momento de la inclusión. Parte del análisis consistió en comparar los niveles séricos de calprotectina entre los pacientes con uno u otro tipo de uveítis, y entre pacientes con actividad y sin actividad inflamatoria en el momento de la determinación. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con uveítis activas e inactivas. Considerando sólo los pacientes con uveítis inactiva, los valores de calprotectina fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con uveítis anterior aguda relacionada con el antígeno HLA B27 en comparación con el grupo de paciente con uveítis anterior idiopática.

Song y colaboradores (180) llevaron a cabo un estudio transversal en el que evaluaron las diferencias en las concentraciones de calprotectina sérica entre pacientes con uveítis anterior aguda idiopática activa y controles sanos. De forma similar a lo descrito en estudios previos, en este trabajo se encontraron concentraciones de calprotectina sérica significativamente más altas en pacientes con uveítis anterior aguda idiopática que en controles sanos. A diferencia del estudio llevado a cabo en población pediátrica, en este

trabajo se observó una correlación positiva alta entre los niveles de calprotectina y la celularidad en cámara anterior. También se encontró una correlación alta con el grado de ‘flare’ en cámara anterior, el grosor macular y la agudeza visual mejor corregida (en este último caso, negativa).

El estudio más reciente en el que se evalúa el papel de la calprotectina circulante en pacientes con uveítis es el de Wang y colaboradores (181). Este estudio cuenta con un gran tamaño muestral, con un total de 454 pacientes con uveítis y 95 controles. En el grupo de las uveítis, se tuvieron en cuenta tanto pacientes con uveítis infecciosa como pacientes con NIU, con diferentes etiologías, asociadas o no a enfermedad sistémica. La media de edad fue más elevada en el grupo control (no se detalla nivel de significación estadística en el estudio). De manera similar a lo descrito previamente, los pacientes con uveítis presentaban concentraciones de calprotectina sérica significativamente más altas que los controles. Dentro del grupo de uveítis, los pacientes con uveítis posterior y con panuveítis mostraron niveles más elevados de calprotectina que los pacientes con uveítis anterior y uveítis intermedia, siendo todos los valores medios significativamente más elevados que los de el grupo control. Se realizó un subanálisis en pacientes con uveítis anterior aguda, los cuales mostraron diferencias entre actividad e inactividad respecto a los controles, de modo que los valores de calprotectina fueron significativamente más elevados en pacientes con uveítis activa pero no así en los pacientes con uveítis inactiva. También teniendo en cuenta el subgrupo de pacienes con uveítis anterior aguda, se realizó un análisis prospectivo en 27 pacientes en los que se compararon los niveles de calprotectina en el momento del brote y tras su resoución, observándose una reducción significativa de dichos niveles.

**Tabla 10. Estudios previos en los que se evalúa el papel de la calprotectina circulante en la uveítis.**

Autor, año publicación	Tipo de estudio	Tipo de uveítis	Tamaño muestral	Resultados principales
Olson, 1996.	Transversal.	Uveítis posterior, intermedia y panuveítis. NIU y uveítis infecciosa. Uveítis asociada a enfermedad sistémica y puramente ocular.	- 27 uveítis. - 6 controles.	- Niveles de calprotectina en pacientes con uveítis activa más elevados que en uveítis inactiva y en controles.
Walscheid, 2015.	Transversal y prospectivo.	Uveítis asociada a AIJ y uveítis anterior idiopática en población pediátrica.	- 79 uveítis asociada a AIJ. - 24 uveítis anterior idiopática. - 24 controles.	- Niveles de calprotectina en pacientes con uveítis más elevados que en controles.  - Niveles de calprotectina más elevados en pacientes con uveítis activa frente a inactiva en pacientes con uveítis asociada a AIJ sin
				actividad de la artritis. No en uveítis anterior idiopática.  - No relación entre niveles de calprotectina y grado de inflamación en cámara anterior.

Kasper, 2018.	Transversal	Uveítis anterior aguda HLA B27 + Uveítis anterior idiopática.	- 27 uveítis anterior aguda HLA B27+. - 21 uveítis anterior idiopática. - 30 controles.	- Ausencia de diferencias significativas en niveles de calprotectina entre uveítis activas e inactivas.
Song, 2018.	Transversal.	Uveítis anterior aguda idiopática.	- 72 uveítis anterior aguda idiopática. - 56 controles.	- Niveles de calprotectina en pacientes con uveítis más elevados que en controles. - Correlación alta entre niveles de calprotectina y celularidad y 'flare' en cámara anterior, grosor macular, y agudeza visual mejor corregida (en este caso negativa).
Wang, 2020.	Transversal y prospectivo.	Uveítis anterior, intermedia, posterior y panuveítis. NIU y uveítis infecciosa. Sistémica y puramente ocular.	- 304 uveítis anterior. - 22 uveítis intermedia. - 29 uveítis posterior. - 99 panuveítis. - 95 controles.	- Niveles de calprotectina en pacientes con uveítis más elevados que en controles. - Mayores niveles en uveítis posteriores y panuveítis. - En uveítis anterior aguda, diferencias entre uveítis activa e inactiva respecto a controles, y reducción de niveles con la resolución de la uveítis.





## **2. JUSTIFICACIÓN Y ALCANCE DEL ESTUDIO.**

### 2. JUSTIFICACIÓN Y ALCANCE DEL ESTUDIO.

A pesar de la relevancia de la uveítis, tal y como se ha comentado previamente, la valoración de la actividad inflamatoria sigue dependiendo en gran medida de sistemas no cuantitativos o semicuantitativos subjetivos. Si bien es cierto que se ha producido un gran avance en el desarrollo de sistemas para valorar la inflamación de forma cuantitativa y objetiva, a día de hoy estos sistemas todavía no han sido adoptados de forma sistemática en práctica clínica habitual ni en estudios.

En otras enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, los marcadores sanguíneos de actividad (PCR, VSG) han supuesto un importante avance en la monitorización del curso de la enfermedad (pudiendo incluso predecirse en algunos casos los brotes) y, por consiguiente, en la optimización de su tratamiento.

Teniendo en cuenta todo esto, se considera que la definición de un biomarcador sanguíneo de actividad para la uveítis sería de gran utilidad para identificar aquellos pacientes con inflamación persistente, incluso en fase subclínica, lo cual serviría de apoyo en el manejo clínico y terapéutico de la enfermedad.

A pesar de que la uveítis es considerada básicamente una enfermedad mediada por linfocitos T, existe evidencia de la importancia y la implicación de células que intervienen en la inmunidad innata.

La calprotectina es una proteína cuyas funciones proinflamatorias se asocian a la respuesta inmune innata, actúa como nexo entre este tipo de inmunidad y la inmunidad adaptativa y favorece el desarrollo de la autoinmunidad sistémica.

Puesto que en la uveítis están implicadas tanto la respuesta inmune innata como la respuesta inmune adaptativa, y dado que la calprotectina tiene un papel relevante en

### **JUSTIFICACIÓN Y ALCANCE DEL ESTUDIO.**

ambos tipos de inmunidad, se considera que puede ser de interés explorar el papel de esta proteína como biomarcador de actividad inflamatoria en la uveítis.

### **3. HIPÓTESIS.**

**3. HIPÓTESIS.**

- Los niveles plasmáticos de calprotectina de personas con uveítis activa son más elevados que los de personas sin la enfermedad.
- Los niveles plasmáticos de calprotectina se correlacionan con el grado de celularidad en cámara anterior.
- Los niveles de calprotectina descienden cuando la uveítis se inactiva.



## **4. OBJETIVOS.**

**4. OBJETIVOS.**

**4.1. OBJETIVO PRINCIPAL.**

Comparar los niveles de calprotectina plasmática en pacientes con NIU activa con los de controles sin uveítis.

**4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.**

- Evaluar la correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y el grado de celularidad en cámara anterior en pacientes con uveítis anterior.
- Evaluar los cambios en los niveles de calprotectina plasmática en pacientes con uveítis entre el inicio del brote de uveítis y su resolución.



## **5. MATERIAL Y MÉTODOS.**



**5. MATERIAL Y MÉTODOS.****5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y ASPECTOS ÉTICOS.**

El presente estudio consta de dos partes, que constituyen en sí dos estudios diferenciados. Para responder al objetivo principal y al primero de los objetivos secundarios se diseñó un estudio transversal (al que se denominará Estudio 1). Para responder al segundo de los objetivos secundarios se diseñó un estudio de cohortes prospectivo (al que se denominará Estudio 2).

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético para Investigaciones Médicas del Hospital Universitari Doctor Peset (Anexo 3). Fue evaluado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, siendo clasificado como un estudio NO-EPA (estudio observacional en el que el factor de exposición principal estudiado no es un fármaco).

**5.2. ÁMBITO DEL ESTUDIO.**

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitari Doctor Peset de València. Este hospital en conjunto con el Centro de Especialidades de Monteolivete son los responsables de la asistencia especializada del Departamento de Salud de València - Doctor Peset, que abarca una población de 279.334 habitantes.

El Hospital Universitari Doctor Peset está compuesto por un edificio de siete plantas puesto en funcionamiento en enero de 1989. Desde 1997 el Doctor Peset se ha convertido en un Hospital Universitario con acreditación docente para la formación de Médicos, Farmacéuticos y Enfermeros Internos Residentes. Actualmente el centro ocupa una superficie construida de 50.000 metros cuadrados, dispone de 517 camas, 19 quirófanos y 115 locales de consultas externas.

### **5.3. POBLACIÓN DEL ESTUDIO Y TAMAÑO MUESTRAL.**

#### **5.3.1. Población del estudio.**

Se reclutó de forma consecutiva una cohorte de pacientes con brote de NIU. Los pacientes fueron diagnosticados y tratados por el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset, tanto en la sección de Urgencias Hospitalarias como en las Consultas Externas.

Asimismo, se reclutó una cohorte de controles sin uveítis, apareada por edad y sexo. Se incluyeron pacientes con procesos oftalmológicos no inflamatorios, fundamentalmente cataratas y revisiones de la refracción, atendidos en las Consultas Externas del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset, así como voluntarios sanos. Los pacientes con patología oftalmológica no inflamatoria fueron informados en la consulta programada de la posibilidad de participar en el estudio. Adicionalmente, se realizó una búsqueda activa de controles sanos entre el personal sanitario adscrito a los servicios de reumatología y de oftalmología, así como entre allegados del personal sanitario a los que se ofreció igualmente participar en el estudio.

#### **5.3.2. Tamaño muestral.**

Para calcular el tamaño muestral se tuvieron en cuenta:

- La incidencia de uveítis, que según un metanálisis reciente se situaría en 50.45 casos/100000 habitantes/año (8).

- La prevalencia de uveítis, que según una publicación reciente que evalúa esta cuestión tomando como referencia la población de una región española se situaría en 58.7 casos/100000 habitantes/año (9).
- La población del Departamento de Salud de València – Doctor Peset, que es de 279.334 habitantes.
- La incidencia de brotes de NIU en nuestra consulta multidisciplinar de inflamación ocular, que está en torno a 48 casos/año (4 casos/mes).
- Los tamaños muestrales de trabajos publicados previamente con características similares al presente estudio (177,178,180, 181).

En base a estas consideraciones, y teniendo en cuenta que el estudio se realizaría en condiciones de práctica clínica habitual, se estimó como límite máximo el reclutamiento de 103 sujetos por cohorte.

### **5.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.**

#### **5.4.1. Criterios de inclusión.**

##### ***Grupo de pacientes:***

- Edad  $\geq$  18 años.
- Diagnóstico de NIU realizado por facultativo adscrito al Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset.
- Brote de la NIU en el momento de la inclusión.
- Firma del consentimiento informado.

##### ***Grupo control:***

- Edad  $\geq$  18 años.

- Firma del consentimiento informado.

#### **5.4.2. Criterios de exclusión.**

- Retirada en cualquier momento del consentimiento informado.
- Embarazo.
- Presencia de infecciones concomitantes, enfermedades inflamatorias crónicas no relacionadas con la uveítis (cualquier enfermedad inflamatoria, aguda o crónica, para los controles) o cualquier cirugía (oftalmológica o no).

### **5.5. VARIABLES INCLUIDAS EN EL ESTUDIO.**

#### **5.5.1. Variable principal o dependiente.**

Concentración de calprotectina en plasma.

#### **5.5.2. Variables secundarias o independientes.**

Se recogieron las variables que potencialmente podrían relacionarse con los niveles de calprotectina. Son las que se enumeran a continuación.

Variables demográficas:

- Edad (años).
- Sexo (mujer/hombre).

Variables relacionadas con el diagnóstico:

- Diagnóstico (nombre de la enfermedad).
- Localización anatómica de la uveítis (anterior, intermedia, posterior, panuveítis).
- Asociación de la uveítis con enfermedad sistémica (nombre, sí/no).
- Historia de brotes de uveítis previos (sí/no).
- Afección bilateral (sí/no).

VARIABLES RELACIONADAS CON LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD:

- Actividad de la enfermedad sistémica (sí/no).
- Grado de celularidad en cámara anterior (1+, 2+, 3+ ó 4+). Esta variable aplica a las uveítis anteriores y a las panuveítis con afectación de cámara anterior.
- Grado de turbidez/haze vítreo (1+, 2+, 3+ ó 4+). Esta variable aplica a las uveítis intermedias y a las panuveítis con afectación del vítreo.
- Presencia de focos de coroiditis / retinitis (sí/no). Esta variable aplica a las uveítis posteriores y a las panuveítis con afectación de polo posterior.
- Presencia de vasculitis (sí/no). Esta variable aplica a las uveítis posteriores y a las panuveítis con afectación de polo posterior.
- Presencia de papilitis (sí/no). Esta variable aplica a las uveítis posteriores y a las panuveítis con afectación de polo posterior.
- Presencia de edema macular (sí/no).
- Grosor macular máximo ( $\mu\text{m}$ ).
- Presencia de actividad de la uveítis (sí/no). La uveítis activa se definió como una celularidad en cámara anterior  $\geq 1+$  para las uveítis anteriores y las panuveítis con afectación de la cámara anterior, una celularidad vítrea  $\geq 1+$  para las uveítis intermedias y las panuveítis con afectación del vítreo, y la presencia de vasculitis, coroiditis o papilitis para las uveítis posteriores. La existencia de edema macular se consideró signo de actividad para cualquiera de los tipos de uveítis.

VARIABLE RELACIONADA CON LA REPERCUSIÓN FUNCIONAL DE LA UVEÍTIS:

- Agudeza visual (medida mediante escala decimal). Se consideró la agudeza visual del ojo afectado. En los casos en los que la uveítis fuese bilateral, se consideró la peor agudeza visual.

VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO:

- Tratamiento con corticosteroides tópicos (sí/no). Esta variable aplica sólo a las uveítis anteriores. Se consideró como paciente en tratamiento aquel que hubiese recibido tratamiento entre los dos días previos y el día de la extracción analítica. El corticosteroide utilizado en nuestro centro es el acetato de prednisolona aplicado de forma tópica en pauta descendente.
- Tratamiento con corticosteroides perioculares (sí/no). Se consideró como paciente en tratamiento aquel que hubiese recibido tratamiento entre los dos días previos y el día de la extracción analítica. El corticosteroide utilizado en nuestro centro es el acetónido de triamcinolona inyectado a nivel subtenoniano.
- Tratamiento con corticosteroides sistémicos (sí/no). Se consideró como paciente en tratamiento aquel que hubiese recibido tratamiento entre los dos días previos y el día de la extracción analítica. Los corticosteroides utilizados en nuestro centro son la prednisona pautada en dosis descendentes con una dosis inicial entre 30 y 60 mg/día, o bien los pulsos de metilprednisolona intravenosa a dosis de entre 100 y 1000 mg por pulso.
- Tratamiento con inmunomoduladores sistémicos ahorradores de corticosteroides (sí/no).
- Tipo de inmunomodulador sistémico ahorrador de corticosteroides recibido (principio activo). En nuestro centro, los inmunomoduladores utilizados con más frecuencia para el tratamiento de las uveítis son los dos que tienen indicación a día de hoy -ciclosporina A y adalimumab- (183,184), pero también otros como metotrexato,



sulfasalazina, azatioprina, micofenolato de mofetilo o ácido micofenólico, o infliximab.

En esta variable se consideraron también los inmunosupresores que el paciente estuviese recibiendo debido a su enfermedad sistémica relacionada con la uveítis.

Todas las variables se encuentran caracterizadas en el Anexo 8.

## **5.6. RECOGIDA DE INFORMACIÓN.**

La recogida de información fue realizada por la investigadora principal del estudio. Se utilizaron los datos recogidos en el historial clínico de los participantes del estudio. El historial clínico de los pacientes del Hospital Universitari Doctor Peset se encuentra actualmente informatizado a través del programa Orion Clinic®. La información fue recopilada y volcada a una hoja de cálculo utilizando el programa Excel® (Anexo 4).

## **5.7. MATERIAL.**

### **5.7.1. Pruebas oftalmológicas.**

- Biomicroscopía mediante lámpara de hendidura. Se utilizaron diferentes aqupos en función de la consulta en la que se realizase la valoración. La funduscopia se realizó bajo midriasis farmacológica, mediante la instilación en fondo de saco conjuntival de una gota de tropicamida 10 mg/ml y una gota de fenilefrina 100 mg/ml .
- Mejor agudeza visual corregida mediante optotipos de Snellen medida en escala decimal.
- Tonometría por aplanación de Goldmann.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

- Tests adicionales a la biomicroscopía para la exploración del fondo de ojo: retinografía de 5 campos, angiografía fluoresceínica, autofluorescencia. Dichas técnicas, en caso de ser necesarias, se realizaron con el equipo Visucam® 500 de Zeiss.
- La valoración de la presencia y el grado de edema macular así como el grosor macular se realizó mediante OCT de dominio espectral. Se utilizaron los equipos

4000 Cirrus® HD-OCT, Carl Zeiss Meditec, Germany y Spectralis SD-OCT Version 6.9a. Heidelberg Engineering GmbH, Germany. Definir bien, ayuda de oft.



**Figura 14. Imagen del equipo de retinografía Visucam® 500 de Zeiss utilizado en el estudio.**

**5.7.2. Prueba de laboratorio: determinación de calprotectina.**

Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante venopunción utilizando para su recogida tubos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA por sus sigla en inglés) tripotásico. Tras centrifugar las muestras se aspiró el plasma y fue almacenado a una temperatura de -20° C hasta la realización de las determinaciones.

La concentración de calprotectina plasmática se determinó en cada muestra, tras su descongelación y homogeneización, utilizando una técnica de inmunoensayo sándwich (o no competitivo) enzimático por fluorescencia (EliA Calprotectin, Unicap 100, ThermoFisher). En esta técnica la calprotectina presente en la muestra se une en una primera incubación a un anticuerpo monoclonal que recubre los pocillos. Tras ello se realiza un primer lavado que retira los componentes no ligados y a continuación se añade un segundo anticuerpo monoclonal anti-calprotectina humana marcado con enzimas (conjugado EliA) que se une durante la segunda incubación para completar el complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo marcado. El conjugado no ligado es retirado por un nuevo lavado. Se añade entonces una solución de desarrollo que contiene el sustrato con el que reacciona la enzima del marcaje para producir una señal fluorescente, que será proporcional a la cantidad de complejos de calprotectina presentes, de manera que, a mayor presencia de calprotectina en el espécimen, mayor fluorescencia resultante se obtiene. Las respuestas se comparan con una curva de calibración de 6 puntos para calcular las concentraciones.

Las concentraciones se expresaron en µg/g dado que el sistema fue diseñado para analizar muestras de heces. Otros grupos han utilizado un sistema similar para analizar muestras de suero / plasma previamente (185,186).

**5.8. PROCEDIMIENTOS.**

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

- Se facilitó a pacientes y controles una hoja de información y se obtuvo la firma del consentimiento informado, del cual se les entregó una copia. El modelo de los documentos puede encontrarse en los Anexos 5, 6 y 7.
- Se realizó una exploración oftalmológica tanto a los pacientes como los controles en cada una de las visitas programadas en el estudio. Dicha exploración fue realizada por un oftalmólogo adscrito al Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset.
- La uveítis se diagnosticó y se clasificó por parte de un oftalmólogo adscrito al Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset siguiendo las recomendaciones del ‘Standarization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group’(2).
- El grado de celularidad en cámara anterior y en vítreo se valoró siguiendo los criterios SUN (2).
- Los diagnósticos de las enfermedades reumatológicas inflamatorias crónicas asociadas a la uveítis fueron realizados por un reumatólogo adscrito al Servicio de Reumatología del Hospital Universitari Doctor Peset siguiendo los criterios diagnósticos disponibles para cada enfermedad. Los diagnósticos del resto de enfermedades inflamatorias crónicas relacionadas con la uveítis fueron realizados por el especialista correspondiente en base a su criterio clínico. Para valorar la presencia de actividad de la enfermedad inflamatoria asociada a la uveítis se realizó una revisión de la historia clínica del paciente.
- Las muestras de sangre fueron recogidas por una enfermera adscrita al Servicio de Reumatología del Hospital Universitari Doctor Peset el mismo día en el que se realizó la exploración oftalmológica o en los días inmediatamente posteriores, con un máximo de siete días entre la extracción y el inicio del brote de uveítis.

- A los pacientes con uveítis se les realizó un segundo y un tercer análisis de sangre aproximadamente al mes 1 y al mes 3 desde el inicio del brote de uveítis. Igualmente se les realizaron nuevas exploraciones oftalmológicas para valorar el grado de resolución del brote de uveítis.
- Se recogieron los datos pertinentes a partir de la revisión del historial clínico de cada paciente. La información fue recopilada y volcada a una hoja de cálculo utilizando el programa Excel® (Anexo 4).

## **5.9. ESTUDIO ESTADÍSTICO.**

### **5.9.1. Análisis univariante o estadística descriptiva.**

Para el análisis descriptivo de las variables cuantitativas se calcularon los cuartiles, las medidas de centralidad (media y mediana) y las medidas de dispersión (desviación estándar, varianza, los valores máximos y mínimos, y el rango). Para analizar la distribución se analizó la asimetría y la curtosis, considerándose distribuciones normales aquellas que presentaron unos valores de asimetría y/o de curtosis comprendidos entre 0,5 y 0,5.

Para la descripción de las variables cualitativas se calcularon los números absolutos y los números relativos o proporciones.

Se llevó a cabo una transformación logarítmica de aquellas variables en las que la distribución en la muestra fue asimétrica.

### **5.9.2. Análisis bivariante.**

Para analizar las diferencias en los niveles de calprotectina plasmática entre el grupo de pacientes con uveítis y el grupo control, así como para analizar la relación entre los niveles de calprotectina plasmática y las distintas variables independientes se planteó la utilización de los siguientes estadísticos:

- Prueba Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson para valorar la relación entre dos variables categóricas, aplicando la corrección por continuidad en caso necesario.
- Prueba T de Student para evaluar la relación entre una variable cualitativa dicotómica y una variable cuantitativa con distribución normal, calculando la diferencia entre medias, el intervalo de confianza al 95% y el valor de  $p$  (o significación asintótica) asumiendo varianzas iguales y bilateralidad.
- Prueba U de Mann-Whitney-Wilcoxon, como test no paramétrico para evaluar la relación entre una variable cualitativa dicotómica y una variable cuantitativa con distribución no normal, calculando los estadísticos U de Mann-Whitney y W de Wilcoxon y teniendo en cuenta el nivel de significación asintótica bilateral.
- Análisis de la varianza (ANOVA por sus siglas en inglés) de un factor: para valorar la relación entre una variable cualitativa con más de dos categorías y otra variable cuantitativa de distribución normal, calculando el estadístico F y el nivel de significación.
- Prueba de Kruskal-Wallis, como test no paramétrico para evaluar la relación entre una variable cualitativa con más de dos categorías y una variable cuantitativa con distribución no normal. Se calcularía el estadístico H de Kruskal-Wallis y se tendría en cuenta el nivel de significación asintótica bilateral.
- Coeficiente de correlación de Pearson para analizar la correlación entre los valores de variables cuantitativas con una distribución normal, calculando el índice de correlación

( $r$ ) y considerando el nivel de significación bilateral. El índice de correlación se interpretaría de la siguiente forma:

- Con valores de  $r > 0,70$  se consideraría que la correlación era alta.
- Con valores de  $r$  entre  $0,30$  y  $0,70$  se consideraría que la correlación era moderada. -

Con valores de  $r < 0,30$  se consideraría que la correlación era baja.

- Coeficiente de correlación de Spearman para analizar la correlación entre los valores de variables cuantitativas que no cumplieren los criterios de normalidad, y para analizar la correlación entre los valores de una variable cuantitativa que no cumpliera los criterios de normalidad y una variable ordinal, calculando el coeficiente ( $Rho$ ) de Spearman y considerando el nivel de significación bilateral. El coeficiente de correlación se interpretaría de la siguiente forma:

- Con valores de  $Rho > 0,70$  se consideraría que la correlación era alta.
- Con valores de  $Rho$  entre  $0,30$  y  $0,70$  se consideraría que la correlación era moderada.
- Con valores de  $Rho < 0,30$  se consideraría que la correlación era baja.
- Los cambios en la concentración de calprotectina plasmática entre el momento en que se inició el brote de uveítis y el momento de su resolución fueron analizados mediante un modelo mixto para medidas repetidas.

En todos los análisis realizados, se asumió la significación estadística con valores de  $p < 0,05$  y se entendieron como tendencia los valores de  $p$  comprendidos entre  $0,05$  y  $0,1$ .

### **5.9.3. Análisis multivariante.**

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para valorar la relación entre los niveles de calprotectina plasmática y las variables independientes, estableciendo como nivel de significación estadística un valor de  $p < 0,05$ .

**5.9.4. Programa informático.**

Para llevar a cabo el análisis estadístico se utilizaron los programas R (versión 3.6.0) y SPSS (versión 11).



## **6. DIFICULTADES.**



**6. DIFICULTADES.**

El hecho de incluir pacientes con enfermedades inflamatorias que afectan a otros órganos además del globo ocular, puede constituir una limitación a la hora de interpretar los resultados de este estudio. Dado que el trabajo fue realizado en condiciones de práctica clínica habitual, y puesto que algunas de estas enfermedades son competencia de otros especialistas como los dermatólogos y los digestólogos, la idea de realizar una valoración exhaustiva del grado de actividad de la enfermedad en el momento de la visita del estudio era difícilmente realizable. Además, algunas de estas enfermedades no tienen índices de actividad bien definidos. Por todo ello, se decidió realizar una revisión de la historia clínica de los pacientes que tuviesen alguna de estas enfermedades y determinar, en función de lo descrito, si el paciente presentaba actividad de su enfermedad sistémica en el momento de la visita del estudio. Esta información fue recogida en una variable cualitativa dicotómica.

En previsión de que el tamaño muestral final pudiera ser limitado debido a la baja frecuencia de las NIU, las características del ámbito donde se realizó el estudio y teniendo en cuenta que el trabajo se realizó en condiciones de práctica clínica habitual, se planteó el apareamiento por sexo y edad de los sujetos incluidos en las dos cohortes con el objetivo de disminuir la variabilidad de las muestras.



## **7. RESULTADOS.**

**7. RESULTADOS.**

**7.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.**

El inicio del reclutamiento tuvo lugar en noviembre de 2014 y finalizó en julio de 2019.

En el Estudio 1 se incluyeron inicialmente un total de 86 pacientes y 48 controles. Del total de pacientes incluidos al inicio, 11 fueron retirados del estudio por no cumplir los criterios de inclusión / exclusión y 1 paciente fue excluida al retirar su consentimiento informado. Asimismo, del total de controles incluidos al inicio, 8 fueron retirados por no cumplir los criterios de inclusión / exclusión.

Por tanto, en el Estudio 1 fueron finalmente analizados un total de 74 pacientes y 40 controles. Las características generales de ambos grupos se encuentran detalladas en la Tabla 11. En la Figura 14 se detalla la distribución de los pacientes en función del diagnóstico de la uveítis.

Las características de las distintas variables incluídas en el estudio se detallan en el Anexo 8.

**Tabla 11. Características generales de los sujetos del estudio.**

	Pacientes <i>n</i> = 74	Controles <i>n</i> = 40	Valor de <i>p</i>
Edad (años), <i>Media</i> ( $\pm$ <i>DE</i> )	49,3 (17,26)	52,6 (18,68)	0,33
<i>Mediana</i> ( <i>I</i> <sup>r</sup> ; 3 <sup>r</sup> <i>C.</i> )	50 (36; 60,5)	54 (36,7; 66,5)	
Sexo femenino, <i>n</i> (%)	46 (62,16%)	23 (57,5%)	0,77
Calprotectina ( $\mu$ g/g), <i>Media</i> ( $\pm$ <i>DE</i> )	691,76 (402,18)	481,68 (221,29)	0,003
<i>Mediana</i> ( <i>I</i> <sup>r</sup> ; 3 <sup>r</sup> <i>C.</i> )	637 (462,75; 888)	446,5 (328,25; 583)	

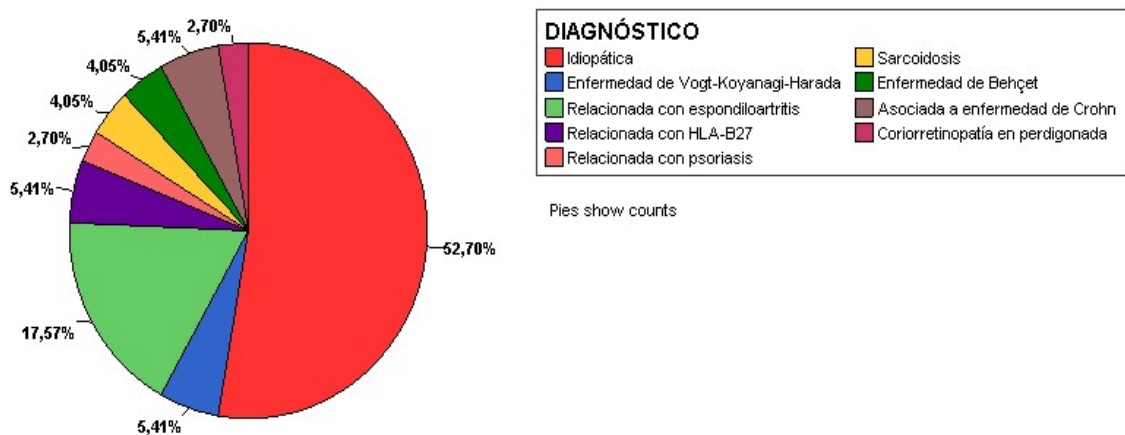
**RESULTADOS.**

Clasificación anatómica de la uveítis, <i>n</i> (%)			
<i>Anterior</i>	54 (72,97)	-	-
<i>Intermedia</i>	5 (6,76)		
<i>Posterior</i>	10 (13,51)		
<i>Panuveítis</i>	5 (6,76)		
Diagnóstico, <i>n</i> (%)			
<i>Idiopática</i>	39 (52,7)	-	-
<i>Relacionada con espondiloartritis</i>	13 (17,57)		
<i>Relacionada con HLA-B27+</i>	4 (5,41)		
<i>Relacionada con enfermedad de Crohn</i>			
<i>Vogt-Koyanagi-Harada</i>	4 (5,41)		
<i>Enfermedad de Behçet</i>	4 (5,41)		
<i>Sarcoidosis</i>	3 (4,05)		
<i>Relacionada con psoriasis</i>	3 (4,05)		
<i>Coriorretinopatía en perdigonada</i>	2 (2,7)		
	2 (2,7)		
Edema macular, <i>n</i> (%)	11 (14,86)	-	-
Grosor macular,	<i>n</i> = 36	-	-
<i>Media (± DE)</i>	433,31 (186,32)		
<i>Mediana (1<sup>r</sup>; 3<sup>r</sup> C.)</i>	357,50 (336,25; 438)		
Afectación de polo posterior, <i>n</i> (%)	<i>n</i> = 14	-	-
Papilitis	8 (57,14)		
Coroiditis / retinitis	5 (35,71)		
Vasculitis	7 (50)		
Uveítis bilateral, <i>n</i> (%)	23 (31,08)	-	-
Uveítis previa, <i>n</i> (%)	23 (31,08)	-	-
Agudeza visual mejor corregida	<i>n</i> = 62		
<i>Media (± DE)</i>	0,61 (± 0,28)		
<i>Mediana (1<sup>r</sup>; 3<sup>r</sup> C.)</i>	0,65 (0,40; 0,83)		

† Tratamiento inmunomodulador, n (%)			
<i>Corticosteroides tópicos</i>	42 (56,76)	-	-
<i>Corticosteroides perioculares</i>	3 (4,05)		
<i>Corticosteroides sistémicos</i>	9 (12,16)		
<i>Ahorradores de corticosteroides</i>	4 (5,41)		
<i>Adalimumab</i>	2		
<i>Etanercept + metotrexato</i>	1		
<i>Metotrexato</i>	1		

† Pacientes que estaban en tratamiento inmunomodulador en el momento del muestreo.

**Figura 15. Distribución de los pacientes en función del diagnóstico de la uveítis.**



En el Estudio 2 se incluyeron aquellos pacientes que contaron con una determinación de calprotectina en el momento de resolución del brote de uveítis. Debido a las pérdidas de seguimiento, de los 74 pacientes incluidos en el estudio transversal, sólo 36 pudieron ser incluidos en el estudio prospectivo. Las características generales de estos pacientes se detallan en la Tabla 12.



**Tabla 12. Características generales de los pacientes incluidos en el análisis longitudinal (Estudio 2). Para el análisis prospectivo se incluyó a pacientes de los que se dispusiera determinación de calprotectina en el momento de resolución del brote de uveítis.**

Características generales	Pacientes <i>n</i> = 36
Edad (años), <i>Media</i> ( $\pm$ <i>DE</i> )	50,67 (16,19)
<i>Mediana</i> ( <i>1<sup>r</sup></i> ; <i>3<sup>r</sup></i> <i>C.</i> )	48 (36,5; 62,75)
Sexo femenino, <i>n</i> (%)	24 (66,7%)
Clasificación de la uveítis, <i>n</i> (%)	
<i>Anterior</i>	31 (86,1)
<i>Intermedia</i>	1 (2,7)
<i>Posterior</i>	2 (5,6)
<i>Panuveítis</i>	2 (5,6)
Diagnóstico de la uveítis, <i>n</i> (%)	
<i>Idiopática</i>	18 (50)
<i>Relacionada con espondiloartritis</i>	10 (27,8)
<i>Enfermedad de Behçet</i>	3 (8,3)
<i>HLA-B27+</i>	2 (5,6)
<i>Relacionada con enfermedad de Crohn</i>	2 (5,6)
<i>Relacionada con psoriasis</i>	1 (2,7)
Edema macular, <i>n</i> (%)	5 (13,9)
Uveítis bilateral, <i>n</i> (%)	6 (16,7)
Uveítis previa, <i>n</i> (%)	17 (47,2)
Agudeza visual mejor corregida,	<i>n</i> = 33
<i>Media</i> ( $\pm$ <i>DE</i> )	0,61 (0,29)
<i>Mediana</i> ( <i>1<sup>r</sup></i> ; <i>3<sup>r</sup></i> <i>C.</i> )	0,70 (0,40; 0,85)
† Tratamiento inmunomodulador basal, <i>n</i> (%)	

**RESULTADOS.**

<i>Corticosteroides tópicos</i>	27 (75)
<i>Corticosteroides perioculares</i>	4 (11,1)
<i>Corticosteroides sistémicos</i>	3 (8,3)
<i>Ahorradores de corticosteroides</i>	2 (5,5)
<i>Metotrexato</i>	1
<i>Etanercept + metotrexato</i>	1
† Tratamiento inmunomodulador en el momento de resolución de la uveítis, n (%) <i>Corticosteroides tópicos</i>	7 (19,44)
<i>Corticosteroides perioculares</i>	0
<i>Corticosteroides sistémicos</i>	3 (8,33)
<i>Ahorradores de corticosteroides</i>	7 (19,4)
<i>Metotrexato</i>	1
<i>Sulfasalazina</i>	1
<i>Ciclosporina</i>	2
<i>Etanercept + metotrexato</i>	1
<i>Adalimumab</i>	2

†Pacientes en tratamiento inmunomodulador en el momento del muestreo.

**7.2. ESTUDIO TRANSVERSAL (ESTUDIO 1).**

### 7.2.1. Análisis bivalente.

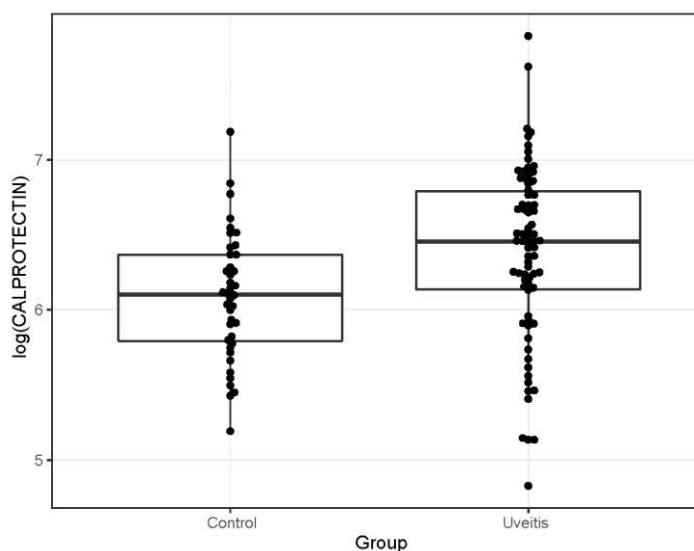
#### *Comparación de los niveles de calprotectina entre el grupo de pacientes y el grupo de controles.*

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a edad y sexo entre el grupo de uveítis y el de controles.

Los niveles de calprotectina plasmática basales fueron significativamente más altos en el grupo de pacientes que en el de los controles ( $U= 951,50$ ;  $W= 1771,50$ ;  $p=0,002$ ), (Figura 15). Los niveles de calprotectina en el momento de resolución de la uveítis resultaron igualmente superiores a los de los controles, siendo las diferencias estadísticamente significativas ( $U= 421$ ;  $W= 1241$ ;  $p= 0,002$ ).

#### **Figura 16. Niveles de calprotectina plasmática basales en pacientes con uveítis y en controles.**

Se encontraron diferencias significativas entre ambas cohortes ( $p=0,002$ ).



#### *Influencia de las distintas variables secundarias sobre la variable principal.*

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el tipo de uveítis, siendo los valores más elevados los de los pacientes con uveítis posterior ( $H=8,12$ ;  $p= 0,04$ ), y en relación con el uso de inmunomoduladores sistémicos ahorradores de corticosteroides, siendo más elevados los valores en los pacientes que no estaban siendo tratados con inmunomoduladores ( $U= 33,50$ ;  $W= 43,50$ ;  $p= 0,01$ ).

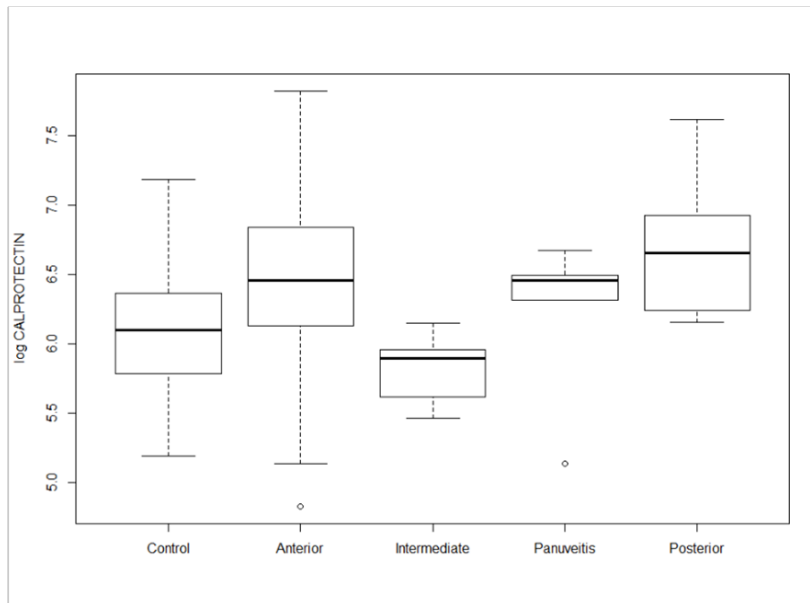
En relación con la edad, los valores de calprotectina tendieron a ser menores en los pacientes con más edad, sin llegar las diferencias a la significación estadística, siendo el grado de correlación entre ambos parámetros bajo ( $Rho= -0,21$ ;  $p= 0,07$ ). En la Figura 16 se muestra la distribución de los niveles de calprotectina plasmática en función de la localización anatómica de la uveítis y en la Figura 17, la correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y la edad en los pacientes con uveítis.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo, la presencia de edema macular, la historia de uveítis previa, la bilateralidad ni el uso de corticosteroides sistémicos. Asimismo, no se encontró correlación con el grosor macular ( $Rho= - 0,02$ ;  $p= 0,83$ ) ni con la agudeza visual ( $Rho= 0,05$ ;  $p= 0,68$ ).

En cuanto a la asociación con enfermedad inflamatoria sistémica, no se encontraron diferencias entre aquellos pacientes que tenían una enfermedad sistémica asociada y aquellos que no. Pero, teniendo en cuenta a los primeros, sí se encontraron diferencias significativas entre pacientes con enfermedad sistémica activa y aquellos sin actividad ( $U= 23$ ;  $W= 213$ ;  $p= 0,03$ ). Estas diferencias se pueden observar en la Figura 18.

La comparación de los promedios de los niveles de calprotectina en función de las anteriores variables categóricas se encuentra detallada en la Tabla 13.

**Figura 17. Distribución de los niveles de calprotectina plasmática en función de la localización anatómica de la uveítis.**



**Figura 18. Correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y la edad en los pacientes con uveítis.**

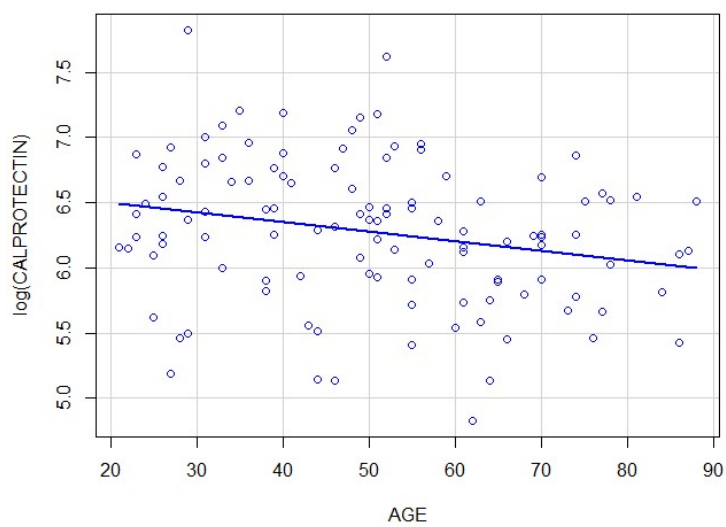


Figura 19. Diferencias en niveles de calprotectina plasmática en función de la actividad de la enfermedad sistémica.

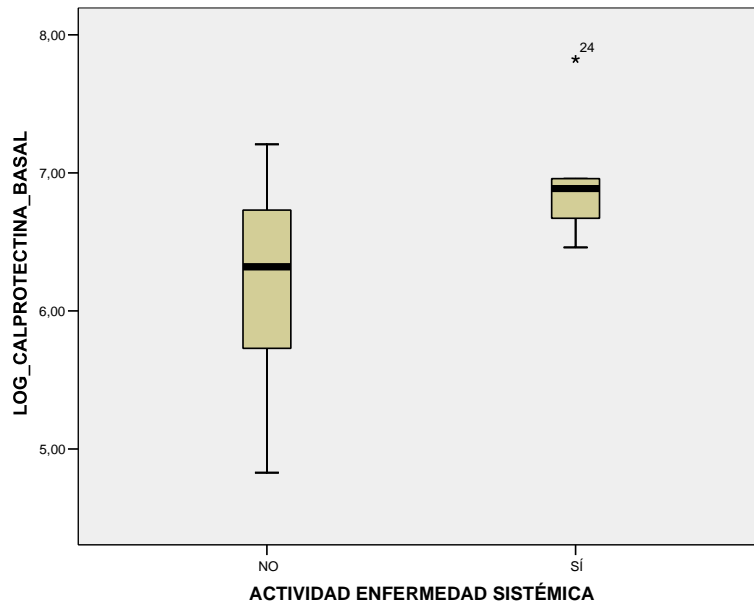


Tabla 13. Comparación de los niveles de calprotectina plasmática entre grupos. Se detallan las medidas de centralidad y dispersión, y la significación asintótica de las pruebas U de Mann-Whitney-Wilcoxon (Test de Kruskal-Wallis para la variable ‘Localización anatómica de la uveítis’).

	n (%)	Calprotectina plasmática		Valor de p
		Media ( $\pm$ DE)	Mediana (1 <sup>r</sup> ; 3 <sup>r</sup> C.)	
Sexo				
Hombre	46 (62,16)	667,70 (334,74)	639,50 (450; 867)	0,97
Mujer	28 (37,84)	731,29 (497,95)	620.50 (396,50; 986)	
Enfermedad sistémica				

**RESULTADOS.**

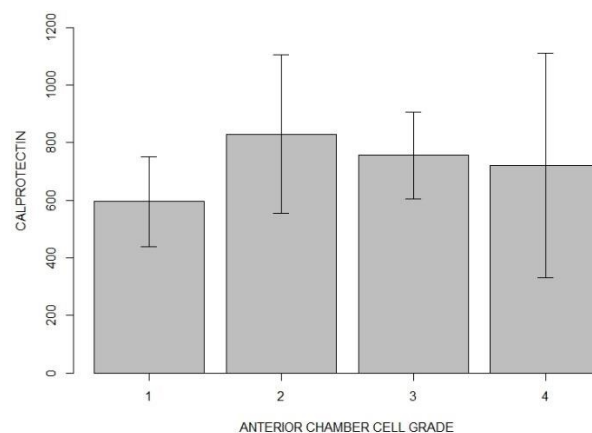
Sí	25 (33,78)	750,16 (503,20)	640 (422,50; 978)	0,59
No	49 (66,22)	661,96 (341,61)	612 (424; 840)	
Actividad de la enfermedad sistémica	n= 25			
Sí	6 (24)	1155,67 (674,93)	978 (751,50; 1413,50)	0,03
No	19 (76)	622,11 (372,77)	555 (260; 867)	
Localización anatómica uveítis				
Anterior	54 (72,97)	702,15 (402,44)	639 (439,50; 939,25)	0,04
Intermedia	5 (6,76)	346 (92,24)	364 (255,50; 427,50)	
Posterior	10 (13,51)	873 (465,86)	775,50 (512,50; 1022,25)	
Panuveítis	5 (6,76)	562,80 (235,04)	639 (362,50; 725)	
Edema macular				
Sí	11 (14,86)	769,10 (415,05)	772 (369; 1282)	0,49
No	63 (85,14)	678,25 (401,76)	631 (461; 867)	
Uveítis bilateral				
Sí	23 (31,08)	734,04 (550,91)	638 (461; 867)	0,71
No	51 (68,92)	672,79 (318,46)	636 (387; 935)	
Uveítis previa				
Sí	23 (31,08)	695,26 (356,97)	661 (481; 952)	0,64
No	51 (68,92)	690,18 (424,34)	612 (387; 867)	
†Corticosteroides sistémicos				
Sí	9 (12,16)	803,33 (540,60)	772 (416; 1026)	0,67
No	66 (87,84)	676,31 (382,05)	636 (424; 881)	
†Inmunomoduladores sistémicos				
Sí	4	290 (155,51)	236 (183,25; 450,75)	0,01
No	70	714,71 (400,22)	639,50 (470,25; 939;25)	

†Pacientes en tratamiento con corticosteroides / inmunomoduladores sistémicos en el momento del muestreo.

Teniendo en cuenta el grupo de las uveítis anteriores, no se encontraron diferencias significativas en los valores de calprotectina entre aquellos pacientes en los que la determinación se realizó habiendo iniciado ya el tratamiento con corticosteroides tópicos y aquellos que aún no habían iniciado tratamiento ( $U= 245$ ;  $W= 350$ ;  $p=0,49$ ).

No se encontró correlación entre los niveles de calprotectina y el grado de celularidad en cámara anterior ( $Rho= 0,18$ ;  $p= 0,20$ ). La distribución de los niveles de calprotectina de acuerdo al grado de celularidad en cámara anterior se muestra en la Figura 19. La inclusión de los pacientes con panuveítis en el análisis de la correlación de los niveles de calprotectina con el grado de celularidad en cámara anterior no supuso una modificación en el grado de significación estadística.

**Figura 20. Distribución de los niveles plasmáticos de calprotectina en función del grado de celularidad en cámara anterior. Las barras representan el promedio de calprotectina y las líneas el intervalo de confianza.**



Debido al bajo tamaño muestral, no se pudo analizar la correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y el grado de turbidez vítrea, así como tampoco estudiar la



posible influencia de las distintas manifestaciones incluidas en la categoría de uveítis posterior (coroiditis/retinitis, papilitis, vasculitis) o el hecho de haber recibido tratamiento con corticosteroides perioculares en dichos niveles.

### **7.2.2. Análisis multivariante.**

Los valores de calprotectina plasmática se vieron influenciados por la edad, de modo que, a mayor edad, menores fueron los valores [Estimado= -0,009; IC 95% (-0,017; -0,001);  $p= 0,032$ ], por la localización anatómica de la uveítis, siendo los valores significativamente más altos en los grupos de uveítis anterior y uveítis posterior tomando como referencia las uveítis intermedias [Uveítis anterior: Estimado= 1,047; IC 95% (0,4; 1,693);  $p= 0,002$ ; Uveítis posterior: Estimado= 1,027; IC 95% (0,426; 1,629);  $p= 0,001$ ], y por la actividad de la enfermedad sistémica asociada en caso de haberla, siendo los valores significativamente más elevados en los pacientes con enfermedad sistémica activa [Estimado= 0,719; IC 95% (0,199; 1,239);  $p= 0,007$ ]. El modelo estadístico se adjunta en el Anexo 9.

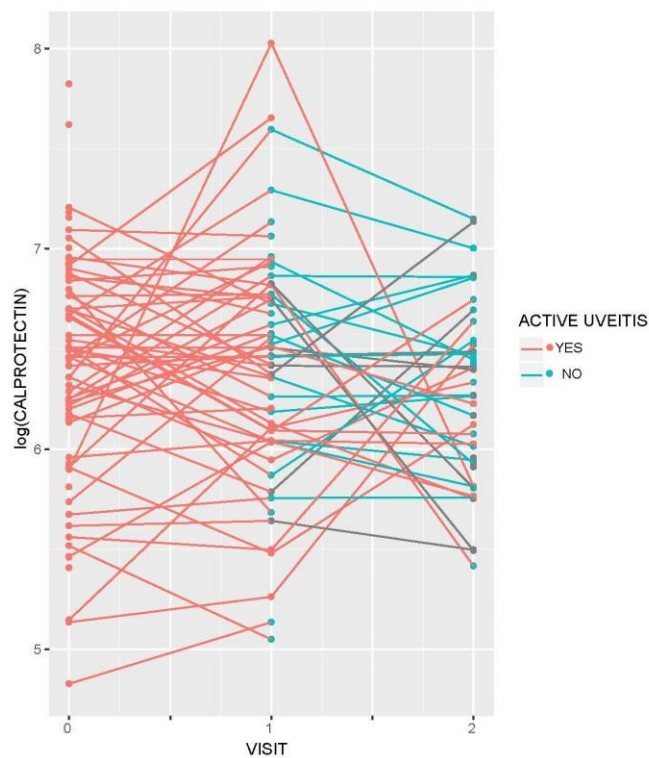
### **7.3. ESTUDIO PROSPECTIVO (ESTUDIO 2).**

Se determinó el cambio en las concentraciones de calprotectina plasmática entre el inicio del brote y el momento de su resolución, sin encontrar diferencias significativas [Estimado= 0,301; IC 95% (0,728; 2,56);  $p= 0,34$ ]. El modelo estadístico se adjunta en el Anexo 10. La evolución de los niveles de calprotectina plasmática entre el momento basal y la visita final se muestran en la Figura 20.

La exclusión del análisis de los pacientes con enfermedad sistémica asociada activa en el momento del brote de la uveítis y/o en el de su resolución (3 pacientes) no modificó el resultado del análisis de forma significativa.

En el subgrupo de pacientes con diagnóstico de uveítis idiopática (18 pacientes), los títulos de calprotectina en el momento de la resolución del brote presentaron una tendencia a ser más altos que al inicio del mismo [Estimado= 0,182; IC 95% (-0,515; 0,021);  $p= 0,07$ ].

**Figura 21. Niveles de calprotectina plasmática en pacientes con uveítis activa e inactiva. Evolución desde el inicio del brote hasta la visita final. No se encontraron diferencias entre uveítis activa e inactiva.**





## **8. DISCUSIÓN.**

## 8. DISCUSIÓN.

### 8.1. COMPARACIÓN DE NIVELES DE CALPROTECTINA ENTRE PACIENTES CON NIU Y CONTROLES.

En este estudio se ha encontrado una diferencia significativa en las concentraciones de calprotectina plasmática entre pacientes con NIU y controles. Este resultado concuerda con los resultados de publicaciones previas en las que igualmente se observan niveles de calprotectina circulante significativamente superiores en pacientes con uveítis que en controles.

Olson y colaboradores fueron los primeros en describir una relación entre la calprotectina plasmática y la uveítis (177). En su trabajo incluyeron a 27 pacientes diagnosticados tanto de uveítis infecciosas como no infecciosas, y a 6 controles sanos. Se realizó una única determinación de niveles de calprotectina en plasma a cada participante en el estudio. Encontraron niveles de calprotectina significativamente más elevados en pacientes con uveítis activa (6 pacientes) que en los controles. En el estudio de Walscheid y colaboradores, en el que se comparan los niveles de calprotectina sérica en niños con uveítis anterior, tanto idiopática (24 pacientes) como asociada a AIJ (79 pacientes) frente a los de 24 controles no uveíticos (178), así como en estudios recientes que evalúan diferentes formas de uveítis en población adulta se han encontrado resultados similares. En el estudio de Song y colaboradores (180), se incluyeron 72 pacientes con uveítis anterior aguda idiopática y 56 controles sanos, mientras que en el trabajo de Wang y colaboradores se incluyeron 454 pacientes y 95 controles (181). Si bien es cierto que este último estudio cuenta con un tamaño muestral marcadamente superior al de nuestro trabajo, hay que tener en cuenta que en él se incluyeron tanto pacientes con NIU como pacientes con uveítis infecciosa de origen vírico.

## 8.2. RELACIÓN ENTRE NIVELES DE CALPROTECTINA Y ACTIVIDAD DE LA UVEÍTIS.

En la muestra de este estudio, los niveles de calprotectina plasmática fueron significativamente más altos en los pacientes con uveítis que en los controles, tanto en la fase de actividad de la uveítis como después su resolución. Por otro lado, en el estudio prospectivo (Estudio 2), no se encontraron diferencias significativas en los niveles de calprotectina plasmática de un mismo paciente entre la fase de uveítis activa y la fase de uveítis inactiva. La exclusión del análisis de los pacientes con enfermedad sistémica asociada activa en el momento del brote de la uveítis y/o en el de su resolución (3 pacientes) no modificó el resultado del análisis de forma significativa.

La evaluación de la relación entre los niveles de calprotectina sérica y la actividad de la uveítis ha ofrecido resultados dispares. Yun y colaboradores (176) observaron que, en un modelo animal, los niveles de calprotectina sérica no se correlacionaban con la actividad de la uveítis. Olson y colaboradores (177) encontraron títulos de calprotectina plasmática significativamente más altos en pacientes con uveítis posterior activa comparados con los de pacientes con uveítis en resolución y uveítis inactiva. Tal y como se ha comentado en el apartado anterior, en este estudio se incluyeron 27 pacientes (de los cuales se tuvieron en cuenta sólo 21 en el análisis principal), combinando uveítis infecciosas y NIU. Los autores detallan que al incluir a los pacientes con enfermedad sistémica asociada en el análisis (los 6 pacientes restantes), las diferencias entre pacientes activos y controles se mantuvieron, no así las diferencias entre pacientes activos e inactivos. En el estudio de Wang y colaboradores (181), los autores encontraron diferencias significativas en los niveles de calprotectina plasmática entre los pacientes con uveítis anterior activa y los controles, mientras que no hubo diferencias al comparar niveles de pacientes con este

tipo de uveítis en fase inactiva y los controles. En 27 pacientes en los que la uveítis se resolvió tras el tratamiento, se observó un descenso significativo de los niveles de calprotectina. En este estudio se incluyeron tanto uveítis no infecciosas como uveítis infecciosas. En el estudio realizado en población pediátrica (178), los autores encontraron que, en los pacientes con uveítis asociada a AIJ, los niveles de calprotectina eran significativamente más elevados en los pacientes con uveítis activa en comparación con los de pacientes con uveítis inactiva. En el análisis, los autores de este trabajo incluyeron sólo al subgrupo de pacientes con artritis inactiva, para evitar la influencia que la enfermedad sistémica pudiese tener en los niveles de calprotectina. No encontraron diferencias significativas en los niveles de calprotectina sérica entre los pacientes con uveítis anterior idiopática activa e inactiva. En el estudio de Kasper y colaboradores (179), en el que se incluyeron pacientes con uveítis anterior aguda relacionada con el antígeno HLA B27 y pacientes con uveítis anterior idiopática, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de calprotectina sérica entre los pacientes con uveítis activas y los pacientes con uveítis inactivas. Teniendo en cuenta sólo a los pacientes con uveítis inactiva, los valores de calprotectina resultaron ser significativamente superiores en los pacientes con uveítis anterior aguda relacionada con el antígeno HLA B27 frente a los de los pacientes con uveítis anterior idiopática.

La ausencia de diferencias significativas en los niveles de calprotectina entre uveítis activa e inactiva que se ha observado en el presente estudio contrasta, al menos en parte, con los resultados de los estudios comentados. Cabe tener en cuenta las diferencias en cuanto a los criterios de inclusión (edad pediátrica vs adulta, NIU exclusivamente vs NIU y uveítis infecciosas), la localización de las uveítis incluidas en los análisis (uveítis anterior vs uveítis posterior vs cualquier localización), y el tipo de estudio realizado

(transversal vs prospectivo).

Es posible que, en este trabajo, algunos de los pacientes con uveítis consideradas como inactivas presentaran actividad subclínica en el momento de la valoración y que ésta no pudiera detectarse en la exploración oftalmológica o las pruebas complementarias realizadas. La actividad subclínica se ha descrito, por ejemplo, en las vasculitis retinianas en el contexto de la EB. En algunas ocasiones la vasculitis no se objetiva en la funduscopia, pero si se realiza una AF puede apreciarse fuga de contraste a nivel de los capilares retinianos lo que constituiría un signo de inflamación persistente (51,186). En los 2 pacientes con vasculitis retiniana incluidos en la fase prospectiva del presente trabajo (Estudio 2), la monitorización se realizó mediante funduscopia y retinografía de 5 campos, sin añadirse valoración por angiografía.

En cualquier caso, se ha descrito que los niveles de calprotectina plasmática se elevan de forma precoz tras el inicio de un proceso inflamatorio agudo, permaneciendo elevados de forma más prolongada que la proteína C reactiva, probablemente por la implicación de granulocitos y monocitos/macrófagos en la reparación tisular (129,187). Además, Kasper y colaboradores (179) observaron en su estudio un incremento de la presencia de monocitos en sangre periférica de pacientes con uveítis que había estado inactiva al menos durante 3 meses, lo que podría indicar un estado de activación inmunitaria persistente en estos pacientes. Esta observación se produjo en los pacientes con uveítis anterior aguda relacionada con el antígeno HLA B27 pero no en los pacientes con uveítis anterior idiopática. Estos datos, en conjunto, podrían ayudar a explicar la ausencia de diferencias significativas en los niveles de calprotectina entre uveítis activa e inactiva observada en la parte prospectiva del presente estudio.



### **8.3. CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE CALPROTECTINA Y GRADO DE CELULARIDAD EN CÁMARA ANTERIOR.**

En el presente trabajo no se ha encontrado correlación entre las concentraciones circulantes de calprotectina y el grado de celularidad en cámara anterior. Este resultado concuerda con lo observado en el estudio de Walscheid y colaboradores (178), en el que los niveles medios de calprotectina sérica no variaron en función del grado de celularidad en cámara anterior, y contrasta con los resultados del estudio de Song y colaboradores (180), que encontraron una correlación positiva fuerte entre los niveles de calprotectina sérica y la celularidad en cámara anterior.

Una posible explicación para la ausencia de correlación detectada en el presente trabajo es la existencia de una variabilidad considerable en la evaluación clínica de la actividad de la uveítis anterior. Este hecho se refleja en el artículo de Kempen et al, en el que se describe un grado de acuerdo interobservador moderado para la gradación de la inflamación intraocular (78). Debido a que el presente estudio fue realizado en condiciones de práctica clínica habitual, la evaluación clínica del grado de actividad de la uveítis anterior fue realizada por distintos oftalmólogos. Por tanto, según lo explicado, este hecho podría haber influido en la ausencia de correlación entre los niveles plasmáticos de calprotectina y la celularidad en cámara anterior en los pacientes con uveítis anterior incluidos en este estudio.

### **8.4. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.**

En la muestra del presente estudio, los valores de calprotectina se vieron influenciados por la edad, de modo que a mayor edad menores eran los niveles. Este hallazgo estaría

en sintonía con publicaciones en las que se describe que la actividad de la uveítis en la enfermedad de Behçet decrece con la edad (48,50). Además, es conocido que los elementos tanto de la inmunidad innata como de la inmunidad adaptativa sufren cambios con la edad, lo que se conoce como proceso de inmunosenescencia (188). Los monocitos son células implicadas en la uveítis, constituyendo unas de las principales productoras de calprotectina. En una revisión reciente en la que se evalúan los cambios en el fenotipo y la función de monocitos y macrófagos en relación con la edad, se concluye que estas células contribuyen al proceso de inmunosenescencia y que tienen un papel importante en el deterioro de la inmunidad que se produce con la edad (189). En cuanto a los monocitos en concreto, se describe una menor producción de citoquinas proinflamatorias como IFN de tipo 1, y una menor capacidad de fagocitosis, es decir, de eliminación de células apoptóticas. Es posible que la alteración en la función de estas células relacionada con la edad conlleve también una menor producción de calprotectina.

Sin embargo, cabe mencionar, que el resultado del presente trabajo difiere de lo descrito en el estudio de Wang y colaboradores (181), en el que no se observaron diferencias en los niveles de calprotectina entre los diferentes grupos de edad. En dicho estudio, sin embargo, no se detalla qué grupos de edad se establecieron. A la hora de analizar los datos, la consideración de rangos de edad en ese estudio en lugar de la edad como una variable cuantitativa continua como fue el caso del presente trabajo, puede haber influido en las diferencias encontradas en los resultados de ambos estudios al respecto de la influencia de la edad sobre los niveles de calprotectina. Además, en el presente estudio se realizó un análisis multivariante para estimar el efecto de las distintas variables consideradas de forma simultánea sobre los niveles de calprotectina, controlando los posibles factores de confusión, mientras que en el estudio de Wang y colaboradores sólo

se llevó a cabo un análisis bivariante, tal y como se detalla en el apartado de metodología de dicho trabajo.

Mencionar por último que el grado de correlación entre los valores de calprotectina y la edad encontrado en este trabajo fue bajo, con una tendencia a la significación estadística. Este bajo grado de correlación puede deberse a la influencia de otras variables como la localización anatómica sobre los niveles de calprotectina. El efecto de estas otras variables se vio corregido al realizar el análisis multivariante en el que, tal y como se ha comentado al principio de este apartado, sí se observó la influencia de la edad sobre los niveles de calprotectina de forma significativa.

#### **8.5. INFLUENCIA DE LA LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LA UVEÍTIS EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.**

En el presente estudio, se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de calprotectina plasmática en función de la localización de la uveítis, siendo las uveítis posteriores y las anteriores las que mayores niveles mostraron. Este resultado contrasta en parte con lo descrito en el estudio de Wang y colaboradores (181), único estudio en el que se han evaluado estas diferencias previamente a la publicación derivada de nuestro trabajo. En este estudio los pacientes con uveítis posterior y panuveítis mostraron niveles más elevados de calprotectina que los pacientes con uveítis anterior y uveítis intermedia.

Las diferencias entre ambos estudios en cuanto a la influencia de la localización anatómica sobre los niveles de calprotectina plasmática puede deberse, en parte, al método de análisis estadístico. Tal y como se ha mencionado en el apartado anterior, en el presente estudio se realizó un análisis multivariante para estimar el efecto de las

distintas variables consideradas de forma simultánea sobre los niveles de calprotectina, controlando los posibles factores de confusión, mientras que en el estudio de Wang y colaboradores sólo se llevó a cabo un análisis bivariante, según lo descrito en el apartado de metodología de ese trabajo.

#### **8.6. INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD SISTÉMICA EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.**

En este trabajo, los pacientes con enfermedad sistémica asociada que presentaban actividad al margen de la uveítis tenían niveles de calprotectina significativamente más elevados que aquellos que no presentaban actividad sistémica.

La elevación de los niveles de calprotectina en las enfermedades inflamatorias sistémicas relacionadas con la uveítis ha sido observada en diferentes estudios, tal y como se ha comentado en la introducción (116,125,156). Hay que resaltar que en el presente estudio se incluyeron pacientes con diferentes enfermedades inflamatorias sistémicas asociadas a la uveítis, tanto espondiloartritis como sarcoidosis, enfermedad de Behçet, psoriasis o enfermedad de Crohn. Si bien es cierto que la base inmunológica de estas enfermedades es distinta, en todas ellas se ha descrito una elevación de niveles de calprotectina (132,133,142,159–161,190,191), aunque no en todas las publicaciones se ha encontrado o se ha explorado la correspondencia con la actividad de la enfermedad.

En el estudio de Olsen y colaboradores (177), 6 pacientes con uveítis inactiva o bien en proceso de resolución presentaron niveles muy elevados de calprotectina, lo que los autores relacionaron con la actividad de las enfermedades inflamatorias que presentaban dichos pacientes al margen de la inflamación ocular: vasculitis renal en contexto de

enfermedad de Behçet, espondilitis anquilosante, sarcoidosis, endometriosis, cólico nefrítico. La influencia de la presencia de una enfermedad sistémica asociada a la uveítis también fue observada en el trabajo de Wang y colaboradores (181), en el que se encontraron niveles de calprotectina significativamente superiores en aquellos pacientes con espondilitis anquilosante frente a los de los pacientes que no tenían esta enfermedad. Sin embargo, en dicho estudio no se detalla si los pacientes con espondilitis anquilosante presentaban actividad de la enfermedad a nivel articular o no. En el estudio de Walscheid y colaboradores, por contra, los niveles de calprotectina sérica de los pacientes con uveítis activa asociada a AIJ no difirieron en función de que presentasen actividad de la artritis o no y, además, en pacientes con actividad exclusivamente a nivel articular no se encontraron diferencias con el grupo control. Estos últimos datos contrastan con publicaciones previas en las que se ha descrito que las concentraciones de calprotectina sérica muestran una buena correlación con la actividad de la AIJ, tanto con los índices articulares como con otros marcadores serológicos, observándose diferencias significativas entre pacientes activos e inactivos y entre pacientes activos y controles (170,171).

En resumen, la mayoría de los datos expuestos, estarían en consonancia con el hallazgo del presente estudio en cuanto a la influencia positiva de la actividad de la enfermedad sistémica asociada a las uveítis en los niveles de calprotectina plasmática.

### **8.7. EFECTO DEL TRATAMIENTO INMUNOMODULADOR EN LOS NIVELES DE CALPROTECTINA.**

En este estudio el hecho de que los pacientes estuviesen bajo tratamiento con corticosteroides, tanto tópicos como sistémicos, en el momento de la determinación de la

calprotectina basal, no influyó en los niveles de calprotectina. No se han encontrado trabajos previos que evalúen esta posible relación. Únicamente en el mencionado estudio de Walscheid y colaboradores (178) se habla de la influencia del tratamiento inmunomodulador sistémico sobre los niveles de calprotectina, como se comenta más adelante, pero no se detalla qué fármacos se incluyen.

Teniendo en cuenta patologías distintas a la uveítis, cabe comentar que el efecto de los corticosteroides en los niveles de calprotectina ha sido motivo de controversia. En un estudio en pacientes con polimialgia reumática y/o arteritis de la temporal en el que se evaluó la relación entre calprotectina plasmática y actividad de la enfermedad, se observó que el uso de corticosteroides sistémicos redujo las concentraciones de calprotectina (192). En otro estudio llevado a cabo en pacientes con espondilitis anquilosante, tras la administración de corticosteroides se objetivó un incremento en los niveles de esta proteína sumado al incremento en el recuento de leucocitos (193).

En cuanto al tratamiento con inmnomoduladores sistémicos ahorradores de corticosteroides, en el análisis bivalente realizado en el presente trabajo, se observaron diferencias significativas en los niveles de calprotectina, de modo que los pacientes tratados con este tipo de tratamientos en el momento de la determinación de la calprotectina basal, presentaban niveles más bajos. Esto podría estar indicando, tal y como se ha observado en estudios previos (158,165), que la calprotectina puede ser un marcador de respuesta al tratamiento inmunomodulador sistémico. Cabe tener en cuenta que este análisis está basado en un bajo tamaño muestral, con sólo 4 pacientes bajo tratamiento inmunomodulador sistémico ahorrador de corticosteroides en el momento de la determinación de niveles de calprotectina basal, motivo por el que este variable no fue incluida en el modelo multivariante. La diferencia encontrada en nuestro trabajo no fue

observada en el estudio de Walscheid y colaboradores (178), en el que no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de calprotectina sérica entre aquellos pacientes que estaban siendo tratados con inmunomoduladores sistémicos y aquellos que no recibían este tipo de tratamientos. En el trabajo de Olson y colaboradores (177) se detalla que los pacientes incluidos en el estudio fueron tratados con combinaciones variables de corticoides tópicos y/o sistémicos, así como ciclosporina o azatioprina, pero no se comenta la influencia de este tipo de tratamientos sobre los niveles de calprotectina.

En resumen, podemos decir que la evaluación de la influencia del tratamiento inmunomodulador sobre los niveles de calprotectina en pacientes con uveítis ha sido poco explorado hasta la fecha. En nuestro estudio se ha podido determinar la ausencia de influencia del tratamiento con corticosteroides, tanto tópicos como sistémicos, sobre los niveles de calprotectina plasmática de pacientes con NIU, pero los resultados en cuanto a la influencia del tratamiento inmunomodulador sistémico ahorrador de corticosteroides sobre dichos niveles no es concluyente debido al bajo tamaño muestral del estudio.





## **9. LIMITACIONES.**

**9. LIMITACIONES.**

- Tal y como se ha comentado en la descripción de la metodología del estudio, la evaluación de la presencia de actividad al margen de la uveítis en aquellos pacientes con enfermedades sistémicas asociadas se realizó mediante la revisión de la historia clínica. A pesar de que en base a los detalles de la historia se pudo determinar de forma clara si los pacientes presentaban o no dicha actividad, el hecho de no haber predefinido en el protocolo del estudio criterios para evaluar la actividad constituye una limitación importante a tener en cuenta.
- Debido a que el estudio se realizó en condiciones de práctica clínica habitual, la evaluación clínica oftalmológica de los pacientes fue llevada a cabo por varios oftalmólogos, todos adscritos al Servicio de Oftalmología del Hospital Universitari Doctor Peset. Este hecho, tal y como se ha comentado en la discusión, puede haber supuesto cierta variabilidad en la evaluación del grado de actividad de la uveítis anterior (celularidad en cámara anterior), lo que puede haber influido en los resultados del análisis de la correlación entre los niveles de calprotectina plasmática y el grado de celularidad en cámara anterior.
- El bajo tamaño muestral del estudio prospectivo (Estudio 2) constituye igualmente una limitación de este estudio. Las publicaciones respecto del papel de la calprotectina circulante en la uveítis son escasas, y sólo dos de ellas incluyen un análisis prospectivo con un tamaño muestral igualmente bajo (34, 36).
- Igualmente, el tamaño del grupo control del estudio transversal (Estudio 1) es inferior al del grupo de pacientes. No obstante, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en cuanto a edad y sexo entre ambos grupos.

- La heterogenicidad constituye un problema común en la investigación en el campo de la inflamación ocular. En el presente estudio se decidió excluir las

#### **LIMITACIONES.**

uveítis infecciosas con el objetivo de obtener una muestra de alguna manera más homogénea. Sin embargo, se consideraron diferentes diagnósticos y localizaciones de las uveítis, lo que supone que la muestra está sujeta a un considerable grado de heterogenicidad. Debido a la baja incidencia de la uveítis, se consideró incluir toda NIU y subanalizar, en la medida de lo posible, en base a diagnóstico, localización y relación con enfermedad inflamatoria sistémica de la uveítis.

## **10. CONCLUSIONES.**



**10. CONCLUSIONES.**

- Las concentraciones de calprotectina plasmática son significativamente superiores en pacientes con NIU que en personas sin esta patología. En nuestro estudio esta diferencia se ha observado tanto en los pacientes con uveítis activa como en los pacientes con uveítis inactiva.
- Las concentraciones de calprotectina plasmática de los pacientes con NIU se ven influenciadas por la edad y la localización anatómica de la uveítis, encontrándose niveles más elevados en los pacientes más jóvenes y en las uveítis anteriores y posteriores.
- En los pacientes con enfermedad sistémica asociada a la NIU que presentan actividad al margen de la uveítis, los niveles de calprotectina plasmática han resultado ser significativamente mayores que aquellos cuya enfermedad sistémica permanece inactiva.
- No se ha encontrado influencia del uso de corticosteroides tópicos ni sistémicos en el momento de la determinación analítica sobre las concentraciones de calprotectina plasmática.
- No se ha detectado correlación entre los títulos de calprotectina plasmática y el grado de celularidad en cámara anterior en las uveítis anteriores.
- No se han encontrado diferencias significativas en los niveles de calprotectina plasmática entre uveítis activa e inactiva. Por tanto, teniendo en cuenta nuestra muestra, la calprotectina plasmática no ha demostrado ser un buen marcador de actividad inflamatoria.



## **11. BIBLIOGRAFÍA.**





**BIBLIOGRAFÍA.**

1. Martínez-Berriotxo A, Fonollosa A, Artaraz J. Aproximación diagnóstica a las uveítis. *Rev Clínica Esp.* 2012 Oct;212(9):442–52.
2. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT, Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005 Sep;140(3):509–16.
3. Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, Tounakaki O, Brazitikou I, Kalogeropoulos C, et al. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018 Jan 2;26(1):2–16.
4. Dandona L. Population based assessment of uveitis in an urban population in southern India. *Br J Ophthalmol.* 2000 Jul 1;84(7):706–9.
5. Gritz D. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California The Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology.* 2004 Mar;111(3):491–500.
6. Van Tran T, Auer C, Guex-Crosier Y, Pittet N, Herbort CP. Epidemiological characteristics of uveitis in Switzerland. *Int Ophthalmol.* 1994 Sep;18(5):293–8.
7. Päivönsalo-Hietanen T, Tuominen J, Vaahtoranta-Lehtonen H, Saari KM. Incidence and prevalence of different uveitis entities in Finland. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997 Feb;75(1):76–81.
8. García-Aparicio Á, García de Yébenes MJ, Otón T, Muñoz-Fernández S. Prevalence and Incidence of Uveitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmic Epidemiol.* 2021 Feb 8;1–8.
9. García-Aparicio A, Alonso Martín L, López Lancho R, Quirós Zamorano R, Del Olmo Perez L, Sánchez Fernández S, et al. Epidemiology of Uveitis in a Spanish Region: Prevalence and Etiology. *Ophthalmic Epidemiol.* 2020 Sep 7;1–10.

10. Adán-Civera AM, Benítez-del-Castillo JM, Blanco-Alonso R, Pato-Cour E, SellasFernández A, Bañares-Cañizares A. Carga y costes directos de la uveítis no infecciosa en España. *Reumatol Clínica*. 2016 Jul;12(4):196–200.
11. de Smet MD, Taylor SRJ, Bodaghi B, Miserocchi E, Murray PI, Pleyer U, et al. Understanding uveitis: The impact of research on visual outcomes. *Prog Retin Eye Res*. 2011 Nov;30(6):452–70.
12. Fabiani C, Vitale A, Orlando I, Capozzoli M, Fusco F, Rana F, et al. Impact of Uveitis on Quality of Life: A Prospective Study from a Tertiary Referral Rheumatology-Ophthalmology Collaborative Uveitis Center in Italy. *Isr Med Assoc J IMAJ*. 2017 Aug;19(8):478–83.
13. Miserocchi E, Modorati G, Mosconi P, Colucci A, Bandello F. Quality of Life in Patients with Uveitis on Chronic Systemic Immunosuppressive Treatment. *Ocul Immunol Inflamm*. 2010 Aug;18(4):297–304.
14. Prem Senthil M, Lim L, Braithwaite T, Denniston A, Fenwick EK, Lamoureux E, et al. The Impact of Adult Uveitis on Quality of Life: An Exploratory Study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2020 Dec 20;1–9.
15. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006 Feb 24;124(4):783–801.
16. Kronenberg M, Rudensky A. Regulation of immunity by self-reactive T cells. *Nature*. 2005 Jun 2;435(7042):598–604.
17. Balamurugan S, Das D, Hasanreisoglu M, Toy BC, Akhter M, Anuradha VK, et al. Interleukins and cytokine biomarkers in uveitis. *Indian J Ophthalmol*. 2020 Sep;68(9):1750–63.
18. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, Green DR, Ferguson TA. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science*. 1995 Nov 17;270(5239):1189–92.
19. Streilein JW. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. *J Leukoc Biol*. 2003 Aug;74(2):179–85.

20. Lee RWJ, Dick AD. Current concepts and future directions in the pathogenesis and treatment of non-infectious intraocular inflammation. *Eye Lond Engl*. 2012 Jan;26(1):17–28.
21. Nanke Y, Kotake S, Goto M, Ujihara H, Matsubara M, Kamatani N. Decreased percentages of regulatory T cells in peripheral blood of patients with Behcet's disease before ocular attack: a possible predictive marker of ocular attack. *Mod Rheumatol*. 2008;18(4):354–8.
22. Chen L, Yang P, Zhou H, He H, Ren X, Chi W, et al. Diminished frequency and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory T cells associated with active uveitis in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Aug;49(8):3475–82.
23. Dick AD, Carter D, Robertson M, Broderick C, Hughes E, Forrester JV, et al. Control of myeloid activity during retinal inflammation. *J Leukoc Biol*. 2003 Aug;74(2):161–6.
24. Forrester JV, Xu H, Kuffová L, Dick AD, McMenamin PG. Dendritic cell physiology and function in the eye. *Immunol Rev*. 2010 Mar;234(1):282–304.
25. Herbort CP, Okumura A, Mochizuki M. Endotoxin-induced uveitis in the rat: A study of the role of inflammation mediators. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1988 Nov;226(6):553–8.
26. Chen P, Tucker W, Hannes S, Liu B, Si H, Gupta A, et al. Levels of Blood CD1c<sup>+</sup>mDC1 and CD1chi mDC1 Subpopulation Reflect Disease Activity in Noninfectious Uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Jan 13;56(1):346–52.
27. Mérida S, Palacios E, Navea A, Bosch-Morell F. Macrophages and Uveitis in Experimental Animal Models. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:671417.
28. Valls Pascual E, Fontanilla Ortega P, Vicens Bernabeu E, Martínez-Costa L, Blanco Alonso R. Características clínicas, tratamiento y complicaciones oculares de uveítis anterior asociada y no asociada a HLA-B27. *Reumatol Clínica*. 2016 Sep;12(5):244–7.

29. Vegas-Revenga N, Calvo-Río V, Mesquida M, Adán A, Hernández MV, Beltrán E, et al. Anti-IL6-Receptor Tocilizumab in Refractory and Noninfectious Uveitic Cystoid Macular Edema: Multicenter Study of 25 Patients. *Am J Ophthalmol*. 2019 Apr;200:85–94.
30. Atienza-Mateo B, Calvo-Río V, Beltrán E, Martínez-Costa L, Valls-Pascual E, Hernández-Garfella M, et al. Anti-interleukin 6 receptor tocilizumab in refractory uveitis associated with Behçet's disease: multicentre retrospective study. *Rheumatology*. 2018 May 1;57(5):856–64.
31. Atienza-Mateo B, Martín-Varillas JL, Calvo-Río V, Demetrio-Pablo R, Beltrán E, Sánchez-Bursón J, et al. Comparative Study of Infliximab Versus Adalimumab in Refractory Uveitis due to Behçet's Disease: National Multicenter Study of 177 Cases. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Dec;71(12):2081–9.
32. Martín-Varillas JL, Atienza-Mateo B, Calvo-Río V, Beltrán E, Sánchez-Bursón J, Adán A, et al. Long Term Follow-up and Optimization of Infliximab in Refractory Uveitis Due to Behçet's Disease. National Study of 103 Caucasian Patients. *J Rheumatol*. 2020 Oct 1;jrheum.200300.
33. Llorenç V, Cordero-Coma M, Blanco-Esteban A, Heras-Mulero H, LosadaCastillo M-J, Jovani-Casano V, et al. Drug Retention Rate and Causes of Discontinuation of Adalimumab in Uveitis. *Ophthalmology*. 2020 Jun;127(6):814–25.
34. Santos-Gómez M, Calvo-Río V, Blanco R, Beltrán E, Mesquida M, Adán A, et al. The effect of biologic therapy different from infliximab or adalimumab in patients with refractory uveitis due to Behçet's disease: results of a multicentre open-label study. *Clin Exp Rheumatol*. 2016 Oct;34(6 Suppl 102):S34–40.
35. Calvo-Río V, Blanco R, Beltrán E, Sánchez-Bursón J, Mesquida M, Adán A, et al. Anti-TNF- $\alpha$  therapy in patients with refractory uveitis due to Behçet's disease: a 1-year follow-up study of 124 patients. *Rheumatol Oxf Engl*. 2014 Dec;53(12):2223–31.

36. Martín-Varillas JL, Calvo-Río V, Beltrán E, Sánchez-Bursón J, Mesquida M, Adán A, et al. Successful Optimization of Adalimumab Therapy in Refractory Uveitis Due to Behçet's Disease. *Ophthalmology*. 2018 Sep;125(9):1444–51.
37. Moll-Udina A, Miguel Escuder L, Hernanz I, Llorenç V, Fonollosa A, Cordero Coma M, et al. Adalimumab in Elderly Patients with Non-Infectious Uveitis. Safety and Efficacy. *Ocul Immunol Inflamm*. 2020 Jul 13;1–8.
38. Prieto-Peña D, Calderón-Goercke M, Adán A, Chamorro-López L, Maíz-Alonso O, De Dios-Jiménez Aberásturi JR, et al. Efficacy and safety of certolizumab pegol in pregnant women with uveitis. Recommendations on the management with immunosuppressive and biologic therapies in uveitis during pregnancy. *Clin Exp Rheumatol*. 2020 Oct 9;
39. Palmou-Fontana N, Calvo-Río V, Martín-Varillas JL, Fernández-Díaz C, Mesquida M, Adán A, et al. Golimumab in refractory uveitis associated to juvenile idiopathic arthritis: multicentre study of 7 cases and literature review. *Clin Exp Rheumatol*. 2018 Aug;36(4):652–7.
40. Bou R, Adán A, Borrás F, Bravo B, Calvo I, De Inocencio J, et al. Clinical management algorithm of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis: interdisciplinary panel consensus. *Rheumatol Int*. 2015 May;35(5):777–85.
41. Calvo-Río V, Santos-Gómez M, Calvo I, González-Fernández MI, LópezMontesinos B, Mesquida M, et al. Anti-Interleukin-6 Receptor Tocilizumab for Severe Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis Refractory to Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy: A Multicenter Study of Twenty-Five Patients. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2017 Mar;69(3):668–75.
42. Riancho-Zarrabeitia L, Calvo-Río V, Blanco R, Mesquida M, Adan AM, Herreras JM, et al. Anti-TNF- $\alpha$  therapy in refractory uveitis associated with sarcoidosis: Multicenter study of 17 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 2015 Dec;45(3):361–8.
43. Cordero-Coma M, Calvo-Río V, Adán A, Blanco R, Álvarez-Castro C, Mesquida M, et al. Golimumab as rescue therapy for refractory immune-mediated uveitis: a three-center experience. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:717598.

44. Llorenç V, Mesquida M, Sainz de la Maza M, Blanco R, Calvo V, Maíz O, et al. Certolizumab Pegol, a New Anti-TNF- $\alpha$  in the Armamentarium against Ocular Inflammation. *Ocul Immunol Inflamm.* 2016;24(2):167–72.
45. Sainz-de-la-Maza M, Adan A, Ruiz I, Beltran E, Yago I, Jimenez R, et al. Estándares de calidad para las Unidades de Atención Integral al paciente con uveítis de la Sociedad Española de Inflamación Ocular (SEIOC). *Med Clínica.* 2021 Jan;156(2):76–80.
46. Cruyssen BV, Ribbens C, Boonen A, Mielants H, de Vlam K, Lenaerts J, et al. The epidemiology of ankylosing spondylitis and the commencement of anti-TNF therapy in daily rheumatology practice. *Ann Rheum Dis.* 2007 Jan 12;66(8):1072–7.
47. Benítez del Castillo J.M., Díaz-Valle D., Pato E., López Abad C., Alejandre N. Enfermedades articulares y uveítis. *An Sis San Navar.* 2008;31:83–95.
48. Kural-Seyahi E, Fresko I, Seyahi N, Ozyazgan Y, Mat C, Hamuryudan V, et al. The Long-Term Mortality and Morbidity of Behçet Syndrome: A 2-Decade Outcome Survey of 387 Patients Followed at a Dedicated Center. *Medicine (Baltimore).* 2003 Jan;82(1):60–76.
49. Gul A. Lack of association of HLA-B\*51 with a severe disease course in Behçet's disease. *Rheumatology.* 2001 Jun 1;40(6):668–72.
50. Çakar Özdal P. Behçet's Uveitis: Current Diagnostic and Therapeutic Approach. *Turk J Ophthalmol.* 2020 Jun 27;50(3):169–82.
51. Tugal-Tutkun I, Ozdal PC, Oray M, Onal S. Review for Diagnostics of the Year: Multimodal Imaging in Behçet Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017 Feb;25(1):7–19.
52. Atmaca LS, Atmaca-Sönmez P, Idil A, Kumbasar OO, Celik G. Ocular involvement in sarcoidosis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2009 Apr;17(2):91–4.

53. Judson MA, Boan AD, Lackland DT. The clinical course of sarcoidosis: presentation, diagnosis, and treatment in a large white and black cohort in the United States. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis Off J WASOG*. 2012 Oct;29(2):119–27.
54. Jabs DA, Johns CJ. Ocular involvement in chronic sarcoidosis. *Am J Ophthalmol*. 1986 Sep 15;102(3):297–301.
55. Ohara K, Okubo A, Sasaki H, Kamata K. Intraocular manifestations of systemic sarcoidosis. *Jpn J Ophthalmol*. 1992;36(4):452–7.
56. Heiligenhaus A, Wefelmeyer D, Wefelmeyer E, Rösel M, Schrenk M. The eye as a common site for the early clinical manifestation of sarcoidosis. *Ophthalmic Res*. 2011;46(1):9–12.
57. Rothova A, Alberts C, Glasius E, Kijlstra A, Buitenhuis HJ, Breebaart AC. Risk factors for ocular sarcoidosis. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. 1989 Aug;72(3–4):287–96.
58. Herbort CP, Rao NA, Mochizuki M, the members of the Scientific Commi. International Criteria for the Diagnosis of Ocular Sarcoidosis: Results of the First International Workshop on Ocular Sarcoidosis (IWOS). *Ocul Immunol Inflamm*. 2009 Jan;17(3):160–9.
59. Mochizuki M, Smith JR, Takase H, Kaburaki T, Acharya NR, Rao NA. Revised criteria of International Workshop on Ocular Sarcoidosis (IWOS) for the diagnosis of ocular sarcoidosis. *Br J Ophthalmol*. 2019 Oct;103(10):1418–22.
60. Rodriguez A, Calonge M, Pedroza-Seres M, Akova YA, Messmer EM, D'Amico DJ, et al. Referral patterns of uveitis in a tertiary eye care center. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1996 May;114(5):593–9.
61. Gallagher K, Viswanathan A, Okhravi N. Association of systemic lupus erythematosus with uveitis. *JAMA Ophthalmol*. 2015 Oct;133(10):1190–3.
62. Pivetti-Pezzi P. Uveitis in children. *Eur J Ophthalmol*. 1996 Sep;6(3):293–8.



63. Edelsten C, Reddy MA, Stanford MR, Graham EM. Visual loss associated with pediatric uveitis in english primary and referral centers. *Am J Ophthalmol.* 2003 May;135(5):676–80.
64. BenEzra D. Uveitis in children and adolescents. *Br J Ophthalmol.* 2005 Apr 1;89(4):444–8.
65. Tugal-Tutkun I, Havrlikova K, Power WJ, Foster CS. Changing Patterns in Uveitis of Childhood. *Ophthalmology.* 1996 Mar;103(3):375–83.
66. Smith JA, Mackensen F, Sen HN, Leigh JF, Watkins AS, Pyatetsky D, et al. Epidemiology and Course of Disease in Childhood Uveitis. *Ophthalmology.* 2009 Aug;116(8):1544-1551.e1.
67. Tugal-Tutkun I. Pediatric uveitis. *J Ophthalmic Vis Res.* 2011 Oct;6(4):259–69.
68. García-Consuegra Molina J, Tapia Moreno R, Abelairas Gómez J, Peralta Calvo J, Merino Muñoz R. Uveítis y artritis idiopática juvenil. *An Pediatría.* 2001;54(3):255–9.
69. Petty RE, Smith JR, Rosenbaum JT. Arthritis and uveitis in children. *Am J Ophthalmol.* 2003 Jun;135(6):879–84.
70. Milman N, Byg K-E. [Blau syndrome--a chronic granulomatous, genetic disease]. *Ugeskr Laeger.* 2006 Oct 16;168(42):3612–4.
71. Caso F, Costa L, Rigante D, Vitale A, Cimaz R, Lucherini OM, et al. Caveats and truths in genetic, clinical, autoimmune and autoinflammatory issues in Blau syndrome and early onset sarcoidosis. *Autoimmun Rev.* 2014 Dec;13(12):1220–9.
72. Latkany PA, Jabs DA, Smith JR, Rosenbaum JT, Tessler H, Schwab IR, et al. Multifocal choroiditis in patients with familial juvenile systemic granulomatosis. *Am J Ophthalmol.* 2002 Dec;134(6):897–904.
73. Sarens IL, Casteels I, Anton J, Bader-Meunier B, Brissaud P, Chédeville G, et al. Blau Syndrome-Associated Uveitis: Preliminary Results From an International Prospective Interventional Case Series. *Am J Ophthalmol.* 2018 Mar;187:158–66.

74. Aróstegui JI, Arnal C, Merino R, Modesto C, Antonia Carballo M, Moreno P, et al. NOD2 gene-associated pediatric granulomatous arthritis: clinical diversity, novel and recurrent mutations, and evidence of clinical improvement with interleukin-1 blockade in a Spanish cohort. *Arthritis Rheum.* 2007 Nov;56(11):3805–13.
75. Pato E, Martin-Martinez MA, Castelló A, Méndez-Fernandez R, MuñozFernández S, Cordero-Coma M, et al. Development of an activity disease score in patients with uveitis (UVEDAI). *Rheumatol Int.* 2017 Apr;37(4):647–56.
76. Sánchez-Bilbao L, Martínez-López D, Revenga M, López-Vázquez Á, VallsPascual E, Atienza-Mateo B, et al. Anti-IL-6 Receptor Tocilizumab in Refractory Graves' Orbitopathy: National Multicenter Observational Study of 48 Patients. *J Clin Med.* 2020 Aug 31;9(9).
77. Dominguez-Casas LC, Sánchez-Bilbao L, Calvo-Río V, Maíz O, Blanco A, Beltrán E, et al. Biologic therapy in severe and refractory peripheral ulcerative keratitis (PUK). Multicenter study of 34 patients. *Semin Arthritis Rheum.* 2020 Aug;50(4):608–15.
78. Kempen JH, Ganesh SK, Sangwan VS, Rathinam SR. Interobserver Agreement in Grading Activity and Site of Inflammation in Eyes of Patients with Uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2008 Dec;146(6):813-818.e1.
79. Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology.* 1985 Apr;92(4):467–71.
80. Holland GN, Eydelman MB, Cunningham B, Chambers WA. Food and Drug Administration Procedures for New Drug and Device Approvals. *Am J Ophthalmol.* 2016 Jan;161:1–3.
81. Denniston AK, Keane PA, Srivastava SK. Biomarkers and Surrogate Endpoints in Uveitis: The Impact of Quantitative Imaging. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2017 Jun 23;58(6):BIO131.

82. Rothova A, Suttorp-van Schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. *Br J Ophthalmol*. 1996 Apr;80(4):332–6.
83. Bernasconi O, Papadia M, Herbort CP. Sensitivity of laser flare photometry compared to slit-lamp cell evaluation in monitoring anterior chamber inflammation in uveitis. *Int Ophthalmol*. 2010 Oct;30(5):495–500.
84. Tugal-Tutkun I, Herbort CP. Laser flare photometry: a noninvasive, objective, and quantitative method to measure intraocular inflammation. *Int Ophthalmol*. 2010 Oct;30(5):453–64.
85. Tugal-Tutkun I, Yalçındağ FN, Herbort CP. Laser flare photometry and its use in uveitis. *Expert Rev Ophthalmol*. 2012 Oct;7(5):449–57.
86. Ladas JG, Wheeler NC, Morhun PJ, Rimmer SO, Holland GN. Laser flare-cell photometry: methodology and clinical applications. *Surv Ophthalmol*. 2005 Feb;50(1):27–47.
87. Kempen JH, Altaweel MM, Holbrook JT, Jabs DA, Louis TA, Sugar EA, et al. Randomized Comparison of Systemic Anti-inflammatory Therapy Versus Fluocinolone Acetonide Implant for Intermediate, Posterior, and Panuveitis: The Multicenter Uveitis Steroid Treatment Trial. *Ophthalmology*. 2011 Oct;118(10):1916–26.
88. Bélair M-L, Kim SJ, Thorne JE, Dunn JP, Kedhar SR, Brown DM, et al. Incidence of Cystoid Macular Edema after Cataract Surgery in Patients with and without Uveitis Using Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol*. 2009 Jul;148(1):128-135.e2.
89. Lowder C, Belfort R, Lightman S, Foster CS, Robinson MR, Schiffman RM, et al. Dexamethasone intravitreal implant for noninfectious intermediate or posterior uveitis. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2011 May;129(5):545–53.
90. Sugar EA, Jabs DA, Altaweel MM, Lightman S, Acharya N, Vitale AT, et al. Identifying a clinically meaningful threshold for change in uveitic macular edema

- evaluated by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol.* 2011 Dec;152(6):1044-1052.e5.
91. M.D NS. Treatment of Non-infectious Panuveitis, Intermediate and Posterior Uveitis Associated Macular Edema With Intravitreal Methotrexate [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2019 Mar [cited 2021 May 27]. Report No.: NCT01314417. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01314417>
92. Kiss CG, Barisani-Asenbauer T, Maca S, Richter-Mueksch S, Radner W. Reading performance of patients with uveitis-associated cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2006 Oct;142(4):620–4.
93. Pelosini L, Hull CC, Boyce JF, McHugh D, Stanford MR, Marshall J. Optical coherence tomography may be used to predict visual acuity in patients with macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Apr 25;52(5):2741–8.
94. Sharma S, Lowder CY, Vasanji A, Baynes K, Kaiser PK, Srivastava SK. Automated Analysis of Anterior Chamber Inflammation by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology.* 2015 Jul;122(7):1464–70.
95. Agarwal A, Ashokkumar D, Jacob S, Agarwal A, Saravanan Y. High-speed optical coherence tomography for imaging anterior chamber inflammatory reaction in uveitis: clinical correlation and grading. *Am J Ophthalmol.* 2009 Mar;147(3):413416.e3.
96. Li Y, Lowder C, Zhang X, Huang D. Anterior chamber cell grading by optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Jan 9;54(1):258–65.
97. Igbre AO, Rico MC, Garg SJ. High-speed optical coherence tomography as a reliable adjuvant tool to grade ocular anterior chamber inflammation. *Retina Phila Pa.* 2014 Mar;34(3):504–8.
98. Invernizzi A, Marchi S, Aldigeri R, Mastrofilippo V, Viscogliosi F, Soldani A, et al. Objective Quantification of Anterior Chamber Inflammation. *Ophthalmology.* 2017 Nov;124(11):1670–7.

99. Zarranz-Ventura J, Keane PA, Sim DA, Llorens V, Tufail A, Sadda SR, et al. Evaluation of Objective Vitritis Grading Method Using Optical Coherence Tomography: Influence of Phakic Status and Previous Vitrectomy. *Am J Ophthalmol*. 2016 Jan;161:172-180.e4.
100. Keane PA, Balaskas K, Sim DA, Aman K, Denniston AK, Aslam T, et al. Automated Analysis of Vitreous Inflammation Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Transl Vis Sci Technol*. 2015 Sep 16;4(5):4.
101. Keane PA, Karampelas M, Sim DA, Sadda SR, Tufail A, Sen HN, et al. Objective measurement of vitreous inflammation using optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2014 Sep;121(9):1706–14.
102. Agrawal R, Gupta P, Tan K-A, Cheung CMG, Wong T-Y, Cheng C-Y. Choroidal vascularity index as a measure of vascular status of the choroid: Measurements in healthy eyes from a population-based study. *Sci Rep*. 2016 Aug;6(1):21090.
103. Agrawal R, Salman M, Tan K-A, Karampelas M, Sim DA, Keane PA, et al. Choroidal Vascularity Index (CVI)--A Novel Optical Coherence Tomography Parameter for Monitoring Patients with Panuveitis? *PloS One*. 2016;11(1):e0146344.
104. Tugal-Tutkun I, Herbort CP, Khairallah M, Angiography Scoring for Uveitis Working Group (ASUWOG). Scoring of dual fluorescein and ICG inflammatory angiographic signs for the grading of posterior segment inflammation (dual fluorescein and ICG angiographic scoring system for uveitis). *Int Ophthalmol*. 2010 Oct;30(5):539–52.
105. Tugal-Tutkun I, Herbort CP, Khairallah M, Mantovani A. Interobserver Agreement in Scoring of Dual Fluorescein and ICG Inflammatory Angiographic Signs for the Grading of Posterior Segment Inflammation. *Ocul Immunol Inflamm*. 2010 Oct;18(5):385–9.
106. Kang HM, Lee SC. Long-term progression of retinal vasculitis in Behçet patients using a fluorescein angiography scoring system. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 2014

- Jun;252(6):1001–8.
107. Karampelas M, Sim DA, Chu C, Carreno E, Keane PA, Zarranz-Ventura J, et al. Quantitative analysis of peripheral vasculitis, ischemia, and vascular leakage in uveitis using ultra-widefield fluorescein angiography. *Am J Ophthalmol*. 2015 Jun;159(6):1161-1168.e1.
  108. Pecen PE, Petro KF, Baynes K, Ehlers JP, Lowder CY, Srivastava SK. Peripheral Findings and Retinal Vascular Leakage on Ultra-Widefield Fluorescein Angiography in Patients with Uveitis. *Ophthalmol Retina*. 2017 Oct;1(5):428–34.
  109. Llorenç V, Serrano AR, Mesquida M, Lin P, Esquinas C, Sainz-de-la-Maza M, et al. Swept-source optical coherence tomography objective composite activity score for uveitis. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2021 Jan 9;
  110. Groen-Hakan F, Eurelings L, van Laar J, Rothova A. Relevance of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in patients with active uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2019 Jan;257(1):175–80.
  111. Mesquida M, Molins B, Llorenç V, Sainz de la Maza M, Hernandez MV, Espinosa G, et al. Proinflammatory Cytokines and C-Reactive Protein in Uveitis Associated with Behçet’s Disease. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:1–8.
  112. Yang P, Foster CS. Interleukin 21, Interleukin 23, and Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 in HLA-A29-Associated Birdshot Retinochoroidopathy. *Am J Ophthalmol*. 2013 Aug;156(2):400-406.e2.
  113. Dorin JR, Novak M, Hill RE, Brock DJH, Secher DS, van Heyningen V. A clue to the basic defect in cystic fibrosis from cloning the CF antigen gene. *Nature*. 1987 Apr;326(6113):614–7.
  114. Andersson KB, Sletten K, Berntzen HB, Dale I, Brandtzaeg P, Jellum E, et al. The Leucocyte L1 Protein: Identity with the Cystic Fibrosis Antigen and the CalciumBinding MRP-8 and MRP-14 Macrophage Components. *Scand J Immunol*. 1988 Aug;28(2):241–5.

115. Brügger J, Tarcsay L, Cerletti N, Odink K, Rutishauser M, Holländer G, et al. The molecular nature of the cystic fibrosis antigen. *Nature*. 1988 Feb 18;331(6157):570.
116. Ometto F, Friso L, Astorri D, Botsios C, Raffener B, Punzi L, et al. Calprotectin in rheumatic diseases. *Exp Biol Med*. 2017 Apr;242(8):859–73.
117. Averill MM, Barnhart S, Becker L, Li X, Heinecke JW, Leboeuf RC, et al. S100A9 differentially modifies phenotypic states of neutrophils, macrophages, and dendritic cells: implications for atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Circulation*. 2011 Mar 22;123(11):1216–26.
118. Yen T, Harrison CA, Devery JM, Leong S, Iismaa SE, Yoshimura T, et al. Induction of the S100 chemotactic protein, CP-10, in murine microvascular endothelial cells by proinflammatory stimuli. *Blood*. 1997 Dec 15;90(12):4812–21.
119. Nukui T, Ehama R, Sakaguchi M, Sonogawa H, Katagiri C, Hibino T, et al. S100A8/A9, a key mediator for positive feedback growth stimulation of normal human keratinocytes. *J Cell Biochem*. 2008 May 15;104(2):453–64.
120. Fagerhol MK, Dale I, Anderson T. Release and Quantitation of a Leucocyte Derived Protein (L1). *Scand J Haematol*. 2009 Apr 24;24(5):393–8.
121. Odink K, Cerletti N, Brügger J, Clerc RG, Tarcsay L, Zwadlo G, et al. Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature*. 1987 Nov;330(6143):80–2.
122. Wilson GB, Jahn TL, Fonseca JR. Demonstration of serum protein differences in cystic fibrosis by isoelectric focusing in thin-layer polyacrylamide gels. *Clin Chim Acta*. 1973 Nov;49(1):79–91.
123. Steinbakk M, Naess-Andresen C-F, Fagerhol MK, Lingaas E, Dale I, Brandtzaeg P. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *The Lancet*. 1990 Sep;336(8718):763–5.

124. Teigelkamp S, Bhardwaj RS, Roth J, Meinardus-Hager G, Karas M, Sorg C. Calcium-dependent complex assembly of the myeloic differentiation proteins MRP-8 and MRP-14. *J Biol Chem.* 1991 Jul 15;266(20):13462–7.
125. Foell D, Roth J. Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease. *Arthritis Rheum.* 2004 Dec;50(12):3762–71.
126. Loomans HJ, Hahn BL, Li QQ, Phadnis SH, Sohnle PG. Histidine-based zincbinding sequences and the antimicrobial activity of calprotectin. *J Infect Dis.* 1998 Mar;177(3):812–4.
127. Vogl T, Tenbrock K, Ludwig S, Leukert N, Ehrhardt C, van Zoelen MAD, et al. Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat Med.* 2007 Sep;13(9):1042–9.
128. Sunahori K, Yamamura M, Yamana J, Takasugi K, Kawashima M, Yamamoto H, et al. The S100A8/A9 heterodimer amplifies proinflammatory cytokine production by macrophages via activation of nuclear factor kappa B and p38 mitogen-activated protein kinase in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(3):R69.
129. Sander J, Fagerhol MK, Bakken JS, Dale I. Plasma Levels of the Leucocyte L1 Protein in Febrile Conditions: Relation to Aetiology, Number of Leucocytes in Blood, Blood Sedimentation Reaction and C-Reactive Protein. *Scand J Clin Lab Invest.* 1984 Jan;44(4):357–62.
130. Abildtrup M, Kingsley GH, Scott DL. Calprotectin as a Biomarker for Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *J Rheumatol.* 2015 May;42(5):760–70.
131. Guo Q, Zha X, Li C, Jia Y, Zhu L, Guo J, et al. Serum calprotectin—a promising diagnostic marker for adult-onset Still’s disease. *Clin Rheumatol.* 2016 Jan;35(1):73–9.
132. Oktayoglu P, Mete N, Caglayan M, Bozkurt M, Bozan T, Em S, et al. Elevated serum levels of calprotectin (MRP8/MRP14) in patients with Behçet’s disease and its association with disease activity and quality of life. *Scand J Clin Lab Invest.* 2015 Feb 17;75(2):106–12.



133. Omma A, Sandikci SC, Colak S, Tecer D, Yucel C, Ozbalkan Z. Serum calprotectin and ischemia modified albumin levels as markers of disease activity in Behçet's disease. *Postepy Dermatol Alergol.* 2018 Dec;35(6):609–13.
134. Nordal H, Brun J, Halse A-K, Madland T, Fagerhol M, Jonsson R. Calprotectin (S100A8/A9), S100A12, and EDTA-resistant S100A12 complexes (ERAC) in primary Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol.* 2014 Jan;43(1):76–8.
135. Pepper RJ, Draibe JB, Caplin B, Fervenza FC, Hoffman GS, Kallenberg CGM, et al. Association of Serum Calprotectin (S100A8/A9) Level With Disease Relapse in Proteinase 3-Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis: S100A8/A9 AND RELAPSE IN PR3-ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Jan;69(1):185–93.
136. Aochi S, Tsuji K, Sakaguchi M, Huh N, Tsuda T, Yamanishi K, et al. Markedly elevated serum levels of calcium-binding S100A8/A9 proteins in psoriatic arthritis are due to activated monocytes/macrophages. *J Am Acad Dermatol.* 2011 May;64(5):879–87.
137. Frosch M, Ahlmann M, Vogl T, Wittkowski H, Wulffraat N, Foell D, et al. The myeloid-related proteins 8 and 14 complex, a novel ligand of toll-like receptor 4, and interleukin-1 $\beta$  form a positive feedback mechanism in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009 Mar;60(3):883–91.
138. Haga H-J, Brun JG, Berner Berntzen H, Cervera R, Khamashta M, Hughes GRV. Calprotectin in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: Relation to Clinical and Laboratory Parameters of Disease Activity. *Lupus.* 1993 Feb;2(1):47–50.
139. Hammer HB, Kvien TK, Glennås A, Melby K. A longitudinal study of calprotectin as an inflammatory marker in patients with reactive arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 1995 Feb;13(1):59–64.
140. Huang J, Yin Z, Song G, Cui S, Jiang J, Zhang L. Discriminating Value of Calprotectin in Disease Activity and Progression of Nonradiographic Axial Spondyloarthritis and Ankylosing Spondylitis. *Dis Markers.* 2017;2017:1–5.

141. Oktayoglu P, Bozkurt M, Mete N, Caglayan M, Em S, Nas K. Elevated Serum Levels of Calprotectin (Myeloid-Related Protein 8/14) in Patients With Ankylosing Spondylitis and Its Association With Disease Activity and Quality of Life: *J Investig Med*. 2014 Aug;62(6):880–4.
142. Terasaki F, Fujita M, Shimomura H, Tsukada B, Otsuka K, Otsuka K, et al. Enhanced expression of myeloid-related protein complex (MRP8/14) in macrophages and multinucleated giant cells in granulomas of patients with active cardiac sarcoidosis. *Circ J Off J Jpn Circ Soc*. 2007 Oct;71(10):1545–50.
143. Shabani F, Farasat A, Mahdavi M, Gheibi N. Calprotectin (S100A8/S100A9): a key protein between inflammation and cancer. *Inflamm Res*. 2018 Oct;67(10):801–12.
144. Gray RD, Imrie M, Boyd AC, Porteous D, Innes JA, Greening AP. Sputum and serum calprotectin are useful biomarkers during CF exacerbation. *J Cyst Fibros*. 2010 May;9(3):193–8.
145. Vogl T, Ludwig S, Goebeler M, Strey A, Thorey IS, Reichelt R, et al. MRP8 and MRP14 control microtubule reorganization during transendothelial migration of phagocytes. *Blood*. 2004 Dec 15;104(13):4260–8.
146. Johné B, Fagerhol MK, Lyberg T, Prydz H, Brandtzaeg P, Naess-Andresen CF, et al. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol*. 1997 Jun 1;50(3):113–23.
147. Brun JG, Jonsson R, Haga HJ. Measurement of plasma calprotectin as an indicator of arthritis and disease activity in patients with inflammatory rheumatic diseases. *J Rheumatol*. 1994 Apr;21(4):733–8.
148. van den Bos C, Roth J, Koch HG, Hartmann M, Sorg C. Phosphorylation of MRP14, an S100 protein expressed during monocytic differentiation, modulates Ca(2+)-dependent translocation from cytoplasm to membranes and cytoskeleton. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1996 Feb 1;156(3):1247–54.

149. Roth J, Burwinkel F, van den Bos C, Goebeler M, Vollmer E, Sorg C. MRP8 and MRP14, S-100-like proteins associated with myeloid differentiation, are translocated to plasma membrane and intermediate filaments in a calciumdependent manner. *Blood*. 1993 Sep 15;82(6):1875–83.
150. Fassl SK, Austermann J, Papantonopoulou O, Riemenschneider M, Xue J, Bertheloot D, et al. Transcriptome Assessment Reveals a Dominant Role for TLR4 in the Activation of Human Monocytes by the Alarmin MRP8. *J Immunol*. 2015 Jan 15;194(2):575–83.
151. Newton RA, Hogg N. The human S100 protein MRP-14 is a novel activator of the beta 2 integrin Mac-1 on neutrophils. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1998 Feb 1;160(3):1427–35.
152. Viemann D, Strey A, Janning A, Jurk K, Klimmek K, Vogl T, et al. Myeloidrelated proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. *Blood*. 2005 Apr 1;105(7):2955–62.
153. Boyapati RK, Rossi AG, Satsangi J, Ho G-T. Gut mucosal DAMPs in IBD: from mechanisms to therapeutic implications. *Mucosal Immunol*. 2016 May;9(3):567–82.
154. Loser K, Vogl T, Voskort M, Lueken A, Kupas V, Nacken W, et al. The Toll-like receptor 4 ligands Mrp8 and Mrp14 are crucial in the development of autoreactive CD8+ T cells. *Nat Med*. 2010 Jun;16(6):713–7.
155. Lin C, Wei TW, Tsai H, Wu Y, Wu P, Chen S. Glycosylation-dependent interaction between CD69 and S100A8/S100A9 complex is required for regulatory T-cell differentiation. *FASEB J*. 2015 Dec;29(12):5006–17.
156. Kopeć-Mędrek M, Widuchowska M, J. Kucharz E. Calprotectin in rheumatic diseases: a review. *Reumatologia/Rheumatology*. 2016;6:306–9.
157. Kruithof E, De Rycke L, Vandooren B, De Keyser F, FitzGerald O, McInnes I, et al. Identification of synovial biomarkers of response to experimental treatment in

- early-phase clinical trials in spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 Jun;54(6):1795–804.
158. De Rycke L, Baeten D, Foell D, Kruithof E, Veys EM, Roth J, et al. Differential expression and response to anti-TNFalpha treatment of infiltrating versus resident tissue macrophage subsets in autoimmune arthritis. *J Pathol.* 2005 May;206(1):17–27.
159. Kane D, Roth J, Frosch M, Vogl T, Bresnihan B, FitzGerald O. Increased perivascular synovial membrane expression of myeloid-related proteins in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 Jun;48(6):1676–85.
160. Oktayoglu P, Bozkurt M, Mete N, Caglayan M, Em S, Nas K. Elevated Serum Levels of Calprotectin (Myeloid-Related Protein 8/14) in Patients With Ankylosing Spondylitis and Its Association With Disease Activity and Quality of Life: *J Investig Med.* 2014 Aug;62(6):880–4.
161. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D. Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2014 Aug 19;16(4):413.
162. Duran A, Kobak S, Sen N, Aktakka S, Atabay T, Orman M. Fecal calprotectin is associated with disease activity in patients with ankylosing spondylitis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2016 Jan 1;16(1):71–4.
163. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M, Forsblad-d’Elia H. Calprotectin in ankylosing spondylitis – frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol.* 2012 Apr;47(4):435–44.
164. Hu H, Du F, Zhang S, Zhang W. Serum calprotectin correlates with risk and disease severity of ankylosing spondylitis and its change during first month might predict favorable response to treatment. *Mod Rheumatol.* 2019 Jan 3;1–7.
165. Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, Conrad K, Haibel H, Rudwaleit M, et al. Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014 Sep;73(9):1746–8.

166. Soyfoo MS, Roth J, Vogl T, Pochet R, Decaux G. Phagocyte-specific S100A8/A9 protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2009 Oct;36(10):2190–4.
167. Tantivitayakul P, Benjachat T, Somparn P, Leelahavanichkul A, Kittikovit V, Hirankarn N, et al. Elevated expressions of myeloid-related proteins-8 and -14 are danger biomarkers for lupus nephritis. *Lupus.* 2016 Jan;25(1):38–45.
168. Björk P, Björk A, Vogl T, Stenström M, Liberg D, Olsson A, et al. Identification of Human S100A9 as a Novel Target for Treatment of Autoimmune Disease via Binding to Quinoline-3-Carboxamides. Akira S, editor. *PLoS Biol.* 2009 Apr 28;7(4):e1000097.

- 169 Active Biotech AB. An Exploratory Study to Evaluate Changes in Disease Activity and Biomarkers During Treatment With ABR-215757 in Patients With Mild Active Systemic Lupus Erythematosus (SLE) [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2015 Jun [cited 2021 May 27]. Report No.: NCT00997100. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00997100>
170. Berntzen HB, Fagerhol MK, Ostensen M, Mowinckel P, Høyeraal HM. The L1 protein as a new indicator of inflammatory activity in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1991 Jan;18(1):133–8.
171. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderkötter C, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):628–37.
172. Frosch M, Vogl T, Seeliger S, Wulffraat N, Kuis W, Viemann D, et al. Expression of myeloid-related proteins 8 and 14 in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 Sep;48(9):2622–6.
173. Agrawal R, Barathi V, Iwata D, Bansal S. Experimental autoimmune uveitis and other animal models of uveitis: An update. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63(3):211.
174. Chi Z-L, Hayasaka Y, Zhang X-Y, Cui H-S, Hayasaka S. S100A9-positive granulocytes and monocytes in lipopolysaccharide-induced anterior ocular inflammation. *Exp Eye Res*. 2007 Feb;84(2):254–65.
175. Wang Y, Zhang Z, Zhang L, Li X, Lu R, Xu P, et al. S100A8 promotes migration and infiltration of inflammatory cells in acute anterior uveitis. *Sci Rep*. 2016 Dec;6(1):36140.
176. Yun J, Xiao T, Zhou L, Beuerman RW, Li J, Zhao Y, et al. Local S100A8 Levels Correlate With Recurrence of Experimental Autoimmune Uveitis and Promote Pathogenic T Cell Activity. *Investig Ophthalmology Vis Sci*. 2018 Mar 8;59(3):1332.

- 177 Olson JA, Forrester M, Clohessy PA, Golden BE, Herriot R, Forrester JV. Calprotectin is raised in endogenous posterior uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 1996 Jan;4(2):91–8.
178. Walscheid K, Heiligenhaus A, Holzinger D, Roth J, Heinz C, Tappeiner C, et al. Elevated S100A8/A9 and S100A12 Serum Levels Reflect Intraocular Inflammation in Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis: Results From a Pilot Study. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2015 Dec 1;56(13):7653.
179. Kasper M, Walscheid K, Laffer B, Bauer D, Busch M, Wildschütz L, et al. The Phenotype of Monocytes in Anterior Uveitis Depends on the HLA-B27 Status. *Front Immunol.* 2018 Jul 30;9:1773.
180. Song G, Huang J, Deng Y, Liang Z, Lin Y. The Expression of Calprotectin and Factors in TLR4/NF- $\kappa$ B/MyD88 Pathway in Patients with Idiopathic Acute Anterior Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2019 Oct 3;27(7):1144–8.
181. Wang Y-Q, Dai X-D, Ran Y, Cao Y, Lan C-L, Guan J-T, et al. Circulating S100A8/A9 Levels Reflect Intraocular Inflammation in Uveitis Patients. *Ocul Immunol Inflamm.* 2020;28(1):133–41.
182. FICHA TECNICA CICLOSPORINA CANTABRIA 100 mg CAPSULAS BLANDAS [Internet]. [cited 2021 May 30]. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/68499/FT\\_68499.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/68499/FT_68499.html)
183. FICHA TECNICA HUMIRA 40 MG SOLUCIÓN INYECTABLE EN PLUMA PRECARGADA [Internet]. [cited 2021 May 30]. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/103256017/FT\\_103256017.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/103256017/FT_103256017.html)
184. Pedersen L, Nybo M, Poulsen MK, Henriksen JE, Dahl J, Rasmussen LM. Plasma calprotectin and its association with cardiovascular disease manifestations, obesity and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus patients. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014 Dec;14(1):196.

185. Van Hoovels L, Vander Cruyssen B, Bogaert L, Van den Bremt S, Bossuyt X. Preanalytical and analytical confounders of serum calprotectin as a biomarker in rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med*. 2019 Dec 18;58(1):40–9.
186. Atmaca LS. Fundus changes associated with Behçet's disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1989;227(4):340–4.
187. Brun JG, Jonsson R, Haga HJ. Measurement of plasma calprotectin as an indicator of arthritis and disease activity in patients with inflammatory rheumatic diseases. *J Rheumatol*. 1994 Apr;21(4):733–8.
188. Castle SC. Clinical Relevance of Age-Related Immune Dysfunction. *Clin Infect Dis*. 2000 Aug 1;31(2):578–85.
189. De Maeyer RPH, Chambers ES. The impact of ageing on monocytes and macrophages. *Immunol Lett*. 2021 Feb;230:1–10.
190. Meuwis M-A, Vernier-Massouille G, Grimaud JC, Bouhnik Y, Laharie D, Piver E, et al. Serum calprotectin as a biomarker for Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2013 Dec;7(12):e678–83.
191. Qian M, Song N-J. Serum calprotectin correlates with risk and disease severity in psoriasis patients and the decrease of calprotectin predicts better response to tumor necrosis factor inhibitors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021 May;25(10):3642–3642.
192. Brun JG, Madland TM, Gran JT, Myklebust G. A longitudinal study of calprotectin in patients with polymyalgia rheumatica or temporal arteritis: relation to disease activity. *Scand J Rheumatol*. 2005 Apr;34(2):125–8.
193. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M, Forsblad-d'Elia H. Calprotectin in ankylosing spondylitis – frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Apr;47(4):435–44.



.