

Estudio comparativo con asignación aleatoria y evaluador ciego para determinar el efecto sobre las Moléculas de Adhesión Celular Vascular Solubles (sVCAM) del Interferón Beta 1a biogenérico de producción mexicana contra un Interferón Beta 1a de producción internacional en pacientes con Esclerosis Múltiple Remitente-Recurrente (EMRR)

Barroso-Rodríguez Noé Saúl,* Núñez-Orozco Lilia,* Santos-Caballero Noemí,* de la Maza Flores Manuel,** Pérez-Zuno José Alberto,*** Pérez-García Juan Carlos,**** Nader-Kawachi Juan,* Porras-Betancourt Manuel,* Uribe-Wiechers Cecilia,***** Revilla-Beltri Jorge,***** Molina-Pérez Aarón*****

RESUMEN

Introducción: Debido a que la esclerosis múltiple es una enfermedad autoinmune caracterizada por la presencia de áreas multifocales de desmielinización en el sistema nervioso central, el Interferón Beta 1a se ha perfilado como el tratamiento viable para este padecimiento, sobre todo del tipo remitente-recurrente. **Objetivo:** Comparar dos diferentes marcas de INF b 1a midiendo su efecto sobre la inducción de las sVCAM-1. **Material y métodos:** Se evaluó el efecto de dos diferentes marcas de Interferón Beta 1a (INF β 1a) sobre las Moléculas de Adhesión Celular Vascular solubles-1 (sVCAM-1, por sus siglas en inglés) en pacientes con Esclerosis Múltiple Remitente Recurrente (EMRR). Los pacientes fueron aleatorizados para recibir cualquiera de los Interferones β 1a (12 MUI, sc), producción internacional o producción mexicana, administrados en días alternos durante 12 semanas. Los niveles séricos de sVCAM-1 fueron determinados antes, durante y después del tratamiento. La calidad de vida también se evaluó antes y al final del estudio. **Resultados:** Los niveles de sVCAM-1 después del tratamiento se incrementaron en más de 60% en ambos grupos. Los eventos adversos fueron similares para ambos Interferones β 1a. **Conclusión:** El perfil de seguridad y el efecto sobre las sVCAM-1 fue semejante en ambos grupos; no se encontraron diferencias en relación a género, edad ni estatus basal y final. Este es el primer estudio mundial para comparar el efecto immunológico celular del INF β 1a internacional contra uno biogenérico.

Palabras clave: esclerosis múltiple, moléculas de adhesión celular vascular solubles (sVCAM), interferón beta 1a (INF β 1a), calidad de vida.

Comparative study with random assignment and blind assessor to determine the effect on the soluble Vascular Cell Adhesion Molecules (sVCAM-1) of the Interferon Beta 1a biogeneric of Mexican production against an Interferon Beta 1a of international production in patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (RRMS)

ABSTRACT

Introduction: Due to the fact that the multiple sclerosis is an autoimmune disease characterized by the presence of multifocal areas of demyelination in the nervous central system, the Interferon Beta 1a has been outlined as the viable treatment for this suffering, especially of the relapsing-remitting type. **Objective:** To compare two INF b 1a of different brands measuring their effect on the induction of them sVCAM-1. **Material and methods:** The effect of two different sources of Interferon Beta 1a (INF β 1a) on the soluble Vascular Cell Adhesion Molecules (sVCAM-1) in patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (RRMS) was compared. Patients were randomized to receive either, INF β 1a (12 MUI, sc) from a standard international source, or INF β 1a from a Mexican source (same dose), three times weekly during 12 weeks. Serum sVCAM-1 levels were measured before and several weeks after treatment. Quality of life was also assessed before and three months after treatment. **Results:** sVCAM-1 levels were increased after treatment more than 60% in both groups. Adverse events were similar for both INF β 1a brands. **Conclusion:** Safety profiles and effect on serum sVCAM-1 were similar for both groups; no differences were found regarding gender, age, baseline or final disease status. This is the first worldwide study to compare the cellular immunologic effect of the international INF β 1a versus a biogeneric.

Key words: Multiple Sclerosis (MS), soluble Vascular Cell Adhesion Molecules (sVCAM), Interferon Beta 1a (INF β 1a), quality of life.

INTRODUCCIÓN

* Hospital Médica Sur, México, D.F.
** Hospital San José, Monterrey, N.L.
*** Hospital Santa Engracia, Monterrey, N.L.
**** UPAEP, Puebla, Pue.
***** Probiomed S.A. de C.V.

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la presencia de áreas multifocales de desmielinización en el sistema nervioso central (SNC).¹ La unión de las células T y macrófagos a

las células endoteliales del SNC y la subsecuente migración a través de la barrera hematoencefálica es un paso esencial en el inicio de la inflamación cerebral.^{1,2}

Se ha documentado mundialmente la eficacia del Interferón Beta 1a (INF β 1a) para el tratamiento de la esclerosis múltiple, siendo la forma más común la remitente-recurrente.³ Se ha descrito que el Interferón Beta puede incrementar los niveles séricos de las moléculas de adhesión celular vascular solubles⁴⁻⁶ y este efecto está relacionado con una disminución en el número de recaídas en estos pacientes.⁷ La entrada de las células inmunes al sitio de inflamación parece ser mediado por las moléculas de adhesión (CAM's).⁸

La producción de moléculas de adhesión inducidas por citocinas sobre las células cerebrales y las inmunes, promueven la interacción entre estas células conduciendo al daño de mielina y oligodendrocitos con la subsecuente desmielinización.⁹ Las moléculas de adhesión han sido detectadas en y alrededor de los capilares cerebrales y sobre células inflamatorias, incluyendo macrófagos, células de microglia y linfocitos.⁸

Se ha propuesto que las Moléculas de Adhesión Celular Vascular solubles (sVCAM) son responsables de inhibir la entrada de células inflamatorias a través de la Barrera Hematoencefálica.^{8,10} De un modo interesante, pacientes con esclerosis múltiple no tratados con Interferón Beta, presentan una disminución en los niveles séricos de sVCAM-1 (soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1), comparados con los grupos control.⁴ Estas evidencias sugieren que el mecanismo modulador de las sVCAM pueden controlar la entrada de las células inmunes dentro del SNC. En el presente estudio se compararon dos diferentes marcas de INF β 1a midiendo su efecto sobre la inducción de las sVCAM-1. También se correlacionó la elevación de las sVCAM-1 con una mejoría temprana sobre la calidad de vida después de tres meses de tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue sometido y aprobado por los distintos comités de ética de los centros participantes. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado antes de realizar cualquier procedimiento. El diagnóstico definitivo de esclerosis múltiple fue realizado de acuerdo con los criterios de McDonald.¹¹ Se solicitó que los pacientes tuvieran una puntuación en el EDSS de 0 a 5.5 y al menos una recaída en los dos años previos a la inclusión, así como lesiones descubiertas por Imagen de Resonancia Magnética contrastada con Gadolinio antes de iniciar el tratamiento con los medicamentos en estudio (IRM: 1.5 Teslas General Electric Equipment).

A todos los pacientes del estudio se les realizó biometría hemática completa, química sanguínea y determinación de niveles séricos de sVCAM-1 a los 0, 1, 2, y 3 meses de tratamiento con el INF β 1a. Para la determinación de sVCAM-1 se separó el suero y se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento. El tamaño de la muestra de 10 sujetos por grupo se calculó tomando en cuenta los datos publicados por Graber, et al.⁶

Tratamiento con Interferón Beta 1a

Los pacientes fueron asignados de manera aleatoria para recibir cualquiera de los dos Interferones: A) Diez pacientes recibieron 12 MUI de INF β 1a (Rebif[®]), B) Diez pacientes recibieron 12 MUI de INF β 1a (Emaxem[®]). En ambos grupos se administró el Interferón tres veces por semana. Todos los pacientes fueron instruidos sobre la técnica de auto aplicación subcutánea para evitar cualquier mal uso inesperado con los medicamentos en estudio.

Escalas neurológicas

Una vez asignados al grupo de tratamiento, en la visita basal y final (mes 3), se les aplicó la escala de Calidad de Vida FAMS (Functional Assessment of Multiple Sclerosis) versión español^{12,13} y el cuestionario de depresión de Beck (BDI-II).¹⁴

Determinación de los niveles séricos de sVCAM-1

En cada visita, a los pacientes se les tomaron muestras de sangre para determinación de sVCAM-1; se centrifugaron por 15 min a 1,000 rpm y las muestras de suero congelado fueron almacenadas a -20 °C en el laboratorio central permaneciendo como muestras ciegas al tratamiento. Las concentraciones séricas de sVCAM-1 fueron determinadas usando un kit comercial para ELISA (R & D Systems), siguiendo las instrucciones del productor. El análisis de las muestras para ambos grupos se mantuvo ciego durante el proceso. El rango de detección lineal para la prueba fue de 2-2,500 ng/mL. Se conservó a -20 °C una alícuota de reserva.

Análisis estadístico de los resultados

Para la comparación entre los valores de sVCAM-1 de los pacientes tratados con cualquiera de los interferones en estudio, determinados a lo largo de los tres meses de evaluación, se aplicó el análisis de varianza de muestras repetidas, después de haber evaluado la homogeneidad

de varianzas. El efecto del INF β 1a sobre los niveles de sVCAM-1 dentro de cada grupo fue evaluado entre la muestra basal y la muestra final usando la prueba t de Student de muestras relacionadas.

Por otro lado, el coeficiente de correlación de Spearman rho fue calculado para determinar la relación de la mejoría observada en los resultados de los cuestionarios de Calidad de Vida con el incremento individual de los niveles de sVCAM-1, evaluados en el mismo periodo (mes 0 y mes 3).

RESULTADOS

La distribución de género, edad y estatus basal fue comparable para ambos grupos (Tabla 1). Dos pacientes, uno de cada grupo, fueron excluidos del análisis final debido a violaciones presentadas en los procedimientos de las visitas programadas en el protocolo. Todos los pacientes fueron incluidos en el análisis de evaluación de seguridad. Un paciente del grupo A presentó un brote durante el estudio, que fue controlado con la administración de metilprednisolona por vía intravenosa a dosis de 15 miligramos/kg/día por tres días. Todos los pacientes presentaron síndrome pseudogripal y fueron tratados con Paracetamol (750 mg/día), teniendo buen control de los síntomas. El 80% de los pacientes de ambos grupos presentaron fatiga, 20% de los pacientes del grupo A reportaron dolor en el sitio de aplicación y 30% en el grupo B. Un paciente del grupo A presentó dolor, el cual fue calificado como dolor neuropático, tratado exitosamente con Gabapentina (900 mg/día). Tres pacientes del grupo A y cuatro del grupo B presentaron elevaciones en los niveles de aminotransferasas, menor que 2.5x de lo normal; sólo un paciente del grupo A presentó elevación mayor que 3.0x de lo normal en la visita final del estudio. Ningún paciente de los grupos fue excluido debido a eventos adversos.

Los niveles séricos de sVCAM-1 se muestran en la figura 1. Se observa claramente un incremento estadísticamente significativo en los niveles de sVCAM-1 en ambos grupos después de tres meses de tratamiento con el INF β 1a (más de 60% comparado con los valores basales), ($p = 0.0001$, $F = 32.3$, grupo A; $p = 0.0001$,

$F = 29.2$, grupo B). No encontramos diferencias significativas en el incremento de los niveles de sVCAM-1 entre los dos grupos de tratamiento ($p = 0.57$, $F = 0.33$), indicando que el efecto del INF β 1a sobre los niveles de sVCAM-1 es comparable entre los dos medicamentos del estudio.

Asimismo, los resultados del cuestionario de Calidad de Vida (QoL, por sus siglas en inglés) mostraron en ambos grupos una tendencia a la mejoría comparando los valores basales (mes 0) con la visita final (mes 3).

La figura 2 muestra la mejoría en los resultados del análisis de la Calidad de Vida de todos los pacientes correlacionada con su incremento en los niveles séricos de sVCAM-1; estas diferencias se calcularon con los datos de la visita basal (mes 0) versus final (mes 3). Se encontró una correlación entre ambas variables (Spearman rho = 0.41, $p = 0.047$), independientemente del INF β 1a utilizado.

No se observaron diferencias significativas en la evaluación de la escala de depresión de Beck antes y después del tratamiento para ninguno de los dos grupos.

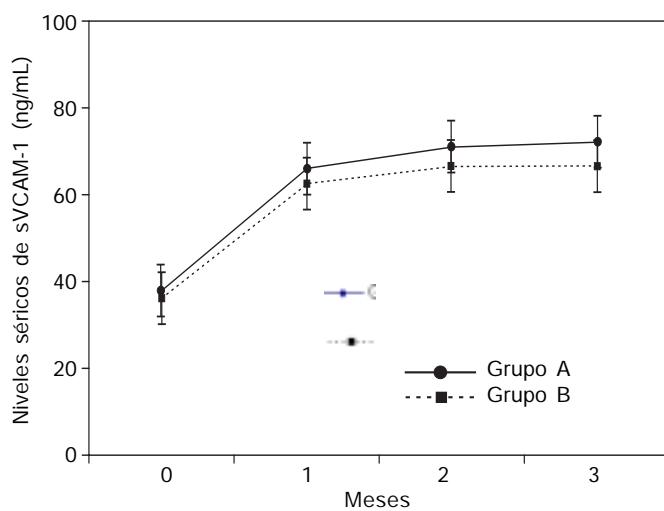


Figura 1. Efecto de dos Interferones Beta 1a (INF's β 1a) sobre los niveles séricos de las Moléculas de Adhesión Celular Vascular solubles-1 (sVCAM-1, por sus siglas en inglés) a lo largo de tres tratamientos en pacientes con Esclerosis Múltiple Remitente Recurrente.

Tabla 1
Características basales de los pacientes

	Grupo A	Grupo B	Total Grupos	<i>p</i>
Género (femenino/masculino)	5/5	6/4	11/9	0.5
Edad (años)	40.2 ± 12.1	37.5 ± 9.8	38.7 ± 11.3	0.59
Peso (kg)	70.4 ± 16.2	68.2 ± 14.7	66.7 ± 10.6	0.76
Estatura (mts)	1.65 ± 0.06	1.63 ± 0.08	1.64 ± 0.07	0.54
EDSS	2.5 ± 0.5	2.5 ± 1.5	2.5 ± 1.0	0.60

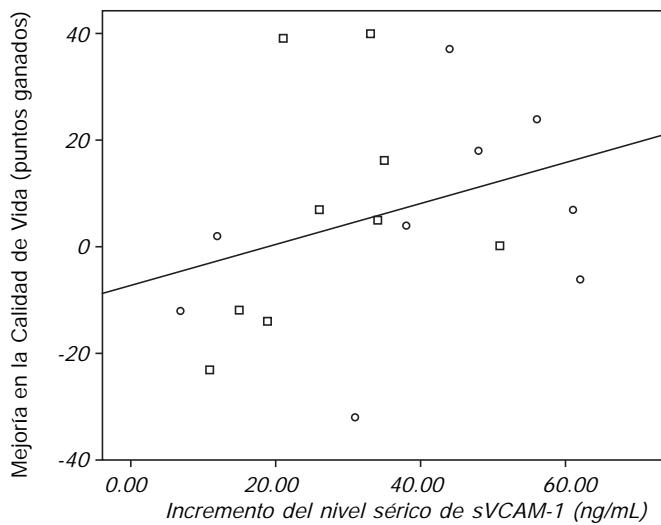


Figura 2. Correlación de incremento en los niveles séricos de la Moléculas de Adhesión Celular Vascular solubles-1 (sVCAM-1, por sus siglas en inglés) con los resultados de los cuestionarios de Calidad de Vida.

Tabla 2
Datos de laboratorio del Grupo A

Parámetro		Basal	Final
Hemoglobina	(g/dL)	14.7 ± 1.12	14.3 ± 0.75
Hematocrito	(%)	44.1 ± 3.6	42.9 ± 2.4
Leucocitos	(10 ³ ×mm ⁻³)	6.5 ± 2.5	4.7 ± 1.4
Plaquetas	(10 ³ ×mm ⁻³)	266 ± 62.9	211 ± 60.7
Neutrófilos	(10 ³ ×mm ⁻³)	3.9 ± 1.8	2.5 ± 1.09
Nitrógeno de Urea	(mg/dL)	12.7 ± 3.4	11.2 ± 2.2
Creatinina	(mg/dL)	0.7 ± 0.15	0.7 ± 0.10
Albúmina	(g/dL)	4.0 ± 0.41	3.9 ± 0.39
ALT	(UI/L)	19.2 ± 6.8	57.5 ± 30.5
AST	(UI/L)	19.6 ± 6.7	46.6 ± 28.8
SVCAM-1	(ng/mL)	36.8 ± 9.2	72.6 ± 24.1

Promedio ± Desviación Estándar.

Tabla 3
Datos de laboratorio del Grupo B

Parámetro		Basal	Final
Hemoglobina	(g/dL)	15.4 ± 0.07	15.2 ± 1.0
Hematocrito	(%)	46.0 ± 2.4	45.1 ± 2.9
Leucocitos	(10 ³ ×mm ⁻³)	6.2 ± 3.01	4.8 ± 1.1
Plaquetas	(10 ³ ×mm ⁻³)	247 ± 27.0	226 ± 40.1
Neutrófilos	(10 ³ ×mm ⁻³)	4.1 ± 2.6	2.8 ± 0.73
Nitrógeno de Urea	(mg/dL)	10.9 ± 3.3	10.0 ± 2.2
Creatinina	(mg/dL)	0.8 ± 0.14	0.79 ± 0.11
Albúmina	(g/dL)	4.0 ± 0.32	4.0 ± 0.32
ALT	(UI/L)	21.5 ± 4.6	36.7 ± 25.3
AST	(UI/L)	21.7 ± 4.1	30.5 ± 13.6
SVCAM-1	(ng/mL)	35.2 ± 14.4	63.4 ± 22.7

Promedio ± Desviación Estándar.

Los datos de los resultados de exámenes de laboratorio se describen en las tablas 2 y 3.

DISCUSIÓN

El INF β 1a induce un importante incremento en los niveles séricos de sVCAM-1.⁶ Debido a que no hay parámetros de referencia para los niveles de sVCAM se emplearon los valores basales de sVCAM-1 como valores de referencia para cada paciente.

Estudios previos han sugerido que las sVCAM y VLA-4 (Very Late Antigen-4) participan en la unión de leucocitos a las células endoteliales y a la migración de estos a través de la barrera hematoencefálica, promoviendo de esta manera la formación de lesiones a nivel de SNC.^{5,10}

La concentración sérica de sVCAM-1 puede ser un biomarcador para evaluar el efecto inmunológico del INF β 1a en pacientes con esclerosis múltiple; también se ha correlacionado con el número de recurrencias y la aparición de nuevas lesiones observadas por Imagen de Resonancia Magnética.⁵

La dosis y esquema del INF β 1a utilizado en el estudio se basó en lo recomendado por Deisenhammer, et al.¹⁵ como el esquema que permite un aumento sostenido sobre citocinas, moléculas de adhesión, marcadores de respuesta biológica y otros elementos influidos por el Interferón.

Después de 12 semanas de tratamiento, los niveles de sVCAM-1 tienden a disminuir, el origen de esta disminución no es claro pero ha sido reportada por otros autores.⁶

A pesar de que un paciente del grupo A utilizó metilprednisolona, sus niveles séricos de sVCAM-1 no se vieron modificados. En el estudio se permitió el uso de Paracetamol para tratar algunos efectos secundarios presentados con el tratamiento del INF β 1a; sin embargo, se ha documentado que los Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroideos (AINE's) pueden alterar las concentraciones de las sVCAM-1.¹⁶

En resumen, el tratamiento con INF β 1a en pacientes con esclerosis múltiple influye en el incremento de los niveles séricos de las sVCAM-1. El sistema VCAM/VLA-4 tiene efectos en la hematopoyesis, apoptosis leucocitaria periférica, así como en la maduración y migración de células T, los cuales pudieran afectar la actividad de la enfermedad.^{17,18}

Los resultados del estudio nos permitieron comparar la capacidad de ambos Interferones Beta 1 a para incrementar los niveles séricos de sVCAM-1 durante este periodo de tiempo. Los resultados fueron comparables entre las dos formulaciones con un perfil similar de seguridad.

Este es el primer estudio mundial en el que se utilizó un marcador biológico para comparar el efecto de un INF β 1a internacional contra uno biogenérico mexicano en pacientes con esclerosis múltiple remitente recurrente. También se encontró que durante este periodo de tiempo, a mayor concentración sérica de sVCAM-1 corresponde una mayor mejoría mostrada en los resultados de los cuestionarios de Calidad de Vida.

REFERENCIAS

1. Compston A, Coles A. Multiple Sclerosis. *Lancet* 2002; 359: 1221-31.
2. Prat A, Biernacki K, Antel JP. Th1 and Th2 lymphocyte migration across the human BBB is specifically regulated by Interferon Beta and copolymer-1. *J Autoimmun* 2005; 24: 119-24.
3. Rice G, Incorvaia B, Munari L, Ebers G, Polman C, D'Amico R, Filippini G. Interferon in relapsing -remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database* 2001; Syst. Rev 4, CD0022002.
4. Elovaara I, Ukkonen M, Leppäkynnäs M, Lehtimäki T, Luomala M, Peltola J, Dastidar P. Adhesion Molecules in Multiple Sclerosis: Relation to Subtypes of Disease and Methylprednisolone Therapy. *Arch Neurol* 2000; 57: 546-51.
5. Calabresi PA, Tranquill LR, Dambrosia JM, Stone LA, Maloni H, Bash CN, Frank JA, McFarland HF. Increases in soluble VCAM-1 correlate with a decrease in MRI lesions in multiple sclerosis treated with Interferon Beta-1b. *Ann Neurol* 1997; 41: 669-74.
6. Gruber J, Zhan M, Ford D, Kursch F, Francis G, Bever C, et al. Interferon-beta-1a induces increases in vascular cell adhesion molecule: implications for its mode of action in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2005; 161: 169-76.
7. Dhib-Jalbut S, Jiang H, Williams G. The effect of interferon-B 1b on lymphocyte-endothelial cell adhesion. *J Neuroimmunol* 1996; 71: 215-22.
8. Correale J, Villa A. The blood-brain-barrier in multiple sclerosis: functional roles and therapeutic targeting. *Autoimmunity* 2007; 40: 148-60.
9. Kraus J, Engelhardt B, Chatzimanolis N, Bauer R, Tofighi J, Kuehne BS, et al. Cell surface bound and soluble adhesion molecules in CSF and blood in multiple sclerosis: correlation with MRI-measures of subclinical disease severity and activity. *J Neuroimmunol* 2002; 122: 175-85.
10. Weber E, Springer T. Interaction of Very Late Antigen-4 with VCAM-1 supports transendothelial chemotaxis of monocytes by facilitating lateral migration. *J Immunol* 1998; 161: 6825-34.
11. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50 (1): 121-7.
12. Chang CH, Cella D, Fernández O, Luque G, De Castro P, De Andrés C, et al. Quality of life in multiple sclerosis patients in Spain. *Mult Scler* 2002; 8: 527-31.
13. Cella D, Dineen K, Arnason B, Reder A, Webster K, Karabatsos G. Validation of the functional assessment of multiple sclerosis quality of life instrument. *Neurology* 1996; 47(1): 129-39.
14. Sanz J, García-Vera MP. Análisis psicométrico de las versiones breves del "Inventario para la depresión, de Beck". *Psicología conductual* 2007; 15(2): 125-32.
15. Deisenhammer F, Mayringer I, Harvey J, Dilitz E, Gasse T, Stadlbauer D, et al. A comparative study of the relative bioavailability of different interferon beta preparations. *Neurology* 2000; 54: 2055-60.
16. Schoenleber PJ, et al. Novel inhibitors of sytiodine induced Ik-β phosphorylation and endothelial cell adhesion molecule expression show anti-inflammatory effects in vivo. *J Biol Chem* 1997; 272: 21096-103.
17. Peterson J, Bo L, Mork S, Chang A, Ransohoff R, Trapp B. VCAM-1 positive microglia target oligodendrocytes at the border of multiple sclerosis lesions. *J Neuropath Exp Neurol* 2002; 61: 539-46.
18. Carter R, Campbell I, O'Donnell K, Wicks I. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) blockade in collagen-induced arthritis reduces joint involvement and alters B cell trafficking. *Clin Exp Immunol* 2002; 128: 44-51.



Correspondencia: Dr. Noé Saúl Barroso-Rodríguez
 Fundación Clínica Médica Sur
 Puente de piedra 150-301
 Col. Toriello Guerra
 C.P. 14050, México, D.F.
 Correo electrónico: noesaul@aol.com