



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
“ISMAEL COSIO VILLEGAS”

ESPECIALIDAD EN NEUMOLOGÍA ADULTOS

**Niveles séricos de KL6, CC16 y MMP-7 como biomarcadores
pronósticos en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática**

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN
NEUMOLOGÍA

PRESENTA:
Dr. José Omar Barreto Rodríguez

DIRECTOR EXPERTO
Dra. Ivette Buendía Roldan

Ciudad de México, Septiembre 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**SECRETARÍA DE SALUD
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
“ISMAEL COSÍO VILLEGAS”
NEUMOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO, FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA

**DIRECTOR DE ENSEÑANZA.
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD DE NEUMOLOGÍA.**

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA.

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO.

DRA. IVETTE BUENDÍA ROLDÁN
ASESOR Y TUTOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA
EN NEUMOLOGÍA.
JEFE DE SERVICIO DE LABORATORIO TRASLACIONAL EN ENVEJECIMIENTO
Y FIBROSIS PULMONAR DEL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS.

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada agradezco a Dios por todo aquello que ha puesto en mi camino, pues tanto de lo bueno como de lo malo se aprende algo, y esto me ha permitido crecer no solo en mi profesión, sino también como persona. Así mismo agradezco a mis padres (Gastón Barreto Vidal y Ángelina Rodríguez Álvarez) por su apoyo incondicional, sobre todo para con mi hija, ya que sin su ayuda el reto hubiese sido mucho más difícil.

Quiero agradecer también a todos mis maestros que han sido parte importante en mi formación como neumólogo, en especial a los que en seguida mencionaré: a la Dra. Ivette Buendía por sus consejos y porque siempre me ha impulsado para hacer más de lo que a veces he creído posible, a la Dra. Mayra, la Dra. Renata Baez, el Dr. Ricardo Stanley Vega, y Dr. Rafael Hernandez Zenteno por su confianza hacia mi en sus pabellones al mando, pero sobre todo por sus enseñanzas. También agradezco a la dirección de enseñanza (Dra. Carmen Cano, Dr. Juan Carlos Vázquez, Dra. Margarita Fernández y Dra. Dayanna Álvarez Monter) por brindarme la confianza y el apoyo al darme la enorme responsabilidad de ser jefe de residentes de nuestra gran Institución.

Finalmente y de manera muy especial quiero agradecer a mi esposa (Carolina Muñoz Perea) por su infinito apoyo, por la confianza, por sus consejos, y sobre todo por que ha hecho de la residencia una mejor aventura, más divertida y menos tediosa. También agradezco a mi hija (María Fernanda Barreto Muñoz) porque a pesar de todo es una excelente niña y el motor que me mantiene de pie hasta en los peores momentos. Quiero terminar ofreciendo y no sin menos importancia mi mas profundo agradecimiento a la Institución (INER) por que entre sus servicios se forja el conocimiento, porque de sus pacientes se aprende a ser neumólogo, lider, y sobre todo ser humano, y a la UNAM por permitirme ser parte de los grandes médicos que entre sus alas emergen para brindar al país un servicio de calidez y calidad.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
3. JUSTIFICACIÓN.....	10
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	11
5. HIPÓTESIS.....	11
6. OBJETIVO GENERAL.....	11
➤ Objetivos secundarios.....	11
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
8. RESULTADOS.....	16
9. DISCUSIÓN.....	22
10. CONCLUSIONES.....	23
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
12. ANEXOS.....	28

RESUMEN

Introducción. La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es la enfermedad intersticial pulmonar de peor pronóstico, de causa desconocida, confinada al pulmón, cuyo diagnóstico se establece en base a los criterios del consenso 2011 con un patrón tomográfico y/o patológico de neumonía intersticial usual (NIU) en ausencia de causas secundarias; actualmente se dispone de 2 tratamientos antifibróticos, nintedanib y pirfenidona, ambos disponibles en México, sin embargo, pese a que ninguno es curativo sus costos son inalcanzables para la mayoría de los pacientes, por lo que identificar a pacientes respondedores es sumamente importante.

Objetivo. Identificar la correlación que existe entre los niveles séricos de KL6, CC16 y MMP-7 con el desenlace final en pacientes con FPI con y sin tratamiento.

Metodología. Se incluyeron 38 pacientes con diagnóstico de FPI, de los cuales se disponía de muestra sérica en el bio-banco del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), así como de espirometría y DLCO de seguimiento. Se midieron por método de ELISA los niveles séricos de KL6, CC16 y MMP-7 al inicio del tratamiento y tras registrar los datos demográficos, clínicos, funcionales y moleculares se dividieron los pacientes en 3 grupos (sin tratamiento, tratados con pirfenidona y tratados con nintedanib). Se realizó correlación por spearman entre las variables. **Resultados.** Grupo 1 (12 pacientes), grupo 2 (11 pacientes), grupo 3 (15 pacientes). Al momento basal solo existió diferencia estadísticamente significativa en FVC y metros caminados entre el grupo sin tratamiento y pirfenidona contra los tratados con nintedanib, ya que el 71% estuvo previamente tratado con pirfenidona. Los niveles séricos de KL>1000 UI, CC16 >31.2 ng/ml y MMP-7 >12.1 ng/ml son predictores de mal pronóstico aún en pacientes con tratamiento, y son independientes de índices predictivos como el GAP. **Conclusión.** Agregar biomarcadores a las variables clínicas y funcionales medidas por GAP incrementa la sensibilidad de la prueba como predictor pronóstico en pacientes con FPI.

INTRODUCCION

La Fibrosis Pulmonar Idiopática (FPI) es la enfermedad pulmonar intersticial difusa de peor pronóstico, con una supervivencia al momento del diagnóstico entre 3- 5 años en promedio, afectando sobre todo a hombres mayores de 55 años. Clínicamente los pacientes presentan tos no productiva y disnea progresiva de por lo menos 6 meses de evolución. El diagnóstico se establece en base a los criterios del consenso 2011 (ATS/ERS/JRS/ALAT) donde se recomienda descartar causas secundarias de enfermedad pulmonar intersticial, así como confirmar el diagnóstico con una Tomografía de alta resolución de tórax (TAC-AR) compatible con neumonía intersticial usual (NIU) y/o en su defecto con una biopsia pulmonar compatible con un patrón histopatológico de NIU; al mismo tiempo que se debe valorar la función pulmonar con Espirometría, caminata de 6 minutos, difusión de monóxido de carbono (DLCO) y Pletismografía, siendo la espirometría y la DLCO las que mayor relevancia aportan por su valor pronóstico y para el seguimiento de la enfermedad.(1)(2) (3)(4)(5)(6)

Aún no se dispone de un tratamiento curativo, sin embargo, 2 han sido los medicamentos aprobados (nintedanib y pirfenidona) para el tratamiento de la FPI, con un efecto positivo para enlentecer la progresión de la enfermedad, sin embargo, no existen datos suficientes que apoyen el inicio de un medicamento sobre el otro, por lo que se siguen buscando datos clínicos y moleculares que puedan dilucidar ésta pregunta.(7)(8) (9)(10)(11)

Por otro lado, investigaciones recientes han dado paso a un amplio conocimiento con respecto a la etiopatogenia de la enfermedad, en donde se propone un origen multifactorial en la que existen factores genéticos predisponentes, que asociados a la senescencia celular y agresores externos conllevan a un modelo de cicatrización anormal del epitelio respiratorio que termina con la proliferación de fibroblastos y acumulo de matriz extracelular con la alteración subsecuente de la arquitectura pulmonar y la limitación en la función respiratoria.(5)(12)(13)

Múltiples factores de crecimiento, citosinas y proteínas de señalización han sido identificadas como las encargadas de iniciar y perpetuar la formación de la fibrosis pulmonar, de tal manera que muchas de ellas han sido propuestas y estudiadas como biomarcadores de diagnóstico y de seguimiento de la enfermedad, encontrando resultados positivos únicamente para MMP-7, KL6 y CC16.(14)

- MMP-7 es una metalopeptidasa con Zinc que pertenece al grupo de las metaloproteinasas de matriz, cuyas funciones son: 1) degradar múltiples componentes de la matriz extracelular, 2) activar y degradar mediadores biológicos (factores de crecimiento, quimiocinas, y receptores de superficie celular), y 3) facilitar la migración celular; con lo que mantienen la homeostasis de la matriz extracelular, contribuyendo así a la reparación ordenada del epitelio alveolar. Hay 23 MMPs conocidas, de las cuales MMP-7 ha sido ampliamente estudiada en pacientes con FPI. En varios estudios se ha demostrado que niveles séricos elevados de MMP-7 (≥ 4.3 ng/ml, y ≥ 3.8 ng/ml según diferentes cortes de estudios) permiten diferenciar a la FPI de otras neumopatías intersticiales, además de ofrecer valor pronóstico y buena correlación con las pruebas de función pulmonar, e incluso, resultado de esto, se ha validado el índice de predicción de mortalidad clínico y molecular (PCMI), ya que ha demostrado que al agregar biomarcadores como MMP-7, mejora significativamente la predicción en mortalidad comparado con el GAP. (15)(16)(17)(18) (19)
- KL6/MUC1 (Krebs Von Den Lungen 6) es una glicoproteína de mucina de alto peso molecular que se encuentra en la membrana de los neumocitos tipo 2 y en el epitelio bronquiolar, que tiene efectos quimiotácticos, proliferativos y anti-apoptóticos de fibroblastos, por lo que ha sido ampliamente estudiada en neumopatías intersticiales. Los niveles séricos de KL6 son significativamente más elevados en pacientes con FPI y otras neumopatías intersticiales en comparación con los controles sin neumopatía intersticial. Niveles séricos >1000 UI/ml están asociadas con disminución de la supervivencia de la FPI. (19)(20)(21)(22)(23)

- CC-16: son proteínas producidas por las células clara presentes en el epitelio no ciliado de la vía aérea, con propiedades anti-inflamatorias. Interesantemente hay evidencia de que las células clara pueden inducir apoptosis de las células del epitelio alveolar y bronquiolar, un proceso que juega un papel fundamental en la patogénesis de la FPI. Un estudio demostró que CC16 se encuentra significativamente más elevado en muestras séricas (31.2 ± 10.8 ng/ml) y de LBA ($10,317 \pm 8,075$ ng/ml) de pacientes con FPI en comparación con controles sanos y pacientes con otras neumopatías intersticiales.(24)

Finalmente y con la evidencia existente, se propone utilizar a estos biomarcadores séricos como predictores de la respuesta a tratamiento y desenlace final en pacientes tratados con nintedanib, pirfenidona o sin tratamiento, por lo que se realiza el presente estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La FPI es un problema médico-social para las personas que la padecen, puesto que representa gastos catastróficos debido a la necesidad de estudios especializados y un tratamiento multidisciplinario con fármacos antifibróticos, uso de oxígeno suplementario, rehabilitación pulmonar, psicológica y nutricional, generando gastos superiores a los 40,000 pesos mensuales por persona.

Actualmente son 2 los tratamientos aprobados por la FDA, nintedanib y pirfenidona, ambos con un perfil de eficacia y seguridad similar, con estudios que sustentan su capacidad para enlentecer la progresión de la enfermedad y el riesgo de exacerbaciones, pero lamentablemente, aun sin la capacidad curativa de la enfermedad. Sin embargo, son la única alternativa, y no existen evidencia suficiente que respalde el inicio de uno sobre el otro, pero lo que si se ha observado es que existen pacientes que responden mejor a un tratamiento que a otro, por lo que es indispensable buscar factores clínicos y moleculares que puedan predecir respuesta al tratamiento y de esa manera tener herramientas para realizar una medicina personalizada como ya se hace en otras enfermedades, particularmente en el cancer, y con ello no solo se generan ahorros económicos, sino en tiempo también, pues permite realizar el traslape inmediato de medicamentos o la inclusión a protocolos en fases de investigación o más aún priorizar a los pacientes a un programa de trasplante pulmonar.

JUSTIFICACIÓN

Existe evidencia significativa que respalda la utilidad de los niveles séricos de KL6, CC16 y MMP-7 como biomarcadores pronósticos en pacientes con FPI, sin embargo, desconocemos si dichos valores séricos son útiles para predecir respuesta a tratamiento con Nintedanib o pirfenidona.

Tanto KL6, como CC16 y MMP7 son proteínas con un papel esencial en la patogénesis de la FPI que se encuentran elevados en respuesta a la formación de focos de miofibroblastos. Niveles elevados de estas proteínas están relacionadas con peor pronóstico.

Nintedanib y Pirfenidona actúan bloqueando diferentes moléculas implicadas en la formación de la fibrosis, de tal manera que tras efectuar su mecanismo de acción deberá de disminuir la formación de miofibroblastos, así como de todas las moléculas relacionadas al proceso (incluyendo KL6, CC16 y MMP7). No obstante, existen pacientes que a pesar del tratamiento persisten con una evolución tórpida que irremediablemente los conduce a la muerte. Es posible que en este grupo de pacientes existe una marcada elevación en los niveles de los biomarcadores, por lo que desde el principio no son candidatos al inicio de tratamiento con Nintedanib o pirfenidona.

Identificar de manera temprana a pacientes respondedores a tratamiento, nos permitirá tomar decisiones que beneficien al paciente, ya que aquellos con fracaso al tratamiento deberán de ser cambiados a otros tratamientos antifibróticos, o a protocolos en fases de investigación, o mejor aún priorizarlos para un programa de trasplante pulmonar.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los niveles séricos de KL6, CC16 y MMP-7 permiten predecir el desenlace final en pacientes tratados con Nintedanib, pirfenidona o sin tratamiento?

HIPÓTESIS

Existe una buena correlación entre los niveles séricos de KL6, CC16 y MMP7 y la respuesta al tratamiento con Nintedanib o pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática.

OBJETIVOS

1.1. General:

Describir la correlación de las concentraciones séricas de CC16, KL6, y MMP-7 con la respuesta al tratamiento con nintedanib o pirfenidona y su desenlace final en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática.

1.2. Específicos:

1. Describir la correlación de los niveles séricos de CC16, KL6, y MMP-7 con el índice de GAP al inicio de tratamiento con Nintedanib o pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática.
2. Describir la correlación de los niveles séricos de CC16, KL6, y MMP-7 con los valores de capacidad vital forzada (FVC) y Difusión de monóxido de carbono (DLCO) al inicio de tratamiento con Nintedanib o pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática.
3. Describir el desenlace de los pacientes con FPI tratados con Nintedanib o pirfenidona de acuerdo al valor sérico inicial de los biomarcadores (KL6, CC16 y MMP7).

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un estudio descriptivo observacional, en el que se realizará una medición transversal de los biomarcadores séricos y una medición longitudinal de las pruebas de función pulmonar como seguimiento en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática. En seguida se describen las especificaciones del estudio:

A) Lugar del estudio: Dirección general y laboratorio de biología molecular del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

B) Descripción de la población de estudio: Se incluirán pacientes (hombres ó mujeres) con diagnóstico de FPI corroborado por Tomografía de tórax de alta resolución y/o patología según los criterios del consenso ATS/ERS/JRS/ALAT 2011, que se encuentren en tratamiento con nintedanib o pirfenidona, así como un grupo control sin tratamiento.

C) Procedimientos del estudio: Actualmente existe en el INER un programa de uso compasivo de Nintedanib y uno de pirfenidona en el que se les da seguimiento y tratamiento gratuito a pacientes con diagnóstico de fibrosis pulmonar idiopática. A los pacientes incluidos en dicho programa se les han realizado de manera trimestral pruebas de función pulmonar (espirometría y difusión de monóxido de carbono), así como tomografía de alta resolución y toma de muestras de sangre al inicio de tratamiento.

Para éste protocolo se recabaran del expediente de cada paciente sus pruebas de función pulmonar (espirometria y DLCO), asi como las muestras séricas disponibles en el bio-banco de la unidad de investigación y se les medirá por método de ELISA los niveles de las proteínas KL6, CC16 y MMP7.

Así mismo, disponemos de muestras séricas y datos de pacientes con diagnóstico de FPI sin ningún tratamiento, mismos que se usaran como grupo control.

Tras la recolección de los datos se registraran en programa Excel, se determinaran las mediciones de tendencia central y dispersión y se obtendrá la correlación existente entre el deterioro de la función pulmonar y los niveles

séricos de las proteínas evaluadas al inicio de tratamiento con pirfenidona o Nintedanib, así como en aquellos sin tratamiento.

Las variables a medir son las siguientes:

Variable	Cualitativa	Cuantitativa	Tipos
Edad		Años cumplidos	Discreta
Sexo	Hombre ó mujer	-----	Nominal, dicotómica
Tiempo de evolución de los síntomas	-----	En meses	Discreta
Capacidad vital forzada	-----	En Litros y en porcentaje del predicho	Continua
Difusión de monóxido de carbono	-----	ml/min/mmHg	Continua
C6M	-----	Metros caminados	Discreta
PSAP	-----	mmHg	Discreta
MMP-7	-----	Ng/ml	Continua
KL-6	-----	UI/ml	Continua
CC-16	-----	Ng/ml	Continua
Índice de GAP	-----	Puntaje en valor absoluto	Discreta
Desenlace final	Muerte, abandono, continua	-----	Nominal politómica

Definición de las variables:

- **Espirometría:** es una prueba de función pulmonar utilizada para conocer el volumen de los pulmones y la existencia o no de obstrucción al flujo aéreo en la vía aérea. La capacidad vital forzada es la máxima cantidad de aire que un individuo puede exhalar tras una inspiración profunda y su medición nos permite dar seguimiento a la pérdida o estabilidad en la función pulmonar.
- **Difusión de monóxido de carbono (DLCO):** es una prueba de función pulmonar que nos permite evaluar la integridad de la membrana alveolo-capilar y conocer la existencia de anomalías en la misma que condiciones una disminución en la difusión del oxígeno. La

disminución de la misma nos permite graduar la gravedad de la pérdida de la difusión de oxígeno y por lo tanto de la enfermedad.

- La caminata de 6 minutos es una prueba de esfuerzo submáximo que valora la cantidad de mts caminados por un individuo en un periodo de tiempo, y de acuerdo al resultado existen datos que apoyan mejor o peor pronóstico en diferentes patologías, incluyendo la FPI.
- La presión sistólica de la arteria pulmonar (PSAP), es una medición subjetiva pero con buena correlación de la presión medida por cateterismo de las arterias pulmonares, que se obtiene mediante ecocardiograma a través de la ecuación de Bernoulli. Su medición objetiva la probabilidad de hipertensión pulmonar, que agregada a otras patologías confiere peor pronóstico.
- Para la cuantificación de las proteínas séricas se utilizarán estuches de ELISA anti-CC16, KL6 y MMP7 de la marca “R and D Systems” siguiendo las instrucciones del fabricante. Cincuenta microlitros de suero serán incubados durante 2 horas a temperatura ambiente en la placa de ELISA, posteriormente se harán lavados con una solución amortiguadora. Enseguida se agregarán 200 ml del conjugado de la proteína correspondiente y se incubará durante 1 hora a temperatura ambiente, Al final se añadirán 200 ml de una solución de sustrato y después de 30 minutos se añadirá una solución ácida para detener la reacción. La placa se leerá en un equipo de ELISA a 450 nm.

D) Número necesario de sujetos de investigación: muestra a conveniencia.

Se incluirán los pacientes del programa de uso compasivo de Nintedanib y de pirfenidona que dispongan de pruebas de función pulmonar durante su seguimiento, y muestras séricas obtenidas al momento de su diagnóstico disponibles en el bio-banco de la unidad de investigación. Así mismo, se incluirá un grupo control de pacientes con diagnóstico de FPI sin tratamiento de los que se dispongan muestras séricas en el bio-banco de la unidad de investigación y pruebas de función pulmonar de seguimiento.

Criterios de inclusión

1. Hombres o mujeres de >50 años de edad
2. Diagnóstico confirmado de FPI de acuerdo a los criterios del consenso del 2011 ATS/ERS/JRS/ALAT (Patrón tomográfico y/o histopatológico característico de neumonía intersticial usual en ausencia de enfermedades autoinmunes y otras causas lternativas explicativas del patrón). **Ver anexos**
3. Pacientes incluidos en programa de uso compasivo de nintedanib o de pierfenidona.

Criterios de exclusión

1. Tratamiento concomitante con Pirfenidona y nintedanib o algún otro fármaco antifibrótico en fases de investigación.
2. Pacientes con alguna comorbilidad que de acuerdo al estudio fase III de Nintedanib se encuentre en riesgo con el tratamiento (Insuficiencia hepática Child Pugh B ó C, Infarto agudo a miocardio en las últimas 3 semanas, alergia conocida a los componentes del medicamento, prolongación de los tiempos de coagulación 2 veces el límite superior de la normalidad).
3. Pacientes que durante su seguimiento se concluyera un diagnóstico alterno de FPI.
4. Pacientes con datos incompletos (muestras, pruebas de función respiratoria).

E) Captura, procesamiento, análisis e interpretación de la información.

Todos los datos clínicos y demográficos serán obtenidos del expediente clínico. Los datos cuantitativos de los biomarcadores serán procesados en el laboratorio de biología molecular. Se realizara una base de datos en Excel y para el análisis de resultados se utilizaran pruebas de tendencia central y dispersión para las diferentes variables, y para las correlaciones se utilizará la correlación de Spearman. Se correlacionaran los niveles séricos de CC16, KL6 y MMP7 con la respuesta clínica a los tratamientos medidos con las pruebas de función pulmonar a a lo largo del seguimiento, así como con el desenlace final de cada paciente.

RESULTADOS

Durante el periodo comprendido del 2012 al 2018, en el pabellón 1 de enfermedades intersticiales del pulmón del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias se tomaron muestras séricas a pacientes con diagnóstico de fibrosis pulmonar idiopática con la finalidad de buscar proteínas que puedan permitir un diagnóstico mas preciso y un mejor seguimiento, además de su papel como biomarcadores pronósticos. A partir de 2014 y tras a la aprobación de dos tratamientos antifibróticos (pirfenidona y nintedanib) se pusieron en marcha dos protocolos de uso compasivo para pacientes recién diagnosticados.

De esta manera contamos con más de 50 pacientes en seguimiento con FPI, de los cuales al menos 38 pacientes cuentan con muestra sérica disponible en el bio-banco del instituto y con pruebas de función pulmonar de seguimiento, por lo que fueron elegidos para participar en el presente estudio, dividiendose la muestra en 12 pacientes sin tratamiento (grupo 1), 11 pacientes en tratamiento con Pirfenidona (grupo 2) y 15 pacientes en tratamiento con nintedanib (grupo 3).

En la tabla 1 se muestran las variables basales de nuestra población en estudio, en donde podemos observar que sólo existe diferencia estadísticamente significativa en FVC y caminata de 6 minutos, ya que los pacientes incluidos en el grupo 3 presentaron menor función pulmonar al momento de iniciar tratamiento, esto debido a que el 71% de estos pacientes estuvieron previamente en tratamiento con pirfenidona y debido a falla al tratamiento fueron transferidos a tratamiento con nintedanib.

Posteriormente en las imágenes 1, 2 y 3 se muestran las gráficas de FVC y DLCO por paciente, así como la relación individual entre biomarcadores, índices predictivos, función pulmonar y desenlace final.

En la imagen 1 podemos observar que el 92% de los pacientes sin tratamiento tuvieron un seguimiento menor a 1 año, siendo el desenlace final mas importante la mortalidad con 58% de paciente finados, 33% abandonaron seguimiento, y solo el 9% continua. Observemos también que el paciente que continua presentaba una

función pulmonar basal mas alta que el resto de los individuos con una mortalidad por GAP a 1 año de 5.6%, y niveles de MMP-7 y CC16 menores 4.3 y 31.2 ng/ml respectivamente; a diferencia de los pacientes finados en los que el 83% tiene niveles de MMP-7 >4.3 ng/ml y el 66% niveles de CC16 >31.2 ng/ml, con GAP en estadio I ó II, lo que pareciera indicar que independientemente de la mortalidad definida por GAP los niveles de biomarcadores mayores a los rangos ya mencionados representan mayor mortalidad. Así mismo, en los pacientes que abandonaron seguimiento el 100% tenia niveles de MMP-7 y CC16 mayores a 4.3 y 31.2 ng/ml respectivamente.

En la Imagen 2, observamos que los pacientes tratados con pirfenidona el 54% ya no sigue en tratamiento, de los cuales el 27% fallecio y el 27% abandono tratamiento, y solo el 46% continua. Es importante mencionar que el 80% de los pacientes que ya no continuan se encontraban en un estadio II ó III de GAP al iniciar tratamiento, y del total de los pacientes finados el 66% tiene niveles de MMP-7 >4.3 e incluso >10 ng/ml y el 100% niveles de CC16 >31.2 ng/ml; asi mismo en el grupo que abandono tratamiento los niveles MMP-7 se encuentran por arriba del rango mencionado en el 100% y los de CC16 en el 66%. En cambio, los pacientes que continuan el 100% se encontraban en un GAP I al momento de iniciar tratamiento, con niveles de MMP-7 >4.2 en el 100% y niveles de CC16 >31.2 ng/ml en el 60%, por lo que posiblemente nuevamente podamos decir que los niveles séricos de los biomarcadores y el indice de GAP son independientes con respecto a mortalidad.

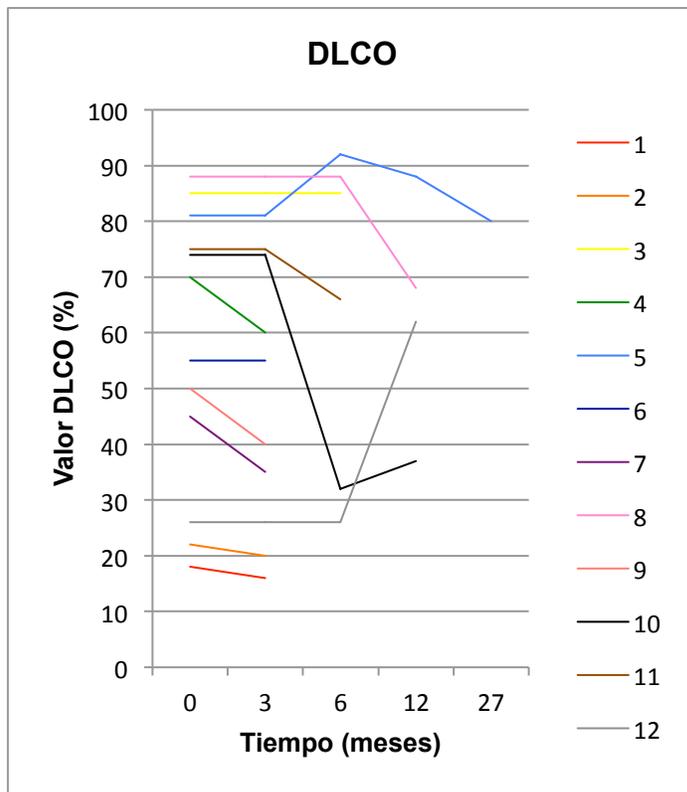
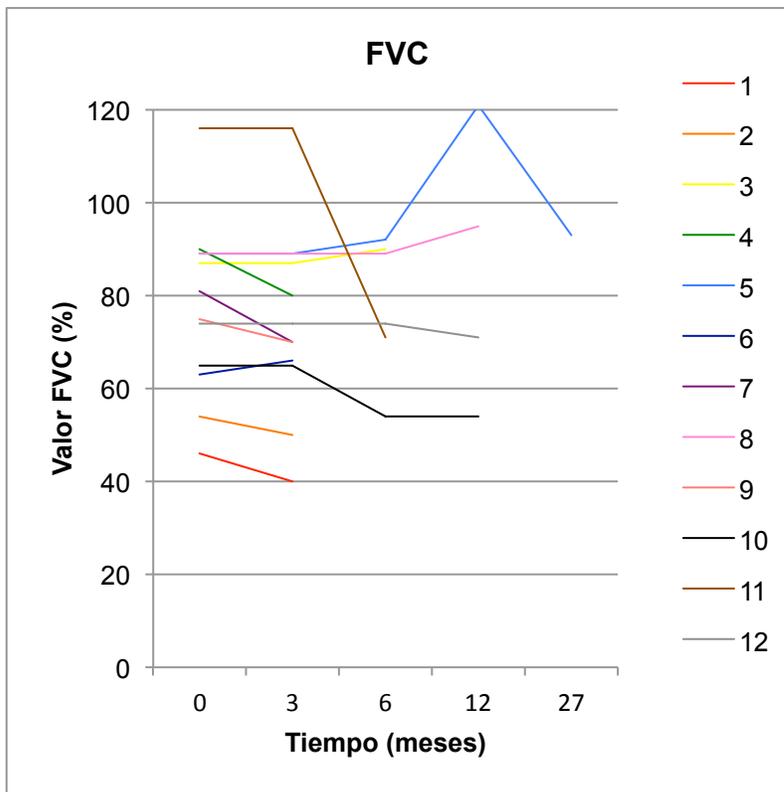
Finalmente en la imagen del grupo 3, podemos observar que en los pacientes tratados con Nintedanib el 57% ya fallecio y continuan el 43%, siendo interesante mencionar y recordar que de estos la mayoría de los pacientes se incluyeron como tratamiento de segunda linea con un GAP en el 80% del total en estadio II ó III. Mencionemos tambien que en el grupo de pacientes finados el 100% tenian MMP7 >4.3 ng/ml y en el 62% incluso >10 ng/ml, con un 88% con niveles de CC16 >31.2 ng/ml, mientras que en el grupo de los pacientes que continuan el 100% tiene niveles de MMP-7 >4.3 ng/ml y solo el 50% tiene niveles de CC16 > 31.2 ng/ml, por

lo que podemos decir nuevamente que existe independencia entre el indice de GAP y los niveles de biomarcadores, pero cuando estos se suman confieren mayor mortalidad.

Variable	Grupo 1: sin tratamiento (N 12)	Grupo 2: Tratamiento con pirfenidona (N 11)	Grupo 3: tratamiento con nintedanib (N 15)	Valor de P
Edad (años)	67.6 (± 6.9)	67.6 (±6.3)	62 (± 10)	0.15
Sexo %	H = 83 M= 17	H = 82 M= 18	H = 92 M = 8	0.15
Tiempo de evolución de síntomas	22 (± 8)	26 (± 17)	33 (± 25)	0.38
Tabaquismo	58%	54%	50%	0.20*
Biopsia	58%	27%	21%	0.14**
Tratamiento previo	0	0	71%	-----
FVC basal %	77.4 (± 18.9)	80 (±13)	55 (±17)	0.0008
DLCO basal %	57.4 (± 25.2)	53.3 (± 21.7)	43 (± 18)	0.29
Mts caminados basales	464 (± 53)	424 (± 166)	299 (± 101)	<0.0001
PSAP	36 (±15)	47 (± 23)	40 (± 25)	0.56
GAP MORTALIDAD	11.9 (± 9.9)	14.4 (± 13.7)	19.6 (± 11.2)	0.6
MMP-7 ng/ml	9.9 (±6.9)	10.9 (± 4.9)	14.4 (± 9.9)	0.08
KL-6 ng/ml	0.6 (± 0.6)	1.7 (± 1.8)		
CC 16 ng/ml	42.2 (±16.2)	51.9 (± 22.5)	56.3 (36.3)	
Tiempo de seguimiento	7.7 (± 7.1)	22.3 (± 10)	19.7 (± 8.2)	0.0004
Fallecieron%	58	27	58	0.01**
Continúan %	9	46	42	
Abandono %	33	27	0	

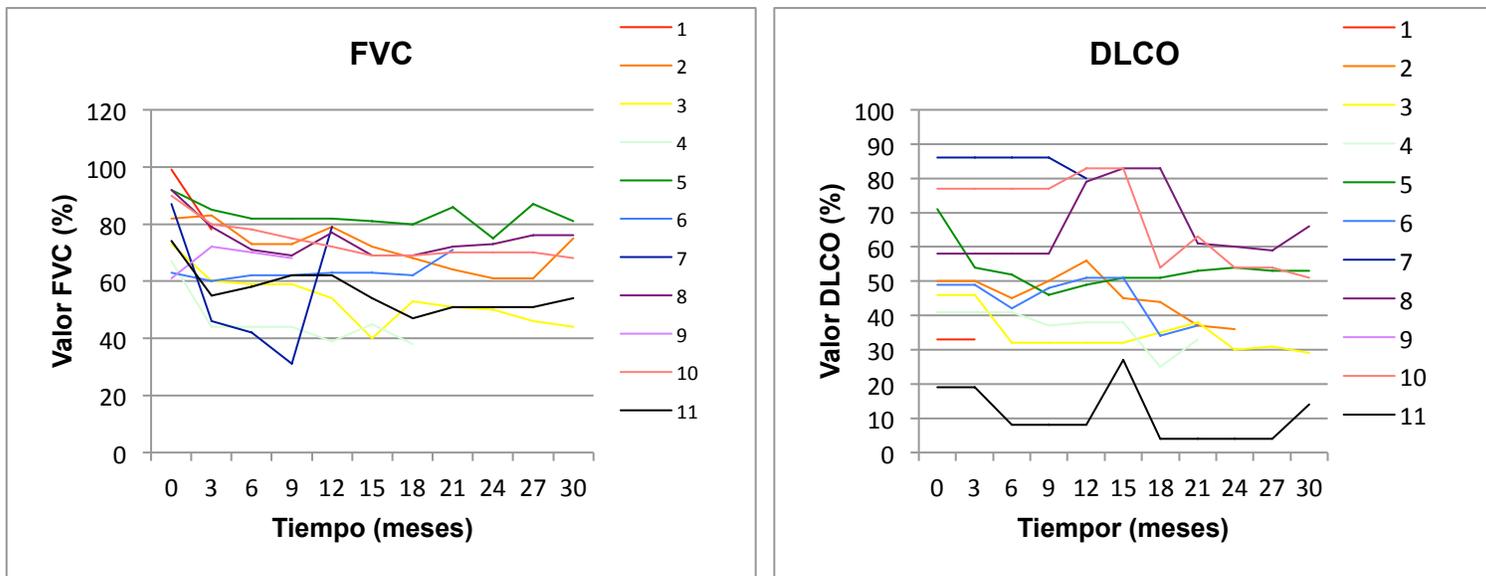
- * Pacientes tratados vs no tratados (xi2)
- ** Pacientes tratados vs no tratados (prueba de fisher)

Grupo 1



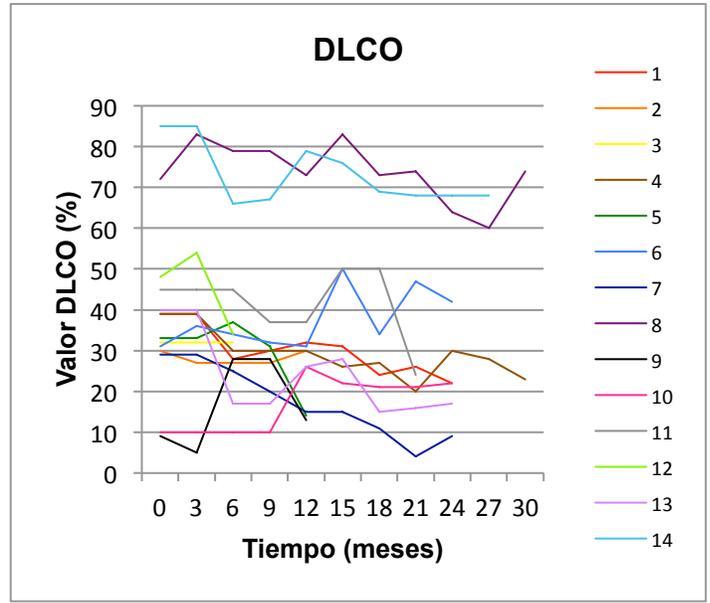
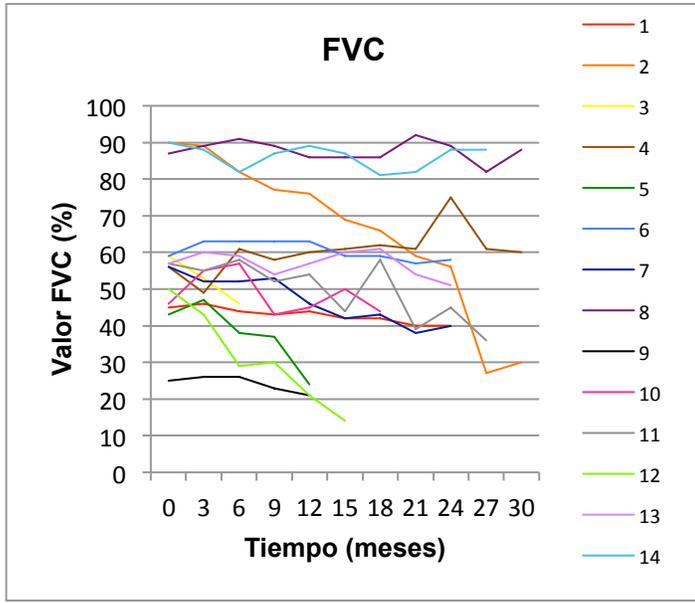
VARIABLES												
Paciente	BIOMARCADORES			PREDICTORES		FUNCIÓN PULMONAR				PSAP	DESENLACE FINAL	
	MMP-7	KL-6	CC 16	GAP ESTADIO	MORTALIDAD A 1 AÑO %	FVC % basal	Última FVC	DLCO % basal	Última DLCO %		Tiempo de seguimiento	Desenlace
1	11.3	1	74.9	3	39.2	46	40	18	16	3	Abandono	
2	5.6	0	60.4	2	16.2	54	50	22	20	3	finado	
3	3.8	0	27.4	1	5.6	87	90	85	85	6	Finado	
4	7.3	0.7	41.6	1	5.6	90	80	70	60	3	finado	
5	4.1	1.4	23	1	5.6	89	93	81	80	27	continua	
6	9	0	63.1	2	16.2	63	66	55	55	3	abandono	
7	6.1	0	43.6	2	16.2	81	70	45	35	3	abandono	
8	7.2	1.9	36.9	1	5.6	89	95	88	68	12	finado	
9	11.6	1	32.4	1	5.6	75	70	50	40	3	abandono	
10	11.1	0.8	24.9	1	5.6	65	54	74	37	12	finado	
11	29.9	0.6	43.6	1	5.6	116	71	75	66	6	finado	
12	11.6	0	34.8	2	16.2	74	71	26	62	12	finado	

GRUPO 2



VARIABLES												
Paciente	BIOMARCADORES			PREDICTOR		FUNCIÓN PULMONAR				PSAP	DESENLACE	
	MMP-7	KL-6	CC 16	GAP ESTADIO	MORTALIDAD A 1 AÑO %	FVC % basal	Última FVC	DLCO % basal	Última DLCO %		Tiempo de seguimiento	Desenlace
1	7.1	3.2	47.9	2	16.2	99	78	33	33	25	3	abandono
2	7.7	4.9	51.6	1	5.6	82	75	50	36	25	30	Continua
3	19.2	3.8	40	1	5.6	73	44	46	29	40	30	Continua
4	8.3	0	32.8	2	16.2	67	38	41	33	55	21	abandono
5	10	0	30.8	1	5.6	92	81	71	53	25	30	continua
6	16.5	0	29.5	3	39.2	63	71	49	37	90	21	abandono
7	15.8	0.9	85.2	1	5.6	87	79	86	80	55	12	finado
8	9.5	3.7	30.8	1	5.6	92	76	58	66		30	continua
9	1.8	0	87.5			61	68				9	finado
10	13.2	1.2	79.8	1	5.6	90	68	77	51		30	continua
11	10.8	0.8	55.2	3	39.2	74	54	19	14	60	30	finado

GRUPO 3



VARIABLES												
Paciente	BIOMARCADORES			PREDICTOR		FUNCIÓN PULMONAR				PSAP	DESENLACE	
	MMP-7	KL-6	CC 16	GAP ESTADIO	MORTALIDAD A 1 AÑO %	FVC % basal	Última FVC %	DLCO % basal	Última DLCO %		Tiempo de seguimiento	Desenlace
1	10.4	1	24.5	2	16.2	45	40	39	22	27	24	Continua
2	8.5	5	26.5	2	16.2	90	30	30	30	25	12	Finado
3	7.6	0.5	71.8	3	39.2	59	46	32	32	38	6	Finado
4	14.9		26.3	2	16.2	56	60	39	23	30	30	Continua
5	25.7		83.6	2	16.2	43	24	33	14	30	12	Finado
6	5.5		43.1	2	16.2	59	58	31	42	40	24	continua
7	15.2		86.8	3	39.2	56	40	29	9	120	24	finado
8	12.9		65.7	2	16.2	87	88	72	74		30	continua
9	43.6		158.3	2	16.2	25	21	9	13	40	12	finado
10	8.3		45.6	3	39.2	46	45	10	22	60	9	finado
11	12.9		36	2	16.2	57	36	45	24	25	27	continua
12	18.2		52.2	1	5.6	50	14	48	34	30	15	finado
13	10.5		44	2	16.2	57	51	40	17	30	24	finado
14	7.1		24	1	5.6	90	88	85	68	24	27	continua

DISCUSIÓN

Muchos han sido los estudios que han identificado predictores de mortalidad en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática, incluyendo aquellos datos obtenidos de una sola medición (predictores basales), y aquellos datos obtenidos en diferentes mediciones (predictores longitudinales). Sin embargo, pocos han sido los estudios que han tenido resultados convincentes, encontrando predictores clínicos (historia de hospitalización respiratoria, uso de prednisona > 10 mg/día, uso de azatioprina, calidad de vida >80 HRQL UCSD SOBQ), fisiológicos (uso de oxígeno, FVC ≤50%, DLCO ≤35%, caída en FVC a las 24 semanas ≥10%, caída de DLCO a las 24 semanas ≥15%) tomográficos y recientemente moleculares.(25)(26)(27)(28)(27)(29)(30)(31)(32)(33)(34)

Por lo que se han propuesto y validado diferentes índices de predicción, como el GAP, CPI y recientemente el PCMI. Este último incluye valores clínicos, fisiológicos y moleculares con una precisión y sensibilidad mayor a la del GAP.(16)(35) (36)(37)

En nuestro estudio encontramos que efectivamente el uso de biomarcadores moleculares son de gran utilidad en el pronóstico de la enfermedad, ya que nos permiten identificar pacientes con alto riesgo de mortalidad a pesar de los nuevos tratamientos antifibróticos, pues tal y como se observa en el estudio, niveles séricos >12.1 ng/ml, KL6 >1000 UI y CC16 >31.2 ng/ml agregados al GAP incrementan significativamente la sensibilidad pronóstica, funcionando como predictores independientes de mortalidad en pacientes con FPI.

Lo anterior toma relevancia importante, ya que como se comentó en los resultados, los niveles mayores al corte de los biomarcadores no guardan relación directa con el índice de GAP al momento basal del seguimiento, por lo que no podemos utilizarlos para predecir caída de función pulmonar, pero sí mayor mortalidad.

CONCLUSIONES

Niveles séricos de KL6 >100 UI, CC16 >31.2 ng/ml y MMP-7 >12.1ng/ml son predictores de mortalidad independientes a las variables clínicas medidas por GAP.

Agregar biomarcadores séricos al índice de GAP incrementa la sensibilidad pronóstica de la prueba.

Los biomarcadores séricos basales no guardan correlación con la evolución funcional medida por espirometria o con DLCO.

BIBLIOGRAFIA

1. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, et al. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(6):788–824.
2. Ley B, Collard HR. Epidemiology of idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Epidemiol*. 2013;5(1):483–92.
3. Fernández Pérez ER, Daniels CE, Schroeder DR, St. Sauver J, Hartman TE, Bartholmai BJ, et al. Incidence, prevalence, and clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis a population-based study. *Chest*. 2010;137(1):129–37.
4. García-Sancho Figueroa MC, Carrillo G, Pérez-Padilla R, Fernández-Plata MR, Buendía-Roldán I, Vargas MH, et al. Risk factors for idiopathic pulmonary fibrosis in a Mexican population. A case-control study. *Respir Med*. 2010;104(2):305–9.
5. Hypotheses E. Review Idiopathic Pulmonary Fibrosis : Prevailing and Evolving Hypotheses about Its Pathogenesis and Implications for Therapy. 2001;(2).
6. Cicchitto G, Sanguinetti CM. Idiopathic pulmonary fibrosis: The need for early diagnosis. *Multidiscip Respir Med*. 2013;8(8):1.
7. Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, Azuma A, Brown KK, Costabel U, et al. Efficacy and Safety of Nintedanib in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med [Internet]*. 2014;370(22):2071–82. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1402584>
8. Collard HR, Richeldi L, Kim DS, Taniguchi H, Tschöepe I, Luisetti M, et al. Acute exacerbations in the INPULSIS trials of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J [Internet]*. 2017;49(5). Available from: <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01339-2016>
9. King TE, Bradford WZ, Castro-Bernardini S, Fagan EA, Glaspole I, Glassberg MK, et al. A Phase 3 Trial of Pirfenidone in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med [Internet]*. 2014;370(22):2083–92. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1402582>
10. Vancheri C, Kreuter M, Richeldi L, Ryerson CJ, Valeyre D, Grutters JC, et al. Nintedanib with add-on pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis: Results of the INJOURNEY trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197(3):356–63.
11. Hughes G, Toellner H, Morris H, Leonard C, Chaudhuri N. Real World Experiences: Pirfenidone and Nintedanib are Effective and Well Tolerated Treatments for Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *J Clin Med [Internet]*. 2016;5(9):78. Available from: <http://www.mdpi.com/2077-0383/5/9/78>

12. Paul J. Wolters¹, Harold R. Collard¹ and KDJ. Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Paul. *Annu Rev Pathol.* 2014;(9):157–79.
13. Sgalla G, Iovene B, Calvello M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenesis and management. *Respir Res.* 2018;19(1):1–18.
14. Ley B, Brown KK, Collard HR. Molecular biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *AJP Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2014;307(9):L681–91. Available from: <http://ajplung.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajplung.00014.2014>
15. Rosas IO, Richards TJ, Konishi K, Zhang Y, Gibson K, Lokshin AE, et al. MMP1 and MMP7 as potential peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS Med.* 2008;5(4):0623–33.
16. Richards TJ, Kaminski N, Baribaud F, Flavin S, Brodmerkel C, Horowitz D, et al. Peripheral blood proteins predict mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(1):67–76.
17. Pardo A, Selman M. Role of matrix metalloproteases in idiopathic pulmonary fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* [Internet]. 2012;5(Suppl 1):S9. Available from: <http://fibrogenesis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1755-1536-5-S1-S9>
18. Bauer Y, White ES, de Bernard S, Cornelisse P, Leconte I, Morganti A, et al. MMP-7 is a predictive biomarker of disease progression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *ERJ Open Res* [Internet]. 2017;3(1):00074-2016. Available from: <http://openres.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/23120541.00074-2016>
19. Hamai K, Iwamoto H, Ishikawa N, Horimasu Y, Masuda T, Miyamoto S, et al. Comparative Study of Circulating MMP-7, CCL18, KL-6, SP-A, and SP-D as Disease Markers of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Dis Markers.* 2016;2016.
20. Hirasawa Y, Kohno N, Yokoyama A, Inoue Y, Abe M, Hiwada K. KL-6, a Human MUC1 Mucin, Is Chemotactic for Human Fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;17(4):501–7.
21. Idiopathic P, Fibrosis P. Brief Communication Circulating KL-6 Predicts the Outcome of Rapidly.
22. Satoh H, Kurishima K, Ishikawa H, Ohtsuka M. Increased levels of KL-6 and subsequent mortality in patients with interstitial lung diseases. *J Intern Med.* 2006;260(5):429–34.
23. Yokoyama A, Kondo K, Nakajima M, Matsushima T, Takahashi T, Nishimura M, et al. Prognostic value of circulating KL-6 in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* [Internet]. 2006;11(2):164–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16548901>
24. Buendía-Roldán I, Ruiz V, Sierra P, Montes E, Ramírez R, Vega A, et al. Increased

expression of CC16 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One*. 2016;11(12):1–11.

25. King TE, Tooze J a, Schwarz MI, Brown KR, Cherniack RM. Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis: scoring system and survival model. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(7):1171–81.
26. Wells AU, Desai SR, Rubens MB, Goh NSL, Cramer D, Nicholson AG, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: A composite physiologic index derived from disease extent observed by computed tomography. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(7):962–9.
27. Latsi PI, Du Bois RM, Nicholson AG, Colby T V., Bisirtzoglou D, Nikolakopoulou A, et al. Fibrotic idiopathic interstitial pneumonia: The prognostic value of longitudinal functional trends. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(5):531–7.
28. Collard HR, King TE, Bartelson BB, Vourlekis JS, Schwarz MI, Brown KK. Changes in clinical and physiologic variables predict survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(5):538–42.
29. Lettieri CJ, Nathan SD, Browning RF, Barnett SD, Ahmad S, Shorr AF. The distance-saturation product predicts mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med*. 2006;100(10):1734–41.
30. Alakhras M, Decker PA, Nadrous HF, Collazo-Clavell M, Ryu JH. Body mass index and mortality in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* [Internet]. 2007;131(5):1448–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.06-2784>
31. Best AC, Meng J, Lynch AM, Bozic CM, Miller D, Grunwald GK, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Physiologic Tests, Quantitative CT Indexes, and CT Visual Scores as Predictors of Mortality. *Radiology* [Internet]. 2008;246(3):935–40. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2463062200>
32. Caminati A, Bianchi A, Cassandro R, Rosa Mirenda M, Harari S. Walking distance on 6-MWT is a prognostic factor in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med* [Internet]. 2009;103(1):117–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2008.07.022>
33. Zappala CJ, Latsi PI, Nicholson AG, Colby T V., Cramer D, Renzoni EA, et al. Marginal decline in forced vital capacity is associated with a poor outcome in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2010;35(4):830–5.
34. Du Bois RM, Weycker D, Albera C, Bradford WZ, Costabel U, Kartashov A, et al. Ascertainment of individual risk of mortality for patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(4):459–66.
35. Ley B, Ryerson CJ, Vittinghoff E, Ryu JH, Tomassetti S, Lee JS. *Annals of Internal Medicine* A Multidimensional Index and Staging System for Idiopathic. 2013;
36. Tzouvelekis A, Herazo-Maya JD, Slade M, Chu J, Deiuliis G, Ryu C, et al. Validation of

the prognostic value of MMP-7 in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* [Internet]. 2017;22(3):486–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/resp.12920>

37. Sokai A, Tanizawa K, Handa T, Kanatani K, Kubo T, Ikezoe K, et al. Importance of serial changes in biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *ERJ Open Res* [Internet]. 2017;3(3):00019-2016. Available from: <http://openres.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/23120541.00019-2016>

ANEXOS

Anexo 1. Criterios diagnósticos de FIPI con base al consenso 2011¹

1. Exclusión de causas conocidas de enfermedad intersticial difusa (Exposición ambiental, ocupacional y domestica, enfermedades de tejido conectivo, y drogas toxicas).
2. Presencia de un patrón de neumonía intersticial usual en la Tomografía de Alta Resolución en pacientes no candidatos a biopsia de pulmón. (Ver tabla 2)
3. Combinación específica de TAC-AR y biopsia pulmonar en pacientes candidatos a biopsia de pulmón.

ANEXO 2. Criterios de clasificación tomográfica de Neumonía Intersticial¹

Patrón típico de NIU (4 Características)	Posible patrón de NIU (3 características)	Incompatible con NIU (una de las 7 características)
<ul style="list-style-type: none"> • Predominio subpleural, basal • Patrón reticular • Panal de abeja con o sin bronquiectasias por tracción • Ausencia de características enlistadas en patrón incompatible con NIU 	<ul style="list-style-type: none"> • Predominio subpleural, basal • Patrón reticular • Ausencia de características enlistadas en patrón incompatible con NIU 	<ul style="list-style-type: none"> • Predominio apical o medio pulmonar • Predominio peribroncovascular • Vidrio esmerilado extenso • Micronodulos abundantes (bilaterales, de predominio en lóbulos apicales) • Quistes discretos (múltiples, bilaterales, lejos de las lesiones en panal de abeja) • Mosaico difuso/atrapamiento aéreo (bilateral, en tres o más lóbulos) • Consolidación en segmentos o lóbulos broncopulmonares