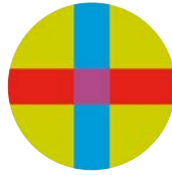


Universidad CEU Cardenal Herrera
CEINDO – CEU Escuela Internacional de Doctorado

Programa en Medicina Traslacional



CEU

*Universidad
Cardenal Herrera*

**INTERVENCIÓN BASADA EN MINDFULNESS EN
PACIENTES CON ENFERMEDAD
INFLAMATORIA INTESTINAL: ENSAYO
CONTROLADO ALEATORIZADO**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Rafael González Moret

Dirigida por:

Dr. D. José Miguel Soria López

Dr. D. Juan Francisco Lisón Párraga

Castellon

2021

Agradecimientos

A Isabel Almodóvar y a Óscar Velasco porque si no fuera por ellos no estaría aquí.

A Mario, Hugo, Abri, Júlia y Valeria por haberse convertido en mi ilusión y esperanza, sois muy grandes.

A Eugenia Moreno (mi PAS), sin la cual no hubiera acabado la Tesis y a Antonio Real por estar siempre ahí y alegrarme/amargarme la vida.

A Isabel Aleixandre, Jordi, Lidia Ibáñez y Sara Paradells por su cariño, amistad y ayuda para acabar esta Tesis.

A Nurí por su apoyo y hacerme soñar con islas desiertas.

A mi familia: Nacho, Román, Carla y Paula y a quien los aguantan Fernando, Dolores y Koke por hacerme sentir orgulloso de mi familia.

A mi familia de Granada (Santi, Lolo y Luis) porque, aunque estamos lejos siempre estamos juntos.

A mis compis de cafés y de lamentos por su ánimo y paciencia.

A Paula Sánchez por ser mi referente como profesional y como persona, espero poder seguir aprendiendo tanto de ti.

A Paco Pareja por regalarme su amistad que tanto valoro y ser mi compañero y confidente en este largo camino "Doctoral".

A mis Directores de Tesis por su ánimo y ayuda, de los cuales me ha quedado aún mucho que aprender.

Y sobre todo, a mi Madre por hacerme creer en mí y soñar con conseguir llegar a lo más alto, y a mi Padre por ser mi modelo de esfuerzo, superación y honestidad.

A ambos por su amor incondicional y todo su apoyo.

Os quiero mucho.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS

1. INTRODUCCIÓN: ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	21
1.1. EPIDEMIOLOGÍA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	21
2. ANATOMÍA DEL APARATO DIGESTIVO: ESTRUCTURA DEL INTESTINO	27
2.1. MICROBIOTA Y DISBIOSIS	28
3. ETIOPATOGENIA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	31
3.1. PAPEL DEL SISTEMA INMUNITARIO DURANTE EL PROCESO INFLAMATORIO	32
3.2. INFLUENCIA DEL FACTOR GENÉTICO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	38
3.3. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	39
3.3.1. EFECTOS DEL CONSUMO DEL TABACO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	39
3.3.2. REPERCUSIÓN DE LA DIETA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	40
3.3.3. INFLUENCIA DEL ESTRÉS EN LA APARICIÓN DE BROTES	41
3.3.4. ESTRÉS E INFLAMACIÓN	45
3.3.5. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD DE CROHN.....	47
3.3.6. SINTOMATOLOGÍA DE LA COLITIS ULCEROSA.....	51
3.3.7. DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	54
3.3.8. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	55
3.3.9. UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES	57

3.3.10.	USO DE LOS BIOMARCADORES A PARTIR DE MUESTRAS BIOLÓGICAS: BIOMARCADORES EN SANGRE.....	61
3.3.11.	CALPROTECTINA FECAL E INFLAMACIÓN INTESTINAL	63
3.3.12.	CORTISOL EN PELO.....	64
3.3.13.	CALIDAD DE VIDA EN EL PACIENTE CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.....	65
4.	MINDFULNESS.....	67
4.1.	HISTORIA Y ANTECEDENTES	67
4.2.	IMPORTANCIA DE LA MEDITACIÓN EN LA PRÁCTICA DE MINDFULNESS.....	70
4.3.	CONCEPTOS IMPORTANTES EN MINDFULNESS.....	72
4.4.	MINDFULNESS Y ESTRÉS.....	73
4.5.	MINDFULNESS Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	74
5.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	77
6.	METODOLOGÍA	79
6.1.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	79
6.2.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	80
6.3.	PROCEDIMIENTO	80
6.4.	VARIABLES DEL ESTUDIO	82
6.4.1.	VARIABLE PRINCIPAL	82
6.4.2.	VARIABLES SECUNDARIAS	82
6.5.	INTERVENCIÓN.....	84
6.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	88
7.	RESULTADOS	89
8.	DISCUSIÓN.....	95
9.	CONCLUSIONES.....	103
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	105
11.	ANEXOS.....	127

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Distribución de la prevalencia e incidencia en Europa.
Fuente: Elaboración propia.
- Figura 2. Distribución de la EII en España. Fuente: Elaboración propia.
- Figura 3. Corte transversal de la pared intestinal. Fuente: Hall JE. Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica⁶.
- Figura 4. Actuación del sistema inmunitario: Inmunidad innata y adquirida.
Fuente: Elaboración propia, basado en Abbas AK, Lichtman AHH,⁹ Pillai S. Inmunología celular y molecular²⁶.
- Figura 5. Proceso inflamatorio intestinal. Fuente: Elaboración propia, basado en Paola T. Visión panorámica del sistema inmune³².
- Figura 6. Relación del estrés en tracto gastrointestinal. Fuente: Elaboración propia, basado en Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications⁵⁶.
- Figura 7. Estrés e inflamación. Fuente: Elaboración propia, basado en Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications⁵⁶.
- Figura 8. Afectación en el aparato digestivo de la Enfermedad de Crohn.
Fuente: Elaboración propia basada en Farmacia.bio Medicina Natural [Página web]. Convivo con una enfermedad inflamatoria intestinal y no mejora con medicación, ¿qué hago? [Consultado marzo 2019]. Disponible en: <https://www.farmacia.bio/que-me-tomo-para/enfermedad-inflamatoria-intestinal/>
- Figura 9. Manifestaciones físicas en la Colitis Ulcerosa. Fuente: Elaboración

propia basada en Farmacia.bio Medicina Natural [Página web].
Convivo con una enfermedad inflamatoria intestinal y no mejora
con medicación, ¿qué hago? [Consultado marzo 2019]. Disponible
en: [https://www.farmacia.bio/que-me-tomo-para/enfermedad
inflamatoria-intestinal/](https://www.farmacia.bio/que-me-tomo-para/enfermedad-inflamatoria-intestinal/)

- Figura 10. Algoritmo de monitorización de la enfermedad inflamatorio intestinal con los biomarcadores: calprotectina fecal y proteína C reactiva. Fuente: Basado en Benítez Cantero JM , García Sánchez V. Enfermedad inflamatoria intestinal. Madrid: Ergón; 2018.
- Figura 11. Algoritmo para el uso de CF en la detección de EII. Fuente: Basado en Reeneaers C, Bossuyt P, Hindryckx P, et al. Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of inflammatory bowel disease in daily clinical practice. UEGJ. 2018;6(8):1117-1125.
- Figura 12. Departamento de Salud de Sagunto. Fuente: Basado en Generalitat Valenciana. Departamento de Salud de Sagunto. [Consultado mayo 2019]. Disponible en: <http://sagunto.san.gva.es/departamento-de-salud-de-sagunto>.
- Figura 13. Diagrama de aleatorización de los participantes en el estudio. Fuente: Elaboración propia.
- Figura 14. Cronograma y estructura de la intervención. Fuente: Elaboración propia.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Clasificación de Montreal para enfermedad de Crohn. Fuente: Martínez-Chamorro A. Estudio de polimorfismos genéticos en los genes HLA, MICA, NOD2 y TLRs en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal².
- Tabla 2. Clasificación de Montreal para Colitis Ulcerosa. Fuente: Martínez Chamorro. Estudio de polimorfismos genéticos en los genes HLA, MICA, NOD2 y TLRs en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal².
- Tabla 3. Precisión diagnóstica de calprotectina fecal y proteína C reactiva en enfermedad intestinal activa. Fuente: Basado en Benítez Cantero JM, García Sánchez V. Enfermedad inflamatoria intestinal. Madrid: Ergón; 2018
- Tabla 4. Características clínicas de los participantes en el estudio. Fuente: Elaboración propia.
- Tabla 5. Comparación de los resultados de Calprotectina fecal, proteína C reactiva y cortisol (Biomarcadores) inter-grupo y entre grupos. Fuente: Elaboración propia.

ÍNDICE DE GRÁFICAS

- Gráfica 1 Resultados de los valores de Calprotectina Fecal entre grupos e inter-grupo en el inicio y a los 6 meses. Fuente: Elaboración propia.
- Gráfica 2 Resultados de los valores de la Proteína C Reactiva entre grupos e inter-grupo en el inicio y a los 6 meses. Fuente: Elaboración propia.
- Gráfica 3 Resultados de los valores de Cortisol entre grupos e inter-grupo en el inicio y a los 6 meses. Fuente: Elaboración propia.

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1 Artículo publicado Scientific Reports (Q1). González-Moret R, Cebolla A, Cortés X, Baños RM, Navarrete J, de la Rubia JE, et al. The effect of a mindfulness-based therapy on different biomarkers among patients with inflammatory bowel disease: a randomised controlled trial. Sci Rep. 2020;10(1):1-7.
- Anexo 2. Informe del Comité Bioética Hospital de Sagunto.
- Anexo 3. Consentimiento informado.
- Anexo 4. Índice de Harvey Bradshaw para la actividad de la EC. Fuente: Elaboración propia.
- Anexo 5. Índice de Mayo Parcial para actividad de CU. Fuente: Elaboración propia.
- Anexo 6. Datos sociodemográficos. Fuente: Elaboración propia.
- Anexo 7. Kit análisis ELISA DRG.
- Anexo 8. Kit reactivos análisis CF.
- Anexo 9. Kit reactivos análisis PCR.
- Anexo 10. Actividades Formativas del Doctorado

RESUMEN

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) comprende principalmente dos patologías: la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, ambas cursan con periodos de exacerbación y de remisión, con una sintomatología muy limitante.

Se trata de una enfermedad de etiología desconocida que en los últimos años ha experimentado un aumento progresivo de la incidencia y prevalencia a nivel mundial. Esta enfermedad afecta igualmente a ambos sexos y geográficamente se distribuye con mayor prevalencia en países desarrollados (hemisferio norte) y más en la zona occidental que en la oriental.

A pesar de no conocer exactamente las causas que producen esta enfermedad, los estudios realizados hasta el momento indican que se puede deber a la confluencia de factores genéticos predisponentes y factores ambientales como: la dieta, estrés, tabaco, etc. Esta combinación de factores favorece la aparición de disbiosis que conlleva una mayor permeabilidad de la barrera intestinal, dando acceso al interior de las paredes del intestino a patógenos que provocan infecciones; esto activa al sistema inmunitario, estimulando la producción de citocinas, que desencadenan un proceso inflamatorio a nivel local y que, a su vez, dará lugar a la aparición de la sintomatología de estas enfermedades: úlceras, sangrado, anemia, dolor abdominal y diarrea, lo cual repercute a nivel físico y psicológico en ellos.

El mindfulness es una actitud vital, se define como “Atención plena” y se basa en ser conscientes del momento presente desde la aceptación, entendiendo por ella, una curiosidad ausente de juicio ético, sin valoración con aceptación y sin juzgar. Esta “conciencia plena” se puede entrenar en prácticas formales e informales y ha demostrado su eficacia en la reducción de estrés, ansiedad y depresión.

Nuestra hipótesis es que, conociendo los mecanismos que pueden favorecer la aparición o el empeoramiento de la sintomatología de la EII, una intervención basada en mindfulness es capaz de reducir los niveles de estrés y con ello reducir o evitar la aparición de brotes.

En la intervención basada en mindfulness de este estudio se calculó la muestra necesaria y se aleatorizó a los participantes que cumplían los criterios de inclusión y exclusión en dos grupos: grupo Intervención Basada en Mindfulness (IBM) y grupo Tratamiento Médico Estándar (TME). Se realizaron 4 sesiones presenciales durante 8 semanas, siguiendo el modelo de Kabat Zinn “Mindfulness Based Stress Reduction” (MBSR) y sesiones “on line” para que pudieran continuar las prácticas individualmente.

Para comprobar la eficacia de esta intervención, se tomaron muestras de sangre, pelo y heces, antes de empezar la intervención y a los 6 meses, de las cuales se analizaron los niveles de biomarcadores como: la calprotectina fecal (CF), la proteína C reactiva (PCR) y el cortisol.

Este estudio además de aportar el análisis de biomarcadores, CF, PCR y cortisol durante seis meses, es innovador en el uso de una plataforma web, donde de manera individual, se proponen ejercicios en cuatro módulos para facilitar y fomentar el conocimiento sobre mindfulness y la práctica en la “conciencia plena”, con ejercicios adaptados al nivel del usuario.

Los resultados obtenidos en CF y PCR confirman nuestra hipótesis, la intervención basada en mindfulness es capaz de reducir los niveles de ambos biomarcadores transcurridos los seis meses y mejorar su estado de salud, reduciendo brotes.

Tras este estudio se puede afirmar empíricamente el beneficio que supone una intervención basada en mindfulness en los pacientes que sufren enfermedad inflamatoria intestinal.

LISTADO DE ABREVIATURAS

µg: Microgramo

µL: Microlitro

5-ASA: Ácido 5-aminosalicílico

AC: Antes de Cristo

Ac: Anticuerpo

AcM: Anticuerpos monoclonales.

ACT (Acceptance and commitment therapy): Terapia de aceptación y compromiso

ACTH: Adenocorticotropa o corticotropina

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta

AINE: Anti inflamatorio no esteroideo

ANCOVA (Analysis of covariance): Análisis de covarianza

CF: Calprotectina fecal

cm: Centímetro

CRF: (Corticotropin releasing factor): Factor de liberación de corticotropina

CU: Colitis ulcerosa

DAMPs (Damage-associated molecular patterns): patrones moleculares asociados al daño

DBT (Dialectical behavioral therapy): Terapia dialéctico conductual

DE: Desviación estándar

EC: Enfermedad de Crohn

ECA: Ensayo controlado aleatorizado

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EEUU: Estados unidos

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay): Ensayo por inmunoabsorción
ligado a enzimas

Fe: Hierro

g: Gramo

GI: Gastrointestinal

Hct: Hematocrito

Hb: Hemoglobina

HLA (Human leukocyte antigen): Antígeno leucocitario humano

HPA: Hipotálamo-pituitaria-adrenal

IBM: Intervención basada en mindfulness

IC: Intervalo de confianza

IFN: Interferón

Ig: Inmunoglobulinas

Il: Interleucinas

MBCT (Mindfulness based cognitive therapy): Terapia cognitiva basada en
mindfulness

MBSR (Mindfulness based stress reduction): Reducción de estrés basado en
mindfulness

mgrs: Miligramos

NK: Natural killers

NOD2 (Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2): El dominio de oligomerización por unión de nucleótidos que contiene la proteína 2

NV: Nervio vago

ngrs: Nanogramos

ONU: Organización de naciones unidas

PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns): patrones moleculares asociados a patógenos

PBS (Phosphate buffered saline): Tampón fosfato salino

PCR: Proteína C reactiva

PDW (Platelet distribution Width): Distribución del ancho de plaquetas

PSS (Perceived stress scale): Escala de estrés percibido

RTT: Receptores tipo toll

RRP: Receptores de reconocimiento de patrones

SNA: Sistema nervioso autónomo

SNAS: Sistema nervioso autónomo simpático

SNAP: Sistema nervioso autónomo parasimpático

SNE: Sistema nervioso entérico

SNP: Sistema nervioso parasimpático

SNS: Sistema nervioso simpático

SPIRIT: Spanish pediatric IBD retrospective study of incidence trends

SPSS (Statistical product and service solution): Programa estadístico y servicio de soluciones

TGF- β (Transforming growth factor beta): Factor de crecimiento transformante beta

TGI: Tracto gastrointestinal

Th 1: Linfocitos T helper 1

Th 2: Linfocitos T helper 2

Th17: Linfocitos T helper 17

TLR4 (Toll-like receptor 4): Receptor tipo Toll 4

TME: Tratamiento médico estándar

TNF (Tumor necrosis factor): Factor de necrosis tumoral (FNT)

UFC: Unidades formadoras de colonias

VSG: Velocidad de sedimentación glomerular

η^2 : Eta cuadrado parcial

1. INTRODUCCIÓN: ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

1.1. EPIDEMIOLOGÍA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) engloba a dos grandes patologías: Enfermedad de Crohn (EC) y Colitis Ulcerosa (CU), y aunque son dos entidades patológicas diferentes, tienen en común aspectos semejantes, como la aparición de úlceras, dolor abdominal, aumento de permeabilidad del epitelio intestinal y genes afectados.

Es una enfermedad crónica que cursa con periodos de exacerbación y remisión, posiblemente modulados por la predisposición genética y los factores ambientales externos, y afecta a aproximadamente a 7 millones de personas en todo el mundo, lo que supone alrededor de un 0,10% de la población mundial^[1].

La enfermedad puede debutar a cualquier edad pero la mayor incidencia se suele dar en dos intervalos de edades, de 20 a 30 años y entre los 60 y los 70 años^[2]. Otros autores afirman que cada vez la aparición de la enfermedad es más temprana (menos de 12 años), y en estos casos se produce de manera más virulenta, es decir, se asocia con un curso evolutivo más agresivo^[3].

A nivel mundial la colitis ulcerosa es más frecuente que la enfermedad de Crohn. El hemisferio norte es donde se encuentran las tasas más altas de prevalencia, situándose en uno de cada 200 habitantes para CU y uno de cada 300 para EC en países desarrollados^[4,5], siendo posiblemente Japón el país con menor número de casos -a pesar de ser uno de los países más industrializados del planeta-; esto se debe asociar con la parte genética de la enfermedad^[6].

Se sigue observando una mayor tasa de casos en el hemisferio norte, a pesar del aumento de la incidencia, cada vez mayor, en los países más australes. Este hecho se explica por la industrialización de los países en vías de desarrollo. De hecho, se ha observado este aumento de casos en Asia, vaticinándose un aumento progresivo en los próximos años con motivo de la urbanización y del éxodo de las zonas rurales a las ciudades^[7,8]. Por raza o grupo étnico sigue habiendo mayor

prevalencia de EC y CU en caucásicos, si los comparamos con afroamericanos e hispanos, y la CU es más común en asiáticos, sobre todo en el sur de Asia^[9].

Por este mismo motivo se han hallado mayores diferencias entre este y oeste; la incidencia en Europa occidental y oriental difirió en un factor de 1.9 [intervalo de confianza (IC) del 95%: 1.5–2.4] para la EC, y 2.1 (IC del 95%: 1.8 - 2.6) para la CU. La incidencia promedio de la EC fue de 6,5 casos por cada 100.000 en Europa occidental y 3,1 en Europa del Este, mientras que la incidencia de CU fue de 10,8 y 4,1, respectivamente^[10] (Figura 1).

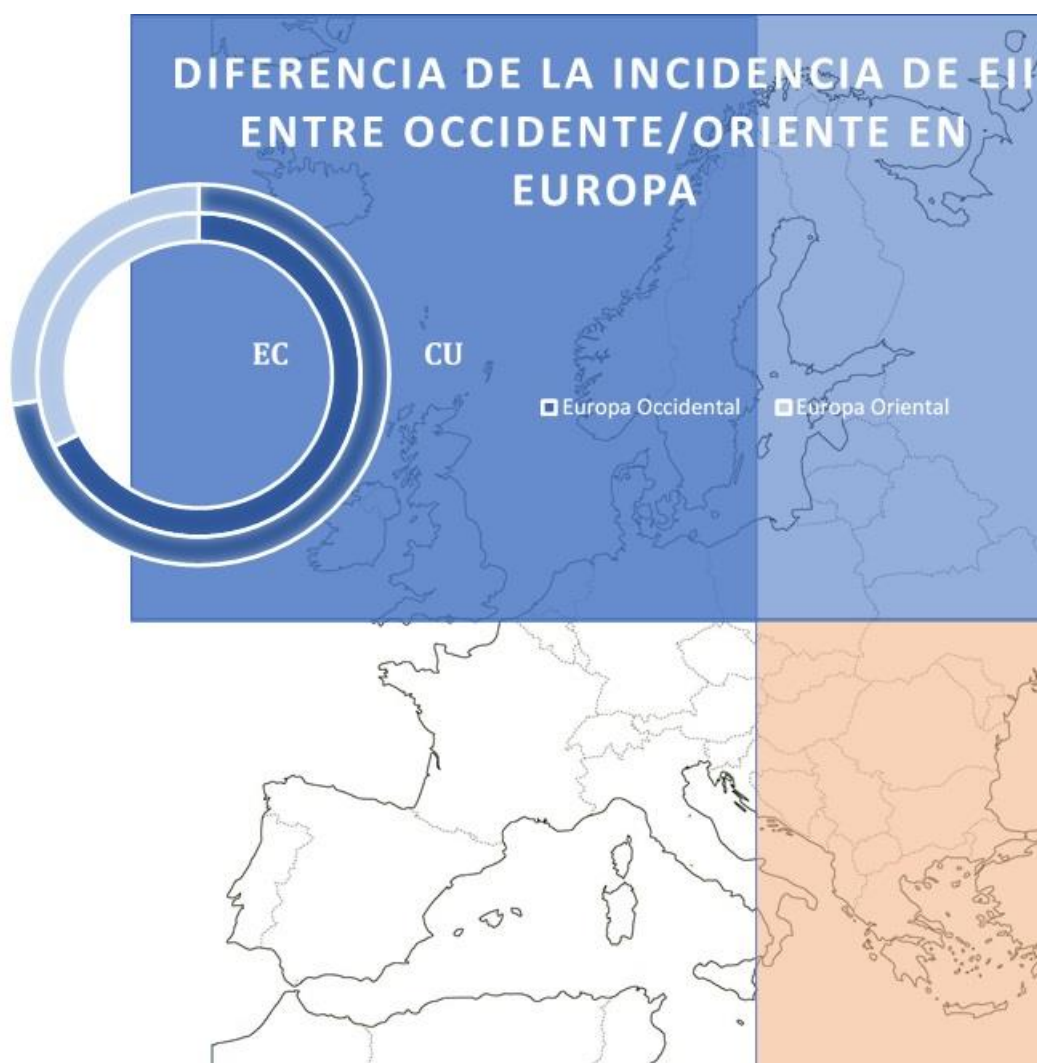


Figura 1. Distribución de la prevalencia e incidencia en Europa. Elaboración propia.

- Zona con mayor incidencia acumulada de EII. 6,5 /100.000 hab. EC y 10,8/100.000 hab. en CU.
- Europa del Este Incidencia acumulada de EII 3,1/100.000 hab. EC y 4,1/100.000 hab. en CU.
- Zona con menor incidencia en Europa.

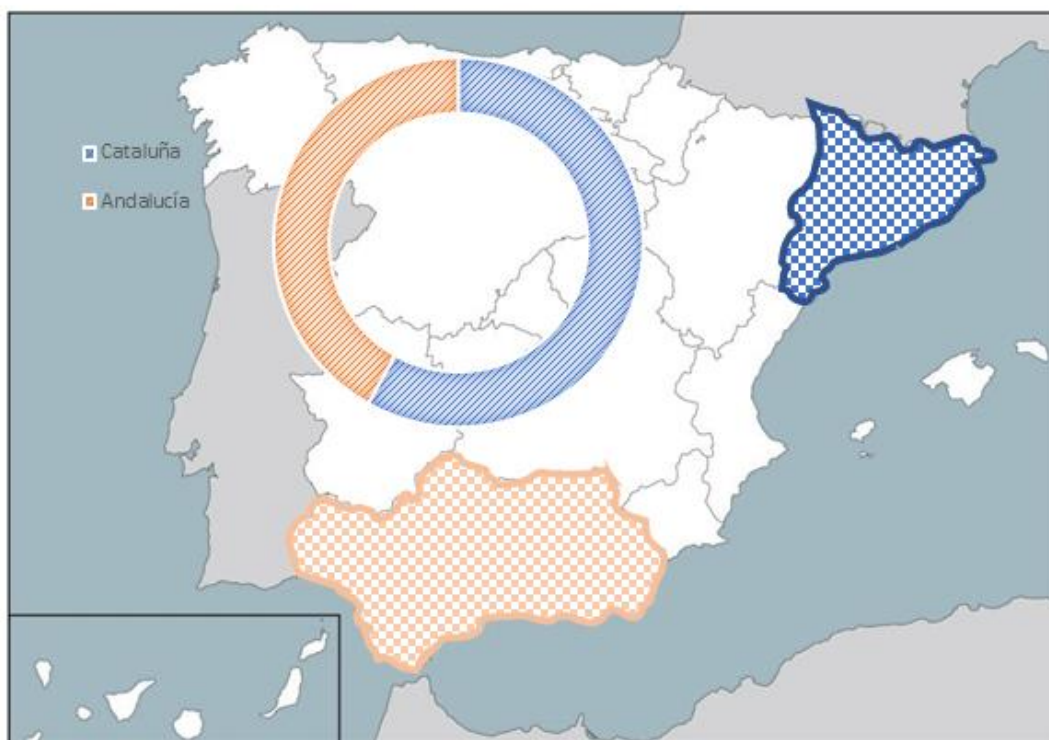
En un estudio reciente, se ha realizado una revisión sistemática de 119 trabajos de incidencia y 69 de prevalencia. Los valores de prevalencia más altos se registraron en Europa, concretamente en Noruega se observaron 505 casos por cada 100.000 habitantes de CU, y 322 casos de EC por cada 100.000 habitantes en Alemania. En Estados Unidos los casos de CU fueron 286 por cada 100.000 habitantes y en Canadá 319 por cada 100.000 habitantes de EC^[5].

La incidencia pediátrica ha aumentado en estos últimos años de manera exponencial, cada vez la enfermedad debuta antes y es de mayor virulencia, es lo que se ha denominado “anticipación genética”^[6].

En un estudio realizado en España llamado SPIRIT (Spanish Pediatric IBD Retrospective study of Incidence Trends), se ha comprobado cómo se ha multiplicado el número de casos por tres en 1996 y por 2 en 2009, con una relación en la actualidad de entre 5 y 12 casos por 100.000 habitantes para la CU y de 3,5 a 9,5 por cada 100.000 habitantes para la EC, comparándose con el paradigmático caso de Gales y Escocia en el periodo de 1983 a 1993^[4,5]. Además del aumento en el número de casos, también se aprecia una reducción en la mediana de edad de inicio, pasando de los 12,7 a los 11,9 años. Prevalenciando en este caso la EC sobre la CU (55,3% contra un 37,4%).

En España, a pesar del creciente número de casos pediátricos, se mantiene la proporción en relación con el paciente adulto de 1/3, es decir, los pacientes pediátricos siguen siendo alrededor del 34%.

En cuanto a la distribución geográfica, también sigue la tendencia mundial de ser el norte el que cuenta con una mayor incidencia; a modo de ejemplo, Cataluña cuenta con unos 15 casos por cada 100.000 habitantes entre ambas enfermedades, mientras que Andalucía no llega a 11 casos por cada 100.000 habitantes^[11] (Figura 2).





-  Prevalencia en Cataluña. 15 casos por cada 100.000 habitantes.
-  Prevalencia en Andalucía. 10,8 casos por 100.000 habitantes.

Figura 2 Distribución de la EII en España. Elaboración propia.

Con todo, la incidencia pediátrica en España sigue por debajo de la que podemos encontrar en el norte de Europa y Estados Unidos.^[11]

En el periodo de 2005 a 2014, en un estudio en Cataluña, se aprecia un aumento de la prevalencia de la enfermedad, que se asocia a su vez con tasas de mortalidad significativamente más altas. Los datos obtenidos sugieren que en los próximos diez años puede duplicarse la prevalencia.^[12]

En general, la tendencia en cuanto a la mortalidad en los pacientes con EII ha ido equiparándose, en gran parte debido a los nuevos tratamientos, con los cuales se han obtenido mejores resultados, además de la reducción de los casos de cáncer de colon, que se asocia directamente con la muerte. Por tanto, se puede afirmar que la mortalidad de pacientes con EII no difiere en relación a la población general.^[13,14]

En resumen, durante el siglo XXI la enfermedad inflamatoria intestinal se ha convertido en una enfermedad global con una incidencia acelerada en los países recientemente industrializados cuyas sociedades se han vuelto más occidentalizadas. Aunque la incidencia se está estabilizando en los países occidentales, la carga sigue siendo alta, ya que la prevalencia supera el 0,3% en Norte América y cada vez más se incrementa la incidencia en los países en vías de desarrollo y Asia. Por ello, es importante que continúe la investigación sobre la prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal y las innovaciones en los sistemas de atención médica para conseguir controlarla^[1,5].

2. ANATOMÍA DEL APARATO DIGESTIVO: ESTRUCTURA DEL INTESTINO

El aparato digestivo está formado por la boca, el esófago, el estómago, los intestinos delgado y grueso, el apéndice y el ano. Su función principal es la ingestión, la digestión y la absorción de nutrientes, además del almacenamiento y la expulsión de los productos de desecho corporales^[15].

Anatómicamente las capas de tejido del intestino son cinco; la más superficial es la capa serosa, tras ésta encontramos una capa de músculo liso seguida de otra de músculo circular, capa submucosa y por último la capa mucosa^[16](Figura 3).

Tanto en el intestino delgado como en el grueso existen las denominadas criptas de Lieberkuhn; están compuestas principalmente por células caliciformes y células de Paneth, es lo que denominamos barrera intestinal y es la primera defensa del sistema inmunitario^[16].

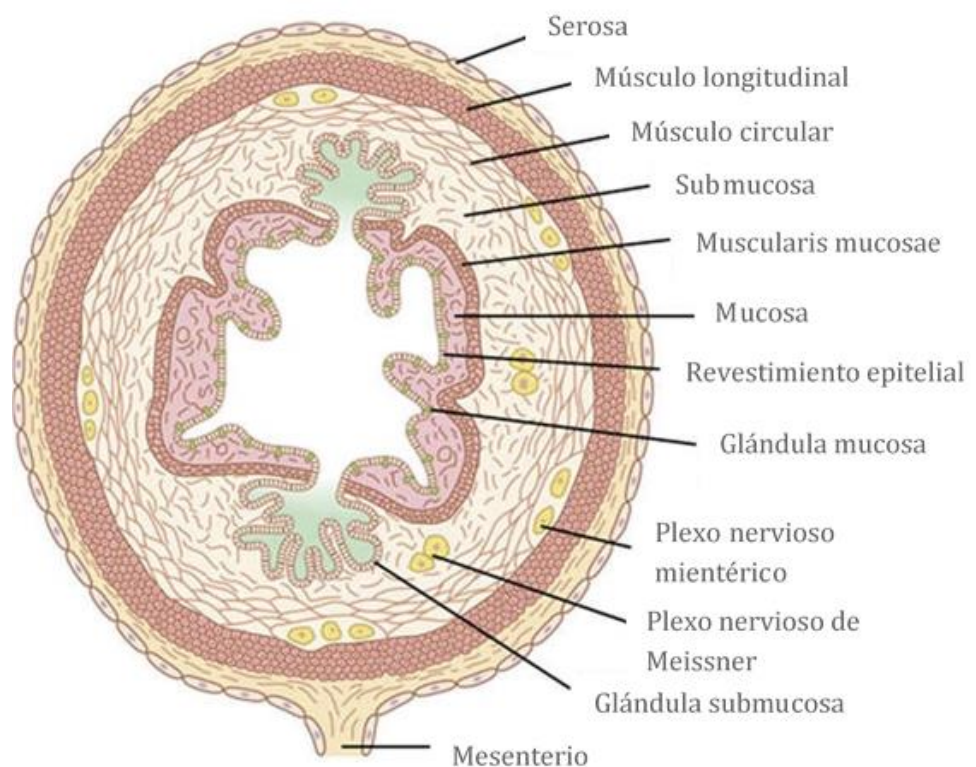


Figura 3. Corte transversal de la pared intestinal. Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica.

A continuación, se describen las células que tienen más importancia en el aspecto anatómico del sistema digestivo.

Las células caliciformes producen principalmente mucinas glicosiladas (moco). Su función es de defensa ante nemátodos y el transporte de antígenos lumbinales pequeños a células dendríticas tolerogénicas. Protege la pared del intestino ante escoriaciones y los ácidos fecales. Estas células se encuentran de manera más abundante en el íleon.

Las células de Paneth son células epiteliales muy especializadas. Su misión es defender la mucosa intestinal y lo hacen excretando gránulos de péptidos antimicrobianos, como las α -defensinas; Además regulan la composición de la microbiota^[17].

2.1. MICROBIOTA Y DISBIOSIS

La microbiota, anteriormente a 2014 denominada flora bacteriana, está formada por miles de bacterias, entre comensales y patógenas. La densidad de la población en el colon es mayor que en el intestino delgado. Se miden en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC)/mL, llegando a 10^{11} (UFC)/mL.; multiplicado por el volumen del colon la cantidad de bacterias asciende a 10^{14} UCF/mL. Además de la cantidad, el colon cuenta con una mayor diversidad de especies bacterianas en comparación con el intestino delgado^[18].

El microbioma hace referencia al conjunto de microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado. El microbioma intestinal es muy diverso, llegando a alcanzar más de 1000 especies bacterianas diferentes, principalmente anaerobias. Está constituido por Firmicutes y Bacteroidetes, y en menor medida por Actinobacterias. El 90% de la microbiota intestinal está formada por los bacteroidetes^[19].

La disbiosis es una patología del sistema digestivo consistente en un desequilibrio entre las bacterias beneficiosas y las perjudiciales en el tracto gastrointestinal. Cuando disminuye el tipo y el número de bacterias protectoras en el organismo, se produce un aumento de las bacterias patógenas y de las citocinas proinflamatorias; en consecuencia, se produce un aumento en la permeabilidad de la barrera intestinal, que permite el paso de patógenos al interior del tejido intestinal, produciendo: infecciones, inflamación, lesiones hísticas, úlceras, dolor, sangrado, déficit de absorción de nutrientes, diarrea, etc. (Figura 4)^[20,21].

Por otra parte, durante el proceso inflamatorio los AGCC existentes aumentan la producción de lactato en lugar de butirato. Este cambio es importante porque disminuyen los protectores de la barrera intestinal y del sistema inmune y aumentan la producción de endotoxinas, que van destruyendo células y tejidos^[22], lo cual favorece la permeabilidad de la barrera intestinal y la colonización de microorganismos patógenos^[19,21,22].

3. ETIOPATOGENIA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

La EII es una enfermedad de etiología desconocida pero que se asocia, por un lado, a la predisposición genética y, por otro, a los factores ambientales, donde podemos diferenciar varios factores de riesgo como pueden ser la dieta, el consumo de tabaco, y el nivel de estrés, entre otros.

Se ha observado que estas enfermedades se desarrollan en personas que migran de un lugar de baja incidencia a otro de alta incidencia, lo que se relaciona con los cambios ambientales^[23].

No existe tratamiento curativo, pero es posible, en muchos casos, suprimir la inflamación, curar la mucosa afectada y alcanzar la remisión de los síntomas. Para ello, el arsenal farmacológico disponible comprende la utilización de aminosalicilatos, corticoides, antibióticos, inmunomoduladores, prebióticos y probióticos, y fármacos biológicos (principalmente anticuerpos anti-TNF α o anticitocinas proinflamatorias y anti-integrinas, -todos ellos de administración intravenosa o subcutánea-). Los fármacos presentan una menor o mayor capacidad antiinflamatoria, pero ninguno de ellos está exento de efectos adversos y en la gran mayoría de casos deben utilizarse durante un tiempo indefinido. En la práctica general, el tratamiento es individualizado, sin existir una pauta estandarizada. Se basa en una estrategia inicial consensuada con el paciente en base a su enfermedad (CU o EC), extensión y gravedad de la misma. En función de la respuesta y mediante control estricto en la consulta, se intensifica, cambia o se reduce la medicación. Ante situaciones de gravedad o mala respuesta a tratamientos médicos el paciente requerirá de tratamiento quirúrgico. La probabilidad de precisar cirugía en la EC es en torno a 46% de los casos, con la afectación más frecuente (ileal), y sobre el 15% en pacientes con CU a los diez años del diagnóstico de la enfermedad^[24,25].

Los estudios realizados en 2014 (ESCAPE 2) que refuerzan los datos obtenidos en 2011 (ESCAPE 1) en cuanto a la incidencia, también identifican la marcada reducción del uso de corticoesteroides sistémicos, frente al uso cada vez más frecuente de medicamentos biológicos^[10].

3.1. PAPEL DEL SISTEMA INMUNITARIO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

La función del sistema inmunitario es la defensa del organismo ante los ataques de microorganismos causantes de enfermedades mediante la eliminación de los agentes patógenos. En condiciones normales la barrera epitelial es permeable a nutrientes e iones, e impermeable a los microorganismos del lumen.

El sistema inmunitario está formado por dos tipos de respuesta, la innata y la adaptativa^[26].

El sistema inmunitario innato actúa precozmente y de manera inespecífica. Entre sus componentes se puede encontrar las barreras físicas (como el moco y la barrera epitelial a nivel intestinal) y químicas del propio cuerpo, los neutrófilos, macrófagos, las células Natural Killers (NK), células dendríticas, el sistema del complemento y las citocinas o interleucinas (IL)^[27], como se observa en la figura 4 (Figura 4).

Los receptores presentes en las células de la inmunidad innata son específicos frente a estructuras que son comunes a grupos de microorganismos relacionados, son los denominados receptores de reconocimiento de patrones (RRP o en inglés PRR). Su función es la de reconocer partes concretas y altamente conservadas de los patógenos, lo que se conoce como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), elementos de su superficie y su material genético. Estos receptores también juegan un papel importante en la eliminación de células dañadas y reparación tisular, asociadas al daño celular, reconociendo lo que se conoce como patrones moleculares asociados a peligros (DAMPs)^[28].

En resumen, cuando un antígeno es capaz de superar las barreras físicas y químicas del organismo y es reconocido por los RRP se activan los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas, que actúan casi de inmediato, fagocitando o lisando las células afectadas por el microorganismo. Además de esta defensa temprana, estas células son capaces de activar a los Linfocitos B y T, que darán lugar a la inmunidad adquirida.

La activación del sistema inmunitario innato produce citocinas y quimiocinas (mediadores inflamatorios) que a su vez activan el reclutamiento de otras células inmunitarias adicionales que facilitarán el proceso inflamatorio agudo, como neutrófilos y monocitos. En este proceso inflamatorio agudo además se produce un aumento de la producción de una serie de prostaglandinas y de proteínas, entre ellas la proteína C reactiva^[29].

En cuanto a las citocinas, son proteínas y glucoproteínas encargadas de regular los procesos inflamatorios y el sistema inmunológico. Dentro del grupo de las citocinas se incluyen las interleucinas (IL), el Factor de Necrosis Tumoral (FNT), los Interferones (IFN), los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y las quimiocinas.

La literatura nos indica que se aprecian diferencias entre las citocinas presentes en EC y CU. En la EC las citocinas más abundantes son la IL 2 y el interferón gamma (IFN γ) y en la CU son la IL 4, IL 5, IL 6 e IL 10. Son importantes para el estudio de la EII principalmente la IL 6 y el FNT^[26].

La IL 6 es una glucoproteína que se encuentra en macrófagos, monocitos, fibroblastos y células endoteliales. Participa en la regulación inmunológica, ya que posee efectos proinflamatorios y antiinflamatorios. También actúa en la hematopoyesis y en la fase aguda de las reacciones inflamatorias.

El FNT se produce fundamentalmente por monocitos, macrófagos y linfocitos. Tiene una función citotóxica^[2,30,31].

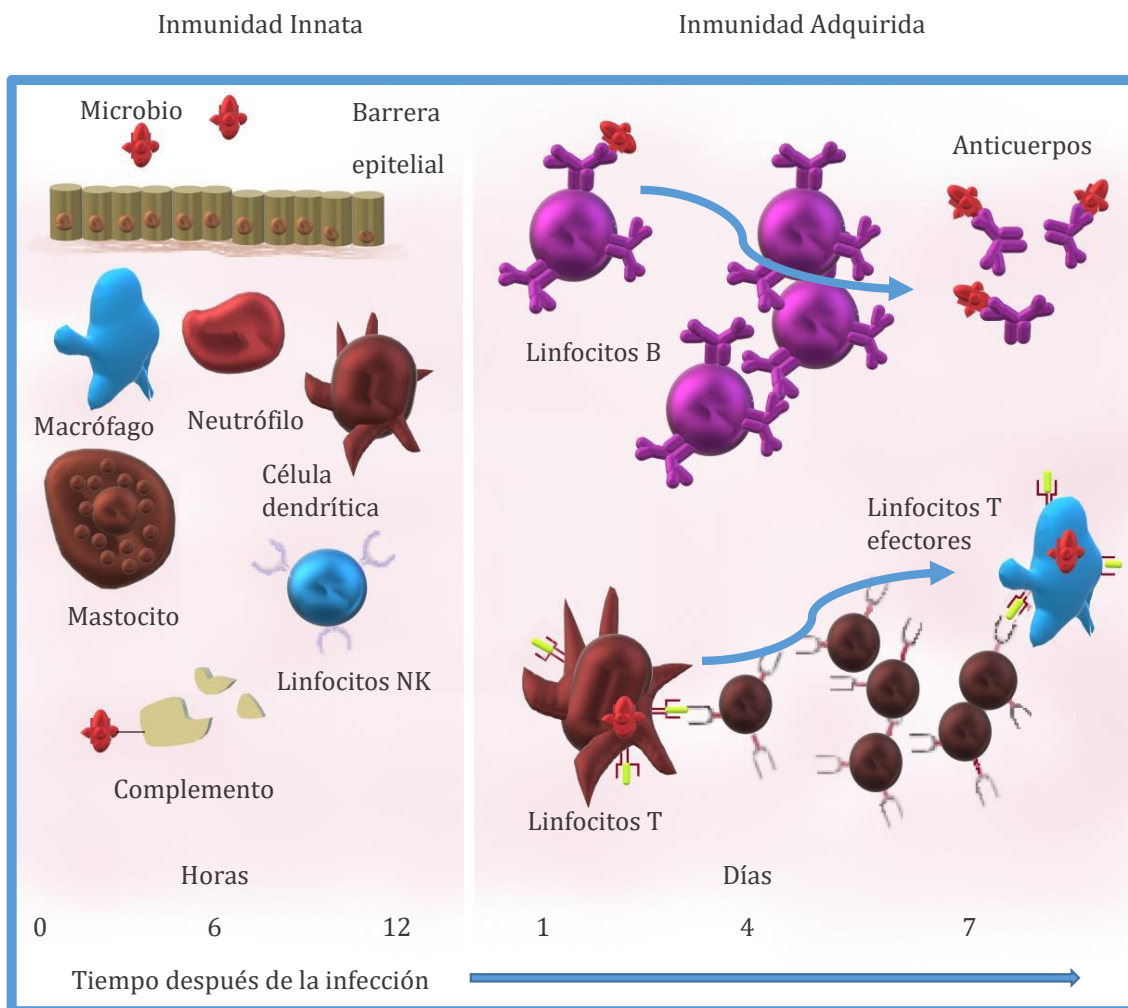


Figura 4 Actuación del sistema inmunitario: Inmunidad innata y adquirida.
 Fuente: Elaboración propia basado en: Propiedades y generalidades de las respuestas inmunitarias - Inmunología celular y molecular

Abbas, Abul K., MBBS; Lichtman, Andrew H., MD, PhD; Pillai, Shiv, MBBS, PhD;
 Inmunología celular y molecular , Capítulo 1, 1-11

En la inmunidad adquirida o adaptativa, la respuesta inmunitaria es específica frente a los distintos antígenos y más tardía. Se realiza desde dos frentes, por un lado, se encuentra la defensa humoral, llevada a cabo por los Linfocitos B y por otro la inmunidad celular, que desempeñan los Linfocitos T (Figura 5).

La inmunidad humoral se encarga de producir los anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig) solubles cuya misión es atacar, inactivar o destruir al microorganismo infeccioso de forma muy específica, ya que estos Ac solo atacarán a un determinado antígeno.

Los antígenos están formados por diferentes epítopos, cadenas cortas de aminoácidos, que pueden ser reconocidos de manera específica por los receptores presentes en la superficie de los linfocitos B. Cuando el linfocito B reconoce el epítipo, se activa dando lugar a la célula plasmática, responsable de la producción de anticuerpos específicos frente al antígeno^[32].

Además, durante la respuesta inmunológica humoral se producen los denominados linfocitos B de “memoria”, que sobreviven durante largos periodos en un estado de reposo. Estas células de memoria son las responsables de producir una respuesta más rápida y de mayor proporción tras el segundo o posteriores contactos con el antígeno. Esta respuesta ante el mismo antígeno y la especialización contra diferentes microorganismos, generan una actuación óptima para la defensa ante las enfermedades^[31].

Por su parte en la inmunidad celular intervienen los Linfocitos T, entre lo que diferenciamos dos subpoblaciones diferentes, los Colaboradores o Helper (Th o CD4+) y los citotóxicos (Tc o CD8+). Los primeros se encargan de activar a los macrófagos y a los linfocitos B, y los citotóxicos se encargan de destruir células infectadas^[16]. Además, durante la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa se generan también linfocitos T de memoria.

Dentro de los Linfocitos CD4+ podemos encontrar cuatro subgrupos: tipo 1 y tipo 2 (Th1 y Th2), el subgrupo Th17 y los linfocitos T reguladores (Treg). Estos subgrupos de linfocitos producen distintos tipos de citocinas, desencadenando reacciones muy diferentes y participando en la defensa del hospedador contra distintos microorganismos, así como en diversos tipos de enfermedades inmunitarias.

En la EII, la actividad inflamatoria se regula por el equilibrio existente entre las citocinas producidas por los linfocitos T de la lámina propia con actividad

proinflamatoria como el IFN- γ , el TNF- α y la IL 4 y las moléculas antiinflamatorias, TGF- β e IL10. Este balance entre ambos grupos es lo que determina el curso de la enfermedad^[33].

En la EC o la CU el sistema inmunitario se activa de forma diferente. Por un lado, la EC estimula la vía Linfocitos T helper 1 (Th1), vía que se caracteriza por un aumento en la producción de IFN- γ , TNF- α , IL 12, IL 18, IL 21 e IL 23^[33]. En cambio, la CU, moviliza la vía Linfocitos T helper 2 (Th2); estas reacciones son inducidas por la producción de IL4, IL5 e IL13. Esto lo marcará la susceptibilidad genética. Actualmente se han desarrollado otras líneas de investigación más precisas que se centran en el estudio de Th17, con actividad proinflamatoria y que juegan un papel muy importante en la defensa contra bacterias y hongos en la superficie de la mucosa intestinal, que junto con la IL23 conforman el denominado eje IL23/Th17^[34,35].

Pero en ambas la respuesta inmune es exagerada y descontrolada, lo que lleva a lesionar los tejidos y la aparición de úlceras (Figura 5).

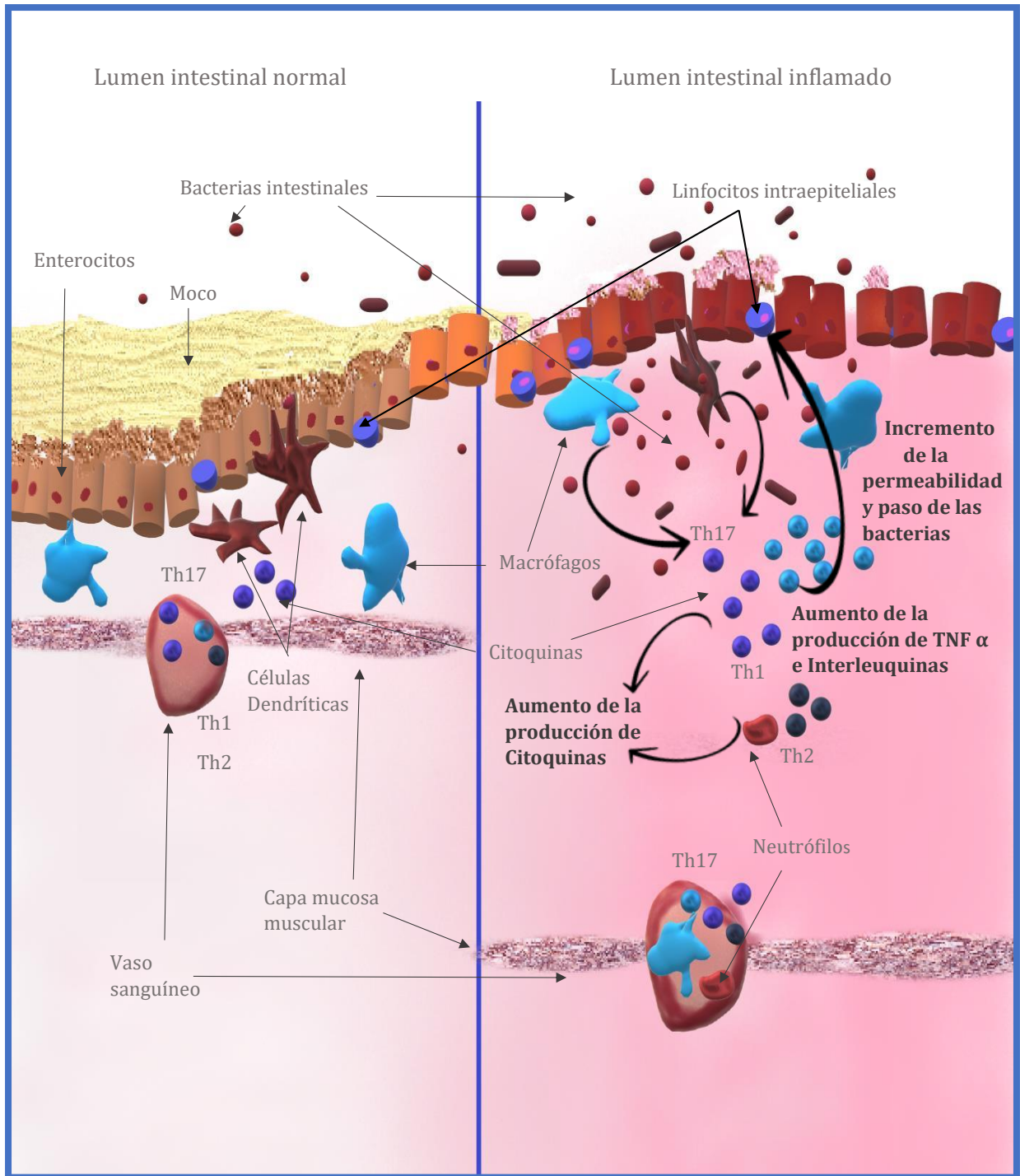


Figura 5. Proceso inflamatorio intestinal. Fuente: Elaboración propia, basado en Tochep P. Visión panorámica del sistema inmune.

3.2. INFLUENCIA DEL FACTOR GENÉTICO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

A pesar de que se desconoce una gran parte de la etiología de la enfermedad inflamatoria intestinal, gracias a los datos epidemiológicos, genéticos e inmunológicos se respalda la clasificación de la enfermedad como un trastorno heterogéneo de etiología multifactorial^[36]. Por ello, la búsqueda de genes específicos de susceptibilidad ha sido difícil debido a los patrones de herencia no mendeliana, la participación de varios genes y la influencia de factores ambientales y la microflora intestinal en el desarrollo de la enfermedad.

Los estudios genéticos han identificado hasta 160 loci de susceptibilidad que se ha sugerido que están implicados en la etiopatogenia y el pronóstico de la EII. La mayoría de los factores genéticos (67%) se comparten entre la CU y la EC. Estos genes compartidos codifican vías inmunes innatas y adaptativas, señalización de citocinas y detección inmunológica^[37,38].

Por otro lado, entre los factores genéticos asociados con la susceptibilidad específica a EC se han destacado genes implicados en la vía de la autofagia, como por ejemplo la homocigosidad para el gen NOD1 y NOD2^[39] o mutaciones en ATG16L1. También se han relacionado a EC determinadas asociaciones alélicas con el antígeno leucocitario humano (HLA) en el cromosoma 6^[37].

El gen NOD2 codifica una proteína que se encuentra en los leucocitos y en las células epiteliales del intestino (células de Paneth) y tiene una fuerte asociación a la EC. La ausencia de este gen se manifiesta con un déficit en la eliminación de bacterias patógenas^[40]. Del mismo modo, polimorfismos en el gen TLR4, encargado del reconocimiento de bacterias gram negativas y por tanto la activación de la síntesis de citocinas proinflamatorias, también se relaciona con EC^[41].

En definitiva, la EII parece emanar de un proceso inflamatorio incontrolable y continuo que surge contra el microbioma intestinal en un individuo genéticamente susceptible^[38].

Es mucho lo que se desconoce aún a nivel genético, por lo que los estudios aconsejan continuar investigando para intentar comprender la patogénesis de la enfermedad, poder establecer marcadores genéticos y conseguir un diagnóstico precoz, e incluso alcanzar una terapia más personalizada, donde se relacione genotipo y fenotipo^[42].

3.3. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

3.3.1. EFECTOS DEL CONSUMO DE TABACO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

En el caso de la CU, no solo no se ha demostrado que el consumo de tabaco haya sido perjudicial, sino más bien es un factor protector, siendo los exfumadores el colectivo más vulnerable a la hora de desarrollar esta enfermedad, una vez han dejado el consumo de tabaco. Se ha demostrado en varios estudios que disminuye la permeabilidad epitelial del intestino, además se asocia con una menor tasa de colectomía y menor uso de corticoides.

La nicotina, producto principal del tabaco, se relaciona con una mayor cantidad de claudina y ocludina, ambas proteínas encargadas de regular el paso entre epitelio y endotelio; por lo tanto, reduce la permeabilidad de la barrera intestinal. Es importante reseñar que los posibles beneficios del consumo de tabaco a nivel intestinal se contrarrestan con los perjuicios que esta sustancia tóxica produce en el resto del organismo^[17,43,44].

Estudios recientes aclaran como la nicotina, en fumadores activos con CU, activa la vía antiinflamatoria colinérgica a través de los receptores $\alpha 7$ -nicotínicos de acetilcolina, que aumentan las citoquinas antiinflamatorias y reducen las proinflamatorias y el FNT α . Sin embargo, todos los estudios realizados hasta el momento demuestran que el consumo de tabaco está asociado a una peor

evolución de la enfermedad, un debut más temprano y a mayores complicaciones digestivas en los pacientes con EC^[45]; es más, se ha constatado que el efecto del tabaco en estos pacientes dependía de la dosis, lo que asocia la cantidad de tabaco consumida con peor pronóstico o con la aparición de recaídas o incluso con mayor riesgo de cirugías años después del diagnóstico^[46-48].

El efecto de la nicotina en la EC se asocia a una respuesta inflamatoria que provoca la activación de las células Th 1 y Th 17, además de estimular la producción de TNF- α , IFN- γ , IL 23, IL 6 e IL 1 β , aumentando la inflamación intestinal^[46].

3.3.2. REPERCUSIÓN DE LA DIETA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Sobre la dieta en EII se pueden encontrar muchos estudios; en todos ellos se observa que la dieta occidental, baja en fibra y con abundantes grasas, azúcares y aditivos químicos (conservantes, colorantes, potenciadores de sabor, etc.), es un factor proinflamatorio que favorece desarrollar la enfermedad. En estudios con ratones se ha apreciado un cambio en la microbiota intestinal, que se manifiesta con una menor capa de moco, lo cual facilita el desequilibrio y aumenta la permeabilidad epitelial y la estimulación del sistema inmune al dejar un mayor acceso de bacterias y microorganismos al endotelio^[4,44].

Un colectivo afectado por este cambio de dieta son los migrantes de zonas donde la prevalencia de la EII es baja. Al establecerse en países con alta tasa de prevalencia, se convierten en más vulnerables a desarrollar la enfermedad y podría ser en gran medida por los cambios que genera en su microbiota la nueva dieta adoptada^[3,49,50].

Por otro lado, estos estudios advierten de la dificultad de controlar el tipo de dieta de los pacientes objeto del estudio, ya que puede cambiar fácilmente.

La mayoría de los estudios han sido transversales, relacionando un componente del microbioma con la enfermedad. Los estudios longitudinales no han declarado una relación directa entre el microbioma y la causa de la enfermedad^[23].

Trabajos como el de Grosse y su equipo ponen de manifiesto la importancia de la dieta en el control de los síntomas de la EII^[51]; son muchos los trabajos que siguen esta línea para desentrañar la relación entre los brotes o el debut de la enfermedad y la alimentación^[52-54].

3.3.3. INFLUENCIA DEL ESTRÉS EN LA APARICIÓN DE BROTES

El estrés ha sido definido por la Organización de Naciones Unidas (ONU) como: “la enfermedad del siglo” por su influencia en diversas enfermedades^[55], más concretamente, se entiende como cualquier agresión a la homeostasis de un organismo, y la respuesta a esta agresión por parte del dicho organismo es restituir esa homeostasis. En esta respuesta se ven implicados diferentes agentes y se libera adrenalina, noradrenalina (catecolaminas) y cortisol (glucocorticoides).

La relación del estrés con la EII, además de la ansiedad o depresión, está ampliamente documentada. Así, se ha asociado el estrés como un factor importante en los cambios producidos en la barrera intestinal, y no únicamente a los efectos derivados de la EII.

Además, hay una relación entre el riesgo de recidiva o exacerbación de la enfermedad y el estrés^[56-58].

El binomio estrés-EII va asociado, además, a un incremento en los niveles de cortisol, hormona esteroide secretada por el córtex adrenal de la glándula suprarrenal a partir del colesterol. La secreción de cortisol está controlada por el sistema hipotálamo hipofisario y sufre variaciones nictemerales o circadianas^[59,60].

En situaciones puntuales o de estrés agudo, el cortisol en el organismo resulta fundamental para respuestas de carácter biológico; sin embargo, los efectos del cortisol, beneficiosos en situación de estrés agudo, son perjudiciales cuando se convierte en crónico, tanto a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC) como a nivel cerebral^[61].

La memoria depende del hipocampo, que es el área del cerebro que tiene mayor densidad de receptores de glucocorticoides y, por tanto, está muy relacionado con la respuesta al estrés. Está demostrado que el estrés crónico modula los procesos cognitivos y de memoria e incluso modifica morfológicamente áreas del cerebro como el hipocampo, produciendo una atrofia del hipocampo y manifestándose con trastornos de memoria, pudiendo agravar enfermedades neurodegenerativas^[30].

El estrés implica la interacción de varias partes del cerebro como el hipotálamo, la amígdala y el hipocampo; estas regiones cerebrales reciben información de aferentes somáticos y viscerales y de estructuras corticales superiores. Con esta información, el hipotálamo estimula la liberación del Factor de liberación de Corticotropina (CRF), esto a su vez provoca la liberación de la hormona adenocorticotropa o corticotropina (ACTH) por parte de la glándula pituitaria (Hipófisis), que envía una señal a las glándulas suprarrenales para segregar cortisol y catecolaminas (adrenalina, noradrenalina); esto es lo que se conoce como eje Hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA). A su vez, el Sistema Nervioso Autónomo (SNA), dividido en Sistema Nervioso Simpático (SNAS) -que al ser estimulado también provoca la liberación de adrenalina y noradrenalina de la médula suprarrenal- y Parasimpático (SNAP), actúan sobre el sistema nervioso entérico del intestino (SNE); esta red se ha denominado Eje Intestino-Cerebral. El SNE controla la motilidad intestinal, las funciones exocrinas y endocrinas y la microcirculación del tracto gastrointestinal gracias a la información y a la continua comunicación con el cerebro. A través del SNA y la red de neuronas eferentes somáticas y viscerales se retroalimenta estimulando o inhibiendo la producción hormonal^[62-64].

Cada vez se sabe mejor cómo interactúan el HPA, SNAS y SNE con el sistema inmunitario. Esta interacción, denominada Psiconeuroinmunología, explica cómo los factores ambientales y el SNC pueden influir en la inflamación y el sistema inmunitario (Figura 6). Así, por ejemplo, el estrés crónico provocado por el duelo o la separación se ha comprobado que reduce el número de CD8, linfocitos, Natural Killers (NK) y macrófagos, dando lugar a procesos de inmunodepresión.

Se asocia también a un aumento plaquetario y de la proteína C Reactiva (PCR)^[56]. La PCR se ha convertido en un método muy fiable para analizar la existencia de inflamación, diferentes estudios han demostrado la utilidad de este biomarcador, que aumenta sus niveles ante la aparición de cualquier proceso inflamatorio en el organismo^[65-67].

Los efectos del cortisol van a manifestarse también por una afectación de la memoria y de la capacidad de aprendizaje, además de por un aumento de los síntomas ansio-depresivos y de un aumento en el riesgo de enfermedades psiquiátricas. Hoy, se considera que el estrés es uno de los principales factores de riesgo de los trastornos mentales. Así, estudios longitudinales indican que acontecimientos vitales adversos están asociados con un aumento sustancial de síntomas psicóticos en la población general^[68-70]. Los acontecimientos vitales estresantes se asocian con un aumento de hasta cinco veces más la depresión mayor, entre otras patologías psiquiátricas, como se explica en un metaanálisis realizado por Florian Lederbogen, Leila Haddad y Andreas Meyer-Lindenberg^[71].

Las investigaciones actuales apuntan que existe una relación entre el “estrés percibido” y el riesgo de sufrir brotes o recaídas en las EII^[62,72,73]. La depresión, la ansiedad y el estrés también se han asociado con mayores tasas cirugía en el manejo de la EII^[62,72-74].

El 90% de los pacientes que obtuvieron puntajes en el tercil superior de la Escala de Estrés Percibido (PSS) experimentaron una recaída durante el estudio en comparación con el 44% en el tercil inferior^[56].

Tanto en las situaciones de estrés agudo como crónico, de manera natural, se activan mecanismos psicológicos para adaptarse a la nueva situación. Pero en ocasiones, teniendo en cuenta variables como la intensidad del estresor, su duración y la vulnerabilidad de la persona, los mecanismos de adaptación pueden ser insuficientes y provocar que la respuesta emocional negativa se haga persistente e interfiera significativamente en la vida social, laboral y lúdica de la persona que los sufre^[71].

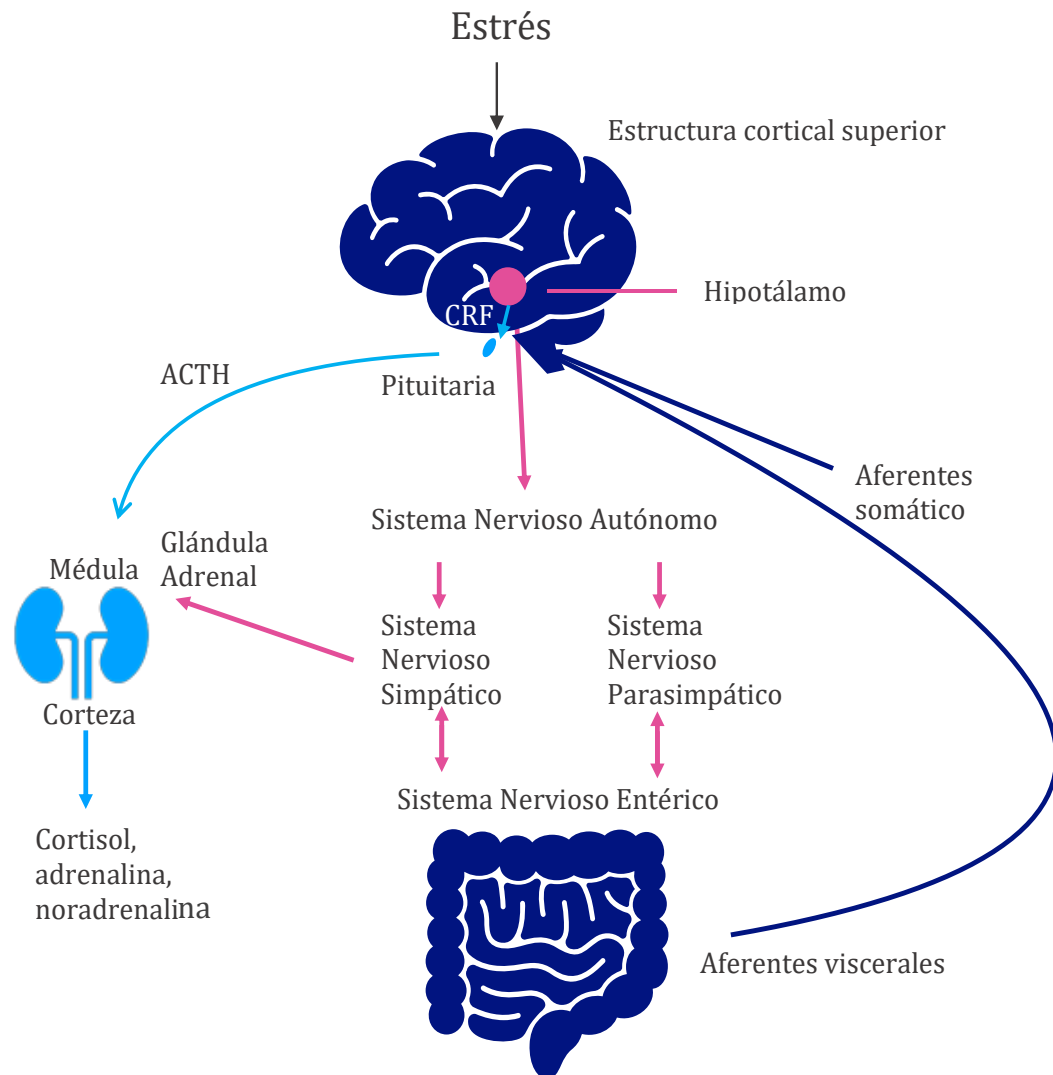


Figura 6. Relación del estrés en tracto gastrointestinal. Fuente: Basado en Mawdsley y Rampton. Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications.

3.3.4. RELACIÓN ENTRE ESTRÉS E INFLAMACIÓN

La suma de los factores ambientales y la predisposición genética de cada individuo producen una alteración del equilibrio homeostático entre las células del epitelio intestinal, microbiota y sistema inmune, que a su vez lleva a una reacción anómala de éste, que ataca a la flora bacteriana autóctona y se manifiesta en inflamación crónica y lesiones en las paredes del sistema digestivo^[17,43,44,56] (Figura 7).

No está demostrado que sea el estrés el que provoque la EII, pero sí que determine su curso y gravedad, así como la aparición de brotes. La ansiedad está asociada a los primeros signos y síntomas del paciente, incluso antes de ser diagnosticado y la depresión suele aparecer cuando la enfermedad lleva algún tiempo manifestándose, posiblemente por la percepción del paciente de falta de control sobre la sintomatología y por el hecho de tratarse de una enfermedad crónica de etiología desconocida^[55].

Recientemente se ha demostrado que los pacientes que sufren depresión mayor pueden llevar consigo cambios en el sistema inmunitario (inmunidad celular y humoral); un estudio realizado por Bernstein *et al.* analiza las concentraciones plasmáticas de IL 6 y receptores de transferrina en estos pacientes en fase aguda, en remisión y durante el tratamiento, concluyendo que los problemas inflamatorios se retroalimentan con los problemas psicológicos^[73,75].

Además la terapia anti TNF- α mejora los niveles de Hb y reduce las tasas de anemia en pacientes con EII a corto plazo^[76].

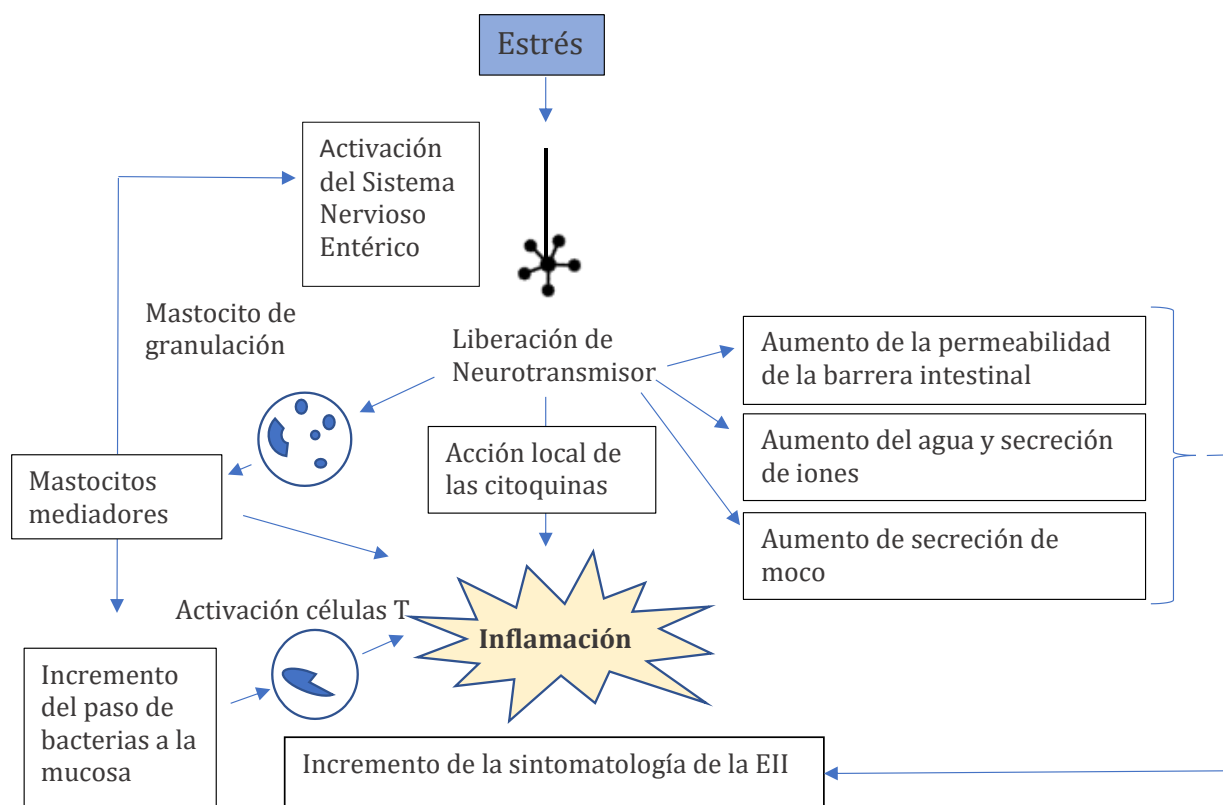


Figura 7. Estrés e inflamación. Basado en el artículo de Mawdsley y Rampton “Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications”.

Para realizar un control empírico de los niveles de estrés sufridos se utilizan biomarcadores como el cortisol, que relacionan una situación estresante, ya sea de manera aguda o crónica, con un aumento en los niveles de cortisol en sangre, saliva o pelo. Como ya se ha explicado anteriormente, la aparición de estrés provoca la liberación de catecolaminas y cortisol por parte de la glándula adrenal, lo que conlleva un aumento en la síntesis de células pro inflamatorias (IL, TNF- α , IFN); cuando el estrés es prolongado a lo largo del tiempo se ha observado un aumento en el nivel sérico de PCR, que es más fácil de constatar que en el caso del estrés agudo y de la CF que ha demostrado una correlación entre la inflamación intestinal y el aumento de sus niveles en heces. Este biomarcador informa del grado de actividad de la enfermedad a nivel intestinal, muestra la situación en ese momento

de la enfermedad, si sigue en remisión o existe una exacerbación de los síntomas e incluso se puede medir el grado de agresividad del brote^[65].

La cascada de procesos que lleva a cabo el cerebro con la información que recibe de SNE y SNA con la modulación del estrés llevan al proceso inflamatorio, aparición de sintomatología y a nivel intestinal: aumento de la permeabilidad en la barrera intestinal, aumento del agua y secreción de iones y aumento de la secreción de moco^[55,56].

Se puede asegurar, basándonos en gran cantidad de estudios recientes, que hay una fuerte relación entre el estrés y el riesgo de recaídas en la EII, así como la existencia de diversos mecanismos por los que afecta al sistema inmune y la reacción inflamatoria, tanto sistémica como gastrointestinal. Por lo que intentar controlar ese estrés, no solo beneficiará a los pacientes, sino que arrojará más luz a la patogenia de la EII^[56].

3.3.5. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD DE CROHN.

En la EC las lesiones se pueden encontrar por todo el sistema digestivo, desde la boca, en forma de aftas, hasta el ano, donde pueden aparecer fístulas perianales. Es más frecuente la afectación del íleon terminal y colon proximal (Figura 8), además de las lesiones dérmicas extradigestivas. Las más comunes en la EC son: el pioderma gangrenoso, que afecta más a la CU que a la EC, el eritema nodoso que afecta aproximadamente al 15% de los pacientes con EC, aftas bucales y las fístulas perianales, que son lesiones muy características de la EC (sus bordes son nítidos, por ello son denominadas “a golpe de cuchillo”^[77-79]).

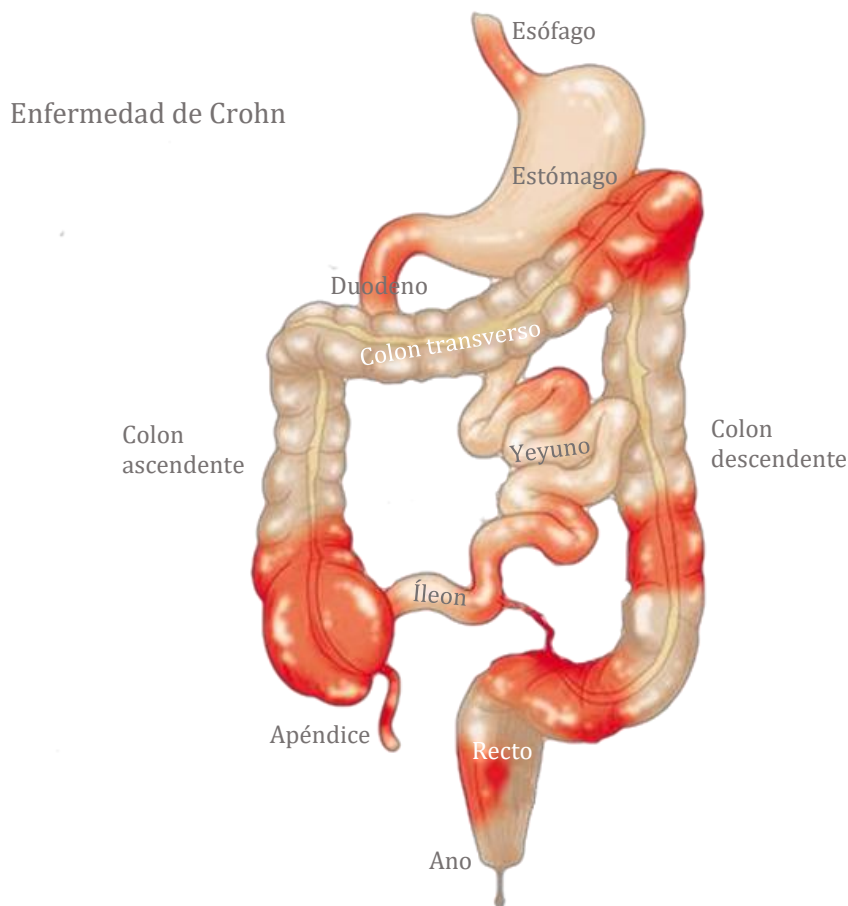


Figura 8 Afectación en el aparato digestivo de la Enfermedad de Crohn. Fuente: Elaboración propia basada en <https://www.farmacia.bio/que-me-tomo-para/enfermedad-inflamatoria-intestinal/>

Las úlceras afectan a la capa mucosa, submucosa, muscular y serosa. La afectación que puede llegar a la capa serosa se denomina transmural.

La gravedad de la enfermedad la marcará la superficie afectada y la profundidad de las lesiones; en el caso de la EC la inflamación producida es en áreas longitudinales, irregular, siguiendo un patrón de mucosa en empedrado y pueden haber zonas de estenosis y fístulas^[2,80].

Los signos y síntomas más frecuentes en los periodos de exacerbación de la enfermedad son: la diarrea, dolor abdominal, fiebre, artritis, lesiones anales y perianales (fisuras, fístulas, nódulos edematosos, úlcera “a golpe de cuchillo”); estas lesiones pueden complicarse en forma de abscesos, pudiendo ocasionar

perforaciones retro vaginales y estenosis anorectales al 40% de los pacientes, déficit de vitamina B12 o ácido fólico, déficit de zinc, anemia, aftas orales, etc.^[81].

La clasificación más utilizada en esta patología es la Escala de Montreal, que relaciona extensión de la zona afectada con la gravedad de los síntomas (Tabla 1)^[17].

Para analizar la actividad clínica de la EC, la escala más utilizada es la Harvey-Bradshaw (Anexo 4). En ella se recoge información sobre el estado general del paciente, dolor abdominal, número de deposiciones, masas abdominales y número de complicaciones que sufre^[82].

Enfermedad de Crohn

Edad			
	A1	≤ 16 años	
	A2	17-40 años	
	A3	> 40 años	
Localización		Modificador TDS (L4)	
	L1	Ileocolon terminal	L1 + L4 Ileon terminal + TDS
	L2	Colon	L2 + L4 Colon + TDS
	L3	Ileocolon	L3 + L4 Ileocolon + TDS
	L4	Tracto digestivo superior	
Comportamiento		Modificador Epa (p)	
	B1	No fistulizante, no estenosante	B1p No fistulizante, no estenosante +Epa
	B2	Estenosante	B2p Estenosante + Epa
	B3	Fistulizante	B3p Fistulizante + Epa

Tabla 1. Clasificación de Montreal para Enfermedad de Crohn. Fuente: Martínez Chamorro A. Estudio de polimorfismos genéticos en los genes HLA, MICA, NOD2 y TLRs en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

TDS=Tracto Digestivo Superior; Epa=Enfermedad Perianal.

3.3.6. SINTOMATOLOGÍA DE LA COLITIS ULCEROSA

En la CU, las lesiones se localizan desde el recto (proctitis), sigma y colon, hasta el colon ascendente (pancolitis); las úlceras pueden afectar a la capa mucosa y submucosa (Figuras 5 y 9).

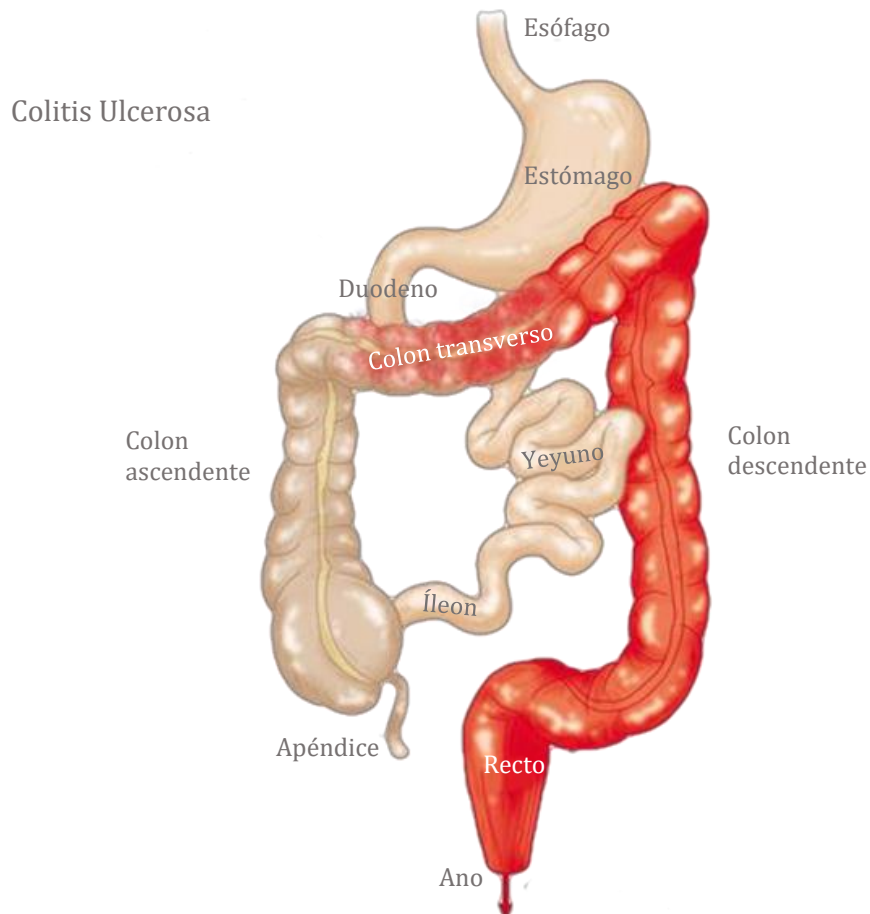


Figura 9 Manifestaciones físicas en la Colitis Ulcerosa. Fuente: Elaboración propia basada en <https://www.farmacia.bio/que-me-tomo-para/enfermedad-inflamatoria-intestinal/>

Los signos y síntomas más frecuentes en los periodos de exacerbación de la enfermedad son: diarrea, que puede ser sanguinolenta con moco y pus, tenesmo, fiebre, dolor abdominal tipo cólico, pérdida de peso, desnutrición y anemia ferropénica^[2].

Algunas complicaciones que se pueden dar en pacientes con CU pueden ser la hemorragia masiva, perforación intestinal, peritonitis y el megacolon tóxico.

Dependiendo del tipo, cantidad de deposiciones y zonas afectadas se puede catalogar de mayor o menor gravedad. Para ello, se utiliza la Clasificación de Montreal para la CU (Tabla 2). Además, se puede clasificar la enfermedad como intermitente o continua, si entre brote y brote han transcurrido más de 6 meses o no; también es importante tener en cuenta si la enfermedad ha afectado a la calidad de vida del paciente^[83-85].

Colitis ulcerosa		
Extensión	E1 Proctitis	Limitada al recto (la extensión proximal de la inflamación es distal a la unión rectosigmoidea)
	E2 Colitis Distal	La inflamación se extiende hasta el ángulo esplénico
	E3 Pancolitis	La inflamación se extiende proximal al ángulo esplénico
Gravedad	S0 Remisión clínica	Asintomático
	S1 CU leve	≤ 4 deposiciones diarias (con o sin sangre), ausencia de enfermedad sistémica, marcadores inflamatorios normales
	S2 CU moderada	> 4 deposiciones diarias, con mínimo compromiso sistémico
	S3 CU severa	≥ 6 deposiciones sanguinolentas diarias, pulso ≥ 90 pulsaciones/minuto, temperatura ≥ 37 ^o , Hb < 10,5 g/dL y VSG ≥ 30 mm/hora

Tabla 2. Clasificación de Montreal para Colitis Ulcerosa. Fuente: Martínez Chamorro A. Estudio de polimorfismos genéticos en los genes HLA, MICA, NOD2 y TLRs en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

Hb=Hemoglobina; VSG= Velocidad de Sedimentación Glomerular.

Otra clasificación que se utiliza en la CU para analizar la actividad clínica es el Índice de Mayo Parcial^[86] (Anexo 5). Consiste en dos preguntas que debe contestar el paciente sobre la cantidad de deposiciones y la cantidad de sangrado de éstas. Una última pregunta la debe cumplimentar el/la médico sobre el estado global del paciente basándose en las contestaciones del paciente. La puntuación total es la suma de los tres apartados, estableciéndose 4 categorías.

Otras manifestaciones importantes que pueden aparecer son el pioderma gangrenoso, 6-12% en CU, 1-2% en EC, el eritema nodoso, 9% CU, 15% en EC y el cáncer de colon^[77].

Un estudio reciente, realizado en Corea a casi diez millones de personas, relaciona la periodontitis con la aparición de la CU^[87].

A pesar de estos sistemas de clasificación, al tratarse de enfermedades que tienen periodos de remisión y exacerbación, es difícil dar una clasificación estricta del paciente^[2].

Además de los signos y síntomas físicos los pacientes con EII sufren enfermedades psicológicas como la ansiedad y la depresión. Según Addolorato *et al.*, más de un 60% de los pacientes en periodos de actividad de la enfermedad presentan depresión^[88].

Estudios como el de Spaeth confirman este hecho. Los pacientes tanto de CU como de EC muestran un grado mayor de asociación con enfermedades psicológicas, como la ansiedad y la depresión, en comparación con las personas que no padecen estas enfermedades, esto afecta a su calidad de vida y al curso de la EII, aparición de brotes, recidivas, etc.^[89-91].

Existen estudios que aseguran una mayor prevalencia de depresión en EC. Como explica un estudio realizado en Suecia con un total de 492 pacientes, 331 con CU y 161 con EC, a los que se les evaluó a través de una serie de cuestionarios para valorar sus niveles de calidad de vida (SF-36, IBDQ y HAD), en el cual se concluyó que los pacientes con CU tenían niveles más altos en todas las dimensiones de la calidad de vida relacionada con la salud y concretamente en relación a la EII, que los pacientes con EC.^[92]

Miehsler y su equipo, en un estudio reciente, afirman que la ansiedad es más prevalente que la depresión en estos pacientes, del 37% frente al 18% respectivamente^[93]. Por su parte Moser haciéndose eco de ello y en consonancia con lo que propone Moser, aconseja que estos problemas se tengan en cuenta en la práctica clínica, ya que suponen un riesgo elevado de recaídas^[94].

Levenstein *et al.* no pudieron encontrar una asociación entre depresión y la aparición de brotes durante el periodo de seguimiento, pero sí confirman en su trabajo que se multiplica por tres el riesgo de exacerbación durante los ocho meses siguientes^[95].

En resumen, y como ya se ha descrito, la EII además de la sintomatología y las manifestaciones físicas, está muy relacionada con problemas como la ansiedad o la depresión, llegando incluso a considerarse el suicidio como podemos comprobar en la investigación que se realizó en Canadá. En este estudio el 17% de los pacientes con depresión habían considerado el suicidio en los últimos 12 meses, siendo las mujeres las que presentaban mayor probabilidad de haber considerado el suicidio en relación a los varones^[96].

3.3.7. DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CROHN Y LA COLITIS ULCEROSA

El diagnóstico tanto de la CU como de la EC se realiza a partir de la sintomatología del paciente, los biomarcadores inflamatorios, diagnóstico endoscópico, radiología, ecografía abdominal, pero, sobre todo, son muy útiles los índices de actividad de la enfermedad. En el caso de la CU el índice de Mayo parcial (Anexo 5), como ya se ha mencionado anteriormente, es un instrumento ampliamente utilizado y conocido que puntúa de 0 a 9, donde cuanto mayor es la puntuación mayor es la gravedad de la enfermedad. Combina el número de deposiciones, la existencia de sangre en las heces y la valoración médica^[43,86].

En la EC los síntomas pueden no correlacionarse directamente con los procesos inflamatorios del paciente. Al igual que en la CU, en la EC existen varios índices de actividad o escalas para diagnosticar la gravedad de la enfermedad. Uno de los índices de actividad más utilizados es el índice de Harvey-Brashaw (Anexo 6); esta escala de actividad mide el estado general, dolor abdominal, número de deposiciones líquidas, presencia de masa abdominal, y complicaciones, como fisuras anales, uveítis, abscesos, etc.^[82,97,98].

3.3.8. TRATAMIENTO MÉDICO EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

El tratamiento de la EII es heterogéneo y complejo. Como ya se ha comentado, es individualizado y personal, teniendo en cuenta el tipo de enfermedad, la gravedad de los signos y síntomas, comorbilidad, enfermedades asociadas y, sobre todo, la respuesta ante los tratamientos farmacológicos. Es por ello que la opción farmacológica óptima es aquella que refleja el mejor balance entre la eficacia del fármaco y la seguridad del paciente. Con todo, las pautas médicas se basan en cuatro grandes grupos: Aminosalicilato (ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), también llamado mesalamina), Corticoides (prednisona, metilprednisona, deflazacort, hidrocortisona), Inmunosupresores (tiopurinas, metrotrexato, calcineurínicos) y los Anticuerpos Monoclonales (AcM) o tratamiento biológico (Infliximab, adalimumab, golimumab, vedolizumab, ustekinumab)^[99-102].

Es muy frecuente el uso de los aminosalicilatos en la clínica de los pacientes con EII. Tienen un efecto antiinflamatorio directo, bloqueando citocinas proinflamatorias como la IL 1, TNF e INF. Están indicados para pacientes con CU moderada-level^[103].

Otros fármacos que han sido estudiados para revertir los efectos de la EII son los corticoides, también conocidos como corticosteroides, glucocorticoides o esteroides. Son fármacos que actúan regulando la respuesta del sistema inmunitario y disminuyendo la producción celular de sustancias que provocan la

inflamación intestinal. Se usan para disminuir la inflamación del intestino durante los brotes. Son el grupo de medicamentos con más efectos secundarios y no se aconseja para tratamientos prolongados^[102,104].

Numerosos estudios refutan la utilización de los inmunosupresores, los cuales son antagonistas de las purinas que inhiben la síntesis de ADN y ARN, por lo que evitan la proliferación e inhiben la producción de células del sistema inmune como los Linfocitos T, linfocitos B y NK. Además, disminuyen la inmunogenicidad de los tratamientos biológicos; es por ello, que se aconsejan los tratamientos combinados. El metrotrexato es muy útil como tratamiento de mantenimiento de la EC^[105].

La mayoría de los estudios han puesto de manifiesto la importancia de los Anticuerpos Monoclonales. Su farmacocinética presenta una gran variabilidad intra e interindividual. Los anticuerpos anti-TNF (Infliximab) han revolucionado el manejo de la EII. Su mecanismo de acción es bloquear el TNF α , con lo que inhibe la inflamación en su fase aguda, entre otros efectos inmunológicos, dependiendo del receptor al que se unan^[31,99]. Así, investigadores de todo el mundo apuestan por el uso de este tipo de afrontamiento terapéutico^[78,106,107].

La estrategia terapéutica hasta hace unos años era la de “step up”, ir aumentando dosis y tipos de fármacos de menor a mayor intensidad. Esta táctica no resultaba muy eficaz, no se llegaba a controlar el curso natural de la enfermedad, y por ello se cambió de estrategia. Actualmente se tiende a hacerlo al revés, es decir, se empieza con los fármacos más eficaces y se va progresivamente disminuyendo, dosis y medicación o tipos de fármacos, comenzando con tratamientos biológicos (infliximab) para inducir la remisión. Otra opción que se está valorando es el “step up” acelerado, o empezar con fármacos biológicos, lo que se conoce como: “Top down”^[107].

3.3.9. UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES

Los biomarcadores más utilizados en todos los estudios sobre EII, por su sensibilidad, especificidad y fiabilidad, son la PCR y la CF. Un metaanálisis que incluye 30 estudios prospectivos confirma que la sensibilidad y especificidad de la CF podrían alcanzar hasta el 95% y el 91%, respectivamente, en la detección del proceso inflamatorio intestinal activo.

Gracias a ellos se puede evitar las endoscopias y en consecuencia reducir el gasto en pruebas diagnósticas.^[65,108]

PCR: La proteína C-reactiva (PCR) es uno de los parámetros más importantes para conocer el estado inflamatorio de nuestro paciente.

Se trata de una proteína sintetizada en el hígado cuya concentración en situaciones normales es menor a 1 mg./L., su producción se incrementa en cualquier proceso inflamatorio. El aumento de la PCR se asocia con la gravedad; a mayor cantidad de PCR procesos más graves, pudiendo llegar a 200-250 mg./L. Su determinación es fácil y barata, lo que la convierte en un biomarcador de gran utilidad^[109].

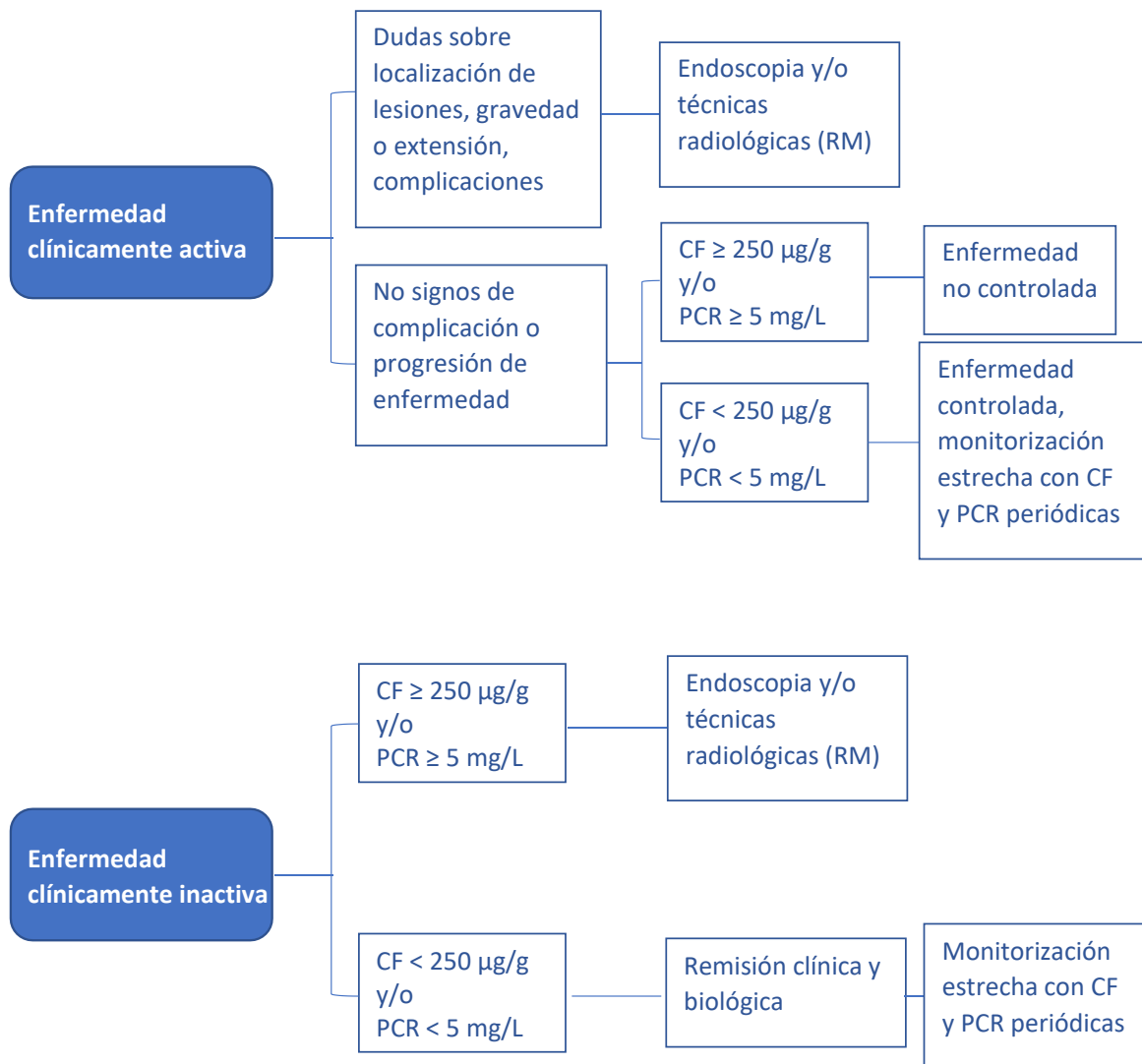
En la EII se comporta de forma diferente, en la EC aumenta con el grado de inflamación y por tanto de gravedad del paciente mientras que en la CU los valores de PCR no son tan elevados.

También es útil para monitorizar y comprobar la respuesta terapéutica^[110].

Estudios recientes relacionan el aumento de la PCR con estrés crónico, que a su vez se asocia con enfermedades psicológicas como depresión y ansiedad^[56].

En cuanto al valor predictivo de recidivas, se ha demostrado que la PCR y la CF comienzan a aumentar de 4 a 6 meses antes de aparecer la recaída clínica^[111]. Siendo la CF el mejor indicativo de recidivas, con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 83%^[112]. Por lo que, pacientes en remisión clínica con concentraciones elevadas de CF tienen un riesgo de recidiva de entre 2 y 14 veces mayor en la EC y CU, respectivamente, respecto a pacientes sin elevación de CF^[113].

Tanto la CF como la CPR son herramientas muy valiosas para diagnosticar la enfermedad, así como en la evaluación de la actividad de la enfermedad, control de la eficacia del tratamiento o en la predicción de las recaídas. [114,115]. En definitiva, son muy útiles para la monitorización de la enfermedad desde el inicio, su evolución (Figura 10 y 11), así como para realizar un pronóstico de gravedad (Tabla 3).



FC: calprotectina fecal; GI: gastrointestinal; IBD: enfermedad inflamatoria intestinal; AINE: fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

Figura 10. Algoritmo de monitorización de la enfermedad inflamatoria intestinal con los biomarcadores: calprotectina fecal y proteína C reactiva. JM Benitez Cantero , V García Sánchez. Enfermedad inflamatoria intestinal. Madrid. ERGON; 2018

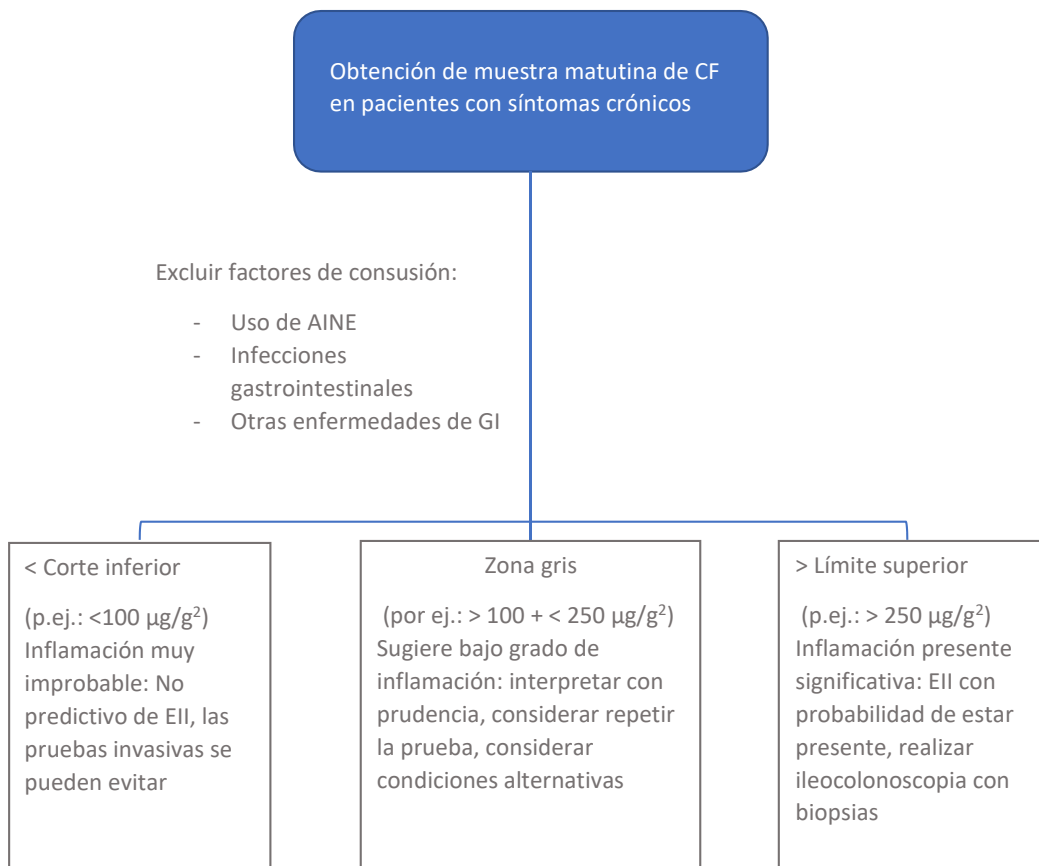


Figura 11. Algoritmo para el uso de CF en la detección de EII. Fuente: Basado en Reeneaers C, Bossuyt P, Hindryckx P, et al. Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of inflammatory bowel disease in daily clinical practice.

Biomarcador	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo Positivo (%)	Valor predictivo negativo (%)	Precisión diagnóstica (%)
CF ($\geq 50 \mu\text{g/g}$)	88	73	76	86	84
PCR ($\geq 5 \text{ mg/L}$)	49	92	86	64	66

Tabla 3. Precisión diagnóstica de la calprotectina fecal y la PCR en la enfermedad inflamatoria intestinal activa. Fuente: Basado en JM Benitez Cantero , V García Sánchez. Enfermedad inflamatoria intestinal. Madrid. ERGON; 2018

En cuanto al cortisol analizado en pelo, estudios como el de Otto Kalliokoski, Finn K. Jellestad y Robert Murison, afirman que es de mayor utilidad que otros métodos de análisis de glucocorticoides cuando se trata de medir el estrés crónico; concretamente es muy útil y muestra bien la correlación con el eje HPA en eventos de estrés reciente, en contraposición a factores de estrés histórico. [116,117]

3.3.10. USO DE BIOMARCADORES A PARTIR DE MUESTRAS BIOLÓGICAS: BIOMARCADORES EN SANGRE

El análisis de biomarcadores nos aporta una dimensión objetiva del estado del paciente, que en la gran mayoría de los casos se correlaciona con la sintomatología y el grado de actividad de la enfermedad^[118,119].

Además de la PCR, mencionada anteriormente, por ser de gran importancia terapéutica y en la monitorización de la actividad de la enfermedad, existen otros biomarcadores en sangre que también pueden ser de utilidad, como son: leucocitos, hemoglobina, albúmina, ferritina, plaquetas, hematocrito. Todos ellos biomarcadores de procesos inflamatorios^[65,120,121].

Leucocitos: Los leucocitos forman parte de los glóbulos blancos, cuya función es de defensa de nuestro organismo ante posibles agresiones de patógenos. Se forman en la médula ósea y son transportados por la sangre a los lugares donde se produce un proceso inflamatorio o infeccioso. Existen seis tipos de leucocitos en la sangre: neutrófilos polimorfonucleares, eosinófilos polimorfonucleares, basófilos polimorfonucleares, monocitos, linfocitos y en ocasiones células plasmáticas. La concentración normal en un adulto es de 7000 leucocitos/ μL . de sangre. En caso de infección o inflamación los neutrófilos pueden multiplicar su número por cuatro o por cinco pasando de 4000-5000 a 15 000- 25 000/ μL ., esto se denomina neutrofilia. Por su parte, los monocitos entran en el tejido inflamado y aumentan su tamaño hasta convertirse en macrófagos.

El aumento en el número de leucocitos se produce a través de la estimulación del TNF, IL 1 y los factores de estimulación de colonias^[16].

Hemoglobina: La hemoglobina (Hg) está compuesta por un grupo hemo, formado por hierro (Fe) y una proteína llamada globina, que es la encargada de transportar el oxígeno y dióxido de carbono en la sangre.

Varias citocinas proinflamatorias involucradas en la EII como: IFN, IL 1, IL 6 y FNT, tienen efectos sistémicos sobre el hueso y son responsables de un suministro inadecuado de hierro desde el plasma a la médula ósea, inhibición de la eritropoyesis y producción de eritropoyetina, lo que lleva a una producción de

glóbulos rojos deficiente y a su vez se manifiesta como anemia en el paciente^[76]. Los valores bajos de Hg y Hematocrito (Hct) se pueden deber a un trastorno inflamatorio crónico y sucede con frecuencia en pacientes con EC, siendo entre el 10% y el 70% de los pacientes con los que llegan a padecerla.

Los estudios realizados han demostrado que los valores de Hg y Hct pueden servir como herramienta diagnóstica de la EII y se asocian a un incremento en el número de hospitalizaciones^[122].

Albúmina: La albúmina es la proteína más abundante en el cuerpo humano, es producida en el hígado y regula gran parte de la presión oncótica entre los líquidos intra y extravasculares además de transportar calcio y ácidos grasos.

Los niveles bajos indican desnutrición y se relaciona con enfermedad clínica activa; niveles altos de albúmina pueden ser causados por infecciones agudas, quemaduras e incluso por un infarto cardíaco^[123]. El intervalo de normalidad es de 3,5 a 5,4 mg/dL.

Ferritina: Es una proteína intracelular en la que se almacena hierro para ser utilizado en el momento que haya una mayor demanda. Nos informa indirectamente del nivel de hierro que tiene nuestro paciente y si existe riesgo de anemia, o si los valores son más altos de lo normal puede indicar inflamación aguda o crónica, daño renal, hepático, etc.

Los valores normales se podrían situar entre:

- Para los hombres, de 24 a 336 microgramos por litro.
- Para las mujeres, de 11 a 307 microgramos por litro.

Los valores más bajos se asocian con un mayor riesgo de desarrollar EII^[124].

Plaquetas: Las plaquetas o trombocitos se forman en la médula ósea a partir de los megacariocitos. Contienen moléculas de miosina, actina, trombostenina y grandes cantidades de iones de calcio. La concentración normal en sangre es de entre 150.000 y 300.000/ μ L.^[16], este número de plaquetas se ve aumentado en el caso de procesos inflamatorios, como sucede en la EII, incrementándose la formación de agregados plaquetarios y trombos^[56].

Uno de los parámetros de las plaquetas que se debe tener en cuenta es el de la distribución del ancho de plaquetas (PDW), ya que si está aumentado se asocia con un periodo de remisión del paciente con EII, y si está disminuido se relaciona con un brote o exacerbación de la enfermedad. Por lo tanto, nos sirve para distinguir entre fase aguda o remisión.

Hematocrito: Es la porción sólida que se extrae de la muestra sanguínea tras ser centrifugada, está formado por los glóbulos rojos, glóbulos blancos y las plaquetas y los valores normales para mujeres es de 35-45 % y en hombres del 40 al 50 %.

Nos da información, ya que si su valor es más bajo de lo normal puede indicar que el paciente tiene anemia o deshidratación s^[122].

3.3.11. CALPROTECTINA FECAL E INFLAMACIÓN INTESTINAL

Calprotectina fecal en heces: Son proteínas y restos leucocitarios que no han sido degradados por las bacterias intestinales. Su presencia en las heces es directamente proporcional al estado inflamatorio del paciente a nivel intestinal; por lo tanto, se puede afirmar que la calprotectina fecal, es un biomarcador específico de los procesos inflamatorios del intestino^[125]. Su cuantificación se realiza mediante ELISA, se consideran normales valores inferiores a 50 µg./g., aunque otros autores afirman que los valores normales son los inferiores a 100 µg./g.^[109, 126-128].

Se trata del biomarcador más importante para diagnosticar, monitorizar el estado del paciente, ausencia de brotes, estado de la mucosa intestinal, como la efectividad del tratamiento médico pautado s^[108,113,118], por este motivo también ha sido el de mayor relevancia en nuestro estudio.

En la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se utiliza la CF como predictor efectivo; su fácil obtención y análisis, tanto para el sanitario como para el paciente, hacen que sea de primera elección. Pero sobre todo es la fiabilidad, en la correlación con el proceso inflamatorio intestinal, lo que otorga a la CF , junto con la PCR, su idoneidad a la hora de valorar el estado del paciente, el grado de actividad de la enfermedad e incluso se puede valorar la eficacia del tratamiento pautado^[65].

Trabajos como los de Krzesiek valorando la eficacia como marcador inflamatorio en niños^[129], Sipponen y su equipo analizando los resultados del tratamiento médico relacionando la recuperación con los niveles bajos de CF^[119], observando la actividad de la enfermedad como expone Aceituno y sus colaboradores^[111] e incluso llegando a predecir posibles reactivaciones de los procesos inflamatorios después de periodos de remisión, como expone Jeremy y su equipo^[112], avalan la utilidad de este biomarcador, esencial en el cuidado de los pacientes con EII. Estos beneficios se suman al hecho de tratarse de una técnica para la toma de la muestra inocua y que es capaz de evitar colonoscopias innecesarias, lo cual supone para el paciente menos estrés y sufrimiento y para el sistema sanitario un menor coste económico^[130].

3.3.12. NIVELES DE CORTISOL

Cortisol en pelo: El análisis de cortisol en segmentos de pelo ha sido introducido en la investigación biomédica, mostrando valores fiables como marcador biológico que registra largos periodos de tiempo de exposición a estrés, ampliando así los periodos de tiempo disponibles hasta el momento^[131]. Las concentraciones de cortisol en pelo reflejan, igual que las medidas de cortisol en saliva, niveles de cortisol libre^[132], pero el cortisol en pelo da, a su vez, un índice fiable a largo plazo (meses) de la actividad del eje HPA y de la respuesta del sistema inmunitario a factores estresantes crónicos^[117].

En general, los métodos utilizados para la medición de cortisol en el pelo son muy similares, con algunas variaciones en los procedimientos entre laboratorios y grupos de investigación. En el apartado de metodología se dan detalles de cómo se realizó la determinación de cortisol en pelo^[133].

3.3.13. CALIDAD DE VIDA EN EL PACIENTE CON EII

La EII genera un gran impacto en la vida de la persona que la padece en muy diversos ámbitos: vida profesional, vida social, ámbito sexual, así como en su autonomía e imagen corporal, que en muchas ocasiones le conduce a una pérdida de autoestima y autoconfianza, peor calidad de vida y niveles elevados de estrés^[134].

El objetivo principal en el tratamiento de la enfermedad es el control de estos síntomas^[135]; sin embargo, muchos pacientes sufren, además, síntomas asociados al estrés diario que les genera el tener una enfermedad crónica, sus tratamientos y por supuesto, los síntomas de la misma. Estos aspectos les generan mucha incertidumbre, frustración y malestar, y les conduce a una situación de estrés crónico, que evoluciona con frecuencia a depresión y/o ansiedad. Los pacientes con EII presentan unas tasas de depresión y ansiedad en torno al 45% y del 80% respectivamente en fases activas de la enfermedad, y un incremento del riesgo de casi 5 veces respecto a la población general, en periodos de remisión^[136,137]. Debido a esto, el apoyo psicológico es fundamental ante una enfermedad que afecta, especialmente, a personas jóvenes, entre los 15 y 40 años, para no solo alcanzar una remisión de los síntomas, sino también alcanzar la normalización de su calidad de vida. Las guías europeas en el manejo de la EII recomiendan desde hace años examinar comorbilidades psicológicas para detectar ansiedad, depresión y si la tuviera, iniciar la intervención indicada^[138]. A pesar de su relevancia clínica, son pocas las unidades que integran en el enfoque de la EII el manejo psicológico en la actualidad.

El manejo terapéutico actual se basa en inducir y mantener la remisión con la mínima toxicidad para conseguir la mejor calidad de vida posible.

Es fundamental la percepción de la enfermedad por parte del paciente para la elección del tipo de afrontamiento. Se ha demostrado que técnicas de evasión, como evitar pensar en la enfermedad o enfrentamientos depresivos como la rumiación o la culpabilidad, están asociadas a recidivas y brotes en contraposición a los afrontamientos positivos donde el individuo utiliza estrategias psicológicas para manejar su enfermedad y conseguir mayores niveles de calidad de vida, reduciendo además la comorbilidad psicológica (ansiedad y depresión)^[139].

4. CONCEPTOS Y EVOLUCIÓN EN MINDFULNESS

4.1. HISTORIA Y ANTECEDENTES

Mindfulness es traducido al español como “atención plena”, a su vez esta palabra inglesa es la traducción de la palabra “Sati” del idioma pali, dialecto del sanscrito de la zona de la India donde vivía Buda. Esta filosofía de vida procede de la tradición budista de meditación “Vipasana” (visión profunda de la realidad); la traducción literal es “Vi” varias y “passana” ver, ver del todo, ver a la perfección, cuyo propósito es la curación esencial del sufrimiento humano a través de la auto transformación mediante la auto observación^[140].

El Satipattana Sutta, uno de los textos budistas más influyentes, describe la práctica de la atención plena como un camino directo hacia el "cese del sufrimiento"; es interesante la relación que se establece entre la conciencia y el sufrimiento, a mayor grado de “consciencia”, lo que conlleva un cierto control a nivel sensorial, fisiológico, psicológico y un menor sufrimiento. El hecho de ser conscientes de ello nos muestra una visión de nuestro propio yo de una manera omnisciente y contemplativa, si además conseguimos no aferrarnos a esas sensaciones, sentimientos o pensamientos, y lo hacemos sin juzgarlos, se consigue manejar con mayor garantía de éxito cualquier situación. Si se elimina ese sufrimiento perturbador se consigue ganar en calidad de vida ^[141].

La palabra mindfulness fue utilizada por primera vez en 1890 por T.W. Rhys Davids en la traducción de un texto budista^[142].

Mindfulness se define como la atención al momento presente desde la aceptación, entendiéndose por ella una curiosidad ausente de juicio ético, sin valoración^[143].

En esta descripción son claves los conceptos de “atención”, que implica voluntad, autocontrol o autorregulación sobre dicha atención y la “aceptación”, que se debe entender como un monitoreo abierto de la experiencia, ajeno a juicios y prejuicios.

Esta atención controlada puede ser entrenada y para ello se realizan dos tipos de prácticas: la práctica formal, que son aquellas que requieren un espacio y un

tiempo que de manera voluntaria se invierte en ser conscientes de los procesos internos (pensamientos), y de los procesos externos (sensaciones físicas), prestando atención a la experiencia que se está viviendo en ese momento, sin realizar un juicio sobre ello y usando como guía y referente la respiración y las prácticas informales, aplicando la atención plena a actos cotidianos como puede ser pasear, ducharse o comer^[140,144].

Por tanto, podemos decir que Mindfulness es mucho más que una técnica meditativa, se ha definido como una “forma de ser”, como una manera de entender y relacionarnos con todo aquello que nos rodea^[145,146].

Mindfulness no es igual a meditación, la atención plena utiliza la meditación en su práctica formal, pero la meditación se puede enfocar a muchos más aspectos además de a la atención plena.

De hecho, en los últimos tiempos se está haciendo más hincapié en las prácticas informales como técnica para ser conscientes del momento de manera más constante, con la intención de crear una rutina y fortalecer el “modo mindfulness” durante más tiempo a lo largo del día, favoreciendo la práctica continua^[141,144].

La atención plena supone estar enmarcada y fundamentada por los cuatro *Brahma Viharas* o estados sublimes: bondad amorosa, compasión, alegría compasiva y ecuanimidad. Estos estados deben ir unidos a la atención, de otro modo podría desvirtuarse el sentido de atención plena; Olendzki explica que la atención plena debe ir enmarcada en estos estados, la atención *per se* no es mindfulness, “así como un árbol sacado del bosque ya no es un árbol sino un trozo de madera, así también la atención cuidadosa de la atención, extraída de su matriz de factores co-emergentes saludables, degenera en mera atención”^[144].

Según Didonna, existen dos referentes fundamentales para el estudio y la práctica de mindfulness, en oriente Thich Nhat Hanh, monje Budista nacido en Vietnam en 1926 y John Kabat Zinn en occidente con su programa MBSR (Mindfulness Based Stress Reduction), desarrollado a finales de los 70 del siglo pasado en el Centro Médico de la Universidad de Massachusetts^[147]. Según Kabat Zinn el Mindfulness se define como “Conciencia que surge de prestar atención, de forma intencional a la experiencia tal y como es en el momento presente, sin juzgarla, sin evaluarla y sin reaccionar a ella”, y más tarde afirmaría, “Constituye básicamente una forma determinada de prestar atención. Se trata de mirar

profundamente en el interior de uno mismo con la intención de hacerse preguntas y autocompadecerse y practicarse”. La compasión hace referencia a la reacción frente al sufrimiento de otro y de cómo actuamos para aliviarlo. Esto se puede aplicar también sobre uno mismo, es lo que denominamos la autocompasión y es un pilar básico del Mindfulness^[144-146].

El MBSR es la primera iniciativa con repercusión internacional, es un programa de 8 semanas en las cuales un instructor experto en mindfulness, en sesiones de dos horas y media aproximadamente, transmite los componentes del grupo el significado de Mindfulness, como realizar las prácticas formales e informales, aclarar dudas, pero sobre todo guiar y motivar al grupo para practicar lo aprendido para conseguir su propósito. A partir de este método de reducción de estrés propuesto por el Kabat-Zinn, se han desarrollado muchos más programas basados en mindfulness para ayudar a pacientes con diferentes patologías, pero con el mismo “modus operandi”, es decir, utilizando la atención plena para dar la capacidad al paciente, dentro de sus posibilidades, para tener cierto control sobre sus sensaciones corporales, sus pensamientos y sus sentimientos y con ello reducir el estrés y las alteraciones fisiológicas que provoca^[148-153].

Anteriormente a Kabat Zinn existen algunos ejemplos que asocian la meditación y la observación sin juicio con la psicoterapia, como son la terapia Morita, puesta en marcha en los años 20 del siglo pasado por Shoma Morita en Kyoto^[154,155].

Otro ejemplo es el Entrenamiento Autógeno de Schultz, donde se hace referencia a la meditación budista y a la importancia de sentir y ser consciente de la respiración^[156].

Posteriormente, muchos autores han aportado su definición; Brown y Ryan lo definen como “Capacidad natural de un estado de conciencia que implica “awareness” (darse cuenta) y atención abierta y receptiva hacia la experiencia y los eventos en curso”^[157]. Segal, Williams y Teasdale afirman que con mindfulness, el enfoque de la atención se abre para admitir todo lo que llega con una experiencia determinada^[158].

En los últimos años se ha producido un aumento significativo en la producción científica en torno al mindfulness y cada vez más enfocada a los mecanismos de

acción con la intención de dilucidar para quien es o puede ser útil el mindfulness^[158-160].

Tampoco se debe pensar que el mindfulness es adecuado para cualquier patología, es lógico suponer que su efectividad no puede evidenciarse ante cualquier enfermedad Sin embargo, lo que sí está verificada y demostrada es su eficacia científicamente.

Diferentes autores como Baer, Shapiro o Hölzel, hablan de los mecanismos implicados en la práctica de mindfulness, poniendo de manifiesto los cambios y modificaciones que estos producen en el organismo a varios niveles. Como ya se ha comentado anteriormente, mindfulness no se puede considerar la solución de cualquier enfermedad; tampoco es una terapia específica, más bien se trata de una intervención que con el entrenamiento y la práctica se consigue adquirir habilidades cognitivas, emocionales y afectivas, que pueden ser de gran utilidad para patologías como el estrés, ansiedad, depresión o dolor crónico, enfermedades todas ellas, de alta prevalencia en la sociedad occidental^[161-165].

La investigación debe continuar en esta línea para conocer mejor los mecanismos de acción y poder implementar intervenciones más eficaces y conocer todas las patologías susceptibles de ser utilizado el mindfulness^[166-168].

4.2. IMPORTANCIA DE LA MEDITACIÓN EN LA PRÁCTICA DE MINDFULNESS

La meditación es la base de la práctica formal del Mindfulness como lo es del budismo, que es la interpretación y materialización de las enseñanzas de Siddhartha Gautama Sakyamuni, más conocido como Buda (563 a.C.). Dos siglos después de su muerte estas enseñanzas fueron recogidas en el Abhidharma, uno de los textos sagrados del budismo, que se considera la base teórica de la meditación^[145,161].

La práctica formal en mindfulness nos ayuda a llegar a la concepción de que nosotros no somos nuestros problemas, ni nuestros pensamientos, ni siquiera nuestras sensaciones. Esta metacognición de nuestros procesos psicológicos es lo que nos da la capacidad de cierto control, alejándonos como sujetos omniscientes de todos los estímulos externos e internos que nos bombardean y eligiendo de

forma consciente centrar nuestra atención en aquello que deseamos, respiración, sensaciones físicas, pensamientos o emociones^[143,144,166].

La práctica puede ser formal, es decir, sentados en grupo o individualmente y dedicando un tiempo a ser conscientes de nuestro cuerpo, respiración, etc. o informal, cuando aplicamos esta atención plena a procesos rutinarios como una comida, ducharnos, en definitiva, cualquier momento en el que decidimos ser plenamente conscientes de lo que sentimos y pensamos en ese instante.

Ambos tipos de práctica se pueden e incluso se deben alternar para aumentar las experiencias mindfulness, ya que está ampliamente demostrado que cuanto más se practica mayor es el beneficio; lo es en diferentes sentidos, por un lado cuanto más se ejercita más fácil resulta encontrar el momento, ya que se crea una rutina y un hábito, por otro lado, somos conscientes antes de la dispersión natural de nuestros pensamientos y somos capaces de volver a concentrar nuestra atención de manera más efectiva. Haciéndonos estar más presentes y abandonando la actuación en “piloto automático”^[140,169].

Estas prácticas deben ser con aceptación, con ecuanimidad y sin enjuiciamiento, evitando la identificación con lo observado, creando una distancia emocional entre nosotros y nuestras percepciones o pensamientos^[168].

Otro aspecto importante de la meditación es la neuroplasticidad, se ha comprobado que se puede cambiar tanto nuestra actividad neuronal, sinaptogénesis y de mielogénesis, como la morfología física de estructuras cerebrales, neurogénesis, como se ha detectado con neuroimagen. Estudios como el de Yi-Yuan Tang demuestran el aumento en zonas como la corteza cingulada anterior, incremento de materia gris en ínsula anterior derecha, hipocampo izquierdo y cortex prefrontal, debido a la práctica del mindfulness^[170-173].

La Dra. Sara Lazar confirma lo dicho aportando información recogida de sus estudios, en donde relaciona la práctica de mindfulness con la memoria, el recuerdo del miedo y cómo esto afecta a la ansiedad, la depresión o incluso a la demencia senil^[174].

En mindfulness se pueden diferenciar dos grandes bloques, el oriental y el occidental, dentro del bloque oriental se pueden distinguir dos escuelas, la

meditación Vipassana y la meditación Zen, y dos occidentales, como son la MBSR, que se ha tomado como modelo para este estudio, y la Terapia Cognitiva Basada en Mindfulness (MBCT) propuesta por Segal, Williams y Teasdale. Esta tendencia psicológica pretende alejar al individuo de sus procesos mentales, haciéndolo de este modo reconocer su estado de ánimo y valorar el riesgo de recaídas en patologías como la depresión^[175].

Los modelos occidentales son más recientes y se enfocan más a una terapia psicoeducativa, forman parte de las conocidas como terapias cognitivo conductuales de tercera generación^[176], como son la Terapia de Aceptación y Compromiso ACT^[176,177] y la Terapia Dialéctico Conductual DBT^[178].

Estas nuevas terapias psicológicas, MBSR y MBCT, proponen el cambio de conducta a través de modelos cognitivos y proponen el uso del mindfulness como herramienta para conseguir su objetivo, la aceptación, sin juzgar y con apertura a la experiencia de lo que se está percibiendo, sintiendo y pensando en ese momento, en definitiva, a ser conscientes del presente y conseguir reconocer y evitar estados de rumiación y pensamientos negativos^[166].

Tras pocos años de la aparición del MBSR ha ido incrementándose la producción científica de manera exponencial, ha demostrado ser de mucha utilidad en diferentes ámbitos de la psicología y la educación. Hoy en día existen infinidad de estudios que avalan el uso de la atención plena como método de reducción de estrés, regulación emocional y cognitiva, concienciación corporal o control atencional. Existe una inquietud generalizada para conocer los mecanismos de acción que consiguen mejorar la situación de las personas que lo practican, pero aún queda mucho por conocer^[179-184].

4.3. CONCEPTOS IMPORTANTES EN MINDFULNESS

Se ha descrito que mindfulness se basa en la voluntad de mantener atención y una orientación abierta hacia la experiencia con aceptación.

Mantener la atención de un modo voluntario implica la intencionalidad, se trata de reconducir la atención tantas veces como sea necesario al objeto o fenómeno que se haya decidido atender. Esta autorregulación de la atención debe realizarse de una manera amable, es decir, sin autocastigarnos por distraernos o permitir que algún pensamiento irrumpa en nosotros, lo que se debe hacer es volver al punto de atención.

Este proceso se puede entrenar con la práctica, tanto formal como informal, consiguiendo reducir las distracciones en relación al entrenamiento en mindfulness realizado.

Por otro lado, se habla de apertura a la experiencia, este concepto hace referencia a que se debe realizar la práctica de mindfulness con curiosidad y sin prejuicios, intentando descubrir todos los estímulos que recibimos de esa experiencia y sin realizar ningún juicio de valor sobre lo que estamos observando. Es lo que se denomina orientación abierta con aceptación, este monitoreo abierto de nuestras sensaciones, emociones o pensamientos es lo que se conoce como metacognición. Es un concepto importante en mindfulness porque al ser conscientes de que esas sensaciones, sentimientos o pensamientos no nos definen, es decir, no son nosotros, son solo eso, pensamientos, sensaciones que percibimos o sentimientos y podemos aferrarnos a ellos o dejarlos pasar. En este punto se tiene la percepción de cierto control sobre la enfermedad o la situación que provoca el estrés.

Otro concepto importante vinculado a la atención plena es la compasión, entendida como una relación entre iguales donde se intenta aliviar el sufrimiento ajeno, sin enjuiciar a la persona que sufre. Esta acción de ayudar nos hace sentirnos bien con nosotros mismos y repercute positivamente en nuestra salud. Además, también la podemos aplicar hacia uno mismo, la autocompasión, esta habilidad también se puede entrenar, existen diversos programas para ello^[148,149,166,185,186].

4.4. MINDFULNESS Y ESTRÉS

Este punto es fundamental para el presente estudio, ya que además de formar parte de su objetivo principal, es donde confluyen la neurociencia y el mindfulness. Últimamente, gracias a los avances neurocientíficos, es posible comprobar los

efectos físicos y fisiológicos del estrés prolongado. Estos estudios, unidos a los de mindfulness y estrés, aportan una valiosa información de los efectos y beneficios de esta técnica para corregir o evitar las afecciones que provoca la exposición continua al estrés^[120].

Desde la aplicación de mindfulness de Kabat Zinn en sus terapias para la reducción de estrés, hasta los más recientes trabajos como los de Germer *et al.*, que relaciona el mindfulness y la psicoterapia, y los de Ausias Cebolla en 2018, que demuestran los beneficios del mindfulness entre meditadores y no meditadores y la correlación entre la emoción positiva y la meditación encontrada por Fredrickson^[144,186,187-191], son claros ejemplos de los beneficios que aporta este método para ser conscientes del presente y con la práctica conseguir distanciarnos de los pensamientos o emociones negativas, desvinculándolas de nosotros mismos.

El hecho de no identificarnos con el dolor o con la enfermedad y la práctica continua, dejando pasar esas sensaciones, sentimientos y pensamientos, provoca una percepción de cierto grado de control por parte del practicante de mindfulness. Esta sensación de control y una mayor conciencia del momento presente proporciona una percepción más verídica, reduce el afecto negativo, mejora la vitalidad y el afrontamiento, con ello se reduce el nivel de estrés, disminuye la secreción de CRF y por tanto la estimulación de ACTH y en consecuencia la liberación por parte de la glándula adrenal de catecolaminas y cortisol, esto se traduce en una menor sintomatología y un mayor bienestar en el paciente.^[192-195].

4.5. MINDFULNESS Y EII

Los pacientes con EII presentan de forma habitual altos niveles de estrés percibido y éstos podrían estar relacionados con una mala evolución de su enfermedad, así como con una pérdida importante de calidad de vida. Por tanto, medidas que permitan disminuir el nivel de estrés en estos pacientes podría contribuir a una ganancia en términos de calidad de vida, así como disminución de brotes de actividad de la enfermedad.

Se han desarrollado diferentes propuestas psicológicas con el objetivo de ayudar a los pacientes a manejar las dificultades cotidianas, manejo de enfermedad

y reducción de estrés. En un metaanálisis dentro de las guías Cochrane (2010) se investigaron las intervenciones psicológicas que habían mostrado ser eficaces en la EII. Se concentraron un total de 21 estudios donde se aplicaron diferentes propuestas psicológicas de intervención. Los resultados solo fueron positivos en pacientes jóvenes en calidad de vida y depresión. A tenor de la carencia de resultados positivos, se han desarrollado nuevas propuestas terapéuticas prometedoras, como por ejemplo el uso de mindfulness.

Mindfulness es una habilidad psicológica definida por Bhisop *et al.* como “la capacidad de autorregulación de la atención de forma que sea mantenida en la experiencia inmediata, acompañada de una actitud de amabilidad y aceptación”^[143]. Las intervenciones psicológicas basadas en el entrenamiento de mindfulness (IBM) han demostrado ser un tratamiento psicológico efectivo para la reducción del estrés en pacientes con enfermedades crónicas limitantes^[196,197] debido a la capacidad de las IBM de alterar numerosos procesos relacionados con el estrés, además del impacto directo que parece también tener en el funcionamiento del propio sistema inmunitario^[198]. No es extraño que se haya comenzado a utilizar en muchas enfermedades crónicas y que esté mostrando, en general, buenos resultados. Los metaanálisis generales que incluyen población con problemas crónicos de salud muestran resultados positivos, aunque dispares. Por ejemplo, el realizado por Bohlmeijer, Prenger, Taal y Cuijpers en 2010 analizó los efectos de las IBM en relación al malestar general y sintomatología depresiva y ansiosa de todos los estudios controlados aleatorizados hasta ese momento, incluyendo todo tipo de pacientes crónicos: pacientes con problemas de dolor crónico, artritis reumatoide, problemas cardiovasculares, síndrome de fatiga crónica, y cáncer. Los resultados fueron significativos aunque más moderados, con un tamaño del efecto medio-bajo, en comparación con los reportados en otro metaanálisis previo^[199]. Los autores concluyeron que, cuando se combinaba la IBM con elementos cognitivo-conductuales, parecía dar lugar a mejores resultados.

Hasta la fecha, los estudios realizados utilizando una IBM en pacientes con EII han demostrado ser eficaces en la reducción de los síntomas al terminar el tratamiento y una mejoría a los tres o cuatro meses en niveles de calidad de vida, estrés psicológico o ansiedad^[173,200]. Sin embargo, que tengamos constancia,

ningún estudio ha analizado los efectos de un entrenamiento en mindfulness en la reducción del nivel de citocinas inflamatorias en las EII.

5. OBJETIVO E HIPÓTESIS

El objetivo del presente estudio fue analizar los efectos de una intervención de Mindfulness añadida a la terapia médica estándar sobre los niveles plasmáticos y fecales de biomarcadores de inflamación (Calprotectina Fecal y Proteína C Reactiva) además de comprobar las concentraciones de cortisol en pelo en pacientes diagnosticados con enfermedad inflamatoria intestinal.

Planteamos como hipótesis del estudio que la intervención de Mindfulness añadida a la terapia médica estándar disminuiría los niveles de Calprotectina Fecal, de Proteína C Reactiva y las concentraciones de cortisol en el pelo en comparación con la terapia médica estándar aplicada sola.

6. METODOLOGÍA

El estudio realizado es un Ensayo Controlado Aleatorizado prospectivo de dos brazos (NCT02963246, 15/11/2016), en el cual se han seguido las recomendaciones CONSORT para ensayos clínicos y cumplido con las pautas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki. El ensayo se llevó a cabo en la Unidad de EII en el Hospital Universitario de Sagunto de mayo de 2017 a marzo de 2018.

6.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los participantes en el estudio fueron reclutados por el Dr. Xavier Cortés en la Unidad de digestivo del Hospital de Sagunto, que da servicio a todo el Departamento de Salud de Sagunto (Figura 12).

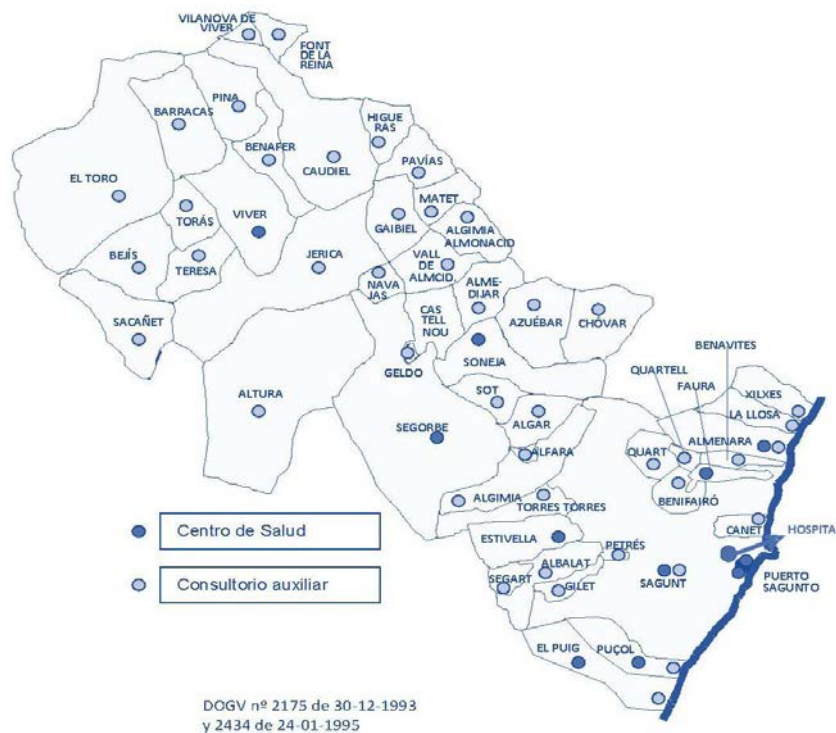


Figura 12. Departamento de salud de Sagunto. Fuente: Basado en <http://sagunto.san.gva.es/departamento-de-salud-de-sagunto>

Los criterios de inclusión fueron:

- Ser mayor de 18 años;
- Aceptar participar en el estudio y firmar un consentimiento informado (anexo 3);
- Remisión clínica en los últimos 3 meses, previos a la inclusión, sin modificación del tratamiento habitual durante estos 3 meses. Se define remisión clínica como: pacientes con CU que presenten un índice de actividad inflamatoria, Índice de Mayo Parcial ≤ 2 puntos y sin ninguna puntuación de cada ítem >1 o con Índice de Harvey-Bradshaw < 5 puntos en pacientes con EC;
- Tener acceso a un ordenador con conexión a internet;
- Tener capacidad de movilidad con transporte propio, para asistir a las sesiones presenciales;
- No estar diagnosticados o bajo tratamiento psicológico o psiquiátrico;
- No haber realizado ninguna intervención de mindfulness.

6.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No conocer el idioma castellano;
- Presencia de deterioro cognitivo;
- Cambios en la medicación en los 3 meses previos a la inclusión;
- Estar con tratamiento psiquiátrico o psicológico;
- Estar embarazada;
- Haber sufrido la pérdida de un familiar cercano o algún tipo de Shock traumático;
- Consumir alcohol o drogas.

6.3. PROCEDIMIENTO

Antes del inicio del estudio, un investigador ajeno al reclutamiento de los pacientes en el estudio, generó una secuencia aleatoria utilizando un generador de números aleatorios (Random allocation software versión 1.0.0); dicha secuencia

se ocultó a todo el personal involucrado en el estudio a lo largo de toda su duración. Tras verificar el cumplimiento de los criterios de inclusión, 57 participantes fueron asignados, en una proporción de 2: 1, a los grupos de intervención basada en Mindfulness (IBM; $n = 37$) o terapia médica estándar (TME; $n = 20$) (Figura 13).

Un total de 93 pacientes fueron evaluados para este estudio; 36 fueron excluidos porque declinaron participar (21 pacientes) o porque no cumplieron con los criterios de inclusión: acceso a Internet o teléfonos inteligentes (4); trastorno psiquiátrico (4); shock emocional reciente (2); cambio en la medicación en los últimos tres meses (5). La Figura 13 detalla el proceso de selección de participantes.

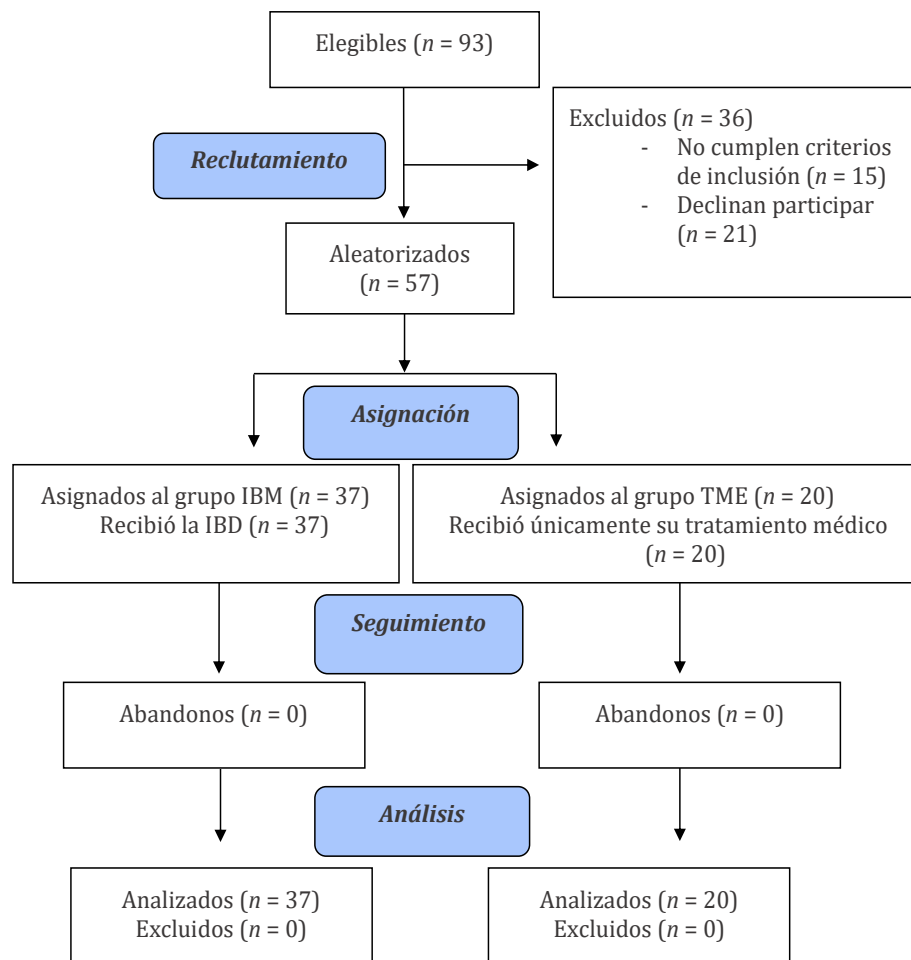


Figura 13. Diagrama de flujo de la distribución de pacientes por grupo. Fuente: Elaboración propia.

6.4. VARIABLES DEL ESTUDIO

6.4.1. VARIABLE PRINCIPAL

La **CF** se analizó en un autoanalizador modelo InmunoCap 250. Nada más recibir la muestra se extrae una pequeña cantidad con la que se rellena un recipiente especial con una espátula, se llena bien el recipiente y se enrosca en la parte final de un tubo cilíndrico, en el cual se añaden 7 ml. del tampón de extracción, que junto con el recipiente y el tubo forman parte del kit de preparación “Faecal sample preparation kit Ref 10745804 (Termofisher)”. Una vez añadido el tampón de extracción se homogeniza en un agitador durante dos minutos, tras este proceso se separa el sobrenadante recogéndolo con una pipeta Pasteur y depositándolo en un tubo Eppendorf, el cual se centrifuga durante 5 minutos. El tubo Eppendorf se coloca en un tubo de separación pequeño y se introduce en el autoanalizador Inmuno Cap 250, tras analizar el contenido se obtiene la cantidad de μg de CF por g que contiene la muestra (Anexo 8).

6.4.2. VARIABLES SECUNDARIAS

En cuanto a la determinación del nivel de **PCR**, se extrajeron muestras de sangre venosa de manera aséptica y se analizaron por inmunoturbidimetría in vitro, el analizador utilizado para ello fue el COBAS C 501, el cual es necesario que esté bien calibrado a Blanco para poder medir la turbidez de la muestra. Para la determinación se utilizaron dos reactivos: R1 Tampón TRIS con albumina de suero bovino; conservantes y R2 Partículas de látex recubiertas con anticuerpos de ratón anti-CRP en tampón de glicina, inmunoglobulinas (de ratón) conservante, que se aconseja homogeneizar bien antes de iniciar el análisis clínico (Anexo 9).

Brevemente, el protocolo estandarizado utilizado -para obtener la mayor sensibilidad- en la determinación del **cortisol en pelo** fue el siguiente: para extraer cortisol del pelo, la muestra se secciona con cuidado en longitudes de segmento que se aproximará al período de tiempo de interés (desde la parte más externa, si el

pelo tuviera 3 cm de longitud, se extraerá el cortisol secretado proporcionalmente por el individuo en los últimos 3 meses de vida). A continuación, seleccionamos un peso medio aproximado por muestra, de 150 mgrs que equivalen a unos 150 pelos o hebras por individuo. Las muestras individualizadas y depositadas en eppendorfs (uno para cada paciente) se pulverizan a tijera. Entonces, cada muestra de pelo pulverizada y depositada de nuevo en un eppendorf se incubará en 1 ml de metanol durante 36 horas en agitación a 34C°. A continuación, se separa el metanol del pelo (sobrenadante), que ya tendrá disuelto el cortisol. Esta solución se evaporará hasta sequedad, y luego se reconstituye el pelet en una solución salina tamponada con fosfato (PBS) en volumen de 200 µls. Después de la extracción, se empleará un kit comercial para la cuantificación de cortisol mediante técnica de inmunoensayo (ELISA) que según la bibliografía es el más sensible. Es necesario utilizar controles positivos y negativos, y unos estándares para obtener una curva de calibración que nos permita determinar las concentraciones de cortisol en pelo para cada una de las absorbancias obtenidas con el lector de ELISA o espectrofotómetro (concretamente marca Victor X5). Este proceso mediante técnica de ELISA tarda hasta la lectura una hora, siguiendo los pasos del kit del fabricante, obteniendo finalmente una concentración de cortisol en pelo de ngrs/mgrs. Como proponen otros estudios sobre cortisol en pelo previos^[133].

Otras variables del estudio fueron: porcentaje de pacientes que completaron los módulos de internet, número de brotes durante la intervención, y número de pacientes que disminuyó su tratamiento médico durante el período de estudio.

6.5. INTERVENCIÓN

A los pacientes se les invitó a una charla informativa acerca del mindfulness y los posibles beneficios que les puede aportar.

La Intervención Basada en Mindfulness (IBM) que se aplicó en este estudio en el Hospital de Sagunto consta de cuatro sesiones presenciales de dos horas de duración, distribuidas en ocho semanas, por un terapeuta especializado en IBM. Las sesiones presenciales fueron en formato grupal, basándose en la propuesta por Kabat Zinn en su programa de MBSR. Una de las novedades del estudio fue la inclusión de sesiones/módulos “on line” a través de una plataforma web desde sus domicilios de manera individual, donde cada participante tuvo que completar cuatro módulos para completar y reforzar sus prácticas y facilitar la meditación. Las sesiones presenciales y “on line” se fueron alternando durante los dos meses que duró la intervención (Figura 14).

La terapia mindfulness fue aplicada en grupos de 10-12 personas y tuvo como objetivo el entrenamiento de la habilidad de la atención plena mediante diferentes técnicas y tareas.

Las sesiones presenciales consistieron en lo siguiente:

- Sesión 1: Introducción al curso y habilidades básicas

En esta primera sesión se informa a los participantes de las normas básicas del grupo, y se introducen aspectos y conceptos básicos del mindfulness. Se asignan las primeras tareas para practicar en casa y se envían audios con los que guiar las meditaciones, así como, auto-registros de pensamientos y emociones.

- Sesión 2: Manejo de dificultades con la práctica diaria. Estar aquí y ahora

En esta sesión se trabajan las dificultades que hayan podido tener en las prácticas diarias en casa, y se resuelven todas las dudas prácticas y

procedimentales (somnolencia, falta de adherencia, dificultades en la concentración, etc...).

Se introduce la importancia de llevar la práctica de mindfulness a la vida cotidiana, y la importancia de estar pendiente de aquello que sucede aquí y ahora, en el presente. Se continúa revisando los posibles obstáculos a la práctica, y se asignan nuevas tareas (enfocadas en aumentar la capacidad de estar atento en la vida cotidiana).

Se explica la diferencia entre las prácticas formales, donde es necesario encontrar un momento y un lugar para realizar la meditación, y las prácticas informales, donde se practica mindfulness en actividades cotidianas como caminar, comer, etc.

- Sesión 3: Manejo de emociones difíciles. Aprendiendo a cuidarnos

En esta sesión se introduce la observación de la emoción y cómo se puede gestionar desde la práctica de mindfulness, así como las implicaciones que tiene sobre la respuesta al estrés. Aprender a identificar y regular las emociones es clave para gestionar las dificultades que emergen en el día a día.

Todas estas habilidades se van transformando en acciones concretas de gestión de la salud y del autocuidado. En esta sesión se introduce un módulo específico de gestión de la enfermedad, y de cómo mindfulness puede ser de gran ayuda para gestionarla.

- Sesión 4: Generar un estilo de vida saludable. Trabajando la auto-compasión y Cierre

Continuamos trabajando la idea de mindfulness como herramienta de autocuidado que debe traducirse en acciones concretas y la importancia de la emoción en la toma de decisiones de salud.

Por auto-compasión se entiende la capacidad psicológica de desear estar bien. Es un estado emocional positivo; se sabe que lleva a una serie de actitudes y

acciones muy positivas. Se llevan a cabo prácticas específicas para entrenarlo en casa y se asignan nuevas tareas para su entrenamiento.

Revisión de lo aprendido durante el curso y preparación de la práctica fuera del grupo. Se resuelven dudas para el mantenimiento de la práctica.

La intervención incluye prácticas intensivas de mindfulness, psicoeducación vinculada a la EII, estrategias de autocuidado, y autocompasión. Además, se realizó una sesión más de seguimiento de la práctica al acabar la intervención a los 6 meses de haber empezado.

El programa en Internet se llevó a cabo a través de una plataforma web (<https://www.psicologiytecnologia.com/>) a la que se accedió utilizando un nombre de usuario y una contraseña proporcionados a cada uno de los participantes. La plataforma online contenía los siguientes módulos: M1. Conocer la atención plena (semana 1); M2. Estableciendo prácticas formales e informales para la atención plena (semana 2); M3. Manejo del pensamiento, prácticas de escaneo corporal, y valores de atención plena (semanas 3-4); M4. Autocompasión: integración de la atención plena en la vida cotidiana (semanas 5-8) 33. Los módulos incluían meditaciones en video y audio pregrabadas y cada módulo duraba aproximadamente 60 a 90 minutos, según el ritmo del participante y la disponibilidad de tiempo. Al concluir la intervención (a las 8 semanas tras realizar los cuatro módulos) los participantes pudieron continuar practicando en ella hasta seis meses después del inicio.

Todas las variables del estudio fueron evaluadas antes de iniciar el tratamiento (línea base) y 6 meses después por investigadores que estaban cegados a la asignación de grupo. La siguiente figura muestra el cronograma completo del estudio.

INTERVENCIÓN

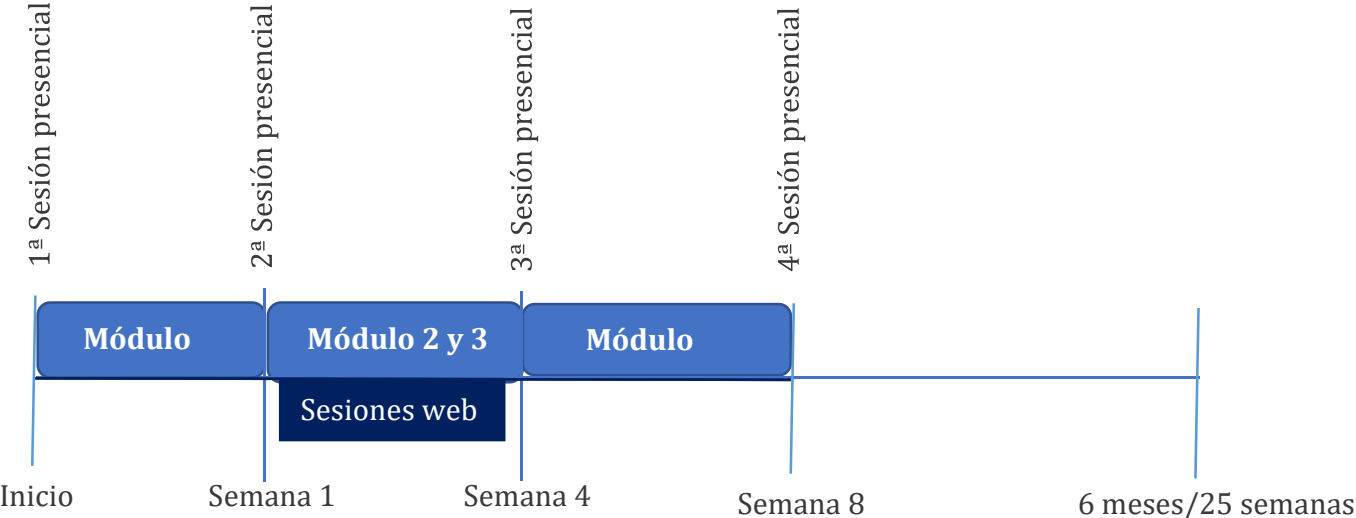


Figura 14. Cronograma y estructura de la intervención. Fuente: Elaboración propia.

6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis a priori del tamaño muestral a partir del tamaño del efecto obtenido en la variable principal (calprotectina fecal) en un estudio piloto previo (η^2 parcial $[\eta^2] = 0.058$). Así, aplicando un nivel α de 0.05 para una potencia del 90%, se determinó la necesidad de reclutar 23 participantes por grupo (G*Power = 3.0.10); se aumentó el tamaño de la muestra en un 25% para compensar las posibles pérdidas por posibles abandonos en los grupos de intervención; por tanto, el tamaño de la muestra final fue de un total de 57 participantes.

Tras el cálculo de los estadísticos descriptivos de la muestra y la realización de las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) de las distintas variables, se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA) mixto para comparar los efectos sobre las variables del estudio (CF, PCR y niveles de cortisol), usando el tiempo como factor intragrupo (línea base versus seguimiento a los 6 meses), y el grupo como factor entre grupos (IBM versus TME). El ANCOVA se ajustó a los datos de la línea de base. Los tamaños del efecto se estimaron utilizando el estadístico η^2 y se interpretaron siguiendo las referencias de Cohen para valores pequeños, moderados y grandes ($\eta^2 = 0.01, 0.06$ o 0.14 , respectivamente)^[233]. Los análisis estadísticos se realizaron por intención de tratar utilizando el software SPSS (v.25.0) para Windows (SPSS Inc., Chicago, Ill, EE. UU.). Los datos se presentan como la media más o menos la desviación estándar (DE), considerando la probabilidad de significancia (valores p) a valores de $\leq 0,05$ para todas las comparaciones.

7. RESULTADOS

Los resultados de los biomarcadores analizados muestran las características generales de la población de estudio antes de empezar la intervención, tanto los del grupo IBM como los del grupo TME. Un total de 35 de los 37 pacientes (95%) asistieron a tres o más sesiones presenciales, y el 100% de los participantes completaron todos los módulos de Internet (Tabla 4).

VARIABLES	GRUPO	
	IBM (n = 37)	TME (n = 20)
Edad	46.2 (10.9)	46.3 (11.9)
Sexo	8/29	11/9
Calprotectina Fecal (µg/g)	198 (394)	222 (242)
Proteína C- Reactiva (mg/dL)	1.93 (2.50)	2.46 (3.81)
Cortisol en pelo (µg/mL)	1.75 (1.19)	2.18 (1.92)
Leucocitos (x10 ⁹ L)	6.76 (2.29)	7.97 (2.27)
Plaquetas (x10 ⁹ L)	264 (67)	252 (79)
Hemoglobina (g/dL)	13.4 (1.2)	14.4 (1.2)
Hematocrito (%)	41.0 (3.2)	43.5 (3.3)
Ferritina (ng/mL)	183 (290)	129 (100)
Albúmina (g/dL)	4.6 (0.3)	4.7 (0.7)

Tabla 4. Características clínicas basales de los participantes del estudio.
Fuente: elaboración propia.

Los valores de los biomarcadores, así como la edad o el sexo de los participantes, tanto los del grupo IBM como los del grupo TME no mostraron diferencias significativas entre grupos en el momento de iniciar el estudio.

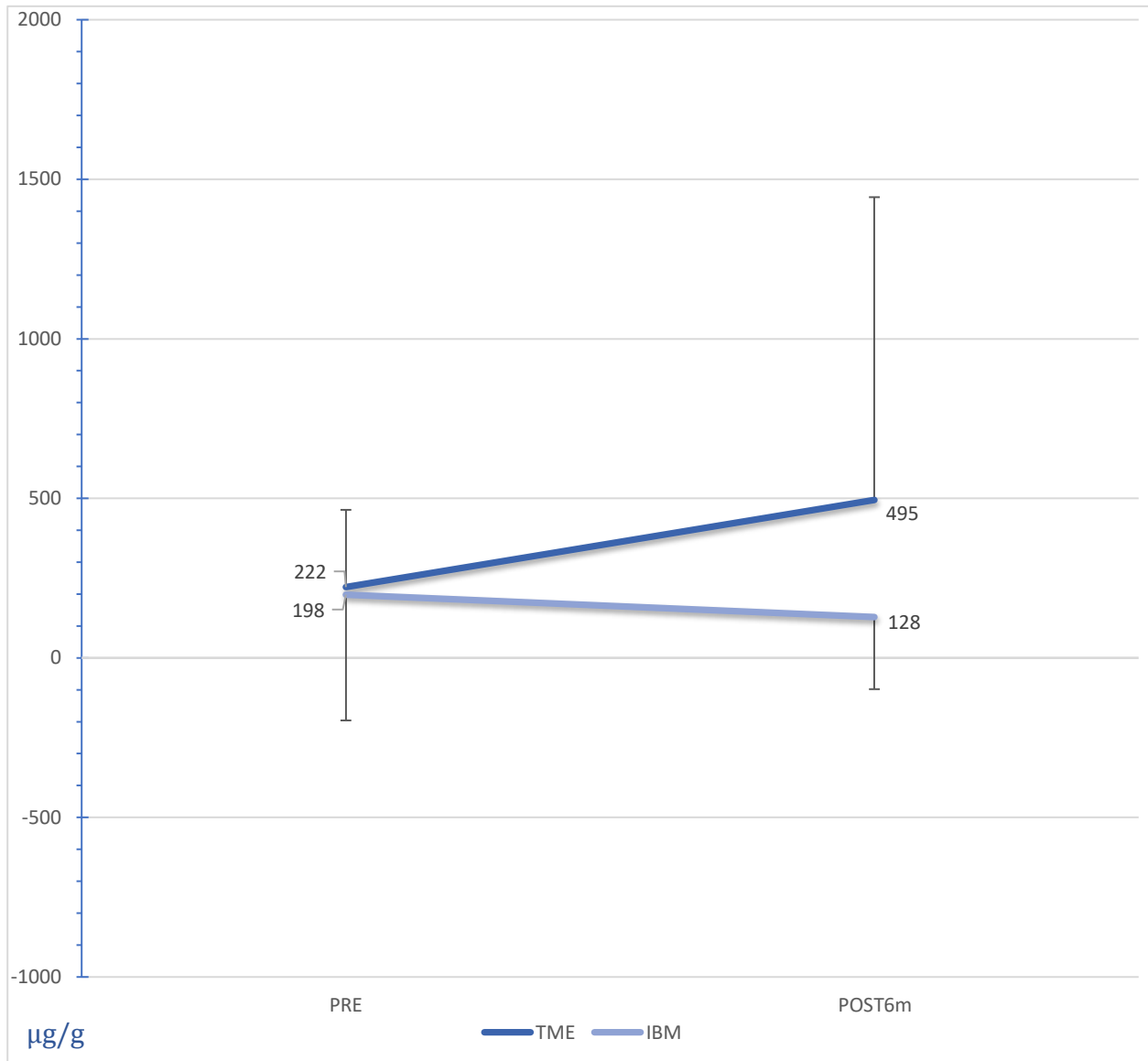
El número de brotes durante la intervención fue similar en ambos grupos (3 de 20 en el grupo TME frente a 5 de 37 en el grupo IBM). Por otra parte, tres pacientes (2 del grupo IBM y 1 del TME) disminuyeron su tratamiento médico durante el período de estudio.

El análisis de la comparación entre grupos mostró disminuciones significativas en los niveles de CF y PCR en el grupo IBM en comparación con el grupo TME a los 6 meses, con tamaños del efecto de moderados a grandes. Además, los resultados del ANCOVA mostraron una ligera disminución del cortisol en pelo en el grupo IBD en comparación con el grupo TME, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística (Tabla 5, Gráficas 1, 2, 3).

VARIABLES	GRUPO				Diferencia entre IBD y TME Post (6 meses)		
	PRE		POST (6 meses)		Diferencia (95% CI)	P	η^2
	IBD	TME	IBD	TME			
Calprotectina Fecal ($\mu\text{g/g}$)	198 \pm 394	222 \pm 242	128 \pm 226	495 \pm 949	-367 (-705 a -29)	0.03	0.085
PCR (mg/dL)	1.93 \pm 2.47	2.46 \pm 3.81	2.43 \pm 3.05	5.25 \pm 7.73	-2.82 (-5.70 a 0.08)	0.05	0.066
Cortisol en pelo ($\mu\text{g/mL}$)	1.75 \pm 1.19	2.18 \pm 1.92	1.34 \pm 1.07	1.94 \pm 2.01	-0.60 (-1.27 a 0.08)	0.25	0.036

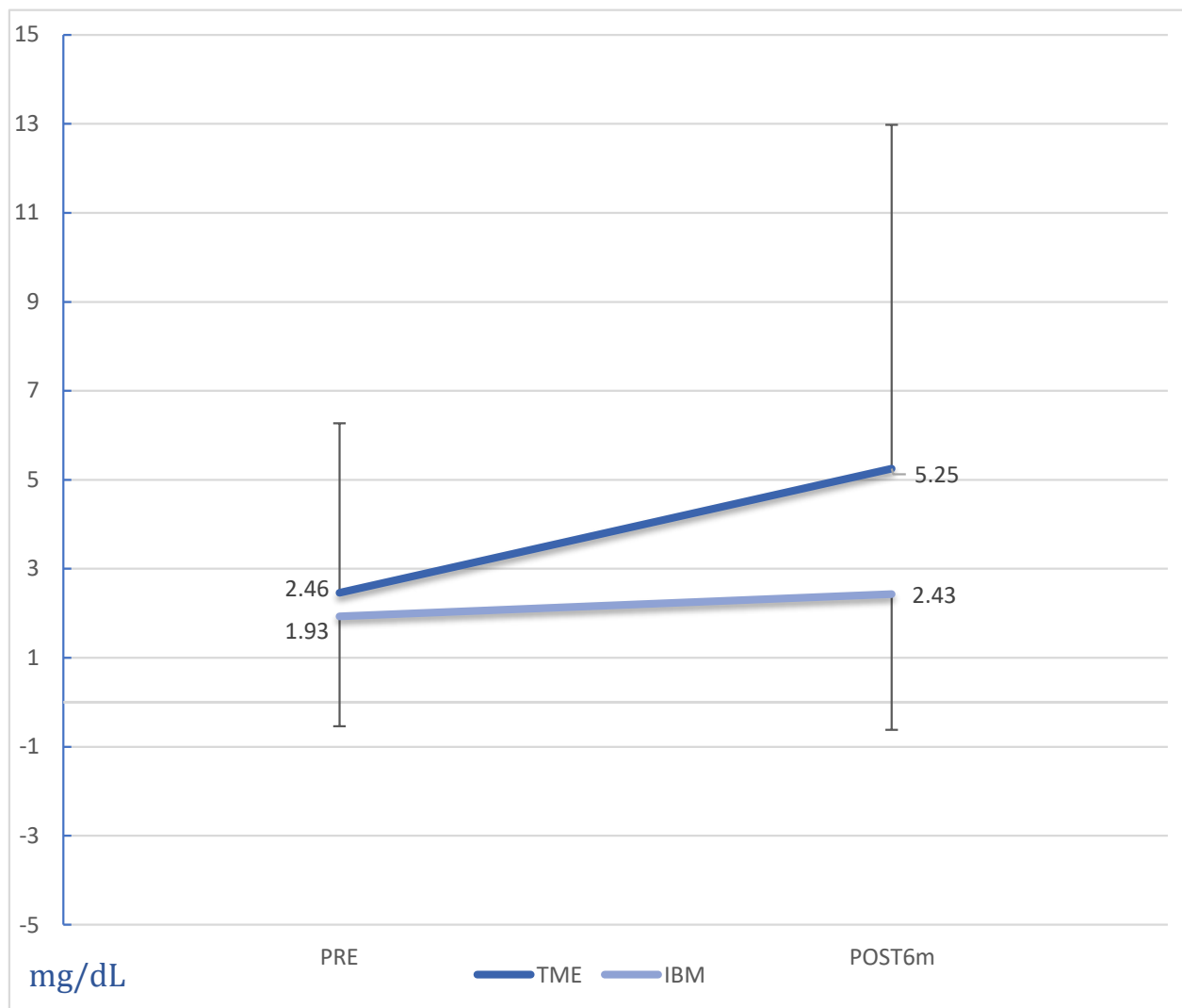
Tabla 5. Comparación de los resultados de Calprotectina fecal, proteína C reactiva y cortisol (Biomarcadores) inter-grupo y entre grupos. Fuente: elaboración propia.

Los niveles de CF mostraron una reducción significativa de $-367 \mu\text{g/g}$ (IC95%, $-705, -29$) en la comparación a los 6 meses en el grupo IMB en comparación con el grupo TME ($p=0.03$), con un tamaño del efecto de moderado a grande ($\eta^2 = 0.085$), (Gráfica 1).



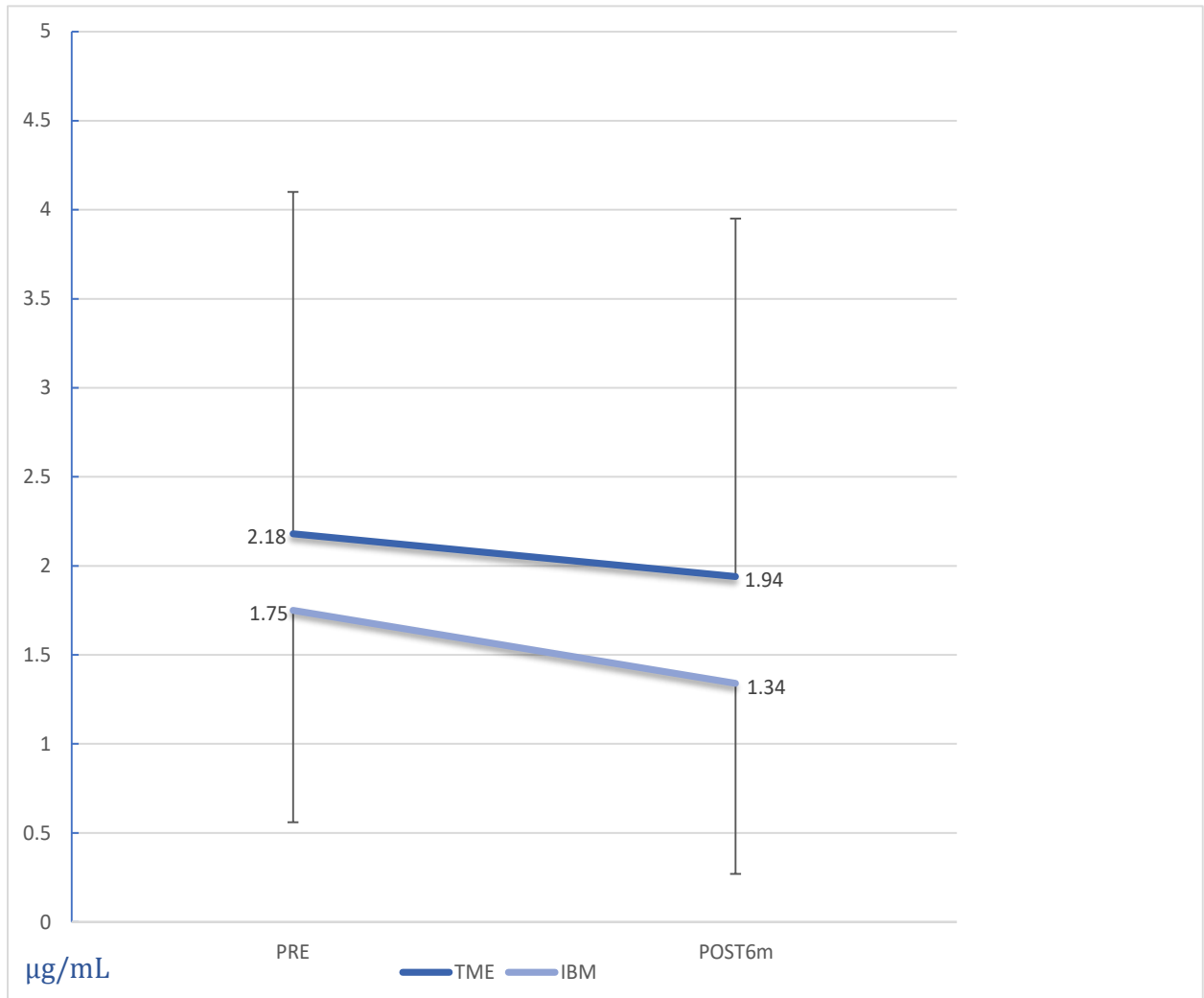
Gráfica 1 Comparación de los niveles de CF en el grupo IBM y en el grupo TME, al inicio y a los 6 meses.

Los niveles de PCR mostraron una reducción significativa de -2.82 mg/dl (IC95%, -5.70, 0.08) en la comparación a los 6 meses en el grupo IMB en comparación con el grupo TME (p=0.05), con un tamaño del efecto de moderado a grande ($\eta^2 = 0.066$), (Gráfica 2).



Gráfica 2 Análisis estadístico de los niveles de la PCR en el grupo IBM y en el grupo TME, al inicio y a los 6 meses.

Los niveles de cortisol en pelo no mostraron diferencias significativas en la comparación a los 6 meses en el grupo IMB en comparación con el grupo TME. (Gráfica 3).



Gráfica 3 Análisis estadístico de los niveles del Cortisol en el grupo IBM y en el grupo TME, al inicio y a los 6 meses.

8. DISCUSIÓN

Este estudio examinó la efectividad de una intervención basada en Mindfulness que combinó sesiones “on line” (módulos organizados, descritos con anterioridad en el apartado de Intervención) y sesiones presenciales en pacientes diagnosticados con enfermedad inflamatoria intestinal. Este trabajo resulta de relevancia al constituir uno de los primeros estudios en analizar la eficacia de una intervención basada en Mindfulness sobre las concentraciones de biomarcadores inflamatorios en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Tras el análisis de las muestras biológicas es de vital importancia remarcar que los resultados del estudio han mostrado reducciones significativas en los niveles de calprotectina fecal y Proteína C reactiva en comparación con el grupo de pacientes que solo recibieron la terapia médica estándar, confirmando las hipótesis de nuestro estudio en relación a estos dos biomarcadores [202].

Proteína C reactiva

Es bien sabido que la intensa inflamación intestinal característica de la enfermedad se acompaña de una respuesta de biomarcadores inflamatorios de fase aguda, que se pueden detectar en el suero sanguíneo. Sólo unos pocos marcadores en sangre o suero se han validado ampliamente en la enfermedad inflamatoria intestinal, y son aún menos los que se usan de forma habitual en la clínica. Sin embargo, la proteína C reactiva es uno de los marcadores más utilizados regularmente [121,204]. Esta proteína tiene una vida media relativamente corta de 19 horas, por lo que es un indicador de inflamación aguda más sensible que la mayoría de los otros reactivos de fase aguda [121]. Con respecto a este marcador, proteína C reactiva, experimentos y análisis realizados en nuestro laboratorio y mostrados en este estudio, concuerdan con otros trabajos que mostraron que los niveles de Proteína C reactiva disminuyen a medida que la inflamación se reduce, como por ejemplo el trabajo que relaciona los niveles de proteína C reactiva con el desarrollo y progresión de la neumonía en recién nacidos [204], o un estudio clínico que demuestra cómo se asocian los niveles proteína C reactiva en sangre con los procesos inflamatorios propios de la osteoartritis de rodilla, confirmando, al igual

que en nuestro estudio, que el aumento de proteína C reactiva aparece con la aparición del proceso inflamatorio, y su disminución cuando este proceso se reduce o desaparece^[205].

Diversos estudios han intentado utilizar este biomarcador como biomarcador útil en la predicción de la aparición de los efectos inflamatorios en la colitis ulcerosa, pero si bien, y como ya se ha comentado es muy útil para diagnosticar y monitorizar los procesos inflamatorios de todo tipo, no ha demostrado ser sensibles para predecir la aparición de los mismos en la mucosa intestinal, a diferencia de la calprotectina fecal^[206]. Diríamos por tanto que resulta útil correlacionar este marcador y la inflamación en fase aguda únicamente.

Calprotectina Fecal

Resultados obtenidos en nuestro laboratorio, para el marcador Calprotectina fecal se asemejan a los anteriormente citados para proteína C reactiva. Así: encontramos reducciones del marcador significativas con tamaños del efecto de moderados a grandes. La reciente introducción de marcadores fecales como herramienta de diagnóstico para estudiar la enfermedad inflamatoria intestinal permite la evaluación simple, rápida, fiable, no invasiva y reproducible de la inflamación en intestino delgado y grueso. Entre estos marcadores fecales, la calprotectina fecal es particularmente importante porque puede usarse para controlar la evolución de los procesos inflamatorios en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal^[129].

La calprotectina es una proteína, formada por dos cadenas pesadas y una ligera, perteneciente a la familia de proteínas S100, y va unida al calcio. Se encuentra principalmente en los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, tiene propiedades bactericidas y fungicidas. También se encuentra en las heces, siendo unas 6 veces mayor su número que a nivel plasmático. Al tratarse de una proteína resistente a la degradación enzimática puede ser fácilmente medida en heces^[130,207].

La calprotectina fecal es un biomarcador más específico para detectar los procesos inflamatorios a nivel intestinal, por lo tanto, diagnosticar y monitorizar la presencia de dichos procesos. Una de las ventajas que presenta este método es que no es una técnica invasiva ni cruenta, no es doloroso, ya que simplemente se

necesita una pequeña muestra (5 gr.) de heces que se analiza mediante enzimoanálisis (ELISA) y, recientemente, por técnicas de inmunocromatografía (también llamados «tests rápidos»)[208].

Es importante matizar que un resultado negativo en calprotectina fecal no debería entenderse como la ausencia de patología intestinal, sino más bien significa que no existe inflamación intestinal por polinucleares neutrófilos, lo cual indica una mayor sensibilidad para diagnosticar la enfermedad inflamatoria intestinal; concretamente ha demostrado ser más sensible con la colitis ulcerosa que con la enfermedad de Crohn [208, 209]. Así como también debe tenerse en cuenta que en pacientes neutropénicos puede darse resultados de falso negativo en calprotectina fecal existiendo inflamación intestinal [125].

Las patologías inflamatorias del tracto gastrointestinal causan un aumento en la permeabilidad de la mucosa que activa el sistema inmunitario, induciendo la migración de granulocitos y monocitos al lumen intestinal; la activación y la apoptosis de estas células liberan una gran cantidad de calprotectina, que se excreta en las heces. Los niveles de calprotectina fecal también se correlacionan bien con la excreción de leucocitos y permeabilidad de la mucosa intestinal y es resistente a la degradación bacteriana y permanece en las heces, lo que la convierte en un marcador muy útil para valorar la actividad inflamatoria intestinal en la práctica clínica[108,210-213].

Nuestros resultados fueron similares a los publicados en otros estudios como los mostrados en el trabajo de Gerbarg *et al.*, en el que los niveles de calprotectina fecal y proteína C reactiva fueron más bajos en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que realizaron un Taller de Respiración-Cuerpo-Mente en comparación con un grupo control[214,215]. En esta investigación, los autores sugieren que la intercomunicación intestino-cerebro es probablemente el mecanismo subyacente a esta asociación. La relación bidireccional intestino-cerebro, que incluye enlaces neuronales, hormonales e inmunes, es bien conocida[216]. De hecho, hay evidencia de que varios factores interactúan, incluida la activación de la respuesta inflamatoria y la estimulación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal, que, a su vez, estimula áreas del cerebro que pueden cambiar el comportamiento del paciente y alterar la integridad de la barrera hematoencefálica. Trabajos más recientes han subrayado el papel emergente de la

microbiota intestinal y la respuesta a los probióticos en el contexto de la enfermedad inflamatoria intestinal. Por otra parte, el impacto del estrés psicológico en los modelos de EII sigue siendo controvertido; sin embargo, el estrés o los eventos estresantes tempranos de la vida son factores de riesgo para desarrollar enfermedad inflamatoria intestinal, y además puede exacerbar la inflamación e inducir recaídas^[55,216]. De hecho, otros autores han señalado que la incidencia de trastornos emocionales es mayor en pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa en comparación con la población general^[217]. Además, la depresión y la ansiedad también influyen en el curso y la gravedad de la enfermedad intestinal subyacente. Por lo tanto, es importante considerar las terapias psicológicas apropiadas para el tratamiento óptimo en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal ^[218].

Cortisol medido en pelo

En contra de nuestra hipótesis, la IBM no modificó significativamente los niveles de cortisol medidos en el pelo. Puede haber varias explicaciones para este resultado. El nivel de cortisol en el pelo como biomarcador del estrés crónico se ha convertido recientemente en un tema global interés^[55]. Un creciente número de estudios indica que el contenido de cortisol en pelo refleja sus correspondientes niveles plasmáticos a lo largo del tiempo. Por ello, los niveles de cortisol en pelo pueden usarse para estimar el estrés crónico psicológico y fisiológico, así como para valorar la extensión de los trastornos hipotalámicos del eje pituitario-adrenal, como el síndrome de Cushing y la enfermedad de Addison^[55,62,216,217,219,220]. Sin embargo, la validez de los métodos utilizados para medir las respuestas de cortisol ha sido cuestionada^[117], y además, factores como la edad, el sexo, la frecuencia del lavado del pelo, los tratamientos capilares o el uso de anticonceptivos orales pueden producir resultados engañosos^[221].

La eficacia de la intervención basada en mindfulness para modificar las respuestas del cortisol reportadas por otros estudios también fue menor de lo esperado. Por ejemplo, un metaanálisis de Sanada et al. concluyó que la edad, el número de sesiones de intervención y el tiempo total que los pacientes dedicaron a la intervención afectaron significativamente a estas respuestas^[222]. No hay

estudios previos que hayan analizado el impacto de una combinación de intervención mediante plataforma “on line” e intervención presencial en las respuestas de cortisol, por lo que se requieren más trabajos para evaluar el impacto que la intervención basada en mindfulness puede tener en este biomarcador.

Aunque no encontramos diferencias significativas en los niveles de cortisol en pelo entre los pacientes de los grupos intervención basada en mindfulness y el grupo terapia médica estándar, otras investigaciones han descrito niveles relativamente altos de estrés y disfunción psicológica en pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa^[57,223]. Ha sido ampliamente demostrado que el estrés aumenta la permeabilidad del tracto gastrointestinal, pudiendo afectar y modificar la microbiota intestinal, alterando como consecuencia la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal a través del factor liberador de corticotropina y de la urocortina^[223-226]; estos neuromediadores actúan sobre los receptores CRF1 y CFR2 acoplados a la proteína G en el cerebro y el tracto gastrointestinal^[225]. Los receptores CRF2 están involucrados en la perturbación de la permeabilidad intestinal. Los mastocitos en la mucosa liberan CRF y urocortina que se une a CRF1 y CRF2 en la misma lámina propia, haciendo que estos mastocitos liberen citocinas y otros mediadores proinflamatorios^[226]. El CRF también aumenta la permeabilidad intestinal al hacer que los mastocitos liberen factor de necrosis tumoral alfa y proteasas^[227]. Por lo tanto, dirigirse a los receptores de CRF con antagonistas selectivos para inhibir la activación de los mastocitos es una opción terapéutica para los trastornos inflamatorios crónicos exacerbados por el estrés.

Se ha podido comprobar que en estudios con roedores el estrés crónico temprano altera la permeabilidad intestinal, lo que puede sensibilizar a estos animales en edades adultas a la hipersensibilidad visceral e inducir disbiosis^[228]. Se ha comprobado que el estrés es capaz de inhibir el nervio vago y de estimular el sistema nervioso simpático a través de neuronas de proyección del núcleo hipotalámico paraventricular, que se conectan al núcleo motor dorsal del nervio vago y a las neuronas preganglionares simpáticas de la médula espinal^[225]. Debido a que el nervio vago tiene propiedades antiinflamatorias a través de sus fibras aferentes y eferentes, el estrés tiene propiedades proinflamatorias. Por lo tanto, un solo estresor agudo puede inducir un aumento prolongado de las citocinas proinflamatorias, incluso cuando la persona ya no está expuesta al factor estresante

[229], lo que puede neutralizar el período crítico de recuperación del rebote parasimpático. Además, la exposición a múltiples factores estresantes repetidos contrarresta la recuperación del tono parasimpático, favorece una carga alostática y, por lo tanto, atenúa la acción reguladora antiinflamatoria del nervio vago. El estrés puede desequilibrar el efecto protector general del nervio vago sobre la barrera epitelial del tracto gastrointestinal y, por lo tanto, favorecer la disbiosis al interrumpir la homeostasis epitelial^[19,62,219,227].

Los hallazgos obtenidos sugieren que la intervención basada en mindfulness es una vía prometedora para las intervenciones destinadas a mejorar los índices fisiológicos de inflamación en pacientes diagnosticados con enfermedad inflamatoria intestinal. Específicamente, nuestros resultados sugieren que los cambios en los marcadores de inflamación proteína C reactiva y calprotectina fecal pueden estar particularmente influenciados por la intervención basada en mindfulness. Los estudios futuros deberían apuntar a evaluar múltiples índices fisiológicos para confirmar estos hallazgos y mejorar aún más nuestra comprensión de los sistemas biológicos que pueden actuar como indicadores de la reducción del nivel de estrés resultante de intervenciones basadas en mindfulness^[202].

Se ha expuesto la relación entre la enfermedad inflamatoria intestinal y la comorbilidad psicológica. Los pacientes con colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn han demostrado tener una alta prevalencia de depresión, ansiedad, estrés, entre otras patologías psicológicas. Y a su vez éstas agravan los procesos inflamatorios y favorecen la aparición de brotes en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal; al parecer existe una retroalimentación entre ambas patologías. Por ello es importante tener muy presente estas patologías, con la intención de mejorar la calidad de vida del paciente y conseguir controlar mejor los síntomas^[229].

Se han probado terapias psicológicas, como mindfulness based cognitive therapy^[231] para conseguir reducir o mejorar la sintomatología de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, incluso se han realizado intervenciones basadas en Yoga en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, obteniendo buenos resultados en la reducción de estrés y ansiedad^[230, 232].

Aunque queda mucho por conocer en cuanto a la etiopatogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal, el proceso inflamatorio y a los mecanismos de acción del mindfulness, todo apunta a que estas intervenciones son demostradamente efectivas y de gran utilidad para el paciente.

Con todo, parece evidente que se debe seguir investigando en este sentido, sin dejar de lado las enfermedades psicológicas, que afectan tan gravemente, física y psicológicamente, a los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

9. CONCLUSIONES

1ª) Una intervención combinada (presencial + online) de Mindfulness de 8 semanas de duración, añadida a la terapia médica estándar, disminuye los niveles plasmáticos de Calprotectina Fecal a los 6 meses en comparación con la terapia médica estándar aplicada sola en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

2ª) Una intervención combinada (presencial + online) de Mindfulness de 8 semanas de duración, añadida a la terapia médica estándar, disminuye los niveles plasmáticos de Proteína C Reactiva a los 6 meses en comparación con la terapia médica estándar aplicada sola en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

3ª) Una intervención combinada (presencial + online) de Mindfulness de 8 semanas de duración, añadida a la terapia médica estándar, no modifica significativamente los niveles de cortisol en pelo a los 6 meses en comparación con la terapia médica estándar aplicada sola en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Jairath V, Feagan BG. Global burden of inflammatory bowel disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(1):2–3.
2. Martínez-Chamorro A. Estudio de polimorfismos genéticos en los genes HLA, MICA, NOD2 y TLRs en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal [Tesis doctoral]. Granada: Universidad; 2012
3. Benchimol EI, Bernstein CN, Bitton A, Carroll MW, Singh H, Otley AR, et al. Trends in epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease in Canada: Distributed network analysis of multiple population-based provincial health administrative databases. *Am J Gastroenterol*. 2017;112(7):1120–34.
4. Kaplan GG, Ng SC. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2017;152(2):313-321.
5. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet* 2017;390(10114):2769–78.
6. Rodríguez-Leal GA. Enfermedad inflamatoria intestinal : Epidemiología y patogénesis. *Medigraphic*. 2001;8(3):84–9.
7. Ng SC, Kaplan GG, Tang W, Banerjee R, Adigopula B, Underwood FE, et al. Population density and risk of inflammatory bowel disease: a prospective population-based study in 13 countries or regions in asia-pacific. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(1):107–15.
8. Yuksel I, Kilincalp S, Coşkun Y, Akinci H, Karaahmet F, Hamamci M. Increasing challenges of inflammatory bowel disease in a Turkish cohort (2006-2016). *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. 2018;81(3):373-380
9. Misra R, Faiz O, Munkholm P, Burisch J, Arebi N. Epidemiology of inflammatory bowel disease in racial and ethnic migrant groups. *World J Gastroenterol*. 2018. 21;24(3):424-437
10. Khalif IL, Shapina MV. Inflammatory bowel disease treatment in Eastern Europe: Current status, challenges and needs. *Curr Opin Gastroenterol*. 2017;33(4):230–3.
11. Martín de Carpi J, Rodríguez A, Ramos E, Jiménez S, Martínez-Gómez MJ, Medina

- E, et al. Increasing Incidence of Pediatric Inflammatory Bowel Disease in Spain (1996–2009): The SPIRIT Registry. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2013;19(1):73–80
12. Brunet E, Roig-Ramos C, Vela E, Clèries M, Melcarne L, Villòria A, et al. Prevalence, incidence and mortality of inflammatory bowel disease in Catalonia. A population-based analysis. *Ann Med*. 2018;50(7):613–9
 13. Olén O, Askling J, Sachs MC, Neovius M, Smedby KE, Ekbom A, et al. Mortality in adult-onset and elderly-onset IBD: a nationwide register-based cohort study 1964-2014. *Gut*. 2020;69(3):453-461
 14. Aniwaniwan S, Harmsen WS, Tremaine WJ, Kane S V., Loftus E V. Overall and Cause-Specific Mortality of Inflammatory Bowel Disease in Olmsted County, Minnesota, From 1970 Through 2016. *Mayo Clin Proc*. 2018;93(10):1415–22.
 15. O’Dowd G, Bell S, Wright, S. Wheeler. *Anatomía patológica: Texto, atlas y revisión de histopatología*. 6ª ed. Madrid: Elsevier; 2020
 16. Hall JE. *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. 13ª edición. Barcelona: Elsevier España; 2016
 17. Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn’s disease. *Lancet* 2012;380(9853):1590–605.
 18. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. [Internet] 2016 [consultado abril 2019];14(8):e1002533. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
 19. Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. De la flora intestinal al microbioma. *Rev Española Enfermedades Dig*. 2018;110(1):51–6.
 20. Sergiu M, Manea M, Marilena M, Andrada D, Emanuela P. Microbiota: the missing link in the etiology of inflammatory bowel disease. *J Mind Med Sci*. 2020;7(1):29–33.
 21. Chimenos-Küstner E, Giovannoni ML, Schemel-Suárez M. Disbiosis como factor determinante de enfermedad oral y sistémica: importancia del microbioma. *Med Clin*. 2017;149(7):305–9.
 22. Guarner F. Cuando la microbiota intestinal pierde su equilibrio [Hoja Inf]. *GUT Microbia Heal World Summit*. 2016;1–4.
 23. Ho S-M, Lewis JD, Mayer EA, Bernstein CN, Plevy SE, Chuang E, et al. Challenges in IBD Research: Environmental Triggers. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25(Suppl

- 2):S13–23.
24. Fernández A, Hernández V, Martínez-Ares D, Sanromán L, de Castro ML, Pineda JR, et al. Incidence and phenotype at diagnosis of inflammatory bowel disease. Results in Spain of the EpiCom study. *Gastroenterol Hepatol*. 2015;38(9):534–40.
 25. Frolkis AD, Dykeman J, Negrón ME, DeBruyn J, Jette N, Fiest KM, et al. Risk of Surgery for Inflammatory Bowel Diseases Has Decreased Over Time: A Systematic Review and Meta-analysis of Population-Based Studies. *Gastroenterology*. 2013;145(5):996–1006.
 26. Abbas AK, Lichtman AHH, Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. Madrid: Elsevier, 2018.
 27. Almeida CR, Bottazzi B, De Nardo D, Lawlor KE. Editorial: Immunomodulation of Innate Immune Cells. *Front Immunol*. 2020;11:10–2.
 28. Correa MAD, López MR. Activación alternativa del macrófago. *Inmunología*. 2007;26(2):73-86
 29. Ritter JM, Flower FJ, Henderson G, Loke YK, McEvan D. *Rang y Dale*. Farmacología. Madrid: Elsevier; 2020.
 30. Yaribeygi H, Panahi Y, Sahraei H, Johnston TP, Sahebkar A. The impact of stress on body function: A review. *EXCLI J* 2017;16:1057–72.
 31. Billmeier U, Dieterich W, Neurath MF, Atreya R. Molecular mechanism of action of anti-tumor necrosis factor antibodies in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2016;22(42):9300.
 32. Paola T. Visión panorámica del sistema inmune. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2012;23(4):446–57.
 33. León AJ, Garrote JA, Arranz E. Citocinas en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Med Clin*. 2006;127(4):145-52
 34. Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB, et al. Monoclonal Anti-Interleukin 23 Reverses Active Colitis in a T Cell-Mediated Model in Mice. *Gastroenterology*. 2007;132(7):2359–70.
 35. Sandborn WJ, Gasink C, Gao L-L, Blank MA, Johanss J, Guzzo C, et al. Ustekinumab Induction and Maintenance Therapy in Refractory Crohn's Disease. *N Engl J Med*. 2012;367(16):1519–28.
 36. Achkar J-P, Duerr R. The expanding universe of inflammatory bowel disease

- genetics. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008;24(4):429–34.
37. Porter RJ, Kalla R, Ho G-T, Liverpool JR. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Research* [Internet]. 2020 [consultado mayo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.12688/f1000research.20805.1>
 38. Younis N, Zarif R, Mahfouz R. Inflammatory bowel disease: between genetics and microbiota. *Mol. Biol. Rep*. 2020;47(4):3053–63.
 39. Caruso R, Warner N, Inohara N, Núñez G. NOD1 and NOD2: Signaling, host defense, and inflammatory disease. *Immunity*. 2014;41(6):898–908.
 40. Cho JH, Brant SR. Recent Insights Into the Genetics of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1704-1712.
 41. Franchimont D, Vermeire S, El Housni H, Pierik M, Van Steen K, Gustot T, et al. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*. 2004;53(7):987–92.
 42. Silverberg MS, Daly MJ, Moskovitz DN, Rioux JD, McLeod RS, Cohen Z, et al. Diagnostic misclassification reduces the ability to detect linkage in inflammatory bowel disease genetic studies. *Gut*. 2001;49(6):773–6.
 43. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC Sandborn WJ. Ulcerative Colitis. *Lancet*. 2012;380:1606–19.
 44. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11(9):821–34.
 45. McAllister D. Crohn's Disease [Internet]. California: Bepress; 2019 [consultado febrero 2019]. Disponible en: file:///C:/Users/eugenia.moreno/Downloads/CD_stamped.pdf
 46. Alqasrawi D, Qasem A, Naser SA. Divergent effect of cigarette smoke on innate immunity in inflammatory bowel disease: A nicotine-infection interaction. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16):1-12.
 47. Seksik P, Nion-Larmurier I, Sokol H, Beaugerie L, Cosnes J. Effects of Light Smoking Consumption on the Clinical Course of Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2009;15(5):734–741
 48. Lindberg E, Jarnerot G, Huitfeldt B, Jarnerot G. Smoking in Crohn's disease: effect on localisation and clinical course. *Gut*. 1992;33:779–82.

49. Langhorst J, Wulfert H, Lauche R, Klose P, Cramer H, Dobos GJJ, et al. Systematic Review of Complementary and Alternative Medicine Treatments in Inflammatory Bowel Diseases. 2015;9(1):86–106.
50. Kiecolt-Glaser JK, Gouin JP, Hantsoo L. Close relationships, inflammation, and health. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2010;33–8.
51. Grosse CSJ, Christophersen CT, Devine A, Lawrance IC. The role of a plant-based diet in the pathogenesis, etiology and management of the inflammatory bowel diseases. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;14(3):137–45.
52. Gu P, Feagins LA. Dining with Inflammatory Bowel Disease: A Review of the Literature on Diet in the Pathogenesis and Management of IBD. *Inflamm Bowel Dis.* 2020;26(2):181–91.
53. Schreiner P, Martinho-Grueber M, Studerus D, Vavricka SR, Tilg H, Biedermann L. Nutrition in Inflammatory Bowel Disease. *Digestion.* 2020;101(Suppl1):120–35.
54. Altajar S, Moss A. Inflammatory Bowel Disease Environmental Risk Factors: Diet and Gut Microbiota. *Curr Gastroenterol Rep.* 2020;22(12).
55. Sgambato D, Miranda A, Ranaldo R, Federico A, Romano M. The Role of Stress in Inflammatory Bowel Diseases. *Curr Pharm Des.* 2017;23(27):3997–4002.
56. Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut.* 2005;54(10):1481–91.
57. Maltz RM, Keirse J, Kim SC, Mackos AR, Gharaibeh RZ, Moore CC, et al. Social Stress Affects Colonic Inflammation, the Gut Microbiome, and Short Chain Fatty Acid Levels and Receptors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2019;68(4):533–40.
58. Wong JJ, Sceats L, Dehghan M, Wren AA, Sellers ZM, Limketkai BN, et al. Depression and Health Care Use in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *J Crohn's Colitis* 2019;13(1):19–26.
59. Het S, Schoofs D, Rohleder N, Wolf OT. Stress-induced cortisol level elevations are associated with reduced negative affect after stress: Indications for a mood-buffering cortisol effect. *Psychosom Med.* 2012;74(1):23–32.
60. Ockenfels MC, Porter L, Smyth, J, Kirschbaum C, Hellhammer DH, Stone AA. Effect of Chronic Stress Associated With Unemployment on Salivary Cortisol: Overall Cortisol Levels, Diurnal Rhythm, and Acute Stress Reactivity. *Psychosom Med.* 1995;57(5):460–7.

61. Gouin JP, Glaser R, Malarkey WB, Beversdorf D, Kiecolt-Glaser J. Chronic stress, daily stressors, and circulating inflammatory markers. *Heal Psychol.* 2012;31(2):264–8.
62. Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-Gut Interactions in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology.* 2013;144(1):36–49.
63. Collins S, McHugh K, Jacobson K, Khan I, Riddell R, Murase K, et al. Previous inflammation alters the response of the rat colon to stress. *Gastroenterology.* 1996;111(6):1509–15.
64. Colombel J-F, Shin A, Gibson PR. AGA Clinical Practice Update on Functional Gastrointestinal Symptoms in Patients With Inflammatory Bowel Disease: Expert Review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(3):380-390.
65. Fengming Y, Jianbing W. Biomarkers of Inflammatory Bowel Disease. *Dis Markers* 2014;2014:1–11.
66. Matowicka-Karna J. Markers of inflammation, activation of blood platelets and coagulation disorders in inflammatory bowel diseases. *Postepy Hig Med Dosw.* 2016;70:305–12.
67. Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel J-F, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Diamond R, et al. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn’s disease in the SONIC trial. *Gut.* 2014;63(1):88–95.
68. Shevlin M, Houston JE, Dorahy MJ, Adamson G. Cumulative Traumas and Psychosis: an Analysis of the National Comorbidity Survey and the British Psychiatric Morbidity Survey. *Schizophr Bull* 2007;34(1):193–9.
69. Frans O, Rimmo P-A, Aberg L, Fredrikson M. Trauma exposure and post-traumatic stress disorder in the general population. *Acta Psychiatr Scand.* 2005;111(4):291–290.
70. Ouagazzal O, Bernoussi M, Potard C, Boudoukha AH. Life events, stressful events and traumatic events: A closer look at their effects on post-traumatic stress symptoms. *Eur J Trauma Dissociation.* 2019;100116.
71. Lederbogen F, Haddad L, Meyer-Lindenberg A. Urban social stress – Risk factor for mental disorders. The case of schizophrenia. *Environ Pollut.* 2013;183:2–6.
72. Bitton A, Dobkin PL, Edwardes MD, Sewitch MJ, Meddings JB, Rawal S, et al. Predicting relapse in Crohn’s disease: a biopsychosocial model. *Gut* 2008;57(10):1386–92.

73. Bernstein CN, Singh S, Graff LA, Walker JR, Miller N, Cheang M. A Prospective Population-Based Study of Triggers of Symptomatic Flares in IBD. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(9):1994–2002.
74. Ananthakrishnan AN, Gainer VS, Perez RG, Cai T, Cheng S-C, Savova G, et al. Psychiatric co-morbidity is associated with increased risk of surgery in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;37(4):445–54.
75. Bob P, Raboch J, Maes M, Susta M, Pavlat J, Jasova D, et al. Depression, traumatic stress and interleukin-6. *J Affect Disord.* 2010;120(1–3):231–4.
76. Lucendo AJ, Roncero Ó, Serrano-Duenas MT, Hervías D, Alcázar LM, Miriam-Ruiz-Ponce, et al. Effects of anti-TNF-alpha therapy on hemoglobin levels and anemia in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis.* 2020;52(4):400–7.
77. Domingo Herranz H, Soria Gili X, Ribera Pibernat M. Manifestaciones cutáneas de la enfermedad inflamatoria del intestino. *Piel.* 2006;21(6):295–305.
78. Siczekowska-Golub J, Meglicka M, Plocek A, Banaszkiwicz A, Jarzębicka D, Toporowska-Kowalska E, et al. Induction Therapy with Biosimilar Infliximab in Children with Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;65(3):285–8.
79. Hagen JW, Swoger JM, Grandinetti LM. Cutaneous Manifestations of Crohn Disease. *Dermatol. Clin.* 2015;33(3):417–31.
80. Ferrer Bradley I, Hinojosa Del Val J. Definitions, clinical manifestations and diagnosis of Crohn's disease. *Medicine.* 2012;11(5):257–65.
81. Ballester Ferré MP, Boscá-Watts MM, Mínguez Pérez M. Crohn's disease. *Med. Clin. (Barc).* 2018;151(1):26–33.
82. Harvey RF, Bradshaw MJ. Measuring Crohn's disease activity. *Lancet.* 1980 May 24;1(8178):1134-5
83. Dignass A, Eliakim R, Magro F, Maaser C, Chowers Y, Geboes K, et al. Second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis. *Rev Gastroenterol Mex.* 2014;79(4):263–89.
84. Both H, Torp-Pedersen K, Kreiner S, Hendriksen C, Binder V. Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and crohn's disease in a regional patient group. *Scand J Gastroenterol.* 1983;18(7):987–91.
85. Travis SP JD. Ulcerative colitis: clinical presentation and diagnosis. *Inflamm*

- Bowel Dis. 2003;(4):169–81.
86. Lewis JD, Chuai S, Nessel L, Lichtenstein GR, Aberra FN, Ellenberg JH. Use of the Non-invasive Components of the Mayo Score to Assess Clinical Response in Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2008 Dec;14(12):1660-6
 87. Kang EA, Kim J, Han K, Im JP, Chun J, Soh H. I Increased Risk of Ulcerative Colitis in Patients with Periodontitis: A Nationwide Population-Based Study. *Gastroenterology* 2019;156(6):S-23.
 88. Addolorato G, Capristo E, Stefanini GF, Gasbarrini G. Inflammatory bowel disease: a study of the association between anxiety and depression, physical morbidity, and nutritional status. *Scand J Gastroenterol.* 1997;32(10):1013–21.
 89. Guthrie E, Jackson J, Shaffer J, Thompson D, Tomenson B, Creed F. Psychological disorder and severity of inflammatory bowel disease predict health-related quality of life in ulcerative colitis and Crohn’s disease. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):1994–9.
 90. Gracie DJ, Williams CJM, Sood R, Mumtaz S, Bholah MH, Hamlin PJ, et al. Poor Correlation Between Clinical Disease Activity and Mucosal Inflammation, and the Role of Psychological Comorbidity, in Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol.* 2016;111(4):1–11.
 91. Spaeth PE, Renna ME, O’Toole MS, Mennin DS, Lekander M. The association between anxiety, traumatic stress, and obsessive-compulsive disorders and chronic inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Depress Anxiety.* 2018;35(11):1081–94.
 92. Nordin K, Pählman L, Larsson K, Sundberg-Hjelm M, Lööf L. Health-Related Quality of Life and Psychological Distress in a Population-based Sample of Swedish Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37(4):450–7.
 93. Miehsler W, Weichselberger M, Offerlbauer-Ernst A, Dejaco C, Reinisch W, Vogelsang H, et al. Which Patients with IBD Need Psychological Interventions? A Controlled Study. *Inflammatory Bowel Diseases.* 2008;14(9):1273-80
 94. Moser G. Depresión y ansiedad en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol.* 2009;32(2):9–12.
 95. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, et al. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in

- remission. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(5):1213–20.
96. Fuller-Thomson E, Sulman J. Depression and Inflammatory Bowel Disease: Findings from Two Nationally Representative Canadian Surveys. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006;12(8):697–707
 97. Brooke BN. Index of Crohn's Disease Activity. *Lancet.* 1980;315(8170):711.
 98. Evertsz' FB, Hoeks CCMQ, Nieuwkerk PT, Stokkers PCF, Ponsioen CY, Bockting CLH, et al. Development of the Patient Harvey Bradshaw Index and a Comparison With a Clinician-based Harvey Bradshaw Index Assessment of Crohn's Disease Activity. *J Clin Gastroenterol.* 2013;47(10):850–6.
 99. Hemperly A, Sandborn WJ, Vande Casteele N. Clinical Pharmacology in Adult and Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(12):2527–42.
 100. Mould DR. The Pharmacokinetics of Biologics: A Primer. *Dig Dis.* 2015;33(1):61–9.
 101. White JR, Phillips F, Monaghan T, Fateen W, Samuel S, Ghosh S, et al. Novel oral-targeted therapies in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(12):1610–22.
 102. Brunton L, Parker K, Blumenthal D. Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics. Madrid: McGraw-Hill; 2008.
 103. Desreumaux P, Ghosh S. Review article: mode of action and delivery of 5-aminosalicylic acid – new evidence. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24(s1):2–9.
 104. Spies CM, Strehl C, van der Goes MC, Bijlsma JWJ, Buttgereit F. Glucocorticoids. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2011;25(6):891–900.
 105. De Boer NKH, Peyrin-Biroulet L, Jharap B, Sanderson JD, Meijer B, Atreya I, et al. Thiopurines in Inflammatory Bowel Disease: New Findings and Perspectives. *J Crohn's Colitis.* 2018;12(5):610–20.
 106. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. *N Engl J Med.* 2005;353(23):2462–76.
 107. Slimming J. Logros y desafíos del tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en Chile. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2019;30(5):344–8.
 108. Reenaers C, Bossuyt P, Hindryckx P, Vanpoucke H, Cremer A, Baert F. Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of

- inflammatory bowel disease in daily clinical practice. *United Eur Gastroenterol J*. 2018;6(8):1117–25.
109. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006;55(3):426–31.
 110. Fagan EA, Dyck RF, Maton PN, Hodgson HJF, Chadwick VS, Petrie A, et al. Serum levels of C-reactive protein in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest*. 1982;12(4):351–9.
 111. De Suray N, Salleron J, Vernier-Massouille G, Grimaud JC, Bouhnik Y, Laharie D, et al. P274 Close monitoring of CRP and fecal calprotectin levels to predict relapse in Crohn's disease patients. A sub-analysis of the STORI study. *Journal of Crohn's and Colitis* 2012;6(Issue Suppl1):S118–S119.
 112. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2000;119(1):15–22.
 113. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, et al. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut*. 2005;54:364–8.
 114. Shine B, Berghouse L, Jones JEL, Landon J. C-Reactive protein as an aid in the differentiation of functional and inflammatory bowel disorders. *Clin Chim Acta*. 1985;148(2):105–9.
 115. Kennedy NA, Clark A, Walkden A, Chang JCW, Fascí-Spurio F, Muscat M, et al. Clinical utility and diagnostic accuracy of faecal calprotectin for IBD at first presentation to gastroenterology services in adults aged 16–50years. *J Crohn's Colitis*. 2014;9(1):41–9.
 116. Kalliokoski O, Jellestad FK, Murison R. A systematic review of studies utilizing hair glucocorticoids as a measure of stress suggests the marker is more appropriate for quantifying short-term stressors. *Sci Rep*. 2019;9(1):11997.
 117. Kalliokoski O, Jellestad FK, Murison R. Are we overestimating the utility of hair glucocorticoids? A systematic review exploring the empirical evidence supporting hair glucocorticoids as a measure of stress. *Scientific Reports* [Internet] 2018 [consultado abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/375667>
 118. Menees SB, Powell C, Kurlander J, Goel A, Chey WD. A Meta-Analysis of the

- Utility of C-Reactive Protein, Erythrocyte Sedimentation Rate, Fecal Calprotectin, and Fecal Lactoferrin to Exclude Inflammatory Bowel Disease in Adults With IBS. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(3):444–54.
119. Sipponen T, Björkstén CGA, Färkkilä M, Nuutinen H, Savilahti E, Kolho KL. Faecal calprotectin and lactoferrin are reliable surrogate markers of endoscopic response during Crohn's disease treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(3):325–31.
 120. O'Toole MS, Bovbjerg DH, Renna ME, Lekander M, Mennin DS, Zachariae R. Effects of psychological interventions on systemic levels of inflammatory biomarkers in humans: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2018;74:68–78.
 121. Sands BE. Biomarkers of Inflammation in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(5):1275-1285.
 122. Rieder F, Paul G, Schnoy E, Schleder S, Wolf A, Kamm F, et al. Hemoglobin and hematocrit levels in the prediction of complicated Crohn's disease behavior - A cohort study. *PLoS One*. 2014;9(8).
 123. Harris P, Matin T, Zhang N. MT. 778 Association between serum albumin levels and the rate of active Crohn's disease in patients seen at a tertiary care IBD Center. *Am J Gastroenterol*. 2019;114:s452.
 124. Widbom L, Ekblom K, Karling P, Hultdin J. Patients developing inflammatory bowel disease have iron deficiency and lower plasma ferritin years before diagnosis: a nested case-control study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2020;32(9):1147–53.
 125. Stříž I, Trebichavský I. Calprotectin - A pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol Res*. 2004;53(3):245–53.
 126. Poullis A, Foster R, Northfield TC, Mendall MA. Faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(4):675–81.
 127. Costa F, Mumolo M., Bellini M, Romano M., Ceccarelli L, Arpe P, et al. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Dig Liver Dis*. 2003;35(9):642–7.
 128. Pavlidis P, Chedgy FJ, Tibble JA. Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms

- in primary care. *Scand J Gastroenterol*. 2013;48(9):1048–54.
129. Krzesiek E. Fecal Calprotectin as an Activity Marker of Inflammatory Bowel Disease in Children. *Adv Clin Exp Med*. 24(5):815–22.
 130. Waugh N, Cummins E, Royle P, Kandala NB, Shyangdan D, Arasaradnam R, et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: Systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2013;17(55):xv-xix, 1-211.
 131. Kirschbaum C, Tietze A, Skoluda N, Dettenborn L. Hair as a retrospective calendar of cortisol production—Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(1):32–7.
 132. Dettenborn L, Tietze A, Bruckner F, Kirschbaum C. Higher cortisol content in hair among long-term unemployed individuals compared to controls. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(9):1404–9.
 133. Albar WF, Russell EW, Koren G, Rieder MJ, Umm SH Van. Human hair cortisol analysis: Comparison of the internationally-reported ELISA methods. *Clin Investig Med*. 2013;36(6):312–6.
 134. Karwowski CA, Keljo D, Szigethy E. Strategies to improve quality of life in adolescents with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(11):1755–64.
 135. Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *J Crohn's Colitis*. 2010;4(1):28–62.
 136. Brooks AJ, Rowse G, Ryder A, Peach EJ, Corfe BM, Lobo AJ. Systematic review: psychological morbidity in young people with inflammatory bowel disease - risk factors and impacts. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44(1):3–15.
 137. Mackner LM, Crandall WV. Brief Report: Psychosocial Adjustment in Adolescents with Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Psychol*. 2005;31(3):281–5.
 138. Van Assche G, Dignass A, Bokemeyer B, Danese S, Gionchetti P, Moser G, et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 3: Special situations. *J Crohn's Colitis*. 2013;7(1):1–33.
 139. Knowles SR, Wilson JL, Connell WR, Kamm MA. Preliminary examination of the

- relations between disease activity, illness perceptions, coping strategies, and psychological morbidity in Crohn's disease guided by the common sense model of illness. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(12):2551–7.
140. Parra Delgado M, Montañés Rodríguez J, Montañés Sánchez M, Bartolomé Gutiérrez R. Conociendo mindfulness. *Ensayos Rev la Fac Educ Albacete*. 2012;27:29-46
 141. Vago DR, Silbersweig DA. Self-awareness, self-regulation, and self-transcendence (S-ART): a framework for understanding the neurobiological mechanisms of mindfulness. *Front Hum Neurosci* 2012;6:296.
 142. Davids TWR. Buddhist birth-stories (Jataka tales) : the commentarial introduction entitled Nidāna-kathā, the story of the lineage. Londres: Forgotten Books; 2018.
 143. Bishop SR. Mindfulness: A Proposed Operational Definition. *Clin Psychol Sci Pract*. 2004;11(3):230–41.
 144. Cullen M. Mindfulness-Based Interventions: An Emerging Phenomenon. *Mindfulness*. 2011;2(3):186–93.
 145. Williams JMG. Mindfulness and Psychological Process. *Emotion* 2010;10(1):1–7.
 146. Baer RA, Smith GT, Lykins E, Button D, Krietemeyer J, Sauer S, et al. Construct validity of the five facet mindfulness questionnaire in meditating and nonmeditating samples. *Assessment*. 2008;15(3):329–42.
 147. Didonna F. *Clinical Handbook of Mindfulness*. New York: Springer New York; 2009.
 148. Kabat-Zinn J, Lipworth L, Burney R. The clinical use of mindfulness meditation for the self-regulation of chronic pain. *J Behav Med*. 1985;8(2):163–90.
 149. Kabat-Zinn J. An outpatient program in behavioral medicine for chronic pain patients based on the practice of mindfulness meditation: Theoretical considerations and preliminary results. *Gen Hosp Psychiatry*. 1982;4(1):33–47.
 150. Kabat-Zinn J. Mindfulness-Based Interventions in Context: Past, Present, and Future. *Clin Psychol Sci Pract* 2003;10(2):144–56.
 151. Davidson RJ, Kabat-Zinn J, Schumacher J, Rosenkranz M, Muller D, Santorelli SF, et al. Alterations in Brain and Immune Function Produced by Mindfulness Meditation. *Psychosom Med*. 2003;65(4):564–70.
 152. Kabat-Zinn J. Some reflections on the origins of MBSR, skillful means, and the

- trouble with maps. *Contemp Buddhism*. 2011;12(1):281–306.
153. Bodhi B. What does mindfulness really mean? A canonical perspective. *Contemp Buddhism* 2011;12(1):19–39.
 154. Kitanishi K, Mori A. Morita therapy: 1919 to 1995. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1995;49(5–6):245–54.
 155. Morita M, Kondō A, LeVine P. Morita therapy and the true nature of anxiety based disorders (Shinkeishitsu). New York: State University of New York Press; 1998.
 156. Shultz J. *Das autogene training*. Stuttgart: Thieme; 2003.
 157. Brown KW, Ryan RM. The benefits of being present: Mindfulness and its role in psychological well-being. *J Pers Soc Psychol*. 2003;84(4):822–48.
 158. Segal ZV., Williams JMG, Teasdale JD, Kabat-Zinn J. *Mindfulness-based cognitive therapy for depression*. Nueva York: Guilford Press; 2002.
 159. Parra Delgado M. Eficacia de la terapia cognitiva basada en la conciencia plena (Mindfulness) en pacientes con fibromialgia [Tesis Doctoral]. Albacete: Universidad de Castilla la Mancha; 2011.
 160. Cebolla Martí, AJ. Eficacia de la terapia cognitiva basada en la atención plena en el tratamiento de la ansiedad y la depresión [Tesis Doctoral]. Valencia: Universidad de Valencia; 2007.
 161. Baer RA, Smith GT, Hopkins J, Krietemeyer J, Toney L. Using self-report assessment methods to explore facets of mindfulness. *Assessment*. 2006;13(1):27-45
 162. Shapiro SL, Carlson LE, Astin JA, Freedman B. Mechanisms of mindfulness. *J. Clin. Psychol*. 2006;62(3):373–86.
 163. Hölzel BK, Lazar SW, Gard T, Schuman-Olivier Z, Vago DR, Ott U. How Does Mindfulness Meditation Work? Proposing Mechanisms of Action From a Conceptual and Neural Perspective. *Perspect Psychol Sci*. 2011;6(6):537–59.
 164. Smalley SL, Loo SK, Hale TS, Shrestha A, McGough J, Flook L, et al. Mindfulness and attention deficit hyperactivity disorder. *J Clin Psychol*. 2009;65(10):1087–98.
 165. Gross JJ. The Emerging Field of Emotion Regulation: An Integrative Review. *Rev Gen Psychol*. 1998;2(3):271–99.
 166. Cebolla A, García-Campayo J DM. Mindfulness y ciencia : de la tradición a la

- modernidad. Madrid: Alianza Editorial; 2014.
167. Garland EL, Bryan MA, Hanley AW, Howard MO. Neurocognitive mechanisms of mindfulness-based interventions for addiction. In: *Cognition and Addiction*. Elsevier; 2020.
 168. Mackiewicz Seghete KL, Graham AM, Lapidus JA, Jackson ELA, Doyle OJ, Feryn AB, et al. Protocol for a mechanistic study of mindfulness based cognitive therapy during pregnancy. *Heal Psychol*. 2020;39(9):758–66.
 169. Cebolla A, Enrique A, Alvear D, Solergarcía-Campayo JJ. Contemplative positive psychology: Introducing mindfulness into positive psychology. *Papeles del Psicol* 2017;38(1):12–8.
 170. Treadway MT, Lazar SW. Meditation and neuroplasticity: Using mindfulness to change the brain. En Baer RA. (Ed.). *Assessing mindfulness and acceptance processes in clients: Illuminating the theory and practice of change*. Oakland (California): New Harbinger Publications; 2010. (p. 186–205)
 171. Tang Y, Posner, MI. Tools of the trade: theory and method in mindfulness neuroscience. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*. 2013;8(1):118–120
 172. Widdett R. *Neuroplasticity and Mindfulness Meditation [Tesis Doctoral]*. Kalamazoo (Michigan): Western Michigan University; 2014.
 173. Tang Y-Y, Holzel B, Posner M. The neuroscience of mindfulness meditation. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015;16(4): 213–225.
 174. Greenberg J, Romero VL, Elkin-Frankston S, Bezdek MA, Schumacher EH, Lazar SW. Reduced interference in working memory following mindfulness training is associated with increases in hippocampal volume. *Brain Imaging Behav*. 2019;13(2):366–76.
 175. Vallejo Pareja MÁ. Mindfulness. *Papeles del Psicólogo*. 2006;27(2):92-99.
 176. Hayes, SC, Strosahl, KD y Wilson K. *Acceptance and commitment therapy: An experiential approach to behavior change*. Nueva York: The Guilford Press; 2003.
 177. Hayes SC, Strosahl K, Wilson KG. *Acceptance and commitment therapy : the process and practice of mindful change*. Nueva York: The Guilford Press; 2016.
 178. Marsa ML. *Cognitive-Behavioral Treatment of Borderline Personality Disorder*. Nueva York: Guilford Press; 1993.
 179. Allen NB, Chambers R, Knight W, Melbourne Academic Mindfulness Interest

- Group. Mindfulness-Based Psychotherapies: A Review of Conceptual Foundations, Empirical Evidence and Practical Considerations. *Aust New Zeal J Psychiatry*. 2006;40(4):285–94.
180. Forcadell López E, Astals Vizcaíno M, Treen Calvo D, Chamorro López J, Batlle Vila S. Entrenamiento en mindfulness para pacientes con trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH): una revisión descriptiva. *Rev Psicoter*. 2016;27(103):203–13.
181. Terzi AM, de Souza LL, Alves Machado MP, Konigsberger M, Copstein Waldemar JO, Irigoyen de Freitas B, et al. Mindfulness en la educación: experiencias y perspectivas desde Brasil. *Revista interuniversitaria de formación del profesorado*. 2016;87:107-122.
182. Franco C, Mañas I, Justo E. Reducción de los niveles de estrés, ansiedad y depresión en docentes de educación especial a través de un programa de mindfulness. *Rev Educ Inclusiva*. 2009;2(3):11–22.
183. Demarzo M, Rodrigues de Oliverira D. Mindfulness, ciencia y arte: siguientes pasos. *Rev Mex Investigación en Psicol*. 2018;10(2):132–5.
184. Martín Asuero A, Rodríguez Blanco T, Pujol-Ribera E, Berenguera A, Moix Queraltó J. Evaluación de la efectividad de un programa de mindfulness en profesionales de atención primaria. *Gac Sanit*. 2013;27(6):521–8.
185. Baer RA. Mindfulness Training as a Clinical Intervention: A Conceptual and Empirical Review. *Clin Psychol Sci Pract* 2006;10(2):125–43.
186. Cebolla A, Herreo R, Carrillo A, Navarro J, Sole J, Alvear D. The power of compassion. En: *Contemplative practice-based well-being training (CBWT): towards a contemplative positive psychology*. New York: Nova Science Publisher; 2019. Pág. 159–74.
187. Fredrickson BL, Boulton AJ, Firestone AM, Van Cappellen P, Algoe SB, Brantley MM, et al. Positive Emotion Correlates of Meditation Practice: a Comparison of Mindfulness Meditation and Loving-Kindness Meditation. *Mindfulness*. 2017;8(6):1623–33.
188. Drent G, Kuiken M, Mooibroek J, Dijkstra G, Schroevers M. The beneficial effects of mindfulness training on fatigue and psychosocial functioning in patients with inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: a pilot study. *J Crohns Colitis*. 2016;10:493–493.

189. Ruskin D, Campbell L, Stinson J, Ahola Kohut S. Changes in Parent Psychological Flexibility after a One-Time Mindfulness-Based Intervention for Parents of Adolescents with Persistent Pain Conditions. *Child*. 2018;5(9):121.
190. Cebolla A, Galiana L, Campos D, Oliver A, Soler J, Demarzo M, et al. How Does Mindfulness Work? Exploring a Theoretical Model Using Samples of Meditators and Non-meditators. *Mindfulness*. 2018;9(3):860–70.
191. Germer CK, Siegel RD, Fulton PR. *Mindfulness and psychotherapy*. New York: Guilford Press; 2013.
192. Hoffman A, Merriman P, Shaikh M, Rajan KB, Li H, Swanson B, et al. A Randomized Controlled Trial of Mindfulness-Based Stress Reduction to Prevent Flare-Up in Patients with Inactive Ulcerative Colitis. *Digestion*. 2017;89(2):142–55.
193. Grossman P, Niemann L, Schmidt S, Walach H. Mindfulness-based stress reduction and health benefits: A meta-analysis. *J Psychosom Res*. 2004;57(1):35–43.
194. Jedel S, Hoffman A, Merriman P, Swanson B, Voigt R, Rajan KB, et al. A Randomized Controlled Trial of Mindfulness-Based Stress Reduction to Prevent Flare-Up in Patients with Inactive Ulcerative Colitis. *Digestion*. 2014;89(2):142–55.
195. Wynne B, McHugh L, Gao W, Keegan D, Byrne K, Rowan C, et al. Acceptance and Commitment Therapy Reduces Psychological Stress in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2019;156(4):935–945.
196. Neilson K, Ftanou M, Monshat K, MPsychMed M, Salzberg M, Bell S, et al. A Controlled Study of a Group Mindfulness Intervention for Individuals Living With Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(3):694–701.
197. Gaylord SA, Palsson OS, Garland EL, Faurot KR, Coble RS, Mann JD, et al. Mindfulness Training Reduces the Severity of Irritable Bowel Syndrome in Women: Results of a Randomized Controlled Trial. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(9):1678–88.
198. Black DS, Slavich GM. Mindfulness meditation and the immune system: a systematic review of randomized controlled trials. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1373(1):13–24.

199. Bohlmeijer, Ernst Prenger, Rilana Taal, et al. The effects of mindfulness-based stress reduction therapy on mental health of adults with a chronic medical disease: A meta-analysis. *JPR*. 2010;68(6):539-544.
200. Berrill JW, Sadlier M, Hood K, Green JT. Mindfulness-based therapy for inflammatory bowel disease patients with functional abdominal symptoms or high perceived stress levels. *J Crohn's Colitis*. 2014;8(9):945-55.
201. Schoultz M, Atherton I, Watson A. Mindfulness-based cognitive therapy for inflammatory bowel disease patients: findings from an exploratory pilot randomised controlled trial. *Trials*. 2015;16:379.
202. González-Moret R, Cebolla A, Cortés X, Baños RM, Navarrete J, de la Rubia JE, et al. The effect of a mindfulness-based therapy on different biomarkers among patients with inflammatory bowel disease: a randomised controlled trial. *Sci Rep*. 2020;10(1):1-7.
203. Thomas M, Sadlier M, Smith A. The effect of Multi Convergent Therapy on the psychopathology, mood and performance of Chronic Fatigue Syndrome patients: A preliminary study. *Couns Psychother Res*. 2006;6(2):91-9.
204. Xiao X, Xue L, Sheng HL, Xiao ZH. Correlation between serum levels of C-reactive protein and infant pneumonia: A meta-analysis. *Exp Ther Med*. 2015;9(6):2331-8.
205. Babaei M, Javadian Y, Narimani H, Ranaei M, Heidari B, Basereh H, et al. Original Article Correlation between systemic markers of inflammation and local synovitis in knee osteoarthritis. *Casp J Intern Med*. 2019;10(4):383-7.
206. Lok KH, Ng CH, Hung HG, Li KF, Li KK, Szeto ML. Correlation of serum biomarkers with clinical severity and mucosal inflammation in Chinese ulcerative colitis patients. *J Dig Dis*. 2008;9(4):219-24.
207. Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015;29(3):157-63.
208. Rodríguez-Moranta F, Lobatón T, Rodríguez-Alonso L, Guardiola J. Calprotectina fecal en el diagnóstico de enfermedades inflamatorias. *Gastroenterol Hepatol*. 2013;36(6):400-6.
209. Rodrigo L. Calprotectina fecal. *Rev Esp Enferm Dig*. 2007;99(12):683-688.

210. Colombel JF, Rutgeerts P, Reinisch W, Esser D, Wang Y, Lang Y, et al. Early Mucosal Healing With Infliximab Is Associated With Improved Long-term Clinical Outcomes in Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1194–201.
211. Baert F, Moortgat L, Van Assche G, Caenepeel P, Vergauwe P, De Vos M, et al. Mucosal Healing Predicts Sustained Clinical Remission in Patients With Early-Stage Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2010;138(2):463–8.
212. Wei S-C, Tung C-C, Weng M-T, Wong J-M. Experience of patients with inflammatory bowel disease in using a home fecal calprotectin test as an objective reported outcome for self-monitoring. *Intest Res*. 2018;16(4):546–53.
213. Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: Practical consideration for clinicians. *Gastroentérologie Clin Biol*. 2009;33:S158–73.
214. Gerbarg PL, Jacob VE, Stevens L, Bosworth BP, Chabouni F, DeFilippis EM, et al. The Effect of Breathing, Movement, and Meditation on Psychological and Physical Symptoms and Inflammatory Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(12):2886–96.
215. Cătană C-S, Neagoe IB, Cozma V, Magdaş C, Tăbăran F, Dumitraşcu DL. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(19):5823–30.
216. Abautret-Daly Á, Dempsey E, Parra-Blanco A, Medina C, Harkin A. Gut-brain actions underlying comorbid anxiety and depression associated with inflammatory bowel disease. *Acta Neuropsychiatr*. 2018;30(05):275–96.
217. Ben Thabet J, Charfi N, Mnif L, Yaïch S, Zouari L, Zouari N, et al. Troubles émotionnels associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. [Emotional disorders and inflammatory bowel disease]. *Tunis Med*. 2012;90(7):557–63.
218. Ballou S, Keefer L. Psychological Interventions for Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Transl Gastroenterol*. 2017;8(1):e214.
219. D'Anna-Hernandez KL, Ross RG, Natvig CL, Laudenslager ML. Hair cortisol levels as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary axis activity throughout pregnancy: comparison to salivary cortisol. *Physiol Behav*. 2011;104(2):348–53.

220. Steudte S, Stalder T, Dettenborn L, Klumbies E, Foley P, Beesdo-Baum K, et al. Decreased hair cortisol concentrations in generalised anxiety disorder. *Psychiatry Res.* 2011;186(2-3):310-4.
221. Stalder T, Steudte-Schmiedgen S, Alexander N, Klucken T, Vater A, Wichmann S, et al. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2017;77:261-74.
222. Sanada K, Montero-Marin J, Alda Díez M, Salas-Valero M, Pérez-Yus MC, Morillo H, et al. Effects of Mindfulness-Based Interventions on Salivary Cortisol in Healthy Adults: A Meta-Analytical Review. *Front Physiol.* 2016;7:471.
223. Thomson S, Koren G, Fraser L-A, Rieder M, Friedman TC, Van Uum SHM. Hair Analysis Provides a Historical Record of Cortisol Levels in Cushing's Syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2009;118(02):133-8.
224. Taché Y, Bonaz B. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J Clin Invest.* 2007;117(1):33-40.
225. Tache Y, Larauche M, Yuan P-Q, Million M. Brain and Gut CRF Signaling: Biological Actions and Role in the Gastrointestinal Tract. *Curr Mol Pharmacol.* 2018;11(1):51-71.
226. Ducarouge B, Pelissier-Rota M, Powell R, Buisson A, Bonaz B, Jacquier-Sarlin M. Involvement of CRF2 signaling in enterocyte differentiation. *World J Gastroenterol.* 2017;23(28):5127-45.
227. Overman EL, Rivier JE, Moeser AJ. CRF Induces Intestinal Epithelial Barrier Injury via the Release of Mast Cell Proteases and TNF- α . *PLoS One.* 2012;7(6):e39935-43.
228. Moussaoui N, Jacobs JP, Larauche M, Biraud M, Million M, Mayer E, et al. Chronic Early-life Stress in Rat Pups Alters Basal Corticosterone, Intestinal Permeability, and Fecal Microbiota at Weaning: Influence of Sex. *J Neurogastroenterol Motil.* 2017;23(1):135-43.
229. Marsland AL, Walsh C, Lockwood K, John-Henderson NA. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun.* 2017;64:208-19.

230. Korzenik J. Don't Worry, Be Happy: Psychological Interventions in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2019;156(4):856–7.
231. Schoultz M, Macaden, Hubbard G. Participant's perspectives on mindfulness-based cognitive therapy for inflammatory bowel disease: a qualitative study nested within a pilot randomised controlled trial. *Pilot Feasibility Stud* [Internet]. 2016 Dec 19 [cited 2019 Feb 19];2(1):3.
232. Sharma P, Poojary G, Dwivedi SN, Deepak KK. Effect of Yoga-Based Intervention in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Int J Yoga Therap* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2020 Nov 22];25(1):101–12.
233. Cohen J. *Statistical power Analysis for the Behavioral Sciences*. New York: Lawrence Erlbaum Associates, 1988.

11. ANEXOS

Anexo 1. Artículo publicado en Scientific Reports (Q1)

González-Moret R, Cebolla A, Cortés X, Baños RM, Navarrete J, de la Rubia JE, et al. The effect of a mindfulness-based therapy on different biomarkers among patients with inflammatory bowel disease: a randomised controlled trial. *Sci Rep* 2020;10(1):1–7.

OPEN

The effect of a mindfulness-based therapy on different biomarkers among patients with inflammatory bowel disease: a randomised controlled trial

Rafael González-Moret⁴, Ausias Cebolla^{7,9}, Xavier Cortés⁵, Rosa M. Baños^{7,9}, Jaime Navarrete⁷, José Enrique de la Rubia⁸, Juan Francisco Lisón^{2,3,6,9} & José Miguel Soria^{1,2,3*}

Mindfulness-based interventions have shown some efficacy in decreasing stress levels and improving quality of life. However, so far, only a few studies have studied this type of intervention among patients with inflammatory bowel disease and none of them have studied their effects on inflammatory biomarkers. This current study was a two-armed, single-centre, randomised (2:1 ratio) controlled trial used to evaluate the effects of a mindfulness-based intervention ($n = 37$) compared to standard medical therapy ($n = 20$) in patients with Crohn's disease or ulcerative colitis. The mindfulness intervention blended four internet-based therapy modules with four face-to-face support sessions. The outcomes we assessed were faecal calprotectin (primary outcome), C-reactive protein, and cortisol levels measured in hair samples at several timepoints. The between-group analysis highlighted significant decreases in faecal calprotectin and in C-reactive protein levels in the mindfulness-based intervention group compared to the standard medical therapy group at the six-month follow-up (faecal calprotectin: -367 , [95% CI: -705 , -29], $P = 0.03$; C-reactive protein: -2.82 , [95% CI: -5.70 , 0.08], $P = 0.05$), with moderate to large effect sizes (faecal calprotectin: $\eta^2 = 0.085$; C-reactive protein: $\eta^2 = 0.066$). We concluded that mindfulness-based therapy administered as part of standard clinical practice effectively improves inflammatory biomarkers in patients diagnosed with inflammatory bowel disease.

The main feature of Crohn's disease (CD), inflammatory bowel diseases (IBDs), and ulcerative colitis (UC) is mucosal inflammation which flares-up and abates over time. Researchers in this field have more recently come to appreciate that the outcomes of these diseases can often be improved by targeting treatments towards the bowel inflammation present in these patients, rather than treating only the symptoms of these diseases. This reframing of treatments so that the therapies administered focus on, and are guided by, patient mucosal inflammation has resulted in a resurgence of interest in inflammation biomarkers^{1,2}.

Inflammation biomarkers have been widely described as potentially useful in several different clinical scenarios. In the broadest sense, they are usually used for two main reasons: firstly, to identify which patients from among those with symptoms compatible with IBD should be submitted for further analyses with a view to providing a definitive diagnosis of this disease; secondly, they may be used in patients diagnosed with IBD to measure and/or monitor how the disease activity responds to induction or maintenance therapy. The latter encompasses a wide range of situations which could include the identification of patients who may be starting to relapse while

¹Department of Biomedical Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU Universities, Valencia, Spain. ²Institute of Biomedical Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU Universities, Valencia, Spain. ³Odisesas Institute, Universidad CEU Cardenal Herrera-CEU Universities, Valencia, Spain. ⁴Department of Nursing, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Castellon, Spain. ⁵Internal Medicine Service, Digestive Medicine Section, Hospital Universitario de Sagunto, Valencia, Spain. ⁶Department of Medicine, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Valencia, Spain. ⁷Department of Personality, Evaluation, and psychological treatments, Universidad de Valencia, Valencia, Spain. ⁸Department of Nursing, Catholic University San Vicente Martir, Valencia, Spain. ⁹Obesity and Nutrition Pathophysiology CIBER (CB06/03), Instituto Carlos III, Madrid, Spain. *email: jose.soria@uchceu.es

receiving an already-established therapy or whose response to a new treatment is good; checking for potential relapses in patients with CD after surgical resection, and increasingly, screening for any patients with a high probability of suffering a clinical relapse when a given therapy is withdrawn. Of note, different cut-off thresholds are often used in different clinical circumstances to optimise the performance of identical biomarker assays^{3–9}.

Patients with IBS frequently live with symptoms of psychological distress, including anxiety or depression and report that their quality of life (QoL) becomes poorer as the severity of their disease increases^{10–17}. Moreover there is increasing evidence that experiencing such distress in a continued way could cause IBD activity to increase¹⁸. Thus, the way that these patients manage stress on a daily basis and during specific life events can aggravate their physical symptoms of the disease and increase their probability of developing comorbidities. Furthermore, inflammatory biomarkers are also altered in people with symptoms of anxiety and depression¹⁹. In fact, some symptoms associated with mental disorders which are also present in IBD, such as anhedonia, loss of appetite, aching joints, fever, tiredness, exhaustion, and withdrawal from social activities²⁰, can be predicted by the levels of these inflammatory markers.

Psychological interventions have been shown to effectively reduce the response of inflammatory biomarkers; indeed, one recent meta-analysis found this effect with a small to medium effect-size in different disorders²¹. However, so far, no studies have analysed the efficacy of the psychological interventions for IBD that were included in this meta-analysis. Nevertheless, mindfulness-based interventions (MBIs), understood as an awareness of the experience of the present moment and emphasising the attention paid to one's thoughts, bodily sensations, and emotions²², have shown to be effective among patients with IBD¹⁸, with their potential mechanisms described elsewhere²³. MBIs usually combine meditation with contemporary cognitive-behavioural approaches, and several mechanisms behind their effectiveness have been identified^{24,25}. In fact, their positive effects on different mental health conditions have been reported in diverse clinical and non-clinical populations²⁶.

Even though MBI represents one of the most promising psychological interventions available for IBD, only a few studies have tested the efficacy of these interventions to reduce stress levels and improve QoL in IBD, and none of these included biomarkers among their outcome indicators^{27–29}. Thus, in order to better understand the health benefits associated with MBI, it is important to investigate the links between interventions and the responding biological pathways, including inflammatory responses³⁰. Therefore, in this study we assessed the effectiveness of a blended MBI intervention and examined its effect on mucosal inflammation by testing inflammation biomarker concentrations in patients diagnosed with IBD. We hypothesised that the blended MBI intervention plus standard medical therapy (SMT) would decrease inflammation biomarker [faecal calprotectin (FC), C-reactive protein (CRP), and cortisol in hair] concentrations compared to SMT alone.

Methods

Study design. This two-armed, single centre randomised controlled trial (NCT02963246, 15/11/2016) was approved by the Human Ethics Committee at the Hospital Universitario de Sagunto (Spain) and complied with the ethical guidelines set out in the Declaration of Helsinki. The trial was conducted in the IBD Unit at the Hospital Universitario de Sagunto from May 2017 to March 2018.

Eligible participants were patients aged between 18 and 55 years, diagnosed with CD or UC according to the European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO) criteria, and in clinical remission for the prior 3 months. We also applied the following inclusion criteria: the absence of cognitive impairments; patients with UC with a partial Mayo Score of ≤ 2 points and with no item scores > 1 , or patients with CD with a Harvey–Bradshaw score < 5 points; experience of at least one inflammatory-activity flare-up in the 12 months prior; no changes in medication types or modifications to their usual treatment in the 3 months prior. Patients with no internet or smartphone access, difficulty in understanding the Spanish language; psychiatric disorders (psychosis, bipolar disease, substance abuse, etc.); suffering a recent emotional shock (e.g. death of a relative or an accident); and individuals who were pregnant at the time of recruitment were excluded from the study. All the study participants signed an informed consent statement before the study commenced.

Before the trial started, a researcher not involved in patient recruitment or inclusion in the study generated a random sequence using a computerised random number generator; this was concealed from all the personnel involved in the study throughout its duration. Upon enrolment in the study, 57 participants were randomly assigned, in a ratio of 2:1, either to the MBI ($n = 37$) or standard medical therapy (SMT; $n = 20$) groups.

The MBI intervention was a blended face-to-face and internet-based intervention comprising four internet-based therapy modules and four in-person support sessions. The face-to-face sessions lasted two hours and were administered at the end of weeks 1, 3, 6, and 8 by a psychologist (A.C.) specialised in group-format MBI; the participants were specifically advised to perform at least three face-to-face sessions (minimum attendance rate). The internet-based sessions were delivered over eight weeks on a one-to-one basis via the internet; the minimum criterion for program completion was participation in a total of four modules (minimum attendance rate). Participants in the MBI group also received SMT; detailed information about the blended intervention described elsewhere³¹.

In the face-to-face sessions the therapist explained the theoretical framework of mindfulness training, mindfulness exercises (including mindful breathing, body scanning, etc.), and the management of the internet-based sessions. The structure of the face-to-face support sessions was: (1) guided meditation; (2) an inquiry process; (3) an analysis of the week's difficulties; and (4) an explanation of the online tasks to be completed. The final session reviewed what had been learned during the course and prepared the participants to practice these skills outside the group setting. The facilitator was an experienced mindfulness teacher and researcher and had previously taught several instructor courses in different protocols including mindfulness-based stress reduction, mindfulness-based cognitive therapy, cognitive-behavioural conjoint therapy, and contemplative practice-based wellbeing training³².

The internet-based one-to-one program was carried out via a web platform (<https://www.psicologiatecnologia.com/>) which was accessed using a login and password provided to each of the participants. The platform provided the participants with four different modules: M1. Getting to know mindfulness (week 1); M2. Establishing formal and informal practices for mindfulness (week 2); M3. Thought management, body-scanning practices, and mindfulness values (weeks 3–4); M4. Self-compassion: integrating mindfulness into everyday life (weeks 5–8)³³. The modules included pre-recorded video and audio meditations and each module lasted approximately 60–90 minutes, depending on the participant's pace and time availability. All the measurements in this study were assessed before the treatment at baseline and at a 6-month follow-up by researchers who were blinded to the group allocation.

Outcome measures. The primary outcome of this study was the level of FC, as determined by fluorescent enzyme immunoassay analysis (range: 0–100 mg/g dry weight) using a UniCap 100 analyzer. The secondary outcomes were plasma CRP levels and cortisol levels measured in patient hair samples. CRP concentrations were determined by immunoturbidimetric analysis using a Cobas 8000 analyzer (module c701). In this assay, the reaction of CRP with a specific antibody produces insoluble immune complexes in proportion to the CRP concentration, and these changes in turbidity can be measured spectrophotometrically in milligrams per millilitre. Cortisol levels were measured using a high-sensitivity saliva and hair cortisol enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Salivary Cortisol ELISA DRG, DRG Instruments GmbH, REF: SLV 2930, LOT: 63K047) kit with a sensitivity of 0.024 ng/ml and a detection range of 0–30 ng/ml, according to the manufacturer's instructions (DRG Instruments GmbH, Germany).

All of the samples were simultaneously analysed at the end of the study in order to avoid bias derived from using different kit lots³⁴. Hair samples were cut from the posterior vertex area of each patient and were individually washed with 2.5 ml of isopropanol with agitation (1800 rpm for 2.5 min) to remove dirt and any external steroids without affecting internal steroids. The samples were dried for 36 h at room temperature and then cut into fragments <2 mm with scissors; 120–150 mg per sample was introduced into microtubes and 1.5 ml of methanol was added, followed by incubation for 18 h at 30 °C with stirring (100 rpm, Mixer block[®]). After centrifuging the vials at 7000 g for 2 min, 750 µl of the liquid phase was recovered and incubated in fresh microtubes at 38 °C until completely dry, and the residue obtained was reconstituted in 0.2 ml of 0.05 M phosphate-buffered saline.

Sample size. An a priori analysis of the effect size and sample size was conducted applying an α -level of 0.05 for the desired power of 90%, according to the FC levels we saw in a previous pilot study (partial eta-squared [η^2] = 0.058)³⁵. Thus, the recruitment target was 23 participants per group (G*Power = 3.0.10); we increased the sample size by 25% to compensate for potential alterations in the statistical significance of the results caused by possible dropouts in the intervention groups, and thus, the final sample size was a total of 57 participants.

Statistical analysis. Two-way mixed ANCOVA test were used to compare the study effects on FC, CRP, and cortisol levels, using time as the within-group factor (baseline versus follow-up at 6 months), and the group as the between-group factor (MBI versus SMT). The analysis was adjusted for pre-intervention (baseline) data. The effect sizes were estimated using the η^2 and were interpreted following Cohen's guidelines for small, moderate, and large effect sizes (η^2 = 0.01, 0.06, or 0.14, respectively)³⁶. The statistical analyses were performed according to the intention-to-treat analysis using SPSS software (v.22.0) for Windows (SPSS Inc., Chicago, Ill, USA). The data are presented as the mean plus or minus the standard deviation (SD), considering the probability of statistical significance (*p*-values) at threshold values of 0.05 or less for all the comparisons.

Results

A total of 93 patients were screened for this study; 36 were excluded because they declined to participate (21 patients) or did not meet the inclusion criteria because they had no internet or smartphone access (4); had a psychiatric disorder (4); had suffered a recent emotional shock (2); or their medication had changed in the prior three months (5). Figure 1 details the participant selection process, and Table 1 shows the general characteristics of the study population. A total of 35 out of the 37 patients (95%) attended three or more face-to-face sessions, and 100% of the participants completed all the internet-based modules. The number of flare-ups during the intervention was similar in both groups (3 out of 20 in the SMT group vs. 5 out of 37 in the MBI group). Three patients (2 in IBD and 1 in SMT) decreased their medical treatment during the study period. The between-group analysis highlighted significant decreases in FC and CRP levels in the MBI group compared to the SMT group at 6 months' follow-up, with moderate to large effect sizes (Table 2). In addition, there was a slight decrease in the hair cortisol levels in the MBI group compared to the SMT group (with a small to moderate effect size) at 6 months, but this difference was not significant.

Discussion

This study examined the effectiveness of a blended MBI intervention which combined internet and face-to-face sessions, in patients diagnosed with IBD. To the best of our knowledge, this is the first study to analyse the efficacy of MBI among patients with IBD by testing inflammation biomarker concentrations. We found lower levels of CRP and FC inflammation biomarkers in the patients in the MBI group compared to those in the SMT group.

It is well known that the intense bowel inflammation which is characteristic of IBD is accompanied by an acute-phase inflammation biomarker response which is detectable in the blood serum. Only a few inflammation blood or serum markers have been extensively validated in IBD, and fewer still are in routine clinical use. However, CRP is one of the most widely available and regularly used of these markers⁵. CRP has a relatively short half-life of 19 hours, making it a more responsive indicator of acute inflammation than most other acute-phase reactants⁵. Here, our results agree with other work which showed that CRP levels decrease as inflammation reduces^{1,5,37}.

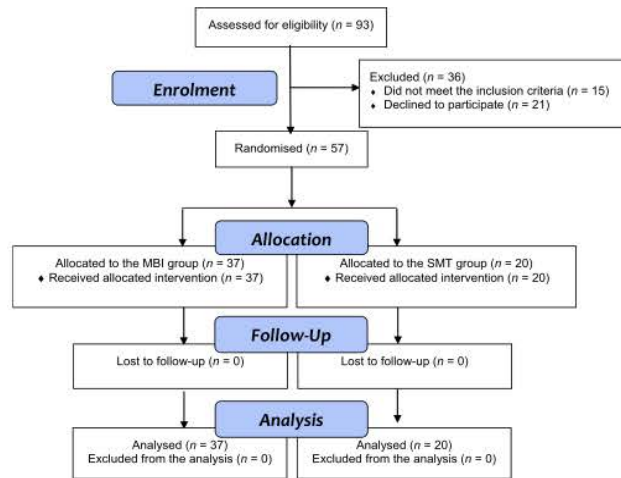


Figure 1. Flow of participants through the trial.

VARIABLES	GROUP	
	MBI (n = 37)	SMT (n = 20)
Age (year)	46.2 (10.9)	46.3 (11.9)
Sex (men/women)	8/29	11/9
Faecal calprotectin (µg/g)	198 (394)	222 (242)
C-reactive protein (mg/dL)	1.93 (2.50)	2.46 (3.81)
Cortisol in hair (µg/mL)	1.75 (1.19)	2.18 (1.92)
Leucocytes (x10 ⁹ L)	6.76 (2.29)	7.97 (2.27)
Platelets (x10 ⁹ L)	264 (67)	252 (79)
Haemoglobin (g/dL)	13.4 (1.2)	14.4 (1.2)
Haematocrit (%)	41.0 (3.2)	43.5 (3.3)
Ferritin (ng/mL)	183 (290)	129 (100)
Albumin (g/dL)	4.6 (0.3)	4.7 (0.7)

Table 1. Baseline clinical characteristics of the study participants. Abbreviations: MBI, mindfulness-based intervention; SMT, standard medical therapy

VARIABLES	GROUP				MBI minus SMT Follow-up (6 months)		
	Baseline		Follow-up (6 months)		Difference (95% CI)	P	η ²
	MBI	SMT	MBI	SMT			
Faecal calprotectin (µg/g)	198 ± 394	222 ± 242	128 ± 226	495 ± 949	−367 (−705 to −29)	0.03	0.085
C-reactive protein (mg/dL)	1.93 ± 2.47	2.46 ± 3.81	2.43 ± 3.05	5.25 ± 7.73	−2.82 (−5.70 to 0.08)	0.05	0.066
Cortisol in hair (µg/mL)	1.75 ± 1.19	2.18 ± 1.92	1.34 ± 1.07	1.94 ± 2.01	−0.60 (−1.27 to 0.08)	0.25	0.036

Table 2. Between-group comparisons at follow-up (6 months). Abbreviations: MBI, mindfulness-based intervention; SMT, standard medical therapy.

Our results also highlight similar findings for FC. The recent introduction of faecal markers as a diagnostic tool for studying IBD allows the simple, fast, reliable, non-invasive, and reproducible evaluation of intestinal inflammation. Among these faecal markers, FC is particularly important because it can be used to control the evolution of inflammatory processes in IBD patients. This protein is mainly contained in the cytoplasm of neutrophils and in the membranes of activated monocytes and macrophages. Gastrointestinal tract inflammatory pathologies cause an increase in mucosal permeability that induces the migration of granulocytes and monocytes to the intestinal lumen. Activation and apoptosis of these cells releases a large amount of calprotectin which is excreted in the stool. FC levels also correlate well with leukocyte excretion and intestinal mucosa permeability. Moreover, FC is resistant to bacterial degradation and is stable in faeces, making it a very useful marker for inflammatory bowel activity in clinical practice^{4,6,38–40}.

Our results were similar to those published by Gerberg *et al.* in which patients with IBD that followed a Breath-Body-Mind Workshop showed lower levels of FC and CRP compared with those in the control group⁴¹. These authors suggest that bidirectional gut–brain inter-communication with the neural, hormonal, and immune

system, among others is likely the mechanism underlying this association^{42,43}. Indeed, there is evidence that several factors interact in IBD, including activation of inflammatory-responses and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis which stimulates areas of the brain that can change patient behaviour and alter the integrity of the blood–brain barrier. More recent work has also highlighted the function of gut microbiota in IBD as well as patient responses to probiotics. In contrast, the role of psychological stress in IBD remains controversial, even though stress and/or traumatic early-life events are known risk factors for the development of this disease, and stress can exacerbate inflammation and induce disease relapses^{23,41–43}. Indeed, other authors have noted that patients with CD or UC experience a higher incidence of emotional disorders than the general population and that depression and anxiety can influence the prognosis and severity of these diseases⁴⁴. Therefore, suitable psychological therapies must be considered as part of the optimal treatment of IBD patients⁴³.

In contrast to our expectations, MBI did not significantly affect the cortisol levels found in the hair of patients with IBD at six months. There may be several explanations for this result. The use of hair cortisol levels as a chronic stress biomarker has recently become a topic of global interest^{23,27}. There is mounting evidence that the cortisol content of hair reflects the corresponding systemic plasma levels of this hormone over time and so these can be used to estimate both psychological and physiological chronic stress and the extent of hypothalamic pituitary–adrenal axis disorders such as Cushing syndrome and Addison disease^{23,27,43,45–47}. However, the validity of the methods used to measure cortisol responses has been questioned⁴⁸, and factors including age, sex, hair-washing frequency, hair treatments, or the use of oral contraceptives can produce misleading results⁴⁹. The efficacy of MBI to affect cortisol responses reported by others was also lower than expected. For example, a meta-analysis by Sanada *et al.* reported that age, the number of MBI sessions, and the overall time spent by patients in MBIs significantly affected these responses⁵⁰. No previous studies have analysed the impact of a blended internet and face-to-face intervention on cortisol responses and so, more work will be required to test the impact that the MBI delivery system may have on this biomarker.

Although we found no differences in cortisol between IBD patients in the MBI and the SMT groups at the molecular level, other groups have described relatively high levels of stress and psychological dysfunction among patients with CD or UC^{47,51}. Stress increases gastrointestinal (GI) tract permeability and modifies gut microbiota to promote the pathophysiology of IBD through corticotropin-releasing factor (CRF) and urocortin,^{47,52–54} these neuromediators then act on G-protein coupled CRF1 and CRF2 receptors in the brain and GI tract⁵³. CRF2 receptors are involved in the perturbation of intestinal permeability. Mastocytes in the mucosa release CRF and urocortin which binds to CRF1 and CRF2 in the same lamina propria, causing these mastocytes to release cytokines and other pro-inflammatory mediators⁵⁴. CRF also increases intestinal permeability by causing mast cells to release tumour necrosis factor alpha and proteases⁵⁵. Thus, targeting CRF receptors with selective antagonists to inhibit mast cell activation is a therapeutic option for chronic inflammatory disorders that are exacerbated by stress.

Chronic early-life stress alters intestinal permeability in rats, which may later sensitise adult rats to visceral hypersensitivity and induce dysbiosis⁵⁶. Stress also inhibits the vagus nerve (VN) and stimulates the sympathetic nervous system via autonomic nervous system-related paraventricular hypothalamic nucleus projection neurons; these are connected to the VN dorsal motor nucleus and sympathetic pre-ganglionic neurons of the spinal cord⁵³. Indeed, because the VN exerts an anti-inflammatory effect through its afferent and efferent fibres, stress can be considered a pro-inflammatory process. Thus, an acute stressor in itself can induce a protracted upsurge in pro-inflammatory cytokines, even when the person is no longer exposed to the stressor⁵⁷, all of which can neutralise the critical parasympathetic rebound recovery period. Furthermore, the recovery of parasympathetic-responsiveness can be neutralised by exposure to repeated and/or multiple stressors, in so favouring an allostatic load that dampens the regulatory anti-inflammatory effects of the VN. Hence, stress may tip the balance of the mainly protective effect the VN has on the GI tract epithelial barrier, thus encouraging dysbiosis by disrupting epithelial homeostasis^{45,53}.

It is important to mention that this present study was limited by the fact that we did not record patient reported outcomes for IBD (i.e. stress, depression, anxiety, or other QoL measures). Therefore, future research should investigate possible relationships between these outcomes and inflammatory biomarkers. Nonetheless, taking our findings together, MBI likely represents a useful tool that can be incorporated into interventions designed to improve the physiological symptoms of inflammation in patients diagnosed with IBD. In particular, our results indicate that MBI may positively influence (with moderate to large effect sizes) inflammation markers for CRP and FC. Thus, future work should be designed to try to verify these findings by evaluating several physiological indices and to increase our knowledge of the biological systems which benefit from MBI-mediated reductions in stress which can therefore serve as useful biological indicators in these patients.

Data availability

Our data are available on request.

Received: 26 July 2019; Accepted: 19 March 2020;

Published online: 08 April 2020

References

1. Peyrin-Biroulet, L. *et al.* Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut* **63**, 88–95 (2014).
2. Rutgeerts, P. *et al.* Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N. Engl. J. Med.* **353**, 2462–2476 (2005).
3. Fengming, Y. & Jianbing, W. Biomarkers of Inflammatory Bowel Disease. *Dis. Markers* **2014**, 1–11 (2014).
4. Reenaers, C. *et al.* Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of inflammatory bowel disease in daily clinical practice. *United Eur. Gastroenterol. J.* **6**, 1117–1125 (2018).
5. Sands, B. E. Biomarkers of Inflammation in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* **149**, 1275–1285.e2 (2015).

6. Mendoza, J. L. & Abreu, M. T. Biological markers in inflammatory bowel disease: Practical consideration for clinicians. *Gastroenterologie Clin. Biol.* **33**, S158–S173 (2009).
7. Pavlidis, P., Chedgy, F. J. & Tibble, J. A. Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care. *Scand. J. Gastroenterol.* **48**, 1048–54 (2013).
8. Das, A. Psychosocial distress and inflammation: Which way does causality flow? *Soc. Sci. Med.* **170**, 1–8 (2016).
9. Ironson, G., Banerjee, N., Fitch, C. & Krause, N. Positive emotional well-being, health Behaviors, and inflammation measured by C-Reactive protein. *Soc. Sci. Med.* **197**, 235–243 (2018).
10. Graff, L. A., Walker, J. R. & Bernstein, C. N. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: A review of comorbidity and management. *Inflamm. Bowel Dis.* **15**, 1105–1118 (2009).
11. Wong, J. J. *et al.* Depression and Health Care Use in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *J. Crohn's Colitis* **13**, 19–26 (2019).
12. Knowles, S. R., Wilson, J. L., Connell, W. R. & Kamm, M. A. Preliminary examination of the relations between disease activity, illness perceptions, coping strategies, and psychological morbidity in Crohn's disease guided by the common sense model of illness. *Inflamm. Bowel Dis.* **17**, 2551–7 (2011).
13. Addolorato, G., Capristo, E., Stefanini, G. F. & Gasbarrini, G. Inflammatory bowel disease: a study of the association between anxiety and depression, physical morbidity, and nutritional status. *Scand. J. Gastroenterol.* **32**, 1013–21 (1997).
14. Bennebroek Evertsz, F. *et al.* Do Inflammatory Bowel Disease patients with anxiety and depressive symptoms receive the care they need? *J. Crohn's Colitis* **6**, 68–76 (2012).
15. Andrews, H., Barczak, P. & Allan, R. N. Psychiatric illness in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* **28**, 1600–4 (1987).
16. Guthrie, E. *et al.* Psychological disorder and severity of inflammatory bowel disease predict health-related quality of life in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* **97**, 1994–9 (2002).
17. Gradus, J. L. *et al.* Inflammatory bowel disease and completed suicide in Danish adults. *Inflamm. Bowel Dis.* **16**, 2158–61 (2010).
18. Berrill, J. W., Sadlier, M., Hood, K. & Green, J. T. Mindfulness-based therapy for inflammatory bowel disease patients with functional abdominal symptoms or high perceived stress levels. *J. Crohn's Colitis* **8**, 945–955 (2014).
19. Spaeth, P. E., Renna, M. E., O'Toole, M. S., Mennin, D. S. & Lekander, M. The association between anxiety, traumatic stress, and obsessive-compulsive disorders and chronic inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Depress. Anxiety* **35**, 1081–1094 (2018).
20. Eisenberger, N. I., Moieni, M., Inagaki, T. K., Muscatell, K. A. & Irwin, M. R. In Sickness and in Health: The Co-Regulation of Inflammation and Social Behavior. *Neuropsychopharmacology* **42**, 242–253 (2017).
21. O'Toole, M. S. *et al.* Effects of psychological interventions on systemic levels of inflammatory biomarkers in humans: A systematic review and meta-analysis. *Brain. Behav. Immun.* **74**, 68–78 (2018).
22. Vago, D. R. & Silbersweig, D. A. Self-awareness, self-regulation, and self-transcendence (S-ART): a framework for understanding the neurobiological mechanisms of mindfulness. *Front. Hum. Neurosci.* **6** (2012).
23. Sgambato, D., Miranda, A., Ranaldo, R., Federico, A. & Romano, M. The Role of Stress in Inflammatory Bowel Diseases. *Curr. Pharm. Des.* **23**, 3997–4002 (2017).
24. Cullen, M. Mindfulness-Based Interventions: An Emerging Phenomenon. *Mindfulness (N. Y.)* **2**, 186–193 (2011).
25. Cebolla, A. *et al.* How Does Mindfulness Work? Exploring a Theoretical Model Using Samples of Meditators and Non-meditators. *Mindfulness (N. Y.)* **9**, 860–870 (2018).
26. Bishop, S. R. Mindfulness: A Proposed Operational Definition. *Clin. Psychol. Sci. Pract.* **11**, 230–241 (2004).
27. D'Anna-Hernandez, K. L., Ross, R. G., Natvig, C. L. & Laudenslager, M. L. Hair cortisol levels as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary axis activity throughout pregnancy: comparison to salivary cortisol. *Physiol. Behav.* **104**, 348–53 (2011).
28. Baer, R. A. Mindfulness Training as a Clinical Intervention: A Conceptual and Empirical Review. *Clin. Psychol. Sci. Pract.* **10**, 125–143 (2006).
29. Shaw, G. *et al.* Stress management for irritable bowel syndrome: a controlled trial. *Digestion* **50**, 36–42 (1991).
30. Drent, G., Kuiken, M., Mooibroek, J., Dijkstra, G. & Schroevers, M. The beneficial effects of mindfulness training on fatigue and psychosocial functioning in patients with inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: a pilot study. *J. CROHNS COLITIS* **10**, 493–493 (2016).
31. Lopez-Montoyo, A. *et al.* Effectiveness of a brief psychological mindfulness-based intervention for the treatment of depression in primary care: study protocol for a randomized controlled clinical trial. *BMC Psychiatry* **19**, 301 (2019).
32. Cebolla, A. *et al.* The power of compassion. in *Contemplative practice-based well-being training (CBWT): towards a contemplative positive psychology*. 159–174 (Nova Science Publisher, 2019).
33. Castro, A. *et al.* Efficacy of low-intensity psychological intervention applied by ICTs for the treatment of depression in primary care: a controlled trial. *BMC Psychiatry* **15**, 106 (2015).
34. Albar, W. F., Russell, E. W., Koren, G., Rieder, M. J. & Umm, S. H. Van. Human hair cortisol analysis: Comparison of the internationally-reported ELISA methods. *Clin. Investig. Med.* **36**, 312–316 (2013).
35. Cohen, J. *et al.* J.J.M.A.J.J. B. *Statistical power Analysis for the Behavioral Sciences*. (Erlbaum, 1988).
36. Cocks, K. & Torgerson, D. J. Sample size calculations for pilot randomized trials: a confidence interval approach. *J. Clin. Epidemiol.* **66**, 197–201 (2013).
37. Visser, M., Bouter, L. M., McQuillan, G. M., Wener, M. H. & Harris, T. B. Elevated C-Reactive Protein Levels in Overweight and Obese Adults. *JAMA* **282**, 2131–35 (1999).
38. Colombel, J. F. *et al.* Early Mucosal Healing With Infliximab Is Associated With Improved Long-term Clinical Outcomes in Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* **141**, 1194–1201 (2011).
39. Baert, F. *et al.* Mucosal Healing Predicts Sustained Clinical Remission in Patients With Early-Stage Crohn's Disease. *Gastroenterology* **138**, 463–468 (2010).
40. Wei, S.-C., Tung, C.-C., Weng, M.-T. & Wong, J.-M. Experience of patients with inflammatory bowel disease in using a home fecal calprotectin test as an objective reported outcome for self-monitoring. *Intest. Res.* **16**, 546–553 (2018).
41. Gerbag, P. L. *et al.* The Effect of Breathing, Movement, and Meditation on Psychological and Physical Symptoms and Inflammatory Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **21**, 2886–2896 (2015).
42. Cătană, C.-S. *et al.* Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* **21**, 5823–5830 (2015).
43. Abautret-Daly, A., Dempsey, E., Parra-Blanco, A., Medina, C. & Harkin, A. Gut-brain actions underlying comorbid anxiety and depression associated with inflammatory bowel disease. *Acta Neuropsychiatr.* **30**, 275–296 (2018).
44. Ben Thabet, J. *et al.* Troubles émotionnels associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. [Emotional disorders and inflammatory bowel disease]. *Tunis. Med.* **90**, 557–63 (2012).
45. Bonaz, B. L. & Bernstein, C. N. Brain-Gut Interactions in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* **144**, 36–49 (2013).
46. Steudte, S. *et al.* Decreased hair cortisol concentrations in generalised anxiety disorder. *Psychiatry Res.* **186**, 310–4 (2011).
47. Thomson, S. *et al.* Hair Analysis Provides a Historical Record of Cortisol Levels in Cushing's Syndrome. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **118**, 133–138 (2009).
48. Kalliokoski, O., Jellestad, F. K. & Murison, R. A systematic review of studies utilizing hair glucocorticoids as a measure of stress suggests the marker is more appropriate for quantifying short-term stressors. *Sci. Rep.* **9**, 11997 (2019).
49. Stalder, T. *et al.* Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* **77**, 261–274 (2017).

50. Sanada, K. *et al.* Effects of Mindfulness-Based Interventions on Salivary Cortisol in Healthy Adults: A Meta-Analytical Review. *Front. Physiol.* **7**, 471 (2016).
51. Maltz, R. M. *et al.* Social Stress Affects Colonic Inflammation, the Gut Microbiome, and Short Chain Fatty Acid Levels and Receptors. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **68**, 533–540 (2019).
52. Taché, Y. & Bonaz, B. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J. Clin. Invest.* **117**, 33–40 (2007).
53. Tache, Y., Larauche, M., Yuan, P.-Q. & Million, M. Brain and Gut CRF Signaling: Biological Actions and Role in the Gastrointestinal Tract. *Curr. Mol. Pharmacol.* **11**, 51–71 (2018).
54. Ducarouge, B. *et al.* Involvement of CRF2 signaling in enterocyte differentiation. *World J. Gastroenterol.* **23**, 5127–5145 (2017).
55. Overman, E. L., Rivier, J. E. & Moeser, A. J. CRF Induces Intestinal Epithelial Barrier Injury via the Release of Mast Cell Proteases and TNF- α . *PLoS One* **7**, e39935–43 (2012).
56. Moussaoui, N. *et al.* Chronic Early-life Stress in Rat Pups Alters Basal Corticosterone, Intestinal Permeability, and Fecal Microbiota at Weaning: Influence of Sex. *J. Neurogastroenterol. Motil.* **23**, 135–143 (2017).
57. Marsland, A. L., Walsh, C., Lockwood, K. & John-Henderson, N. A. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. *Brain. Behav. Immun.* **64**, 208–219 (2017).

Author contributions

R.G., A.C., and J.M.S. administered the face-to-face sessions. X.C., J.N., J.E.R., and J.F.L. assisted with the data acquisition. R.G. wrote the main manuscript text and J.M.S., A.C., R.M.B., and J.F.L. assisted with the writing of the manuscript. All the authors contributed to the conception and design of the study and reviewed the final manuscript.

Competing interests


The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to J.M.S.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

Anexo 2 Resolución del comité de bioética del Hospital de Sagunto.

GENERALITAT VALENCIANA
CONSSELLERIA DE SAIBATAT



ANEXO A: IDONEIDAD DE LAS INSTALACIONES:

HOSPITAL DE SAGUNTO

Título del estudio: “ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO CONTROLADO SOBRE UNA INTERVENCIÓN BASADA EN MINDFULNESS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESINAL”

Código identificativo: MINDFULNESS-EII 2016

Investigador principal y servicio al que pertenece: Xavier Cortés Rizo, Servicio de Medicina Interna, sección de Digestivo.

Centro: Hospital de Sagunto.

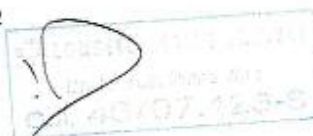
Se hace constar que teniendo en cuenta la naturaleza y la utilización de la terapia en investigación, este centro cuenta con los recursos humanos, equipamiento e instalaciones necesarios para llevar a cabo este estudio.

En Sagunto, a 18 de Noviembre del 2016

Firmado: Jefe de Sección de Digestivo

Dr: Joaquín Primo Vera

Persona responsable del área de Digestivo. Hospital de Sagunto



Anexo 3. Consentimiento informado de participación en el estudio.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO. Versión 1.0 Fecha: 2/12/2016.

ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO CONTROLADO SOBRE LA INTERVENCIÓN BASADA EN MINDFULNESS EN LA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Información para el Paciente

1. Objetivo.

Este documento tiene por objeto pedirle su consentimiento para ser incluido en un estudio encaminado a determinar la utilidad de la Intervención basada en mindfulness en la mejoría de la calidad de vida, control de la enfermedad y disminución de los niveles de citoquinas pro-inflamatorias en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

Usted tiene una enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), que produce una inflamación en el intestino de causa desconocida, caracterizada por periodos de actividad y remisión. Dichas enfermedades generan en gran medida un elevado nivel de estrés percibido y ello conlleva altas tasas de depresión y/o ansiedad, con disminución significativa de la calidad de vida. Las Intervenciones basadas en mindfulness han demostrado ser eficaces en otras enfermedades crónicas para la reducción del estrés y mejoría de la ansiedad y depresión, pero no ha sido evaluado en la enfermedad inflamatoria intestinal. Por tanto, el fin del estudio es determinar la utilidad de esta intervención, para evaluar su posible introducción en el arsenal terapéutico en el manejo de la enfermedad inflamatoria intestinal.

2. Descripción de los procedimientos.

En caso de que usted nos otorgue autorización, algunos de los datos de su historia clínica y otros que usted nos facilite específicamente para este estudio serán transferidos a una base de datos construida a tal fin. Los datos serán transmitidos de forma anónima, bajo un código, de forma que sólo el médico que le atiende podrá saber que le pertenecen a usted en particular.

El estudio consta de un grupo control, el cual no recibirá la Intervención basada en mindfulness, siendo evaluado y tratado según la práctica clínica habitual, como se estaba realizando hasta la inclusión al estudio.

3. Beneficios.

Usted no obtendrá ningún beneficio directo de la participación en este estudio, más allá de poder recibir la intervención a estudio (Mindfulness). Tampoco recibirá usted por su participación en el mismo ninguna compensación económica. En el futuro, la información obtenida en este estudio puede permitir un mejor conocimiento de la utilidad o no de la Intervención basada en mindfulness en la enfermedad inflamatoria intestinal, lo que supondría un beneficio para los pacientes que padecen esta enfermedad.

4. Riesgos

La participación en este estudio no comporta para usted ningún riesgo. Las determinaciones analíticas y el seguimiento clínico es el mismo que se realiza en la práctica clínica habitual. La Intervención basada en mindfulness no presenta riesgos en usted, según lo publicado hasta la fecha.

5. Participación voluntaria.

Se entiende que su participación en el estudio es totalmente libre y voluntaria, y que puede retirarse del mismo en cualquier momento, sin que ello le suponga ningún perjuicio, y sin necesidad de dar ninguna explicación o justificación. En caso de retirada, el paciente seguirá recibiendo el mismo tipo de cuidados y de apoyo por parte del equipo médico durante su enfermedad. Usted puede negarse a participar en el mismo y tiene derecho a revocar su consentimiento. Ninguna de estas circunstancias va a influir sobre los cuidados médicos que usted reciba en el futuro. Del mismo modo, si usted retira el consentimiento, las hojas del estudio que contengan información sobre usted serán destruidas en el propio centro.

6. Confidencialidad.

Sus datos clínicos estarán a disposición de los investigadores y se incluirán (junto con los de los otros pacientes que participen) en las publicaciones que se deriven del estudio, pero siempre de forma anónima, garantizando la confidencialidad de sus datos personales, según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Usted tiene la posibilidad de ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición sobre sus datos, para ello puede ponerse en contacto con el investigador responsable del estudio, el Dr. Javier Pérez Gisbert en el Servicio de Aparato digestivo del Hospital Universitario de La Princesa, C/ Diego de León 62, 28006 Madrid, teléfono de contacto: 91 309 3911.

Sólo los médicos que le tratan y los miembros del equipo de investigación tendrán acceso a los datos obtenidos, y su historial clínico podrá ser revisado de forma anónima por miembros del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital o del Ministerio de Sanidad, como parte de las auditorias que en su momento pudieran plantearse. Los resultados del estudio serán publicados en revistas especializadas, sin identificar nunca a los pacientes que se han incluido en el estudio.

ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO CONTROLADO SOBRE LA INTERVENCIÓN BASADA EN MINDFULNESS EN LA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL.

Versión 1.0 Fecha: 2/12/2016.

Consentimiento Informado

Nombre del paciente:.....

Fecha de nacimiento:.....

Número de historia de paciente:.....

Por favor marque las siguientes casillas si está de acuerdo con su contenido:

Por la presente declaro que me han sido explicados los objetivos, las características y el motivo del estudio, por el Dr.....

He podido preguntar, acerca del estudio, todas las dudas que he tenido. Además, se me ha proporcionado información por escrito y he tenido tiempo suficiente para tomar mi decisión.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio y sé que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento sin dar explicaciones, y sin que ello repercuta en mis cuidados médicos futuros.

Consiento que los investigadores del estudio tengan acceso a mis datos médicos, que serán absolutamente confidenciales. Estos datos podrán ser incluidos, de forma anónima, en las publicaciones que se deriven del estudio.

PACIENTE	
Firma:	Fecha:
INVESTIGADOR	
Firma:	Fecha:
TESTIGO (si procede)	Nombre y Apellidos:
Firma:	Fecha:
REPRESENTANTE LEGAL (si procede)	Nombre y Apellidos:
Firma:	Fecha:

Anexo 4. Índice de Harvey Bradshaw para la actividad de la enfermedad de Crohn.

Índice Harvey-Bradshaw

Estado General	Bien = 0 Ligeramente por debajo de lo normal = 1 Malo = 2 Muy malo = 3 Terrible = 4	<input type="text"/>
Dolor abdominal	Ausente = 0 Ligero = 1 Moderado = 2 Intenso = 3	<input type="text"/>
Número de deposiciones líquidas o blandas en 24 horas.		<input type="text"/>
Masas abdominal	Ninguna = 0 Dudosa = 1 Definida = 2 Definida y blanda = 3	<input type="text"/>
Número de complicaciones Anotar un 1 por cada ítem	Artralgia Uveitis Eritema nodoso Úlcera aftosa Pioderma gangrenoso Estomatitis Fisura anal Absceso Nueva fístula	<input type="text"/>
Puntuación total		<input type="text"/>

Remisión	< 5
Enfermedad leve	5 - 7
Enfermedad Moderada	8 - 16
Enfermedad Severa	>16

Índice de Mayo Parcial para actividad de Colitis Ulcerosa

A cumplimentar por el paciente:

1. Frecuencia de defecación (en los últimos 3 días).

- Número normal de deposiciones. = 0
- 1- 2 deposiciones más de lo normal. = 1
- 3 - 4 deposiciones más de lo normal. = 2
- 5 o más deposiciones más de lo normal. = 3

2. Sangrado rectal (en los últimos 3 días).

- Sin sangrado. = 0
- Restos de sangre menos de la mitad de las veces. = 1
- Sangre en las deposiciones la mayoría de las veces. = 2
- Únicamente sangre. = 3

A cumplimentar por el/la médico.

3. Valoración global.

- Normal (los puntajes secundarios son en su mayoría 0). = 0
- Enfermedad leve (los puntajes secundarios son principalmente 1). = 1
- Enfermedad Moderada (los puntajes secundarios están entre 1 y 2). = 2
- Enfermedad Severa (los puntajes secundarios son principalmente 2 y 3). = 3

Total puntuación Índice de Mayo Parcial

Remisión = 0 - 1

Enfermedad Leve = 2 - 4

Enfermedad Moderada = 5 - 6

Enfermedad Severa = 7 - 9

Anexo 6. Datos sociodemográficos.

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

NHC: _____ N° de paciente: _____

A RELLENAR EN CONSULTA 0 (tras firma de CI y previo a iniciar la Intervención basada en mindfulness o lista de espera):

I. DATOS EPIDEMIOLOGICOS:

Sexo: Varón; Mujer

Edad: _____ años.

Estado civil: Soltero Soltero con pareja estable Soltero con pareja inestable
 Casado Viudo Divorciado

Nivel de educación: Primaria Secundaria Superior

Ocupación: Estudiante Empleado Desempleado

Vivienda: Vive solo Vive acompañado

País de origen: España Extranjero: _____

II. DATOS ANTROPOMÉTRICOS:

Peso: _____ Kg **Talla:** _____ metros. **IMC:** _____ (Kg/m²)

III. DATOS CLÍNICOS:

Año de diagnóstico: _____

Tipo de EII: CU (proctitis; colitis izquierda; colitis extensa); EC (**L** 1 – 2 – 3 – 4; **B** 1 – 2 – 3; **p**); Colitis no clasificable o indeterminada.

Gravedad de la enfermedad: Leve Moderada Grave

Remisión clínica actual: No Sí (índice de Mayo parcial en CU <2 ó índice de Harvey-Bradshaw en EC es ≤4 puntos.

Otras enfermedades: Ansiedad Depresión
 Enfermedades crónicas (especificar: _____)

Fumador actual: No Ex Sí

Manifestaciones extraintestinales: No Sí

Artropatía periférica; sacroileítis; espondilits anquilosante; dérmicas; oculares; colangitis esclerosante; trombosis

Cirugías previas por la EII: No Sí

Resección de ID; resección de colon; proctocolectomía total con reservorio; proctocolectomía total con ileostomía definitiva; Otras cirugías intestinales por EII

Tratamiento actual para la EII:

5-ASA: No Sí (Oral, Tópico)

Corticoides: No Sí (Oral, Tópico)

Inmunosupresores: AZA; MP; Metotrexato

Anti-TNF α : INFLIXIMAB (dosis y frecuencia _____); ADALIMUMAB (dosis y frecuencia _____); OTRO BIOLÓGICO (Fármaco _____ dosis y frecuencia _____)

Otros tratamientos: No Sí

Especificar: _____

IV. ANALÍTICA CONSULTA 0:

Hemoglobina: _____ g/dL; **volumen corpuscular medio:** _____ fL; **Leucocitos:** _____; **Plaquetas:** _____; **Velocidad de sedimentación globular:** _____; **sat. transferrina:** _____%; **ferritina:** _____ ng/mL; **albúmina:** _____ g/dL; **PCR:** _____; **Calprotectina fecal:** _____.

Citoquinas proinflamatorias en plasma: **IL1:** _____; **IL 4:** _____; **IL6:** _____; **IL10:** _____; **y TNF α :** _____;

V. Índices clínicos evaluados en el estudio, en consulta 0:

IBDQ-32: _____; **Escala HAD:** _____;

EuroQoL 5D-5L: _____; **WPAI:** _____;

Escala de FATIGA: _____;

CONSULTAS SUCESIVAS (3,6,9 Y 12 MESES YTRAS LA INCLUSIÓN O ANTE CUALQUIER CONSULTA “EXTRA” ANTE CAMBIO EN LA EII:

I. DATOS CLÍNICOS:

Remisión clínica actual: No Sí (índice de Mayo parcial en CU <2 ó índice de Harvey-Bradshaw en EC es ≤4 puntos.

Brote de EII: No Sí

Si sí; **gravedad del brote:** Leve Moderado Grave

Modificación del tratamiento base (tratamiento en consulta 0): No Sí

Si se ha modificado: Motivo: brote de actividad de EII: No Sí, Especificar:

—

—

II. ANALÍTICA CONSULTA 0:

Hemoglobina: _____ g/dL; **volumen corpuscular medio:** _____ fL; **Leucocitos:** _____ ;
Plaquetas: _____ ; **Velocidad de sedimentación globular:** _____ ; **sat. transferrina:** _____ %;
ferritina: _____ ng/mL; **albúmina:** _____ g/dL; **PCR:** _____ ; **Calprotectina fecal:** _____ .

Citoquinas proinflamatorias en plasma: **IL1:** _____ ; **IL 4:** _____ ; **IL6:** _____ ;
IL10: _____ ; **y TNFα:** _____ ;

III. Índices clínicos evaluados en el estudio:

IBDQ-32: _____ ;

Escala HAD: _____ ;

EuroQoL 5D-5L: _____ ;

WPAI: _____ ;

Escala de FATIGA: _____ ;

DRG



DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)



Revised 26 Sept. 2007

INTRODUCTION

Intended Use

An enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of active free cortisol (hydrocortisone and hydroxycorticosterone) in saliva. Measurements of cortisol are used in the diagnosis and treatment of disorders of the adrenal gland.

Summary and Explanation

The hormone Cortisol is vital for several functions of the human body. A strong correlation exists between stress related conditions and Cortisol levels (1-3) Cortisol is a steroid hormone made in the adrenal glands. Among its important functions in the body include roles in the regulation of blood pressure and cardiovascular function as well as regulation of the body's use of proteins, carbohydrates, and fats. Cortisol secretion increases in response to any stress in the body, whether physical (such as illness, trauma, surgery, or temperature extremes) or psychological. When cortisol is secreted, it causes a breakdown of muscle protein, leading to release of amino acids into the bloodstream. These amino acids are then used by the liver to synthesize glucose for energy, in a process called gluconeogenesis. This process raises the blood sugar level so the brain will have more glucose for energy. Cortisol also leads to the release of so-called fatty acids, an energy source from fat cells, for use by the muscles. Taken together, these energy-directing processes prepare the individual to deal with stressors and ensure that the brain receives adequate energy sources (4).

Cortisol is the most potent glucocorticoid produced by the human adrenal (5-7). It is synthesized from cholesterol and its production is stimulated by pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) which is regulated by corticotropin releasing factor (CRF). ACTH and CRF secretions are inhibited by high cortisol levels in a negative feedback loop. Cortisol acts through specific intracellular receptors and affects numerous physiologic systems including immune function, glucose counter regulation, vascular tone, and bone metabolism.

Elevated cortisol levels and lack of diurnal variation have been identified with Cushing's disease (ACTH hypersecretion). Elevated circulating cortisol levels have also been identified in patients with adrenal tumors. Low cortisol levels are found in primary adrenal insufficiency (e.g. adrenal hypoplasia, Addison's disease) and in ACTH deficiency. Due to the normal circadian variation in cortisol levels (8), distinguishing normal from abnormally low cortisol levels can be difficult, therefore several daily collections are recommended.

Saliva is an excellent medium to measure steroids because it is a natural ultra-filtrate of blood, and steroids not bound by carrier proteins in the blood freely diffuse into saliva. Only about 1-10% of the steroids in blood are in the unbound or free form, and it is this fraction that diffuses into target tissues of the body, and into saliva (9, 10). The majority (90-99%) of steroid hormones in the blood are bound to carrier proteins (cortisol binding globulin, sex-hormone binding globulin and albumin) and are unavailable to target tissues. The process of passive diffusion of non-bound (free) steroid hormones occurs because these small molecules are of a low molecular weight (less than 400 daltons) and are relatively nonpolar, thus enabling them to freely diffuse from blood to saliva. Bound steroids are too large to diffuse freely through the salivary cells into the salivary gland lumen. (11-14)

PRINCIPLE

The **DRG Salivary Cortisol ELISA KIT** is based on the competition principle and the microplate separation. An unknown amount of Cortisol present in the sample and a fixed amount of Cortisol conjugated with horse-radish peroxidase compete for the binding sites of mouse monoclonal Cortisol -antiserum coated onto the wells. After one hour incubation the microplate is washed to stop the competition reaction. After addition of the substrate solution the concentration of Cortisol is inversely proportional to the optical density measured.

DRG**CE****DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****Revised 26 Sept. 2007****WARNINGS AND PRECAUTIONS**

1. For in-vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
3. Do not mix reagents of different lots. Do not use expired reagents.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 – 8°C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Avoid contact with Stop Solution (5), 0.5M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
6. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
7. Use separate pipette tips for each sample, control and reagent to avoid cross contamination.
8. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
9. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
10. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
11. Kit calibrators have been checked for HIV-1/2 and HCV antibodies and HBsAg and found to be negative, but the calibrators and patient samples should be handled as potentially infectious.
12. Some reagents contain Proclin, BND and MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
13. Allow the reagents to reach room temperature (21-26°C) before starting the test. Temperature WILL affect the absorbance readings of the assay. However, Values for the patient samples will not be affected.
14. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.

REAGENTS***Reagents provided***

- a. **Microtiterwells**, 12x8 (break apart) strips, 96 wells; coated with (mouse) anti-Cortisol antiserum.
- b. **Standard (Standard 0-6)**, 7 vials, 1 ml each, ready to use; Concentrations: 0.0 – 2 – 5 – 10 – 20 – 40 - 80 ng/mL contain 0.003% Proclin 300 as a preservative
- c. **Control low / Control high**, 2 vials, 1.0 mL each, ready to use; For control values and ranges please refer to vial label or QC-Datasheet. Contains 0.003% Proclin 300 as a preservative.
- d. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 26 mL, ready to use; Cortisol conjugated to horseradish peroxidase.
* contains < 0.019% BND and < 0.017% MIT as preservative.

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com**2**

DRG**CE****DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****Revised 26 Sept. 2007**

- e. **Substrate Solution** 1 vial, 25 mL, ready to use;
Tetramethylbenzidine (TMB).
- f. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
contains 0.5M H₂SO₄.
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
- g. **Wash Solution**, 1 vial, 30 mL (40X concentrated);
Concentrate for 1200 mL.
see „Preparation of Reagents“.

- * BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane
- MIT = 2-methyl-2H-isothiazol-3-one

Note: Additional *Standard 0* for sample dilution is available upon request (Cat. number SLV-2930-0STD).

Materials required but not provided

1. Calibrated EIA reader adjusted to read at 450 nm
2. Precision pipettes (100 and 200 µL)
3. Distilled or Deionized water
4. Timer (60 min. range)
5. Reservoirs (disposable)
6. Test tube or microtube rack in a microplate configuration
7. Linear-linear graph paper or software for data reduction

Storage Conditions

When stored at 2° to 8°C unopened reagents will retain reactivity until expiration date.

Enzyme-Conjugate, Standard Solution, Substrate Solution, Wash Solution and Zero Standard must be stored at 2° to 8°C.
Microplate wells must be stored at 2° to 8°C.

Reagent Preparation

Bring all reagents to room temperature before use.

Wash Solution:

Add deionized water to the 40 x concentrated Wash Solution to a final volume of 1200 mL.
The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.

SPECIMEN Collection and Preparation

Eating, drinking, chewing gums or brushing teeth should be avoided for 30 minutes before sampling. Otherwise, it is recommended to rinse mouth thoroughly with cold water 5 minutes prior to sampling.

Do not collect samples when oral diseases, inflammation or lesions exist (blood contamination).

If there is visible blood contamination the patient specimen, it should be discarded, rinse the sampling device with water, wait for 10 minutes and take a new sample.

Note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com

3

DRG**CE****DRG[®] Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****Revised 26 Sept. 2007*****Specimen Collection***

Saliva samples should be collected only using special saliva sampling devices (vial and straw), e.g. SALI-TUBES 100 (SLV-4158) or Salivette (Sarstedt cat.# 51.1534).

Due to the cyclic secretion pattern of steroid hormones it is important to care for a proper timing of the sampling. In order to avoid arbitrary results we recommend that 5 samples always be taken within a period of 2 – 3 hours (*multiple sampling*) preferably before a meal.

As food might contain significant amounts of steroid hormones samples preferably should be taken while fasting. If fasting should be a problem the collection period should be timed just before lunch or before dinner.

Specimen Storage and Preparation

The saliva samples may be stored at 2 °C to 8 °C up to one week, and should be frozen at –20 °C for longer periods; repeated thawing and freezing is no problem.

Each sample has to be frozen, thawed, and centrifuged at least once in order to separate the mucins by centrifugation. Upon arrival of the samples in the lab the samples have to stay in the deep freeze at least overnight. Next morning the frozen samples are warmed up to room temperature and mixed carefully. Then the samples have to be centrifuged for 5 to 10 minutes (at 2000 - 3000 x g). Now the clear colorless supernatant is easy to pipette.

If a set of multiple samples is to be tested, the lab (after at least one freezing, thawing, and centrifugation cycle) has to mix the 5 single samples in a separate sampling device and perform the testing from this mixture.

Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more than the highest standard, the specimens can be diluted with *Standard 0* and re-assayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

Example:

- a) Dilution 1:10: 10 µl saliva + 90 µl *Standard 0* (mix thoroughly)
- b) Dilution 1:100: 10 µl of dilution a) + 90 µl *Standard 0* (mix thoroughly).



DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)



Revised 26 Sept. 2007

ASSAY PROCEDURE

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of coated strips in the frame holder.
2. Dispense **100 µL** of each Cortisol *Standard* and *Control* into appropriate wells.
3. Dispense **100 µL** of each sample into selected wells.
4. Dispense **200 µL** of *Enzyme Conjugate* into each sample and standard well and mix the plate for thoroughly for 10 seconds.
5. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
6. Briskly shake out the contents of the wells and rinse the wells 3 times with diluted Wash Solution (400 µL per well). Strike the inverted wells sharply on absorbent paper towel to remove residual droplets.
7. Add **200 µL** of *Substrate Solution* to each well.
8. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
9. Stop the reaction by adding **100 µL** of *Stop Solution* to each well.
10. Determine the absorbance of each well at 450 ± 10 nm.
It is recommended that the wells be read within 10 minutes.

Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical(Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the IFU have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. 4 Parameter Logistics is the preferred calculation method. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Absorbance Units
Standard 0 (0 ng/mL)	1.88
Standard 1 (2 ng/mL)	1.75
Standard 2 (5 ng/mL)	1.58
Standard 3 (10 ng/mL)	1.39

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com

5

DRG**CE****DRG[®] Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****IVD****Revised 26 Sept. 2007**

Standard 4 (20 ng/mL)	1.09
Standard 5 (40 ng/mL)	0.75
Standard 6 (80 ng/mL)	0.47

EXPECTED NORMAL VALUES

In order to determine the normal range of SLV cortisol, 109 saliva samples from adult male and female apparently healthy subjects, ages 20 to 80 years, were collected in the morning and analyzed using the DRG SLV Cortisol ELISA kit. The following range was calculated from this study.

Adults: 0.12 – 1.47 µg/dL or 1.2 – 14.7 ng/mL

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests. Since cortisol levels show diurnal cycles, we recommend that the samples be obtained the same hour each day. Furthermore, we recommend that each laboratory determine its own range for the population tested.

Quality Control

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS***Sensitivity***

The lowest detectable level of Cortisol that can be distinguished from the Zero Standard is 0.537 ng/mL or 0.0537 µg/dl at the 95 % confidence limit.

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com**6**

DRG**CE****DRG[®] Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****IVD**

Revised 26 Sept. 2007

Specificity

The following materials have been evaluated for cross reactivity. The percentage indicates cross reactivity at 50% displacement compared to Cortisol.

Steroid	% Cross reaction
Cortisol	100%
Corticosterone	29.00%
Cortisone	3.00%
11-Deoxycortisol	< 1.00%
17-OH Progesterone	< 0.50%
Prednisone	<0.10%
Progesterone	< 0.10%
Dexamethazone	< 0.10%
Desoxycorticosterone	< 0.10%
Dehydroepiandrosterone sulfate	< 0.10%
Estradiol	< 0.10%
Estriol	< 0.10%
Estrone	< 0.10%
Testosterone	< 0.10%

Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0 – 80 ng/mL.

Reproducibility**Intra-Assay**

The intra-assay variation was determined by replicate measurements of 4 saliva samples using DRG ELISA kit. The within assay variability is shown below:

Mean (ng/mL)	4.52	0.94	12.79	17.50
SD (ng/mL)	0.120	0.042	0.230	0.258
CV (%)	2.65	4.52	1.80	1.47
n =	20	20	20	20

Inter-Assay

The inter-assay (between-run) variation was determined by quadruplicate measurements of commercial control samples in three different days' runs.

DRG**CE****DRG[®] Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****IVD**

Revised 26 Sept. 2007

Mean (ng/mL)	24.29	40.85
SD (ng/mL)	1.81	2.38
CV (%)	7.47	5.82
n =	12	12

Inter-Lot

The Inter-Lot (between-lot) variation was determined by duplicate measurements of five saliva samples in three different kit lots. The between run variability is shown below:

Mean (ng/mL)	1.22	12.65	15.81	4.16	4.53
SD (ng/mL)	0.07	0.35	0.70	0.10	0.12
CV(%)	5.97	2.73	4.43	2.35	2.72
N =	9	9	9	9	9

Recovery

Recovery of the DRG ELISA was determined by adding increasing amounts of the analyte to three different saliva samples containing different amounts of endogenous analyte. Each sample (non-spiked and spiked) was assayed and analyte concentrations of the samples were calculated from the standard curve. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples

Sample	Endogenous cortisol ng/mL	Added cortisol ng/mL	Measured OD mean of duplicate (450 nm)	Measured Conc. SLV cortisol ng/mL	Expected conc ng/mL	Recovery (%)
1	0.90	0.00	1.284	0.90		
		40.00	0.175	38.74	40.90	94.7
		20.00	0.262	22.45	20.90	107.4
		10.00	0.421	11.50	10.90	105.5
		5.00	0.608	6.42	5.90	108.8
2	8.37	0.00	0.518	8.37		
		40.00	0.160	43.57	48.37	90.1
		20.00	0.225	27.59	28.37	97.3
		10.00	0.321	17.00	18.37	92.5
		5.00	0.367	14.07	13.37	105.2
3	14.60	0.00	0.357	14.61		
		40.00	0.144	50.31	54.61	92.1
		20.00	0.187	35.55	34.60	102.7
		10.00	0.246	24.52	24.60	99.7
		5.00	0.279	20.60	19.60	105.1

DRG**CE****DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****Revised 26 Sept. 2007****Linearity**

Three samples (saliva) containing different amounts of analyte were serially diluted to 1:64 with zero standard and assayed with the DRG ELISA. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for SLV cortisol. An assay linearity of 0.537 – 77 ng/mL has been identified as the usable range. Samples above this range must be diluted and re-run.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentr. ng/mL	33.13	80.00	23.23
Average % Recovery	107.0	99.1	97.5
Range of from	101.1	97.8	92.4
% Recovery to	114.0	99.6	104.4

Comparison Studies

Studies were performed to compare the DRG SLV Cortisol test to commercially available tests.

One study evaluated saliva samples from 114 subjects, ages 40 to 70 years. The samples were run in duplicate on the DRG test and another commercially available LIA method to determine the concentration of Cortisol in the samples. A correlation of 0.872 was obtained versus this method.

A second study was performed using saliva samples from seventy-two (72) saliva samples collected from 40 – 70 year old men and women and run in duplicate on DRG and another commercially available EIA test.

Another study was performed comparing 28 saliva samples to a reference LC-MS method. A correlation of $r = 0.89056$ with a formula of $y = 1.0144x + 1.7762$ was obtained to this method.

To further demonstrate substantial equivalence of the DRG SLV test, additional expanded comparison studies were requested.

One expanded study evaluated saliva samples from 40 subjects ages 25 – 65 years. The samples were run in duplicate on the DRG test and another commercially available LIA method to determine the concentration of Cortisol in the samples. An overall correlation of 0.9795 and a regression formula of $y = 0.9588x - 0.0338$ was obtained versus this method.

A second expanded study was performed using 40 saliva samples collected from men and women ages 25 – 65 years and run in duplicate on DRG and another commercially available EIA test. A correlation of 0.9920 with a regression formula of $y = 1.0722x + 0.1482$ was observed compared to another EIA method.

LIMITATIONS OF PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice.

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com**9**

DRG**CE****DRG[®] Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)****IVD****Revised 26 Sept. 2007**

Blood contamination of more than 0.32% in saliva samples will affect results, and usually can be seen by eye.

Concentrations of Sodium Azide >0.2% interferes in this assay and may lead to false results.

REFERENCES

1. Irwin M, et al (1987): Life events, depressive symptoms and immune function, *Am J. Psychiat*, 144, 437-441
2. Solomon GF, Moss RH. (1964): Emotions, Immunity and disease. A speculative theoretical integration, *Arch. Gen Psychiatry*, 11, 657-674
3. Mcgrady A. et al (1987): Effect of biofeedback-assisted relaxation in blood pressure and cortisol levels in normotensives and hypertensives, *J. Behav. Med.*, 10, 301-310
4. Hucklebridge FH, et al. (1999): The awakening of cortisol response and blood glucose levels, *Life Sci.*, 64, 931-937
5. Drucker S. (1987): New MI: Disorders of adrenal steroidogenesis, *Pediatr. Clin. North Am*, 34, 1055-1066
6. Hellhammer DH, et al. (1997): Social hierarchy and adrenocortical stress Reactivity in men, *Psychoneuroendocrinology*, 22, 643-650
7. Van cauter E. (1987): Pulsatile ACTHsecretion . In: Wagner T., Filicori M. (eds): Episodic hormone secretion: From basic science to clinical application, Hameln, TM-Verlag, pp 65-75
8. Chernow B., et al (1987): Hormonal responses to graded surgical stress, *Arch. Intern. Med.*, 147, 1273- 1278
9. Hellhammer DH, et al (1987): Measurement of salivary cortisol under psychological Stimulation, In: Hingten JN, Hellhammer DH, Huppmann (eds.), *Advanced methods in Psychology*, Hogrefe, Toronto, pp 281-289
10. Riad-Fahny et al (1982), Steroids in saliva for assessing endocrine function, *Endocr. Rev*, 3, 367-395
11. Kirchbaum C., Hellhammer DH. (1989): Salivary cortisol in psychobiological Research: An overview, *Neuropsychobiology*, 22, 150-169
12. Kirchbaum C, Hellhammer Dh. (1994): Salivary cortisol in psychoneuroendocrine Research: Recent developments and applications, *Psychoneuroendocrinology*, 19, pp 313-333
13. Robin P., et al. (1977): Assay of unbound cortisol in plasma., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 46, 277-283
14. Vining RF, et al. (1983), Hormones in saliva: Mode of entry and consequent implications for clinical interpretation, *Clin. Chem.*, 29, 1752-1756

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com

10

DRG

CE

DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)



IVD

Revised 26 Sept. 2007

Symbols used with DRG ELISA's

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultez le Mode d'emploi	Consulte las Instrucciones	Consulti le istruzioni
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostica in vitro
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	No de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de micro-titration	Pocillos de la Microplaca	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de paro	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard 0	Standard 0	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Calibrador	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungs-medium	Solution pour dilution de l'échantillon		Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungs-medium	Solution pour dilution du conjugué		Diluyente del tracciante

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com

11

DRG**DRG® Salivary Cortisol ELISA (SLV-2930)**

Revised 26 Sept. 2007

Symbol	Portugues	Dansk	Svenska	Ελληνικά
	Conformidade com as normas europeias	Europaeisk overensstemmelse	Europeisk överensstämmelse	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Instruções de uso	Brugermanual	Användar manual	Εγχειρίδιο χρήστη
	Diagnóstico in vitro	In vitro diagnostik	Diagnostik in vitro	in vitro διαγνωστικό
	Catálogo n.º	Katalognummer	Katalog nummer	Αριθμός καταλόγου
	No do lote	Lot nummer	Batch-nummer	Αριθμός Παρτίδος
		Indeholder tilstrækkeligt til "n" test	Innehåller tillräckligt till "n" tester	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
	Temperatura de conservação	Opbevaringstemperatur	Förvaringstemperatur	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Prazo de validade	Udløbsdato	Bäst före datum	Ημερομηνία λήξης
	Fabricante	Producent	Tillverkare	Κατασκευαστής
<i>Distributed by</i>				
<i>Content</i>	Conteúdo	Indhold	Innehåll	Περιεχόμενο
<i>Volume/No.</i>	Volume/Número	Volumen/antal	Volym/antal	Όγκος/αριθ..
<i>Microtiterwells</i>	Alvéolos de microtitulação	Mikrotiterbrønde	Brunnar i Mikrotiterplatta	Πηγάδιακία Μικροτιτλοδοτήσεως
<i>Antiserum</i>	Anti-soro	Antiserum	Antiserum	Αντισώρος
<i>Enzyme Conjugate</i>	Conjugado enzimático	Enzymkonjugat	Enzymkonjugat	Συζευγμένο ενζυμο
<i>Enzyme Complex</i>	Complexo enzimático	Enzymkompleks	Enzymkomplex	Σύμπλοκο ενζύμου
<i>Substrate Solution</i>	Solução de substrato	Substratopløsning	Substratlösning	Διάλυμα υποστρώματος
<i>Stop Solution</i>	Solução de paragem	Stopopløsning	Stopp lösning	Διάλυμα τερματισμού
<i>Zero Standard</i>	Padrão zero	Standard 0	Standard 0	Πρότυπο Μηδέν
<i>Standard</i>	Calibrador	Standard	Standard	Πρότυπα
<i>Control</i>	Controlo	Kontrol	Kontroll	Έλεγχος
<i>Assay Buffer</i>	Tampão de teste	Assay buffer	Assay Buffer	Ρυθμιστικό Διάλυμα Εξέτασης
<i>Wash Solution</i>	Solução de lavagem	Vaskebuffer	Tvätt lösning	Διάλυμα πλύσεως
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH
<i>1N HCl</i>	1N HCl	1N HCl	1N HCl	1N HCl
<i>Sample Diluent</i>				
<i>Conjugate Diluent</i>				

DRG International, Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail: corp@drg-international.com

12

Anexo 8. Kit reactivos análisis CF

Phadia 100

EliATM

Not for use in the USA

Calprotectin FLUOROENZYMEIMMUNOASSAY FOR CALPROTECTIN DETERMINATION
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE DIRECTIONS FOR USE

CONTENTS

EliA uses a modular reagent system. All information needed to understand the use of the EliA tests can be found in the analyte specific DFU and the corresponding EliA Control DFU.

INTENDED USE

EliA Calprotectin is intended for the in vitro quantitative measurement of calprotectin in human stool as an aid in the clinical diagnosis of inflammatory bowel diseases (IBD). EliA Calprotectin is to be used together with the EliA Calprotectin method on the instrument Phadia 100.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Calprotectin is a calcium- and zinc-binding protein which is predominantly present in the cytoplasm of cells involved in pathogen defense, such as neutrophil granulocytes, monocytes and macrophages.^{1,2} In neutrophil granulocytes it accounts for as much as 60% of the cytosolic protein. In intestinal inflammation neutrophil granulocytes migrate through the intestinal wall into the intestinal lumen, which leads to an elevated calprotectin level in the stool.³ The level of fecal calprotectin correlates directly with the number of neutrophil granulocytes in the intestinal lumen and is thus specifically elevated in inflammatory bowel diseases (IBD), such as Crohn's disease and ulcerative colitis. Fecal calprotectin levels get affected by nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) intake, bleeding more than 100 ml and by malignancy.⁴ Fecal calprotectin measurement is an easy, non-invasive first line test which clearly differentiates IBD from IBS (irritable bowel syndrome) and other functional disorders. It has been shown to be the most sensitive and most specific test for this discrimination, clearly outperforming blood tests such as CRP or ESR.⁵ Fecal calprotectin correlates with disease activity and is able to predict relapses in IBD.⁶ This makes fecal calprotectin useful for both diagnosis and monitoring of IBD patients.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The EliA Calprotectin Wells are coated with monoclonal antibodies to calprotectin. If present in the patient's specimen, calprotectin binds to the coated antibodies. After washing away non-bound components, enzyme-labeled antibodies against human calprotectin (EliA Calprotectin Conjugate) are added to form a calprotectin-conjugate complex. After incubation, non-bound conjugate is washed away and the bound complex is incubated with a Development Solution. After stopping the reaction, the fluorescence in the reaction mixture is measured. The higher the response value, the more calprotectin is present in the specimen. To evaluate test results, the response for patient samples is compared directly to the response for calibrators.

REAGENTS / MATERIAL

The EliA reagents are available as modular packages, each purchased separately. All packages except for the EliA Calprotectin Positive Control 100, the EliA Calprotectin Negative Control 100 and the EliA Stool Extraction Kit are required to carry out an EliA Calprotectin Test.

The EliA Calprotectin Wells are packed in carriers which are stored in sealed aluminium foil bags containing a desiccant.

EliA Calprotectin Test-Specific Reagents

EliA Calprotectin Well (Art. No. 14-5610-01)

Calprotectin Well; short name: cn	coated with monoclonal antibodies to calprotectin	4 carriers (12 wells each); sufficient for 48 determinations	ready for use; store dry at 2-8 °C until expiration date
-----------------------------------	---	--	--

EliA Calprotectin Positive Control 100 (Art. No 83-1066-01)

Human calprotectin in PBS containing BSA, detergent and sodium azide (0.095 %); symbol: pos	Control containing human calprotectin	6 single-use vials (0.3 ml each); sufficient for 2 determinations per vial	Ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
---	---------------------------------------	--	--

EliA Calprotectin Positive Control 100 is prepared from human blood.

EliA Calprotectin Negative Control 100 (Art. No 83-1067-01)

Human calprotectin in PBS containing BSA, detergent and sodium azide (0.095 %); symbol: neg	Control containing human calprotectin	6 single-use vials (0.3 ml each); sufficient for 2 determinations per vial	Ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
---	---------------------------------------	--	--

EliA Calprotectin Negative Control 100 is prepared from human blood.

EliA Method-Specific Reagents (Phadia 100)

EliA Calprotectin Extraction Buffer (83-1068-01)

Calprotectin Extraction Buffer (orange colored); Tris-buffer containing sodium azide (0.05 %)	6 bottles (117 ml each); sufficient for 6 x 23 extractions	ready for use, shake before using; store at 2-8 °C until expiration date
---	--	--

EliA Sample Diluent (Art. No 83-1003-01)

Sample Diluent (yellow colored); PBS containing BSA, detergent and sodium azide (0.095 %)	6 vials (9 ml each); sufficient for 6 x 30 dilutions	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
---	--	--

EliA Calprotectin Conjugate (Art. No 83-1061-01)

Calprotectin Conjugate (blue colored); β-Galactosidase anti-calprotectin (mouse monoclonal antibodies) in PBS containing BSA and sodium azide (0.06 %); symbol: EI-C	6 vials (4.8 ml each); sufficient for 6 x 48 determinations	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date DO NOT FREEZE
--	---	---

EliA Calprotectin Conjugate (Art. No 83-1060-01)

Calprotectin Conjugate (blue colored); β-Galactosidase anti-calprotectin (mouse monoclonal antibodies) in PBS containing BSA and sodium azide (0.06 %); symbol: EI-C	2 vials (4.8 ml each); sufficient for 2 x 48 determinations	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date DO NOT FREEZE
--	---	---

EliA Calprotectin Calibrators (Art. No 83-1058-01)

Human calprotectin (0, 3, 10, 20, 200, 750 ng/ml); in PBS containing BSA, detergent and sodium azide (0.095 %) symbol: Cal-0, Cal-3, Cal-10, Cal-20, Cal-200, Cal-750	6 single-use vials (0.3 ml each); sufficient for one calibration curve	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
---	--	--

Manufactured from human blood.

EliA Calprotectin Curve Control (Art. No 83-1059-01)

Human calprotectin (20 ng/ml); in PBS containing BSA, detergent and sodium azide (0.095 %) symbol: CC-1	6 single-use vials (0.3 ml each); sufficient for 6 runs	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
---	---	--

Manufactured from human blood.

EliA Calprotectin Calibrator Well (Art. No 14-5618-01)

Calprotectin Calibrator Well coated with mouse monoclonal antibodies; short name: Ccal	4 carriers (12 wells each); sufficient for 48 determinations	ready for use; store dry at 2-8 °C until expiration date
--	--	--

EliA Dummy Well (Art. No 14-5510-01)

Dummy Well required by the Phadia 100 System for empty run positions	4 carriers (12 wells each); sufficient for 48 positions	ready for use; store dry at 2-8 °C until expiration date
--	---	--

EliA Stool Extraction Kit (Art. No 14-5638-01)

Stool extraction tubes pre-filled with 750 µl of EliA Calprotectin Extraction Buffer	50 tubes; sufficient for 50 stool sample extractions	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
--	--	--

Phadia 100 General Reagents

Development Solution (Art. No. 10-9478-01)

Development Solution 0.01 % 4-Methylumbelliferyl-β-D-galactoside, <0.0010 % preservative**	6 vials (6 ml each); reagents for 6 x 48 determinations	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date. DO NOT FREEZE
--	---	---

Stop Solution (Art. No. 10-9479-01)

Stop Solution 4 % Sodium Carbonate	6 bottles (65 ml each); reagents for 6 x 240 determinations	ready for use; store at 2-8 °C until expiration date
------------------------------------	---	--

* Due to different ImmunoCAP and EIA assay processes, a high residual volume is to be expected.

** Preservative: mixture of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).

Washing Solution (Art. No. 10-9422-01/10-9202-01)

For information see separate Washing Solution package insert.

The expiration date for each of the complete packages is stated on the outer label.

However, each component is stable until the date stated on the respective vial label.

Material not provided: purified water, graduated cylinder

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use reagents beyond their expiration dates.
- We do not recommend to pool reagents.

• Some of the reagents are manufactured from human blood components. The source materials have been tested by immunoassay for hepatitis B surface antigen, for antibodies to HIV1, HIV2 and hepatitis C virus and found negative. Nevertheless, all recommended precautions for the handling of blood derivatives should be observed. Please refer to Human Health Service (HHS) Publication No. (CDC) 93-8395 or local and national guidelines on laboratory safety procedures.

WARNING! Reagents contain sodium azide (NaN₃) as a preservative. NaN₃ may be toxic if ingested or absorbed by skin or eyes. NaN₃ may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up. Please refer to decontamination procedures as outlined by CDC or other local and national guidelines.

Waste Bottle and ImmunoCAP/EliA Well Waste Container may be contaminated by potentially infectious material. Use appropriate safety measures and wear gloves.

Indication of Instability

Phadia 100 Instrument Software has built-in acceptance limits for the calibration curve and the curve control. EliA Wells are moisture sensitive. An activity loss that might occur due to inappropriate handling can be detected using the appropriate EliA Control. For more information see Phadia 100 User's Guide/Reference Manual.

INSTRUMENT

The Phadia 100 Instrument processes all steps of the test and prints results automatically after the test is completed. For further information regarding test set-up, instrumentation and software etc. see Phadia 100 User's Guide/Reference Manual.

SPECIMEN COLLECTION, HANDLING AND PREPARATION

The procedure can be performed with human stool specimens. Avoid repeated freezing and thawing. Samples should be stored in aliquots at -20 °C (-4 °F) or below for repeated measurements.

The stool samples can be extracted by two different methods:

A) Stool extraction using the EliA Stool Extraction Kit (order no. 14-5638-01, 50 tubes). The extraction tubes are pre-filled with 750 µl of EliA Calprotectin Extraction Buffer.

Extraction procedure:

1. Unscrew the tube's cap by turning the upper, light blue part of cap to the left and pull out the light blue rod.
2. Insert the light blue rod into the stool sample. Be sure that the four notches at the lower part of the rod are completely covered with stool.
3. Insert the rod back into the tube carefully. Excess material will be stripped off, and a defined amount of stool sample will remain in the notches.
4. Lock the tube firmly by turning the light blue part of the cap to the right.
5. Homogenize the stool sample completely using a vortex mixer. Afterwards incubate for 10 minutes. Make sure that no stool sample stays in the notches. In case of very solid stool samples it may help to soak the sample in the tube for 10 min before dissolving it.
6. Unscrew the complete cap by turning the lower, dark blue part of the cap to the left. Discard complete cap and rod.
7. Transfer the homogenate to an Eppendorf tube and centrifuge for 5 minutes at 3000 x g.
8. Transfer the supernatant to a fresh tube.



The supernatant is the raw sample used for testing. If the EliA Calprotectin test cannot be performed immediately after sample extraction, the extract should be frozen at $\leq -20^{\circ}\text{C}$. The extract can be stored at room temperature for max. 6 h, at 4°C for max. 30 h, and at $\leq -20^{\circ}\text{C}$ for max. 3 months.

B) Stool extraction using conventional stool extraction devices which are not pre-filled with extraction buffer. We recommend the "Fecal sample preparation kit" by Roche Diagnostics for stool extraction. This kit is available through Thermo Fisher Scientific (order no. 14-5619-01, 50 tubes).

Extraction procedure:

1. Weigh the empty extraction device.
2. Transfer approximately 100 mg of homogeneous stool sample to the extraction device.
3. Weigh the transferred amount of stool.
4. Add 50 times the stool weight of EliA Calprotectin Extraction Buffer (e.g. 100 mg stool sample + 5ml buffer).
5. Lock the tube firmly.
6. Homogenize the sample completely using a vortex mixer. Afterwards incubate for 10 minutes.
7. Transfer 1-2ml of the homogenate to an Eppendorf tube and centrifuge for 5 minutes at $3000 \times g$.
8. Transfer the supernatant to a fresh tube.

The supernatant is the raw sample used for testing. If the EliA Calprotectin test cannot be performed immediately after sample extraction, the extract should be frozen at $\leq -20^{\circ}\text{C}$. The extract can be stored at room temperature for max. 6 h, at 4°C for max. 30 h, and at $\leq -20^{\circ}\text{C}$ for max. 3 months.

Sample Dilution

Samples must be diluted with EliA Sample Diluent. A 1:100 dilution of the samples is required for the EliA Calprotectin Test. Samples can be diluted manually, but instrument dilution is recommended and is a default setting in Phadia 100 Instrument Software.

PROCEDURE

Handling of EliA Calprotectin Well

Prior to opening the foil bag, equilibrate to room temperature. For stability reasons the carriers have to be put back in the desiccant-containing foil bag directly after dispensing the wells. Because it is important to store the wells in dry conditions at $2-8^{\circ}\text{C}$, the bag must be properly resealed. Shelf-life after first opening: 9 months, if not limited by expiry date stated on the carrier and foil bag.

Lot-specific code of EliA Calprotectin Well

Make sure to enter the lot-specific code of the EliA Calprotectin Well. This code is stated on the carrier and foil bag as **Code**, and it is encoded within the barcode of the foil bag. Preferably use a barcode reader.

Lot-specific code of EliA Calprotectin Calibrator Well

Make sure to enter the lot-specific code of the EliA Calprotectin Calibrator Well. This code is stated on the carrier and foil bag as **Code**, and it is encoded within the barcode of the foil bag. Preferably use a barcode reader.

Lot specific code of EliA Calprotectin Conjugate

Make sure to enter the lot-specific Calibration Code of the Calprotectin Conjugate given on the box and the vial as **CalCode**, and encoded within the barcode of the Calprotectin Conjugate. Preferably use a barcode reader to enter the Calibration Code.

Volumes per determination

Reagent volumes per determination

Calibrator	90 μl
EliA Calprotectin Conjugate	90 μl
Development Solution	90 μl
Stop Solution	200 μl

Sample volumes per determination

Manual dilution:	90 μl of diluted sample
Instrument dilution (1:100):	22 μl of non diluted sample

For tube-specific dead volumes see Phadia 100 User's Guide/Reference Manual.

Reagent volumes per run

Washing Solution	1 l*
Rinse Solution	1 l*

* The residual volume depends on the number of samples and dilution method used.

Procedural comments

- From one sample diluted by the instrument (1:100), up to 11 determinations can be made.
- When using software default, samples are run in single determination.
- Washing Solution must be at room temperature when used.
- Total time is 2.5 hours for one test run processing 48 wells.
- Incubations are automatically performed at 37°C (98.6°F).

CALIBRATION AND REFERENCE MATERIAL

The calibration curve is obtained with EliA Calprotectin Calibrators which are run in duplicate. The curve is stored and subsequent tests are evaluated against the stored curve using only the EliA Calprotectin Curve Control (run in duplicate).

A new calibration curve must be run when:

- the last calibration was made more than one month ago or
- a new lot of EliA Calprotectin Conjugate is introduced or
- when the EliA Calprotectin Curve Control is outside the specified limits (defined in Phadia 100 Instrument Software).

There are no international standards for calprotectin. Results are given in mg/kg.



QUALITY CONTROL

Record Keeping

It is good laboratory practice to record the lot numbers of the components used, the dates when they were first opened and remaining volumes.

Control Specimens

Good laboratory practice requires that quality control specimens should be included in every run. Any material used should be assayed repeatedly to establish mean values and acceptance ranges. EliA Controls are available from Phadia for the quality control of the measurements.

CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

Presentation of Results

Phadia 100 measures calprotectin concentrations in ng/ml. By using a conversion factor given by the lot-specific code of the EliA Calprotectin Well, the results are automatically converted to mg/kg.

Interpretation of Test Results

The ranges (negative, positive) recommended for the evaluation of the results are given in the table below.

Test	Unit	negative	positive
EliA Calprotectin	mg/kg	≤ 50	> 50

Good laboratory practice requires that each laboratory establishes its own range of expected values.

LIMITATIONS

A definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single diagnostic method, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

EXPECTED VALUES

Calprotectin is positive in a certain percentage of the normal population, strongly depending on age. While 11 % of children have been reported to be positive⁷, it is 25 % of subjects between 50 and 70 years of age⁸. Expected values may vary depending on the population tested.

Results Obtained for Healthy Subjects

The frequency distribution for calprotectin was investigated in a group of apparently healthy subjects equally distributed by age and gender, using stool samples from a Caucasian population. The results are given in the table below.

Test	Unit	No. of samples	Mean value	95%-percentile	99%-percentile
EliA Calprotectin	mg/kg	85	<15.0	27.3	43.6

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring Range

The measuring range (detection limit, upper limit) for EliA Calprotectin is from 15.0 to ≥ 3000 mg/kg. No hook effects could be observed for concentrations up to 6 fold above the measuring ranges.

Only values above the Detection Limit can be regarded as valid results. The upper limit of the reported results can vary due to a lot-specific conversion from ng/ml to mg/kg. Results above the upper limit are reported as "above".

Specificity

The EliA Calprotectin Test permits the determination of human calprotectin as described in section "Reagents".

Precision

To determine the precision of the assay, the variability was assessed in studies with 21 runs by examining the samples in 84 replicates over 7 days in 3 instruments with a calibration curve in each run. The statistical evaluation was performed by Analysis of Variance. The results are given in the table below.

Test	Sample	Unit	Mean value	Coefficients of variation (%)	
				Intra-Run	Inter-Run
EliA Calprotectin	1	mg/kg	71.3	4.2	6.6
	2	mg/kg	197.9	2.8	6.5
	3	mg/kg	568.2	3.2	7.3



WARRANTY

The performance data presented here was obtained using the procedure indicated. Any change or modification in the procedure not recommended by Phadia AB may affect the results, in which event Phadia AB disclaims all warranties expressed, implied or statutory, including the implied warranty of merchantability and fitness for use. Phadia AB and its authorized distributors, in such event, shall not be liable for damages, indirect or consequential.

REFERENCES

- 1 Gaya DR, Mackenzie JF (2002). Fecal calprotectin: a bright future for assessing disease activity in Crohn's disease. *Q J Med* 95: 557-558
- 2 Roseth AG et al (2004). Normalization of fecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 39: 1017-1020
- 3 Vermeire S et al (2006). Laboratory markers in IBD: useful, magic or unnecessary toys? *Gut* 55: 426-431
- 4 Masoodi I et al (2011). Biomarkers in the management of ulcerative colitis: a brief review. *Ger Med Sci* 9: Doc03. doi: 10.3205/000126
- 5 Tibble J et al (2000). A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 47: 506-513
- 6 Sutherland AD et al (2008). Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 51: 1283-1291
- 7 Fagerberg UL et al (2003). Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *JPGN* 37: 468-472
- 8 Poulis A et al (2004). Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: A link between lifestyle factors and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 279-284

 LOT	Batch code		Contains x determinations
	Biological Risk		Read Directions for Use
	Store at 2-8°C/35-46°F		Manufactured by
	Expiration date		Do not reuse in a second run
	For <i>in vitro</i> diagnostic use		

 **Phadia AB** 
Rapskatan 7P
P.O. Box 6460
751 37 Uppsala
Sweden
Tel: +46-18-16 50 60
Fax: +46-18-14 03 58
Autoimmunity@phadia.com
www.phadia.com

© Phadia GmbH, Freiburg, Germany





Revision History

Version	Countries	Change
21	all, except us	Phadia 100, Phadia 250 and Phadia 2500/5000, chapter "SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST": Insertion of the sentence " Fecal calprotectin levels get affected by nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) intake, bleeding more than 100 ml and by malignancy"
	uk	Phadia 100, Phadia 250 and Phadia 2500/5000, chapter "LIMITATIONS": Deletion of the sentence "Blood in the stool may affect EliA Calprotectin results"
	all, except us	Phadia 100, Phadia 250 and Phadia 2500/5000, chapter "REFERENCES": Insertion of a new literature article (reference number 4) and re-numbering of the following references.



Anexo 9. Kit reactivos análisis PCR.

0004956842190c501v8.0

CRPL3

Información de pedido

REF	CONTENT	ID del sistema	Analizadores adecuados para el cobas c pack
04956842 190	C-Reactive Protein Gen 3 250 tests	07 6993 2	Roche/Hitachi cobas c 311 , cobas c 501/502
11355279 216	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL)	Código 656	
11355279 160	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 656	
10557897 122	Precinorm Protein (3 x 1 mL)	Código 302	
10557897 160	Precinorm Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 302	
11333127 122	Precipath Protein (3 x 1 mL)	Código 303	
11333127 160	Precipath Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 303	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Código 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Código 391	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Código 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Código 392	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	07 6869 3	

Español

Información del sistema

Analizadores **cobas c 311/501**:

CRPL3: ACN 210

Analizadores **cobas c 502**:

CRPL3: ACN 8210

Uso previsto

Prueba inmunoturbidimétrica in vitro para la determinación cuantitativa de la proteína C reactiva (CRP por sus siglas en inglés) en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**.

Características^{1,2,3,4,5,6,7,8}

La proteína C reactiva es la proteína de fase aguda clásica de las reacciones inflamatorias. Se sintetiza en el hígado y se compone de cinco cadenas polipeptídicas idénticas en forma de un anillo de cinco eslabones con un peso molecular de 105000 daltons. La CRP es el reactante de fase aguda más sensible y su concentración aumenta muy rápidamente en procesos inflamatorios. Los complejos de CRP activan la vía clásica de complemento. La respuesta de la CRP frecuentemente precede a los síntomas clínicos, incluyendo la fiebre. En individuos normales sanos, sólo se detectan vestigios de CRP con niveles de hasta 5 mg/L. Al iniciarse la respuesta de fase aguda, la concentración sérica de la CRP aumenta rápida y acentuadamente. Las concentraciones aumentan tras 6 a 12 horas, mientras que el valor máximo se alcanza pasadas 24 a 48 horas. Los niveles superiores a 100 mg/L son consecuencia de serios estímulos tales como traumatismos de gran magnitud e infecciones severas (sepsis). La respuesta de la CRP puede ser menos acentuada en pacientes con hepatopatías. La determinación de CRP sirve para reconocer procesos inflamatorios sistémicos, para evaluar el éxito del tratamiento de infecciones bacterianas con antibióticos, para detectar infecciones intrauterinas en caso de amniorrexis prematura, para diferenciar entre las formas activa e inactiva de enfermedades con infecciones concomitantes, como p.ej. en pacientes con lupus eritematoso sistémico y colitis ulcerosa, para evaluar la actividad de enfermedades reumáticas y la eficacia del tratamiento antiinflamatorio, para el reconocimiento precoz de complicaciones postoperatorias (infección de una herida, trombosis, neumonía) y para distinguir entre una infección y una reacción de rechazo tras el trasplante de médula ósea. El seguimiento postoperatorio de los niveles de CRP permite comprobar si el paciente se recupera normalmente (los niveles disminuyen hasta ser normales) o si sufre complicaciones inesperadas (los niveles permanecen altos). La medición de los cambios en la concentración de CRP proporciona informaciones útiles para diagnosticar el grado de agudeza y seriedad de la enfermedad. Asimismo permite establecer hipótesis acerca de su origen. Generalmente, la persistencia de altas concentraciones séricas de CRP significa un

pronóstico grave que suele indicar la presencia de una infección incontrolada.

Principio del test^{9,10}

Prueba inmunoturbidimétrica potenciada con partículas.

La CRP humana se aglutina con las partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-CRP. El precipitado se determina por turbidimetría.

Reactivos - Soluciones de trabajo

R1 Tampón TRIS^{a)} con albumina de suero bovino; conservantes

R2 Partículas de látex recubiertas con anticuerpos de ratón anti-CRP en tampón de glicina, inmunoglobulinas (de ratón) conservante

a) TRIS = Tris (hidroximetil)-aminometano

R1 está en la posición B y R2 en la posición C.

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Preparación de los reactivos

Los reactivos están listos para el uso.

Mezclar bien el **cobas c pack** antes de colocarlo en el analizador.

Antes del uso, invierta el recipiente de reactivos varias veces para asegurar la mezcla completa de los componentes.

Conservación y estabilidad

CRPL3

Sin abrir, a 2-8 °C:

véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c pack**.

En uso y refrigerado en el analizador:

12 semanas

Diluyente NaCl al 9 %

Sin abrir, a 2-8 °C:

véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c pack**.

En uso y refrigerado en el analizador:

12 semanas



Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y considerado aptos los tipos de muestra aquí indicados.

Suero.

Plasma tratado con heparina de litio, EDTA di y tripotásico.

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

Estabilidad: ¹¹	11 días a 15-25 °C
	2 meses a 2-8 °C
	3 años a (-15)-(-25) °C

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

- Consultar la sección "Información de pedido"

Equipo usual de laboratorio

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consulte el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo.

Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero y plasma**Definición del test en el analizador cobas c 311**

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 8-18
Longitud de onda (sub/princ)	800/570 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mg/L (nmol/L, mg/dL)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	150 µL
R2	48 µL 24 µL

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	-	-
Disminuido	4 µL	25 µL	75 µL
Aumentado	2 µL	-	-

Definición del test en el analizador cobas c 501

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 13-29

Longitud de onda (sub/princ)	800/570 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mg/L (nmol/L, mg/dL)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	150 µL
R2	48 µL 24 µL

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	-	-
Disminuido	4 µL	25 µL	75 µL
Aumentado	2 µL	-	-

Definición del test en el analizador cobas c 502

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 13-29
Longitud de onda (sub/princ)	800/570 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mg/L (nmol/L, mg/dL)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	150 µL
R2	48 µL 24 µL

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	-	-
Disminuido	4 µL	25 µL	75 µL
Aumentado	4 µL	-	-

Calibración

Calibradores	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s. Proteins
	Multiplicar el valor del calibrador C.f.a.s. Proteins específico del lote por los factores indicados abajo a fin de determinar las concentraciones estándar de la curva de calibración de seis puntos.
	S2: 0.10000 S5: 2.0000
	S3: 0.3325 (c 501/502) 0.3500 (c 311) S6: 4.0000
	S4: 1.0000
Modo de calibración	spline de 6 puntos
Intervalo de calibraciones	Calibración completa • con cada lote de reactivos • si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a un método interno que puede rastrearse a la preparación de referencia CRM 470 (RPPHS = Reference Preparation for Proteins in Human Serum).¹²

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear los controles indicados en la sección "Información de pedido".



La concentración de las muestras se situó entre 0.220 y 208 mg/L (2.09-1980 nmol/L).

Se han comparado los valores de CRP en muestras de suero y plasma humanos obtenidos en un analizador Roche/Hitachi **cobas c 501** (y) con los obtenidos con el reactivo CRPL2 en un analizador COBAS INTEGRA 800 (x).

Número de muestras (n) = 69

Passing/Bablok ¹⁸	Regresión lineal
$y = 0.941x + 0.166$	$y = 0.928x + 1.28$
$r = 0.983$	$r = 0.998$

La concentración de las muestras se situó entre 0.525 y 221 mg/L (5.00-2104 nmol/L).

Referencias bibliográficas

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag 1995:234-236.
- Thomas L. Labor und Diagnose, 7. Auflage, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main 2008;1010-1021.
- Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed. Pa: WB Saunders Co 2001;332-333.
- Thomas L, Messenger M. Pathobiochemie und Labordiagnostik der Entzündung. Lab med 1993;17:179-194.
- Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. Pathology 1991;23:118-124.
- Wasunna A, Whitelaw A, Gallimore R, et al. C-reactive protein and bacterial infection in preterm infants. Eur J Pediatr 1990 Mar;149(6):424-427.
- Vergis N. Should CRP be used as a marker of infection in patients with liver cirrhosis? Clin Lab Int 2007;6:12-13.
- Mackenzie I, Woodhouse J. C-reactive protein concentrations during bacteraemia: a comparison between patients with and without liver dysfunction. Intensive Care Medicine 2006;32:1344-1351.
- Price CP, Trull AK, Berry D, et al. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. J Immunol Methods 1987;99:205-211.
- Eda S, Kaufmann J, Roos W, et al. Development of a New Microparticle-Enhanced Turbidimetric Assay for C-reactive Protein with Superior Features in Analytical Sensitivity and Dynamic Range. J Clin Lab Anal 1998;12:137-144.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins CRM470. Report EUR 15243 EN 1993;1-186.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Dati F, Schumann G, Thomas L, et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:517-520.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

Símbolos

Roche Diagnostics emplea los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1.

CONTENT

Contenido del estuche



Volumen tras reconstitución o mezcla

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Distribución en los EE.UU. por:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-2336



Anexo 10. Actividades Formativas del Doctorado



PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA TRASLACIONAL

Nombre y apellidos del Doctorando: Rafael González Moret

ACTIVIDAD 1 (AF1)

DENOMINACIÓN: Técnicas avanzadas de Búsqueda y Gestión de la Documentación aplicadas a la Investigación.

PROFESORA COORDINADORA: M^a Angeles García Esparza

Fecha Inicio: 28/01/19

Fecha Fin: 29/01/19

Nº de horas:12

Año en que se matricula:2018/19

Resultados de aprendizaje: Conocimiento sobre bases de datos y plataformas de documentación biomédica, los métodos de búsqueda y gestión de la Información científica.

Calificación: APTO

CEU
Escuela Internacional
de Doctorado

M. Angeles Garcia Esparza



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA TRASLACIONAL

Nombre y apellidos del Doctorando: RAFAEL GONZÁLEZ MORET

ACTIVIDAD (AF04)

DENOMINACIÓN: Estadística Aplicada a la Investigación

PROFESOR RESPONSABLE: Dra. Dña.. Mónica Alacreu García

Fecha de inicio: 05/ Mayo / 2019

Fecha fin: 04/ Junio / 2019

Nº de horas: 20 horas

Año en que se matricula: 2018/ 19

RESULTADOS DEL APRENDIZAJE:

Comprender la necesidad de la Estadística como herramienta para analizar y obtener resultados que provienen de una Investigación científica y emitir las conclusiones objetivas que se deducen de dichos resultados. Aprender el correcto almacenamiento de la información para que pueda ser analizada estadísticamente. Con el apoyo de un software informático (R. Commander), resumir la Información mediante estadística descriptiva. A continuación, conocer la aplicación y utilidad de las principales técnicas de Inferencia estadística clásica.

Calificación: APTO

En Alfara del Patriarca, 06 de Junio de 2019

Fdo. Dra. Dña. MÓNICA ALACREU GARCÍA



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA TRASLACIONAL

Nombre y apellidos del Doctorando: RAFAEL GONZÁLEZ MORET

ACTIVIDAD (AF09)

DENOMINACIÓN: Seminario de bioética en Investigación Traslacional

PROFESOR RESPONSABLE: Dra. Dña. Paula Sánchez Thevenet

Fecha de Inicio: 31/ Mayo / 2019

Fecha fin: 04/ Junio / 2019

Nº de horas: 12 horas

Año en que se matricula: 2018/ 19

RESULTADOS DEL APRENDIZAJE:

El alumno ha desarrollado un pensamiento crítico sobre su propia praxis investigadora, realizando planteamientos y valoraciones de preguntas de investigación con metodología FINER, resolución mediante plataformas on line de dilemas éticos en investigación experimental con animales, y sesiones de debates sobre el rol social del investigador/a y la relación ciencia-progreso humano; reflexionando sobre el valor social de la investigación que realiza y la conducta responsable que aplicar en respeto a los principios fundamentales de investigación con humanos. Además, reconoce los escenarios más frecuentes que se producen en la investigación traslacional donde se incluyen el tratamiento de muestras humanas, manejo de animales, tratamiento de datos de los pacientes, comisiones éticas, y lo necesario para poder diseñar un proyecto de Tesis que cuida los aspectos éticos de la ciencia.

Calificación: APTO

En Alfara del Patriarca, 06 de Junio de 2019



Fdo. Dra. Dña. PAULA SÁNCHEZ THEVENET



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA TRASLACIONAL

Nombre y apellidos del Doctorando: RAFAEL GONZÁLEZ MORET

ACTIVIDAD (AF03)

DENOMINACIÓN: Uso ético de la documentación científica

PROFESOR RESPONSABLE: Dr. D. Juan Francisco Lisón Párraga

Fecha de Inicio: 14/ 02/ 2019

Fecha fin: 22/ 02/ 2019

Nº de horas: 12 horas

Año en que se matricula: 2018/ 19

RESULTADOS DEL APRENDIZAJE:

El alumno conoce qué documentación puede utilizar y cómo para el desarrollo de su investigación, de forma ética y legal. El tratamiento que debe dar a la documentación utilizada en su trabajo, así como todo lo referente a la protección de la documentación que en el desarrollo de su investigación se genere de acuerdo con las normas de protección de datos y propiedad intelectual. Es capaz de analizar los distintos tipos de contenidos y soportes junto con la legislación aplicable a cada caso.

Calificación: APTO

En Alfara del Patriarca, 02 de mayo de 2019




Fdo. Dr. D. Juan Francisco Lisón Párraga



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA TRASLACIONAL

Nombre y apellidos del Doctorando: Rafael González Moret

ACTIVIDAD 2 (AF2)

DENOMINACIÓN: Evaluación y Valoración de la Producción Científica

PROFESOR COORDINADOR: José Miguel Soria López

Fecha Inicio: 11/02/19

Fecha Fin: 12/02/19

Nº de horas:12

Año en que se matricula:2018/19

Resultados de aprendizaje: El alumno adquirirá conocimientos avanzados sobre la evaluación de las publicaciones científicas y será capaz de demostrar una plena capacidad de uso de las distintas posibilidades de explotación de Indicadores bibliométricos a través de Web of Science, Journal Citation Report, Essential Science Indicators, Latindex, InRecs, Scimago Journal, Google, etc.

Calificación: APTO


JM-SORIA.

