

**Tomasz Rawa**

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Onkologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa  
Klinika Gastroenterologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

# Oznaczanie stężenia leków biologicznych w leczeniu chorób zapalnych jelit — znaczenie w praktyce klinicznej

## Clinical utility of therapeutic drug monitoring of anti-TNF- $\alpha$ therapy in inflammatory bowel disease

### STRESZCZENIE

Leki biologiczne w leczeniu choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego stosowane są od kilkunastu lat. Ich skuteczność, zarówno w indukcji, jak i w leczeniu podtrzymującym jest ograniczona. W terapii podtrzymującej głównym czynnikiem wpływającym na skuteczność jest stężenie anti-TNF- $\alpha$  w surowicy. Stężenie leku poniżej wartości terapeutycznych wiąże się z pogorszeniem wyników leczenia. Dlatego oznaczanie poziomu leków biologicz-

nych u pacjentów z wtórną utratą skuteczności pozwala na optymalizację leczenia. Dzięki oznaczeniu poziomu leków biologicznych w surowicy można zidentyfikować chorych, u których celowe jest zwiększenie dawki leku, jego odstawienie i zamiana na inny lek anti-TNF- $\alpha$  lub całkowita rezygnacja z leków blokujących TNF- $\alpha$ .

**Gastroenterologia Kliniczna 2014, tom 6, nr 3, 92–96**

**Słowa kluczowe: choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, leczenie biologiczne, stężenie anti-TNF- $\alpha$  w surowicy**

### ABSTRACT

Biological therapies have been used in the treatment of inflammatory bowel disease for many years; however, their effectiveness remains suboptimal both in the induction and maintenance phase. The serum concentration of anti-TNF- $\alpha$  is the main factor influencing the effectiveness during the maintenance therapy. Low serum anti-TNF- $\alpha$  concentration is associated with the deterioration of treatment outcomes. Therefore in patients with

loss of treatment response, determination of the level of anti-TNF- $\alpha$  may allow to optimize the treatment by identifying patients in whom the dose of anti-TNF- $\alpha$  drug should be increased, another anti-TNF- $\alpha$  drug should be used, or the biological treatment should be abandoned.

**Gastroenterologia Kliniczna 2014, tom 6, nr 3, 92–96**

**Key words: Crohn's disease, ulcerative colitis, biological treatment, serum anti-TNF- $\alpha$  level**

### Adres do korespondencji:

Dr n. med. Tomasz Rawa  
Klinika Gastroenterologii,  
Hepatologii i Onkologii  
Klinicznej CMKP  
Centrum Onkologii – Instytut  
im. M. Skłodowskiej-Curie  
ul. Roentgena 5, 02–781 Warszawa  
tel.: 22 546 23 28  
faks: 22 546 30 35  
e-mail: trawa@coi.waw.pl

### WSTĘP

W terapii nieswoistych chorób zapalnych jelit leki biologiczne stosowane są już od kilkunastu lat. Wykorzystuje się je w leczeniu choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, których przebieg

jest ciężki, oporny na glikokortykoidy i leki immunosupresyjne. Skuteczność leków biologicznych jest jednak ograniczona. Pierwotny brak odpowiedzi na leczenie dotyczy około 30% pacjentów, natomiast w trakcie terapii podtrzymującej, w ciągu roku około 13% chorych traci wrażliwość na działanie tych

leków [1]. Szacuje się, że ostatecznie u około 50% pacjentów dochodzi do wtórej utraty skuteczności [2–4].

Obecnie w razie pierwotnego braku odpowiedzi na leczenie anty-TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*) zaleca się zmianę nieskutecznego leku na inny (infliksimab na adalimumab lub odwrotnie). Innym akceptowanym sposobem postępowania jest wydłużenie okresu indukcji remisji (w przypadku adalimumabu) lub podwojenie ostatniej indukcyjnej dawki leku (w przypadku stosowania infliksimabu) [5]. Przy wtórnej utracie skuteczności doradza się zwiększenie dawki infliksimabu (podanie podwójnej dawki leku lub skrócenie odstępu pomiędzy kolejnymi dawkami), a w odniesieniu do adalimumabu skrócenie czasu pomiędzy kolejnymi jego dawkami z dwóch do jednego tygodnia. Kolejnym możliwym sposobem postępowania jest dodanie do leczenia leku immunosupresyjnego, jeśli wcześniej nie był stosowany [6] lub zamiana jednego leku na drugi [7, 8].

Przyczyna pierwotnego braku odpowiedzi na leki biologiczne jest nieznana. Być może wynika ona ze zbyt małej dawki, co sugerują badania nad adalimumabem pokazujące, że wyższa dawka leku zwiększa odsetek uzyskanych odpowiedzi [9]. Możliwe, że pierwotna nieskuteczność anty-TNF- $\alpha$  jest konsekwencją innego, niezależnego od TNF- $\alpha$  mechanizmu zapalenia, na co nie ma jednak jednoznacznych dowodów. Wyniki badań nad stężeniem leków biologicznych w czasie terapii indukcyjnej wykazały, że jest ono u wszystkich chorych odpowiednio wysokie i w okresie indukcji nie ulega zmianie [10]. Dlatego nie ma uzasadnienia dla oceny stężenia anty-TNF- $\alpha$  w przypadkach pierwotnego braku odpowiedzi, gdyż nie ma dowodów na istnienie związku między ich poziomem we krwi a skutecznością w indukcji remisji. Taki związek został natomiast bardzo dobrze udokumentowany w odniesieniu do terapii podtrzymującej. Badania nad infliksimabem w chorobie Leśniowskiego-Crohna jednoznacznie wskazują na zależność pomiędzy stężeniem leku we krwi a prawdopodobieństwem utrzymania remisji. Wykazano, że u pacjentów z wykrywalnym stężeniem infliksimabu szansa na utrzymanie klinicznej remisji wynosi 82%, podczas gdy tylko 6% chorych, u których stężenie tego leku jest nieoznaczalne, znajduje się w remisji. Podobne wyniki uzyskano także w odniesieniu do innych parametrów oceniających skuteczność leczenia, takich jak remisja endoskopowa czy poprawa laboratoryjnych

wykładników zapalenia [11]. Także badania we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego pokazują analogiczną zależność pomiędzy stężeniem leku i jego skutecznością. Utrzymanie terapeutycznego stężenia infliksimabu w surowicy pozwala na podtrzymanie klinicznej i endoskopowej remisji u około 75% chorych. Gdy stężenie leku jest niewykrywalne, szansa na utrzymanie remisji nie przekracza 28% [12]. Dodatkowo, udowodniono, że u chorych leczonych z powodu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego utrzymanie terapeutycznego stężenia infliksimabu zmniejsza ryzyko kolektomii do 7%, podczas gdy prawdopodobieństwo operacji u osób z nieoznaczalnym stężeniem leku sięga 55% [12].

Jest wiele prac potwierdzających zależność pomiędzy stężeniem leków biologicznych i ich skutecznością. Wynikają z nich następujące wnioski:

- pacjenci z niskim stężeniem infliksimabu mają wyższe wartości wskaźnika aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna (CDAI, *Crohn's disease activity index*) i wyższe stężenia białka c-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) [5, 13];
- im wyższe stężenie infliksimabu, tym większe prawdopodobieństwo remisji [6, 10, 14–17];
- im większe stężenie infliksimabu, tym większa szansa na wygojenie śluzówki [18, 19];
- im mniejsze stężenie infliksimabu, tym mniejsze prawdopodobieństwo zagojenia się przetok [20].

Badania nad związkiem pomiędzy stężeniem adalimumabu i jego skutecznością są mniej liczne niż prace nad infliksimabem, ale wykazują podobne zależności [21].

Przedstawione zależności między skutecznością leku i jego stężeniem są zrozumiałe i wydają się oczywiste. W czasie długotrwałej terapii na klirens i na stężenie leków biologicznych we krwi wpływa jednak wiele różnych czynników wewnętrznych i zewnętrznych [22, 23]. Należą do nich: masa ciała, płeć, wiek, aktywność zapalna choroby, jednoczesne stosowanie innych leków, zjawisko immunizacji i inne, które wymieniono w tabeli 1. Wydaje się, że główną przyczyną podatności leków biologicznych na wymienione czynniki jest to, że leki te są białkami o dużej masie cząsteczkowej. To sprawia, że nie są one wydalane przez nerki i nie są metabolizowane w wątrobie. Główna droga ich metabolizmu prawdopodobnie ma miejsce w komórkach

**Tabela 1.** Czynniki wpływające na klirens leków biologicznych [22, 23]

Czynnik	Wpływ na klirens i stężenie anty-TNF- $\alpha$
Obecność przeciwciał (immunizacja)	Wzrost klirensu, spadek stężenia
Leki immunosupresyjne (azatiopryna, 6-merkaptopuryna, metotreksat)	Zmniejszenie klirensu, wzrost stężenia
Niskie stężenie albumin	Wzrost klirensu
Wysokie stężenie CRP	Wzrost klirensu
Duża masa ciała	Wzrost klirensu
Płeć męska	Wzrost klirensu
Wiek > 40 lat	Zmniejszenie klirensu

CRP — białko c-reaktywne

**Tabela 2.** Wpływ przeciwciał przeciwko infliksimabowi na skuteczność i bezpieczeństwo terapii [26]

	Przeciwciała przeciwko infliksimabowi		Wartość p
	Obecne	Nieobecne	
Brak odpowiedzi po kolejnym wlewie	52%	14%	0,0005
Średni czas odpowiedzi	28 dni	61 dni	0,007
Powikłania po kolejnym wlewie	40%	5%	0,0001
Ciężkie reakcje po wlewie	28%	0%	0,0001

układu siateczkowo-śródbłonkowego, których aktywność zmienia się i zależy od wielu czynników, między innymi od aktywności zapalnej organizmu. Oczywistym czynnikiem wpływającym na właściwe stężenie leków we krwi jest właściwe dawkowanie. W odniesieniu do leków biologicznych wykazano, że od 15 do nawet 29% pacjentów ma nieprawidłowo dawkowane leki [24, 25].

Spośród wszystkich czynników, które wpływają na klirens leków biologicznych, największe znaczenie ma immunizacja. Zjawisko to nie jest problemem dotyczącym wyłącznie omawianej grupy leków. W większym lub mniejszym stopniu dotyczy ono każdego białka, także w pełni humanizowanego, które jest wprowadzane do organizmu. Wynikiem immunizacji jest powstawanie przeciwciał, które są skierowane przeciwko danemu białku (leкови), co powoduje jego neutralizację, przyspiesza eliminację z organizmu i ostatecznie doprowadza do utraty skuteczności danego leku.

Niekorzystny wpływ przeciwciał przeciwko infliksimabowi jest dobrze udokumentowany. Przeciwciała te obniżają skuteczność i bezpieczeństwo infliksimabu (tab. 2) [26]. Pojawienie się przeciwciał przeciwko infliksimabowi kilkakrotnie zwiększa ryzyko wystą-

pienia wtórnej utraty skuteczności w porównaniu z pacjentami, u których przeciwciał się nie stwierdza (odpowiednio 72% i 17%) [27]. Wykazano także niekorzystne działanie przeciwciał przeciwko adalimumabowi, których pojawienie się w trakcie terapii podtrzymującej prowadzi do postępującej redukcji stężenia tego leku w surowicy do wartości nieznaczalnych [21].

W świetle przedstawionych danych należy uznać, że opisany wcześniej sposób działania w razie wtórnej utraty skuteczności powinien ulec modyfikacji. Dotychczasowe postępowanie może bowiem prowadzić do niepotrzebnego zwiększenia dawki stosowanego leku, do przedwczesnej rezygnacji z prowadzonego leczenia, jak również nieuzasadnionej zamiany jednego leku na drugi, bądź zbędnego podtrzymywania terapii. Efektem takiego postępowania może być także zwiększenie ryzyka wystąpienia działań niepożądanych omawianej grupy leków.

Obecnie w celu optymalizacji leczenia (optymalizacja oznacza optymalną dawkę i czas terapii, stosowanie optymalnego leku, zachowanie optymalnego bezpieczeństwa, uzyskanie optymalnej skuteczności) u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna lub wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, u których

**Tabela 3.** Algorytm postępowania w razie wtórnej utraty skuteczności leczenia anti-TNF- $\alpha$  [22]

		Stężenie przeciwciał w surowicy	
		Niskie/brak	Wysokie
Stężenie leku w surowicy	Niskie	Zwiększenie dawki lub skrócenie odstępu między dawkami	Zmiana na inny anti-TNF- $\alpha$
	Wysokie	Zamiana na lek o innym mechanizmie działania	Brak badań

doszło do wtórnej utraty skuteczności leków biologicznych zanim zostaną podjęte jakiegokolwiek działania powinno być oznaczone stężenie leku i przeciwciał w surowicy. Istnieją dowody na skuteczność takiego postępowania. Wykazano, że u pacjentów, u których doszło do rozwoju wtórnej utraty skuteczności i u których wykryto przeciwciała, zwiększenie dawki stosowanego leku pozwala na uzyskanie remisji tylko u 17%. Natomiast zamiana w takiej sytuacji jednego leku na inny anti-TNF- $\alpha$  jest skuteczna aż u 92% chorych. I odwrotnie — w przypadku niskiego stężenia leku w surowicy, jego odstawienie i podanie innego anti-TNF- $\alpha$  pozwala na uzyskanie remisji u 33% chorych, podczas gdy zwiększenie dawki wcześniej stosowanego leku jest skuteczne aż u 86% pacjentów [28].

Mając na uwadze dane mówiące o zależności pomiędzy skutecznością i bezpieczeństwem stosowania leków biologicznych a ich stężeniem we krwi oraz niekorzystnym wpływie przeciwciał opracowano schemat optymalnego postępowania w razie wtórnej utraty skuteczności u chorych w trakcie terapii podtrzymującej. Opiera on się na pomiarze stężenia leku i przeciwciał w surowicy. W przypadku stwierdzenia niskiego stężenia leku i niskiego stężenia lub całkowitego braku przeciwciał zaleca się zwiększenie dawki dotychczas stosowanego leku. Gdy stężenie leku jest niskie, a przeciwciała obecne są w wysokim mianie, stosowany anti-TNF- $\alpha$  powinien być zamieniony na inny. Gdy stężenie leku jest wysokie, a przeciwciała nie występują, bądź są obecne w niskim mianie, anti-TNF- $\alpha$  należy odstawić. Zamiast leku z tej grupy powinny być podane leki o innym mechanizmie działania (np. vedolizumab), które znajdują się jeszcze w fazie badań klinicznych. Nie ma dobrze udokumentowanego sposobu postępowania w przypadku obecności odpowiedniego stężenia leku w surowicy, któremu towarzyszy wysokie miano przeciwciał. Obecnie w takiej sytuacji doradza się indywidualizację leczenia. Może ona polegać na dodaniu leku immunosupresyjnego, ewentualnie

dołączeniu do terapii glikokortykoidów, czy wreszcie zamianę stosowanego anti-TNF- $\alpha$  na inny lek biologiczny [22]. Uproszczony schemat postępowania u pacjentów z wtórną utratą odpowiedzi na leczenie zależy od stężenia leku i obecności przeciwciał w surowicy przedstawiono w tabeli 3.

Od kilku lat prowadzone jest niezwykle ważne badanie o nazwie *Trough Level Adapted Infliximab Treatment Trial* (TAXIT). Dotyczy ono pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, którzy są długotrwale leczeni infliksimabem. Celem badania jest stwierdzenie, czy przewlekłe monitorowanie stężenia leku i utrzymywanie jego terapeutycznego poziomu stanowi skuteczniejszą i bezpieczniejszą formę leczenia od dotychczas prowadzonego działania opartego tylko na obserwacji klinicznej. Badanie to nie zostało jeszcze zakończone. Wstępne, prezentowane na kongresach wyniki, są jednak ciekawe i pozwalają myśleć o modyfikacji dotychczasowego postępowania. Wykazano, że tylko u 43% pacjentów długotrwale i skutecznie leczonych infliksimabem stwierdza się terapeutyczne stężenie leku. U 26% pacjentów stężenie leku jest za wysokie, a u 22% jest ono wykrywalne, ale poniżej wartości terapeutycznych [29]. U chorych z nadmiernym stężeniem leku zmniejszono dawkę infliksimabu, co nie pogorszyło efektów leczenia. Natomiast u pacjentów z niskim stężeniem leku zwiększono jego dawkę, co poprawiło oceniane parametry kliniczne zapalenia (CDAI, skali Harvey-Bradshaw i skali Mayo) [30]. Opierając się na tych wynikach, można sądzić, że w celu optymalizacji długotrwałej terapii lekami biologicznymi pomiar ich stężenia w surowicy jest celowy także u chorych, którzy zachowują efekt terapeutyczny. Oznaczenie stężenia leków w tej grupie chorych może pozwolić w części przypadków na zmniejszenie dawki leku bez ograniczenia jego skuteczności, a w części przypadków, na poprawę efektów leczenia poprzez odpowiednie zwiększenie dawki.

1. Gisbert J.P., Panes J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: a review. *Am. J. Gastroenterol.* 2009; 104: 760–767.
2. Allez M., Karmiris K., Louis E., Report of the ECCO pathogenesis workshop on anti-TNF therapy failures in inflammatory bowel diseases: definitions, frequency and pharmacological aspects. *J. Crohn's Colitis* 2010; 4: 355–366.
3. Peyrin-Biroulet L., Deltenre P., de Suray N. i wsp. Efficacy and safety of tumor necrosis factor antagonists in Crohn's disease: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 644–653.
4. Yanai H., Hanauer S.B. Assessing response and loss of response to biological therapies in IBD. *Am. J. Gastroenterol.* 2011; 106: 685–698.
5. Fasanmade A., Olson A., Bag W. i wsp. Relationship between infliximab pharmacokinetics and improvement in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122 (supl. 4): A617–A618.
6. Colombel J.F., Sandborn W.J., Reinisch W. i wsp. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 1383–1395.
7. Sadowski D.C., Bernstein C.N., Bitton A. i wsp. Canadian Association of Gastroenterology Clinical Practice Guidelines: the use of tumor necrosis factor-alpha antagonist therapy in Crohn's disease. *Can. J. Gastroenterol.* 2009; 23: 185–202.
8. Sandborn W.J., Rutgeerts P., Enns R. i wsp. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with infliximab: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 2007; 146: 829–838.
9. Watanabe M., Hibi T., Lomax K.G. i wsp. Adalimumab for the induction and maintenance of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. *J. Crohns Colitis* 2012; 6: 160–173.
10. Ainsworth M.A., Bendtzen K., Brynskov J. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluid-phase radioimmunoassays as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103: 944–948.
11. Maser E.A., Vilella R., Silverberg M.S., Greenberg G.R. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; 4: 1248–1254.
12. Seow C.H., Newman A., Irwin S.P. i wsp. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 2010; 59: 49–54.
13. Van Assche G., Magdelaine-Beuzelin C., D'Haens G. i wsp. Withdrawal of immunosuppression in Crohn's disease treated with scheduled infliximab maintenance: a randomized trial. *Gastroenterology* 2008; 134: 1861–1868.
14. Feagan B.G., McDonald J.W., Panacione R. i wsp. Methotrexate for the prevention of antibodies to infliximab in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2010; 138 (supl. 1): S167-S168.
15. Reinisch W., Sandborn W.J., Rutgeerts P. i wsp. Long-term infliximab maintenance therapy for ulcerative colitis: the ACT-1 and -2 extension studies. *Inflamm. Bowel Dis.* 2012; 18: 201–211.
16. Radstake T.R., Svenson M., Eijsbouts A.M. i wsp. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2009; 68: 1739–1745.
17. Steenholdt C., Bendtzen K., Brynskov J. i wsp. Cut-off levels and diagnostic accuracy of infliximab trough levels and anti-infliximab antibodies in Crohn's disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2011; 46: 310–318.
18. Van Moerkercke W., Ackaert C., Compernelle G. i wsp. High infliximab trough levels are associated with mucosal healing in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2010; 138 (supl. 1): S60.
19. Roblin X., Marotte H., Rinaudo M. i wsp. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 12: 80–84.
20. Fasanmade A., Marsters P., Munsanje E. i wsp. Infliximab pharmacokinetics and improvement in fistulizing Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 124 (supl. 4): A61.
21. Karmiris K., Paintaud G., Noman M. i wsp. Influence of trough serum levels and immunogenicity on long-term outcome of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 1628–1640.
22. Colombel J.F., Feagan B.G., Sandborn W.J. i wsp. Therapeutic drug monitoring of biologics for inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2012; 18: 349–358.
23. Ordas L., Mould D.R., Feagan B.G. i wsp. Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2012; 91: 635–646.
24. Billioud V., Laharie D., Filippi J. i wsp. Adherence to adalimumab therapy in Crohn's disease: a French multicenter experience. *Inflamm. Bowel Dis.* 2011; 17: 152–159.
25. Lopez A., Billioud V., Peyrin-Biroulet C., Peyrin-Biroulet L. Adherence to anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Inflamm. Bowel Dis.* 2013; 19: 1528–1533.
26. Farrell R., Alsahli M., Jeon Y. i wsp. Intravenous hydrocortisone premedication reduces antibodies to infliximab in Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 917–924.
27. Nanda K.S., Cheifetz A.S., Moss A.C. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): a meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 2013; 108: 40–47.
28. Afif W., Loftus E.V., Faubion W.A. i wsp. Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2010; 105: 1133–1139.
29. Vande Casteele N., Compernelle G., Ballet V. i wsp. Individualised infliximab treatment using therapeutic drug monitoring: a prospective controlled Trough level Adapted infliximab Treatment (TAXIT) trial. *J. Crohns Colitis* 2012; 6 (supl. 1): S6.
30. Vande Casteele N., Gils A., Ballet V. i wsp. Randomised controlled trial of drug level versus clinically based dosing of infliximab maintenance therapy in IBD. Final results of the TAXIT study. *UEGW Journal* 2013; 1 (supl. 1): A1.