

**TESIS DOCTORAL FACULTAD DE
FARMACIA DE GRANADA**



**BIOMARCADORES GENÉTICOS Y CLÍNICOS DE
RESPUESTA A TOCILIZUMAB EN PACIENTES
CON ARTRITIS REUMATOIDE**

MARÍA DEL MAR MALDONADO MONTORO

GRANADA, ENERO 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autora: María del Mar Maldonado Montoro
ISBN: 978-84-9163-166-8
URI: <http://hdl.handle.net/10481/45856>

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

UNIDAD DE FARMACOGENÉTICA

COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

**BIOMARCADORES GENÉTICOS Y CLÍNICOS DE
RESPUESTA A TOCILIZUMAB EN PACIENTES
CON ARTRITIS REUMATOIDE**

Tesis presentada por María del Mar Maldonado Montoro para optar al grado de Doctora.

Directores:

Dra. María Luisa Cañadas Garre

Granada, Enero 2017

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos

En 2013 comencé un camino desconocido e intrigante sin saber que me depararía, y fue la mejor decisión que tomé porque me ha hecho crecer a nivel profesional y sobre todo en lo personal.

Quiero agradecer a Miguel Ángel Calleja Hernández por abrirme las puertas del hospital y apostar por mi entusiasmo en momentos difíciles para realizar una tesis.

Mi directora de tesis Marisa Cañadas Garre, gracias por todos tus conocimientos, por estar ahí cada día enseñándome, y ser “marisa.com” (jejeje). Quiero recordar con cariño las risas y regañinas con las que al final terminábamos diciendo: tenías razón.

Alfonso González Utrilla, quiero decirte que ha sido un honor estar a tu lado en la consulta, que aparte de ser un gran médico eres un gran docente, que has sido como un padre en el hospital, y tu apoyo ha sido crucial en este camino.

Quiero darle las gracias a Antonio Sánchez Pozo, mi tutor de tesis, por facilitarme cualquier trámite, y su dedicación e interés.

A mis farmacogenéticas (Desi, Helen, Adela, Cristina, Mabel), Lalo y Maribel deciros que echaré de menos esos desayunos de risas y horóscopo.

Se puede tener una hermana mayor en el trabajo, claro que sí, mi compañera y amiga Desi ¡siempre cuidándome! Te agradezco tu humildad, sinceridad, discreción...he aprendido mucho a tu lado.

Maribel llegaste a mi vida dándome un consejo en un mal día, sin conocerme de nada! Quiero agradecerte tu capacidad de ayudar a los demás todo el tiempo y ser una buena amiga.

Lalo, quiero agradecerte tu simpatía, compañerismo y buenos consejos.

A mi amiga Cristina quiero agradecer aquel consejo que me dio un día cualquiera haciendo deporte, el cual fue el primer paso para realizar esta tesis. Gracias por todo tu apoyo en los momentos difíciles.

Helen quiero agradecerte los buenos momentos que me has dado y largas e interesantes conversaciones de las que tanto he aprendido.

Inolvidable esa carrera a las 8 de la mañana para coger el ordenador, que risa Adela! Quiero decirte que fue un placer trabajar contigo, lo bien que nos organizamos, y las risas entre placa y placa hizo de nuestra parte experimental de la tesis que fuera un lujo ir a trabajar.

Un día llegó al laboratorio un angelito llamado Viviana que nos regaló 6 meses maravillosos de risas y momentos muy especiales. Aunque nos separa un océano nuestra amistad es para siempre. Gracias por todo tu apoyo.

A mis amigos Juanen y Misael agradeceremos vuestro cariño, apoyo y lo mejor de todo esas risas que hacen que quieras ir a trabajar cada día.

A mis compañeras de almacén Tere y Carmen Cobo por su cariño y simpatía.

Esas mañanas concentradas en el ordenador, cuando de pronto suena una canción y... una mirada de mi amiga Luisa...y a continuación, ¡Conchiii sube el volumen! Y echarnos un baile y risas. Gracias por todos los momentos tan divertidos Luisa, que serán muchos más.

Conchi quiero agradecerte tu tesón y paciencia con todo el mundo, eres una gran compañera.

Agradecer a Mercedes por estar siempre con una sonrisa, y a los residentes por esas meriendas agradables en tardes insufribles y momentos divertidos de convivencia en cursos, congresos...

Agradecerle a Ana Moreno su ayuda para toda la burocracia de la tesis.

Dar las gracias a Pedro Gil y Vicente Orzaez por creer en mi proyecto.

Siempre es un placer conocer gente nueva, pero si encima te hacen pasar tan buenos e inolvidables momentos, que más se puede pedir. Los culpables son: Carlitos, Bra, Peli, Isabelita, Méndez...

Quiero agradecer a mis amigas de tantos años (Vicky, Mati, Lucía, y Gemma) por estar siempre ahí apoyándome y preocupándose por mí.

A mis padres decirles que gracias a sus consejos, dedicación y cariño infinito he llegado a poder escribir estas líneas. A mis hermanos y sobrinos decirlos que os quiero y siempre habéis sido un referente en mi camino.

Finalmente dedico esta tesis a Alberto por ser desde el principio el compañero leal, honesto, sincero, inteligente y risas aseguradas que todo el mundo desea cuando comienza un nuevo proyecto. Luego te convertiste en un gran amigo y en la recta final el amor de mi vida. Quiero agradecerte tu dedicación, cariño, amor incondicional, y sacar lo mejor de mi cada día. Sólo decirte que siempre estaré a tu lado.

Publicaciones

- **Maldonado-Montoro M**, Cañadas-Garre M, González-Utrilla A, Plaza-Plaza JC, Calleja-Hernández MÁ. Genetic and clinical biomarkers of Tocilizumab response in patients with rheumatoid arthritis. **Pharmacol Res.** **2016 Sep; 111:264-71.** doi: 10.1016/j.phrs.2016.06.016. Epub 2016 Jun 20.
- **Maldonado-Montoro M**, Cañadas-Garre M, González-Utrilla A, Calleja-Hernández MÁ. Influence of IL6R gene polymorphisms in the effectiveness to treatment with Tocilizumab in Rheumatoid Arthritis. **Pharmacogenomics J.** **2016 Noviembre.** Aceptado.

Comunicaciones

➤ Abstract-meetings

- MM Maldonado-Montoro, M Cañadas-Garre, MA Calleja-Hernández. Gene polymorphisms associated to clinical and biological response to Infliximab in Crohn Disease. 7th Santorini Conference 2014. Systems biology and applications to personalized health and therapy. Santorini, Greece, 25-27th September 2014. Oral Communication. Drug Metabolism and Drug Interaction 2014. Comunicación Oral.

➤ Comunicaciones a Congresos

- MM Maldonado Montoro, M Cañadas-Garre, MA Calleja-Hernández. Clinical efficacy of Ustekinumab in moderate-severe autoimmune inflammatory diseases. 48th ASHP Midyear Meeting & Exhibition. Orlando, Florida, USA. December, 2013.

➤ Capítulos de libro

- María del Mar Maldonado Montoro, Rocío López Sepúlveda, Mónica Ferrit Martín, Miguel Ángel Calleja Hernández. TERAPIAS BIOLÓGICAS EN ARTRITIS REUMATOIDE. En: Carolina Alarcón-Payer; Miguel Ángel Calleja Hernández; H.U VIRGEN DE LAS NIEVES. UGC Intercentros e Interniveles de Farmacia. Granada, Edts. NUEVOS AVANCES EN FARMACIA HOSPITALARIA, Ed 1. Granada: Entorno Gráfico S.L., 2014. Págs 119-126.

- Mónica Ferrit Martín, María del Mar Maldonado Montoro, Rocío López Sepúlveda Miguel Ángel Calleja Hernández. IDENTIFICACIÓN Y MANEJO DE LAS INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS EN EL PACIENTE VIH. En: Carolina Alarcón-Payer; Miguel Ángel Calleja Hernández; H.U VIRGEN DE LAS NIEVES. UGC Intercentros e Interniveles de Farmacia. Granada, Edts. NUEVOS AVANCES EN FARMACIA HOSPITALARIA, Ed 1. Granada: Entorno Gráfico S.L., 2014. Págs 149-154. ISBN: 978-84-941061.

- Rocío López Sepúlveda, Mónica Ferrit Martín, María del Mar Maldonado Montoro, Nuria Martínez Casanova. MANEJO DEL PACIENTE INGRESADO. En: Carolina Alarcón-Payer; Miguel Ángel Calleja Hernández; H.U VIRGEN DE LAS NIEVES. UGC Intercentros e Interniveles de Farmacia. Granada, Edts. , Ed 1. Granada: Entorno Gráfico S.L., 2014. Págs 65-72. ISBN: 978-84-941061.

ÍNDICE

ÍNDICE

1	RESUMEN	23
2	INTRODUCCIÓN	27
2.1	EPIDEMIOLOGÍA	27
2.2	FISIOPATOLOGÍA	27
2.3	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	28
2.4	PARÁMETROS DE EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD	29
2.4.1	PARÁMETROS QUE MIDEN EL GRADO DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA	29
2.4.2	CLASIFICACIÓN DEL GRADO DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA	30
2.4.3	EVALUACIÓN DE LA DISCAPACIDAD	31
2.4.4	EVALUACIÓN DEL DAÑO ESTRUCTURAL	31
2.5	FARMACOLOGÍA DE LA ARTRITIS REUMATOIDE	32
2.5.1	TERAPIAS DE INICIO	33
2.5.2	FAME BIOLÓGICOS	36
2.6	VARIABILIDAD GENÉTICA EN LA RESPUESTA	42
3	JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS	47
4	OBJETIVOS	51
4.1	OBJETIVO PRINCIPAL	51
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
5	METODOLOGÍA	53
5.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	55
5.2	POBLACIÓN DE ESTUDIO	55
5.3	ÁMBITO GEOGRÁFICO-TEMPORAL DEL ESTUDIO	55
5.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	55
5.5	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	55
5.6	VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS	55
5.7	VARIABLES GENÉTICAS	56
5.7.1	AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE ADN	56
5.7.2	DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS	56
5.8	VARIABLES RESPUESTA	58
5.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
6	RESULTADOS	63

6.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES.	63
6.2	EFFECTIVIDAD CLÍNICA DE TOCILIZUMAB	65
6.3	CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LOS PACIENTES	65
6.4	PREDICTORES DE RESPUESTA	67
6.4.1	PREDICTORES DE RESPUESTA A LOS 6 MESES	67
6.4.2	PREDICTORES DE RESPUESTA A LOS 18 MESES	68
7	DISCUSIÓN	91
8	CONCLUSIONES	97
9	REFERENCIAS	101
10	ANEXOS	112
10.1	Hoja de Información al Paciente (ANEXO 1)	112
10.2	Consentimiento Informado (ANEXO 2)	112
10.3	Cuestionario HAQ (ANEXO 3)	112
10.4	Certificado comité de ética (ANEXO 4)	112

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Actividad de la enfermedad según DAS28 y SDAI.

Tabla 2. Respuesta EULAR al tratamiento según DAS28.

Tabla R1. Características clínicas y demográficas de los pacientes del estudio.

Tabla R2. Respuesta al tratamiento con TCZ a los 6 y 18 meses.

Tabla R3 Predictores de respuesta a los 6 y 18 meses de tratamiento con TCZ en pacientes con Artritis Reumatoide (análisis multivariante).

Tabla R4. Distribución de frecuencias de polimorfismos genéticos y equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla R5. Asociación bivariante entre variables clínicas y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses.

Tabla R6. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses.

Tabla R7. Asociación bivariante entre variables clínicas y remisión a los 6 y 18 meses.

Tabla R8. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y remisión a los 6 y 18 meses.

Tabla R9. Asociación bivariante entre variables clínicas y LDA a los 6 y 18 meses.

Tabla R10. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y LDA a los 6 y 18 meses.

Tabla R11. Asociación bivariante entre variables clínicas y mejora del DAS28 a los 6 y 18 meses.

Tabla R12. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y mejora en el DAS28 a los 6 y 18 meses.

FIGURAS

Figura 1: Algoritmo terapéutico de la AR.

ABREVIATURAS

ACR: American College of Rheumatology

ADCC: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

AINE: Antiinflamatorios no esteroideos

AR: Artritis Reumatoide

Anti-CCP: anticuerpos antipéptidos cíclicos citrulinados

CDAI: Clinical Disease Activity Index

CDC: citotoxicidad dependiente del complemento

células NK: células natural killer

CHUG: Complejo Hospitalario Universitario de Granada

CTLA-4: Dominio extracelular del antígeno 4

DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism

EULAR: European League Against Rheumatism

EVA: escala analógica visual

FAMES: Fármacos modificadores de la enfermedad

Fc: fragmento cristalizante

FR: Factor Reumatoideo

GC: glucocorticoides

GM-SCF: Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Monocitos

GWAS: estudio de asociación de genoma completo

HAQ: Health Assessment Questionnaire

IgG: Inmunoglobulina G

IL: Interleuquina

LDA: Baja actividad de la enfermedad

LFN: Leflunomida

MTX: Metotrexato

NAT: Número de articulaciones tumefactas

NAD: Número de articulaciones dolorosas

PCR: Proteína C reactiva

SDAI: Simplified Disease Activity Index

SSZ: Sulfasalazina

TCZ: Tocilizumab

TB: Terapia biológica

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral

TNFR: receptor de TNF

VSG: Velocidad de sedimentación globular

RESUMEN

1 RESUMEN

La variabilidad interindividual en la respuesta a Terapias Biológicas (TB) en pacientes diagnosticados de Artritis Reumatoide (AR) es causada por factores clínicos, genéticos y medioambientales. Tocilizumab (TCZ) un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido a los receptores de membrana y solubles de la Interleuquina 6 (IL6R), actúa bloqueando la actividad de dicha interleuquina. TCZ tiene buenos resultados en la evolución favorable de la enfermedad. Su eficacia y efectividad queda reflejada en diferentes ensayos y posteriores estudios clínicos obteniendo un porcentaje de respuesta EULAR y de remisión del 80% y 35-55% respectivamente. Estudios recientes han demostrado que TCZ tiene mejores resultados en efectividad (remisión y respuesta EULAR) que los inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNFi). Algunos estudios han sugerido que la administración del fármaco en estados tempranos de la enfermedad, menor edad, en pacientes que sean naïve para TB, niveles basales elevados de reactantes de fase aguda como la PCR y VSG y valores incrementados del DAS28 al inicio del tratamiento, mejoran las tasas de respuesta EULAR, remisión DAS28, y baja actividad de la enfermedad (LDA). La influencia de la genética en respuesta a TCZ apenas se ha investigado. Hasta la fecha, hay un GWAS y un estudio clínico que han identificado polimorfismos genéticos implicados en la respuesta a TCZ.

El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de factores clínicos y genéticos (CD69 (rs11052877), GALNT18 (rs4910008), CLEC2D (rs1560011), KCNMB1 (rs703505), ENOX1 (rs9594987), rs10108210, y rs703297)) en la respuesta (EULAR, remisión, LDA y mejora del DAS28) al tratamiento con Tocilizumab (TCZ) en pacientes diagnosticados de AR.

Se realizó un estudio de cohortes retrospectivo y prospectivo en 78 pacientes con AR tratados con TCZ, mediante un seguimiento a los 6 y 18 meses de terapia en el Complejo Hospitalario Universitario de Granada (CHUG).

Las variables independientemente asociadas a respuesta EULAR a los 6 meses de tratamiento fueron el genotipo CC para rs4910008-GALNT18 (OR_{CC/T-}: 12.8; CI_{95%}: 1.5, 108.7; p= 0.02), el genotipo AA para rs11052877-CD69 (OR_{AA/GG}: 17.2; CI_{95%}: 2.5, 119.6; p= 0.004) y un menor número de TB previas (OR: 0.45; CI_{95%}: 0.3, 0.7; p= 0.001).

Los factores independientemente asociados a mayor remisión a los 6 meses de tratamiento fueron un menor número de TB previas (OR: 0.56; CI_{95%}: 0.38, 0.82; p=0.003), y el genotipo CC de rs4910008-GALNT18 (OR_{CT/CC}: 0.09; CI_{95%}: 0.02, 0.45; p= 0.004; OR_{TT/CC}: 0.14; CI_{95%}: 0.02, 0.79; p= 0.026).

El alelo A de CD69 ($OR_{A/GG}$: 6.68; $CI_{95\%}$: 1.68, 26.51; $p= 0.007$) y un número más bajo de TB previas (OR : 0.50; $CI_{95\%}$: 0.32, 0.77; $p= 0.002$) fueron factores independientes capaces de predecir mayores tasas de LDA a los 6 meses.

Los factores independientes asociados a un mayor descenso en el DAS28 a los 6 meses fueron el genotipo AA de CD69 ($B= -0,56$; $CI_{95\%}$: -1.09,-0.03; $p= 0.039$), el genotipo CC de GALNT18 ($B= -0.88$; $CI_{95\%}$: -1.49,-0.27; $p= 0.005$), la administración subcutánea ($B= 1.03$; $CI_{95\%}$: 0.44,1.62; $p= 0.001$) y un elevado DAS28 al inicio del tratamiento ($B= 0.82$; $CI_{95\%}$: 0.59,1.05; $p= 4.9 \cdot 10^{-10}$).

Un menor número de TB previas fue el único predictor independiente de respuesta EULAR satisfactoria (OR : 0.60; $CI_{95\%}$: 0.34, 0.88; $p= 0.010$) y mayor remisión (OR : 0.65; $CI_{95\%}$: 0.46, 0.93; $p= 0.018$) a los 18 meses.

El alelo C para GALNT18 ($OR_{C/TT}$: 4.60; $CI_{95\%}$: 1.16, 18.27; $p= 0.03$) y un menor número de TB previas (OR : 0.47; $CI_{95\%}$: 0.29, 0.74; $p=0.001$) fueron factores independientes capaces de predecir mayores tasas de LDA a los 18 meses.

A los 18 meses de tratamiento, en el análisis bivariante, sólo se encontró asociación entre un mayor descenso del DAS28 y los pacientes que fueron naïve para TB (2.8 ± 1.6 ; $p=0.041$) o fueron tratados de forma previa con menor número de TB (Rho Spearman -0.347; $p=0.002$). Al realizar el análisis multivariante no se encontró ninguna correlación entre las variables clínicas ni genéticas con la mejora del DAS28.

En conclusión, los pacientes de nuestro estudio diagnosticados de AR y tratados con TCZ mostraron mejores tasas de respuesta EULAR, remisión, LDA y mejora del DAS28, a los 6 meses, cuando eran portadores del alelo C para GALNT18 o el alelo A para CD69, y habían recibido previamente un menor número de TB. A los 18 meses de tratamiento se ha obtenido como factor independiente para predecir mayor respuesta LDA el alelo C del gen GALNT18 y un menor número de TB previas. La administración disminuida de TB de forma previa es la única variable independiente asociada en la respuesta EULAR y remisión de la enfermedad a los 18 meses de tratamiento con TCZ.

INTRODUCCIÓN

2 INTRODUCCIÓN

2.1 EPIDEMIOLOGÍA

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria autoinmune crónica, que fundamentalmente afecta a las pequeñas articulaciones diartrodiales de pies y manos, aunque pueden verse afectadas todas. Tiene una prevalencia global de 0.24% (CI_{95%}: 0.23-0.25%), que ha cambiado poco desde 1990 a 2010 ¹. La prevalencia estimada en España es de 0.5% (CI_{95%}: 0.25-0.85%) ².

2.2 FISIOPATOLOGÍA

La AR se caracteriza por la inflamación de la membrana sinovial que recubre las articulaciones, presentando hiperplasia, incremento en la vascularización (angiogénesis), y un infiltrado de células inflamatorias. Todo ello lleva a la formación de un tejido de granulación denominado pannus, que invade primero el cartílago y posteriormente la superficie ósea, resultando en resorción ósea ³. El desencadenante del proceso autoinmune puede ser una proteína viral o un antígeno endógeno, de los cuales se han identificado actualmente: proteínas citrulinadas, glicoproteína del cartílago humano 39 (YKL-40) y proteínas de unión de cadena pesada, que podrían estar relacionados con el desarrollo de AR ⁴. Los linfocitos T CD4+, que son activados por estos antígenos, tendrían la capacidad de estimular a los monocitos, macrófagos y fibroblastos sinoviales (inmunidad innata) para producir diversas citoquinas, como el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), la Interleuquina 1 (IL-1) y 6 (IL-6), que serían las principales citoquinas responsables de la inflamación ⁵. El TNF- α ejerce su efecto interaccionando con sus dos receptores de superficie celular; receptor de TNF tipo 1 (TNFR1 ó p55), y el tipo 2 (TNFR2 ó p75), que se encuentran en las células inmunitarias, inflamatorias y endoteliales. Ambos receptores se encuentran en sus formas de membrana y solubles en suero y líquido sinovial, regulando la actividad biológica del TNF ⁵. El TNF- α es un estimulador autocrino y potente inductor paracrino de otras citoquinas inflamatorias, como IL-1, IL-6, IL-8, y el Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Monocitos (GM-SCF). Está implicado en diversas vías desencadenantes del proceso inflamatorio como: la expresión de moléculas de adhesión por parte de los fibroblastos e interactuando con su respectivo ligando en la superficie de leucocitos, estimulación de la migración de células inflamatorias hacia la articulación y resorción ósea, y actuando como un potente inductor de la formación de osteoclastos e inhibidor de la diferenciación y función de los osteoblastos ⁵.

Entre pannus y cartílago hay macrófagos y fibroblastos sinoviales activados por estas citoquinas produciendo enzimas proteolíticas, como metaloproteinasas de la matriz y catepsinas, implicadas en la invasión del tejido y angiogénesis. Por otro lado los linfocitos T CD4+ activados, estimularían los linfocitos B (inmunidad adaptativa) por contacto con células de superficie y unión a integrinas, dando como resultado la producción de inmunoglobulinas, entre ellas el Factor Reumatoide (FR) y anticuerpos antipéptidos cíclicos citrulinados (Anti-CCP), que podrían estar involucrados en la activación del sistema del complemento a través de la formación de complejos inmunes ⁴. Todos estos mecanismos se traducen con el tiempo en daño articular, dolor y discapacidad, ya que se produce una progresiva erosión ósea y un daño permanente en el cartílago y el hueso.

2.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La AR es una poliartritis periférica que afecta fundamentalmente a las articulaciones de pequeño tamaño, como las interfalángicas proximales metacarpianas y metatarsianas. También se encuentra presente en muñecas, codos, hombros, rodillas, caderas y tobillos.

Las manifestaciones más frecuentes con una incidencia aproximada del 30% son:

- La formación de nódulos reumatoideos asintomáticos desarrollándose en su mayoría en la superficie de codos, antebrazo y manos, pudiendo también aparecer en pulmón, revestimiento pleural, y raramente en meninges ⁶.
- Las manifestaciones cardiovasculares están asociadas a un incremento de la mortalidad. Se pueden ver afectadas todas las estructuras cardíacas como: válvulas, sistemas de conducción, el miocardio, el endocardio, el pericardio (pericarditis; afectación cardíaca más frecuente) y las arterias coronarias. Todo ello da lugar a una gran variedad de manifestaciones clínicas ⁶⁻⁸.
- Otras manifestaciones de menor incidencia (6-10%) están asociadas a un desarrollo temprano y peor diagnóstico de la enfermedad como: vasculitis, manifestaciones oculares (síndrome de Sjögren o queratoconjuntivitis), pulmonares (enfermedad pleural, fibrosis intersticial, bronquiolitis, y arteritis con hipertensión pulmonar) y renales (glomerulonefritis) ^{6,8}.
- Complicaciones asociadas a la AR que llevan también al paciente a una mayor comorbilidad son la osteoporosis, la anemia, las infecciones y el desarrollo de cáncer como el linfoma Non-Hodgkin ⁶.

2.4 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD

El diagnóstico de la AR para llevarlo a término tiene de referencia los criterios de clasificación definidos por el American College of Rheumatology (ACR) y el European League Against Rheumatism (EULAR) de 2010⁹. Los criterios de clasificación para la AR están basados en un algoritmo de puntuación basado en 4 categorías A-D; de las que se necesita una puntuación ≥ 6 para que un paciente tenga AR definida⁹.

Tanto la evaluación inicial como las de seguimiento de la AR deberán apoyarse en la valoración sistemática de un conjunto de parámetros que permitan evaluar el grado de actividad inflamatoria, de discapacidad funcional y de daño estructural residual. Se recomienda utilizar formularios específicos que facilitan la recogida sistemática de datos.

2.4.1 PARÁMETROS QUE MIDEN EL GRADO DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA

- Número de articulaciones dolorosas (NAD) y tumefactas (NAT). Se recomienda hacer un mínimo recuento de 28 articulaciones.
- Evaluación del dolor de forma independiente por el médico y el enfermo. Se recomienda utilizar una escala analógica visual (EVA) horizontal dividida en 10 segmentos iguales. Las mediciones se acompañarán con descriptores numéricos del 0 al 10, y en los extremos se indicará ningún dolor (0) y máximo dolor (10).
- Reactantes de fase aguda; Proteína C reactiva (PCR) y Velocidad de sedimentación globular (VSG). Tienen una estrecha relación con la actividad inflamatoria de la enfermedad encontrándose elevados, especialmente la PCR, de forma mantenida en el peor pronóstico de la enfermedad. La VSG tiene la ventaja de ser más económica y estar disponible en cualquier laboratorio, y el inconveniente su escasa especificidad, pues sus valores se modifican por factores independientes de la inflamación articular.
- Índices de actividad compuestos:
 - DAS (Disease Activity Score) basado en el NAD28 y NAT28, la velocidad de sedimentación globular (VSG) y valoración global del paciente, recomendado por la EULAR, con una escala de 0-9.4.

$$DAS28 = 0,56(\sqrt{NAD28}) + 0,28(\sqrt{NAT28}) + 0,70(\ln VSG) + 0,014 (EGP)$$

- SDAI (Simplified Disease Activity Index) se calcula mediante una simple suma aritmética del NAD y NAT, con índices reducidos de 28 articulaciones, valoración de la actividad por el

paciente y el médico (medidos de 0 a 10) y la concentración de PCR en mg/dl, con una escala de 0-86. Existen modificaciones del SDAI, en particular una en el que se incluye la VSG, el Clinical Disease Activity Index (CDAI), con una escala de 0-76.

$$\text{SDAI} = \text{NAD28} + \text{NAT28} + \text{EGP} + \text{EGM} + \text{PCR (mg/dl)}$$

- Parámetros bioquímicos orientativos de la actividad de la enfermedad:
 - FR; 1/80 ó ≥ 60 UI por nefelometría, se asocia al desarrollo de erosiones. Las manifestaciones extra-articulares se asocian a seropositividad del FR.
 - Anti-CCP; su presencia se considera factor predictivo de persistencia de la artritis y de aparición de erosiones.

2.4.2 CLASIFICACIÓN DEL GRADO DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA

Los criterios de respuesta EULAR tienen en cuenta tanto el grado de mejoría como la situación actual del paciente y han mostrado una validez comparable a los criterios de respuesta del ACR en los ensayos clínicos de pacientes con AR. Utilizan la escala de actividad de la enfermedad según el DAS28, que combina diferente información clínica en un único índice con el que puede clasificarse a los pacientes en diferentes categorías.

Tabla 1. Actividad de la enfermedad según DAS28 y SDAI¹⁰

	CATEGORIA	DEFINICIÓN
DAS28	Remisión	< 2.4
	Baja Actividad	< 3.6
	Actividad Moderada	3.6 < das28 < 5.5
	Actividad Alta	≥ 5.5
SDAI	Remisión	< 3.3
	Baja Actividad	< 11
	Actividad Moderada	11 < SDAI < 26
	Actividad Alta	≥ 26

Tabla 2. Respuesta EULAR al tratamiento según DAS28 ¹⁰

DAS28 actual	DISMINUCIÓN EN EL DAS28		
	> 1.2	1.2 – 0.6	< 0.6
< 3.2	SATISFACTORIA	INSATISFACTORIA	
3.2 – 5.1			
> 5.1			

2.4.3 EVALUACIÓN DE LA DISCAPACIDAD

Evaluación de la capacidad funcional. Se recomienda evaluar la función física autopercebida mediante cuestionarios validados. El HAQ (Health Assessment Questionnaire) de 20 ítems (se puntúa en una escala de 0 a 3 graduada en pasos de 0,125) parece el más adecuado para su utilización en clínica. Actualmente, se considera que un cambio de dos pasos en la escala del HAQ, es decir, una variación de 0,25 puntos, equivaldría a un cambio real o clínicamente significativo ¹⁰.

2.4.4 EVALUACIÓN DEL DAÑO ESTRUCTURAL

- Índices radiológicos; se recomienda realizar radiografías de manos, pies y tórax en la evaluación inicial; las de manos y pies se repetirán con una periodicidad anual durante los tres primeros años de evolución de la enfermedad y posteriormente cada vez que el reumatólogo estime oportuno.
- Ecografía; la ecografía permite evaluar sinovitis y detectar erosiones de forma temprana, por lo que es una técnica recomendable en el diagnóstico y seguimiento.
- La resonancia magnética y la radiografía convencional se utilizan para la detección de cambios articulares inflamatorios y destructivos en la AR temprana¹⁰.

2.5 FARMACOLOGÍA DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

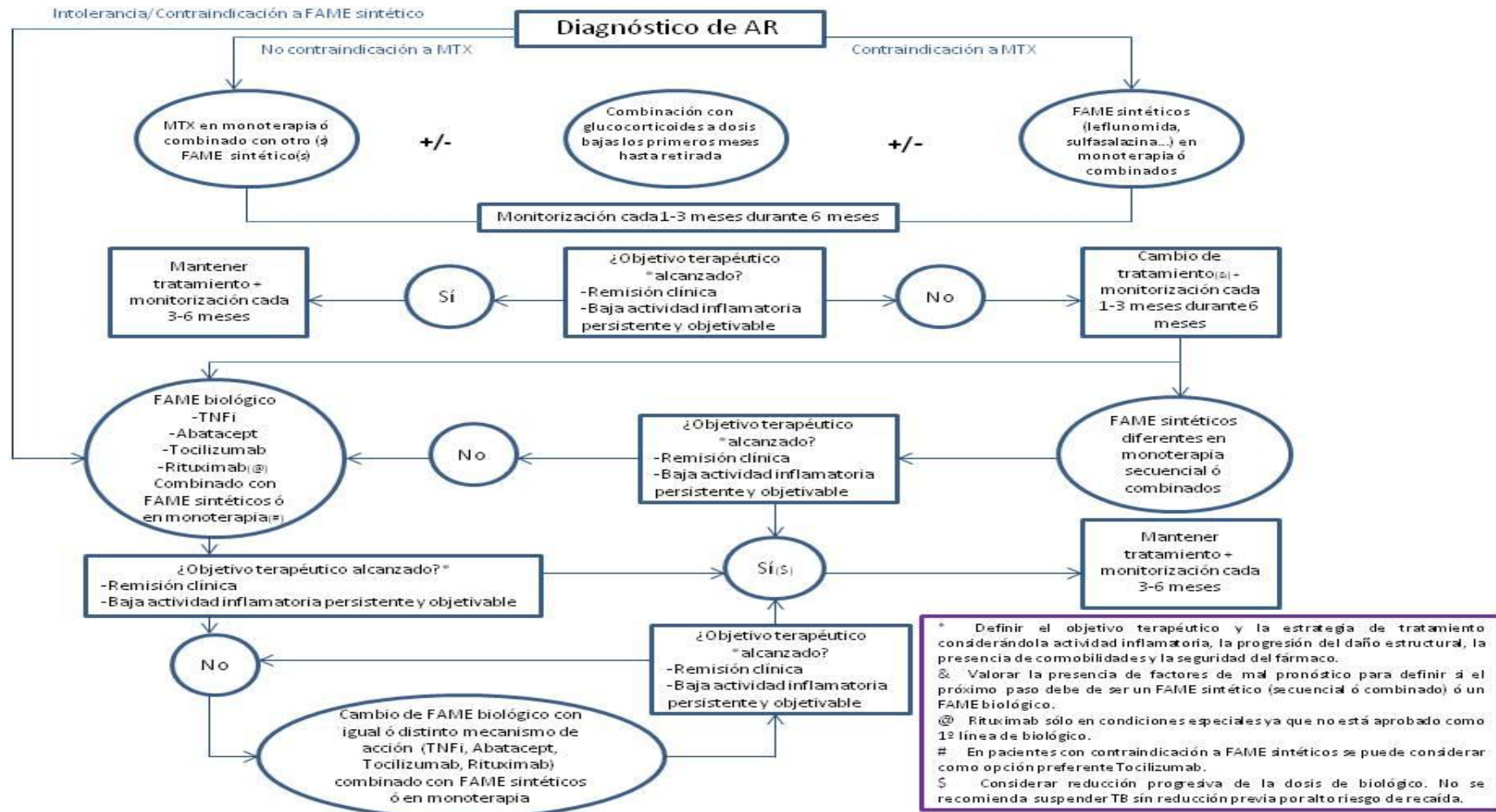


Figura 1: Algoritmo terapéutico de la AR. Reumatol Clin 2015; 11: 279-94 - Vol. 11

2.5.1 TERAPIAS DE INICIO

En el año 2010 se publicó la última actualización del documento de consenso de la Sociedad Española de Reumatología (SER) sobre el manejo de las terapias en la AR. En estos últimos años se ha generado gran cantidad de evidencia científica sobre la efectividad de diversas estrategias terapéuticas, se han desarrollado nuevos conceptos como el de optimización de las terapias biológicas, y nuevos fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME). Por este motivo se elaboró esta última actualización, con el objeto de adecuar el documento de consenso a estos nuevos avances y conocimientos de la enfermedad. La actualización consta de 13 recomendaciones (esquemáticas en la Figura 1) ¹⁰:

- Se recomienda el inicio de tratamiento con FAME sintéticos en cuanto se realice el diagnóstico de AR.
- Se recomienda, como objetivo terapéutico, obtener un estado de remisión clínica o, en su defecto, un grado de baja actividad inflamatoria de forma persistente, evaluado por índices objetivos y validados.
- Se recomienda la monitorización frecuente de la actividad de la enfermedad en pacientes con AR. Dicha frecuencia será:
 - o Cada 1-3 meses si la enfermedad está activa, se ha iniciado un nuevo tratamiento o no se ha alcanzado el objetivo terapéutico.
 - o Cada 3-6 meses una vez alcanzado el objetivo terapéutico.
- Se recomienda incluir Metotrexato (MTX) en la estrategia terapéutica inicial de los pacientes con AR.
- En los casos en que exista una contraindicación al MTX, se recomienda iniciar el tratamiento con otros FAME sintéticos, de los cuales el más utilizado en nuestro país es la Leflunomida (LFN) ¹¹. La Sulfasalazina (SSZ) ¹² es también una alternativa terapéutica eficaz.
- En los pacientes con AR que no los hayan tomado previamente, se recomienda el uso de FAME sintéticos, ya sea en monoterapia o en terapia combinada. Esta recomendación es independiente del uso concomitante de glucocorticoides (GC).
- Se recomienda el uso de bajas dosis de glucocorticoides en el tratamiento inicial de la AR (en combinación con uno o más FAME sintéticos) durante los primeros meses y reducir la dosis progresivamente con el objetivo de su retirada definitiva.

- Cuando el objetivo terapéutico no se ha alcanzado con la primera estrategia de uso de FAME sintético se pueden utilizar otros FAME sintéticos en terapia secuencial o combinada, o añadir un biológico en función de las características del paciente y de la presencia de factores de mal pronóstico.
- En pacientes con AR activa en los que se considere indicado comenzar terapia con un FAME biológico se pueden utilizar, en combinación con MTX/otros FAME sintéticos, fármacos TNFi, Abatacept, TCZ o en determinadas circunstancias, Rituximab.
- En pacientes con intolerancia o contraindicación a FAME sintéticos se puede utilizar tratamiento biológico en monoterapia. En este caso se puede considerar como opción preferente TCZ.
- Se recomienda que, después del fracaso a un primer FAME biológico, el paciente sea tratado con otro FAME biológico. Si el primero ha sido un TNFi, el paciente puede recibir otro TNFi u otro FAME biológico con un mecanismo de acción diferente.
- En pacientes con AR establecida en remisión o baja actividad persistente se puede considerar reducir progresivamente las dosis de biológico, sobre todo si están tratados en combinación con FAME sintéticos. No se recomienda la suspensión del tratamiento biológico sin reducción previa por el alto riesgo de recaída¹³⁻¹⁵.
- A la hora de definir el objetivo terapéutico y la estrategia de tratamiento, incluidos los ajustes de dosis, además de los parámetros de actividad de la enfermedad y de la progresión del daño estructural, se deben tener en cuenta la presencia de comorbilidades y la seguridad del fármaco.

2.5.1.1 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Se recomienda la utilización de AINEs cuando se introduce un nuevo FAME. Se administrarán AINEs durante 2-12 semanas en función del tiempo necesario para que el FAME alcance niveles terapéuticos eficaces. En ocasiones, puede prolongarse el tiempo de utilización conjunta hasta ajustar la dosis de FAME. No existe evidencia de superioridad de unos AINEs sobre otros, por lo que se recomienda utilizar el que mejor se adapte a las características del paciente teniendo en cuenta la toxicidad gastrointestinal, cardiovascular, renal y hepática que pueden producir tras un tratamiento prolongado¹⁰. En determinadas circunstancias clínicas, algunos AINE pueden tener un perfil de seguridad más ventajoso, como puede ser el caso del Sulindaco en la insuficiencia renal, el Diflunisal o la Nabumetona en las hepatopatías crónicas o el Diclofenaco en pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales. Los inhibidores selectivos de la isoenzima COX-2 de la ciclooxigenasa, o Coxibs no han demostrado tener un

perfil de seguridad significativamente mejor que otros AINEs, salvo que son gastroprotectores¹⁶.

2.5.1.2 CORTICOIDES

Los GC son hormonas esteroidales con capacidad de unirse al receptor del cortisol, presentando propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras, interfiriendo en la presentación de antígenos a las células T, inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y la producción de radicales superóxidos de neutrófilos y monocitos¹⁷. Las presentaciones más utilizadas son prednisona, prednisolona, metilprednisolona y deflazacort¹⁸.

En la AR de reciente comienzo se recomienda la utilización de GC por vía oral a dosis única diaria a primera hora de la mañana, siempre en combinación con un FAME. Se recomienda utilizar dosis no superiores a 10 mg/día de prednisona durante el menor tiempo posible, debido a los efectos adversos que ocasionan, como un incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular, alteraciones del ánimo, y desarrollo de osteoporosis (aconsejable el uso concomitante de vitamina D y calcio en situaciones en las que el tratamiento sea superior a 3 meses). La dosis se reducirá de forma progresiva (pasando las dosis fraccionadas a toma única antes de la disminución de dosis) hasta la supresión de la medicación¹⁹.

2.5.1.3 FAME CONVENCIONALES

Las nuevas recomendaciones EULAR sobre el manejo de la AR, indican que el tratamiento con FAME debe comenzarse tan pronto como se confirme el diagnóstico de la AR. La precocidad en el inicio del tratamiento se asocia con mayor probabilidad de respuesta favorable¹⁹. Los FAME de mayor prescripción en AR son:

- LFN es un fármaco inmunomodulador que inhibe competitivamente la Dihidroorotato Deshidrogenasa (DHOD), limitando la velocidad intracelular de la síntesis de novo de pirimidinas, produciendo un efecto antiproliferativo¹¹. Su dosificación comienza con 100 mg/día durante 3 días y posteriormente 20 mg/día de forma continuada, aunque también se puede comenzar directamente con la dosis de 20 mg/día¹⁹.
- Hidroxicloroquina es un fármaco antimalárico que interfiere en la presentación de antígenos, promueve la estabilización de la membrana lisosomal e inhibe el metabolismo de los desoxirribonucleótidos²⁰. La dosis utilizada en el tratamiento de la AR es de 400mg/día¹⁹. Sus efectos adversos más comunes son a nivel gastrointestinal (náuseas, diarrea y dolor abdominal), y en algunos pacientes han manifestado retinopatía²¹.

- La SSZ para su absorción es necesaria la participación de las bacterias del intestino grueso que desdoblan el fármaco en 5 aminosalicílico y sulfapiridina, siendo esta última la responsable de la acción antirreumática sistémica del fármaco, mientras que el 5 aminosalicílico tiene capacidad antiinflamatoria local en las enfermedades inflamatorias intestinales. Su mecanismo de acción en AR no está muy esclarecido, pero la bibliografía refiere una inhibición de la función de los neutrófilos, reducción de los niveles de inmunoglobulinas e interfiere en la función de los linfocitos T, a través de la supresión de la activación del factor de transcripción NF-Kb ²². Su dosificación es de 2-3 gr/día, vía oral ¹⁹.
- En la AR de inicio se recomienda empezar terapia con MTX en combinación con alguno de los demás FAME anteriores, pudiéndose combinar con dosis bajas y a corto plazo de GC. La dosis inicial es de 15 mg/semana por vía oral, con escalada de 5 mg/mes hasta una dosis 25-30 mg/semana o hasta dosis máxima tolerable, y cambiar a administración subcutánea en el caso de una respuesta insuficiente ²³. La mayoría de los efectos adversos observados con MTX a las dosis utilizadas en AR son manifestaciones gastrointestinales, mucocutáneas o neurológicas, y no tienen carácter grave. Los efectos adversos más relevantes consisten en toxicidad pulmonar, hepática y hematológica. Algunos de estos síntomas (estomatitis, náuseas, mielosupresión) son dosis-dependientes y pueden prevenirse mediante tratamiento con folatos (5-10 mg/semanales a las 24 horas después de la administración del MTX), excepto la toxicidad pulmonar y hepática ²³.

2.5.2 FAME BIOLÓGICOS

Un paciente con AR es candidato a TB cuando tras tratamiento con, al menos, 2 de los FAME más relevantes (MTX, LFN y SSZ) por un período mínimo de 6 meses, bien en monoterapia o en combinación y, siempre que uno de ellos haya sido MTX a dosis máxima tolerada (20-25 mg semanales), no haya conseguido el objetivo terapéutico (alcanzar la remisión de la actividad, definida según criterio EULAR como DAS28 <2.4) o bien que alguno de los FAME haya tenido que ser suspendido por toxicidad o intolerancia. También se inicia TB a los 3 meses en caso de no conseguir ninguna mejoría. Para la elección de un biológico se dará preferencia a los anti-TNF por la experiencia acumulada y ser costo-eficaces, pero no existen criterios científicos para aconsejar primero uno u otro ya que se consideran alternativas terapéuticas equivalentes ¹⁰.

2.5.2.1 INHIBIDORES DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL

Dada la implicación del TNF- α en la patogénesis de la AR, va a ser una diana clave para la actuación farmacológica, y las terapias dirigidas a antagonizar su mecanismo de acción son los TNFi.

➤ INFLIXIMAB

Es un anticuerpo monoclonal IgG 1 quimérico humano derivado de ratón que se une con alta afinidad tanto a la forma soluble como a la de membrana del TNF α . Se administra por vía intravenosa 3mg/Kg, las semanas 0-2-4 y luego cada 8 semanas. Es el de mayor inmunogenicidad de todos los TNFi, debido a su carácter quimérico. Si no se consigue respuesta, primero se puede optimizar la dosis de MTX, y en segundo lugar se puede reducir el intervalo de administración a 4-6 semanas, o aumentar la dosis a 5 mg/kg en caso de inefectividad o recidiva¹⁰.

➤ ADALIMUMAB

Es un anticuerpo monoclonal IgG1 completamente humano que se une específicamente al TNF y neutraliza su función biológica al bloquear su interacción con los receptores p55 y p75 del TNF en la superficie celular. Se administra vía subcutánea 40 mg cada 2 semanas. Si no responde, primero se optimiza la dosis con MTX, y en segundo lugar se puede reducir el intervalo terapéutico a 7-10 días¹⁰.

➤ ETANERCEPT

Es una proteína de fusión de la Fc de una IgG 1 y receptores solubles diméricos p55 y p75 de unión al TNF, la cual compite con los receptores de superficie celular, impidiendo la actividad biológica del TNF. La afinidad de la citoquina por el Etanercept es mayor a la de receptores solubles fisiológicos. Se administra vía intravenosa 25 mg dos veces por semana (a intervalos de 72-96 horas) o 50 mg/semana mediante administración subcutánea. Si no responde, se puede optimizar la dosis de MTX¹⁰.

➤ GOLIMUMAB

Es un anticuerpo monoclonal humano que forma complejos estables de gran afinidad con las dos formas bioactivas del TNF- α humano. Se administran por vía subcutánea 50 mg al mes (mismo día). Si no responde, se puede optimizar la dosis de MTX¹⁰.

➤ CERTOLIZUMAB PEGOL

Es un fragmento Fab' de un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que neutraliza de forma selectiva el TNF α humano soluble y unido a membrana de forma dosis-dependiente.

No contiene región Fc (fragmento cristalizante), que en condiciones normales forma parte de la molécula de un anticuerpo completo, y por tanto no fija el complemento ni provoca citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. Tampoco induce apoptosis in vitro, en los monocitos y linfocitos obtenidos de sangre periférica humana, ni desgranulación de neutrófilos. Su administración es subcutánea, 400 mg las semanas 0, 2 y 4, y luego 200 mg cada 2 semanas. Debido a su fracción pegilada (polietilenglicol) resulta en una mayor vida media y una disminución en la producción de anticuerpos anti-fármaco. Si no responde, se puede optimizar la dosis de MTX ¹⁰.

En determinadas circunstancias los TNFi tienen contraindicada su prescripción, como en los siguientes casos ¹⁰:

- Casos de insuficiencia cardíaca.
- Posible existencia de una infección activa.
- Existencia de tuberculosis activa o contacto reciente con enfermos que la padezcan, así como investigar la posibilidad de infección tuberculosa latente. Se debe instaurar tratamiento para infección tuberculosa latente antes del inicio de la terapia biológica.
- Pacientes con antecedentes de enfermedad linfoproliferativa.
- Uso de vacunas con microorganismos vivos atenuados.

Hay estudios que reflejan aproximadamente un 40% de pacientes con AR tratados con TNFi que no responden o tienen pérdida de efectividad, lo cual da lugar a mayor progreso de la enfermedad, y disminución en la calidad de vida del paciente ^{24, 25}. Los factores implicados en esta variabilidad en la respuesta a los tratamientos pueden ser:

- Diferentes perfiles farmacocinéticos de estos agentes. En un estudio se analizó el perfil farmacocinético de los TNFi de mayor prescripción, presentando Adalimumab y Etanercept de administración subcutánea un perfil de concentración vs tiempo uniforme en el estado de equilibrio, mientras que IFX de administración intravenosa presentó gran variabilidad entre los picos y valles en el estadio de equilibrio ²⁶.
- Inmunogenicidad del fármaco: la formación de anticuerpos anti fármaco está relacionado con una disminución del efecto farmacológico y en algunos casos el riesgo de sufrir efectos adversos como reacciones de hipersensibilidad de tipo 3 ²⁷.
- La variabilidad genética frente a la respuesta terapéutica.

Posteriormente se han comercializado TB con otros mecanismos de acción como Abatacept, Rituximab y TCZ, las cuales se administran tras fallo o contraindicación a TNFi aun siendo de

efectividad similar pero menor evidencia clínica¹⁹. Pueden administrarse en monoterapia o en combinación con MTX¹⁹.

2.5.2.2 ABATACEPT

Es una proteína de fusión formada por el dominio extracelular del antígeno 4 (CTLA-4) asociado al linfocito-T citotóxico humano unido a un fragmento modificado Fc de la inmunoglobulina humana G1 (IgG1). CTLA-4 tiene alta afinidad por CD80/86 (proteína de superficie de células presentadoras de antígenos) por lo tanto competirá con Abatacept en la unión a CD28 (proteína de superficie de linfocitos T), impidiendo la señal coestimuladora necesaria para la activación completa de linfocitos T, siendo más efectivo sobre linfocitos T memoria que sobre los vírgenes. Su administración es intravenosa y en función del peso; 500 mg (< 60 kg); 750mg (60-100 kg); 1.000 mg (>100 kg) en las semanas 0, 2, 4 y cada 4 semanas posteriormente (cada vial contiene 250 mg). Si no responde, se puede optimizar la dosis con MTX.

2.5.2.3 RITUXIMAB

Es un anticuerpo monoclonal quimérico murino/humano que representa una inmunoglobulina glucosilada con las regiones constantes de la IgG1 humana y las secuencias de la región variable de las cadenas ligeras y pesadas. El dominio Fab se une al antígeno CD20 en la superficie de los linfocitos B, mientras que el dominio Fc puede reclutar efectores de la respuesta inmune para mediar la lisis de las células B mediante citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y también inducción de muerte celular por apoptosis. Su administración es mediante perfusión intravenosa y cada ciclo se compone de 1.000 mg en las semanas 0 y 2 o días 1-15 cada 6 meses. También puede optimizarse la dosis de MTX u otros FAME en caso de tratamiento conjunto. Los pacientes deben haber recibido tratamiento con 100 mg de metilprednisolona intravenosa 30 minutos antes de la perfusión para reducir la incidencia y la gravedad de las reacciones relacionadas a la perfusión. También se debe administrar medicación previa consistente en un analgésico/antipirético y un antihistamínico.

2.5.2.4 TOCILIZUMAB

Es un anticuerpo monoclonal IgG1 recombinante humanizado que se une específicamente a los receptores tanto solubles como unidos a membranas de la IL-6, inhibiendo la señalización mediada por los mismos. La IL-6 producida por diversos tipos celulares como células T/B, monocitos y fibroblastos, es una citoquina proinflamatoria pleiotrópica, que participa en

diversos procesos fisiológicos como la activación de los linfocitos T, la inducción de secreción de inmunoglobulina, la inducción de síntesis hepática de proteínas de fase aguda como la PCR, aumento de la VSG, y la estimulación de la hematopoyesis. Por lo tanto el bloqueo de la interacción IL-6 con su receptor disminuirá la respuesta inflamatoria característica de la AR²⁸,²⁹. Su administración es intravenosa: 8 mg/kg/ cada cuatro semanas, y para individuos cuyo peso corporal sea superior a 100 kg, no se recomiendan dosis que excedan de 800 mg. Si no responde y se está empleando MTX, se puede optimizar la dosis de MTX^{10,30}.

TCZ tiene buenos resultados en la evolución favorable de la enfermedad. Su efectividad queda reflejada en diferentes ensayos y posteriores estudios clínicos, como en un ensayo clínico doble ciego a tres años de 556 pacientes con AR tratados con TCZ durante 26 meses³¹, y tres estudios multicéntricos, observacionales y prospectivos con más de 1500 pacientes diagnosticados de AR con un seguimiento mínimo de 6 meses^{32,33,34}. Los estudios de Forsblad (n= 530)³² y Narváz (n= 126)³³ obtuvieron un 80% de respuesta EULAR favorable, un 35% y 30% de remisión DAS28 respectivamente, a los 6 meses de tratamiento. El estudio de Iking-Konert (n= 850)³⁴ consiguió hasta un 90% de respuesta EULAR y un 55% de remisión DAS28 después de 13 meses de tratamiento.

Estudios recientes han demostrado además que TCZ tiene mejores resultados en efectividad (remisión DAS28 y respuesta EULAR) que los TNFi^{25,35}. Un estudio multicéntrico de pacientes portugueses diagnosticados de AR, los pacientes que eran naïve para TB y fueron tratados con TCZ tuvieron mayores tasas de remisión DAS28 (71.2% vs 24.4%) y buena respuesta EULAR (76.9% vs 35.1%) frente a los que estuvieron con TNFi (Infliximab, Adalimumab, Etanercept y Golimumab), a los seis meses de seguimiento²⁵. En un estudio observacional retrospectivo de 1603 pacientes alemanes en tratamiento con TCZ o TNFi (Infliximab, Adalimumab, Etanercept, Golimumab y Certolizumab Pegol) durante 12 meses, obtuvieron un 41.3% vs 19.2% de remisión DAS28 respectivamente³⁵.

TCZ en monoterapia obtuvo resultados similares a la terapia combinada con FAME (MTX, LFN, SSZ), como en un estudio con 1681 pacientes recibiendo TCZ, de los cuales 239 estuvieron en monoterapia y 1442 en terapia combinada, el cual no obtuvo diferencias significativas en la efectividad al tratamiento³⁶. Al igual que un estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal y abierto de efectividad a 2 años con TCZ (n=85) no encontró diferencias significativas en cuanto a respuesta EULAR, baja actividad y remisión DAS28 entre pacientes en tratamiento con TCZ en monoterapia y terapia combinada³⁷.

Por otro lado TCZ ha demostrado superioridad en efectividad a los TNFi en monoterapia³⁸, como en un ensayo clínico controlado randomizado doble ciego en fase 4 con 325 pacientes diagnosticados de AR, que eran naïve para TB y habían tenido fracaso terapéutico ó toxicidad a MTX. En este ensayo clínico TCZ consiguió mejores tasas de remisión DAS28 (39.9% vs 10.5%; $p < 0.0001$), respuesta EULAR (77.9% vs 54.9%; $p < 0.0001$) y LDA (51.5% vs 19.8%; $p < 0.0001$) que Adalimumab³⁹. Un metaanálisis concluye también que TCZ en monoterapia tiene mejores resultados en la actividad de la enfermedad que los TNFi (difference: -11.1 ; 95% Credible Interval : $-21.3, -0.1$)⁴⁰.

El estudio de la influencia de variables clínicas y bioquímicas en la respuesta a TCZ es una herramienta útil para poder predecir la respuesta al tratamiento. La administración del fármaco en estados tempranos de la enfermedad (menor de 3 años de enfermedad) en un estudio con 240 pacientes en tratamiento con TCZ, se asoció a mejores resultados de remisión DAS28⁴¹. Una edad inferior a 55 años fue vinculada a respuesta EULAR favorable y remisión DAS28 en una cohorte de 204 pacientes en terapia con TCZ⁴². Sin embargo dos estudios en pacientes diagnosticados de AR y en tratamiento con TCZ no encontraron asociación entre la edad de inicio con TCZ y la duración de la enfermedad con la respuesta EULAR en 530 pacientes³², y la remisión en una cohorte de 126 pacientes³³.

Aquellos pacientes que de forma previa al tratamiento con TCZ no fueron tratados con ninguna TB (pacientes naïve a TB) obtuvieron tasas de remisión DAS28 del 57.9% y 67% en dos estudios con pacientes diagnosticados de AR en tratamiento con TCZ durante 6 meses ($n=95$)²⁵, y 13 meses ($n=240$)⁴¹ respectivamente. La LDA a los 6 meses de seguimiento fue de un 63.2% entre los pacientes naïve con respecto a un 50.4% en los refractarios a TNFi, en un estudio con 286 pacientes tratados con TCZ⁴³. Por el contrario no hubo diferencia entre el ser naïve para TB o refractario a TNFi con la respuesta EULAR ($n=204$)⁴² y la remisión DAS28 de la enfermedad ($n=126$)³³ en pacientes diagnosticados de AR a los 6 meses de tratamiento con TCZ.

Otros indicadores clínicos (DAS28 basal, SDAI basal, HAQ basal) y bioquímicos (PCR basal, VSG basal) implicados en la alta actividad de la enfermedad han sido propuestos como buenos predictores de respuesta a TCZ. Varios estudios realizados en pacientes con AR en terapia con TCZ han vinculado un elevado DAS28 basal (>5.1) con resultados satisfactorios de respuesta EULAR (OR: 2; IC_{95%}: 1.44, 2.78; $P < 0.05$)³², remisión DAS28 (OR: 2.54; IC_{95%}: 1.11, 5.83; $p < 0.05$)³⁸ y (OR: 1.17; IC_{95%}: 0.51, 2.73; $p < 0.01$)³⁹ y ACR50/70 (50.7%/33.9%)⁴³, con respecto a tener un DAS28 basal < 5.1 . Sin embargo un estudio en 126 pacientes con TCZ a los 6 meses de

tratamiento obtuvo peores tasas de remisión DAS28 en aquellos pacientes con un elevado DAS28 basal (>5.1) (OR: 0.3; IC_{95%}: 0.14, 0.64; p= 0.04)³³.

Por otro lado una puntuación baja del indicador clínico HAQ se vinculó a mejores resultados de respuesta EULAR en el estudio de Forsblad-d'Elia .H (OR: 0.56; IC_{95%}: 0.40, 0.78; p<0.05)³², y mayor remisión DAS28 y baja actividad de la enfermedad para CDAI en un estudio observacional retrospectivo de 273 pacientes con AR en tratamiento con TCZ (Coeficiente de regresión: 0.39; p<0.001)⁴⁴.

Niveles elevados de PCR (OR: 4.95; IC_{95%}: 1.46, 13.82; p=0.027) y VSG (OR: 19.07; IC_{95%}: 2.72, 133.7; p=0.003) al inicio del tratamiento estuvieron presentes entre aquellos pacientes diagnosticados de AR que tuvieron mejores tasas de remisión DAS28 de la enfermedad a los 3 meses de seguimiento con TCZ³³.

2.6 VARIABILIDAD GENÉTICA EN LA RESPUESTA

La AR es una enfermedad genética compleja, en la que diversos genes, factores ambientales y estocásticos actúan conjuntamente para causar los eventos patológicos⁴⁵. Los factores genéticos juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad, considerándose una enfermedad altamente heredable (60% del riesgo de desarrollar AR es debido a factores genéticos)⁴⁵. En los últimos años se ha potenciado el desarrollo de la Farmacogenética clínica, cuyo objetivo principal es optimizar el tratamiento de las enfermedades, a través de una terapia personalizada más segura y eficiente con el fin de seleccionar el fármaco correcto, a la dosis exacta, para el paciente indicado. Todo ello permitirá evitar los retrasos en la administración de la terapia efectiva, los riesgos innecesarios de presentar reacciones adversas y los gastos al sistema de salud en tratamientos no efectivos. Recientemente, dentro de la farmacogenética clínica, se ha potenciado el desarrollo de estudios cuya finalidad es ver la influencia de los polimorfismos genéticos de un único nucleótido denominados single nucleotide polymorphism (SNP) en la efectividad a las terapias. Los TNFi han sido ampliamente estudiados en el campo de la farmacogenética, y se han encontrado diferentes SNPs en la zona promotora del gen TNF y de sus receptores como posibles predictores de respuesta. El genotipo AA rs1800629 del gen TNF estuvo asociado a un menor cambio del DAS28 (p= 0.001) a los 6 meses de tratamiento con Etanercept (n= 451)⁴⁶, y no hubo ningún cambio significativo en Infliximab (n= 198)⁴⁷. Un estudio en 280 pacientes con AR y en tratamiento con TNFi (Infliximab, Adalimumab, Etanercept, y Certolizumab Pegol), aquellos pacientes con el alelo A con respecto a los portadores homocigóticos para GG, tuvieron mejores tasas de LDA ó remisión DAS28 (52% vs 34%, P = 0.04) para el SNP rs767455 del gen TNFR1A. En el mismo

estudio también hubo mayor descenso del DAS28 en los pacientes portadores del alelo T que aquellos con el alelo C (-2.05 vs -3.41; $p = 0.012$) para el rs1799724 de la región promotora del gen TNF⁴⁸. Sin embargo el estudio de Morales-Lara encontró asociación entre el genotipo AA y una respuesta EULAR más pobre para el rs767455 (AA: 39.3% vs. AG/GG: 19.0%; $P = 0.04$.)⁴⁹. Dos estudios en pacientes con AR en tratamiento con Adalimumab ($n=95$ y $n=302$), identificaron como predictor de respuesta el SNP rs1801274 del gen FCGR2A (OR: 2.54, IC_{95%}: 1.19–5.4; $p = 0.022$)⁵⁰, (OR: 1.53, IC_{95%}: 1.08–2.17; $p = 0.017$)⁵¹.

El número de estudios que evalúan la influencia de polimorfismos genéticos y la respuesta al tratamiento con TCZ es muy limitado. En 2013 se publicó un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) en 1683 pacientes diagnosticados de AR procedentes de 5 ensayos clínicos en fase III: RADIATE ($n=178$)⁵², OPTION ($n=273$)⁵³, TOWARD ($n=459$)⁵⁴, AMBITION ($n=247$)⁵⁵, LITHE ($n=469$)⁵⁶, y un estudio traslacional MEASURE ($n=57$)⁵⁷. Estos ensayos evaluaron la eficacia y seguridad de TCZ (4 ó 8 mg/kg) administrado cada 4 semanas durante al menos un período de 24 semanas, en comparación a FAME en monoterapia ó en terapia combinada con TCZ. Las poblaciones de los ensayos se diferenciaron en función de la terapia previa al inicio del estudio: fracaso terapéutico o efecto adverso a MTX u otros FAME (OPTION, TOWARD, LITHE, MEASURE), fracaso terapéutico a TNFi (RADIATE), y pacientes naïve a FAME (AMBITION) que fue el único ensayo con TCZ en monoterapia. El estudio identificó 7 SNPs asociados a respuesta al tratamiento con TCZ. Cinco de los siete polimorfismos son codificados por genes diferentes, no vinculados hasta el momento a la vía de la IL6 (CD69, CLEC2D, GALNT18, ENOX1 y KCNMB1) y dos SNPs no tenían gen identificado⁵⁸. Los genes CD69 y CLEC2D situados en el cromosoma 12 codifican proteínas lectinas de tipo C que actúan como receptores de células natural killer (NK), linfocitos T, que activan factores de transcripción como Stat5, FoxP3, e inhiben de forma indirecta otros como Stat3 ó ROR γ t, cuyo resultado es la inhibición de la diferenciación de los linfocitos T helper⁵⁹. El gen GALNT18 está localizado en el cromosoma 11p15.3 y tiene 11 exones, expresa polipéptidos N-acetilactosaminil transferasas del tipo 18 (ppGalNAc-T18) y modula la actividad catalítica en forma de chaperona (O-glicosilación) de otros ppGalNAc-T⁶⁰. El gen ENOX1 se encuentra en el cromosoma 13 y está involucrado en las vías de transporte de electrones en la membrana plasmática⁶¹. El gen KCNMB1 localizado en el cromosoma 5q35.1 pertenece a la subfamilia M beta de proteínas implicadas en canales de potasio activados por el mismo catión, favoreciendo su conducción⁶².

En un estudio de cohortes retrospectivo con 79 pacientes diagnosticados de AR en tratamiento con TCZ durante 3 meses. El 22% de los pacientes fueron portadores del haplotipo AAC para los polimorfismos rs12083537, rs2228145, rs4329505 del gen del receptor de la IL-6, y

estuvieron asociados con peor respuesta en el número de articulaciones tumefactas (33% vs 100% de los pacientes no portadores del haplotipo; $p= 0.0004$), aunque no consiguieron asociación significativa con la respuesta EULAR⁶³. A día de hoy no hay más estudios con estos tres polimorfismos del receptor de la IL-6.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

3 JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Debido a no alcanzar el objetivo terapéutico deseado con los TNFi se favorece el desarrollo de la enfermedad. Para superar esta resistencia se han desarrollado diferentes fármacos dirigidos a otras dianas farmacológicas, como por ejemplo TCZ que ha demostrado una gran efectividad, consiguiendo tasas de respuesta EULAR por encima del 80% y tasas de remisión DAS28 de hasta el 55% después de 6 meses de tratamiento³²⁻³⁴. Determinados factores clínicos (la edad de inicio con TCZ, la duración de la enfermedad, pacientes naïve para TB, DAS28 basal elevado, HAQ basal disminuido), y bioquímicos (PCR basal, VSG basal) han sido propuestos como predictores de respuesta a TCZ en pacientes con AR, aunque con resultados contradictorios en los distintos estudios^{25, 32, 33, 41, 42}.

La genética juega un papel clave en la comprensión de la variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento con TB^{46-51, 58, 63}. Puesto que la administración de TCZ en la práctica clínica es relativamente reciente, la influencia de la genética en respuesta a TCZ apenas se ha investigado. Hasta la fecha, sólo un GWAS ha identificado siete polimorfismos genéticos implicados en la respuesta a TCZ⁵⁸, que aún no han sido replicados en otras poblaciones independientes. Actualmente, no se dispone de más información sobre la utilidad de estos marcadores genéticos para predecir la respuesta a TCZ. Además, los marcadores genéticos, clínicos y bioquímicos no han sido valorados de forma conjunta en los estudios citados.

La hipótesis de partida del presente trabajo es que los marcadores genéticos influyen en la respuesta al tratamiento con TCZ, junto con otros factores clínicos y bioquímicos. Por tanto servirán como una herramienta de apoyo para poder identificar a los pacientes que se beneficiarían del tratamiento con TCZ en la práctica clínica, y de esta forma conseguir optimizar el tratamiento.

OBJETIVOS

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de factores clínicos, bioquímicos y genéticos en la respuesta a TCZ, medida según la respuesta EULAR, remisión DAS28, baja actividad de la enfermedad (LDA) y variación del DAS28, en pacientes con AR tratados con TCZ durante 6 y 18 meses de tratamiento.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los polimorfismos de los siguientes genes: CD69 (rs11052877), GALNT18 (rs4910008), ENOX1 (rs9594987), KCNMB1 (rs703505), CLEC2D (rs1560011), y los SNPs rs10108210, rs703297 en pacientes tratados con TCZ.
- Medir la efectividad del fármaco según la respuesta EULAR, remisión DAS28, LDA en función del DAS28 y descenso del DAS28 a los 6 y 18 meses desde el inicio del tratamiento.
- Analizar la influencia de las variables clínicas (sexo, edad de diagnóstico de la AR, edad de inicio de TCZ, años con AR sin TCZ, forma de administración, TB previas, duración TB previas en meses, FAME (LFN, MTX) y GC concomitantes, niveles basales (PCR, VSG, DAS28, SDAI, CDAI, y el índice HAQ), con la efectividad al tratamiento (respuesta EULAR, remisión, LDA y descenso del DAS28).
- Evaluar la influencia de los polimorfismos genéticos y la respuesta clínica a TCZ.

METODOLOGÍA

5 METODOLOGÍA

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio observacional retrospectivo y prospectivo. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del CHUG (Anexo 10.4). Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron un consentimiento informado previo a su participación (Anexo 10.1, Anexo 10.2). Todos los datos personales recogidos se guardaron en una base de datos y fueron mantenidos de forma confidencial.

5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes diagnosticados de AR susceptibles de iniciar tratamiento con terapia biológica.

5.3 ÁMBITO GEOGRÁFICO-TEMPORAL DEL ESTUDIO

Pacientes diagnosticados de AR desde 1990 hasta 2014 y tratados con TCZ entre Enero de 2009 y Agosto de 2015, en los Servicios de Reumatología y de Farmacia del CHUG.

5.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes caucásicos de raza blanca.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes diagnosticados de AR según los criterios de clasificación del ACR^{9, 64}
- Pacientes en tratamiento con TCZ (8 mg/kg cuando la administración es intravenosa cada cuatro semanas y 162 mg/kg mensualmente por vía subcutánea) durante un período mínimo de 6 meses.
- Pacientes que aceptaron participar de forma voluntaria en el estudio y firmaron el consentimiento informado.

5.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Negativa a participar en el estudio.
- Presencia de infecciones graves o activas.

5.6 VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS

Los datos sociodemográficos y clínicos se obtuvieron de las historias clínicas. Los datos clínicos recogidos fueron: sexo, edad de diagnóstico de la AR, edad de inicio de TCZ, años con AR sin TCZ, forma de administración (intravenosa, subcutánea), número de TB que han estado antes

del inicio con TCZ (número de TB previas), duración TB previas en meses, tratamiento concomitante con FAME (LFN, MTX) y GC, niveles basales de; PCR, VSG, DAS28⁶⁵, el SDAI⁶⁶, el CDAI⁶⁷, y el índice HAQ.

El DAS28 fue calculado para la VSG utilizándose la calculadora online: <http://www.das-score.nl/das28/DAScalculators/dascalculators.html>. El SDAI y CDAI se obtuvo utilizando la calculadora: <http://calc.arthritis-il6.es/sdai>. <http://calc.arthritis-il6.es/cdai>. El parámetro HAQ se obtuvo de la historia clínica, de acuerdo a los datos recogidos por el reumatólogo. Los parámetros bioquímicos VSG y PCR se obtuvieron de las analíticas semestrales a las que son sometidos los pacientes. El FR y los anti-CCP se recogieron en las analíticas al inicio y a los 18 meses del tratamiento.

5.7 VARIABLES GENÉTICAS

5.7.1 AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE ADN

Las muestras de saliva fueron recolectadas en tubos cónicos de 50 ml BD Falcon™ (BD, Plymouth, Reino Unido). El ADN genómico fue extraído utilizando el Kit QIAamp DNA Mini (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) según las instrucciones del fabricante para la purificación de ADN en saliva. La calidad del ADN se comprobó mediante electroforesis en un gel al 1% de agarosa. La concentración y la pureza del ADN se midieron con el espectrofotómetro de UV NanoDrop 2000 mediante la relación de absorbancia a 280/260 y 280/230.

5.7.2 DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS

Los siguientes polimorfismos genéticos fueron analizados por PCR a tiempo real, utilizando sondas TaqMan®PCR; CD69 (rs11052877), GALNT18 (rs4910008), CLEC2D (rs1560011), KCNMB1 (rs703505), ENOX1 (rs9594987), rs10108210, y rs703297. La determinación fue realizada a través de diagramas de discriminación alélica en el instrumento Applied Biosystems StepOne Real Time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Las condiciones de los ciclos de PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 10 minutos, seguida por 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos y anillado/extensión a 60°C durante 60 segundos. La intensidad de la señal de fluorescencia debido a la degradación de la sonda TaqMan® se cuantificó durante la fase de anillado de cada ciclo de PCR. El análisis genotípico de las muestras de ADN se realizó por duplicado. La presencia de genotipo wild-type y las variantes alélicas se definieron comparando el punto final de fluorescencia relativa creado por la degradación de cada sonda marcada fluorescentemente con TaqMan® (FAM/VIC).

Además para confirmar los resultados obtenidos mediante PCR a tiempo real, un 15% de los resultados fueron confirmados mediante secuenciación del ADN, siguiendo la siguiente metodología.

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 25µl, utilizando una mezcla que incluyó entre 50-100ng de ADN del paciente, PCR Gold Buffer 1X y los componentes necesarios para la reacción como son dNTP (desoxinucleotriposfato) (0.05mM), primer Forward/Reverse (0.4µM), MgCl₂ (1.5mM), y AmpliTaq Gold DNA (1U Taq). Para la amplificación por PCR se utilizó el programa TouchDown, el cual realizó una desnaturalización inicial de 10 min a 94º, luego procedió a la amplificación del ADN mediante 30 ciclos (45 seg a 94ºC, 40 seg a 55-65ºC (-0.5ºC/step), 40 seg a 72ºC), y finalmente hizo la elongación final (7 min a 72ºC).

Una vez realizada la amplificación, los productos de PCR se verificaron visualizándolos en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio al 0.3%.

Una vez obtenidos los productos de PCR se procedió a su purificación enzimática mediante desfosforilación, para la eliminación de los oligos y dNTPs en exceso procedentes de la reacción de PCR, utilizando el reactivo fosfatasa y exonucleasa ilustra ExoProStar (GE Healthcare Life Sciences, Estados Unidos).

La reacción de secuenciación se llevó a cabo utilizando los mismos primers (forward (sentido) o reverse (antisentido) dependiendo del SNP) (0.125µM) que en la amplificación por PCR, con los reactivos Big Dye terminator V1.0 (Applied Biosystems, Estados Unidos) y las condiciones de reacción sugeridas por el fabricante. El programa de amplificación fue el siguiente: 94ºC durante 3 min x 1 ciclo; 96ºC durante 10 seg, 58ºC durante 5 seg y 60ºC durante 4 min x 25 ciclos. Tras la reacción de secuenciación, los productos obtenidos se precipitaron con etanol y para retirar el exceso de nucleótidos marcados se utilizó el reactivo Exostar. A continuación, las muestras se secan en una centrifuga de vacío durante 20 min, sin aplicar calor. Se procede a la desnaturalización de los productos secuenciados para su lectura en el secuenciador. Para la interpretación de los resultados se utilizó el programa Applied Biosystems. DNA Sequencing Analysis Software. El alineamiento de secuencias se realiza utilizando la herramienta bioinformática LALIGN que se encuentra disponible de forma gratuita a través de internet ⁶⁸.

Para verificar que los genotipados obtenidos se regían por la genética de poblaciones, se realizaron las frecuencias de los haplotipos y la prueba de Hardy-Weinberg, la cual establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural, ni ningún otro factor y no se produzca ninguna mutación. Se estimaron utilizando la calculadora de Hardy-Weinberg y la aplicación CUBEX ^{69,70}.

5.8 VARIABLES RESPUESTA

La respuesta EULAR se evaluó de acuerdo con las directrices dadas por la EULAR y clasificadas en dos categorías, satisfactoria (actual DAS28 $<3,2$ y mejora del DAS28 $> 1,2$) e insatisfactoria (actual DAS28 $\geq 3,2$ mejora del DAS28 $< 1,2$), a los 6 y 18 meses de tratamiento ^{71, 72}.

La remisión y LDA se consideraron cuando los pacientes lograron un DAS28 $< 2,4$ y un DAS28 $< 3,6$ respectivamente, a los 6 y 18 meses de tratamiento ⁷³.

Las variaciones del DAS28 se calcularon como la diferencia entre los valores a nivel basal y los obtenidos a los 6 y 18 meses del tratamiento.

5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos cuantitativos fueron expresados como la media (\pm desviación estándar) para las variables de distribución normal, o medianas y percentiles (25 y 75) para las variables de distribución no normal. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilks. En el análisis bivalente se aplicó la prueba de la t de Student para las variables con distribución normal, y la prueba no paramétrica de Wilcoxon para las variables de distribución no normal. Para las variables dicotómicas cualitativas se analizaron mediante el test de chi-cuadrado, de Pearson o la prueba exacta de Fisher. Las pruebas de factor ANOVA o Kruskal-Wallis se aplicaron para las variables cualitativas con más de dos categorías. La correlación de Pearson o Spearman se utilizaron para comparar variables cuantitativas, de acuerdo con la normalidad de los datos. La corrección de Bonferroni se aplicó para comparaciones múltiples de variables con distribución normal; los tests no paramétricos se corrigieron manualmente teniendo en cuenta el número de grados de libertad en cada variable.

Se realizó un análisis multivariante de regresión logística binomial para evaluar los posibles factores de confusión en la respuesta EULAR, remisión, y LDA. La regresión lineal se utilizó para detectar los factores de confusión en la respuesta variación del DAS28.

Las hipótesis del modelo de regresión lineal se comprobaron a través del análisis de los residuos, mediante la normalidad de los residuos que fue probada utilizando la prueba de Shapiro-Wilks y también se comprobó de forma gráfica (diagramas de Q-Q). La homocedasticidad de los residuos fue comprobada mediante la prueba de Breusch-Pagan. Fue considerado significativo un nivel de significación de $p < 0,05$ para todos los test y todos fueron a dos colas.

Para medir la bondad de ajuste del modelo de regresión logística se calcularon:

- $2 \log$ de la verosimilitud (-2LL): mide hasta qué punto un modelo se ajusta bien a los datos. Cuanto más pequeño sea el valor, mejor será el ajuste (idealmente 0 para un modelo perfecto).
- La R cuadrado de Cox y Snell: es un coeficiente de determinación generalizado que se utiliza para estimar la proporción de varianza de la variable dependiente explicada por las variables predictoras (independientes). Sus valores oscilan entre 0 y 1, siendo mejor cuanto más próximo a 1.
- La R cuadrado de Nagelkerke es una versión corregida de la R cuadrado de Cox y Snell. La R cuadrado de Cox y Snell tiene un valor máximo inferior a 1, incluso para un modelo "perfecto". La R cuadrado de Nagelkerke corrige la escala del estadístico para cubrir el rango completo de 0 a 1.
- Prueba de Hosmer y Lemeshow: si el ajuste es bueno, un valor alto de la probabilidad predicha (p) se asociará con el resultado 1 de la variable binomial dependiente, mientras que un valor bajo de p (próximo a cero) corresponderá con el resultado $Y=0$. Se trata de calcular, para cada observación del conjunto de datos, las probabilidades de la variable dependiente que predice el modelo, ordenarlas, agruparlas y calcular, a partir de ellas, las frecuencias esperadas, y compararlas con las observadas mediante una prueba χ^2 . Lo que se desea de esta prueba es que no haya significación.

El análisis de datos se realizó a través del programa estadístico R 3.2.2 ⁷⁴.

RESULTADOS

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES.

El estudio incluyó 78 pacientes (82.1% mujeres; 64/78) diagnosticados de AR con una mediana de 47 [37-53] años y de 10 [6.5-17.3] años de transcurso de la enfermedad (Tabla R1). Todos los pacientes habían sido tratados previamente con FAME, y el 68,0% (53/78) habían pasado por al menos una TB. El número medio de TB previas fue 2.2 [1.0-3.0] con un período de duración de 44.5 [16.5-82.0] meses. Los pacientes empezaron el tratamiento con TCZ con una media de edad de 53.2 ± 12.6 años, y su administración fue intravenosa en un 78.2% (61/78) de los casos. La administración concomitante de glucocorticoides y FAME fue prescrita en el 92.3% (72/78) y 56.4% (44/78) de los pacientes, respectivamente.

Un alto porcentaje de los pacientes fueron positivos para el FR (65.4%; 51/78) y anti-CCP (73.3%; 55/75) al inicio del tratamiento. Los parámetros clínicos (DAS28, HAQ, CDAI, SDAI) y reactantes de fase aguda (CRP, VSG) a nivel basal y después de 6 y 18 meses de tratamiento son detallados en la tabla R1.

Tabla R1. Características clínicas y demográficas de los pacientes del estudio

VARIABLE	0 meses		6 meses		18 meses	
	N	%	N	%	N	%
Sexo	78					
Hombre	14	17.9				
Mujer	64	82.1				
Duración de la enfermedad (años)	78		10 [6.5-17.3]			
Años de diagnóstico de la AR	78		47 [37.0-53.0]			
TB previas	78					
TNFi	29	37.2				
TNFi y TB no-TNFi	24	30.8				
naïve	25	32.1				
Número de TB previas	53		2.2 [1.0-3.0]			
Duración de TB previas (meses)	53		44.5 [16.5-82.0]			

Tabla R1. Características clínicas y demográficas de los pacientes del estudio (continuación)

Años de inicio con TCZ	78		53.2 ± 12.6						
Administración de TCZ	78								
intravenoso	61	78.2							
subcutáneo	17	21.8							
FAMEs Concomitante	78								
Monoterapia	34	43.6		34	43.6		28	42.4	
Metotrexato	35	44.9		35	44.9		29	43.9	
Leflunomida	9	11.5		9	11.5		9	13.6	
Corticosteroides concomitantes	78								
si	72	92.3		72	92.3		60	90.9	
No	6	7.7		6	7.7		6	9.1	
Factor Reumatoide	78						65		
positivo	51	65.4		---	---		46	70.8	
negativo	27	34.6		---	---		19	29.2	
anti-CCP	75						55		
positivo	55	73.3		---	---		37	67.3	
negativo	20	26.7		---	---		18	32.7	
HAQ	78		1.6 ± 0.6			---			0.6 [0.2-1.1]
CDAI	78		27.1 ± 12.1			---			8.0 [4.0-15.0]
SDAI	78		30.0 [20.5-38.0]			---			8.1 [4.1-13.3]
DAS28-VSG	78		5.6 ± 1.1	78		2.3 [1.7-3.3]	66		2.3 [1.7-3.2]
NAD	77		9.0 [5.0-14.0]			---			---
NAT	77		4.0 [2.0-7.0]			---			---
PCR	78		1.0 [0.4-2.0]	78		0.1 [0.1-0.4]	66		0.1 [0.1-0.2]
VSG	78		30.0 [17.5-49.0]	78		8.0 [5.0-13.3]	66		7.0 [5.0-9.5]
<p>AR: Artritis Reumatoide, Anti-CCP: anti péptidos cíclicos citrulinados, CDAI: Clinical Disease Activity Index, DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism, FAMEs: Fármacos modificadores de la enfermedad, HAQ: Health Assessment Questionnaire, NAT: Número de articulaciones tumefactas, NAD: Número de articulaciones dolorosas, PCR: Proteína C reactiva , SDAI: Simplified Disease Activity Index, TCZ: Tocilizumab , TB: Terapia biológica, TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral , VSG: Velocidad de sedimentación globular , Variables con distribución normal: media ± desviación estándar, Variables con distribución no normal: mediana [rango intercuartilico;P25-P75].</p>									

6.2 EFECTIVIDAD CLÍNICA DE TOCILIZUMAB

La efectividad de TCZ fue evaluada en 78 y 70 pacientes a los 6 y 18 meses de tratamiento respectivamente (Tabla R2). Hubo 4 pacientes que desarrollaron alguna reacción adversa a TCZ a los 9, 12 y 14 meses.

La respuesta EULAR a los 6 meses fue de un 69.2%, incrementándose hasta un 74.3% a los 18 meses. Hubo una mejora de la remisión desde un 52.6% a los 6 meses hasta un 58.6% a los 18 meses. La LDA fue alcanzada por el 70.5% de los pacientes a los 6 meses y el 77.1% a los 18 meses.

La media del descenso de la variación del DAS28 a los 6 y 18 meses fue de 2.9 ± 1.6 y 3.1 ± 1.6 respectivamente.

Tabla R2. Respuesta al tratamiento con TCZ a los 6 y 18 meses.

VARIABLE RESPUESTA	6 meses		18 meses		
	N	%	N	%	
Respuesta EULAR	78		70		
satisfactoria	54	69.2	52	74.3	
insatisfactoria	24	30.8	18	25.7	
Remisión (DAS28<2.4)	41	52.6	41/70	58.6	
LDA (DAS28<3.6)	55	70.5	54/70	77.1	
Descenso del DAS28	78		2.9 ± 1.6	66	3.1 ± 1.5

EULAR: European League Against Rheumatism, LDA: Baja actividad de la enfermedad

6.3 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LOS PACIENTES

La distribución genotípica está mostrada en la Tabla R4. Todos los polimorfismos genéticos estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Ningún polimorfismo se encontró en desequilibrio de ligamiento.

Tabla R4. Distribución de frecuencias de polimorfismos genéticos y equilibrio Hardy- Weinberg.

GEN	SNPs	N	%	Equilibrio Hardy-Weinberg (p-valor)	
KCNMB1	rs703505	79		0.305	
		TT	29		33.9%
		AT	34		48.6%
		CC	16		17.4%
Non annotated	rs10108210	79		0.352	
		AA	26		30.3%
		AC	35		49.5%
		CC	18		20.2%
Non annotated	rs703297	79		0.731	
		GG	20		26.3%
		GA	41		49.9%
		AA	18		23.7%
ENOX1	rs9594987	79		0.574	
		TT	21		25.0%
		CT	37		50.0%
		CC	21		25.0%
CLEC2D	rs1560011	79		0.109	
		GG	21		31.0%
		AG	46		49.4%
		AA	12		19.6%
GALNT18	rs4910008	79		0.822	
		TT	25		31.0%
		CT	38		49.4%
		CC	16		19.6%
CD69	rs11052877	79		0.714	
		AA	24		30.5%
		AG	39		49.5%
		GG	16		20.0%

6.4 PREDICTORES DE RESPUESTA

6.4.1 PREDICTORES DE RESPUESTA A LOS 6 MESES

6.4.1.1 GALNT18 y CD69 predicen respuesta EULAR a los 6 meses

En el análisis bivalente, la respuesta EULAR fue mayor en aquellos pacientes a los que se les administró TCZ de forma subcutánea (RR: 1.51; CI_{95%}: 1.20, 1.90; p= 0.027; Tabla R5), fueron naïve al tratamiento (RR: 1.57; CI_{95%}: 1.22, 2.03; p= 0.006; Tabla R5), estuvieron menos tiempo con TB previas (p= 0.038) y fueron portadores del polimorfismo rs11052877 del gen CD69 (AA>AG>GG) (p=0.013). El genotipo GALNT18-CC y el alelo CLEC2D-G mostraron una tendencia a estar asociados a buena respuesta, pero no significativa (Tabla R6). El análisis multivariante nos indicó que las variables independientemente asociadas a respuesta EULAR satisfactoria a los 6 meses fueron el genotipo GALNT18-CC (OR_{CT-TT/CC}: 0.078; CI_{95%}: 0.09, 0.67; p= 0.020; Tabla R3), el polimorfismo rs11052877 del gen CD69 (AA>AG>GG) (OR_{AG/AA}: 0.136; CI_{95%}: 0.02, 0.76; p= 0.023; OR_{GG/AA}: 0.058; CI_{95%}: 0.08, 0.41; p= 0.004; Tabla R3) y un menor número de TB previas (OR: 0.45; CI_{95%}: 0.3, 0.7; p= 0.001; Tabla R3).

6.4.1.2 GALNT18 predice remisión a los 6 meses

En el análisis bivalente, se obtuvo mayor remisión cuando la administración de TCZ fue subcutánea (RR: 1.9; CI_{95%}: 1.3, 2.7; p= 0.012; Tabla R7), los pacientes fueron naïve (RR: 1.8; CI_{95%}: 1.20, 2.70; p= 0.009; Tabla R7), hubo un menor número de TB previamente prescritas (1.0 [0.0-2.0] vs 2.0 [1.0-3.0]; p= 0.0001; Tabla R7), y los pacientes que eran portadores de los siguientes polimorfismos genéticos; GALNT18 (p= 0.036), KCNMB1 (p= 0.008), ENOX1 (p= 0.047) y rs10108210 (p= 0.027) (Tabla R8). En particular, los pacientes portadores del genotipo CC para el gen GALNT18 (RR: 0.7; CI_{95%}: 0.6, 0.9; p= 0.022; Tabla R8) o el alelo A para el gen KCNMB1 (RR: 3.3; CI_{95%}: 1.2, 9.2; p= 0.006; Tabla R8) presentaron mayores tasas de remisión a los 6 meses (Tabla R8). Al realizar el análisis multivariante, los factores independientemente asociados a mayor remisión fueron un número más bajo de TB previas (OR: 0.56; CI_{95%}: 0.38, 0.82; p= 0.003; Tabla R3), y que los pacientes tuvieran el genotipo CC del polimorfismo para el gen GALNT18, el cual presentó mayor probabilidad de remisión en comparación a aquellos pacientes con los genotipos CT o TT para el mismo polimorfismo genético (OR_{CT/CC}: 0.09; CI_{95%}: 0.02, 0.45; p= 0.004; table 2) (OR_{TT/CC}: 0.14; CI_{95%}: 0.02, 0.79; p= 0.026; Tabla R3).

6.4.1.3 CD69 predice baja actividad de la enfermedad a los 6 meses

En el análisis bivalente, se encontraron mayores tasas de LDA entre los pacientes que fueron naïve (RR: 1.6; CI_{95%}: 1.3, 2.1; p= 0.002), tratados de forma previa con menor número de TB (1.0 [0.0-2.0] vs 2.0 [2.0-3.0]; p=0.00034) y menor duración de las mismas (9.0 [0.0-48.0] vs 36.0 [9.0-85.0]) (Tabla R9). Los polimorfismos genéticos asociados a mayor LDA fueron CD69 (p= 0.012), particularmente el alelo A (RR: 1.8; CI_{95%}: 1.0, 3.1: p= 0.014), CLEC2D (p= 0.048), especialmente el alelo G (RR: 1.8; CI_{95%}: 0.9, 3.6: p= 0.042), y rs10108210 (p= 0.044) (Tabla R10). El análisis multivariante obtuvo como resultado que el alelo A del gen CD69 (OR_{GG/AG-AA}: 0.150; CI_{95%}: 0.04, 0.59; p= 0.007) y un número más bajo de TB previas (OR: 0.50; CI_{95%}: 0.32, 0.77; p= 0.002) fueron los factores independientes capaces de predecir mayores tasas de LDA a los 6 meses de tratamiento con TCZ (Tabla R3).

6.4.1.4 GALNT18 y CD69 predicen disminución del DAS28 a los 6 meses

En el análisis bivalente, hubo un mayor descenso del DAS28 en las siguientes variables; mujeres (3.0 ± 1.6 vs 2.1 ± 1.2; p= 0.042), administración subcutánea (3.8 ± 1.4 vs 2.6 ± 1.5; p= 0.005), pacientes naïve (3.6 ± 1.4 vs 2.5 ± 1.5; p= 0.001), menor número y duración de TB previas (Rho Spearman= -0.36; p= 0.003) (Rho Spearman= -0.282; p= 0.012) respectivamente. También mejoraron el DAS28 los niveles basales elevados de; VSG (Rho Pearson= 0.42; p= 0.0001), DAS28 (Rho Pearson= 0.64; p= 2.8·10⁻¹⁰), SDAI (Rho Pearson= 0.42; p= 0.0001), y CDAI (Rho Pearson= 0.47; p= 2.1·10⁻⁵) (Tabla R11). Por último el genotipo AA del gen CD69 (2.6 ± 1.4; p= 0.027), el genotipo CC del gen GALNT18 (2.6 ± 1.4; p= 0.019), y el genotipo CC del polimorfismo rs10108210 (2.7 ± 1.4; p= 0.031) se asociaron a un descenso del DAS28 (Tabla R12). El análisis multivariante nos indicó que los factores independientemente asociados a mayor descenso del DAS28 fueron; el genotipo AA para el gen CD69 (B_{AG-GG/AA}= -0.56; CI_{95%}: -1.09, -0.03; p=0.039), el genotipo CC para el gen GALNT18 (B_{CT-TT/CC}= -0.88; CI_{95%}: -1.49, -0.27; p= 0.005), administración subcutánea (B= 1.03; CI_{95%}: 0.44, 1.62; p= 0.001) y un elevado DAS28 basal (B= 0.82; CI_{95%}: 0.59, 1.05; p= 4,9·10⁻¹⁰) (Tabla R3).

6.4.2 PREDICTORES DE RESPUESTA A LOS 18 MESES

6.4.2.1 Número de TB previas predice respuesta EULAR a los 18 meses

El análisis bivalente mostró mayor respuesta EULAR en pacientes naïve (RR: 1.41; CI_{95%}:1.11, 1.82; p= 0.034; Tabla R5), menor número de TB previas (1.0 [0.0-2.0] vs 3.0 [1.0-3.3]; p= 0.004; Tabla R5), menor duración del período de tratamiento previo con TB (8.0 [0.0-46.3] vs 54.0

[20.8-88.0] meses; $p=0.006$; Tabla R5) y el polimorfismo rs10108210 ($p=0.039$; Tabla R6). En el análisis multivariante se obtuvo el menor número de TB previas como el único predictor independiente de respuesta EULAR satisfactoria a los 18 meses de tratamiento con TCZ (OR: 0.60; CI_{95%}: 0.34, 0.88; $p=0.010$; Tabla R3).

6.4.2.2 Número de TB previas predice remisión a los 18 meses

En el análisis bivariante, mayores tasas de remisión fueron asociadas a pacientes naïve (RR: 1.71; CI_{95%}: 1.11, 2.42; $p=0.023$; Tabla R7), menor número de TB previamente prescritas (1.0 [0.0-2.0] vs 2.0 [1.0-3.0]; $p=0.008$; Tabla R7), el polimorfismo del gen KCNMB1 ($p=0.002$) y el polimorfismo rs10108210 ($p=0.039$) (Tabla R8). El único factor independientemente asociado a mayor remisión después del análisis multivariante fue el menor número de TB previas (OR: 0.65; CI_{95%}: 0.46, 0.93; $p=0.018$; Tabla R3).

6.4.2.3 GALNT18 predice baja actividad de la enfermedad a los 18 meses

Mayores tasas de LDA fueron encontradas, tras el análisis bivariante, en pacientes naïve (RR: 1.41; CI_{95%}: 1.11, 1.82; $p=0.017$), previamente tratados con menor número de TB (1.0 [0.0-2.0] vs 3.0 [1.3-3.8]; $p=0.001$), menor tiempo de duración de tratamiento con TB previa (8 [0.0-49.5] vs 54 [22.5-88]; $p=0.003$) y menos años de enfermedad antes de comenzar el tratamiento con TCZ (7.0 [2.0-12.0] vs 14.5 [8.0-20.3]; $p=0.011$), (Tabla R9). Los polimorfismos genéticos asociados a LDA fueron rs10108210 ($p=0.041$), y el alelo C para el gen GALNT18 ($p=0.174$) mostró una tendencia a estar asociado a mejor respuesta, pero no llegó a ser significativa (Tabla R10). El análisis multivariante obtuvo como factores independientes capaces de predecir mayores tasas de LDA a los 18 meses el alelo C del gen GALNT18 (OR_{TT/CT-CC}: 0.217; CI_{95%}: 0.06, 0.86; $p=0.030$) y un menor número de TB previas (OR: 0.47; CI_{95%}: 0.29, 0.74; $p=0.001$) (Tabla R3).

6.4.2.4 Mejora del DAS28 a los 18 meses

A los 18 meses de tratamiento, en el análisis bivariante, se encontró asociación entre un mayor descenso del DAS28 y los pacientes que fueron naïve para TB (2.8 ± 1.6 ; $p=0.041$), fueron tratados de forma previa con menor número de TB (Rho Spearman -0.347 ; $p=0.002$), tuvieron elevados al inicio del tratamiento el DAS28 (Rho Pearson $=0.60$; $p=1 \cdot 10^{-7}$), SDAI (Rho Pearson $=0.353$; $p=0.005$), CDAI (Rho Pearson $=0.470$; $p=1 \cdot 10^{-4}$) y la VSG (Rho Pearson $=0.464$; $p=8.7 \cdot 10^{-5}$). Al realizar el análisis multivariante no se encontró ninguna correlación entre las variables clínicas ni genéticas con la mejora del DAS28.

Tabla R3. Predictores de respuesta a los 6 y 18 meses de tratamiento con TCZ en pacientes con Artritis Reumatoide (análisis multivariante).

VARIABLE RESPUESTA	VARIABLE INDEPENDIENTE	B	ODDS RATIO	Valor-p (variable)	INTERVALO DE CONFIANZA 95%	R ²	Bondad de ajuste	Valor-p * (modelo)
6 MESES								
Respuesta EULAR	Número de TB previas		0.451	0.001	0.29, 0.71	R ² Cox-Snell= 0.290 R ² Nagelkerke= 0.409	$\chi^2= 8.408$ p= 0.395	$\chi^2= 26.738$ p= 2.25·10 ⁻⁵
	CD69-rs11052877							
	AG		0.136	0.023	0.02, 0.76			
	GG		0.058	0.004	0.08, 0.41			
	GALNT18-rs4910008-CT/TT		0.078	0.020	0.09, 0.67			
Remisión	Número de TB previas		0.555	0.003	0.38, 0.82	R ² Cox-Snell= 0.211 R ² Nagelkerke= 0.282	$\chi^2= 7.559$ p= 0.373	$\chi^2= 18.465$ p= 0.0003
	GALNT18-rs4910008							
	CT		0.087	0.004	0.02, 0.45			
	TT		0.139	0.026	0.02, 0.79			
LDA	Número de TB previas		0.501	0.002	0.32, 0.77	R ² Cox-Snell= 0.223 R ² Nagelkerke= 0.343	$\chi^2=8.430$ p= 0.134	$\chi^2=19.659$ p= 5.38·10 ⁻⁵
	CD69-rs11052877-GG		0.150	0.007	0.04, 0.59			
Disminución del DAS28	Administración subcutánea	1.029		0.001	0.44, 1.62	0.537	0.561	p= 0.0004
	DAS28 basal	0.821		4.9·10 ⁻¹⁰	0.59, 1.05			
	CD69-rs11052877-AG/GG	-0.556		0.039	-1.09, -0.03			
	GALNT18-rs4910008-CT/TT	-0.879		0.005	-1.49, -0.27			
18 MESES								
Respuesta EULAR	Número de TB previas		0.597	0.010	0.34, 0.88	R ² Cox-Snell= 0.099	$\chi^2= 3.360$	$\chi^2= 7.333$
Remisión	Número de TB previas		0.653	0.018	0.46, 0.93	R ² Cox-Snell= 0.083	$\chi^2= 4.183$	$\chi^2= 6.103$
LDA	Número de TB previas		0.465	0.001	0.29, 0.74	R ² Cox-Snell= 0.198 R ² Nagelkerke= 0.301	$\chi^2=5.772$ p= 0.449	$\chi^2=15.451$ p= 0.0004
	GALNT18-rs4910008-TT		0.217	0.030	0.06, 0.86			

LDA: Baja actividad de la enfermedad, TB: terapias biológicas, *Likelihood Ratio Test

Tabla R5. Asociación bivariante entre variables clínicas y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses

Respuesta EULAR												
Variables Clínicas	6 meses						18 meses					
	N	Satisfactoria	Insatisfactoria	p	RR	IC _{95%}	N	Satisfactoria	Insatisfactoria	p	RR	IC _{95%}
Sexo	78						70					
Hombre	14	8 (57.1)	6 (42.9)	0.342			13	10 (76.9)	3 (23.1)	1.0		
Mujer	64	46 (71.9)	18 (28.1)				57	42 (73.7)	15 (26.3)			
Años de diagnóstico de la AR	78	46.0 [28.5-51.3]	49.0 [44.5-53.7]	0.082			70	46.0 [32.3-53.5]	48.5 [39.5-53.0]	0.447		
Edad de inicio con TCZ	78	51.9 ± 13.7	56.4 ± 9.6	0.155			70	51.7 ± 12.6	57.4 ± 13.4	0.112		
Duración de la enfermedad (años)	78	8.5 [2.8-15.3]	8.0 [6-13.5]	0.961			70	7.0 [2.0-12.0]	14.5 [7.5-18.8]	0.017		
Administración de TCZ	78						70					
Subcutánea	17	16 (94.1)	1 (5.9)	0.027	1.5	(1.2, 1.9)	54	37 (68.5)	17 (31.5)	0.053		
Intravenosa	61	38 (62.3)	23 (37.7)				16	15 (93.8)	1 (6.3)			
TB previas	78						70					
TNFi	29	20 (69.0)	9 (31.0)	0.002			26	20 (76.9)	6 (23.1)	0.007		
TNFi y TB no-TNFi	24	11 (45.8)	13 (54.2)				20	10 (50.0)	10 (50.0)			
naïve	25	23 (92.0)	2 (8.0)				24	22 (91.7)	2 (8.3)			
TB previas	53	31 (58.5)	22 (41.5)	0.006			46	30 (65.2)	16 (34.8)	0.034	1.4	(1.1-1.8)
Número de TB previas	53	1 [0.0-2.0]	2 [1.2-3.0]	0.001			70	1.0 [0.0-2.0]	3.0 [1.0-3.3]	0.004		
Duración de TB previas (meses)	78	10.5 [0.0-51.0]	30.0 [6.0-81.5]	0.038			70	8.0 [0.0-46.3]	54.0 [20.8-88.0]	0.006		
FAMEs Concomitante	78						70					
Leflunomida	9	6 (66.7)	3 (33.3)	0.769			9	7 (77.8)	2 (22.2)	0.965		
Monoterapia	34	25 (73.5)	9 (26.5)				30	22 (73.3)	8 (26.7)			

Tabla R5. Asociación bivariante entre variables clínicas y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses (continuación)

Metotrexato	35	23 (65.7)	12 (34.3)			31	23 (74.2)	8 (25.8)		
si	44	29 (65.9)	15 (34.1)	0.634		40	30 (75.0)	10 (25.0)	1.0	
no	34	25 (73.5)	9 (26.5)			30	22 (73.3)	8 (26.7)		
Corticosteroides concomitantes	78					70				
no	6	4 (66.7)	2 (33.3)	1.0		6	6 (100.0)	0 (0.0)	0.327	
si	72	50 (69.4)	22 (30.6)			64	46 (71.9)	18 (28.1)		
Factor Reumatoide						65				
negativo	27	19 (70.4)	8 (29.6)	1.0		27	15 (62.5)	9 (37.5)	0.180	
positivo	51	35 (68.6)	16 (31.4)			51	37 (80.4)	9 (19.6)		
Anti-CCP						55				
negativo	20	14 (70.0)	6 (30.0)	1.0		17	13 (76.5)	4 (23.5)	0.763	
positivo	54	37 (68.5)	17 (31.5)			49	35 (71.4)	14 (28.6)		
PCR basal	76	0.9 [0.3-2.0]	1.0 [0.6-2.0]	0.679		68	0.9 [0.4-2.1]	1.0 [0.5-2.1]	0.578	
VSG basal	78	30.0 [14.7-51.2]	30.0 [20.0-40.7]	0.858		70	31.5 [18.3-50.8]	28.5 [16.3-37.0]	0.386	
DAS28-VSG basal	78	5.6 ± 1.2	5.5 ± 0.7	0.691		70	5.6 ± 1.1	5.5 ± 1.1	0.785	
SDAI basal	78	30.4 [19.9-39.1]	28.9 [23.2-35.0]	0.946		67	30.0 [21.6-37.5]	27.3 [18.9-37.2]	0.871	
CDAI basal	78	27.1 ± 13.1	27.4 ± 9.8	0.919		67	27.8 ± 11.7	24.7 ± 12.5	0.347	
HAQ basal	78	1.7 [1.1-2.1]	1.9 [1.1-2.0]	0.946		70	1.6 ± 0.7	1.7 ± 0.6	0.426	

AR: Artritis Reumatoide, Anti-CCP: anti péptidos cíclicos citrulinados, CDAI: Clinical Disease Activity Index, DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism, FAMES: Fármacos modificadores de la enfermedad, HAQ: Health Assessment Questionnaire, PCR: Proteína C reactiva , SDAI: Simplified Disease Activity Index, TCZ: Tocilizumab , TB: Terapia biológica,, TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral , VSG: Velocidad de sedimentación globular , Variables con distribución normal: media ± desviación estándar., Variables con distribución no normal: mediana [rango intercuartílico;P25-P75].

Tabla R6. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses

Respuesta EULAR													
Polimorfismos genéticos	Ref	N	6 MESES					18 MESES					
			satisfactoria	insatisfactoria	p	RR	IC _{95%}	N	satisfactoria	insatisfactoria	p	RR	IC _{95%}
CD69 rs11052877		78						70					
AA		24	21 (87.5)	3 (12.5)	0.013			20	16 (80.0)	4 (20.0)	0.704		
AG		38	26 (68.4)	12 (31.6)				37	26 (70.3)	11 (29.7)			
GG		16	7 (43.8)	9 (56.3)				13	10 (76.9)	3 (23.1)			
A-	GG	62	47 (75.8)	15 (24.2)	0.030	1.7	(1.0, 3.1)	57	42 (73.7)	15 (26.3)	1.0		
G-	AA	54	33 (61.1)	21 (38.9)	0.039	0.7	(0.5, 0.9)	50	36 (72.0)	14 (28.0)	0.697		
CLEC2D.rs1560011		78						70					
AA		12	5 (41.7)	7 (58.3)	0.058			12	9 (75.0)	3 (25.0)	---		
AG		45	32 (71.1)	13 (28.9)				39	30 (76.9)	9 (23.1)			
GG		21	17 (81.0)	4 (19.0)				19	13 (68.4)	6 (31.6)			
A-		57	37 (64.9)	20 (35.1)	0.278			51	39 (76.5)	12 (23.5)	0.545		
G-		66	49 (74.2)	17 (25.8)	0.052			58	43 (74.1)	15 (25.9)	1.0		
GALNT18.rs4910008		78						70					
CC		16	14 (87.5)	2 (12.5)	0.119			15	13 (86.7)	2 (13.3)	0.332		
CT		37	22 (59.5)	15 (40.5)				32	24 (75.0)	8 (25.0)			
TT		25	18 (72.0)	7 (28.0)				23	15 (65.2)	8 (34.8)			
C-		53	36 (67.9)	17 (32.1)	0.919			47	37 (78.7)	10 (21.3)	0.356		
T-		62	40 (64.5)	22 (35.5)	0.127			55	39 (70.9)	16 (29.1)	0.323		
KCNMB1.rs703505		78						70					
AA		29	24 (82.8)	5 (17.2)	0.120			27	18 (66.7)	9 (33.3)	0.156		
AG		33	21 (63.6)	12 (36.4)				29	25 (86.2)	4 (13.8)			
GG		16	9 (56.3)	7 (43.8)				14	9 (64.3)	5 (35.7)			

Tabla R6. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y respuesta EULAR a los 6 y 18 meses (continuación)

A-	62	45 (72.6)	17 (27.4)	0.234			56	43 (76.8)	13 (23.2)	0.331		
G-	49	30 (61.2)	19 (38.8)	0.082			43	34 (79.1)	9 (20.9)	0.382		
ENOX1.rs9594987	78						70					
AA	21	17 (81.0)	4 (19.0)	0.369			20	17 (85.0)	3 (15.0)	0.296		
AG	36	24 (66.7)	12 (33.3)				31	23 (74.2)	8 (25.8)			
GG	21	13 (61.9)	8 (38.1)				19	12 (63.2)	7 (36.8)			
A-	57	41 (71.9)	16 (28.1)	0.566			51	40 (78.4)	11 (21.6)	0.226		
G-	57	37 (64.9)	20 (35.1)	0.278			50	35 (70.0)	15 (30.0)	0.320		
rs.10108210	78						70					
AA	26	20 (76.9)	6 (23.1)	0.073			24	21 (87.5)	3 (12.5)	0.039		
AC	34	19 (55.9)	15 (44.1)				29	17 (58.6)	12 (41.4)			
CC	18	15 (83.3)	3 (16.7)				17	14 (82.4)	3 (17.6)			
A-	60	39 (65.0)	21 (35.0)	0.235			53	38 (71.7)	15 (28.3)	0.529		
C-	52	34 (65.4)	18 (34.6)	0.435			46	31 (67.4)	15 (32.6)	0.124		
rs703297	78						70					
CC	19	12 (63.2)	7 (36.8)	0.182			17	12 (70.6)	5 (29.4)	---		
CT	41	32 (78.0)	9 (22.0)				35	26 (74.3)	9 (25.7)			
TT	18	10 (55.6)	8 (44.4)				18	14 (77.8)	4 (22.2)			
C-	60	44 (73.3)	16 (26.7)	0.253			52	38 (73.1)	14 (26.9)	0.765		
T-	59	42 (71.2)	17 (28.8)	0.709			53	40 (75.5)	13 (24.5)	0.753		

Tabla R7. Asociación bivariante entre variables clínicas y remisión a los 6 y 18 meses.

REMISIÓN												
Variables Clínicas	6 MESES						18 MESES					
	N	SI	NO	P	RR	IC _{95%}	N	SI	NO	p	RR	IC _{95%}
Sexo	78						70					
Hombre	14	7 (50.0)	7 (50.0)	1.0			13	9 (69.2)	4 (30.8)	0.581		
Mujer	64	34 (53.1)	30 (46.9)				57	32 (56.1)	25 (43.9)			
Años de diagnóstico de la AR	78	46.0 [32.5-53.0]	48.0 [40.5-52.5]	0.70			70	45.0 [28.0-51.5]	48.0 [40.5-53.5]	0.260		
Edad de inicio con TCZ	78	50.0 [40.5-61.0]	56.0 [48.5-64.0]	0.124			70	51.4 ± 13.4	55.7 ± 12.2	0.177		
Duración de la enfermedad (años)	78	7.0 [2.0-13.0]	10.0 [6.0-15.5]	0.114			70	8.0 [2.0-13.5]	11.0 [5.5-15.5]	0.261		
Administración de TCZ	78						70					
Subcutánea	17	14 (82.4)	3 (17.6)	0.012	1.9	(1.3, 2.7)	16	13 (81.3)	3 (18.8)	0.071		
Intravenosa	61	27 (44.3)	34 (55.7)				54	28 (51.9)	26 (48.1)			
TB previas	78						70					
TNFi	29	16 (55.2)	13 (44.8)	0.002			26	15 (57.7)	11 (42.3)	0.012		
TNFi y TB no-TNFi	24	6 (25.0)	18 (75.0)				20	7 (35.0)	13 (65.0)			
naïve	25	19 (76.0)	6 (24.0)				24	19 (79.2)	5 (20.8)			
TB previas	53	22 (41.5)	31 (58.5)	0.009	1.8	(1.2, 2.7)	46	22 (47.8)	24 (52.2)	0.023	1.7	(1.1, 2.4)
Número de TB previas	53	1.0 [0.0-2.0]	2.0 [1.0-3.0]	0.0001			70	1.0 [0.0-2.0]	2.0 [1.0-3.0]	0.008		
Duración de TB previas (meses)	78	7.0 [0.0-39.0]	36.0 [4.5-77.0]	0.014			70	7.0 [0.0-53.5]	26.0 [8.0-72.0]	0.067		
FAMEs Concomitante	78						70					
Leflunomida	9	5 (55.6)	4 (44.4)	---			9	4 (44.4)	5 (55.6)	0.599		

Tabla R7. Asociación bivariante entre variables clínicas y remisión a los 6 y 18 meses (continuación)

Monoterapia	34	18 (52.9)	16 (47.1)			30	19 (63.3)	11 (36.7)			
Metotrexato	35	18 (51.4)	17 (48.6)			31	18 (58.1)	13 (41.9)			
si	44	23 (52.3)	21 (47.7)	1.0		40	22 (55.0)	18 (45.0)	0.649		
no	34	18 (52.9)	16 (47.1)			30	19 (63.3)	11 (36.7)			
Corticosteroides concomitantes	78					70					
no	6	3 (50.0)	3 (50.0)	1.0		6	6 (100.0)	0 (0.0)	0.038	1.8	(1.5, 2.3)
si	72	38 (52.8)	34 (47.2)			64	35 (54.7)	29 (45.3)			
Factor Reumatoide	78					65					
negativo	27	16 (59.3)	11 (40.7)	0.646		24	13 (54.2)	11 (45.8)	0.776		
positivo	51	26 (51.0)	25 (49.0)			46	28 (60.9)	18 (39.1)			
Anti-CCP	74					66					
negativo	20	10 (50.0)	10 (50.0)	0.870		17	10 (58.8)	7 (41.2)	1.0		
positivo	54	30 (44.4)	24 (55.6)			49	28 (57.1)	21 (42.9)			
PCR basal	76	1.0 [0.3-2.0]	0.95 [0.6-2.0]	0.681		68	1.0 [0.3-2.2]	1.0 [0.5-1.9]	0.911		
VSG basal	78	36.0 [18.0-53.0]	28.0 [17.0-43.0]	0.312		70	36.0 [16.5-53.5]	26.0 [18.0-37.0]	0.20		
DAS28-VSG basal	78	5.6 ± 1.3	5.6 ± 0.7	0.920		70	5.6 ± 1.2	5.6 ± 0.9	0.831		
SDAI basal	78	30.3 [19.0-39.7]	29.0 [22.7-33.9]	0.907		67	27.8 [19.6-38.6]	30.0 [23.1-36.0]	0.613		
CDAI basal	78	28.0 ± 13.8	26.2 ± 9.8	0.527		67	26.8 ± 12.0	27.3 ± 12.0	0.867		
HAQ basal	78	1.7 [1.0-2.1]	2.0 [1.2-2.0]	0.497		70	1.5 ± 0.7	1.7 ± 0.6	0.322		

AR: Artritis Reumatoide, Anti-CCP: anti péptidos cíclicos citrulinados, CDAI: Clinical Disease Activity Index, DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism, FAMES: Fármacos modificadores de la enfermedad, HAQ: Health Assessment Questionnaire, PCR: Proteína C reactiva, SDAI: Simplified Disease Activity Index, TCZ: Tocilizumab, TB: Terapia biológica, TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral, VSG: Velocidad de sedimentación globular, Variables con distribución normal: media ± desviación estándar., Variables con distribución no normal: mediana [rango intercuartilico;P25-P75].

Tabla R8. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y remisión a los 6 y 18 meses

REMISIÓN													
POLIMORFISMOS GENÉTICOS	Ref	6 MESES						18 MESES					
		N	SI	NO	p	RR	IC95%	N	SI	NO	p	RR	IC95%
CD69 rs11052877		78						70					
AA		24	14 (58.3)	10 (41.7)	0.664			20	13 (65.0)	7 (35.0)	0.705		
AG		38	20 (52.6)	18 (47.4)				37	20 (54.1)	17 (45.9)			
GG		16	7 (43.8)	9 (56.3)				13	8 (61.5)	5 (38.5)			
A-		62	34 (54.8)	28 (45.2)	0.609			57	33 (57.9)	24 (42.1)	1.0		
G-		54	27 (50.0)	27 (50.0)	0.664			50	28 (56.0)	22 (44.0)	0.673		
CLEC2D.rs1560011		78						70					
AA		12	5 (41.7)	7 (58.3)	0.693			12	7 (58.3)	5 (41.7)	0.811		
AG		45	25 (55.6)	20 (44.4)				39	24 (61.5)	15 (38.5)			
GG		21	11 (52.4)	10 (47.6)				19	10 (52.6)	9 (47.4)			
A-		57	30 (52.6)	27 (47.4)	1.0			51	31 (60.8)	20 (39.2)	0.732		
G-		66	36 (54.5)	30 (45.5)	0.612			58	34 (58.6)	24 (41.4)	1.0		
GALNT18.rs4910008		78						70					
CC		16	13 (81.3)	3 (18.8)	0.036			15	11 (73.3)	4 (26.7)	0.405		
CT		37	17 (45.9)	20 (54.1)				32	18 (56.3)	14 (43.8)			
TT		25	11 (44.0)	14 (56.0)				23	12 (52.2)	11 (47.8)			
C-		53	30 (56.6)	23 (43.4)	0.425			47	29 (61.7)	18 (38.3)	0.616		
T-	CC	62	28 (45.2)	34 (54.8)	0.022	0.7	(0.6, 0.9)	55	30 (54.5)	25 (45.5)	0.311		
KCNMB1.rs703505		78						70					
AA		29	19 (65.5)	10 (34.5)				27	12 (44.4)	15 (55.6)			

Tabla R8. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y remisión a los 6 y 18 meses (continuación).

	AG	33	19 (57.6)	14 (42.4)				29	24 (82.8)	5 (17.2)		
	GG	16	3 (18.8)	13 (81.3)	0.008			14	5 (35.7)	9 (64.3)	0.002	
	A- GG	62	38 (61.3)	24 (38.7)	0.006	3.3	(1.2, 9.2)	56	36 (64.3)	20 (35.7)	0.101	
	G-	49	22 (44.9)	27 (55.1)	0.127			43	29 (67.4)	14 (32.6)	0.099	
ENOX1.rs9594987		78						70				
	AA	21	15 (71.4)	6 (28.6)	0.047			20	15 (75.0)	5 (25.0)	0.114	
	AG	36	19 (52.8)	17 (47.2)				31	18 (58.1)	13 (41.9)		
	GG	21	7 (33.3)	14 (66.7)				19	8 (42.1)	11 (57.9)		
	A-	57	34 (59.6)	23 (40.4)	0.070			51	33 (64.7)	18 (35.3)	0.152	
	G-	57	26 (45.6)	31 (54.4)	0.077			50	26 (52.0)	24 (48.0)	0.135	
rs.10108210		78						70				
	AA	26	17 (65.4)	9 (34.6)	0.027			24	18 (75.0)	6 (25.0)	0.039	
	AC	34	12 (35.3)	22 (64.7)				29	12 (41.4)	17 (58.6)		
	CC	18	12 (66.7)	6 (33.3)				17	11 (64.7)	6 (35.3)		
	A-	60	29 (48.3)	31 (51.7)	0.273			53	30 (56.6)	23 (43.4)	0.759	
	C-	52	24 (46.2)	28 (53.8)	0.173			46	23 (50.0)	23 (50.0)	0.078	
rs703297		78						70				
	CC	19	6 (31.6)	13 (68.4)	0.107			17	8 (47.1)	9 (52.9)	0.538	
	CT	41	24 (58.5)	17 (41.5)				35	22 (62.9)	13 (37.1)		
	TT	18	11 (61.1)	7 (38.9)				18	11 (61.1)	7 (38.9)		
	C-	60	30 (50.0)	30 (50.0)	0.576			52	30 (57.7)	22 (42.3)	1.0	
	T-	59	35 (59.3)	24 (40.7)	0.065			53	33 (62.3)	20 (37.7)	0.410	

Tabla R9. Asociación bivalente entre variables clínicas y LDA a los 6 y 18 meses

LDA												
Variables clínicas	6 MESES						18 MESES					
	N	SI	NO	p	RR	IC _{95%}	N	SI	NO	p	RR	IC _{95%}
Sexo	78						70					
Hombre	14	9 (64.3)	5 (35.7)	0.747			13	11 (84.6)	2 (15.4)	0.718		
Mujer	64	46 (71.9)	18 (28.1)				57	43 (75.4)	14 (24.6)			
Años de diagnóstico de la AR	78	46.0 [29.0-52.0]	49.0 [44.0-53.0]	0.162			70	46.0 [32.7-54.0]	48.0 [30.5-52.0]	0.955		
Edad de inicio con TCZ	78	52.2 ± 13.7	55.7 ± 9.3	0.197			70	52.3 ± 13.0	56.1 ± 13.0	0.306		
Duración de la enfermedad (años)	78	9.0 [3.0-15.0]	8.0 [6.0-14.0]	0.886			70	7.0 [2.0-12.0]	14.5 [8.0-20.3]	0.011		
Administración de TCZ	78						70					
Subcutánea	17	16 (94.1)	1 (5.9)	0.099			16	15 (93.8)	1 (6.3)	0.095		
Intravenosa	61	45 (73.8)	16 (26.2)				54	39 (72.2)	15 (27.8)			
TB previas	78						70					
TNFi	29	20 (69.0)	9 (31.0)	0.001			26	21 (80.8)	5 (19.2)	0.001		
TNFi y TB no-TNFi	24	11 (45.8)	13 (54.2)				20	10 (50.0)	10 (50.0)			
naïve	25	24 (96.0)	1 (4.0)		1.6	(1.3, 2.1)	24	23 (95.8)	1 (4.2)		1.4	(1.1, 1.8)
TB previas	53	31 (58.5)	22 (41.5)	0.002			46	31 (67.4)	15 (32.6)	0.017		
Número de TB previas		1.0 [0.0-2.0]	2.0 [2.0-3.0]	0.00034				1.0 [0.0-2.0]	3.0 [1.3-3.8]	0.001		
Duración de TB previas (meses)	78	9.0 [0.0-48.0]	36.0 [9.0-85.0]	0.017			70	8 [0.0-49.5]	54 [22.5-88]	0.003		
FAMÉs Concomitante	78						70					
Leflunomida	9	6 (66.7)	3 (33.3)	0.597			9	7 (77.8)	2 (22.2)	0.996		
Monoterapia	34	26 (76.5)	8 (23.5)				30	23 (76.7)	7 (23.3)			

Tabla R9. Asociación bivariante entre variables clínicas y LDA a los 6 y 18 meses (continuación).

Metotrexato	35	23 (65.7)	12 (34.3)			31	24 (77.4)	7 (22.6)		
si	44	29 (65.9)	15 (34.1)	0.445		40	31 (77.5)	9 (22.5)	1.0	
no	34	26 (76.5)	8 (23.5)			30	23 (76.7)	7 (23.3)		
Corticosteroides concomitantes	78					70				
no	6	4 (66.7)	2 (33.3)	1.0		6	6 (100.0)	0 (0.0)	0.325	
si	72	51 (70.8)	21 (29.2)			64	48 (75.0)	16 (25.0)		
Factor Reumatoide										
negativo	27	21 (77.8)	6 (22.2)	1.0		24	17 (70.8)	7 (29.2)	0.543	
positivo	51	40 (78.4)	11 (21.6)			46	37 (80.4)	9 (19.6)		
Anti-CCP										
negativo	20	16 (80.0)	4 (20.0)	1.0		17	13 (76.5)	4 (23.5)	1.0	
positivo	54	42 (77.8)	12 (22.2)			49	37 (75.5)	12 (24.5)		
PCR basal	76	1.0 [0.35-2.0]	1.0 [0.6-2.1]	0.618		68	1.0 [0.4-2.7]	0.9 [0.5-1.7]	0.919	
VSG basal	78	30.0 [14.2-50.7]	30.0 [20.0-43.5]	0.17		70	31.5 [18.0-50.3]	28.5 [17.0-36.5]	0.401	
DAS28-VSG basal	78	5.6 ± 1.2	5.6 ± 0.7	0.834		70	5.6 ± 1.1	5.7 ± 0.9	0.599	
SDAI basal	78	30.3 [19.0-38.9]	29.0 [24.7-35.7]	0.748		67	29.0 [21.0-37.3]	30.7 [21.4-39.0]	0.591	
CDAI basal	78	26.7 ± 13.2	28.2 ± 9.1	0.585		67	27.2 ± 12.0	26.3 ± 11.9	0.812	
HAQ basal	78	1.7 [1.0-2.1]	2.0 [1.2-2.0]	0.675		70	1.6 ± 0.7	1.8 ± 0.6	0.332	
AR: Artritis Reumatoide, Anti-CCP: anti péptidos cíclicos citrulinados, CDAI: Clinical Disease Activity Index, DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism, FAMES: Fármacos modificadores de la enfermedad, HAQ: Health Assessment Questionnaire, PCR: Proteína C reactiva , SDAI: Simplified Disease Activity Index, TCZ: Tocilizumab , TB: Terapia biológica, TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral , VSG: Velocidad de sedimentación globular , Variables con distribución normal: media ± desviación estándar., Variables con distribución no normal: mediana [rango intercuartilico;P25-P75].										

Tabla R10. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y LDA a los 6 y 18 meses.

LDA													
POLIMORFISMOS GENÉTICOS	Ref	6 MESES						18 MESES					
		N	SI	NO	p	RR	IC _{95%}	N	SI	NO	p	RR	IC _{95%}
CD69 rs11052877		78						70					
AA		24	21 (87.5)	3 (12.5)	0.012			20	16 (80.0)	4 (20.0)	---		
AG		38	27 (71.1)	11 (28.9)				37	28 (75.7)	9 (24.3)			
GG		16	7 (43.8)	9 (56.3)				13	10 (76.9)	3 (23.1)			
A-	GG	62	48 (77.4)	14 (22.6)	0.014	1.8	(1.0, 3.1)	57	44 (77.2)	13 (22.8)	1.0		
G-	AA	54	34 (63.0)	20 (37.0)	0.054	0.7	(0.6, 0.9)	50	38 (76.0)	12 (24.0)	1.0		
CLEC2D.rs1560011		78						70					
AA		12	5 (41.7)	7 (58.3)	0.048			12	9 (75.0)	3 (25.0)	----		
AG		45	33 (73.3)	12 (26.7)				39	32 (82.1)	7 (17.9)			
GG		21	17 (81.0)	4 (19.0)				19	13 (68.4)	6 (31.6)			
A-		57	38 (66.7)	19 (33.3)	0.343			51	41 (80.4)	10 (19.6)	0.343		
G-	AA	66	50 (75.8)	16 (24.2)	0.042	1.8	(0.9, 3.6)	58	45 (77.6)	13 (22.4)	1.0		
GALNT18.rs4910008		78						70					
CC		16	14 (87.5)	2 (12.5)	0.093			15	13 (86.7)	2 (13.3)	0.231		
CT		37	22 (59.5)	15 (40.5)				32	26 (81.3)	6 (18.8)			
TT		25	19 (76.0)	6 (24.0)				23	15 (65.2)	8 (34.8)			
C-		53	36 (67.9)	17 (32.1)	0.643			47	39 (83.0)	8 (17.0)	0.174		
T-		62	41 (66.1)	21 (33.9)	0.128			55	41 (74.5)	14 (25.5)	0.492		
KCNMB1.rs703505		78						70					
AA		29	24 (82.8)	5 (17.2)	0.143			27	20 (74.1)	7 (25.9)	0.246		
AG		33	22 (66.7)	11 (33.3)				29	25 (86.2)	4 (13.8)			
GG		16	9 (56.3)	7 (43.8)				14	9 (64.3)	5 (35.7)			

Tabla R10. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y LDA a los 6 y 18 meses (continuación)

A-	62	46 (74.2)	16 (25.8)	0.219			56	45 (80.4)	11 (19.6)	0.284		
G-	49	31 (63.3)	18 (36.7)	0.117			43	34 (79.1)	9 (20.9)	0.848		
ENOX1.rs9594987	78						70					
AA	21	17 (81.0)	4 (19.0)	0.393			20	17 (85.0)	3 (15.0)	---		
AG	36	25 (69.4)	11 (30.6)				31	24 (77.4)	7 (22.6)			
GG	21	13 (61.9)	8 (38.1)				19	13 (68.4)	6 (31.6)			
A-	57	42 (73.7)	15 (26.3)	0.464			51	41 (80.4)	10 (19.6)	0.343		
G-	57	38 (66.7)	19 (33.3)	0.343			50	37 (74.0)	13 (26.0)	0.529		
rs.10108210	78						70					
AA	26	21 (80.8)	5 (19.2)	0.044			24	21 (87.5)	3 (12.5)	0.041		
AC	34	19 (55.9)	15 (44.1)				29	18 (62.1)	11 (37.9)			
CC	18	15 (83.3)	3 (16.7)				17	15 (88.2)	2 (11.8)			
A-	60	40 (66.7)	20 (33.3)	0.287			53	39 (73.6)	14 (26.4)	0.323		
C-	52	34 (65.4)	18 (34.6)	0.254			46	33 (71.7)	13 (28.3)	0.234		
rs703297	78						70					
CC	19	12 (63.2)	7 (36.8)	0.304			17	12 (70.6)	5 (29.4)	---		
CT	41	32 (78.0)	9 (22.0)				35	26 (74.3)	9 (25.7)			
TT	18	11 (61.1)	7 (38.9)				18	16 (88.9)	2 (11.1)			
C-	60	44 (73.3)	16 (26.7)	0.482			52	38 (73.1)	14 (26.9)	0.209		
T-	59	43 (72.9)	16 (27.1)	0.604			53	42 (79.2)	11 (20.8)	0.513		

LDA: Baja actividad de la enfermedad

Tabla R11. Asociación bivariante entre variables clínicas y mejora del DAS28 a los 6 y 18 meses

Descenso del DAS28						
VARIABLES CLÍNICAS	6 MESES			18 MESES		
	N		P	N		P
Sexo	78			66		
Hombre	14	2.1 ± 1.2	0.042	12	3.1 ± 1.5	0.179
Mujer	64	3.0 ± 1.6		54	2.8 ± 1.2	0.457
Años de diagnóstico de la AR	78	Rho Spearman -0.149	0.193	66	Rho Pearson -0.093	0.457
Edad de inicio con TCZ	78	Rho Pearson -0.196	0.086	66	Rho Pearson -0.229	0.064
Duración de la enfermedad (años)	78	Rho Pearson -0.105	0.358	66	Rho Pearson -0.226	0.068
Administración de TCZ				66		
Subcutánea	17	3.8 ± 1.4	0.005	16	3.6 ± 1.0	0.145
Intravenosa	61	2.6 ± 1.5		50	2.9 ± 1.6	
TB previas	78			66		
TNFi	29	2.7 ± 1.5	0.006	24	3.2 ± 1.5	0.010 TNFi ó TB no-TNFi vs naïve
TNFi y TB no-TNFi	24	2.3 ± 1.4		18	2.2 ± 1.5	
Naïve	25	3.6 ± 1.4		24	3.6 ± 1.2	
TB previas	53	2.5 ± 1.5	0.001	42	2.8 ± 1.6	0.041
Número de TB previas		Rho Spearman -0.361	0.003	42	Rho Spearman -0.347	0.002
Duración de TB previas (meses)	78	Rho Spearman -0.282	0.012	42	Rho Pearson -0.111	0.483
FAMEs Concomitante	78			66		
Leflunomida	9	3.4 [1.7-4.0]	0.748	9	2.8 ± 1.1	0.518 Methotrexato vs monoterapia
Monoterapia	34	2.3 [1.6-3.8]		28	2.8 ± 1.7	

Tabla R11. Asociación bivariante entre variables clínicas y mejora del DAS28 a los 6 y 18 meses (continuación)

Metotrexato	35	3.0 [1.8-4.3]		29	3.4 ± 1.3	
si	44	3.1 [1.8-4.2]	0.447	38	3.2 ± 1.3	0.286
no	34	2.3 [1.6-3.8]		28	2.8 ± 1.7	
Corticosteroides concomitantes	78			66		
no	6	2.7 ± 1.1	0.794	6	3.4 ± 0.5	0.604
si	72	2.9 ± 1.6		60	3.0 ± 1.5	
Factor Reumatoide						
negativo	27	2.9 ± 1.6	0.988	24	2.8 ± 1.5	0.273
positivo	51	2.9 ± 1.6		42	3.2 ± 1.5	
Anti-CCP						
negativo	20	2.9 ± 1.8	0.913	17	3.1 ± 1.4	0.879
positivo	54	2.9 ± 1.6		45	3.1 ± 1.6	
PCR basal	78	Rho Spearman 0.007	0.953	64	Rho Spearman 0.078	0.538
VSG basal	78	Rho Pearson 0.418	0.00014	66	Rho Pearson 0.464	8.7·10 ⁻⁵
DAS28-VSG basal	78	Rho Pearson 0.640	2.8·10 ⁻¹⁰	66	Rho Pearson 0.60	1·10 ⁻⁷
SDAI basal	78	Rho Pearson 0.421	0.0001	63	Rho Pearson 0.353	0.005
CDAI basal	78	Rho Pearson 0.470	2.09·10 ⁻⁵	63	Rho Pearson 0.470	1·10 ⁻⁴
HAQ basal	78	Rho Pearson 0.210	0.065	66	Rho Pearson 0.048	0.702

AR: Artritis Reumatoide, Anti-CCP: anti péptidos cíclicos citrulinados, CDAI: Clinical Disease Activity Index, DAS28: 28-joint DAS; EULAR: European League Against Rheumatism, FAMES: Fármacos modificadores de la enfermedad, HAQ: Health Assessment Questionnaire, PCR: Proteína C reactiva, SDAI: Simplified Disease Activity Index, TCZ: Tocilizumab, TB: Terapia biológica, TNFi: inhibidor del factor de necrosis tumoral, VSG: Velocidad de sedimentación globular, Variables con distribución normal: media ± desviación estándar., Variables con distribución no normal: mediana [rango intercuartilico;P25-P75].

Tabla R12. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y mejora en el DAS28 a los 6 y 18 meses.

Descenso del DAS28												
POLIMORFISMOS GENÉTICOS	6 MESES						18 MESES					
	N		p	asociaciones (p)	RR	IC95%	N		p	asociaciones (p)	RR	IC95%
CD69 rs11052877	78											
AA	24	3.5 ± 1.7	0.141				19	4.1 [2.1-4.7]	0.246			
AG	38	2.7 ± 1.4					35	3.0 [2.4-3.4]				
GG	16	2.5 ± 1.7					12	3.3 [2.1-3.6]				
A-	62	3.0 ± 1.5	0.238				54	3.0 ± 1.4	0.995			
G-	54	2.6 ± 1.4	0.027				47	3.1 [2.1-4.7]	0.117			
CLEC2D.rs1560011	78											
AA	12	2.5 ± 2.0	0.768				11	3.0 ± 1.8	1.0			
AG	45	2.8 ± 1.5					37	3.1 ± 1.4				
GG	21	3.1 ± 1.4					18	3.0 ± 1.5				
A-	57	2.8 ± 1.6	0.345				48	3.1 ± 1.5	0.737			
G-	66	3.0 ± 1.5	0.373				55	3.0 ± 1.4	0.869			
GALNT18.rs4910008	78											
CC	16	3.9 ± 1.8	0.005	CC vs CT			14	3.7 ± 1.7	0.236			
CT	37	2.4 ± 1.3					31	2.9 ± 1.4		CC vs CT		
TT	25	2.9 ± 1.5					21	2.9 ± 1.4				
C-	53	2.9 ± 1.6	0.947				45	3.1 ± 1.5	0.592			
T-	62	2.6 ± 1.4	0.019				52	2.9 ± 1.4	0.064			
KCNMB1.rs703505	78											
AA	29	3.2 ± 1.6	0.460				24	2.9 [2.1-4.1]	0.489			
AG	33	2.6 ± 1.5					28	3.3 [2.9-3.8]				
GG	16	2.8 ± 1.6					14	2.7 [1.6-4.1]				

Tabla R12. Asociación bivariante entre polimorfismos genéticos y mejora en el DAS28 a los 6 y 18 meses (continuación)

A-	62	2.9 ± 1.5	0.825				52	3.1 ± 1.4	0.666			
G-	49	2.7 ± 1.5	0.159				42	3.1 ± 1.3	0.693			
ENOX1.rs9594987	78											
AA	21	3.1 ± 1.6	1.0				20	3.0 ± 1.3	1.0			
AG	36	2.8 ± 1.5					29	3.1 ± 1.5				
GG	21	2.7 ± 1.6					17	3.0 ± 1.7				
A-	57	2.9 ± 1.5	0.657				49	3.2 [2.5-3.8]	0.552			
G-	57	2.7 ± 1.6	0.332				46	3.0 ± 1.6	0.967			
rs.10108210	78											
AA	26	3.0 ± 1.3	0.038	CC vs AC			22	3.4 ± 1.1	0.135			
AC	34	2.4 ± 1.5					27	2.6 ± 1.6				
CC	18	3.6 ± 1.7					17	3.5 ± 1.4				
A-	60	2.7 ± 1.4	0.031				49	2.9 ± 1.5	0.179			
C-	52	2.8 ± 1.6	0.719				44	2.9 ± 1.6	0.272			
rs703297	78											
CC	19	2.7 ± 1.5	0.515				16	3.4 [1.9-4.1]	0.704			
CT	41	3.1 ± 1.6					32	3.2 [2.4-4.1]				
TT	18	2.5 ± 1.4					18	3.1 [2.1-3.5]				
C-	60	3.0 ± 1.6	0.238				48	3.2 [2.4-4.1]	0.403			
T-	59	2.9 ± 1.6	0.692				50	3.0 ± 1.4	0.796			

DISCUSIÓN

7 DISCUSIÓN

La variabilidad interindividual en la respuesta a las TB en pacientes con AR puede dar lugar hasta un 40% de no respondedores^{35, 75, 76}. TCZ, un inhibidor del receptor de la IL-6, ha mostrado tasas de respuesta EULAR por encima del 80% y alrededor del 35-55% de remisión en tres estudios multicéntricos, observacionales, prospectivos, que en su totalidad incluyen más de 1500 pacientes diagnosticados de AR con un seguimiento mínimo de 6 meses³²⁻³⁴, y un ensayo clínico doble ciego a 3 años de 556 pacientes con AR tratados con TCZ durante un período de 26 meses³¹. Porcentajes similares fueron reflejados en los 78 pacientes incluidos en nuestro estudio, siendo la respuesta EULAR satisfactoria a TCZ del 69.2% a los 6 meses, incrementándose hasta 74.3% a los 18 meses. Las tasas de remisión fueron también similares a las previamente descritas, con un resultado de 52.6% y 58.6% a los 6 y 18 meses, respectivamente. Nuestros pacientes alcanzaron mejores tasas de LDA después de 6 y 18 meses con TCZ (70.5% y 77.1%), en comparación a las descritas en diferentes estudios que oscilan entre un 48-66%^{25, 33, 34, 39, 42, 43}.

A pesar de la buena efectividad de TCZ, en la práctica clínica actual se prescribe generalmente después de no conseguir el objetivo terapéutico o tener alguna reacción adversa a TNFi, debido principalmente a la insuficiente experiencia clínica para dar prioridad a los agentes biológicos más nuevos como TCZ sobre TNFi. No obstante las recomendaciones de la EULAR actualizadas a fecha de 2013, para el tratamiento de la AR, establecieron el uso de TNFi, Abatacept, Rituximab o TCZ tras fallo a FAMEs cuando se dieran factores de pobre pronóstico, con ninguna preferencia entre los biológicos¹⁹. Los estudios más recientes han demostrado la capacidad de TCZ para superar en efectividad a los TNFi, particularmente mejorando el descenso del DAS28, la remisión, y la respuesta EULAR^{25, 35, 77}. Un amplio estudio nacional multicéntrico en pacientes portugueses con AR, aquellos que fueron tratados con TCZ (n=95) mostraron mayores tasas de remisión (57.9% vs 23.8%; OR= 4.4; CI_{95%}: 2.8-7; p<0.001) y mejor respuesta EULAR (64.2% vs 33.3%; OR=3.6; CI_{95%}: 2.3-5.7; p<0.001) a los 6 meses, en comparación a los pacientes tratados con TNFi (n=429)²⁵. Resultados similares de remisión se obtuvieron en un estudio observacional, comparativo, retrospectivo de 1603 pacientes alemanes diagnosticados de AR en tratamiento con TCZ ó TNFi durante 12 meses (40.8% vs 26.3%; OR=1.6; CI_{95%}: 1.3-1.8; p<0.0001)³⁵. Además, TCZ en monoterapia ha demostrado superioridad en eficacia a Adalimumab en monoterapia, uno de los biológicos TNFi más prescritos. Esta afirmación se puede observar en un ensayo clínico controlado, randomizado, doble-ciego, en fase 4, que se realizó en 325 pacientes con AR en los que el MTX fue

considerado inapropiado por falta de efectividad o toxicidad, y eran naïve para TB al comenzar la terapia con TCZ³⁹. En el ensayo clínico los pacientes presentaron mayores tasas de remisión (39.9% vs 10.5%), mejores tasas de respuesta EULAR (77.9% vs 54.9%) y mejores resultados de LDA (51.5% vs 19.8%)³⁹.

Además de una efectividad mejorada con respecto a los TNFi, algunos estudios han sugerido que la administración de TCZ en etapas tempranas de la enfermedad mejora las tasas de respuesta EULAR y remisión. Los pacientes con edad superior a 55 años que iniciaron tratamiento con TCZ obtuvieron peor respuesta EULAR (OR: 0.285; CI_{95%}: 0.086-0.95; p= 0.007) e inferior remisión (OR: 0.948; CI_{95%}: 0.92-0.97; p= 0.013) en un estudio de 204 pacientes con AR tratados con TCZ durante un período de 6 meses⁴². Iniciar tratamiento con TCZ con una duración de la enfermedad ≤3 años estuvo asociado a una mayor remisión a las 52 semanas de tratamiento (OR: 2.96; CI_{95%}: 1.56-5.59; p<0.05) en un estudio de cohortes de 240 pacientes con AR⁴¹. En consonancia con lo descrito, en nuestros pacientes, el análisis bivariante nos proporcionó mejores tasas de respuesta EULAR, remisión, y LDA cuando los pacientes habían sido tratados de forma previa con un menor número de TB y durante un periodo de tiempo inferior. Sin embargo, el análisis multivariante demostró que la única variable clínica asociada a respuesta EULAR, remisión y LDA fue el número de TB administradas antes del inicio con TCZ (Tabla R3). Se encontraron resultados similares en dos estudios multicéntricos observacionales con 530 y 126 pacientes diagnosticados de AR tratados con TCZ durante un período de 24 y 6 meses, respectivamente. Igual que en nuestro estudio, ninguna asociación fue encontrada entre la edad de inicio de TCZ y duración de la enfermedad, con la respuesta EULAR, LDA y remisión^{32, 33, 78}.

La utilización de TCZ como primera opción de TB tras fallo con FAME incrementó las tasas de remisión (OR: 7.6; CI_{95%}: 4-14.5; p= 0.001), LDA (OR: 4.6; CI_{95%}: 2.4-9; p= 0.001) y respuesta EULAR (OR: 6.2; CI_{95%}: 3.2-12.1; p= 0.001) en 95 pacientes AR después de 6 meses de tratamiento²⁵ y disminuyó el SDAI en 273 pacientes con AR tratados con TCZ durante 13 meses (CR: 0.24; p=0.01)⁴⁴. En nuestros pacientes, el uso de TCZ como la primera opción de biológico (pacientes naïve) incrementó los porcentajes de todas las variables respuesta a los 6 y 18 meses (respuesta EULAR, remisión, LDA y mejora del DAS28); no obstante, en el análisis multivariante no pudo replicarse dicha asociación entre las variables respuesta y la variable independiente naïve a TB. Incluso los estudios que no apoyan la utilidad de TCZ por encima de los TNFi en la mejora de la remisión y respuesta EULAR^{32, 42}, mostraron mayores tasas de continuación entre los pacientes naïve para TB (81%), en comparación a aquellos quienes

estuvieron expuestos a uno o más TNFi (66%), como describió H. Forsblad-d'Elia en 530 pacientes de AR tratados con TCZ durante 24 meses³².

La genética juega un papel importante en la variabilidad de la respuesta a diferentes TB en pacientes con AR⁷⁹⁻⁸¹. La influencia de los polimorfismos genéticos en la respuesta a la terapia con TCZ ha sido únicamente investigada en un reciente GWAS, el cual ha identificado varios SNPs en los genes CD69 (rs11052877), GALNT18 (rs4910008), CLEC2D (rs1560011), KCNMB1 (rs703505), ENOX1 (rs9594987) y las variantes genéticas rs10108210, rs703297⁵⁸. El actual estudio en 78 pacientes con AR investigó la utilidad de estos marcadores genéticos, y con ello identificar predictores de respuesta a TCZ. Entre todos los SNPs incluidos en el estudio, sólo GALNT18 y CD69 mostraron asociación independiente para todas las variables respuesta (respuesta EULAR, remisión, LDA y mejora del DAS28) (Tabla R3). El alelo A del gen CD69 estuvo presente entre aquellos pacientes con mejores resultados de respuesta EULAR satisfactoria, LDA y mejora del DAS28 a los 6 meses de tratamiento. El genotipo CC para GALNT18 estuvo asociado a respuesta EULAR satisfactoria, mayor remisión y disminución en el DAS28 a los 6 meses, y mayores tasas de LDA después de 18 meses. Ambos SNPs podrían por lo tanto predecir mejor respuesta a TCZ a los 6 meses, y el alelo C de GALNT18 podría también ser considerado como un buen predictor de respuesta a los 18 meses.

TCZ es un inhibidor del receptor de la IL-6, el cual actúa antagonizando los efectos de dicha interleuquina que son activar la vía de diferenciación T_H17 mediado por los factores de transcripción Stat3 y ROR γ t, finalmente disminuyendo la respuesta inflamatoria.

Los receptores CD69, presentes en la membrana de las células T después de su activación, también son capaces de inhibir la vía de diferenciación T_H17 en dos niveles: el factor de transcripción Stat5 fosforilado inhibe la activación de Stat3, o también puede activar el Factor de transcripción FoxP3, que inhibe la activación del factor de transcripción ROR γ t procedente de la vía de activación del receptor de la IL6 y Stat3^{82, 83}. Un estudio reciente en 39 pacientes con AR después de un año de tratamiento con TCZ ha demostrado una disminución aproximada del 50% de monocitos con fenotipos CD69⁺CD14⁺/CD14⁺ (p<0.001)⁸⁴.

Actualmente, no hay información disponible de un efecto funcional del polimorfismo CD69-rs11052877, situado en la región 3' no traducida, en la actividad o la expresión del receptor, pero una modificación potencial de esta vía de transducción podría ser una posible explicación de la mejor respuesta en nuestros pacientes portadores del alelo A.

En cuanto a GALNT18, un miembro catalíticamente inactivo de la enzima UDP N-acetilgalactosamina (GalNAc): un polipéptido de la familia transferasas GalNAc, puede funcionar como chaperona para mejorar la actividad de la transferasa GalNAc⁸⁵. No hay

estudios que relacionen este gen a la AR o a la vía de la IL-6, que podría servir como base para explicar la mejor respuesta al tratamiento de nuestros pacientes portadores del genotipo CC para rs4910008.

Nuestros pacientes mostraron mejores tasas de respuesta (respuesta EULAR, remisión, LDA) a los 6 y 18 meses, cuando habían sido tratados con un número más bajo de TB de forma previa, y junto con los polimorfismos genéticos de GALNT18 y CD69. De hecho, un número más bajo de TB previas fue el único predictor de respuesta EULAR satisfactoria y remisión a los 18 meses de tratamiento con TCZ. Por lo tanto, la administración temprana de TCZ, es decir, la elección de TCZ sobre otras alternativas de TB puede haber favorecido una mejor respuesta en los pacientes. Considerando en conjunto los factores clínicos y genéticos, los resultados en nuestros pacientes indican que las mejores tasas de respuesta son alcanzadas en aquellos pacientes portadores del alelo C del gen GALNT18 ó el alelo A del gen CD69, y con un número más bajo de TB previas al inicio del tratamiento con TCZ. De esta forma se podría proponer un guiado al reumatólogo proponiendo TCZ como opción terapéutica tras fallo a terapia TNFi ó en aquellos pacientes naïve a TB.

La principal limitación de este estudio es el tamaño de la muestra, que puede haber causado la falta de asociación en algunos SNPs. No obstante, este tamaño limitado de la muestra fue suficiente para evidenciar asociaciones consistentes en los genes CD69 y GALNT18 con las variables respuesta, posicionándose estos SNPs como biomarcadores potenciales para identificar a los pacientes que se beneficiarían del tratamiento con TCZ en la práctica clínica. Nuevos estudios serían necesarios para confirmar estas asociaciones en otras poblaciones.

CONCLUSIONES

8 CONCLUSIONES

Los pacientes tratados con TCZ consiguen resultados satisfactorios en las variables respuesta EULAR (69.2/74.3), LDA (70.5/77.1), remisión (52.6/58.6) y descenso del DAS28 ($2.9 \pm 1.6/3.1 \pm 1.5$) a los 6 y 18 meses de tratamiento respectivamente.

Los pacientes que son portadores del alelo C del SNPs rs4910008 del gen GALNT18 y el alelo A de rs11052877 del gen CD69 muestran mejores tasas de respuesta EULAR, y descenso del DAS28 a los 6 meses de tratamiento con TCZ, particularmente cuando un menor número de TB ha sido previamente administrado al inicio de la terapia. La administración subcutánea de TCZ y un elevado DAS28 basal también predicen un mayor descenso del DAS28 a los 6 meses.

El alelo C para el rs4910008 del gen GALNT18 está asociado a mayor remisión en pacientes que son tratados con un menor número de TB previas, a los 6 meses de tratamiento con TCZ.

El alelo A para el rs11052877 del gen CD69 y un número más bajo de TB previas son predictores de mejores resultados de LDA a los 6 meses de terapia con TCZ.

A los 18 meses de tratamiento son factores independientes para predecir mayor respuesta LDA el alelo C del gen GALNT18 y un menor número de TB previas.

La administración del menor número de TB de forma previa predice respuesta EULAR y remisión de la enfermedad a los 18 meses de tratamiento con TCZ.

En nuestros pacientes no se ha encontrado ninguna asociación entre las variables clínicas ni genéticas con la mejora del DAS28 a los 18 meses de iniciar TCZ.

REFERENCIAS

9 REFERENCIAS

1. Cross M, Smith E, Hoy D, Carmona L, Wolfe F, Vos T, *et al.* The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Annals of the rheumatic diseases* 2014; **73**(7): 1316-1322.
2. Carmona L. Epidemiología de la artritis reumatoide. *TITLEREVISTA* 2002; **29**(03): 86-90.
3. Canete JD. [Biopathology of the synovial membrane in psoriatic arthritis]. *Reumatologia clinica* 2012; **8 Suppl 1**: S10-14.
4. Manzo A, Bombardieri M, Humby F, Pitzalis C. Secondary and ectopic lymphoid tissue responses in rheumatoid arthritis: from inflammation to autoimmunity and tissue damage/remodeling. *Immunological reviews* 2010; **233**(1): 267-285.
5. Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *The Journal of clinical investigation* 2008; **118**(11): 3537-3545.
6. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD, Tanasescu R. Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Maedica (Buchar)* 2010; **5**(4): 286-291.
7. Dutschmann L, Ferreira C, De Sousa G, Miranda MI, Santos MJ, Pereira MJ, *et al.* [Cardiac manifestations of connective tissue diseases]. *Acta medica portuguesa* 1989; **2**(2): 103-110.
8. Yamakido M, Ishioka S, Takeda M. [Cardiac and pulmonary manifestations in rheumatoid arthritis]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine* 1992; **50**(3): 570-575.
9. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism* 2010; **62**(9): 2569-2581.
10. Sanmarti R, Garcia-Rodriguez S, Alvaro-Gracia JM, Andreu JL, Balsa A, Caliz R, *et al.* 2014 update of the Consensus Statement of the Spanish Society of Rheumatology on the use of biological therapies in rheumatoid arthritis. *Reumatologia clinica* 2015; **11**(5): 279-294.
11. Behrens F, Koehm M, Burkhardt H. Update 2011: leflunomide in rheumatoid arthritis - strengths and weaknesses. *Current opinion in rheumatology* 2011; **23**(3): 282-287.

12. Manders SH, Kievit W, Jansen TL, Stolk JN, Visser H, Schilder AM, et al. Effectiveness of Tumor Necrosis Factor Inhibitors in Combination with Various csDMARD in the Treatment of Rheumatoid Arthritis: Data from the DREAM Registry. *The Journal of rheumatology* 2016.
13. van der Maas A, Kievit W, van den Bemt BJ, van den Hoogen FH, van Riel PL, den Broeder AA. Down-titration and discontinuation of infliximab in rheumatoid arthritis patients with stable low disease activity and stable treatment: an observational cohort study. *Annals of the rheumatic diseases* 2012; **71**(11): 1849-1854.
14. van den Bemt BJ, den Broeder AA, Snijders GF, Hekster YA, van Riel PL, Benraad B, et al. Sustained effect after lowering high-dose infliximab in patients with rheumatoid arthritis: a prospective dose titration study. *Annals of the rheumatic diseases* 2008; **67**(12): 1697-1701.
15. van Herwaarden N, Herfkens-Hol S, van der Maas A, van den Bemt BJ, van Vollenhoven RF, Bijlsma JW, et al. Dose reduction of tocilizumab in rheumatoid arthritis patients with low disease activity. *Clinical and experimental rheumatology* 2014; **32**(3): 390-394.
16. Bori Segura G, Hernandez Cruz B, Gobbo M, Lanás Arbeloa A, Salazar Paramo M, Teran Estrada L, et al. [Appropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs in rheumatology: guidelines from the Spanish Society of Rheumatology and the Mexican College of Rheumatology]. *Reumatologia clinica* 2009; **5**(1): 3-12.
17. Nagalski A, Kiersztan A. [Physiology and molecular mechanism of glucocorticoid action]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)* 2010; **64**: 133-145.
18. Buttgerit F, Straub RH, Wehling M, Burmester GR. Glucocorticoids in the treatment of rheumatic diseases: an update on the mechanisms of action. *Arthritis and rheumatism* 2004; **50**(11): 3408-3417.
19. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the rheumatic diseases* 2014; **73**(3): 492-509.
20. Fox RI, Kang HI. Mechanism of action of antimalarial drugs: inhibition of antigen processing and presentation. *Lupus* 1993; **2 Suppl 1**: S9-12.
21. Rodríguez-Caruncho C, Bielsa Marsol I. Antimalarials in Dermatology: Mechanism of Action, Indications, and Side Effects. *Actas dermo-sifiliograficas* 2014.

22. Martinez-Augustin O, Lopez-Posadas R, Gonzalez R, Suarez MD, Zarzuelo A, Sanchez de Medina F. Genomic analysis of sulfasalazine effect in experimental colitis is consistent primarily with the modulation of NF-kappaB but not PPAR-gamma signaling. *Pharmacogenetics and genomics* 2009; **19**(5): 363-372.
23. Visser K, van der Heijde D. Optimal dosage and route of administration of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. *Annals of the rheumatic diseases* 2009; **68**(7): 1094-1099.
24. Chen JS, Makovey J, Lassere M, Buchbinder R, March LM. Comparative effectiveness of anti-tumor necrosis factor drugs on health-related quality of life among patients with inflammatory arthritis. *Arthritis care & research* 2014; **66**(3): 464-472.
25. Romao VC, Santos MJ, Polido-Pereira J, Duarte C, Nero P, Miguel C, *et al.* Comparative Effectiveness of Tocilizumab and TNF Inhibitors in Rheumatoid Arthritis Patients: Data from the Rheumatic Diseases Portuguese Register, Reuma.pt. 2015; **2015**: 279890.
26. Nestorov I. Clinical pharmacokinetics of tumor necrosis factor antagonists. *The Journal of rheumatology Supplement* 2005; **74**: 13-18.
27. Jani M, Chinoy H, Warren RB, Griffiths CE, Plant D, Morgan AW, *et al.* Clinical utility of random anti-tumour necrosis factor drug testing and measurement of anti-drug antibodies on long-term treatment response in rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England)* 2015; **385** Suppl 1: S48.
28. Ho LJ, Luo SF, Lai JH. Biological effects of interleukin-6: Clinical applications in autoimmune diseases and cancers. *Biochemical pharmacology* 2015; **97**(1): 16-26.
29. Tanaka T, Narazaki M, Ogata A, Kishimoto T. A new era for the treatment of inflammatory autoimmune diseases by interleukin-6 blockade strategy. *Seminars in immunology* 2014; **26**(1): 88-96.
30. Ducreux J, Durez P, Galant C, Nzeusseu Toukap A, Van den Eynde B, Houssiau FA, *et al.* Global molecular effects of tocilizumab therapy in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)* 2014; **66**(1): 15-23.
31. Huizinga TW, Conaghan PG, Martin-Mola E, Schett G, Amital H, Xavier RM, *et al.* Clinical and radiographic outcomes at 2 years and the effect of tocilizumab discontinuation following sustained remission in the second and third year of the ACT-RAY study. *Annals of the rheumatic diseases* 2015; **74**(1): 35-43.

32. Forsblad-d'Elia H, Bengtsson K, Kristensen LE, Jacobsson LT. Drug adherence, response and predictors thereof for tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis: results from the Swedish biologics register. *Rheumatology (Oxford, England)* 2015; **54**(7): 1186-1193.

33. Narvaez J, Magallares B, Diaz Torne C, Hernandez MV, Reina D, Corominas H, *et al.* Predictive factors for induction of remission in patients with active rheumatoid arthritis treated with tocilizumab in clinical practice. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2015.

34. Iking-Konert C, von Hinuber U, Richter C, Schwenke H, Gurtler I, Kastner P, *et al.* ROUTINE-a prospective, multicentre, non-interventional, observational study to evaluate the safety and effectiveness of intravenous tocilizumab for the treatment of active rheumatoid arthritis in daily practice in Germany. *Rheumatology (Oxford, England)* 2015.

35. Backhaus M, Kaufmann J, Richter C, Wassenberg S, Roske AE, Hellmann P, *et al.* Comparison of tocilizumab and tumour necrosis factor inhibitors in rheumatoid arthritis: a retrospective analysis of 1603 patients managed in routine clinical practice. *Clinical rheumatology* 2015; **34**(4): 673-681.

36. Bykerk VP, Ostor AJ, Alvaro-Gracia J, Pavelka K, Roman Ivorra JA, Graninger W, *et al.* Comparison of tocilizumab as monotherapy or with add-on disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis and inadequate responses to previous treatments: an open-label study close to clinical practice. *Clinical rheumatology* 2015; **34**(3): 563-571.

37. Notario Ferreira I, Ferrer Gonzalez MA, Morales Garrido P, Gonzalez Utrilla A, Garcia Sanchez A, Soto Pino MJ, *et al.* Two-year efficacy of tocilizumab in patients with active rheumatoid arthritis in clinical practice. *Reumatologia clinica* 2016.

38. Soini EJ, Hallinen TA, Puolakka K, Vihervaara V, Kauppi MJ. Cost-effectiveness of adalimumab, etanercept, and tocilizumab as first-line treatments for moderate-to-severe rheumatoid arthritis. *Journal of medical economics* 2012; **15**(2): 340-351.

39. Gabay C, Emery P, van Vollenhoven R, Dikranian A, Alten R, Pavelka K, *et al.* Tocilizumab monotherapy versus adalimumab monotherapy for treatment of rheumatoid arthritis (ADACTA): a randomised, double-blind, controlled phase 4 trial. *Lancet (London, England)* 2013; **381**(9877): 1541-1550.

40. Jansen JP, Buckley F, Dejonckheere F, Ogale S. Comparative efficacy of biologics as monotherapy and in combination with methotrexate on patient reported outcomes (PROs) in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to conventional

DMARDs--a systematic review and network meta-analysis. *Health and quality of life outcomes* 2014; **12**: 102.

41. Kojima T, Yabe Y, Kaneko A, Takahashi N, Funahashi K, Kato D, *et al.* Importance of methotrexate therapy concomitant with tocilizumab treatment in achieving better clinical outcomes for rheumatoid arthritis patients with high disease activity: an observational cohort study. *Rheumatology (Oxford, England)* 2015; **54**(1): 113-120.
42. Pers YM, Fortunet C, Constant E, Lambert J, Godfrin-Valnet M, De Jong A, *et al.* Predictors of response and remission in a large cohort of rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab in clinical practice. *Rheumatology (Oxford, England)* 2014; **53**(1): 76-84.
43. Burmester GR, Feist E, Kellner H, Braun J, Iking-Konert C, Rubbert-Roth A. Effectiveness and safety of the interleukin 6-receptor antagonist tocilizumab after 4 and 24 weeks in patients with active rheumatoid arthritis: the first phase IIIb real-life study (TAMARA). *Annals of the rheumatic diseases* 2011; **70**(5): 755-759.
44. Kubo S, Nakayamada S, Nakano K, Hirata S, Fukuyo S, Miyagawa I, *et al.* Comparison of the efficacies of abatacept and tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis by propensity score matching. *Annals of the rheumatic diseases* 2015.
45. Ikari K. [Genetic risk factors for rheumatoid arthritis]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine* 2016; **74**(6): 897-901.
46. Maxwell JR, Potter C, Hyrich KL, Barton A, Worthington J, Isaacs JD, *et al.* Association of the tumour necrosis factor-308 variant with differential response to anti-TNF agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Human molecular genetics* 2008; **17**(22): 3532-3538.
47. Marotte H, Arnaud B, Diasparra J, Zrioual S, Miossec P. Association between the level of circulating bioactive tumor necrosis factor alpha and the tumor necrosis factor alpha gene polymorphism at -308 in patients with rheumatoid arthritis treated with a tumor necrosis factor alpha inhibitor. *Arthritis and rheumatism* 2008; **58**(5): 1258-1263.
48. Swierkot J, Bogunia-Kubik K, Nowak B, Bialowas K, Korman L, Gebura K, *et al.* Analysis of associations between polymorphisms within genes coding for tumour necrosis factor (TNF)-alpha and TNF receptors and responsiveness to TNF-alpha blockers in patients with rheumatoid arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 2015; **82**(2): 94-99.

49. Morales-Lara MJ, Canete JD, Torres-Moreno D, Hernandez MV, Pedrero F, Celis R, *et al.* Effects of polymorphisms in TRAILR1 and TNFR1A on the response to anti-TNF therapies in patients with rheumatoid and psoriatic arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 2012; **79**(6): 591-596.
50. Avila-Pedretti G, Tornero J, Fernandez-Nebro A, Blanco F, Gonzalez-Alvaro I, Canete JD, *et al.* Variation at FCGR2A and functionally related genes is associated with the response to anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis. *PLoS one* 2015; **10**(4): e0122088.
51. Davila-Fajardo CL, van der Straaten T, Baak-Pablo R, Medarde Caballero C, Cabeza Barrera J, Huizinga TW, *et al.* FcGR genetic polymorphisms and the response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics* 2015; **16**(4): 373-381.
52. Emery P, Keystone E, Tony HP, Cantagrel A, van Vollenhoven R, Sanchez A, *et al.* IL-6 receptor inhibition with tocilizumab improves treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumour necrosis factor biologicals: results from a 24-week multicentre randomised placebo-controlled trial. *Annals of the rheumatic diseases* 2008; **67**(11): 1516-1523.
53. Smolen JS, Beaulieu A, Rubbert-Roth A, Ramos-Remus C, Rovensky J, Alecock E, *et al.* Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet (London, England)* 2008; **371**(9617): 987-997.
54. Genovese MC, McKay JD, Nasonov EL, Mysler EF, da Silva NA, Alecock E, *et al.* Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs: the tocilizumab in combination with traditional disease-modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthritis and rheumatism* 2008; **58**(10): 2968-2980.
55. Jones G, Sebba A, Gu J, Lowenstein MB, Calvo A, Gomez-Reino JJ, *et al.* Comparison of tocilizumab monotherapy versus methotrexate monotherapy in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis: the AMBITION study. *Annals of the rheumatic diseases* 2010; **69**(1): 88-96.
56. Kremer JM, Blanco R, Brzosko M, Burgos-Vargas R, Halland AM, Vernon E, *et al.* Tocilizumab inhibits structural joint damage in rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to methotrexate: results from the double-blind treatment phase of a randomized placebo-controlled trial of tocilizumab safety and prevention of structural joint damage at one year. *Arthritis and rheumatism* 2011; **63**(3): 609-621.

57. McInnes IB LJ, Wu W, Giles JT. Lipid and inflammation parameters: a translational, randomized placebo-controlled study to evaluate effects of Tocilizumab: the MEASURE study. *Arthritis and rheumatism* 2010; **62 (Suppl 10)**: 1441.
58. Wang J, Bansal AT, Martin M, Germer S, Benayed R, Essioux L, *et al.* Genome-wide association analysis implicates the involvement of eight loci with response to tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis. *The pharmacogenomics journal* 2013; **13(3)**: 235-241.
59. Gonzalez-Amaro R, Cortes JR, Sanchez-Madrid F, Martin P. Is CD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends in molecular medicine* 2013; **19(10)**: 625-632.
60. Li X, Wang J, Li W, Xu Y, Shao D, Xie Y, *et al.* Characterization of ppGalNAc-T18, a member of the vertebrate-specific Y subfamily of UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferases. *Glycobiology* 2012; **22(5)**: 602-615.
61. Scarlett DJ, Herst PM, Berridge MV. Multiple proteins with single activities or a single protein with multiple activities: the conundrum of cell surface NADH oxidoreductases. *Biochimica et biophysica acta* 2005; **1708(1)**: 108-119.
62. Fernandez-Fernandez JM, Tomas M, Vazquez E, Orio P, Latorre R, Senti M, *et al.* Gain-of-function mutation in the KCNMB1 potassium channel subunit is associated with low prevalence of diastolic hypertension. *The Journal of clinical investigation* 2004; **113(7)**: 1032-1039.
63. Enevold C, Baslund B, Linde L, Josephsen NL, Tarp U, Lindegaard H, *et al.* Interleukin-6-receptor polymorphisms rs12083537, rs2228145, and rs4329505 as predictors of response to tocilizumab in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics and genomics* 2014; **24(8)**: 401-405.
64. Walker UA, Jaeger VK, Chatzidionysiou K, Hetland ML, Hauge EM, Pavelka K, *et al.* Rituximab done: what's next in rheumatoid arthritis? A European observational longitudinal study assessing the effectiveness of biologics after rituximab treatment in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)* 2016; **55(2)**: 230-236.
65. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 1995; **38(1)**: 44-48.

66. Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH, Kalden JR, Emery P, Eberl G, *et al.* A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology (Oxford, England)* 2003; **42**(2): 244-257.
67. Aletaha D, Smolen J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology* 2005; **23**(5 Suppl 39): S100-108.
68. Lombard V, Camon EB, Parkinson HE, Hingamp P, Stoesser G, Redaschi N. EMBL-Align: a new public nucleotide and amino acid multiple sequence alignment database. *Bioinformatics* 2002; **18**(5): 763-764.
69. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *American Journal of Epidemiology* 2009.
70. Gaunt TR, Rodriguez S, Day IN. Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies: implications for linkage disequilibrium analyses and a web tool 'CubeX'. *BMC bioinformatics* 2007; **8**: 428.
71. van Gestel AM, Anderson JJ, van Riel PL, Boers M, Haagsma CJ, Rich B, *et al.* ACR and EULAR improvement criteria have comparable validity in rheumatoid arthritis trials. American College of Rheumatology European League of Associations for Rheumatology. *The Journal of rheumatology* 1999; **26**(3): 705-711.
72. Sociedad Española de Reumatología (2011). Guía de Práctica Clínica para el Manejo de la Artritis Reumatoide. GUIPCAR 2007 y GUIPCAR actualización 2011.
73. Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis and rheumatism* 2005; **52**(9): 2625-2636.
74. R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
75. Kievit W, Fransen J, Adang EM, den Broeder AA, Bernelot Moens HJ, Visser H, *et al.* Long-term effectiveness and safety of TNF-blocking agents in daily clinical practice: results from the Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring register. *Rheumatology (Oxford, England)* 2011; **50**(1): 196-203.
76. Gomez-Reino JJ, Rodriguez-Lozano C, Campos-Fernandez C, Montoro M, Descalzo MA, Carmona L. Change in the discontinuation pattern of tumour necrosis factor

- antagonists in rheumatoid arthritis over 10 years: data from the Spanish registry BIOBADASER 2.0. *Annals of the rheumatic diseases* 2012; **71**(3): 382-385.
77. Gabay C, Riek M, Hetland ML, Hauge EM, Pavelka K, Tomsic M, *et al.* Effectiveness of tocilizumab with and without synthetic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis: results from a European collaborative study. *Annals of the rheumatic diseases* 2015.
 78. Burmester GR, Rubbert-Roth A, Cantagrel A, Hall S, Leszczynski P, Feldman D, *et al.* Efficacy and safety of subcutaneous tocilizumab versus intravenous tocilizumab in combination with traditional DMARDs in patients with RA at week 97 (SUMMACTA). *Annals of the rheumatic diseases* 2015.
 79. Tarnowski M, Paradowska-Gorycka A, Dabrowska-Zamojcin E, Czerewaty M, Slucznanowska-Glabowska S, Pawlik A. The effect of gene polymorphisms on patient responses to rheumatoid arthritis therapy. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2016; **12**(1): 41-55.
 80. Chen W, Xu H, Wang X, Gu J, Xiong H, Shi Y. The tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B polymorphisms predict response to anti-TNF therapy in patients with autoimmune disease: A meta-analysis. *International immunopharmacology* 2015; **28**(1): 146-153.
 81. Montes A, Perez-Pampin E, Joven B, Carreira P, Fernandez-Nebro A, Del Carmen Ordonez M, *et al.* FCGR polymorphisms in the treatment of rheumatoid arthritis with Fc-containing TNF inhibitors. *Pharmacogenomics* 2015; **16**(4): 333-345.
 82. Martin P, Sanchez-Madrid F. CD69: an unexpected regulator of TH17 cell-driven inflammatory responses. *Science signaling* 2011; **4**(165): pe14.
 83. Martin P, Gomez M, Lamana A, Cruz-Adalia A, Ramirez-Huesca M, Ursa MA, *et al.* CD69 association with Jak3/Stat5 proteins regulates Th17 cell differentiation. *Molecular and cellular biology* 2010; **30**(20): 4877-4889.
 84. Kikuchi J, Hashizume M, Kaneko Y, Yoshimoto K, Nishina N, Takeuchi T. Peripheral blood CD4(+)CD25(+)CD127(low) regulatory T cells are significantly increased by tocilizumab treatment in patients with rheumatoid arthritis: increase in regulatory T cells correlates with clinical response. *Arthritis research & therapy* 2015; **17**: 10.
 85. Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milic V, Novakovic I, Damjanovic T, *et al.* Association of the TYMS 3G/3G genotype with poor response and GGH 354GG genotype with the bone marrow toxicity of the methotrexate in RA patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2013; **69**(3): 377-383.

ANEXOS

10 ANEXOS

10.1 Hoja de Información al Paciente (ANEXO 1)

10.2 Consentimiento Informado (ANEXO 2)

10.3 Cuestionario HAQ (ANEXO 3)

10.4 Certificado comité de ética (ANEXO 4)

ANEXO 1

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
 Unidad de Farmacogenética
 Servicio de Farmacia. U.G.C. Farmacia
 HMI 4ª pta.
 Avda. Fuerzas Armadas 2
 18014 Granada



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIAS BIOLÓGICAS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

PROMOTOR DEL PROYECTO: Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia Hospitalaria

INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO: M^a del Mar Maldonado Montoro

Objetivos: Evaluar la influencia de los polimorfismos en los genes TNF, TNFR1A, TNFR1B, TRAILR1, FCGR3A, FCGR2A, IL-1B, IL-1RN, BLYS, CTLA-4, CD86, CD80, CD69, GALNT1B, ENOX1, KCNMB1, CLEC2D en la respuesta al tratamiento con fármacos biológicos (IFX, ADA, ETN, GLM, RTX, ABT y T2M) en pacientes con AR a los, 6, 12 y 18 meses del inicio de la terapia.

Procedimientos: Deseo participar en este estudio y conozco que:

- Tendré 3 citas con el farmacéutico investigador cada 6 meses durante un periodo de 18 meses de seguimiento, coincidiendo con mis citas de seguimiento clínico.
- Se me realizará una extracción ADN a partir de una muestra de saliva recogida en la primera visita, para analizar los marcadores farmacogenéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.
- En caso de no autorizar la cesión de las muestras al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Respuesta Negativa al Punto 2 del Consentimiento Informado), esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.
- En caso de autorizar que los remanentes de las muestras pasen a formar parte del Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Respuesta Positiva al Punto 2 del Consentimiento Informado), la muestra sólo podrá ser utilizada en proyectos de investigación científicamente avalados, que cumplan las exigencias legales y los principios éticos que rigen la investigación en salud (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica) y que sean autorizados por los órganos competentes, de conformidad con lo establecido en la normativa vigente. En este caso, se renuncia a cualquier derecho de naturaleza económica, patrimonial o potestativa sobre los resultados o potenciales beneficios que puedan derivarse de manera directa o indirecta de las investigaciones que se lleven a cabo con la muestra que cede para investigación.

Beneficios: Pueden no obtenerse beneficios directos con la participación en este proyecto, aunque también puede mejorar el estado de salud del paciente por disponer de la contribución de otro profesional de la salud, el farmacéutico, que es el especialista en medicamentos. Además, tendrá información sobre todos los medicamentos de su tratamiento, así como la posibilidad de aclarar las dudas que tenga sobre ellos. En caso de autorizar la cesión de remanentes de muestras al Biobanco, es posible que la información obtenida de las investigaciones en las que se utilicen sus muestras no le genere un beneficio directo, pero habrá contribuido al avance de la medicina y del conocimiento de diversas enfermedades, lo que repercutirá en un beneficio para la sociedad.

Riesgos: Con respecto al seguimiento farmacoterapéutico, no tendrá riesgos, pues sólo consiste en responder una serie de preguntas. Para el estudio Farmacogenético, es necesario una muestra de saliva, por lo que no existe riesgo ninguno.

Lugar de realización del análisis y destino de la muestra al término de la investigación: Los análisis farmacogenéticos de este estudio se llevarán a cabo en la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Al término de la investigación, se cederán al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves las muestras de aquellos pacientes que así lo hayan autorizado con una Respuesta Positiva al Punto 2 del Consentimiento Informado. Las muestras de aquellos pacientes que sólo acepten participar en este estudio, pero no autoricen la donación de su muestra al Biobanco (Respuesta Negativa al Punto 2 del Consentimiento Informado) se considerarán destinadas exclusivamente a fines de investigación, y por tanto se conservarán únicamente en tanto sean necesarias para los fines que justificaron su recogida. Por tanto, serán destruidas a la finalización del mismo. Los datos genéticos de carácter personal de estos pacientes se conservarán durante un período mínimo de cinco años desde la fecha en que fueron obtenidos, transcurrido el cual el interesado podrá solicitar su cancelación, de acuerdo con la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica.

F-PO-F-12-51

Ed 00. Versión 29.05.2014

ANEXO 1

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
Unidad de Farmacogenética
Servicio de Farmacia. U.G.C. Farmacia
HMI 4ª pta.
Avda. Fuerzas Armadas 2
18014 Granada



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIAS BIOLÓGICAS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

PROMOTOR DEL PROYECTO: Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia Hospitalaria
INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO: M^a del Mar Maldonado Montoro

Posibilidad de ponerse nuevamente en contacto: Puede que sea necesario ponerse en contacto nuevamente con usted, con el fin de recabar datos o muestras adicionales, o proporcionarle la información relevante para su salud, salvo que haya solicitado que las muestras sean anonimizadas.

Confidencialidad: Toda la información obtenida en este estudio es confidencial y será estrictamente utilizada para fines de investigación. Los datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre. Asimismo, se podrá solicitar en todo momento la información y resultados obtenidos de esta investigación relacionados con su persona, siempre que la muestra no se encuentre anonimizada. Podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, oposición y cancelación de los datos personales, reconocidos en la citada Ley Orgánica 15/1999, con las limitaciones establecidas en dicha Ley. Para ello, deberá dirigirse a la Dirección General de Asistencia Sanitaria del Servicio Andaluz de Salud, Avenida de la Constitución, nº18, Sevilla.

Información sobre resultados del Estudio: Los resultados de la investigación, conforme normativa vigente, se harán públicos mediante difusión y posterior publicación en prensa científica, sin que se facilite ningún dato que identifique al paciente.

En el caso de cesión al Biobanco, éste tendrá a disposición del donante toda la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilice su muestra. El comité de ética externo del biobanco o el Comité de Ética de la Investigación que evaluó el proyecto de investigación decidirán en qué casos será imprescindible que se envíe la información de manera individualizada.

Derecho de recusa o desistencia: La participación en el estudio es totalmente voluntaria, siendo libre para retirarse de la investigación en cualquier momento sin que afecte o ponga en riesgo su asistencia médica.

El consentimiento prestado para cesión de muestras al Biobanco podrá ser retirado o revocado en cualquier momento, excepto si las muestras se encuentran anonimizadas. Para ello, deberá dirigirse al Biobanco, pudiendo solicitar la eliminación o la anonimización de las muestras. Los efectos de esta revocación no se extenderán a los resultados de las investigaciones llevadas a cabo con anterioridad.

La farmacéutica M^a del Mar Maldonado Montoro me ha comentado toda esa información, poniéndose a disposición del paciente para contestar a cualquier duda que tenga, ya sea por teléfono (958 020 108) o en el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Para consultas relacionadas con el Biobanco, podrá dirigirse al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, o a su Representante Legal. En caso de producirse un eventual cierre del Biobanco o revocación de la autorización para su constitución y funcionamiento, la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras.

F-PO-F-12-51
Ed 00. Versión 29.05.2014

ANEXO 2

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
 Unidad de Farmacogenética. Servicio de Farmacia. U.G.C. Farmacia
 HMI 4ª pta. Avda. Fuerzas Armadas 2. 18014 Granada



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS

Nombre del paciente:

Nº Historia Clínica:

NUHSA:

- Yo..... declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendo la Hoja de Información del proyecto "INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIAS BIOLÓGICAS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE" y acepto participar.
- Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado.
- Comprendo las características y el objetivo del estudio y doy mi consentimiento para recoger la muestra de saliva contemplada para su desarrollo.
- He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas de ADN.
- Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas.
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que soy libre de retirarme del análisis en cualquier momento. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
- Entiendo que los resultados del mismo se comunicarán sólo en caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para la salud de los participantes y que exista una posibilidad de mejorar su condición de salud.

Punto 1.- Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el análisis farmacogenético a mis muestras de ADN en la Unidad de Farmacogenética del Hospital Virgen de las Nieves.

Punto 2.- Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para ceder el remanente de mi muestra de ADN al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratados de forma (marcar una opción):

- CODIFICADA:** Identificadas con un código que protege mi identidad, siendo posible volver a ligarlas conmigo.
- ANONIMIZADA:** Con desvinculación irreversible de la identidad. No se podrán asociar las muestras conmigo.

Deseo establecer restricciones respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en

Autorizo para que se pueda contactar conmigo posteriormente

En caso afirmativo, por favor, indique el medio de hacerlo:

Fecha:/...../.....

Firma del paciente:.....

Representante legal en caso de incapacidad del paciente, con indicación del carácter con el que interviene (padre, madre, tutor, etc.).

Nombre del Representante Legal

DNI

Firma

Persona que proporciona la información y el consentimiento:

Nombre

DNI

Firma

F-PO-F-12-50

Ed 00. Versión 29.05.2014

ANEXO 3

CUESTIONARIO DE EVALUACIÓN DEL ESTADO DE SALUD (R808-NP2-Spanish)

El siguiente cuestionario incluye información no disponible en análisis de sangre, rayos X o de ninguna otra fuente más que Ud. Por favor intente responder cada pregunta aun cuando crea que no se relaciona con Ud. en este momento. **No hay respuestas correctas o incorrectas.** Por favor responda lo que Ud. piense o sienta. Muchas gracias.

1. Nos interesa saber de qué manera su enfermedad afecta sus capacidades y habilidades para realizar actividades de la vida diaria. Por favor marque (✓) la respuesta que mejor describa su capacidad para hacer las cosas o sus habilidades usuales (habituales) DURANTE LA SEMANA PASADA:

DURANTE LA SEMANA PASADA, ¿pudo Usted...	Sin NINGUNA Dificultad	Con ALGO de Dificultad	Con MUCHA Dificultad	IMPOSIBLE de Hacer
a. ¿Vestirse solo(a), incluyendo amarrarse (atarse) los cordones de los zapatos, abotonarse (abrocharse) y desabotonarse (desabrocharse) la ropa?	0	1	2	3
b. ¿Acostarse y levantarse de la cama?	0	1	2	3
c. ¿Levantar una taza o un vaso lleno para llevarselo a la boca?	0	1	2	3
d. ¿Caminar fuera de casa, sobre un terreno plano?	0	1	2	3
e. ¿Lavarse y secarse el cuerpo?	0	1	2	3
f. ¿Agacharse para recoger ropa o algo del piso o el suelo?	0	1	2	3
g. ¿Abrir y cerrar las llaves del agua (grifos, canillas)?	0	1	2	3
h. ¿Subir (meterse) y bajar (salir) de un automóvil?	0	1	2	3
i. ¿Caminar 3 kilometros?	0	1	2	3
j. ¿Participar en juegos y deportes como Ud. quisiera?	0	1	2	3
k. ¿Dormir bien por las noches y tener un sueño reparador?	0	1.1	2.2	3.3
l. ¿Controlar sus nervios o ansiedad?	0	1.1	2.2	3.3
m. ¿Controlar sus sentimientos de depresión o melancolía?	0	1.1	2.2	3.3

2. Cuánto DOLOR ha tenido por su enfermedad DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA? Por favor marque con una X en la línea de abajo para indicar cuánto dolor ha tenido:

SIN NINGÚN DOLOR 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 10 EL PEOR DOLOR QUE SE PUEDA IMAGINAR

3. Por favor indique la intensidad del dolor que ha tenido el día de hoy en cada una de las articulaciones abajo mencionadas. Coloque una X en el número que describa la intensidad de su dolor.

	Nada	Leve	Moderado	Severo/fuerte		Nada	Leve	Moderado	Severo/fuerte
a. DEDOS MANO IZQ	0	1	2	3	i. DEDOS MANO DER	0	1	2	3
b. MUÑECA IZQ.	0	1	2	3	j. MUÑECA DER	0	1	2	3
c. CODO IZQ	0	1	2	3	k. CODO DERECHO	0	1	2	3
d. HOMBRO IZQ	0	1	2	3	l. HOMBRO DER.	0	1	2	3
e. CADERA IZQ	0	1	2	3	m. CADERA DER	0	1	2	3
f. RODILLA IZQ	0	1	2	3	n. RODILLA DER	0	1	2	3
g. TOBILLO IZQ	0	1	2	3	o. TOBILLO DER	0	1	2	3
h. DEDOS PIE IZQ	0	1	2	3	p. DEDOS PIE DER	0	1	2	3
q. CUELLO	0	1	2	3	r. ESPALDA	0	1	2	3

4. Considerando todas las formas en las que su artritis o enfermedad le afecta, por favor marque con una X en la línea de abajo lo que mejor describa cómo se siente en este momento:

MUY BIEN 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 10 MAL

POR FAVOR VOLTEE LA PÁGINA

Copyright: Health Report Services, Telephone 615-479-5303, E-mail ledpinus@gmail.com

SOLO PARA USO MÉDICO

1. FN (0-10):

1=0.3 16=5.3
2=0.7 17=5.7
3=1.0 18=6.0
4=1.3 19=6.3
5=1.7 20=6.7
6=2.0 21=7.0
7=2.3 22=7.3
8=2.7 23=7.7
9=3.0 24=8.0
10=3.3 25=8.3
11=3.7 26=8.7
12=4.0 27=9.0
13=4.3 28=9.3
14=4.7 29=9.7
15=5.0 30=10

2.PN (0-10):

4.PTGL (0-10):

RAPID 3 (0-30)

Cat:
HS = >12
MS = 6.1-12
LS = 3.1-6
R = <3

ANEXO 3

5. Por favor marque (✓) si Ud. ha experimentado alguno de los siguientes síntomas o actividades en el último mes:

- | | | |
|--|--|--|
| <input type="checkbox"/> Fiebre | <input type="checkbox"/> Tumorción en la garganta | <input type="checkbox"/> Parálisis de brazos o piernas |
| <input type="checkbox"/> Aumento de peso (>4.5 kilos) | <input type="checkbox"/> Tos | <input type="checkbox"/> Adormecimientos de brazos o piernas |
| <input type="checkbox"/> Pérdida de peso (>4.5 kilos) | <input type="checkbox"/> Falta de aire | <input type="checkbox"/> Desmayos |
| <input type="checkbox"/> Sentimiento de enfermedad | <input type="checkbox"/> Silbido de pecho | <input type="checkbox"/> Tumefacción de manos |
| <input type="checkbox"/> Dolor de cabeza | <input type="checkbox"/> Dolor de pecho | <input type="checkbox"/> Tumefacción de tobillos |
| <input type="checkbox"/> Fatiga inusual | <input type="checkbox"/> Palpitaciones | <input type="checkbox"/> Tumefacción de otras articulaciones |
| <input type="checkbox"/> Glándulas inflamadas | <input type="checkbox"/> Problemas para tragar | <input type="checkbox"/> Dolor articular |
| <input type="checkbox"/> Pérdida de apetito | <input type="checkbox"/> Acidez o gas en el estómago | <input type="checkbox"/> Dolor de espalda |
| <input type="checkbox"/> Rash o ronchas en la piel | <input type="checkbox"/> Dolor o calambre en el estómago | <input type="checkbox"/> Dolor de cuello |
| <input type="checkbox"/> Moretones o sangrados inusuales | <input type="checkbox"/> Náusea | <input type="checkbox"/> Uso de drogas |
| <input type="checkbox"/> Otros problemas de piel | <input type="checkbox"/> Vómitos | <input type="checkbox"/> Tabaquismo |
| <input type="checkbox"/> Pérdida de cabello | <input type="checkbox"/> Estreñimiento o constipación | <input type="checkbox"/> Bebido más de 2 bebidas alcohólicas por día |
| <input type="checkbox"/> Ojos secos | <input type="checkbox"/> Diarrea | <input type="checkbox"/> Depresión - desánimo |
| <input type="checkbox"/> Otros problemas oculares | <input type="checkbox"/> Materia fecal oscura o con sangre | <input type="checkbox"/> Ansiedad - nervios |
| <input type="checkbox"/> Problemas auditivos | <input type="checkbox"/> Problemas al orinar | <input type="checkbox"/> Problemas de pensamiento |
| <input type="checkbox"/> Zumbido de oídos | <input type="checkbox"/> Problemas ginecológicos | <input type="checkbox"/> Problemas de memoria |
| <input type="checkbox"/> Tápidez nasal | <input type="checkbox"/> Mareos | <input type="checkbox"/> Problemas para dormir |
| <input type="checkbox"/> Úlceras en la boca | <input type="checkbox"/> Pérdida de equilibrio | <input type="checkbox"/> Problemas sexuales |
| <input type="checkbox"/> Boca seca | <input type="checkbox"/> Dolor o calambres musculares | <input type="checkbox"/> Quemazón en los órganos sexuales |
| <input type="checkbox"/> Problemas con el olfato o gusto | <input type="checkbox"/> Debilidad muscular | <input type="checkbox"/> Problemas con las actividades sociales |

SÓLO PARA USO MÉDICO
5. ROS:

Por favor marque (✓) aquí si Ud. NO ha experimentado ninguno de los síntomas arriba mencionados en el último mes:

6. ¿Estuvieron sus articulaciones ENTUMIDAS/RÍGIDAS/TIEZAS al levantarse o despertarse en las mañanas DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA? No Sí

Si su respuesta es "No," por favor vaya a la siguiente pregunta.

Si su respuesta es "Sí," ¿Cuál fue su duración? Por favor escriba el número de minutos _____, u horas _____ que tarda en sentirse flexible como estará a lo largo del día o aflojarse completamente

7. ¿Cómo se siente HOY comparado a HACE UNA SEMANA? Por favor marque (✓) sólo una respuesta. Mucho Mejor (1), Mejor (2), Igual (3), Peor (4), Mucho Peor (5) que hace una semana

8. ¿Con qué frecuencia hace ejercicios aeróbicos (sudando, con aumento de la frecuencia cardiaca y de respiración) al menos durante media hora (30 minutos)? Por favor, marque sólo una respuesta.
 3 o más veces por semana (3) 1-2 veces por mes (1)
 1-2 veces por semana (2) No hago ejercicio regularmente (0) No puedo hacer ejercicio debido a discapacidad (9)

9. ¿DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA ha sido el cansancio, FATIGA o agotamiento físico un problema importante en su vida? Por favor coloque una X en la línea de abajo que indique cuán importante es su fatiga.
 NO ES UN PROBLEMA 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 10 GRANDE ES UN PROBLEMA

10. Durante los últimos 6 meses ha Ud. tenido/hecho?: [Por favor marque (✓)]
 No Sí Alguna operación o enfermedad nueva No Sí Cambio(s) de medicinas para artritis u otros medicinas
 No Sí Alguna consulta o internación en el hospital No Sí Cambio(s) de dirección/vivienda
 No Sí Alguna caída, fractura de hueso o trauma No Sí Cambio(s) de estado civil
 No Sí Algún síntoma nuevo importante No Sí Cambio de trabajo o se ha retirado
 No Sí Efecto(s) adverso(s) de alguna droga/medicación No Sí Cambio de seguro médico
 No Sí Fumado cigarrillos regularmente No Sí Cambio de medico primario/general u otro médico

Por favor explique algún "Sí", o indique algún otro asunto de su salud que lo esté afectando:

SEXO: Femenino, Masculino GRUPO ÉTNICO: Asiático, Negro, Hispano, Blanco, Otra _____

Su ocupación/empleo: _____ Por favor haga un círculo alrededor del número de años de educación completados:

Empleo: Tiempo completo, Tiempo parcial, Discapacitado
 Ama de casa, Independiente, Retirado, Desempleado, Otro _____
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
 Por favor indique su Peso: _____ Estatura: _____

Nombre _____ Fecha de nacimiento _____ Fecha _____

Página 2 de 2 GRACIAS POR AYUDARNOS A MONITORIZAR SU SALUD R808NP2

SÓLO PARA USO MÉDICO: He revisado las respuestas del cuestionario.
 Fecha: _____ Firma _____

