

UNIVERSIDAD DE GRANADA



Programa de Doctorado en Farmacia (B15.56.1)

# **INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE**

**TESIS DOCTORAL**

AUTORA

MARÍA ISABEL CARRASCO CAMPOS

DIRECTORES

ANTONIO SÁNCHEZ POZO

MARISA CAÑADAS GARRE

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: María Isabel Carrasco Campos  
ISBN: 978-84-1117-307-0  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/74606>



## **AGRADECIMIENTOS**

En el desarrollo de esta Tesis Doctoral he tenido el placer de contar con el apoyo de muchas personas. Miguel, mi marido, ha sido una persona clave y motivadora para mí en todo momento en estos 18 años que llevamos juntos. Gracias por todo, corazón mío.

A mis hijos, Alonso y Julia, mis peques revoltosillos y cariñosos. He disfrutado mucho de poder cuidarlos día a día y estar disponible para ellos en todo este tiempo.

A mis padres y hermanos, pues me han apoyado mucho, sobre todo cuidando a los nietos y sobrinos mientras yo tenía diversas tareas que hacer. Les agradezco su disposición.

A Manolo, genio de la bioinformática y autodidacta, él me animó a hacer el máster en Genética que fue el prelude de esta Tesis. A su hermana Lidia, linda persona y tita de mis hijos, con mil atenciones con ellos. Le agradezco su tiempo y cariño. A Sergio y Ana por su apoyo y cariño.

A Marisa, mi querida Directora de Tesis, excelente profesional y gran amiga. Adorable en todos los sentidos y absolutamente genial, eficaz hasta el punto de lo incomprensible. Le estaré agradecida toda la vida.

A Antonio, mi Codirector de Tesis y Tutor, brillante profesional, siempre disponible para ayuda y mejora en todas las fases de la tesis. Le agradezco su gran apoyo.

A mis compañeras de laboratorio, Elena ha sido otro gran apoyo para mí, tanto en lo profesional como en lo personal. Adoro su filosofía de vida y le agradezco su amistad. Cristina, con su dulzura y su capacidad de trabajo, me ha ayudado mucho, sobre todo con la estadística y genotipados, le agradezco su tiempo, disposición y su amistad. Noelia, Adela, Conchi y Carmen, no por haber pasado menos tiempo con ellas pasan desapercibidas, siempre sonriendo y aportando muy buenos momentos.

A Carmen Arnal y Elena, con su alegría, amabilidad y disposición a colaborar para que pudiera recopilar toda la información y muestras para la elaboración de esta Tesis.

A Miguel Ángel por haberme permitido realizar la Tesis en la Unidad de Farmacogenética, siempre ocupado, pero también con buena disposición.

Todos ellos han colaborado en esta experiencia de vida tan satisfactoria que he tenido, gracias de corazón a todos ellos.

Mabel



## Índice

1	RESUMEN.....	7
2	ABREVIATURAS .....	9
3	INTRODUCCIÓN .....	11
3.1	DIAGNÓSTICO Y EVALUACIÓN DE LA EM.....	12
3.2	FISIOPATOLOGÍA Y ETIOLOGÍA DE LA EM .....	12
3.3	TERAPIAS EN EM .....	14
3.3.1	PRIMERA LÍNEA.....	15
3.3.2	SEGUNDA LÍNEA .....	17
3.3.3	INDICACIÓN DE TRATAMIENTO PARA EMRR .....	18
3.4	FARMACOGENÉTICA DEL TRATAMIENTO CON IFN-BETA EN EM .....	19
4	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	23
5	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	25
5.1	HIPÓTESIS.....	25
5.2	OBJETIVOS.....	25
5.2.1	OBJETIVO PRINCIPAL .....	25
5.2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
6	MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
6.1	TIPO DE ESTUDIO .....	27
6.2	POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	27
6.3	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....	27
6.3.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	27
6.3.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	27
6.4	VARIABLES.....	27
6.4.1	VARIABLES RESULTADO O DEPENDIENTES.....	27
6.4.2	VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS .....	28
6.4.3	VARIABLES GENÉTICAS .....	30
6.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	30
6.5.1	ANÁLISIS DESCRIPTIVO .....	30
6.5.2	ANÁLISIS BIVARIANTE .....	31
6.5.3	ANÁLISIS MULTIVARIABLE .....	31
6.6	ASPECTOS ÉTICOS .....	31

7	RESULTADOS.....	35
7.1	ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN .....	35
7.1.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES .....	35
7.1.2	CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LOS PACIENTES.....	35
7.2	ANÁLISIS BIVARIANTE .....	36
7.2.1	INFLUENCIA DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS EN LA RESPUESTA A IFN- $\beta$ Y CAMBIO EN LA EDSS.....	36
7.2.2	INFLUENCIA DE LOS SNPs EN LA RESPUESTA A IFN- $\beta$ Y CAMBIO EN LA EDSS	37
7.3	ANÁLISIS MULTIVARIABLE .....	40
8	DISCUSIÓN .....	43
9	CONCLUSIONES.....	49
9.1	CONCLUSIÓN GENERAL.....	49
9.2	CONCLUSIONES ESPECÍFICAS .....	49
10	REFERENCIAS .....	51
11	ANEXO 1: CERTIFICADO DEL COMITÉ ÉTICO .....	63
12	ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	65
13	ANEXO 3: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE.....	67
14	PUBLICACIONES .....	69

## 1 RESUMEN

La terapia de primera línea con interferón beta (IFN- $\beta$ ), involucrado en la modulación de la expresión génica en la respuesta inmune, se usa ampliamente para la esclerosis múltiple (EM). Sin embargo, el 30-50% de los pacientes no responden de manera óptima. Variantes genéticas en los genes *CBLB*, *CTSS*, *GRIA3*, *OAS1* y *TNFRSF10A* han demostrado papeles en la respuesta a IFN- $\beta$  que podrían contribuir a la variación en la respuesta individual en EM. El propósito de este estudio fue evaluar la influencia de polimorfismos genéticos en esos genes en la respuesta de IFN- $\beta$  en pacientes con esclerosis múltiple remitente-recurrente (EMRR).

Los polimorfismos *CBLB* (rs12487066), *GRIA3* (rs12557782), *CTSS* (rs1136774), *OAS1* (rs10774671), *TNFRSF10A* (rs20576) fueron analizados mediante sondas Taqman en 137 pacientes con EMRR. La respuesta al IFN- $\beta$  y el cambio en la Escala de Estado de Discapacidad Expandida (EDSS) después de 24 meses se evaluaron mediante un análisis de regresión logística multivariable.

Pacientes con menor EDSS Basal mostraron mejor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p=0.069$ ; OR=0.60; IC<sub>95%</sub>=0.34, 1.04) y una mayor probabilidad de mantener estable su EDSS después de 24 meses de tratamiento con IFN- $\beta$  ( $p=0.006$ ; OR=0.36; IC<sub>95%</sub>=0.016, 0.71).

Los portadores de al menos una copia del alelo C de *CTSS*-rs1136774 tuvieron una mejor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p=0.0423$ ; OR=2.94; IC<sub>95%</sub>=1.03, 8.40). Los portadores del genotipo TT de *TNFRSF10A*-rs20576 mostraron una mayor probabilidad de mantener estable su EDSS después de 24 meses de tratamiento con IFN- $\beta$  ( $p=0.0251$ ; OR=5.71; IC<sub>95%</sub>=1.39, 31.75). No se observó influencia de los polimorfismos de los genes *CBLB* (rs12487066), *OAS1* (rs10774671), *GRIA3* (rs12557782) en la variación de la respuesta individual al IFN- $\beta$ .

Nuestros resultados sugieren que los polimorfismos de los genes *TNFRSF10A*-rs20576 y *CTSS*-rs1136774 influyen en la respuesta a IFN- $\beta$  después de 24 meses, mientras que los polimorfismos de los genes *CBLB* (rs12487066), *OAS1* (rs10774671) o *GRIA3* (rs12557782) no modificaron la respuesta individual al IFN- $\beta$ .





## 2 ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

AMPA: Receptor transmembrana ionotrópico para glutamato.

CBLB: Linfoma b de linaje B de Casitas.

CD20: Antígeno CD20 (Cluster of Differentiation 20).

CD52: Antígeno CD52 (Cluster of Differentiation 52).

CPA: Célula presentadora de antígeno.

CTSS: Catepsina S.

DHODH: Dihidrorotato Deshidrogenasa.

EDSS: Escala Expandida de Discapacidad (Expanded Disability Status Scale).

EM: Esclerosis Múltiple.

EMPP: Esclerosis Múltiple Primaria Progresiva.

EMRR: Esclerosis Múltiple Remitente Recurrente.

EMSP: Esclerosis Múltiple Secundaria Progresiva.

GRIA3: Receptor de Glutamato Ionotrópico Ampa 3.

GWA: Estudio de Asociación de Genoma Completo (Genome Wide Association).

HLA: Antígeno Leucocitario Humano.

HUVN: Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

IC<sub>95%</sub>: Intervalo de Confianza al 95%.

IFN- $\beta$ : Interferón Beta.

IL6: Interleuquina 6.

IL12: Interleuquina 12.

IL17: Interleucina 17.

IL23: Interleuquina 23.

IM: Intramuscular.

LB: Linfocito tipo B.

MHC II: Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo 2.

MSSS: Índice de Severidad (Multiple Sclerosis Severity Score).

NAbs: Anticuerpos neutralizantes a Interferón Beta.

NO: Óxido Nítrico.

Nrf2: Proteína factor nuclear derivado de eritroide 2.

OAS1: 2'-5'-oligoadenilato sintetasa 1.

OR: Odds Ratio.

P: Valor p.

PEG 1a: IFN- $\beta$  recombinante pegilado.

RMI: Resonancia Magnética de Imagen.

RNS: Especies reactivas al nitrógeno.

ROS: Especies reactivas al oxígeno.

SC: Subcutánea.

SCA: Síndrome Clínico Aislado.

SDA: Síndrome Desmielinizante Aislado.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNP: Polimorfismo de Nucleótido Simple.

SRA: Síndrome Radiológico Aislado.

TCD4+: Linfocito T del cluster CD4.

TCD8+: Linfocito T del cluster CD8.

Th1: Linfocitos T Helper 1.

Th17: Linfocitos T Helper 17.

TNFRSF10A: Miembro 10a de la superfamilia del receptor de Factor de Necrosis Tumoral.

### 3 INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM) es una de las enfermedades neurológicas más comunes que causa discapacidad permanente entre los adultos jóvenes [1,2]. Los datos epidemiológicos indican una prevalencia total estimada de 83 afectados por 100.000 habitantes, una tasa de incidencia media anual estimada de 4.3 casos por 100.000 habitantes y una relación mujer:hombre de  $\approx 2.0$  en las últimas tres décadas en el continente europeo, con las tasas más altas correspondientes a los países del norte [3].

Las presentaciones clínicas en EM incluyen: pérdida o reducción de la visión de un ojo, con movimientos oculares dolorosos, visión doble, perturbación sensorial y/o debilidad, problemas de coordinación, torpeza o inestabilidad, sensación alterada a lo largo de la espalda y extremidades al inclinar el cuello hacia delante (síntoma de Lhermitte) [4].

Los subtipos de EM se clasifican en:

- **Síndrome clínico aislado (SCA) o síndrome desmielinizante aislado (SDA).** Se reconoce como la primera fase clínica de la enfermedad, que puede incluir eventos inflamatorios y desmielinizantes típicos de EM, pero que no cumple todos los criterios de diagnóstico relativos a diseminación en el tiempo y espacio [5]. No obstante, estudios y ensayos clínicos apuntan a que la aparición de un SCA, que se acompaña de lesiones cerebrales detectadas por resonancia magnética de imagen (RMI), tienen un elevado riesgo de cumplir con los criterios de diagnóstico de EM [6-8].
- **EM Recurrente-Remitente (EMRR).** Aproximadamente el 85% de los pacientes de EM comienzan perteneciendo al subtipo EMRR, que se caracteriza por la existencia de episodios de debilitamiento y de recuperación [9,10]. Aparecen episodios o brotes con nuevos síntomas o los existentes se agravan, la duración es variable (días-meses) y la remisión puede ser parcial o total a las semanas o meses siguientes, con o sin leves secuelas entre episodios [11]. La mayoría de pacientes EMRR, con el tiempo, pueden pasar a desarrollar la variante secundaria progresiva [12].
- **EM primaria progresiva (EMPP).** Datos clínicos, genéticos y de imagen revelan que este subtipo pertenece al espectro de fenotipos de la EM [13]. Parece un curso clínico diferente, debido a la ausencia de exacerbaciones, pero fisiopatológicamente no se diferencia de la forma EMRR que ha iniciado un curso progresivo EMSP [14].
- **EM secundaria progresiva (EMSP).** En la mayoría de los contextos clínicos se diagnostica de forma retrospectiva después de un inicio con curso del tipo EMRR, con o sin exacerbaciones en el estado progresivo, pues aún no existen criterios clínicos claros para poder determinar el punto de inflexión de EMRR a EMSP, se cree que ocurre de una forma gradual [14]. Se caracteriza por un avance persistente y progresivo de la enfermedad sin remisiones [12].

- **Síndrome radiológico aislado (SRA).** Se caracteriza por acontecimientos inflamatorios y neurodegenerativos en curso, según muestra radiología de imagen, pero se da una ausencia de signos y síntomas [15]. Anteriormente no considerada como subtipo ya que no hay síntomas clínicos de desmielinización, pero puede ser pronóstico de EM dependiendo de la morfología y las zonas de las lesiones cerebrales detectadas por RMI [14].

### 3.1 DIAGNÓSTICO Y EVALUACIÓN DE LA EM

En la actualidad, el diagnóstico se basa en varios criterios: el número de brotes y número de lesiones observadas por Resonancia Magnética de Imagen (RMI) que impliquen diseminación en espacio y tiempo. Éstos son conocidos como los criterios de McDonald, cuya última revisión vigente se realizó en 2010 [4].

Para la medición de discapacidad del paciente de EM, se suele utilizar la escala expandida de discapacidad (EDSS), conocida por sus siglas en inglés, *Expanded Disability Status Scale*. La puntuación va del 0 al 10. en el que el valor 0 equivale a un ensayo neurológico normal sin lesiones y el 10 equivale a la muerte por la enfermedad. Valores entre 5 y 9.5 corresponden a niveles de incapacidad de ambulación [16]. Existen otros parámetros para la medición de la discapacidad que representan el rango medio de discapacidad ajustado por duración de la enfermedad en pacientes con EM de la población de referencia, como son el Índice de severidad de EM (*Multiple Sclerosis Severity Score*, MSSS) y el Índice de progresión (EDSS/años de enfermedad) [17].

### 3.2 FISIOPATOLOGÍA Y ETIOLOGÍA DE LA EM

En la EM se pierde mielina en muchas áreas, quedando una cicatriz denominada esclerosis [11]. Los mecanismos subyacentes a la inmunopatogénesis de la EM aún no se han determinado por completo, a pesar de la intensa investigación [18,19], aunque se han propuesto como posibles causantes tanto variantes genéticas de riesgo de desarrollo de EM [20,21] o virus (Poliomavirus), Epstein-Barr, Herpesvirus, Varicella Zoster, Cytomegalovirus, John Cunningham y retrovirus endógenos humanos como el Polioma virus) [22]. El haplotipo DRB1\*15:01 del antígeno leucocitario humano (HLA) es el principal factor de riesgo de la EM [23]. El proceso de inmunopatogénesis de la EM implica a diversos tipos celulares: macrófagos, células T auxiliares tipo 1 (Th1), células Th17, células T CD8+, T CD4+ y células B que secretan autoanticuerpos [24-26].

La barrera hematoencefálica, en condiciones patológicas, puede ser atravesada por linfocitos activados en la periferia [27], tal como se observa en la Figura 1. Se infiltran en el sistema nervioso central para desencadenar una respuesta inmunitaria local, lo que conduce a la desmielinización de la vaina de mielina (Células de Schwann) y al ataque inmunológico a la proteína básica de mielina, la proteína proteolípida y la glicoproteína oligodendrocitaria de mielina [24].

La destrucción de la mielina se produce como consecuencia de la liberación de sustancias oxidantes y enzimas hidrolíticas, dando lugar a la lesión oxidativa de las neuronas corticales y neurodegeneración retrógrada debida a lesión axonal en la sustancia blanca [28]. La desregulación de la BBB y la migración transendotelial de los leucocitos activados se encuentran entre las primeras anomalías cerebrovasculares

que se observan en los cerebros con EM y son paralelas a la liberación de citocinas inflamatorias[27].

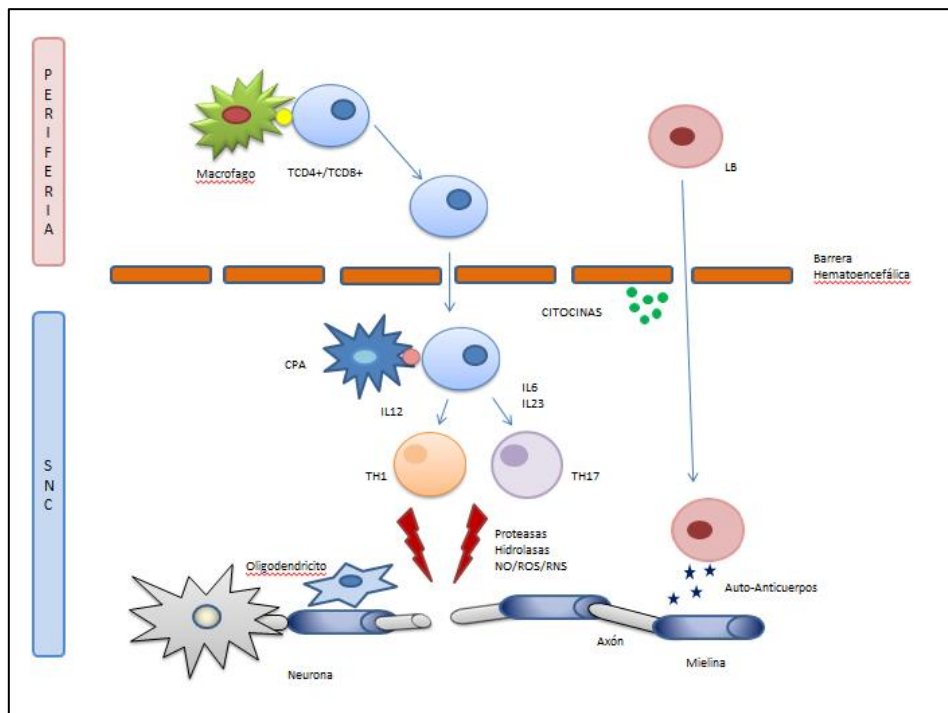


Figura 1. Fisiopatología de la esclerosis múltiple. CPA: Célula presentadora de antígeno. IL6: Interleuquina 6. IL12: Interleuquina 12. IL23: Interleuquina 23. NO: Óxido Nítrico. LB: Linfocito tipo B. TCD4+: Linfocito T del cluster CD4. TCD8+: Linfocito T del cluster CD8. TH1: T Helper tipo 1. TH17: T Helper tipo 17. SNC: Sistema nervioso central. RNS: Especies reactivas al nitrógeno. ROS: Especies reactivas al oxígeno.

En la EM se pueden producir lesiones crónicas en el cerebro y la médula espinal denominadas placas “escleróticas”, que son zonas donde no se ha podido producir la remielinización [29]. En este tipo de lesiones se ha podido comprobar que contenían células de linaje de oligodendrocitos de fenotipo inmaduro, haciéndolos característicos en el fracaso de regeneración de la mielina en las lesiones de desmielinización crónica de la EM [29].

La acumulación de lesiones y neurodegeneración en el cerebro con EM no afecta a todas las regiones del cerebro por igual [28]. De ahí que, como se ha descrito anteriormente, hay casos en donde los avances son constantes (progresivos) y otros que se producen de forma intermitente (recurrente) [11,14].

### 3.3 TERAPIAS EN EM

En la Tabla 1 se muestran los tratamientos modificadores de la EM aprobados por la *European Medicines Agency* (EMA):

Tipo de tratamiento farmacológico	Principio activo	Año de aprobación	Modo de administración
<b>Primera línea</b>	Interferón Beta 1a	1996	<b>Intramuscular/ Subcutáneo</b>
	Interferón Beta 1b	1993	<b>Subcutáneo</b>
	Acetato de glatirámero	1996	<b>Subcutáneo</b>
	Teriflunomida	2012	<b>Oral</b>
	Dimetilfumarato	2013	<b>Oral</b>
<b>Segunda línea</b>	Mitoxantrona	2000	<b>Intravenoso</b>
	Natalizumab	2004	<b>Intravenoso</b>
	Fingolimod	2010	<b>Oral</b>
	Alemtuzumab	2014	<b>Intravenoso</b>
	Ocrelizumab	2017	<b>Intravenoso</b>
	Siponimod	2019	<b>Oral</b>
	<b>Cladribina</b>	<b>2019</b>	<b>Oral</b>

Tabla 1. Tipo de tratamiento según la línea de terapia

Estos fármacos se administran en diferentes líneas de tratamiento y presentan distintos mecanismos de acción, como se describe en la Figura 3 y la Figura 3.

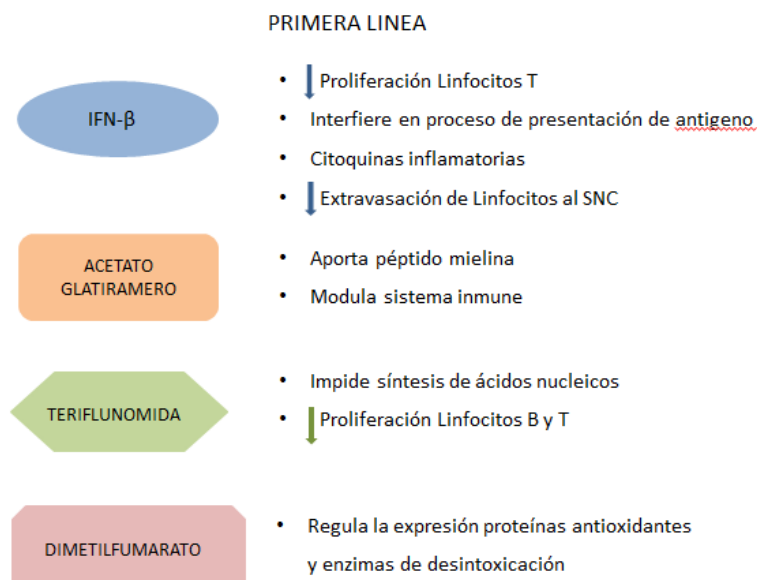


Figura 2. Mecanismos de acción de los fármacos utilizados en primera línea de tratamiento en la terapia de esclerosis múltiple.

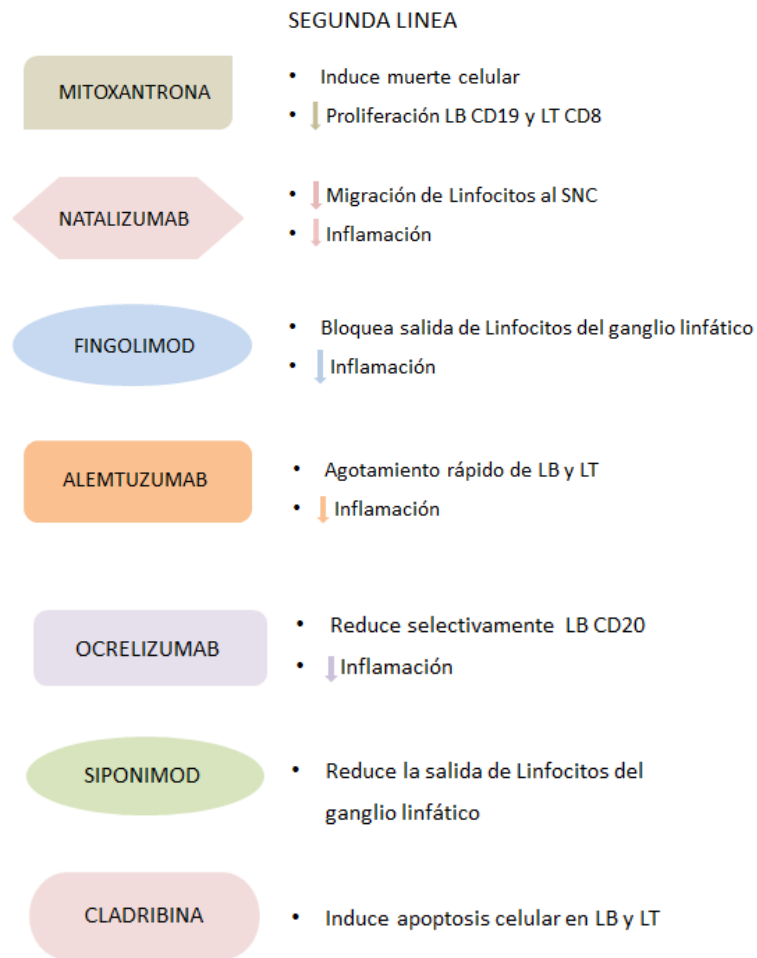


Figura 3. Mecanismos de acción de los fármacos utilizados en segunda línea de tratamiento en la terapia de esclerosis múltiple.

### 3.3.1 PRIMERA LÍNEA

#### 3.3.1.1 IFN- $\beta$

Se utilizan dos opciones terapéuticas de IFN- $\beta$  recombinante en el tratamiento de la EM: IFN- $\beta$  1a e IFN- $\beta$  1b.

El IFN- $\beta$  1a se obtiene de células de ovario de hámster, con secuencia de aminoácidos idéntica al IFN nativo, y puede administrarse por vía intramuscular (IM) o subcutánea (SC) [30]. Frecuentemente se utiliza el IFN 1a pegilado (PEG 1a), obtenido por conjugación con moléculas de polietilenglicol. La pegilación contribuye a una reducción de la antigenicidad e inmunogenicidad, así como a un aumento de la exposición, la vida media y las concentraciones séricas del agente terapéutico [31,32].

El IFN- $\beta$  1b, administrado SC, es sintetizado por *Escherichia coli*, y tiene diferencias significativas en ciertos aminoácidos en comparación con el IFN- $\beta$  de origen natural, y no está glicosilado. Estas diferencias influyen en la actividad biológica específica y, por



lo tanto, se requiere una dosis más alta [30], lo que implica una mayor probabilidad de desarrollar anticuerpos neutralizantes (NAbs) [33].

La mayoría de los pacientes con EM son tratados con fármacos modificadores de la enfermedad de primera línea, como el IFN- $\beta$ , un polipéptido natural altamente sintetizado por fibroblastos con propiedades antiinflamatorias [34]. El IFN- $\beta$  modula la expresión de ciertos genes, interfiriendo con el proceso de presentación del antígeno, inhibiendo la activación y proliferación de las células T [34] y también reduciendo la expresión de citocinas proinflamatorias [35]. Tiene efectos importantes sobre las moléculas implicadas en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, evitando la adhesión de los linfocitos T al endotelio y su extravasación al SNC [36,37]. El IFN- $\beta$  puede causar hepatotoxicidad, con un tiempo de aparición variable, pero a menudo prolongado, que en la mayoría de los casos consiste en una lesión hepatocelular aguda autolimitada [38].

#### **3.3.1.2 Acetato de glatirámero**

El acetato de glatirámero es un péptido sintético creado por polimerización de cuatro aminoácidos (L-glutamina, L-lisina, L-alanina, L-tirosina), que son los más comunes en la proteína básica de mielina [39]. El mecanismo de acción de este fármaco todavía no se comprende completamente, aunque se sospecha que el acetato de glatirámero puede modular las funciones del sistema inmunológico tanto innato como adaptativo [39].

#### **3.3.1.3 Teriflunomida**

La teriflunomida actúa para impedir la proliferación de células T y B activadas y reduce su capacidad para participar en un ataque inmunológico potencialmente dañino en el SNC [40]. Se sabe que la teriflunomida inhibe de forma reversible la dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH), una enzima mitocondrial que se requiere específicamente para la biosíntesis de pirimidina *de novo* en linfocitos activados [40], y por tanto impide la síntesis de ácidos nucleicos.

#### **3.3.1.4 Dimetilfumarato**

El dimetilfumarato mejora la actividad de la proteína factor nuclear derivado de eritroide 2 (Nrf2), un factor de transcripción tipo cremallera de leucina básico que controla la expresión de una amplia gama de proteínas antioxidantes y enzimas de desintoxicación [41]. El desarrollo de la EM podría verse afectado por el estrés oxidativo. En la fase aguda, el estrés oxidativo inicia procesos inflamatorios y en la fase crónica sostiene la neurodegeneración [42]. El curso de la EM se ve afectado por el uso de antioxidantes y sustancias que actúan sobre las vías antioxidantes, ya que reducen la severidad de la enfermedad y ayudan a una remisión más rápida, pues disminuyen los procesos de neuroinflamación y neurodegeneración [42]. El tratamiento con dimetilfumarato se ha asociado con una actividad baja de la enfermedad en pacientes EMRR, tanto en clínica como en resonancia magnética [43].

### 3.3.2 SEGUNDA LÍNEA

#### 3.3.2.1 Mitoxantrona

Mitoxantrona es un fármaco que interactúa con la topoisomerasa 2, se intercala con el ADN y causa la fragmentación de las cadenas simple y doble del ADN [44]. La Mitoxantrona induce efectos antiproliferativos tempranos pronunciados que parecen estar mediados, al menos en parte, por la muerte celular necrótica/apoptótica tardía. Los linfocitos B positivos para CD19 y, en menor medida, los linfocitos T positivos para CD8 se ven afectados predominantemente por este mecanismo. La muerte celular aumenta drásticamente 2 semanas después de la terapia con Mitoxantrona [44]. Su administración ha de ser limitada, pues posee una citotoxicidad elevada [45]. Un estudio con 676 pacientes EMRR de 8 años de duración mostró aumento del riesgo de leucemia y cáncer colorrectal, resultando en el fallecimiento de 55 pacientes [45].

#### 3.3.2.2 Natalizumab

Natalizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une específicamente a la subunidad  $\alpha 4$  de la integrina  $\alpha 4\beta 1$ , lo que previene la migración de leucocitos al cerebro y reduce la inflamación [46]. Presenta riesgo de desarrollo de leucoencefalopatía multifocal progresiva [47].

#### 3.3.2.3 Fingolimod

Fingolimod es un análogo de la esfingosina que regula la permeabilidad de la barrera endotelial al interactuar con diferentes receptores expresados por células endoteliales, bloqueando la capacidad de los linfocitos de salir del ganglio linfático [48]. El tratamiento continuo con fingolimod durante 36 meses mostró una eficacia mantenida y seguridad en pacientes EMRR de origen japonés [49].

#### 3.3.2.4 Alemtuzumab

Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra antígeno CD52 expresado por linfocitos B y T. Conduce a un agotamiento rápido, pero duradero de estos linfocitos con efectos de reprogramación en la composición de las células inmunes que resulta en la restauración de las redes tolerogénicas [50]. Pocos minutos después de la infusión, el alemtuzumab conduce al agotamiento de las células CD52+ a través de la citólisis mediada por células dependientes de anticuerpos y citólisis dependiente del complemento. Después del agotamiento comienza una repoblación muy lenta a partir de las células precursoras hematopoyéticas que siguen un patrón temporal distinto. Los monocitos y células B alcanzan niveles basales después de tres meses. Los linfocitos T CD8+ se restauran después de 31 meses, mientras que los linfocitos T CD4+ necesitan alrededor de 60 meses para una repoblación completa [20]. Los niveles elevados sostenidos de apoptosis pueden explicar la linfopenia [50] prolongada de células T en la EM a pesar de no afectar a los precursores hematológicos [50]. Alemtuzumab ha demostrado una alta eficacia en ensayos clínicos de fase II y III, en los que se utilizó interferón  $\beta$ -1a como comparador activo, sin embargo, alemtuzumab se asocia con riesgos frecuentes y considerables, como afecciones en la función tiroidea en el 30-40% de los pacientes [50].

### 3.3.2.5 Ocrelizumab

Ocrelizumab es un anticuerpo humanizado anti-CD20, molécula presente en todos los linfocitos B. Reduce de forma selectiva los linfocitos B que expresan CD20 [51]. Es utilizado para el tratamiento en adultos EMRR y EMPP [52]. Este fármaco reduce el índice de recurrencia y el riesgo de progresión de discapacidad en la EMRR y es el primer tratamiento modificador de la enfermedad en ralentizar la progresión de la forma EMPP [53]. Ocrelizumab puede suprimir la actividad de la RMI en 4 semanas y la actividad clínica de la enfermedad en 8 semanas [51].

### 3.3.2.6 Siponimod

Siponimod es un modulador selectivo del receptor de esfingosina 1-fosfato, se utiliza en las formas EMRR y EMSP [54]. Además de sus efectos en inmunomodulación periférica, puede ejercer efectos neuroprotectores directos en el SNC [54].

### 3.3.2.7 Cladribina

Cladribina es un nucleósido análogo de la desoxiadenosina, utilizado en las formas EMRR y EMSP. La administración de este fármaco produce la acumulación de desoxinucleótidos a concentraciones tóxicas, lo que resulta en la muerte celular de los linfocitos, induciendo una linfopenia que reestablece el sistema inmunológico [55].

## 3.3.3 INDICACIÓN DE TRATAMIENTO PARA EMRR

Los tres IFN- $\beta$  (1a SC e IM, y 1b) y el acetato de glatirámero cuentan con recomendación de grado A basada en los estudios de clase I, para reducir la frecuencia de las recaídas en la EMRR. Por ello cuentan con la indicación de la EMA y otras agencias reguladoras para pacientes mayores de 16 años, con EMRR activa caracterizada por al menos dos brotes en los tres años precedentes, una EDSS inferior a 5,5 (capaz de caminar 100 metros sin detenerse y sin ayuda) y que no presenten ninguna de las contraindicaciones (embarazo, lactancia, enfermedad sistémica grave, alergia a la albúmina humana, o depresión con ideación suicida) [52].

El grado A de recomendación sobre la base de ensayos clínicos de clase I existe asimismo para natalizumab y fingolimod, ensayos efectuados frente a placebo o comparador activo. Sin embargo, debido al perfil de seguridad de estos dos fármacos, la EMA restringió su uso como tratamiento inicial de casos de EMRR de inicio agresivo, con rápido deterioro de función neurológica y evidencia de actividad inflamatoria, dejando el resto de indicaciones para fracaso de los medicamentos de primera elección (IFN- $\beta$  y acetato de glatirámero) [52].

Con respecto a azatioprina, cuenta en España con autorización para EMRR, pero es importante señalar que la evidencia de eficacia es considerablemente menor que con los IFN- $\beta$  y acetato de glatirámero, y que existe un riesgo oncogénico. Su uso puede considerarse cuando la EM se asocia a enfermedad del tejido conectivo o en casos en que no hay acceso a inmunomoduladores [52].

El resto de las indicaciones de tratamiento, según las diferentes formas clínicas, se encuentran resumidas en la Tabla 2.

Forma clínica	Tratamiento recomendado
Síndrome desmielinizante aislado	IFNB 1b sc, 1a im, 1a sc y AG
Esclerosis múltiple remitente-recurrente	Tratamiento inicial: IFNB 1b sc, 1a im, 1a sc y AG Casos de inicio agresivo: fingolimod o natalizumab. Ineficacia de tratamiento inicial: fingolimod, natalizumab, mitoxantrona (usada raramente en la actualidad)
Esclerosis múltiple secundariamente progresiva con brotes	IFNB 1b sc, 1a sc, mitoxantrona (usada raramente en la actualidad)
Esclerosis múltiple secundariamente progresiva sin brotes	No hay evidencia de tratamiento eficaz
Esclerosis múltiple primariamente progresiva	No hay evidencia de tratamiento eficaz

Tabla 2. Resumen de las recomendaciones de tratamiento según la forma clínica

Los conceptos de primera y segunda línea, ampliamente difundidos en la comunidad internacional, implican el concepto de fallo o fracaso terapéutico. En EM, no existe acuerdo sobre qué se considera fallo terapéutico o respuesta subóptima. Inicialmente, se ha considerado que un medicamento utilizado para el tratamiento inicial de la EM fracasa cuando no consigue la esperada respuesta de reducción en torno a un 30% de la tasa anualizada de brotes, pero varios estudios han valorado asimismo datos de RM y de progresión de discapacidad para elaborar criterios más complejos de fracaso terapéutico [56]. Cuando uno de los medicamentos iniciales no consigue el efecto deseado se plantea el paso a medicamentos agrupados en segunda línea, con mayor eficacia y riesgo asociado. Este proceso supone la idea de escalado terapéutico. El grupo de enfermedades desmielinizantes de la Sociedad Española de Neurología ha elaborado un consenso sobre el uso de los medicamentos para la EM, revisable periódicamente, que incluye consideraciones específicas de todos estos aspectos [56].

### 3.4 FARMACOGENÉTICA DEL TRATAMIENTO CON IFN-BETA EN EM

La eficacia del IFN- $\beta$  como terapia de primera línea ha sido demostrada en diferentes estudios [57,58]. Sin embargo, aproximadamente del 30 al 50% de los pacientes no responden de manera óptima al tratamiento con IFN, y en algunos casos no muestran indicios de respuesta [59,60]. La influencia de las variantes genéticas en la susceptibilidad a la EM y/o en la respuesta a la terapia con IFN- $\beta$  se ha investigado en varios estudios de asociación de todo el genoma (GWA) y de genes candidatos [61-70], revelando roles potenciales para diferentes genes en la respuesta al IFN- $\beta$  [61-65,71-73]. Aunque se han propuesto muchos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) como posibles predictores de respuesta a IFN- $\beta$ , en general hay una falta de replicación en otras poblaciones o confirmación de su utilidad como biomarcadores predictivos. Entre las variantes genéticas investigadas, algunas se han relacionado previamente con papeles potenciales como predictores de respuesta a IFN- $\beta$  [65], otras como modificadores de respuesta [63], aumento de la actividad de la enfermedad [64] o involucradas en el mecanismo de acción del tratamiento con IFN [61].

En un GWAS que evaluó 428,867 SNP en 210 pacientes con EMRR de origen caucásico, el SNP más significativo asociado con la respuesta al IFN- $\beta$  fue rs12557782, perteneciente al gen *GRIA3* [65]. El gen *GRIA3* (Receptor de Glutamato Ionotrópico Ampa 3), ubicado en el cromosoma X, juega un papel importante en la transmisión sináptica en el SNC [74,75]. La variante rs12557782 (alelo G) de este gen ha sido identificada como un posible biomarcador de respuesta a la terapia con IFN- $\beta$  en 144 mujeres españolas con EMRR ( $p=0.002$ ; OR=2.7; IC<sub>95%</sub>=1.5, 5.2) [65].

El gen *TNFRSF10A* codifica el miembro 10a de la superfamilia de receptores del TNF, que es el receptor para el ligando citotóxico *TNFSF10/TRAIL* [76] La molécula adaptadora FADD recluta caspasa-8 para el receptor activado, dando lugar a un complejo de señalización inductor de muerte celular que activa proteolíticamente la caspasa-8, la cual inicia la cascada posterior de caspasas mediadoras de apoptosis [77] Este receptor promueve además la activación de NF-kappa-B [78] y se ha involucrado en enfermedades autoinmunes mediadas por células T, como la EM [79]. El polimorfismo rs20576 (genotipo CC) se identificó como un predictor de respuesta positiva a IFN- $\beta$  ( $p=8.88 \cdot 10^{-4}$ ; OR: 0.30; IC<sub>95%</sub>=0.14, 0.63) en el análisis conjunto de una cohorte original de 509 y una cohorte de validación de 226 pacientes españoles con EMRR [73].

La Catepsina S (*CTSS*) es una cisteína proteasa lisosómica altamente expresada en células presentadoras de antígenos (células B, macrófagos, microglía y células dendríticas) [80-83] La función principal de esta proteasa es la degradación de la cadena invariante asociada al complejo mayor de histocompatibilidad clase II, y la presentación del antígeno del MHC de clase II, procesos relacionados con la respuesta inmune [83,84] En 230 pacientes con EMRR de Belfast, Reino Unido, los portadores del alelo C del polimorfismo rs1136774, ubicado en el gen *CTSS*, mostraron una mayor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p=0.02$ ; OR=0.38; IC<sub>95%</sub>=0.18, 0.84) [63].

El gen *OAS1* (oligoadenilato sintetasa 1) es inducido por IFN y codifica una proteína involucrada en los mecanismos de regulación de la infección viral [85]. El genotipo AA en la variante rs10774671 de este gen confería susceptibilidad a la EM en 401 pacientes con EMRR tratados con IFN- $\beta$  y 394 controles sanos de Dublín, Irlanda, mientras que el genotipo GG protegía frente a la actividad de la enfermedad ( $p=0.04$ ; Hazard ratio=1.47; IC<sub>95%</sub>=1.01, 2.16) [64].

El gen *CBLB* (Linfoma b de linaje B de Casitas) es un regulador clave de los umbrales de activación del sistema inmunitario periférico y de los linfocitos T, implicado en la tolerancia inmunológica y la autoinmunidad [61,71,72]. En 37 pacientes con EMRR de Hamburgo, Alemania, los portadores del alelo T del polimorfismo *CBLB* rs12487066 mostraron una reducción en la expresión de *CBLB* en comparación con los homocigotos CC en presencia de IFN- $\beta$  ( $p=0.012$ ), sin inhibir la proliferación de linfocitos T [61].

Se han identificado otros SNP como indicadores de respuesta al IFN- $\beta$  en varios estudios. En el GWAS de Comabella et al., mencionado anteriormente, se evaluaron 428.867 SNP en una cohorte de 106 pacientes con EMRR de origen caucásico [65]. Se identificaron otros polimorfismos como posibles biomarcadores de respuesta a IFN- $\beta$ : *CIT* rs7308076 (alelo C), *ADAR* rs222985 (alelo A), *ZFAT* rs733254 (alelo G), *STARD13* rs9527281 (alelo T), *ZFH4* rs11787532 (alelo C), *IFNAR2* rs2248202 (alelo C), ( $p=0.006$ ;

$p=0.02$ ;  $p=0.02$ ;  $p=0.02$ ;  $p=0.04$ ;  $p=0.004$ ) respectivamente [65]. Otro GWAS con una cohorte de 285 pacientes con EMRR de origen caucásico identificó tres polimorfismos como posibles candidatos para predictores de respuesta: *GPC5* rs10492503 y *COL25A1* rs794143 (genotipos homocigotos del alelo menor versus alelos homocigotos mayores) ( $p=0.007$  y  $p=0.037$ ) respectivamente [62] y *HAPLN1* rs4466137 (genotipo heterocigoto de alelos minoritarios-mayoritarios versus alelos principales homocigotos ( $p < 0.001$ ) [62]. Otro estudio que incluyó a 261 pacientes con EMRR, para evaluar la influencia de variantes del gen *IRF5* en la respuesta a IFN- $\beta$ , mostró dos polimorfismos, *IRF5* rs2004640 (genotipo TT versus alelo G) e *IRF5* rs4728142 (genotipo AA versus alelo G), asociados con menor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p < 0.001$  y  $p=0.002$  respectivamente) [66]. *CD46* rs2724385 se identificó como un posible biomarcador de respuesta en un estudio que incluyó a 406 pacientes con EMRR y 513 controles de origen caucásico (genotipo AT:  $p=0.007$ ; genotipo TT:  $p=0.006$ ) [67]. Los polimorfismos *PELI3* rs2277320 y *GABRR3* rs832032 ( $p=0.008$ ;  $p=0.006$ ) destacaron como indicadores de respuesta a IFN- $\beta$  en una cohorte de 1385 pacientes caucásicos con EMRR [68]. Los portadores del alelo A del gen *IFNAR1* rs1012334 mostraron una tendencia a reducir las tasas de recaída ( $p=0.03$ ) en un estudio con 147 pacientes con EMRR [69]. Este SNP fue investigado en otro estudio con 230 pacientes, sin mostrar resultados significativos [63] sin embargo, el gen *LMP7* rs2071543 (alelo C) se identificó como un posible biomarcador de respuesta ( $p=0.002$ ) [63]. Un estudio que incluyó a pacientes iraníes con EM divididos en 146 respondedores a IFN $\beta$  y 85 no respondedores, así como 180 controles sanos, mostró que el genotipo AA en *MX1* rs464138 era significativamente más alto en respondedores en comparación con no respondedores ( $p=0.038$ ) [86]. En un GWAS que incluyó a 479 pacientes con EM tratados con IFN- $\beta$  de Australia, España e Italia, se encontraron asociaciones para el alelo C del gen *FHIT* rs760316 ( $p=6,74 \times 10^{-6}$ ), el alelo T de *GAPVD1* rs10819043 ( $p=5,83 \times 10^{-5}$ ) y *ZNF697* rs10494227 para el alelo A ( $p=8.15 \times 10^{-5}$ ) [70].



## 4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Actualmente, la farmacoterapia de la EM está enfocada principalmente a reducir la progresión de esta enfermedad de carácter crónico, y aumentar la calidad de vida del paciente. Se estima que entre el 30% y el 50% de los pacientes EM son no respondedores a tratamiento [59,60]. Los tratamientos incluyen fármacos de la línea clásica, como son IFN- $\beta$  y acetato de glatirámero, y nuevas opciones terapéuticas, como natalizumab, fingolimod, teriflunomida, dimetilfumarato, alemtuzumab y ocrelizumab, cuyos porcentajes de efectividad, en función de la reducción del número de recaídas son prometedores, pero cuyo uso prolongado suele dar lugar a ineffectividad [33,38,45,47,50,55,52,56].

La Farmacogenética es un recurso clínica y éticamente indispensable para aumentar la efectividad de los tratamientos y reducir los efectos secundarios asociados a fármacos. De los medicamentos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA), 121 tienen ya un biomarcador en ficha técnica con recomendaciones o indicaciones referentes a dosis y administración [87]. Algunos estudios han tratado de encontrar biomarcadores farmacogenéticos para predecir la respuesta a los fármacos modificadores de EM [61-70]. A pesar de que IFN- $\beta$  es el que ha sido estudiado en mayor extensión [61-65], el valor predictivo de la mayoría de los biomarcadores propuestos, como ocurre con los polimorfismos *GRIA3*-rs12557782, y *TNFRSF10A*-rs20576, no ha sido consistentemente demostrado [65,73]. Tampoco hay suficientes estudios de replicación que confirmen su posible extrapolación en otras poblaciones, como ocurre con los polimorfismos en *CTSS*-rs1136774 y *OAS1*-rs10774671 [63,64]. También es interesante investigar la posible implicación en la respuesta terapéutica a IFN- $\beta$  de variantes de riesgo, como es el caso de *CBLB*-rs12487066, que hasta ahora no ha sido explorada [61].

Por tanto, actualmente no existen biomarcadores de respuesta a IFN- $\beta$ , especialmente de tipo genético, en pacientes de EM, que permitan optimizar su tratamiento de forma rutinaria. La identificación de tales biomarcadores permitiría determinar la respuesta a IFN- $\beta$  en función de su genotipo, prediciendo con una alta certeza qué pacientes van a responder a determinada terapia, lo que garantizaría una mayor calidad de vida al paciente, mejorando los resultados terapéuticos, y en última instancia, la costo-efectividad de la terapia.

Por ello, en este estudio se seleccionaron polimorfismos en los genes *GRIA3*, *TNFRSF10A*, *CTSS*, *OAS1* y *CBLB*, previamente identificados con roles potenciales en respuesta a IFN- $\beta$  [65], como modificadores de respuesta [63], aumento de la actividad de la enfermedad [64] o involucrados en el mecanismo de acción del tratamiento con IFN [61], con el objetivo de explorar su posible papel predictivo a terapia con IFN- $\beta$  en pacientes con EM.





## 5 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 5.1 HIPÓTESIS

Los marcadores farmacogenéticos pueden predecir la respuesta al tratamiento con IFN- $\beta$  en pacientes diagnosticados de EMRR.

### 5.2 OBJETIVOS

#### 5.2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Investigar la influencia de cinco polimorfismos (*CBLB*-rs12487066, *GRIA3*-rs12557782, *CTSS*-rs1136774, *OAS1*-rs10774671 y *TNFRSF10A*-rs20576) en la respuesta a IFN- $\beta$  y en la variación de EDSS en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.

#### 5.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la respuesta a IFN- $\beta$ , definida según los criterios de Rio et al. [88,89] en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.
2. Calcular la variación de EDSS en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.
3. Investigar la influencia de las variables clínicas y sociodemográficas sexo, antecedentes familiares de cáncer, edad en el momento del diagnóstico de EM, duración de la enfermedad, EDSS basal y opción terapéutica en la respuesta a IFN- $\beta$ , definida según los criterios de Rio et al. [88,89] en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.
4. Investigar la influencia de las variables clínicas y sociodemográficas sexo, antecedentes familiares de cáncer, edad en el momento del diagnóstico de EM, duración de la enfermedad, EDSS basal y opción terapéutica en la variación de EDSS en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.
5. Investigar la influencia de los polimorfismos *CBLB*-rs12487066, *GRIA3*-rs12557782, *CTSS*-rs1136774, *OAS1*-rs10774671 y *TNFRSF10A*-rs20576 en la respuesta a IFN- $\beta$  según los criterios de Rio et al. [88,89], así como su independencia de variables clínicas y sociodemográficas, en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.
6. Investigar la influencia de los polimorfismos *CBLB*-rs12487066, *GRIA3*-rs12557782, *CTSS*-rs1136774, *OAS1*-rs10774671 y *TNFRSF10A*-rs20576 en la variación de EDSS, así como su independencia de variables clínicas y sociodemográficas, en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses.



## 6 MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de cohortes ambispectivo.

### 6.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Este estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) de Granada, España, durante el periodo de mayo de 2016 a junio de 2020.

Se incluyeron 137 pacientes de origen étnico europeo, diagnosticados con EMRR, mayores de 18 años y tratados con IFN- $\beta$ . El periodo de seguimiento fue de 24 meses.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de HUVN y se realizó conforme a la declaración de Helsinki. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

### 6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

#### 6.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Edad  $\geq$  18 años
- Diagnóstico de EMRR
- Pacientes en tratamiento/tratados con INF- $\beta$  durante un mínimo de 24 meses

#### 6.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes diagnosticados de EM, subtipos CIS o RIS, EMPP o EMPS
- Negativa a participar en el estudio
- Pacientes con diagnóstico de otros desórdenes neurológicos
- Pacientes con infecciones activas conocidas
- Pacientes con patología neoplásica
- Mujeres embarazadas o con intención de quedarse embarazadas durante el periodo de estudio

### 6.4 VARIABLES

#### 6.4.1 VARIABLES RESULTADO O DEPENDIENTES

Se consideraron dos variables de resultado: respuesta a IFN- $\beta$ , definida de acuerdo a los criterios de Rio et al. [88,89], y cambio en el EDSS.

##### 6.4.1.1 Variable “respuesta a IFN- $\beta$ ”

Los pacientes se clasificaron como no respondedores si [88,89]:

- había evidencia de actividad de la enfermedad por resonancia magnética.
- y/o aumento de al menos un punto en la escala EDSS.
- y/o tenían una o más recaídas que persistieron durante un período de tiempo mínimo de dos visitas programadas consecutivas separadas por un intervalo de seis meses.

También se consideraron no respondedores aquellos pacientes a los que la medicación se les suspendiera en ausencia de toxicidad.

#### **6.4.1.2 Variable “cambio en la EDSS”**

Se definió como variación (incremento) o no (sin cambio) en la puntuación calculada en la escala EDSS a los 24 meses. La variación se calculó como la diferencia entre la EDSS a los 24 meses y la basal.

#### **6.4.2 VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS**

Las variables incluidas fueron:

- Sexo.
- Antecedentes familiares de cáncer.
- Edad en el momento del diagnóstico de EM (años).
- Duración de la enfermedad (años).
- Escala Expandida de Discapacidad (EDSS) [16] (Tabla 3) basal (al comienzo del tratamiento) y a los 24 meses de terapia.
- Índice de severidad de EM (Multiple Sclerosis Severity Score, MSSS).
- Índice de progresión (EDSS/Años de enfermedad) [17]
- Forma clínica y de administración del tratamiento (IFN1a IM, 1a SC, 1a PEG, 1b SC) [30].

##### **6.4.2.1 RECOGIDA DE DATOS CLÍNICOS DEL PACIENTE Y FUENTES DE INFORMACIÓN**

Los datos clínicos y sociodemográficos se recogieron mediante la revisión y seguimiento de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

- Diraya clínica
- Estación clínica
- Servicio de documentación del HUVN

Puntuación	Descripción
<b>0.0</b>	Examen neurológico normal, sin discapacidad en ningún SF
<b>1.0</b>	Sin discapacidad, signos mínimos en un SF
<b>1.5</b>	Sin discapacidad, signos mínimos en más de una SF
<b>2.0</b>	Discapacidad mínima en un SF
<b>2.5</b>	Discapacidad leve en una SF o discapacidad mínima en dos SF
<b>3.0</b>	Incapacidad moderada en una SF, o incapacidad leve en tres o cuatro SF. Sin impedimento para caminar
<b>3.5</b>	Invalidez moderada en un SF e invalidez superior a la mínima en varios otros. Sin impedimento para caminar
<b>4.0</b>	Discapacidad importante pero autosuficiente y hasta unas 12 horas al día. Capaz de caminar sin ayuda ni descanso durante 500 m.
<b>4.5</b>	Discapacidad significativa, pero está despierto gran parte del día, capaz de trabajar un día completo, de lo contrario puede tener alguna limitación de actividad completa o requerir asistencia mínima. Capaz de caminar sin ayuda ni descanso durante 300 m.
<b>5.0</b>	Discapacidad lo suficientemente grave como para afectar las actividades diarias completas y la capacidad de trabajar un día completo sin disposiciones especiales. Capaz de caminar sin ayuda ni descanso durante 200 m.
<b>5.5</b>	Discapacidad lo suficientemente grave como para impedir las actividades diarias completas. Capaz de caminar sin ayuda ni descanso durante 100 m.
<b>6.0</b>	Requiere una ayuda para caminar (bastón, muletas, etc.) para caminar unos 100 m con o sin descanso
<b>6.5</b>	Requiere dos ayudas para caminar (un par de bastones, muletas, etc.) para caminar unos 20 m sin descansar
<b>7.0</b>	Incapaz de caminar más allá de aproximadamente 5 m incluso con ayuda. Esencialmente restringido a silla de ruedas; aunque se desplaza solo en silla de ruedas estándar y se traslada solo. Andar en silla de ruedas unas 12 horas al día
<b>7.5</b>	Incapaz de dar más que unos pocos pasos. Restringido a silla de ruedas y puede necesitar ayuda para trasladarse. Puede andar solo pero no puede continuar en una silla de ruedas estándar durante un día completo y puede requerir una silla de ruedas motorizada
<b>8.0</b>	Esencialmente restringido a la cama o silla o empujado en silla de ruedas. Puede estar fuera de la cama gran parte del día. Conserva muchas funciones de cuidado personal. Generalmente tiene un uso efectivo de las armas.
<b>8.5</b>	Esencialmente restringida a la cama la mayor parte del día. Tiene cierto uso efectivo de los brazos. Conserva algunas funciones de autocuidado
<b>9.0</b>	Confinado a la cama. Todavía puede comunicarse y comer
<b>9.5</b>	Confinado en cama y totalmente dependiente. Incapaz de comunicarse efectivamente o comer/tragar
<b>10.0</b>	Muerte por EM

Tabla 3. Escala *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) [17]. Las etapas 1.0 a 4.5 de la EDSS se refieren a personas con esclerosis múltiple (EM) que pueden caminar sin ninguna ayuda y se basan en medidas de deterioro en ocho sistemas funcionales (SF): piramidal: debilidad muscular o dificultad para mover las extremidades; cerebeloso: ataxia, pérdida de equilibrio, coordinación o temblor; tronco encefálico: problemas con el habla, la deglución y el nistagmo; sensorial: entumecimiento o pérdida de sensaciones; función del intestino y la vejiga; función visual - problemas con la vista; funciones cerebrales - problemas con el pensamiento y la memoria; otro

### 6.4.3 VARIABLES GENÉTICAS

Genotipo del paciente en los polimorfismos genéticos *CBLB*-rs12487066, *GRIA3*-rs12557782, *CTSS*-rs1136774, *OAS1*-rs10774671 y *TNFRSF10A*-rs20576.

#### 6.4.3.1 ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Se determinaron los siguientes SNPs, utilizando PCR en tiempo real con sondas TaqMan (Tabla 4), de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente [90]: *CBLB* (rs12487066), *GRIA3* (rs12557782), *CTSS* (rs1136774), *OAS1* (rs10774671), *TNFRSF10A* (rs20576).

La extracción de ADN de las muestras de saliva se realizó mediante QIAamp Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden Germany), según los protocolos de extracción indicados por el fabricante.

rs Localización cromosómica (GRCh37)	Gen	Polimorfismo	Secuencia [VIC/FAM]
rs1136774 1:150738197	<b>CTSS</b> Catepsina S	C/T	C__26673019_10 ACGTGATAGAACCAGCAGTTGCTCC [C/T] ACAGTAAGAGTCCTTGAATTAGTGG
rs12487066 3:105912130	<b>CBLB</b> Linfoma b de linaje B de Casitas	C/T	C__30681860_10 GAAAACTTAACGACTAAAAGTGAT [C/T] TCACTGACAAGGTGCTGTAGCAAAA
rs20576 8: 23058220	<b>TNFRSF10A</b> Miembro 10a de la superfamilia del receptor de TNF	G/T	C__12102849_10 TGTACCTGATTCTTTGTGGACACAC [G/T] CGATGTCACTCCAGGGCGTACAATC
rs10774671 12: 113357193	<b>OAS1</b> 2'-5'-oligoadenilato sintetasa 1	A/G	C__2567433_10 TGTGATCATGTGTCTCACCTTTCA [A/G] GCTGAAAGCAACAGTGCAGACGATG
rs12557782 X:122377738	<b>GRIA3</b> Receptor ionotrópico de glutamato tipo AMPA subunidad 3	A/G	C__2471179_10 TAACCATATTATCTCGATATAAAAG [A/G] GCCTAAAAGCACCTCTTAGCCCA

Tabla 4. Información Genotipado sondas TaqMan de ThermoFisher Scientific.

### 6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con R 3.0.1 [91], excepto el equilibrio de Hardy-Weinberg, que se estimó utilizando el conjunto de herramientas de análisis de asociación del genoma completo de código abierto y gratuito PLINK 1.9 [92].

El análisis estadístico del polimorfismo rs12557782 en el gen *GRIA3* (Cromosoma X) se estratificó por sexo.

#### 6.5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Las variables cualitativas se expresaron como frecuencias y porcentajes.

Las variables cuantitativas se expresaron como media y desviación estándar para las variables con distribución normal, o mediana y percentiles 25 y 75 para las variables con distribución no normal. Se utilizó la prueba de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) para evaluar la normalidad de las variables.

### 6.5.2 ANÁLISIS BIVARIANTE

Para analizar la asociación entre respuesta a IFN- $\beta$ /cambio en la EDSS y polimorfismos (modelos genotípicos, aditivos, alélicos, dominantes y recesivos), así como el resto de las variables cualitativas independientes, se realizó un análisis bivalente utilizando Chi-cuadrado de Pearson con corrección de Yates, o el test de Fisher para frecuencias esperadas por debajo de 5%.

Se calculó el Riesgo Relativo (RR) y su intervalo de confianza al 95% (IC<sub>95%</sub>).

Los modelos genéticos se definieron de la siguiente manera, siendo m el alelo minoritario y M es el alelo mayoritario:

- genotípico: mm vs Mm vs MM
- dominante: mm y Mm vs MM
- recesivo: mm vs Mm y MM
- alélico: M vs m

El análisis bivalente para variables cuantitativas independientes se realizó mediante la prueba de Wilcoxon.

### 6.5.3 ANÁLISIS MULTIVARIABLE

Para verificar la influencia de los SNPs en la respuesta a IFN- $\beta$ /cambio en la EDSS, se aplicó un modelo de regresión logística multivariable, tomando un nivel de significación de  $p < 0.05$ .

## 6.6 ASPECTOS ÉTICOS

Esta investigación fue aprobada por el Comité Ético de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (ANEXO 1). Los pacientes firmaron un consentimiento (ANEXO 2) y además se les proporcionó la información referente al estudio contenida en la Hoja de Información al Paciente (ANEXO 3).

Se realizó y aprobó la solicitud al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía para la gestión de las muestras (código de la colección: 19160002).

Esta investigación cumple por tanto con los aspectos éticos y legales descritos en:

- Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos, octubre de 2005.
- Declaración Mundial sobre el Genoma y los Derechos Humanos (UNESCO).
- Ley 15/1999 de 13 de diciembre. Protección de Datos de Carácter Personal.



- Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.
- Ley 14/2007, sobre Investigación Biomédica.
- Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica.
- Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.
- Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas.
- Orden SAS/3166/2009, de 16 de noviembre, por la que se sustituyen los anexos del Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas.





## 7 RESULTADOS

### 7.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN

#### 7.1.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES

Se incluyeron un total de 137 pacientes, de origen étnico europeo, diagnosticados de EMRR que habían sido tratados con IFN- $\beta$  (1a, PEG 1a, 1b), cuyas características clínicas y sociodemográficas se detallan en la Tabla 5.

La mediana de la edad del diagnóstico fue de 31 años, con una duración media de la enfermedad de 2 años. La proporción de mujeres fue del 65.7% (90/137). Sesenta y nueve pacientes mantuvieron su EDSS estable después de 24 meses de terapia (84.2%), y el resto (15.9%) aumentó su puntuación EDSS en una mediana de 0.5 puntos. El 77.3% de los pacientes mostró una buena respuesta a la terapia con IFN- $\beta$ .

CARACTERÍSTICAS	N (%)	P <sub>50</sub> [P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ]
<b>Sexo</b>		
<b>Mujer</b>	90 (65.7)	
<b>Hombre</b>	47 (34.3)	
<b>Antecedentes de cáncer</b>		
<b>Sí</b>	6 (4.4)	
<b>No</b>	131 (95.6)	
<b>Edad al diagnóstico de esclerosis múltiple</b>		31 [25, 39]
<b>Duración de la enfermedad (años)</b>		2 [2, 4]
<b>EDSS Basal</b>		1 [0, 1]
<b>EDSS 24 meses</b>		1 [0, 1.5]
<b>Cambio en EDSS</b>		0 [0, 2]
<b>Sin cambio</b>	69 (84.2)	0 [0, 0]
<b>Incremento</b>	13 (15.9)	0.5 [0.5, 1.0]
<b>Índice de severidad de esclerosis múltiple</b>		1.9 [0.5, 2.0]
<b>Índice de progresión</b>		0.3 [0.0, 0.5]
<b>Respuesta a Interferón Beta</b>		
<b>Sí</b>	106 (77.3)	
<b>No</b>	31 (22.6)	
<b>Opción terapéutica</b>		
<b>1a Intramuscular</b>	54 (39.4)	
<b>1a Subcutáneo</b>	46 (33.6)	
<b>1a Pegilado</b>	5 (3.6)	
<b>1b Subcutáneo</b>	14 (10.2)	
<b>Sin especificar</b>	18 (13.1)	

Tabla 5. Características clínicas y sociodemográficas de 137 pacientes esclerosis múltiple tratados con interferón Beta. EDSS: Escala expandida de discapacidad.

#### 7.1.2 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LOS PACIENTES

Las frecuencias de los cinco SNPs investigados se encuentran en la Tabla 6, en la que se observa que todos se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Crom	Gen	SNP	Posición (GRCh37)	m	M	Número de Pacientes				HWE p-valor
						N	mm	mM	MM	
1	CTSS	rs1136774	150738197	C	T	137	33	68	36	0.656
						%	24.1	49.6	26.3	
3	CBLB	rs12487066	105912130	C	T	137	10	48	79	0.710
						%	7.3	35.0	57.7	
8	TNFRSF10A	rs20576	23058220	G	T	137	3	60	74	0.948
						%	2.2	43.8	54.0	
12	OAS1	rs10774671	113357193	G	A	137	17	69	51	0.313
						%	12.4	50.4	37.2	
X	GRIA3*	rs12557782	122377738	G	A	90	18	44	28	1
						%	20.0	48.9	31.1	

Tabla 6. Frecuencias de los cinco polimorfismos analizados en la cohorte de 137 pacientes de esclerosis múltiple y equilibrio Hardy-Weinberg (HWE). Crom: cromosoma. m: alelo minoritario. M: alelo mayoritario. N: número de pacientes. SNP: Polimorfismo de Nucleótido Simple. \* Calculado sólo para mujeres.

## 7.2 ANÁLISIS BIVARIANTE

### 7.2.1 INFLUENCIA DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS EN LA RESPUESTA A IFN-β Y CAMBIO EN LA EDSS

La EDSS basal fue la única variable clínica/sociodemográfica asociada con la respuesta a IFN-β (p=0.008, Tabla 7) y cambio en la EDSS (p=0.036, Tabla 8).

No hubo diferencias en la distribución de respondedores y no respondedores al IFN-β o cambio en la EDSS entre hombres y mujeres, pacientes con antecedentes de cáncer, o entre las diferentes opciones terapéuticas de IFN-β (Tabla 7 y Tabla 8, respectivamente).

Las medianas de edad en el momento del diagnóstico y la duración de EM tampoco fueron diferentes entre respondedores y no respondedores al IFN-β o cambio en la EDSS (Tabla 7 y Tabla 8, respectivamente).

CARACTERÍSTICAS	N	RESPUESTA		P
		SÍ	NO	
<b>Sexo</b>				
Mujer	90	63 (63.0)	27 (73.0)	0.374
Hombre	47	37 (37.0)	10 (27.0)	
<b>Antecedentes de cáncer</b>				
Sí	6	4 (4.0)	2 (5.4)	0.661*
No	131	96 (96.0)	35 (94.6)	
<b>Edad en el diagnóstico de EM (años)</b>	137	31 [24, 38]	31 [25, 40]	0.767
<b>Duración de la enfermedad (años)</b>	137	2 [2, 4]	2 [2, 2]	0.217
<b>EDSS Basal</b>	137	1 [0, 1]	1 [1, 2]	<b>0.008</b>
<b>Opción terapéutica (1a o 1b)</b>				
1a	105	86 (88.7)	19 (86.4)	0.721
1b	14	11 (11.3)	3 (13.6)	

Opción terapéutica				
<b>1a Intramuscular</b>	54	45 (46.4)	9 (40.9)	0.770*
<b>1a Subcutáneo</b>	46	36 (37.1)	10 (45.5)	
<b>1a Pegilado</b>	5	5 (5.2)	0 (0)	
<b>1b Subcutáneo</b>	14	11 (11.3)	3 (13.6)	

Tabla 7. Asociación de características clínicas y sociodemográficas con la Respuesta a IFN-β en 137 pacientes con Esclerosis Múltiple (EM) tratados con Interferón Beta (Análisis Bivariante). \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor de p para la prueba de chi-cuadrado en variables cualitativas. Valor p para la prueba de Wilcoxon. Los valores p significativos se muestran en negrita. Las frecuencias se expresan como número (%). Las variables cuantitativas se expresan como P<sub>50</sub> [P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>]. Los porcentajes que se calculan por columna. EDSS: Escala Expandida de Discapacidad.

CARACTERÍSTICAS	N	Escala Expandida de Discapacidad		p
		Incremento	Sin cambio	
<b>Sexo</b>				
<b>Mujer</b>	53	47 (68.1)	6 (46.2)	0.204*
<b>Hombre</b>	29	22 (31.9)	7 (53.8)	
<b>Antecedentes de cáncer</b>				
<b>Sí</b>	4	2 (2.9)	2 (15.4)	0.116*
<b>No</b>	78	67 (97.1)	11 (84.6)	
<b>Edad en el diagnóstico EM</b>	82	30 [24, 38]	31 [26, 37]	0.380
<b>Duración de la enfermedad (años)</b>	82	2 [2,4]	2 [2,3]	0.917
<b>EDSS Basal</b>	82	1 [0.1]	1.5 [0.2]	<b>0.036</b>
<b>Opción terapéutica (1a o 1b)</b>				
<b>1a</b>	71	9 (69.2)	62 (91.2)	0.050
<b>1b</b>	10	4 (30.8)	6 (8.8)	
<b>Opción terapéutica</b>				
<b>1a Intramuscular</b>	35	6 (46.2)	29 (42.6)	0.070
<b>1a Subcutáneo</b>	31	2 (15.4)	29 (42.6)	
<b>1a Pegilado</b>	5	1 (7.7)	4 (5.9)	
<b>1b Subcutáneo</b>	10	4 (30.8)	6 (8.8)	

Tabla 8. Asociación de características clínicas y sociodemográficas con el cambio en la Escala Expandida de Discapacidad (EDSS) en 137 pacientes con Esclerosis Múltiple (EM) tratados con Interferón Beta (Análisis Bivariante). \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor de p para la prueba de chi-cuadrado en variables cualitativas. Valor p para la prueba de Wilcoxon. Los valores p significativos se muestran en negrita. Las frecuencias se expresan como número (%). Las variables cuantitativas se expresan como P<sub>50</sub> [P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>]. Los porcentajes que se calculan por columna.

## 7.2.2 INFLUENCIA DE LOS SNPs EN LA RESPUESTA A IFN-β Y CAMBIO EN LA EDSS

### 7.2.2.1 INFLUENCIA DE LOS SNPs EN RESPUESTA A IFN-β

El análisis bivariante para evaluar la influencia en la respuesta a IFN-β de los polimorfismos genéticos *CBLB*-rs12487066, *TNFRSF10A*-rs20576, *CTSS*-rs1136774 y *OAS1*-rs10774671 se detalla en la Tabla 9, y para el polimorfismo *GRIA3*-rs12557782 en la Tabla 10.

El análisis bivariante mostró que los pacientes con genotipo CC en el polimorfismo rs1136774 del gen *CTSS* (modelo recesivo) tenían mayor respuesta a IFN-β (p=0.047; RR=1.3; CI<sub>95%</sub>=1.0. 1.7).

Gen	SNP Alelo Minoritario	Modelo Genético	Respuesta a IFN-β			Valor p
			N	SI N (%)	NO N (%)	
CBLB	rs12487066 C	Genotípico	10	9 (90.0)	1 (10.0)	0.568*
			48	34 (70.8)	14 (29.2)	
			79	57 (72.2)	22 (27.8)	
		Dominante	58	43 (74.1)	15 (25.9)	0.949
		Recesivo	10	9 (90.0)	1 (10.0)	0.287*
		Alélico	68	52 (76.5)	16 (23.5)	0.456
CTSS	rs1136774 C	Genotípico	33	29 (87.9)	4 (12.1)	0.083
			68	47 (69.1)	21 (30.9)	
			36	24 (66.7)	12 (33.3)	
		Dominante	101	76 (75.2)	25 (24.8)	0.437
		Recesivo	33	29 (87.9)	4 (12.1)	<b>0.047</b>
		Alélico	134	105 (78.4)	29 (21.6)	0.050
OAS1	rs10774671 G	Genotípico	51	37 (72.5)	14 (27.5)	0.714*
			69	49 (71.0)	20 (29.0)	
			17	14 (82.4)	3 (17.6)	
		Dominante	86	63 (73.3)	23 (26.7)	1
		Recesivo	17	14 (82.4)	3 (17.6)	0.559*
		Alélico	103	77 (74.8)	26 (25.2)	0.609
TNFRSF10A	rs20576 G	Genotípico	3	1 (33.3)	2 (66.7)	0.227*
			60	43 (71.7)	17 (28.3)	
			74	56 (75.7)	18 (24.3)	
		Dominante	63	44 (69.8)	19 (30.2)	0.566
		Recesivo	3	1 (33.3)	2 (66.7)	0.177*
		Alélico	66	45 (68.2)	21 (31.8)	0.312

Tabla 9. Análisis bivariante. Asociación de polimorfismos genéticos con respuesta después de 24 meses de tratamiento con Interferón Beta. \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor p para la prueba de chi-cuadrado en caso contrario. Los valores p significativos se muestran en negrita. Los porcentajes que se muestran están calculados por fila.

Gen	SNP Alelo Minoritario	Modelo Genético	Respuesta a IFN-β			Valor p
			N	SI N (%)	NO N (%)	
GRIA3	rs12557782 G	Women (n=90)				
		Genotípico	30	17 (56.7)	13 (43.3)	<b>0.034*</b>
			45	32 (71.1)	13 (28.9)	
			15	14 (93.3)	1 (6.7)	
		Dominante	60	46 (76.7)	14 (23.4)	<b>0.087</b>
		Recesivo	15	14 (93.3)	1 (6.7)	<b>0.033*</b>
		Alélico	81	64 (79.0)	17 (21.0)	<b>0.010</b>
		Men (n=47)				
			23	18 (78.3)	5 (21.7)	1*
			24	19 (79.2)	5 (20.8)	

Tabla 10. Asociación de polimorfismos genéticos con respuesta después de 24 meses de tratamiento con Interferón Beta, estratificado por sexo, para el polimorfismo rs12557782 en el gen GRIA3. \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor p para la prueba de chi-cuadrado en caso contrario. Los valores p significativos se muestran en negrita. Los porcentajes que se muestran están calculados por fila.

Asimismo, mujeres con genotipo GG en el polimorfismo rs12557782 del gen *GRIA3* (modelo recesivo) presentaron mejor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p=0.033$ ;  $RR=1.4$ ;  $CI_{95\%}=1.0$ . 2.1).

### 7.2.2.2 INFLUENCIA DE LOS SNPs EN EL CAMBIO EN LA EDSS

El análisis bivalente para evaluar la influencia en el cambio en la EDSS de los polimorfismos genéticos *CBLB*-rs12487066, *TNFRSF10A*-rs20576, *CTSS*-rs1136774 y *OAS1*-rs10774671 se detalla en la Tabla 11, y para el polimorfismo *GRIA3*-rs12557782 en la Tabla 12.

Los polimorfismos de los genes *CBLB*-rs12487066 y *TNFRSF10A*-rs20576 mostraron una tendencia a la asociación con el cambio en la EDSS después de 24 meses de tratamiento con IFN, pero no significativa ( $p < 0.1$ ).

El polimorfismo rs10774671 del gen *OAS1* no fue capaz de predecir la variación de la respuesta individual al IFN- $\beta$  o el cambio en la EDSS.

Gen	SNP Alelo Minoritario	Modelo Genético	Expanded Disability Status Scale				Valor p
			Genotipo	N	Incremento N (%)	Sin cambio N (%)	
<b>CBLB</b>	rs12487066 C	Genotípico	CC	7	3 (42.9)	4 (57.1)	0.130*
			CT	28	3 (10.7)	25 (89.3)	
			TT	47	7 (14.9)	40 (85.1)	
		Dominante	C-	35	6 (17.1)	29 (82.9)	1
		Recesivo	CC	7	3 (42.9)	4 (57.1)	0.075*
		Alélico	C	42	33 (78.6)	9 (21.4)	0.251
<b>CTSS</b>	rs1136774 C	Genotípico	CC	24	2 (8.3)	22 (91.7)	0.487*
			CT	40	7 (17.5)	33 (82.5)	
			TT	18	4 (22.2)	14 (77.8)	
		Dominante	C-	64	9 (14.1)	55 (85.9)	0.467*
		Recesivo	CC	24	2 (8.3)	22 (91.7)	0.327*
		Alélico	C	88	77 (87.5)	11 (12.5)	0.205
<b>OAS1</b>	rs10774671 G	Genotípico	AA	30	5 (16.7)	25 (83.3)	0.914*
			AG	42	6 (14.3)	36 (85.7)	
			GG	10	2 (20.0)	8 (80.0)	
		Dominante	G-	52	8 (15.4)	44 (84.6)	1*
		Recesivo	GG	10	2 (20.0)	8 (80.0)	0.655*
		Alélico	G	62	52 (83.9)	10 (16.1)	0.940
<b>TNFRSF10A</b>	rs20576 G	Genotípico	GG	2	1 (50.0)	1 (50.0)	0.101*
			GT	37	8 (21.6)	29 (78.4)	
			TT	43	4 (9.3)	39 (90.7)	
		Dominante	G-	39	9 (23.1)	30 (76.9)	0.161
		Recesivo	GG	2	1 (50.0)	1 (50.0)	0.293*
		Alélico	G	41	31 (75.6)	10 (24.4)	0.083

Tabla 11. Análisis bivalente. Asociación de polimorfismos genéticos con cambio en la Escala expandida de discapacidad (EDSS) después de 24 meses de tratamiento con Interferón Beta. \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor p para la prueba de chi-cuadrado en caso contrario. Los valores p significativos se muestran en negrita. Los porcentajes que se muestran están calculados por fila.



Gen	SNP Alelo Minoritario	Modelo Genético	Expanded Disability Status Scale				
			Genotipo	N	Incremento N (%)	Sin cambio N (%)	Valor p
<b>GRIA3</b>	rs12557782 G	Women (n= 53)					
		Genotípico	AA	16	2 (12.5)	14 (87.5)	0.456*
			AG	27	2 (7.4)	25 (92.6)	
			GG	10	2 (20.0)	8 (80.0)	
		Dominante	G-	37	4 (10.8)	33(89.2)	1*
		Recesivo	GG	10	2 (20.0)	8 (80.0)	0.315*
		Alélico	G	51	45 (88.2)	6 (11.8)	0.889
		Men (n=29)					
			A	13	5 (38.5)	8 (61.5)	0.192*
			G	16	2 (12.5)	14 (87.5)	

Tabla 12. Asociación de polimorfismos genéticos con el cambio en la Escala expandida de discapacidad (EDSS) después de 24 meses de tratamiento con Interferón Beta, estratificado por sexo, para el polimorfismo rs12557782 en el gen *GRIA3*. \* Valor p para la prueba exacta de Fisher. Valor p para la prueba de chi-cuadrado en caso contrario. Los valores p significativos se muestran en negrita. Los porcentajes que se muestran están calculados por fila.

### 7.3 ANÁLISIS MULTIVARIABLE

El análisis de regresión logística multivariable (Tabla 13) mostró que los pacientes con valores inferiores en EDSS basal ( $p=0.069$ ;  $OR=0.60$ ;  $IC_{95\%}=0.34, 1.04$ ) y portadores de al menos una copia del alelo C de *CTSS*-rs1136774 tuvieron mejor respuesta a IFN- $\beta$  ( $p=0.042$ ;  $OR=2.94$ ;  $IC_{95\%}=1.03, 8.40$ ).

Pacientes con menor EDSS Basal ( $p=0.006$ ;  $OR=0.36$ ;  $IC_{95\%}=0.016, 0.71$ ) y portadores del genotipo TT del gen *TNFRSF10A*-rs20576 tenían una mayor probabilidad de mantener estable su EDSS después de 24 meses de tratamiento con IFN- $\beta$  ( $p=0.025$ ;  $OR=5.71$ ;  $IC_{95\%}=1.39, 31.75$ ).

	Categoría de Referencia	Valor p	Odds Ratio	Intervalo de Confianza (95%)
<b>Respuesta a Interferón Beta</b>				
<b>EDSS Basal</b>		0.069	0.60	0.34, 1.04
<b><i>CTSS</i> rs1136774 (C-)</b>	TT	0.042	2.94	1.03, 8.40
<b>Cambio en la EDSS</b>				
<b>EDSS Basal</b>		0.006	0.36	0.16, 0.71
<b><i>TNFRSF10A</i> rs20576 (TT)</b>	G-	0.025	5.71	1.39, 31.75

Tabla 13. Análisis multivariable. Asociación de polimorfismos genéticos con respuesta al Interferón Beta y cambio en la Escala Expandida de Discapacidad (EDSS).

La asociación *GRIA3*-rs12557782 con buena respuesta en mujeres y la tendencia mostrada por *CBLB*-rs12487066 sobre el cambio en la EDSS en el análisis bivariable no se confirmaron como asociaciones independientes después del análisis multivariable.





## 8 DISCUSIÓN

El IFN- $\beta$  es una de las terapias de tratamiento de primera línea más utilizadas para la EM. Aunque su mecanismo de acción aún no es del todo conocido, varios estudios indican que juega un papel en la modificación de la expresión de genes implicados en la respuesta inmune [30,93-96], inhibiendo la síntesis de citocinas inflamatorias (IL-12, IL-17, IL-23), y favoreciendo la producción de citocinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10) y células de tipo Th2 [97].

También se ha sugerido que la respuesta al IFN- $\beta$  podría estar determinada por ciertas variantes genéticas en los genes *GRIA3*, *CBLB*, *CTSS*, *OAS1* y *TNFRSF10A*, entre otros [61-65,71-73]. En este estudio se evaluó la influencia de polimorfismos en estos cinco genes (*CBLB*-rs12487066, *GRIA3*-rs12557782, *CTSS*-rs1136774, *OAS1*-rs10774671 y *TNFRSF10A*-rs20576) en la respuesta a IFN- $\beta$  y en la variación de EDSS en 137 pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses. La identificación de variantes genéticas como potenciales predictores de respuesta a IFN- $\beta$  permitirá anticipar qué pacientes van a responder de forma más favorable a esta terapia, o cuáles tienen mayor probabilidad de fracaso terapéutico, garantizando mejores resultados terapéuticos, lo que, en última instancia, se traduciría en una mayor calidad de vida al paciente, y una mejora de la costo-efectividad de la terapia.

Los resultados del presente estudio sugieren que los polimorfismos *TNFRSF10A*-rs20576 y *CTSS*-rs1136774 juegan un papel en la respuesta a IFN- $\beta$  en pacientes EMRR, prediciendo mejores resultados a los 24 meses de tratamiento, ya sea manteniendo estable la puntuación EDSS o los signos clínicos de esta enfermedad.

El gen *TNFRSF10A* codifica el miembro 10a de la superfamilia de receptores del TNF, que es el receptor para el ligando citotóxico TNFSF10/TRAIL (PubMed:26457518). La molécula adaptadora FADD recluta caspasa-8 para el receptor activado, dando lugar a un complejo de señalización inductor de muerte celular que activa proteolíticamente la caspasa-8, la cual inicia la cascada posterior de caspasas mediadoras de apoptosis (PubMed: 19090789). Este receptor promueve además la activación de NF-kappa-B (PubMed:9430227). Los resultados en los pacientes del presente estudio indican que el genotipo TT en rs20576 del gen *TNFRSF10A* podría ser un posible indicador de mejor respuesta a IFN- $\beta$ , ya que se asoció con estabilidad en la escala de la EDSS a los 24 meses (Tabla 13: p=0.025; OR=5.71; CI95%=1.39, 31.75). Sin embargo, esto no se vio reflejado en una asociación con la respuesta a IFN- $\beta$  cuando se definió como la combinación de EDSS/recaída/resonancia magnética. Es decir, a pesar de que los pacientes con genotipo TT mantuvieron su EDSS en mayor medida que el resto, no hubo diferencias en la variable normalmente usada para seguimiento clínico. El efecto beneficioso del genotipo TT encontrado en este estudio contrasta con los hallazgos de un estudio previo que incluyó a 509 pacientes con EM de origen español tratados con IFN- $\beta$ , seguido por una cohorte de validación adicional de 226 pacientes, que mostró una asociación del genotipo CC con respuesta positiva a IFN- $\beta$ , definido de forma similar a la calculada en este estudio, además de a los 24 meses (OR: 0.30; CI95%=0.14-0.63; p=8.88 $\cdot$ 10<sup>-4</sup>) [73]. Las características clínicas de los pacientes en ambos estudios son similares. Otro estudio con 73 pacientes iraníes con EM no encontró una asociación significativa de rs20576 con la respuesta de IFN- $\beta$  (p=0.87) [98]. Ningún otro

estudio ha explorado la influencia del polimorfismo rs20576 en la respuesta de IFN- $\beta$  en pacientes con EM. Estudios centrados en su influencia en respuesta a terapia en otras patologías, como linfoma folicular, tampoco muestran asociación con la respuesta a rituximab de primera línea, como se describió en 125 pacientes de origen europeo [99]. Su papel como marcador de susceptibilidad para lupus eritematoso sistémico [100], carcinoma hepatocelular [101], enfermedad de Alzheimer [102] o linfomas [103] también ha sido investigado, aunque sin resultados concluyentes.

La catepsina S es una cisteína proteasa lisosómica altamente expresada en células presentadoras de antígenos (células B, macrófagos, microglía y células dendríticas) (1-4). La función principal de esta proteasa es la degradación de la cadena invariante asociada al complejo mayor de histocompatibilidad clase II, y la presentación del antígeno del MHC de clase II, procesos relacionados con la respuesta inmune (4 y PubMed: 30612035). Los pacientes del presente estudio portadores del alelo C de rs1136774 *CTSS* también mostraron una mejor respuesta a IFN- $\beta$  en el análisis multivariable (Tabla 13:  $p=0.042$ ; OR: 2.94; IC<sub>95%</sub>: 1.03, 8.40), en línea con los resultados de un estudio previo en 230 pacientes con EMRR de origen europeo (Reino Unido) en el que los portadores del alelo C presentaron una mejor respuesta al IFN- $\beta$  después de dos años de seguimiento ( $p=0.02$ ; OR: 0.38; IC<sub>95%</sub>: 0.18, 0.84) [63]. Se ha sugerido que la proteína CTSS (cisteína proteinasa lisosomal) participa en la presentación de antígenos de microglía a través de la degradación de la cadena invariante asociada al MHC II [104], y la degradación de la proteína básica de mielina in vitro [105]. Los niveles séricos de catepsina S y cistatina C influyeron en la actividad de la enfermedad en 73 pacientes con EMRR, específicamente en aquellos que respondieron al IFN- $\beta$ , a través de la reducción de los niveles séricos de catepsina S [106].

No se encontró ninguna asociación de respuesta a IFN- $\beta$  o cambio en EDSS con polimorfismos genéticos en *GRIA3*, *CBLB* o *OAS1*. Mujeres EMRR portadoras del alelo G del polimorfismo rs12557782 en *GRIA3* respondieron mejor a IFN- $\beta$  ( $p=0.002$ ; OR=2.7; IC<sub>95%</sub>=1.5, 5.2) en un GWAS que incluyó 106 pacientes con EMRR de origen caucásico (español) en el que se evaluaron 428.867 variantes [65]. No se observó asociación de este polimorfismo con respuesta a IFN- $\beta$  en hombres [65]. A pesar de que el tamaño muestral, el periodo de seguimiento de 24 meses y la relación mujer: hombre (2:1) en el presente estudio fue muy similar, y las mujeres GG mostraron una mayor respuesta al IFN- $\beta$  en el análisis bivariante, esta asociación no resultó ser independiente después del análisis multivariable (Tabla 10:  $p=0.033$ ). La influencia de *GRIA3*-rs12557782 en respuesta a IFN- $\beta$  tampoco se encontró en 73 pacientes con EM de origen iraní, ni en mujeres ni en hombres ( $p=0.15$  y 0.4, respectivamente), aunque no se puede descartar que en este caso se debiera a un reducido poder estadístico, dado el tamaño limitado del estudio [98]. Por tanto, no hay muchos estudios que apoyen consistentemente el efecto de *GRIA3*-rs12557782 en respuesta a IFN- $\beta$ . El gen *GRIA3* codifica un receptor de glutamato de tipo AMPA, que participa en la mayoría de las transmisiones sinápticas excitadoras del SNC, lo que potencialmente podría explicar la relación entre la respuesta al IFN- $\beta$  y los genes que codifican los canales activados por neurotransmisores [62].

El polimorfismo rs12487066 del gen *CBLB* se asoció con el riesgo de EM en un GWAS en el que se evaluaron 334,923 SNP en 931 tríos familiares de origen europeo (Reino

Unido, 928 casos y 1475 controles) y estadounidense (EE. UU.: 1394 casos y 1512 controles) [107]. En la cohorte de replicación se confirmó un mayor riesgo de EM en los portadores del alelo T ( $p=0.035$ ; OR: 1.08;  $IC_{95\%}=1.03, 1.16$ ) [107]. Otro estudio con 342 pacientes de origen saudí (99 EM sin antecedentes de EM, 22 con un familiar con EM, 89 controles relacionados familiarmente con EM y 132 controles independientes) mostró el polimorfismo rs12487066 asociado con EM en comparación con el grupo de control independiente [108]. Se ha sugerido que este SNP podría regular la expresión del gen *CBLB*, de manera que en los portadores del alelo T, *CBLB* se encuentra inhibido por factores de transcripción y no puede cesar la proliferación linfocítica. [61]. En el presente estudio, *CBLB*-rs12487066 no influyó en la respuesta a IFN- $\beta$  en pacientes con EMRR, pero al ser el primer estudio que evalúa su posible valor predictivo en respuesta a terapia en EM, no se puede comparar con otras poblaciones o resultados.

El papel del polimorfismo *OAS1*-rs10774671 en la actividad de la enfermedad en pacientes con EM tratados con IFN- $\beta$  se investigó en 198 pacientes irlandeses con EMRR y 394 controles [64]. El tiempo de recaída después del tratamiento con IFN- $\beta$  fue significativamente más corto en pacientes con genotipo AA (Hazard ratio: 1.47;  $IC_{95\%}=1.01-2.16$ ;  $p=0.04$ ) [64]. Los pacientes con EMRR se dividieron en dos grupos según la actividad de la enfermedad (baja y alta); aquéllos con baja actividad se definieron como los que tuvieron una recaída máxima después de 24 meses de tratamiento con IFN- $\beta$  sin un aumento sostenido de la discapacidad. Los de actividad alta fueron aquéllos con dos o más recaídas durante el seguimiento de 24 meses, con o sin aumento sostenido de la discapacidad (EDSS) [64]. Este enfoque es similar a los criterios de respuesta aplicados en el presente estudio; sin embargo, *OAS1*-rs10774671 no mostró influencia en la respuesta a IFN- $\beta$  en nuestros pacientes con EMRR. No hay más estudios de rs10774671 relacionados con la respuesta al IFN.

Otros SNPs se han propuesto como indicadores de respuesta a IFN- $\beta$  en pacientes caucásicos en diversos estudios, algunos de ellos como predictores de respuesta (*FHIT*, *GAPVD1*, *ZNF697* [70], *GPC5*, *COL25A1*, *HAPLN1* [62], *IRF5* [66], *CD46* [67], *PEL13*, *GABRR3* [68]), o relacionados con otros signos de respuesta, como tasas de recaída más bajas (*IFNAR1*) [69]. Sin embargo, ninguno se ha establecido consistentemente como marcador de respuesta terapéutica en EM. Algunos de estos resultados no se ajustaron mediante comparaciones múltiples [62], o no se han replicado en otros estudios [69,63].

La principal limitación de este estudio fue el tamaño de la muestra. De los 160 pacientes tratados con IFN- $\beta$  incluidos como cohorte inicial, 23 fueron excluidos por no disponer de su historia clínica para el seguimiento y adecuada recogida de las variables necesarias para el estudio, dejando un tamaño muestral menor. Sin embargo, esta población presenta una gran homogeneidad en cuanto a la definición y aplicación de los criterios de respuesta, ya que se trata de pacientes tratados en el mismo hospital, evaluados, monitorizados y tratados según los mismos protocolos por el mismo equipo clínico.

Se ha demostrado que los pacientes tratados con IFN- $\beta$  podrían desarrollar anticuerpos neutralizantes que pueden afectar negativamente la respuesta terapéutica. En Corea, se realizó un estudio con 150 pacientes de nueve centros diferentes para evaluar el desarrollo de NAb en pacientes con EM tratados con IFN- $\beta$ -1a e IFN- $\beta$ -1b. Se encontraron NAb en el 35% de los pacientes tratados con IFN- $\beta$ -1b,

el 15% con IFN- $\beta$ -1a SC y el 0% con IFN- $\beta$ -1a IM. La positividad persistente de NAb se asoció con la actividad de la enfermedad en pacientes con EM tratados con IFN- $\beta$  ( $p=0.004$ ) [109]. La frecuencia de pacientes con EM que desarrollan NAb contra IFN- $\beta$  también fue significativamente mayor con la terapia con IFN- $\beta$ -1b en comparación con la terapia con IFN- $\beta$ -1a. [110]. En el presente estudio, la influencia del desarrollo de NAbs no pudo investigarse con suficiente potencia, ya que sólo 14 pacientes fueron tratados con IFN- $\beta$  1b SC (Tabla 3, 10.2%). Por tanto, una limitación adicional de este estudio sería que los pacientes no fueron evaluados para NAb, imposibilitando distinguir la influencia de los NAbs en la respuesta a IFN- $\beta$ .

Finalmente, dado que en general las variantes genéticas analizadas como posibles marcadores de respuesta a IFN- $\beta$  en EM han mostrado resultados no del todo consistentes, sería necesario que los estudios futuros incluyeran cohortes más amplias con un mayor poder estadístico que permita identificar asociaciones de forma más precisa. La investigación en cohortes masivas de pacientes, no sólo garantizaría el poder estadístico suficiente para la investigación de un mayor número de SNP, sino también para incluir diferentes formas terapéuticas de IFN- $\beta$  o varios períodos de seguimiento, que permitirían explorar el efecto de las diferentes variantes genéticas sobre la respuesta a corto o largo plazo, así como la necesidad de cambios de terapia y el momento del seguimiento en el que éste se produce, lo que a medio-largo plazo repercutiría en un mejor control terapéutico de estos pacientes.







## 9 CONCLUSIONES

### 9.1 CONCLUSIÓN GENERAL

Los resultados de este estudio muestran que el tratamiento de pacientes con EMRR con IFN- $\beta$  durante 24 meses ayuda a mantener la puntuación EDSS en los portadores de TT del polimorfismo del gen *TNFRSF10A*-rs20576, mientras que los portadores del alelo C de *CTSS*-rs1136774 muestran mejores niveles de respuesta IFN- $\beta$ .

Los pacientes con una menor EDSS basal se asocia con una mejor respuesta al IFN- $\beta$  y la estabilidad de EDSS.

Los polimorfismos de los genes *CBLB* (rs12487066), *OAS1* (rs10774671) o *GRIA3* (rs12557782) no influyeron en la variación de la puntuación EDSS o de la respuesta individual al IFN- $\beta$  después de 24 meses.

### 9.2 CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

1. Más del 75% de los pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses mostró una buena respuesta a la terapia con IFN- $\beta$ .
2. Más del 84% de los pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses mantuvieron estable su puntuación EDSS.
3. Una menor EDSS basal predice una mejor respuesta al IFN- $\beta$  y estabilidad de la puntuación EDSS en pacientes EMRR tratados con IFN- $\beta$  durante un periodo de 24 meses, mientras que las variables clínicas y sociodemográficas sexo, antecedentes familiares de cáncer, edad en el momento del diagnóstico de EM y opción terapéutica no tuvieron influencia en la respuesta a IFN- $\beta$  o en la variación de EDSS.
4. Los pacientes EMRR que son portadores del alelo C de *CTSS*-rs1136774 muestran mejores niveles de respuesta a IFN- $\beta$  después de 24 meses. Los polimorfismos de los genes *CBLB* (rs12487066), *OAS1* (rs10774671) o *GRIA3* (rs12557782) no influyeron en la variabilidad de la respuesta individual al IFN- $\beta$  después de 24 meses.
5. La puntuación EDSS se mantiene estable con mayor probabilidad en pacientes con EMRR que son portadores del polimorfismo TT del gen *TNFRSF10A*-rs20576 después de 24 meses de terapia con IFN- $\beta$ . Los polimorfismos de los genes *CBLB* (rs12487066), *OAS1* (rs10774671) o *GRIA3* (rs12557782) no influyeron en la variación de la puntuación EDSS después de 24 meses de tratamiento con IFN- $\beta$ .



**10 REFERENCIAS**

1. Sadovnick AD, Ebers GC (1993) Epidemiology of multiple sclerosis: a critical overview. *The Canadian journal of neurological sciences Le journal canadien des sciences neurologiques* 20 (1):17-29
2. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000) Multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 343 (13):938-952. doi:10.1056/nejm200009283431307
3. Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vecsei L, Milanov I (2006) The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *European journal of neurology* 13 (7):700-722. doi:10.1111/j.1468-1331.2006.01342.x
4. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology* 69 (2):292-302. doi:10.1002/ana.22366
5. Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M (2005) Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part 2: non-conventional MRI, recovery processes, and management. *The Lancet Neurology* 4 (6):341-348. doi:10.1016/s1474-4422(05)70095-8
6. Tintoré M, Rovira A, Martínez MJ, Rio J, Díaz-Villoslada P, Brieva L, Borrás C, Grivé E, Capellades J, Montalban X (2000) Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 21 (4):702-706
7. Mahajan KR, Ontaneda D (2017) The Role of Advanced Magnetic Resonance Imaging Techniques in Multiple Sclerosis Clinical Trials. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 14 (4):905-923. doi:10.1007/s13311-017-0561-8
8. Chung KK, Altmann D, Barkhof F, Miskiel K, Brex PA, O'Riordan J, Ebner M, Prados F, Cardoso MJ, Vercauteren T, Ourselein S, Thompson A, Ciccarelli O, Chard DT (2020) A 30-Year Clinical and Magnetic Resonance Imaging Observational Study of Multiple Sclerosis and Clinically Isolated Syndromes. *Annals of neurology* 87 (1):63-74. doi:10.1002/ana.25637
9. Loma I, Heyman R (2011) Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. *Current neuropharmacology* 9 (3):409-416. doi:10.2174/157015911796557911
10. Weiner HL (2008) A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *Journal of neurology* 255 Suppl 1:3-11. doi:10.1007/s00415-008-1002-8
11. Compston A, Coles A (2008) Multiple sclerosis. *Lancet (London, England)* 372 (9648):1502-1517. doi:10.1016/s0140-6736(08)61620-7

12. Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M (2006) Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges. *The Lancet Neurology* 5 (4):343-354. doi:10.1016/s1474-4422(06)70410-0
13. Okuda DT, Mowry EM, Cree BAC, Crabtree EC, Goodin DS, Waubant E, Pelletier D (2011) Asymptomatic spinal cord lesions predict disease progression in radiologically isolated syndrome. *Neurology* 76 (8):686-692. doi:10.1212/WNL.0b013e31820d8b1d
14. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sorensen PS, Thompson AJ, Wolinsky JS, Balcer LJ, Banwell B, Barkhof F, Bebo B, Jr., Calabresi PA, Clanet M, Comi G, Fox RJ, Freedman MS, Goodman AD, Inglese M, Kappos L, Kieseier BC, Lincoln JA, Lubetzki C, Miller AE, Montalban X, O'Connor PW, Petkau J, Pozzilli C, Rudick RA, Sormani MP, Stuve O, Waubant E, Polman CH (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 83 (3):278-286. doi:10.1212/wnl.0000000000000560
15. Siva A, Saip S, Altintas A, Jacob A, Keegan BM, Kantarci OH (2009) Multiple sclerosis risk in radiologically uncovered asymptomatic possible inflammatory-demyelinating disease. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 15 (8):918-927. doi:10.1177/1352458509106214
16. Kurtzke JF (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33 (11):1444-1452. doi:10.1212/wnl.33.11.1444
17. Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S, Achiti I, Confavreux C, Coustans M, le Page E, Edan G, McDonnell GV, Hawkins S, Trojano M, Liguori M, Cocco E, Marrosu MG, Tesser F, Leone MA, Weber A, Zipp F, Milterski B, Eppel JT, Oturai A, Sorensen PS, Celius EG, Lara NT, Montalban X, Villoslada P, Silva AM, Marta M, Leite I, Dubois B, Rubio J, Butzkueven H, Kilpatrick T, Mycko MP, Selmaj KW, Rio ME, Sa M, Salemi G, Savettieri G, Hillert J, Compston DA (2005) Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology* 64 (7):1144-1151. doi:10.1212/01.wnl.0000156155.19270.f8
18. Lazibat I, Rubinić Majdak M, Županić S (2018) Multiple Sclerosis: New Aspects of Immunopathogenesis. *Acta clinica Croatica* 57 (2):352-361. doi:10.20471/acc.2018.57.02.17
19. Grigoriadis N, van Pesch V (2015) A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *European journal of neurology* 22 Suppl 2:3-13. doi:10.1111/ene.12798
20. International Multiple Sclerosis Genetics C, Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PIW, Gabriel SB, Mirel DB, Ivins AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL (2007) Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *The New England journal of medicine* 357 (9):851-862. doi:10.1056/nejmoa073493
21. Bahlo M, Booth DR, Broadley SA, Brown MA, Foote SJ, Griffiths LR, Kilpatrick TJ, Lechner-Scott J, Moscato P, Perreault VM, Rubio JP, Scott RJ, Stankovich J, Stewart GJ, Taylor BV, Wiley J, Brown MA, Booth DR, Clarke G, Cox MB, Csurhes PA, Danoy P, Drysdale K, Field J, Foote SJ, Greer JM, Griffiths LR, Guru P, Hadler J, McMorran BJ,

- Jensen CJ, Johnson LJ, McCallum R, Merriman M, Merriman T, Pryce K, Scott RJ, Stewart GJ, Tajouri L, Wilkins EJ, Rubio JP, Bahlo M, Brown MA, Browning BL, Browning SR, Perera D, Rubio JP, Stankovich J, Broadley S, Butzkueven H, Carroll WM, Chapman C, Kermode AG, Marriott M, Mason D, Heard RN, Pender MP, Slee M, Tubridy N, Lechner-Scott J, Taylor BV, Willoughby E, Kilpatrick TJ, The A, New Zealand Multiple Sclerosis Genetics C, Study d, management c, Sample processing dh, genotyping, Data a, Phenotyping (2009) Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. *Nature Genetics* 41 (7):824-828. doi:10.1038/ng.396
22. Tarlinton RE, Martynova E, Rizvanov AA, Khaiboullina S, Verma S (2020) Role of Viruses in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Viruses* 12 (6):643. doi:10.3390/v12060643
23. Kular L, Liu Y, Ruhrmann S, Zheleznyakova G, Marabita F, Gomez-Cabrero D, James T, Ewing E, Lindén M, Górnikiewicz B, Aeinehband S, Stridh P, Link J, Andlauer TFM, Gasperi C, Wiendl H, Zipp F, Gold R, Tackenberg B, Weber F, Hemmer B, Strauch K, Heilmann-Heimbach S, Rawal R, Schminke U, Schmidt CO, Kacprowski T, Franke A, Laudes M, Dilthey AT, Celius EG, Søndergaard HB, Tegnér J, Harbo HF, Oturai AB, Olafsson S, Eggertsson HP, Halldorsson BV, Hjaltason H, Olafsson E, Jonsdottir I, Stefansson K, Olsson T, Piehl F, Ekström TJ, Kockum I, Feinberg AP, Jagodic M (2018) DNA methylation as a mediator of HLA-DRB1\*15:01 and a protective variant in multiple sclerosis. *Nat Commun* 9 (1):2397-2397. doi:10.1038/s41467-018-04732-5
24. Apostolopoulos V, Matsoukas J (2020) Advances in Multiple Sclerosis Research-Series I. *Brain Sci* 10 (11):795. doi:10.3390/brainsci10110795
25. Ifergan I, Kebir H, Bernard M, Wosik K, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Arbour N, Prat A (2008) The blood-brain barrier induces differentiation of migrating monocytes into Th17-polarizing dendritic cells. *Brain : a journal of neurology* 131 (Pt 3):785-799. doi:10.1093/brain/awm295
26. Nuyts AH, Lee WP, Bashir-Dar R, Berneman ZN, Cools N (2013) Dendritic cells in multiple sclerosis: key players in the immunopathogenesis, key players for new cellular immunotherapies? *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 19 (8):995-1002. doi:10.1177/1352458512473189
27. Genaro Gabriel O, Fermín Paul P-M, Miguel Ángel M-I, Luis Javier F-A, Mario AM-R, Erika Daniela G-R, Vanessa Elizabeth H-N, Angélica Lizeth S-L, Moisés Alejandro A-J (2014) Role of the Blood–Brain Barrier in Multiple Sclerosis. *Archives of Medical Research* 45 (8):687-697. doi:https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.11.013
28. Haider L, Zrzavy T, Hametner S, Höftberger R, Bagnato F, Grabner G, Trattinig S, Pfeifenbring S, Brück W, Lassmann H (2016) The topography of demyelination and neurodegeneration in the multiple sclerosis brain. *Brain : a journal of neurology* 139 (Pt 3):807-815. doi:10.1093/brain/awv398
29. Jennings AR, Carroll WM (2015) Oligodendrocyte Lineage Cells in Chronic Demyelination of Multiple Sclerosis Optic Nerve. *Brain Pathol* 25 (5):517-530. doi:10.1111/bpa.12193
30. Goodin DS (2005) Treatment of multiple sclerosis with human beta interferon. *International MS journal* 12 (3):96-108

31. Baker DP, Pepinsky RB, Brickelmaier M, Gronke RS, Hu X, Olivier K, Lerner M, Miller L, Crossman M, Nestorov I, Subramanyam M, Hitchman S, Glick G, Richman S, Liu S, Zhu Y, Panzara MA, Davar G (2010) PEGylated interferon beta-1a: meeting an unmet medical need in the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 30 (10):777-785. doi:10.1089/jir.2010.0092
32. Fishburn CS (2008) The pharmacology of PEGylation: balancing PD with PK to generate novel therapeutics. *Journal of pharmaceutical sciences* 97 (10):4167-4183. doi:10.1002/jps.21278
33. Govindappa K, Sathish J, Park K, Kirkham J, Pirmohamed M (2015) Development of interferon beta-neutralising antibodies in multiple sclerosis--a systematic review and meta-analysis. *European journal of clinical pharmacology* 71 (11):1287-1298. doi:10.1007/s00228-015-1921-0
34. Jiang H, Milo R, Swoveland P, Johnson KP, Panitch H, Dhib-Jalbut S (1995) Interferon beta-1b reduces interferon gamma-induced antigen-presenting capacity of human glial and B cells. *Journal of neuroimmunology* 61 (1):17-25
35. Guo B, Chang EY, Cheng G (2008) The type I IFN induction pathway constrains Th17-mediated autoimmune inflammation in mice. *The Journal of clinical investigation* 118 (5):1680-1690. doi:10.1172/jci33342
36. Karabudak R, Kurne A, Guc D, Sengelen M, Canpinar H, Kansu E (2004) Effect of interferon beta-1a on serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in relapsing remitting multiple sclerosis patients. One year follow-up results. *Journal of neurology* 251 (3):279-283. doi:10.1007/s00415-004-0285-7
37. Graber J, Zhan M, Ford D, Kursch F, Francis G, Bever C, Panitch H, Calabresi PA, Dhib-Jalbut S (2005) Interferon-beta-1a induces increases in vascular cell adhesion molecule: implications for its mode of action in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 161 (1-2):169-176. doi:10.1016/j.jneuroim.2004.11.017
38. Fontana RJ, Hayashi P, Bonkovsky HL, Kleiner DE, Kochhar S, Gu J, Ghabril M (2013) Presentation and outcomes with clinically apparent interferon beta hepatotoxicity. *Dig Dis Sci* 58 (6):1766-1775. doi:10.1007/s10620-012-2553-1
39. Bell C, Anderson J, Ganguly T, Prescott J, Capila I, Lansing JC, Sachleben R, Iyer M, Fier I, Roach J, Storey K, Miller P, Hall S, Kantor D, Greenberg BM, Nair K, Glajch J (2018) Development of Glatopa® (Glatiramer Acetate): The First FDA-Approved Generic Disease-Modifying Therapy for Relapsing Forms of Multiple Sclerosis. *J Pharm Pract* 31 (5):481-488. doi:10.1177/0897190017725984
40. Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F, Kaplan J, Wiendl H (2014) Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs* 74 (6):659-674. doi:10.1007/s40265-014-0212-x
41. di Nuzzo L, Orlando R, Nasca C, Nicoletti F (2014) Molecular pharmacodynamics of new oral drugs used in the treatment of multiple sclerosis. *Drug Des Devel Ther* 8:555-568. doi:10.2147/DDDT.S52428

42. Adamczyk B, Adamczyk-Sowa M (2016) New Insights into the Role of Oxidative Stress Mechanisms in the Pathophysiology and Treatment of Multiple Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev* 2016:1973834-1973834. doi:10.1155/2016/1973834
43. Gold R, Arnold DL, Bar-Or A, Hutchinson M, Kappos L, Havrdova E, MacManus DG, Yousry TA, Pozzilli C, Selmaj K, Sweetser MT, Zhang R, Yang M, Potts J, Novas M, Miller DH, Kurukulasuriya NC, Fox RJ, Phillips TJ (2017) Long-term effects of delayed-release dimethyl fumarate in multiple sclerosis: Interim analysis of ENDORSE, a randomized extension study. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 23 (2):253-265. doi:10.1177/1352458516649037
44. Chan A, Weilbach FX, Toyka KV, Gold R (2005) Mitoxantrone induces cell death in peripheral blood leucocytes of multiple sclerosis patients. *Clin Exp Immunol* 139 (1):152-158. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02653.x
45. Buttman M, Seuffert L, Mäder U, Toyka KV (2016) Malignancies after mitoxantrone for multiple sclerosis: A retrospective cohort study. *Neurology* 86 (23):2203-2207. doi:10.1212/WNL.0000000000002745
46. Lobb RR, Hemler ME (1994) The pathophysiologic role of alpha 4 integrins in vivo. *The Journal of clinical investigation* 94 (5):1722-1728. doi:10.1172/JCI117519
47. O'Connor P, Goodman A, Kappos L, Lublin F, Polman C, Rudick RA, Hauswirth K, Cristiano LM, Forrestal F, Duda P (2014) Long-term safety and effectiveness of natalizumab redosing and treatment in the STRATA MS Study. *Neurology* 83 (1):78-86. doi:10.1212/WNL.0000000000000541
48. Hunter SF, Bowen JD, Reder AT (2016) The Direct Effects of Fingolimod in the Central Nervous System: Implications for Relapsing Multiple Sclerosis. *CNS Drugs* 30 (2):135-147. doi:10.1007/s40263-015-0297-0
49. Saida T, Itoyama Y, Kikuchi S, Hao Q, Kurosawa T, Ueda K, Auberson LZ, Tsumiyama I, Nagato K, Kira J-I (2017) Long-term efficacy and safety of fingolimod in Japanese patients with relapsing multiple sclerosis: 3-year results of the phase 2 extension study. *BMC Neurol* 17 (1):17-17. doi:10.1186/s12883-017-0794-5
50. Ruck T, Bittner S, Wiendl H, Meuth SG (2015) Alemtuzumab in Multiple Sclerosis: Mechanism of Action and Beyond. *Int J Mol Sci* 16 (7):16414-16439. doi:10.3390/ijms160716414
51. Barkhof F, Kappos L, Wolinsky JS, Li DKB, Bar-Or A, Hartung H-P, Belachew S, Han J, Julian L, Sauter A, Napieralski J, Koendgen H, Hauser SL (2019) Onset of clinical and MRI efficacy of ocrelizumab in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 93 (19):e1778-e1786. doi:10.1212/WNL.0000000000008189
52. Guías diagnósticas y terapéuticas de la Sociedad Española de Neurología 2014. Guía oficial de práctica clínica en esclerosis múltiple (2014).
53. Fernandez-Diaz E, Perez-Vicente JA, Villaverde-Gonzalez R, Berenguer-Ruiz L, Candelieri Merlicco A, Martinez-Navarro ML, Gracia Gil J, Romero-Sanchez CM, Alfaro-Saez A, Diaz I, Gimenez-Martinez J, Mendez-Miralles MA, Millan-Pascual J, Jimenez-Pancho J, Mola S, Sempere AP (2021) Real-world experience of ocrelizumab in multiple sclerosis in a Spanish population. *Ann Clin Transl Neurol* 8 (2):385-394. doi:10.1002/acn3.51282



54. Gentile A, Musella A, Bullitta S, Fresegna D, De Vito F, Fantozzi R, Piras E, Gargano F, Borsellino G, Battistini L, Schubart A, Mandolesi G, Centonze D (2016) Siponimod (BAF312) prevents synaptic neurodegeneration in experimental multiple sclerosis. *J Neuroinflammation* 13 (1):207-207. doi:10.1186/s12974-016-0686-4
55. Hermann R, Karlsson MO, Novakovic AM, Terranova N, Fluck M, Munafo A (2019) The Clinical Pharmacology of Cladribine Tablets for the Treatment of Relapsing Multiple Sclerosis. *Clin Pharmacokinet* 58 (3):283-297. doi:10.1007/s40262-018-0695-9
56. Documento de consenso de la Sociedad Española de Neurología sobre el uso de medicamentos en esclerosis múltiple: escalado terapéutico (2010). *Neurolog* \ ' i a 25 (6):378--390. doi:10.1016/J.NRL.2010.03.006
57. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, Fischer JS, Goodkin DE, Granger CV, Simon JH, Alam JJ, Bartoszak DM, Bourdette DN, Braiman J, Brownscheidle CM, Coats ME, Cohan SL, Dougherty DS, Kinkel RP, Mass MK, Munschauer FE, 3rd, Priore RL, Pullicino PM, Scherokman BJ, Whitham RH, et al. (1996) Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Annals of neurology* 39 (3):285-294. doi:10.1002/ana.410390304
58. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. 1993 [classical article] (2001). *Neurology* 57 (12 Suppl 5):S3-9
59. Rio J, Nos C, Tintore M, Borrás C, Galán I, Comabella M, Montalban X (2002) Assessment of different treatment failure criteria in a cohort of relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with interferon beta: implications for clinical trials. *Annals of neurology* 52 (4):400-406. doi:10.1002/ana.10290
60. Gauthier SA, Glanz BI, Mandel M, Tsagkaropoulos A, Neema M, Stankiewicz J, Arora A, Duan Y, Liptak Z, Egorova S, Buckle GJ, Bakshi R, Guttmann CR, Khoury SJ, Weiner HL (2009) Incidence and factors associated with treatment failure in the CLIMB multiple sclerosis cohort study. *Journal of the neurological sciences* 284 (1-2):116-119. doi:10.1016/j.jns.2009.04.020
61. Stürner KH, Borgmeyer U, Schulze C, Pless O, Martin R (2014) A multiple sclerosis-associated variant of CBLB links genetic risk with type I IFN function. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950) 193 (9):4439-4447. doi:10.4049/jimmunol.1303077
62. Byun E, Caillier SJ, Montalban X, Villoslada P, Fernandez O, Brassat D, Comabella M, Wang J, Barcellos LF, Baranzini SE, Oksenberg JR (2008) Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Archives of neurology* 65 (3):337-344. doi:10.1001/archneurol.2008.47
63. Cunningham S, Graham C, Hutchinson M, Droogan A, O'Rourke K, Patterson C, McDonnell G, Hawkins S, Vandebroek K (2005) Pharmacogenomics of responsiveness to interferon IFN-beta treatment in multiple sclerosis: a genetic screen of 100 type I interferon-inducible genes. *Clinical pharmacology and therapeutics* 78 (6):635-646. doi:10.1016/j.clpt.2005.08.018

64. O'Brien M, Lonergan R, Costelloe L, O'Rourke K, Fletcher JM, Kinsella K, Sweeney C, Antonelli G, Mills KH, O'Farrelly C, Hutchinson M, Tubridy N (2010) OAS1: a multiple sclerosis susceptibility gene that influences disease severity. *Neurology* 75 (5):411-418. doi:10.1212/WNL.0b013e3181ebdd2b
65. Comabella M, Craig DW, Morcillo-Suarez C, Rio J, Navarro A, Fernandez M, Martin R, Montalban X (2009) Genome-wide scan of 500,000 single-nucleotide polymorphisms among responders and nonresponders to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Archives of neurology* 66 (8):972-978. doi:10.1001/archneurol.2009.150
66. Vosslander S, van der Voort LF, van den Elskamp IJ, Heijmans R, Aubin C, Uitdehaag BM, Crusius JB, van der Pouw Kraan TC, Comabella M, Montalban X, Hafler DA, De Jager PL, Killestein J, Polman CH, Verweij CL (2011) Interferon regulatory factor 5 gene variants and pharmacological and clinical outcome of Interferonbeta therapy in multiple sclerosis. *Genes and immunity* 12 (6):466-472. doi:10.1038/gene.2011.18
67. Alvarez-Lafuente R, Blanco-Kelly F, Garcia-Montojo M, Martinez A, De Las Heras V, Dominguez-Mozo MI, Bartolome M, Garcia-Martinez A, De la Concha EG, Urcelay E, Arroyo R (2011) CD46 in a Spanish cohort of multiple sclerosis patients: genetics, mRNA expression and response to interferon-beta treatment. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 17 (5):513-520. doi:10.1177/1352458510393263
68. Bustamante MF, Morcillo-Suarez C, Malhotra S, Rio J, Leyva L, Fernandez O, Zettl UK, Killestein J, Brassat D, Garcia-Merino JA, Sanchez AJ, Urcelay E, Alvarez-Lafuente R, Villar LM, Alvarez-Cermeno JC, Farre X, Lechner-Scott J, Vandebroek K, Rodriguez-Antiguedad A, Drulovic JS, Martinelli Boneschi F, Chan A, Oksenberg J, Navarro A, Montalban X, Comabella M (2015) Pharmacogenomic study in patients with multiple sclerosis: Responders and nonresponders to IFN-beta. *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation* 2 (5):e154. doi:10.1212/nxi.0000000000000154
69. Sriram U, Barcellos LF, Villoslada P, Rio J, Baranzini SE, Caillier S, Stillman A, Hauser SL, Montalban X, Oksenberg JR (2003) Pharmacogenomic analysis of interferon receptor polymorphisms in multiple sclerosis. *Genes and immunity* 4 (2):147-152. doi:10.1038/sj.gene.6363946
70. Mahurkar S, Moldovan M, Suppiah V, Sorosina M, Clarelli F, Liberatore G, Malhotra S, Montalban X, Antigüedad A, Krupa M, Jokubaitis VG, McKay FC, Gatt PN, Fabis-Pedrini MJ, Martinelli V, Comi G, Lechner-Scott J, Kermodé AG, Slee M, Taylor BV, Vandebroek K, Comabella M, Boneschi FM, King C (2017) Response to interferon-beta treatment in multiple sclerosis patients: a genome-wide association study. *The pharmacogenomics journal* 17 (4):312-318. doi:10.1038/tpj.2016.20
71. Bachmaier K, Krawczyk C, Kozieradzki I, Kong YY, Sasaki T, Oliveira-dos-Santos A, Mariathasan S, Bouchard D, Wakeham A, Itie A, Le J, Ohashi PS, Sarosi I, Nishina H, Lipkowitz S, Penninger JM (2000) Negative regulation of lymphocyte activation and autoimmunity by the molecular adaptor Cbl-b. *Nature* 403 (6766):211-216. doi:10.1038/35003228
72. Chiang YJ, Kole HK, Brown K, Naramura M, Fukuhara S, Hu RJ, Jang IK, Gutkind JS, Shevach E, Gu H (2000) Cbl-b regulates the CD28 dependence of T-cell activation. *Nature* 403 (6766):216-220. doi:10.1038/35003235

73. Lopez-Gomez C, Pino-Angeles A, Orpez-Zafra T, Pinto-Medel MJ, Oliver-Martos B, Ortega-Pinazo J, Arnaiz C, Guijarro-Castro C, Varade J, Alvarez-Lafuente R, Urcelay E, Sanchez-Jimenez F, Fernandez O, Leyva L (2013) Candidate gene study of TRAIL and TRAIL receptors: association with response to interferon beta therapy in multiple sclerosis patients. *PloS one* 8 (4):e62540. doi:10.1371/journal.pone.0062540
74. Sommer B, Keinanen K, Verdoorn TA, Wisden W, Burnashev N, Herb A, Kohler M, Takagi T, Sakmann B, Seeburg PH (1990) Flip and flop: a cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS. *Science (New York, NY)* 249 (4976):1580-1585. doi:10.1126/science.1699275
75. Vaden JH, Tian T, Golf S, McLean JW, Wilson JA, Wilson SM (2019) Chronic over-expression of ubiquitin impairs learning, reduces synaptic plasticity, and enhances GRIA receptor turnover in mice. *J Neurosci* 39 (3):386-399. doi:10.1523/JNEUROSCI.4663-18.2019
76. Ramamurthy V, Yamniuk AP, Lawrence EJ, Yong W, Schneeweis LA, Cheng L, Murdock M, Corbett MJ, Doyle ML, Sheriff S (2015) The structure of the death receptor 4-TNF-related apoptosis-inducing ligand (DR4-TRAIL) complex. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun* 71 (Pt 10):1273-1281. doi:10.1107/S2053230X15016416
77. Rossin A, Derouet M, Abdel-Sater F, Hueber A-O (2009) Palmitoylation of the TRAIL receptor DR4 confers an efficient TRAIL-induced cell death signalling. *Biochemical Journal* 419 (1):185-194. doi:10.1042/bj20081212
78. Chaudhary PM, Eby M, Jasmin A, Bookwalter A, Murray J, Hood L (1997) Death receptor 5, a new member of the TNFR family, and DR4 induce FADD-dependent apoptosis and activate the NF-kappaB pathway. *Immunity* 7 (6):821-830. doi:10.1016/S1074-7613(00)80400-8
79. Dorr J, Bechmann I, Waiczies S, Aktas O, Walczak H, Krammer PH, Nitsch R, Zipp F (2002) Lack of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand but presence of its receptors in the human brain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22 (4):Rc209
80. Driessen C, Bryant RA, Lennon-Duménil AM, Villadangos JA, Bryant PW, Shi GP, Chapman HA, Ploegh HL (1999) Cathepsin S controls the trafficking and maturation of MHC class II molecules in dendritic cells. *J Cell Biol* 147 (4):775-790. doi:10.1083/jcb.147.4.775
81. Becker E, Boes M, Alfonso C, Schröter C, Kalbacher H, Ploegh H, Driessen C (2002) Specific role for cathepsin S in the generation of antigenic peptides in vivo. *European journal of immunology* 32:467-476. doi:10.1002/1521-4141(200202)32:2<467::AID-IMMU467>3.0.CO;2-Y
82. Clark A, Wodarski R, Guida F, Sasso O, Malcangio M (2010) Cathepsin S Release from Primary Cultured Microglia Is Regulated by the P2X7 Receptor. *Glia* 58:1710-1726. doi:10.1002/glia.21042
83. Nakagawa TY, Brissette WH, Lira PD, Griffiths RJ, Petrushova N, Stock J, McNeish JD, Eastman SE, Howard ED, Clarke SRM, Rosloniec EF, Elliott EA, Rudensky AY (1999) Impaired Invariant Chain Degradation and Antigen Presentation and Diminished Collagen-Induced Arthritis in Cathepsin S Null Mice. *Immunity* 10 (2):207-217. doi:https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80021-7

84. Baranov MV, Bianchi F, Schirmacher A, van Aart MAC, Maassen S, Muntjewerff EM, Dingjan I, Ter Beest M, Verdoes M, Keyser SGL, Bertozzi CR, Diederichsen U, van den Bogaart G (2019) The Phosphoinositide Kinase PIKfyve Promotes Cathepsin-S-Mediated Major Histocompatibility Complex Class II Antigen Presentation. *iScience* 11:160-177. doi:10.1016/j.isci.2018.12.015
85. Hovnanian A, Rebouillat D, Mattei MG, Levy ER, Marie I, Monaco AP, Hovanessian AG (1998) The human 2',5'-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69-, and 40-kDa forms. *Genomics* 52 (3):267-277. doi:10.1006/geno.1998.5443
86. Sayad A, Ghafouri-Fard S, Omrani MD, Noroozi R, Taheri M (2017) Myxovirus resistance protein A (MxA) polymorphism is associated with IFN $\beta$  response in Iranian multiple sclerosis patients. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 38 (6):1093-1099. doi:10.1007/s10072-017-2935-4
87. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling | FDA.
88. Rio J, Nos C, Tintore M, Tellez N, Galan I, Pelayo R, Comabella M, Montalban X (2006) Defining the response to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Annals of neurology* 59 (2):344-352. doi:10.1002/ana.20740
89. Rio J, Castillo J, Rovira A, Tintore M, Sastre-Garriga J, Horga A, Nos C, Comabella M, Aymerich X, Montalban X (2009) Measures in the first year of therapy predict the response to interferon beta in MS. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 15 (7):848-853. doi:10.1177/1352458509104591
90. Jimenez-Varo E, Canadas-Garre M, Henriques CI, Pinheiro AM, Gutierrez-Pimentel MJ, Calleja-Hernandez MA (2014) Pharmacogenetics role in the safety of acenocoumarol therapy. *Thrombosis and haemostasis* 112 (3):522-536. doi:10.1160/th13-11-0941
91. Team R (2006) A language and environment for statistical computing. *Computing* 1. doi:10.1890/0012-9658(2002)083[3097:CFHIWS]2.0.CO;2
92. Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 4:7. doi:10.1186/s13742-015-0047-8
93. Noronha A, Toscas A, Jensen MA (1990) Interferon beta augments suppressor cell function in multiple sclerosis. *Annals of neurology* 27 (2):207-210. doi:10.1002/ana.410270219
94. Byrnes AA, McArthur JC, Karp CL (2002) Interferon-beta therapy for multiple sclerosis induces reciprocal changes in interleukin-12 and interleukin-10 production. *Annals of neurology* 51 (2):165-174. doi:10.1002/ana.10084
95. Rudick RA, Ransohoff RM, Pepler R, VanderBrug Medendorp S, Lehmann P, Alam J (1996) Interferon beta induces interleukin-10 expression: relevance to multiple sclerosis. *Annals of neurology* 40 (4):618-627. doi:10.1002/ana.410400412

96. Ramgolam VS, Sha Y, Jin J, Zhang X, Markovic-Plese S (2009) IFN-beta inhibits human Th17 cell differentiation. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 183 (8):5418-5427. doi:10.4049/jimmunol.0803227
97. McGraw CA, Lublin FD (2013) Interferon beta and glatiramer acetate therapy. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 10 (1):2-18. doi:10.1007/s13311-012-0163-4
98. Jazireian P, Sasani ST (2020) TRAILR1 (rs20576) and GRIA3 (rs12557782) are not associated with interferon- $\beta$  response in multiple sclerosis patients. *47 (12):9659-9665*. doi:10.1007/s11033-020-06026-w
99. Gutiérrez-Cívicos R, Hurtado AM, Torres-Moreno D, Sanchez-Blanco JJ, Español I, Consuegra-Sánchez L, Perez-Ceballos E, Gutiérrez-Meca MD, Jerez A, Conesa-Zamora P (2017) Rituximab response in follicular lymphoma is associated with the rs20575 polymorphism in TRAILR1 extrinsic apoptosis trigger. *Pharmacogenetics and genomics* 27 (2):70-77. doi:10.1097/fpc.0000000000000262
100. Sandoughi M, Salimi S, Shahraki-Ghadimi H, Saravani M (2020) The Impact of TRAIL (C1595T and G1525A) and DR4 (rs20576) Gene Polymorphisms on Systemic Lupus Erythematosus. *58 (4):649-659*. doi:10.1007/s10528-020-09966-x
101. Alsalawy NF, Darwish RK, Kamal MM, ElTaweel AE, Shousha HI (2018) Evaluation of trail receptor 1 (DR4) polymorphisms C626G and A683C as risk factors of hepatocellular carcinoma. *90 (3):490-496*. doi:10.1002/jmv.24964
102. Edgünlü TG, Ozge A, Yalin O, Kul S, Erdal ME (2013) A Study of the Impact of Death Receptor 4 (DR4) Gene Polymorphisms in Alzheimer's Disease. *Balkan medical journal* 30 (3):268-272. doi:10.5152/balkanmedj.2013.7455
103. Heredia-Galvez B, Ruiz-Cosano J, Torres-Moreno D, Español I, Morales-Lara MJ, Pérez-Ceballos E, González-Conejero R, Gutiérrez-Cívicos R, Vicente V, Pérez-Guillermo M, Conesa-Zamora P (2014) Association of polymorphisms in TRAIL1 and TRAILR1 genes with susceptibility to lymphomas. *Annals of hematology* 93 (2):243-247. doi:10.1007/s00277-013-1864-4
104. Nakanishi H (2003) Microglial functions and proteases. *Molecular neurobiology* 27 (2):163-176. doi:10.1385/mn:27:2:163
105. Beck H, Schwarz G, Schröter CJ, Deeg M, Baier D, Stevanovic S, Weber E, Driessen C, Kalbacher H (2001) Cathepsin S and an asparagine-specific endoprotease dominate the proteolytic processing of human myelin basic protein in vitro. *European journal of immunology* 31 (12):3726-3736. doi:10.1002/1521-4141(200112)31:12<3726::aid-immu3726>3.0.co;2-o
106. Haves-Zburow D, Paperna T, Gour-Lavie A, Mandel I, Glass-Marmor L, Miller A (2011) Cathepsins and their endogenous inhibitors cystatins: expression and modulation in multiple sclerosis. *Journal of cellular and molecular medicine* 15 (11):2421-2429. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01229.x
107. Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PI, Gabriel SB, Mirel DB, Ivinson AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL (2007) Risk alleles for multiple

sclerosis identified by a genomewide study. *The New England journal of medicine* 357 (9):851-862. doi:10.1056/NEJMoa073493

108. Al Jumah M, Al Balwi M, Hussein M, Kojan S, Al Khathaami A, Al Fawaz M, Al Muzaini B, Jawhary A, Al Abdulkareem I (2012) Association of SNPs rs6498169 and rs10984447 with multiple sclerosis in Saudi patients: a model of the usefulness of familial aggregates in identifying genetic linkage in a multifactorial disease. *Multiple sclerosis* (Houndmills, Basingstoke, England) 18 (10):1395-1400. doi:10.1177/1352458512440832

109. Hyun JW, Kim G, Kim Y, Kong B, Joung A, Park NY, Jang H, Shin HJ, Kim SH, Ahn SW, Shin HY, Huh SY, Kim W, Park MS, Kim BJ, Kim BJ, Oh J, Kim HJ (2018) Neutralizing Antibodies Against Interferon-Beta in Korean Patients with Multiple Sclerosis. *Journal of clinical neurology* (Seoul, Korea) 14 (2):186-190. doi:10.3988/jcn.2018.14.2.186

110. Rudick RA, Simonian NA, Alam JA, Campion M, Scaramucci JO, Jones W, Coats ME, Goodkin DE, Weinstock-Guttman B, Herndon RM, Mass MK, Richert JR, Salazar AM, Munschauer FE, 3rd, Cookfair DL, Simon JH, Jacobs LD (1998) Incidence and significance of neutralizing antibodies to interferon beta-1a in multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Neurology* 50 (5):1266-1272. doi:10.1212/wnl.50.5.1266



## 11 ANEXO 1: CERTIFICADO DEL COMITÉ ÉTICO

**JUNTA DE ANDALUCÍA**

CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES  
Dirección General de Calidad, Investigación, Desarrollo e Innovación  
Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía

### DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/D<sup>a</sup>: Juan Morales Arcas como secretario/a del CEI de Granada

#### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN  
PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Protocolo, Versión:  
HIP, Versión:  
CI, Versión:

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en GRANADA a 05/04/2016

D/D<sup>a</sup>: Juan Morales Arcas, como Secretario/a del CEI de Granada



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8	<b>Fecha:</b>	05/04/2016
<b>Normativa:</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
<b>Firmado Por:</b>	Juan Morales Arcas		
<b>Url De Verificación:</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaleetica/xhtml/ayuda/verificafirmaDocumento.iface/code/963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaleetica/xhtml/ayuda/verificafirmaDocumento.iface/code/963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8</a>	<b>Página:</b>	1/2





## CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 28/03/2016 y recogida en acta 3/2016 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de Investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Protocolo, Versión:

HIP, Versión:

CI, Versión:

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

**Presidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Fidel Fernández Quesada

**Vicepresidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Miguel Angel Calleja Hernández

**Secretario/a**

D/D<sup>a</sup>. Juan Morales Arcas

**Vocales**

D/D<sup>a</sup>. Francisco Manuel Luque Martínez

D/D<sup>a</sup>. Jesús Martínez Tapias

D/D<sup>a</sup>. José Exposito Hernández

D/D<sup>a</sup>. Juan Ramón Delgado Pérez

D/D<sup>a</sup>. Berta Gorlat Sánchez

D/D<sup>a</sup>. José Darío Sánchez López

D/D<sup>a</sup>. José Cabeza Barrera

D/D<sup>a</sup>. MARIA ESPERANZA DEL POZO GAVILAN

D/D<sup>a</sup>. ESTHER OCETE HITA

D/D<sup>a</sup>. MAXIMILIANO OCETE ESPINOLA

D/D<sup>a</sup>. Joaquina Martínez Galán

D/D<sup>a</sup>. María José García Sánchez

D/D<sup>a</sup>. AURORA BUENO CAVANILLAS

D/D<sup>a</sup>. MARIA MERCEDES RODRIGUEZ MORALES

D/D<sup>a</sup>. Paloma Muñoz de Rueda

D/D<sup>a</sup>. Juan de Dios Luna del Castillo

D/D<sup>a</sup>. Pilar Gujosa Campos

D/D<sup>a</sup>. José Luis Martín Ruiz

D/D<sup>a</sup>. JUAN ROMERO COTELO



Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.



Lo que firmo en GRANADA a 05/04/2016



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8	<b>Fecha:</b>	05/04/2016	
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
<b>Firmado Por</b>	Juan Morales Arcas			
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificafirmaDocumento.1?ace/code/963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificafirmaDocumento.1?ace/code/963fdcc4862f6e0a4e07b3de8fa7c37c9df3d1f8</a>	<b>Página</b>	2/2	



## 12 ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO

 <p>Servicio Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES</p> <p><b>CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS</b></p>	<p><b>COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA</b> UGC de Farmacia de Granada. Unidad de Farmacogenética Hospital Universitario Virgen de las Nieves Servicio de Farmacia. HMI 4ª planta. Avda Fuerzas Armadas, nº 2. T: 958 020 108; F: 901 021 804 farmacogenetica.hvn.sspa@juntadeandalucia.es</p> 
<p><b>Nombre del paciente:</b> <b>Nº Historia Clínica:</b> <b>NUHSA:</b> <b>CÓDIGO UFG-HUVN:</b></p>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>Yo..... declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendo la Hoja de Información del proyecto "INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE" y acepto participar.</li> <li>Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado.</li> <li>Comprendo las características y el objetivo del estudio y doy mi consentimiento para recoger la muestra de saliva contemplada para su desarrollo.</li> <li>He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas de ADN.</li> <li>Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas.</li> <li>Comprendo que mi participación es voluntaria.</li> <li>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.</li> <li>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.</li> </ol>	
<p><b>Punto 1.-</b> 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 Complejo Hospitalario Universitario de Granada.</p>	
<p><b>Punto 2.-</b> 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.</p> <p>Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratados de forma (marcar una opción):</p> <p><input type="checkbox"/> <b>CODIFICADA:</b> Identificadas con un código que protege mi identidad, siendo posible volver a ligarlas conmigo.</p> <p><input type="checkbox"/> <b>ANONIMIZADA:</b> Con desvinculación irreversible de la identidad. No se podrán asociar las muestras conmigo.</p> <p>Deseo <b>establecer restricciones</b> respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en .....</p> <p><b>Autorizo</b> para que se pueda <b>contactar conmigo posteriormente</b> En caso afirmativo, por favor, indique el medio de hacerlo: .....</p>	
<p><b>Fecha:</b> ...../...../.....      <b>Firma del paciente:</b>.....</p>	
<p>Representante legal en caso de incapacidad del paciente, con indicación del carácter con el que interviene (padre, madre, tutor, etc.).</p> <p><b>Nombre del Representante Legal</b> .....</p> <p><b>DNI</b> .....      <b>Firma</b> .....</p>	
<p><b>Persona que proporciona la información y el consentimiento:</b></p> <p><b>Nombre</b> .....</p> <p><b>DNI</b> .....      <b>Firma</b> .....</p>	
<p align="center"><b>CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS   F-PO-F-12-57</b></p>	
<p><b>UGC Farmacia</b> Complejo Hospitalario Universitario de Granada</p>	<p>Edición: 00 Aprobación: 10.03.2016</p>



## 13 ANEXO 3: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

 <p>Servicio Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES</p> <p><b>DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS</b></p>	<p>COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA (CHUG) UGC de Farmacia de Granada. Unidad de Farmacogenética Hospital Universitario Virgen de las Nieves Servicio de Farmacia. HMI 4ª planta. Avda Fuerzas Armadas, nº 2. T: 958 020 108; F: 901 021 804 farmacogenetica.hvn.sspa@juntadeandalucia.es</p> 
<p><b>Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.</b></p> <p><b>PROMOTOR DEL PROYECTO:</b> Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia <b>INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO:</b> M<sup>ª</sup> Isabel Carrasco Campos</p>	
<p>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.</p>	
<p><b>Posibilidad de ponerse nuevamente en contacto:</b> 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.</p>	
<p><b>Confidencialidad:</b> 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.</p>	
<p><b>Información sobre resultados del Estudio:</b> 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.</p>	
<p>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. El equipo investigador del proyecto se responsabilizará de proporcionar la información que resulte del estudio a aquel paciente que así lo solicite, siempre que los resultados obtenidos conlleven un impacto importante en el estado de salud del sujeto participante, y una vez autorizado por cualesquiera de los citados Comités.</p>	
<p><b>Derecho de recusa o desistencia:</b> 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.</p>	
<p>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.</p>	
<p>La licenciada en Biología M<sup>ª</sup> Isabel Carrasco Campos 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 CHUG.</p>	
<p>Para consultas relacionadas con el Biobanco, podrá dirigirse al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Complejo Hospitalario Universitario de Granada, 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.</p>	
<p>DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS   F-PO-F-12-58</p>	
<p>UGC Farmacia Complejo Hospitalario Universitario de Granada</p>	<p>Edición: 01 Aprobación: 31.03.2016</p>

 Servicio Andalúz de Salud CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES	<b>COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA (CHUG)</b> UGC de Farmacia de Granada. Unidad de Farmacogenética Hospital Universitario Virgen de las Nieves Servicio de Farmacia. HMI 4ª planta. Avda Fuerzas Armadas, nº 2. T: 958 020 108; F: 901 021 804 farmacogenetica.hvn.sspa@juntadeandalucia.es	
<b>DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE          PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS</b>		
<b>Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL A TERAPIA EN          PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.</b> <b>PROMOTOR DEL PROYECTO:</b> Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia <b>INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO:</b> M <sup>ª</sup> Isabel Carrasco Campos		
<p><b>Justificación del estudio, hipótesis de trabajo y objetivo del estudio:</b> Un determinado porcentaje de los pacientes diagnosticados con esclerosis múltiple no responden adecuadamente al tratamiento farmacológico, y esta variabilidad puede tener un origen genético. Este estudio pretende evaluar diversos marcadores genéticos en pacientes con esclerosis múltiple en tratamiento con interferón beta, acetato de glatirámico, natalizumab y/o fingolimod, para conocer si esos marcadores pueden predecir la efectividad a los 6 y 12 meses del comienzo de la terapia.</p>		
<p><b>Procedimientos:</b> Deseo participar en este estudio y conozco que:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tendré 1 cita con el investigador, coincidiendo con una de mis citas para recogida de medicación en la Unidad de Pacientes Externos de la UGC de Farmacia del Complejo Hospitalario Universitario de Granada (CHUG).</li> <li>- Se me realizará una extracción ADN a partir de una muestra de saliva, 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.</li> <li>- En caso de no autorizar la cesión de las muestras al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del CHUG (Respuesta Negativa al Punto 2 del Consentimiento Informado), esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.</li> <li>- En caso de autorizar que los remanentes de las muestras pasen a formar parte del Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del CHUG (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.</li> </ul>		
<p><b>Beneficios:</b> Pueden no obtenerse beneficios directos con la participación en este proyecto. 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.</p>		
<p><b>Riesgos:</b> Para el estudio Farmacogenético, es necesario una muestra de saliva, por lo que no existe riesgo ninguno.</p>		
<p><b>Lugar de realización del análisis y destino de la muestra al término de la investigación:</b> Los análisis farmacogenéticos de este estudio se llevarán a cabo en la Unidad de Farmacogenética del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Al término de la investigación, se cederán al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del CHUG 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.</p>		
DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS   F-PO-F-12-58		
UGC Farmacia Complejo Hospitalario Universitario de Granada	Edición: 01 Aprobación: 31.03.2016	

## 14 PUBLICACIONES

Los resultados de esta tesis fueron parcialmente publicados como artículo original en la revista *Molecular Neurobiology*, con ISSN 0893-7648 y EISSN 1559-1182, con un *Journal Impact Factor* en 2020 de 5.590, y que se encuentra indexada en la categoría *Neurosciences* en posición 61/273, lo que corresponde a Q1 y percentil 77.84.

[Pharmacogenetic Predictors of Response to Interferon Beta Therapy in Multiple Sclerosis.](#)

**Carrasco-Campos MI**, Pérez-Ramírez C, Macías-Cortés E, Puerta-García E, Sánchez-Pozo A, Arnal-García C, Barrero-Hernández FJ, Calleja-Hernández MÁ, Jiménez-Morales A, Cañadas-Garre M. *Mol Neurobiol.* 2021 Sep;58(9):4716-4726. doi: 10.1007/s12035-021-02454-2. Epub 2021 Jun 24. PMID: 34169444