



TESIS DOCTORAL

**RELACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS
RELACIONADOS CON EL TRANSPORTE CELULAR,
POLIGLUTAMACIÓN Y METABOLISMO DEL METOTREXATO Y
LA RESPUESTA TERAPÉUTICA EN ARTRITIS REUMATOIDE**

Eugenio Chamizo Carmona

**Programa de Doctorado en Investigación Biomédica Aplicada
(R009)**

2018



TESIS DOCTORAL

**RELACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS
RELACIONADOS CON EL TRANSPORTE CELULAR,
POLIGLUTAMACIÓN Y METABOLISMO DEL METOTREXATO Y LA
RESPUESTA TERAPÉUTICA EN ARTRITIS REUMATOIDE**

Eugenio Chamizo Carmona

**Programa de Doctorado en Investigación Biomédica Aplicada
(R009)**

CONFORMIDAD DE LOS DIRECTORES:

Fdo.: Adrián LLerena Ruíz

Fdo.: Pedro Dorado Hernández

2018

1 ÍNDICE

1	ÍNDICE	1
1.1	<i>Listado de tablas.....</i>	4
1.2	<i>Listado de figuras.....</i>	7
2	RESUMEN.....	8
3	ABSTRACT.....	11
4	INTRODUCCIÓN	13
4.1	<i>La artritis reumatoide.....</i>	14
4.1.1	<i>Epidemiología.....</i>	14
4.1.2	<i>Etiopatogenia.....</i>	14
4.1.3	<i>Manifestaciones clínicas de la artritis reumatoide</i>	25
4.1.4	<i>El tratamiento de la AR.....</i>	32
4.2	<i>El Metotrexato.....</i>	41
4.2.1	<i>Administración y biodisponibilidad</i>	41
4.2.2	<i>Función y mecanismos de acción.....</i>	41
4.2.3	<i>MTX en la artritis reumatoide</i>	43
4.3	<i>Farmacogenética.....</i>	44
4.3.1	<i>Farmacogenética del Metotrexato</i>	45
4.4	<i>Justificación de la tesis.....</i>	52
5	HIPÓTESIS	53
6	OBJETIVOS	56
6.1	<i>Objetivo general.....</i>	57
6.2	<i>Objetivos específicos.....</i>	57
7	MATERIAL Y MÉTODOS	58
7.1	<i>Diseño.....</i>	59
7.2	<i>Pacientes.....</i>	59
7.2.1	<i>Población accesible.....</i>	59
7.2.2	<i>Criterios de selección</i>	59
7.2.3	<i>Muestreo y reclutamiento.....</i>	59
7.3	<i>Mediciones y variables</i>	60
7.3.1	<i>Variables principales o de desenlace.....</i>	60
7.3.2	<i>Factores en estudio.....</i>	60
7.3.3	<i>Variables descriptivas y factores de confusión</i>	61
7.4	<i>Recogida de datos.....</i>	61
7.4.1	<i>Método de genotipado</i>	62
7.5	<i>Aspectos éticos.....</i>	63
7.6	<i>Análisis estadísticos.....</i>	63
7.7	<i>Modelos de herencia.....</i>	65
8	RESULTADOS.....	66
8.1	<i>Descripción de los pacientes incluidos.....</i>	67
8.2	<i>Tratamiento con MTX: descripción, respuesta y tolerabilidad.....</i>	72
8.3	<i>Descripción de las variables principales o de resultado.....</i>	75
8.3.1	<i>Descripción de los polimorfismos presentes</i>	75
8.3.2	<i>Respuesta a MTX</i>	76

8.3.3	Acontecimientos adversos.....	78
8.4	<i>Asociación con características clínicas: bivalente y multivalente.....</i>	79
8.4.1	Respuesta a Metotrexato	79
8.4.2	Remisión clínica.....	80
8.4.3	Toxicidad por metotrexato.....	81
8.5	<i>Análisis de polimorfismos: bivalente y multivalente</i>	84
8.5.1	Respuesta a Metotrexato	84
8.5.2	Remisión clínica.....	90
8.5.3	Toxicidad por metotrexato.....	95
8.5.4	Análisis de haplotipos	130
8.6	<i>Síntesis de resultados.....</i>	135
9	DISCUSIÓN	139
9.1	<i>Pacientes incluidos</i>	140
9.2	<i>Tratamiento con MTX.....</i>	141
9.3	<i>Variables principales o de resultado</i>	141
9.3.1	Polimorfismos.....	141
9.3.2	Respuesta a MTX.....	143
9.3.3	Acontecimientos adversos.....	143
9.4	<i>Asociación con características clínicas.....</i>	144
9.4.1	Respuesta a metotrexato (baja actividad / remisión clínica).....	144
9.4.2	Toxicidad por MTX.....	146
9.5	<i>Polimorfismos genéticos</i>	147
9.5.1	Transporte y almacenamiento de MTX.....	148
9.5.2	Vías metabólicas del ácido fólico	149
9.6	<i>Síntesis</i>	152
9.7	<i>Consideraciones finales.....</i>	154
10	CONCLUSIONES.....	156
11	ANEXOS.....	160
11.1	<i>Abreviaturas.....</i>	161
11.2	<i>Hoja de información y consentimiento informado</i>	164
11.3	<i>Aprobación del Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura.</i>	166
11.4	<i>Modelo de entrevista estructurada.</i>	167
11.5	<i>Hoja de evaluación del paciente.</i>	170
11.6	<i>Variables recogidas en el CRD</i>	172
11.7	<i>Estudios previos de los polimorfismos.....</i>	175
11.7.1	Polimorfismo MTHFR_1298ACc (rs1801131).....	175
11.7.2	Polimorfismo MTHFR_677CTc (rs1801133).....	176
11.7.3	Haplotipo MTHFR_1298ACc – MTHFR_677CTc.....	177
11.7.4	Polimorfismo ABCB1 3435CTc	178
12	BIBLIOGRAFÍA	179

1.1 Listado de tablas

Tabla 1. Criterios de clasificación para artritis reumatoide ACR-EULAR 2010	22
Tabla 2. Nuevos criterios ACR / EULAR de remisión clínica de artritis reumatoide	27
Tabla 3. Tratamiento por objetivo de la artritis reumatoide	33
Tabla 4. Mecanismos de acción de FAMEsc	35
Tabla 5. Índices de actividad de la AR.....	38
Tabla 6. Recomendaciones EULAR para el tratamiento de AR. Actualización 2016.....	39
Tabla 7. Matriz de hipótesis	55
Tabla 8. Sondas TaqMan utilizadas para la determinación de las variantes alélicas de los diferentes genes estudiados	62
Tabla 9. Variables sociodemográficas	67
Tabla 10. Consumo de tabaco, café y té.....	67
Tabla 11. Factores de riesgo cardiovascular.....	68
Tabla 12. Comorbilidades	68
Tabla 13. Forma de inicio de AR	69
Tabla 14. Manifestaciones extraarticulares	70
Tabla 15. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento.....	70
Tabla 16. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento, por décadas	71
Tabla 17. Anticuerpos.....	72
Tabla 18. Situación radiográfica y clase funcional.....	72
Tabla 19. Uso de FAMEs	73
Tabla 20. Índices de actividad y tratamientos concomitantes al inicio del MTX.....	73
Tabla 21. Vía de administración y dosis máxima y tolerada de MTX.....	74
Tabla 22. Motivo de suspensión de MTX.....	74
Tabla 23. Polimorfismos genéticos	75

Tabla 24. Respuesta DAS28-PCR <3,2, con MTX en monoterapia	76
Tabla 25. Respuesta DAS28-PCR <2,6, con MTX en monoterapia	77
Tabla 26. Respuesta a MTX en función de la década de diagnóstico	77
Tabla 27. Acontecimientos adversos	78
Tabla 28. Causas de suspensión.....	78
Tabla 29. Análisis bivariante de la respuesta a MTX – variables clínicas	79
Tabla 30. Análisis bivariante de la remisión – variables clínicas.....	80
Tabla 31. Análisis multivariante Respuesta / Remisión: variables clínicas.....	81
Tabla 32. Análisis bivariante de la toxicidad - variables clínicas.....	82
Tabla 33. Análisis multivariante de la toxicidad: variables clínicas	83
Tabla 34. SNPs y respuesta a MTX: análisis bivariante y multivariante	85
Tabla 35. SNPs y respuesta a MTX: interacción por sexo	89
Tabla 36. SNPs y remisión: análisis bivariante y multivariante.....	91
Tabla 37. SNPs y toxicidad global: análisis bivariante y multivariante	96
Tabla 38. SNPs y toxicidad digestiva: análisis bivariante y multivariante	101
Tabla 39. SNPs y toxicidad digestiva: interacción por sexo	105
Tabla 40. SNPs y toxicidad hepática: análisis bivariante y multivariante	107
Tabla 41. SNPs y toxicidad hepática: interacción por sexo.....	112
Tabla 42. SNPs y toxicidad hematológica: análisis bivariante y multivariante	114
Tabla 43. SNPs y toxicidad hematológica: interacción por sexo.....	118
Tabla 44. SNPs y alopecia: análisis bivariante y multivariante	121
Tabla 45. SNPs y toxicidad neurológica: análisis bivariante y multivariante	126
Tabla 46. Análisis de haplotipos: respuesta / remisión	131
Tabla 47. Análisis de haplotipos: toxicidad.....	133
Tabla 48. Análisis de haplotipos: interacción por sexo	134

Tabla 49. Características clínicas asociadas a mala respuesta a MTX.....	135
Tabla 50. Características clínicas asociadas a toxicidad por MTX.....	135
Tabla 51. Efectos observados de los polimorfismos estudiados sobre la eficacia y toxicidad de MTX.....	138

1.2 Listado de figuras

Figura 1. Algoritmo de tratamiento AR basado en recomendaciones EULAR 2016	40
Figura 2. Transporte y mecanismos de acción intracelular del MTX.....	43
Figura 3. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento, por décadas	71
Figura 4. Porcentaje de respuesta en función de la dosis de MTX alcanzada	76
Figura 5. Porcentaje de remisión en función de la dosis de MTX alcanzada	77
Figura 6. Frecuencias de genes ancestrales en el estudio y la población española.....	142
Figura 7. Frecuencias de genes ancestrales en el estudio y la población española.....	143

2 RESUMEN

Introducción. La Artritis Reumatoide (AR) produce destrucción articular irreversible, deterioro funcional, comorbilidad y muerte prematura. Los mejores resultados se consiguen con un inicio temprano de una estrategia de tratamiento por objetivos y un seguimiento estrecho que permitan controlar rápida y eficazmente el proceso inflamatorio. El Metotrexato es el fármaco modificador de la enfermedad (*FAME*) de primera elección, pero sólo la mitad de los pacientes responden satisfactoriamente en monoterapia y con frecuencia produce efectos secundarios. Los estudios que han explorado la contribución de la variabilidad genética a la variabilidad de la eficacia y toxicidad del MTX en AR muestran resultados muy variables y ausencia de un solo polimorfismo responsable.

Objetivos. Explorar el efecto combinado de las características clínicas relacionadas con el paciente, la enfermedad y el tratamiento, y de diferentes polimorfismos genéticos vinculados con el transporte y vías metabólicas del MTX, sobre la respuesta terapéutica de este fármaco, en términos de eficacia y de seguridad, en una cohorte de pacientes de AR en tratamiento con MTX en monoterapia.

Material y métodos. Estudio de casos y controles en una cohorte de pacientes con AR del Hospital de Mérida (2012-2015), en seguimiento protocolizado desde 1990 en la consulta monográfica de AR del Servicio de Reumatología que hubieran estado en tratamiento con MTX en monoterapia. Se definió eficacia, como una respuesta (baja actividad) y remisión mantenidas durante el seguimiento, según DAS28-PCR, y toxicidad como la aparición de algún acontecimiento adverso relacionado con MTX en cualquier momento. Se estudiaron los polimorfismos (SNPs) *ABCB1* C3435T, *GGH* T16C, *FPG* G2782A, *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *AMPD1* C34T, *ITPA* C94A y *ADA* A534G, y variables relacionadas con el paciente, la enfermedad y el tratamiento.

Resultados. Se incluyó un total de 301 pacientes (edad media al diagnóstico de 50 años y 75% mujeres, valor basal medio de DAS28-PCR de 4,5, deterioro basal de la función física en el 75%, erosiones óseas tempranas en el 50% y afectación extraarticular en 24%) representativos de una AR grave. La monoterapia fracasó en la mitad de los pacientes, generalmente por falta de eficacia, y la mitad presentó acontecimientos adversos relacionados con MTX, más frecuentemente gastrointestinales, neurológicos y hepáticos, que causaron la suspensión de MTX en una tercera parte de los casos y un 18% del total. La probabilidad de respuesta a metotrexato fue menor en mujeres, fumadores activos y pacientes con enfermedad más grave (mayor actividad basal, erosiones tempranas y manifestaciones extraarticulares), y con independencia de los determinantes clínicos, en los homocigotos para el alelo mutado (genotipo C/C) del SNP *MTHFR*_A1298C y en los portadores del haplotipo C-C de los polimorfismos T677C - A1298C de *MTHFR* (28,2%). La toxicidad global fue más frecuente en mujeres y pacientes con comorbilidad, menor edad y genotipo C/T del *MTHFR*_T677C. La hepática fue más frecuente con Mantoux positivo y genotipo G/G de *ADA*_A534G. Algunos SNPs mostraron un efecto protector para la toxicidad. El sexo se comportó como factor modificador.

Conclusiones. La mayoría de los SNPs estudiados se han asociado con alguna medida de desenlace, aunque el tamaño del efecto es pequeño. Los estudios de asociación genética deben tener en cuenta el sexo de los pacientes y otras variables clínicas.

3 ABSTRACT

Introduction. Rheumatoid arthritis (RA) produces irreversible joint destruction, functional deterioration, comorbidity and premature death. The best results are achieved with an early start of a treat-to-target and tight control strategy that allow to quickly and effectively control the inflammatory process. Methotrexate is the disease modifying drugs (DMARDs) of first choice, but only half of patients respond satisfactorily in monotherapy and often produces side effects. Studies exploring the contribution of genetic variability to the variability of the efficacy to MTX in RA and its toxicity show highly variable results and the absence of a single responsible polymorphism.

Objective. To explore the combined effect of the clinical characteristics related to the patient, the disease and the treatment, and of different genetic polymorphisms linked to the transport and metabolic pathways of MTX, on the therapeutic response of this drug, in terms of efficacy and safety, in a cohort of RA patients treated with MTX in monotherapy.

Material and Methods. Case-control study nested in a cohort of patients with RA of the Hospital de Mérida (2012-2015), followed-up by protocol in the monographic consultation of RA of the Rheumatology Service and treated with MTX monotherapy (since 1990). Efficacy was defined as a maintained response (low activity) and remission during follow-up, according to DAS28-PCR, and toxicity, as any adverse event related to MTX at any time during treatment. The polymorphisms (SNPs) *ABCB1_C3435T*, *GGH_T16C*, *FPG_G2782A*, *MTHFR_C677T*, *MTHFR_A1298C*, *AMPD1_C34T*, *ITPA_C94A* and *ADA_A534G*, and variables related to the patient, the disease and the treatment were studied.

Results. A total of 301 patients were included (mean age at diagnosis 50 years, 75% women, mean baseline value of DAS28-PCR of 4.5, baseline deterioration of physical function in 75%, early bone erosions in 50% and extraarticular involvement in 24%), representative of a severe RA. MTX monotherapy failed in half of the patients, generally due to lack of efficacy, and half had adverse events related to MTX, most frequently gastrointestinal, neurological and hepatic, which caused the suspension of MTX in a third of the cases and an 18 % of the total. The probability of MTX response was lower in women, active smokers and patients with more severe disease (higher baseline activity, early erosions and extra-articular manifestations), and independently of the clinical determinants, in homozygotes for the mutated allele (C/C genotype) of the *MTHFR_A1298C* SNP and in the carriers of the CC haplotype of C677T-A1298C of *MTHFR* (28.2%). The overall toxicity was more frequent in women and younger patients and C/T genotype of *MTHFR_C677T*. Hepatic was more frequent with positive Mantoux and G/G genotype of *ADA_A534G*. Some SNPs showed a protective effect for toxicity. Sex behaved as a modifying factor.

Conclusions. Most of the SNPs studied have been associated with some measure of outcome, although the size of the effect is small. Genetic association studies should take into account the sex of patients and other clinical variables.

4 INTRODUCCIÓN

4.1 La artritis reumatoide

4.1.1 Epidemiología

La artritis reumatoide (AR) es la artropatía inflamatoria inmunomediada más frecuente en adultos (Helmick 2008). La diana principal es la sinovial, donde la hiperplasia y la inflamación crónica propician la destrucción articular responsable de la limitación funcional y la incapacidad (McInnes 2011), aunque la carga inflamatoria también puede afectar a otros tejidos y órganos extra-articulares, incrementando la comorbilidad y la mortalidad de estos pacientes (Cutolo 2014).

La AR tiene una distribución universal, pero su incidencia y prevalencia varían substancialmente entre distintas áreas geográficas y a lo largo del tiempo. Globalmente se estima una incidencia de 0,2 por mil en hombres y 0,4 por mil en mujeres, con una prevalencia mundial de entre 0,4 y 1% (Liao 2011). Las diferencias regionales en la prevalencia van desde el 0,1% en poblaciones rurales de África hasta el 5% en ciertas tribus americanas (Pima, Blackfeet, Chippewa). En poblaciones caucásicas, la prevalencia media es del 1%, con valores más elevados en las regiones del norte que en las del sur (Linos 1980, Spector 1990, Nelson 1993, Peschken 1999, Kwoh 2002, Neovius 2011, Yu 2013). Se ha observado una disminución de la incidencia y gravedad de la AR entre 1955 y 1994 (Linos 1980, Hochberg 1990, Doran 2002, Kaipiainen-Seppanen 2006, Helmick 2008, Liao 2011), seguida de un incremento modesto a partir de 1995 que sitúa la incidencia global anual, ajustada por edad y sexo, en alrededor de 40 casos por 100.000 adultos (Pedersen 2007, Myasoedova 2010). En España se estima una prevalencia media de 0,5% (0,2% en hombres y 0,8% en mujeres) y una incidencia de 10 casos por 100.000 habitantes (Carmona 2002), en base a los criterios de clasificación ACR 1987.

La AR puede aparecer en personas de cualquier edad. El pico de incidencia se sitúa entre los 50 y los 75 años. La frecuencia es dos a tres veces mayor en mujeres que en hombres. La prevalencia en mujeres mayores de 65 años alcanza el 5%. El riesgo de que una persona desarrolle AR a lo largo de su vida es del 3,6% para las mujeres y del 1,7% para los hombres (Crowson 2011).

4.1.2 Etiopatogenia

La causa de la AR no se conoce completamente, pero las evidencias disponibles apuntan a una patogenia inmunomediada (Firestein 2003), en la que complejas interacciones entre factores genéticos y ambientales inducen una activación anómala del sistema inmune, con pérdida de la tolerancia a las proteínas propias, presentación de autoantígenos, activación de células T y B específicas de antígeno y producción alterada de citoquinas, que eventualmente conduciría al desarrollo de las manifestaciones de la enfermedad. En las últimas décadas se han dilucidado numerosos factores ambientales (estocásticos) y genéticos (predeterminados) que pueden modificar el riesgo de desarrollar AR y su pronóstico (Silman 1996, Symmons 1997, Jacobsson 2003, van Gaalen 2004, Agrawal 2007). La estimulación estocástica sucesiva o mantenida en individuos

susceptibles puede producir fenómenos epigenéticos y alteraciones del sistema inmunológico suficientes para desencadenar una respuesta autoinmune, caracterizada por la presencia de autoanticuerpos circulantes y liberación de grandes cantidades de citoquinas inflamatorias y quimiotácticas (quimioquinas). Esta fase pre-clínica puede prolongarse durante años antes de la aparición de la sinovitis y las comorbilidades que definen la enfermedad (Gerlag 2012, van Steenberg 2013). Los autoanticuerpos participan en la patogenia, pero no son suficientes para causar la enfermedad (Arend 2012). El hecho de que las biopsias sinoviales realizadas a pacientes con artralgias y autoanticuerpos, considerados en fase "pre-RA", sean normales (de Hair 2014) sugiere el requerimiento de un "segundo golpe" para pasar de la autoinmunidad a la enfermedad. Además, no se detectan autoanticuerpos en todos los pacientes, por lo que desde hace muchas décadas se distinguen dos fenotipos de AR: seropositivo (60-80%) y seronegativo. Para esta clasificación, se utilizan, desde 1940 el factor reumatoide (FR) (Waalder 1940, Rose 1948), un anticuerpo anti IgG no específico de AR que puede estar presente en otras enfermedades autoinmunes, hepáticas o infecciosas (Shmerling 1991), y desde hace dos décadas los ACPA, anticuerpos anti péptido citrulinado altamente específico de AR (Schellekens 1998, Schellekens 2000), encontrados en el 67% de los pacientes con AR incluidos en un meta-análisis (Nishimura 2007) y forman parte de los criterios actuales de clasificación de la enfermedad (Aletaha 2010).

El ensamblaje de todas las evidencias disponibles está propiciando nuevas hipótesis sobre la patogenia de la enfermedad, con diversas vías que operan de forma variable en pacientes individuales (Firestein 2014, Tan 2016, Catrina 2016a).

4.1.2.1 Factores genéticos

Los factores genéticos son muy importantes en la susceptibilidad y en la gravedad de AR. Los más determinantes dependen del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) o antígeno leucocitario humano (HLA), pero existe un centenar de polimorfismos genéticos fuera del HLA que contribuyen en menor medida. Los datos estimados de heredabilidad en la AR (entre el 21 y el 65% según el tipo de estudios) (Silman 1993, MacGregor 2000, Frisell 2013, Sparks 2014), de concordancia en gemelos monocigóticos (12-15%) y dicigóticos (3,5%) y de asociación familiar (2-5%) sugieren que muchos otros factores ambientales deben participar en la patogénesis (Aho 1993, Silman 1993, Hemminki 2009). Las influencias epigenéticas, como alteraciones en la metilación de DNA o la regulación de microRNAs, entre otras, también pueden aumentar la expresión de genes proinflamatorios (Kaminsky 2009, Bottini 2013).

4.1.2.1.1 Genes HLA

La región CMH en el cromosoma 6 consta de un grupo de genes que codifican una variedad de marcadores de superficie celular mayoritariamente involucrados en la función inmune. Los genes de la región II codifican moléculas HLA de clase II, HLA -DP, -DQ y -DR, expresadas constitutivamente en células presentadoras de antígeno (CPA, como las células dendríticas, macrófagos o células B) e inducibles durante los estados inflamatorios en otros tipos de células. Los genes de la región III del CMH se encuentran

entre las regiones I y II, no son HLA, pero están relacionados con el complemento, citoquinas (TNF) y HSP-70, entre otros.

Desde los años 70 se sabe que el 70% de los pacientes con AR portan HLA-DR4, frente al 30% de los controles (Stastny 1978). Posteriormente, se identificó una secuencia de aminoácidos en las posiciones 70-74 de la tercera región hipervariable de la cadena β del HLA-DR (Gregersen 1987), que fue llamada epítipo compartido (SE, del inglés shared epitope; 70QKRAA74, 70QRRAA74, o 70RRRAA74 - código de aminoácidos de una letra) porque era común en las variantes alélicas asociadas más estrechamente a la AR en diferentes etnias. El SE ha sido encontrado en HLA-DR β 1 *04 (04:01, 04:04, 04:05, 04:08) y HLA-DR β 1 *01 (01:01, 01:02) y los alelos HLA-DR β 1 *14:02 y HLA-DR β 1 *10:01 (Stastny 1978, Nepom 1986, Wordsworth 1989, Nelson 1991, Wordsworth 1991, Yelamos 1993), pero los más estrechamente ligados a la AR (mayor riesgo) son DR β *04:01, DR β *04:04, DR β *01:01 y DR β *14:02, detectándose al menos uno de estos alelos en más del 90% de los pacientes con AR seropositiva (Weyand 1992). Las combinaciones de alelos HLA-DR β 1 en genotipos heterocigotos compuestos parecen amplificar el riesgo de desarrollar AR (Fries 2002, Jawaheer 2002, Lenz 2015). Por el contrario, algunos alelos HLA-DR β 1 específicos confieren protección para la AR, como el HLA-DRB1 *13:01 en Europa (van der Woude 2010)

La región SE, situada en el bolsillo de unión a antígenos, es esencial para el reconocimiento de antígenos por las células T. Recientemente se han identificado aminoácidos adicionales situados en la base del surco de unión al antígeno, en las posiciones 11 y 13 fuera del SE, que podrían ser decisivos en la selección del antígeno presentado a la célula T (Raychaudhuri 2012, Viatte 2015). Las posiciones 11, 13, 71 y 74 del HLA-DR β 1 confieren al bolsillo de unión al antígeno unas características estructurales que parecen favorecer la unión de péptidos citrulinados, en detrimento de los péptidos originales, y la autoinmunidad (van der Helm-van Mil 2006, Scally 2013). Estos hallazgos facilitan la comprensión de la asociación entre citrulinación, HLA-DR β 1 y autorreactividad de células T en el desarrollo de la AR ACPA-positivo. El SE también se asocia con mayor gravedad de la enfermedad, aparición de manifestaciones extraarticulares y progresión de las erosiones (Viatte 2015, Firestein 2017). Con todo, la contribución del HLA-DR β 1 explica solo una tercera parte del componente genético de la AR (Deighton 1989), lo que hace pensar que el resto del riesgo debe distribuirse en otros genes situados fuera de la región HLA.

4.1.2.1.2 Genes no-HLA

Durante los últimos años, los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) y análisis metagenómicos han permitido identificar más de 100 polimorfismos de nucleótido único (SNP) diferentes del HLA asociados con AR y otras enfermedades autoinmunes, incluyendo PTPN22 (proteína tirosina fosfatasa N22), PADI4 (peptidil arginina deaminasa), STAT4, TNFAIP3, ANKRD55, CTLA4, SCL22A4, TRAF1/C5, TYK2 y CD40 (Seidl 1998, Suzuki 2003, Tokuhiko 2003, Begovich 2004, Kochi 2005, Remmers 2007, Diogo 2015). Además de codificar proteínas, algunos SNP no-HLA están implicados en una amplia gama de vías candidatas en la patogenia de la AR, como activación de

células B y T, presentación de antígenos y síntesis de inmunoglobulinas (receptores CTL4, CD28, Fc, CD40, BTLA), expresión y acción de citoquinas (receptores de TNF- α IL-6), señalización intracelular y regulación de la función inmune (TRAF1-C5, STAT4), apoptosis, citrulinación (PADI4) (Thomson 2007, Stahl 2010, Okada 2012, Kim 2017). En la mayoría de los casos, aún no ha sido identificada la variante causal real. Individualmente tienen una escasa contribución a la heredabilidad de la AR, pero pueden tener un impacto funcional considerable (Okada 2014, Kim 2017), además tienden a agruparse alrededor de los genes inmunes y potencialmente pueden interactuar para aumentar el riesgo. Particularmente interesante es la interacción entre PADI4 (deaminasa que convierte arginina en citrulina) y PTPN22 (fosfatasa implicada en la señalización intracelular de células T). La mutación de estos genes aumenta respectivamente la citrulinación de los péptidos y la autorreactividad de la célula T frente a estos neo-antígenos, resultando en un aumento de péptidos citrulinados y ACPA (Suzuki 2003), que conllevan mayor riesgo de desarrollo y de progresión de la AR. PADI2 y PADI4 se expresan en la sinovial reumatoide y correlacionan con la inflamación (Foulquier 2007).

Los dos determinantes genéticos principales, HLA-DR y SNP no-HLA, implican a la AR ACPA positivo fundamentalmente, que parece depender estrechamente de la inmunidad adaptativa dirigida por el HLA clase II. Por el contrario, tanto la heredabilidad general como el número de polimorfismos asociados con la AR ACPA negativo son mucho menores (Lundberg 2013, Bossini-Castillo 2015), probablemente porque engloba varios subtipos diferentes de enfermedad con menor participación de la inmunidad adaptativa y mayor dificultad diagnóstica, lo que complica su estudio (Terao 2016).

Los factores genéticos conocidos y la asociación al sexo femenino explican un máximo del 50% de la contribución genética al desarrollo de AR (Vries 2011), por lo que otros mecanismos pueden completar la herencia oculta (Feitsma 2007, Morgan 2009, Vries 2011, Vernerova 2016). La interacción entre factores genéticos y ambientales puede ser particularmente importante en la generación de autoanticuerpos y el desarrollo de la AR (Haj Hensvold 2015, Sparks 2015).

4.1.2.2 Factores específicos del género

La mayor prevalencia de AR en mujeres obliga a considerar la influencia hormonal, además de la genética, en la susceptibilidad a la enfermedad. Los estrógenos tienen efectos estimulantes sobre el sistema inmunológico, al inhibir la función de células T supresoras y mejorar la de las células T helper (Ansar 1985). De hecho, se ha observado una asociación entre un SNP de receptores estrogénicos de las células sinoviales, las células T de memoria y la enfermedad (Takagi 2000).

Los numerosos estudios realizados hasta la fecha, sobre factores reproductivos y niveles hormonales en mujeres, y también en hombres, han aportado resultados contradictorios (Vessey 1987, Nelson 1993, Jorgensen 1996, Pladevall-Vila 1996, Heikkila 1998, Doran 2004, Karlson 2004, Pikwer 2009, Berglin 2010, Chen 2014). No parece que los anticonceptivos orales confieran un mayor riesgo de AR (Liao 2009). La AR parece ser más frecuente en nulíparas y en postmenopáusicas. Además, tiende a remitir durante la

gestación y exacerbarse después del parto. Se ha sugerido que esta remisión se da con mayor frecuencia cuando existe disparidad en los alelos HLA de clase II entre la madre y el feto (Nelson 1993).

El hombre presenta un fenotipo distinto de AR con mayor edad al inicio, mayor tabaquismo y mayor frecuencia y título de autoanticuerpos (Jawaheer 2006). Se han encontrado niveles más bajos de testosterona y dehidroepiandrosterona en los varones con AR que en los controles, pero se desconoce si son consecuencia del estado inflamatorio o si es un factor de riesgo para la enfermedad (Tengstrand 2002, Tengstrand 2003).

4.1.2.3 Factores ambientales

Entre los factores ambientales relacionados con el desarrollo y evolución de la AR, el tabaco es el más estudiado y reconocido. Desde el inesperado hallazgo en un estudio de contracepción (Vessey 1987), diversas investigaciones han confirmado la interacción entre el tabaco y factores genéticos e inmunológicos y su efecto sobre el desarrollo, la evolución y la respuesta al tratamiento de la AR (Hazes 1990, Hernandez Avila 1990, Heliovaara 1993, Symmons 1997, Karlson 1999, Liao 2009). Esta asociación con el tabaco sólo se ha comprobado en la AR ACPA positivo, pero no en la ACPA negativo (Pedersen 2006, Pedersen 2007b). El riesgo de AR se correlaciona con la cantidad de tabaco y el tiempo de fumador activo, y está influenciado por la interacción entre el tabaco y los factores genéticos (Silman 1996, Karlson 1999, Suzuki 2003, Criswell 2006, Pedersen 2007b). La presencia del epítipo compartido aumenta el riesgo y la gravedad de la AR en los fumadores (Suzuki 2003, Cha 2007, Mikuls 2008), pero parece que otros componentes genéticos predisponen también al desarrollo de una enfermedad más grave en los fumadores (Mattey 2002). Este incremento del riesgo de los fumadores, asociado al desarrollo y la gravedad de la AR, podría desaparecer a los 10 años de dejar de fumar (Criswell 2002). Además, los pacientes con AR que han fumado durante más de 25 años presentan con más frecuencia autoanticuerpos, nódulos reumatoides y erosiones (Saag 1997, Wolfe 2000). Los efectos nocivos del tabaco no se han comprobado en los dispositivos sustitutivos del cigarrillo que contienen nicotina (Carlens 2010), por lo que parece no dependen directamente de ésta.

La exposición ocupacional a polvo industrial (cemento pulverizado, fibras de vidrio, sílice, amianto, plomo) y disolventes (hidrocarburos, bifenilos y furanos policlorados y dioxinas) puede aumentar el riesgo de desarrollar AR, como se ha demostrado en diferentes estudios (Khuder 2002, Stolt 2010) y en los profesionales que trabajaron en el World Trade Center tras el ataque terrorista de 2011 (Webber 2015).

La relación con otros factores ambientales es menos contundente. Las personas con niveles socioeconómico y de formación académica más bajos parecen tener más riesgo de desarrollar AR (Bengtsson 2005, Pedersen 2006b, Bergstrom 2011). Algunos estudios sugieren que la dieta mediterránea y el pescado, ricos en ácidos grasos omega 3, los suplementos de vitamina D y la ingesta de alcohol, podrían tener un pequeño efecto protector frente al desarrollo de AR (Merlino 2004, Pattison 2004, Pedersen 2006, Holick

2007, Källberg 2009, Liao 2009, Rosell 2009, Di Giuseppe 2012, Jin 2014) y sobre la actividad de la enfermedad (Tedeschi 2016). El consumo elevado de carne roja no aumenta el riesgo de desarrollar AR (Liao 2009), no está clara la relación con el café (Heliovaara 2000, Mikuls 2002, Karlson 2003) y se piensa que los refrescos azucarados pueden estar en relación con la AR porque favorecen la obesidad, la resistencia a la insulina y la inflamación (Hu 2014). Del mismo modo, se ha observado una asociación entre la obesidad y el desarrollo de AR, sobre todo ACPA negativo, en mujeres (Pedersen 2007b, Scott 2011, Crowson 2013, Wesley 2013, Finckh 2014, Lu 2014). Algunos estudios sugieren que el ejercicio regular podría tener un efecto protector (Sandberg 2014, Di Giuseppe 2015). Otras comorbilidades, como diabetes mellitus, esquizofrenia, trastornos del sueño y enfermedad tiroidea autoinmune, también han sido relacionadas con AR (Hsiao 2015, Pan 2015).

Además de los factores genéticos y ambientales predisponentes, se cree que para que se desarrolle la enfermedad es necesario un factor desencadenante (Wegner 2010, Wegner 2010b). En este sentido se han postulado diferentes agentes infecciosos, como EBV, CMV, parvovirus B19, micoplasmas, proteus y porphyromonas gingivalis entre otros, como desencadenantes de la AR en individuos genéticamente predispuestos, aunque los resultados de los estudios realizados no han sido concluyentes (Deighton 1992, Schaefferbeke 1997, Horowitz 2000, Mikuls 2010, Turk 2014, Tan 2016). Las hipótesis sobre el posible papel desencadenante de AR son más atractivas para virus, especialmente EBV y retrovirus, que para bacterias (Ferrell 1981, Saal 1999, Balandraud 2003, Piper 2006).

En la actualidad se piensa que, al igual que el tabaco y otros factores ambientales, algunas bacterias, como la porphyromonas gingivalis causante de la periodontitis, forman parte de los mecanismos de autoinmunidad implicados en el desarrollo de la AR (Rosenstein 2004, Marotte 2006, de Pablo 2008, Lundberg 2010). Estas bacterias también se asocian con ACPA y epítipo compartido, y podrían interactuar con el tabaco y los genes de susceptibilidad (van Eden 1988, Mikuls 2010, Wegner 2010, Wegner 2010b, Kharlamova 2016).

Los antígenos de agentes infecciosos podrían compartir determinantes antigénicos con proteínas del huésped y dar lugar a una reacción cruzada contra él (teoría del mimetismo molecular). En estudios experimentales se ha comprobado que ciertos superantígenos, como las proteínas de shock caliente (HSP) de mycobacterium tuberculosis, EBV o echerichia coli, pueden activar múltiples clones de células T, desarrollar una respuesta inmune y producir una sinovitis persistente (van Eden 1988, Burmester 1991, Albani 1995, Albani 1996), pero también podrían inducir una respuesta supresora de la enfermedad (Tukaj 2010).

4.1.2.4 Interacciones entre genes y de genes con factores ambientales

Las complejas interacciones entre factores genéticos y ambientales que intervienen en la patogenia de la AR, especialmente ACPA-positivo, son motivo de continua investigación.

La producción de ACPA se ha encontrado asociada al tabaquismo en pacientes con alelos HLA-DR de riesgo, especialmente SE, (Linn-Rasker 2006, van der Helm-van Mil 2007, Verpoort 2007, Pedersen 2007b, Svard 2015) y a un SNP de PTPN22, especialmente en presencia de tabaquismo y/o HLA-DR(SE) (Källberg 2007, Lee 2007, Mahdi 2009, Morgan 2009, Terao 2016). El gen de la proteína tirosina fosfatasa N22 (PTPN22) ayuda a regular las células T y B. La proteína resultante del SNP puede ser menos eficiente tanto en la eliminación de clones de células T autorreactivas (pérdida de tolerancia) como en la inhibición de la respuesta de células T a neo-antígenos, incrementado la autorreactividad y la autoinmunidad (Begovich 2004).

Los polimorfismos genéticos asociados a la AR identifican a las células T como principales impulsores de las anomalías inmunes encontradas en la AR (Grimbacher 2016), donde el insulto inicial decisivo es la pérdida de la tolerancia inmunológica. La AR parece iniciarse en las mucosas, que son una interfase entre el exterior y el sistema inmune y contienen estructuras organizadas de tejido linfoide (MALT, tejido linfoide asociado a las mucosas), donde los linfocitos maduran y se diferencian en células efectoras y de memoria. Posteriormente, las células T y B autorreactivas se activan y se expanden continuamente, liberando citoquinas y autoanticuerpos (Weyand 2017). Se ha encontrado asociación de la inflamación pulmonar, periodontitis y disbiosis intestinal con la AR ACPA-positivo (Makrygiannakis 2008, Koziel 2014, Block 2016, Catrina 2016) (Scher 2013, Liu 2016), así como niveles elevados de plasmablastos IgA en pacientes ACPA-positivo antes de desarrollar AR (Kinslow 2016). El estrés de las mucosas puede alterar la inmunidad innata y aumentar el proceso fisiológico de modificación postraduccional de las proteínas. Las modificaciones más conocidas en la AR son citrulinación (transformación enzimática de arginina en citrulina) y carbamilación (transformación no enzimática de lisina y cianato en homocitrulina). En el pulmón, el tabaco y otros contaminantes pueden producir inflamación, expresión de PAD y citrulinación de proteínas (Vassallo 2014), carbamilación por cianato (Shi 2014) o alteraciones epigenéticas, especialmente metilación de DNA (Tsaprouni 2014). Estos neo-antígenos se unen con mayor afinidad al HLA-DRB1(SE) que los péptidos originales y son presentados por las CPA a las células T autorreactivas específicas de antígeno, que estimulan la formación de autoanticuerpos por las células B (Catrina 2016), especialmente en presencia del SNP de PTPN22. Se han encontrado ACPA de diferente especificidad contra diferentes péptidos citrulinados (fibrinógeno, vimentina, fibronectina, colágeno, enolasa, histonas y muchos otros) hasta en el 80% de las AR establecidas y CarPA frente a péptidos carbamilados en el 30% de AR ACPA positivo (Shi 2014, Catrina 2016, Firestein 2017) y en el 30% de AR ACPA-negativo (Shi 2014). También se han descrito anticuerpos frente a proteínas acetiladas (Juarez 2016).

4.1.2.5 Autoanticuerpos e inmunocomplejos en AR

El FR, un autoanticuerpo anti IgG conocido desde 1940 (Waalder 1940, Rose 1948), aunque no es específico de la AR, dio lugar a su clasificación en seropositiva y seronegativa. Los avances en el conocimiento de los mecanismos autoinmunes producidos en los últimos 50 años posibilitó la identificación de los ACPA en los años noventa, que han tenido un impacto importante en la comprensión de la patogenia, constituyen un importante

biomarcador y forman parte de los criterios de clasificación de AR desarrollados conjuntamente por EULAR y ACR en 2010 (Aletaha 2010) (**Tabla 1**). Los ACPA tienen una especificidad del 90% para AR, siendo infrecuentes en otras enfermedades y raros en personas sanas (Paimela 1992, Anzilotti 2006, Nishimura 2007, Fattah 2009, Singh 2011, Terao 2014, Tan 2016). Se detectan en el 50% de los pacientes al inicio, en el 80-90% de las AR establecidas, y en el 20% de los familiares de primer grado no afectados. Permiten distinguir dos subtipos de AR, ACPA-positivo y ACPA-negativo, y su aparición incrementa el riesgo de desarrollar AR. De hecho, se ha visto que los autoanticuerpos (ACPA, CarPA y FR) pueden estar presentes varios años antes del comienzo de la artritis (Rantapaa-Dahlqvist 2003, Nielen 2004, van de Stadt 2011, Hensvold 2015).

Durante una primera fase, los ACPA se formarían por la pérdida de tolerancia de linfocitos T autorreactivos a proteínas citrulinadas en las mucosas, con la participación de desencadenantes ambientales y eventos epigenéticos estocásticos. A través del sistema linfático pasarían a la circulación, donde pueden ser detectados (como el FR o los CarPA) muchos años antes de que aparezca la AR, que incluso puede no llegar a desarrollarse nunca (Rantapaa-Dahlqvist 2003, Nielen 2004, van de Stadt 2011, Hensvold 2015). Aparecen primero los ACPA y posteriormente el FR (Aho 1993, Nielen 2004, Shi 2014). En ausencia de síntomas inflamatorios, es imposible predecir qué personas con ACPA (o FR) desarrollarán AR (van Beers 2013). Poco antes del comienzo de la enfermedad aumenta el porcentaje de pacientes con autoanticuerpos y se produce un fenómeno de eclosión y maduración de los ACPA, que aumentan en título y variedad antigénica, y cambian de isotipo y patrón de glicosilación (van der Woude 2010, van de Stadt 2011, Brink 2013, Rombouts 2015), probablemente en respuesta a un segundo estímulo ambiental en el que participan una vez más las moléculas HLA de clase II (Koning 2015). Después del primer año de AR, los títulos de ACPA suelen permanecer estables (van der Woude 2010). Las especificidades de los ACPA (fibrinógeno, vimentina, fibronectina, colágeno, enolasa e histonas, entre otros) varían ampliamente entre los pacientes (Anzilotti 2006) y suelen presentar reactividad cruzada. En general, se asocian con mayor actividad inflamatoria, manifestaciones extraarticulares, daño articular y mortalidad (Kastbom 2004, Kuller 2014), e incluso con erosiones tempranas (Courvoisier 2008, Syversen 2010, Plant 2011, Binder 2013), pero no se ha visto correlación de una especificidad concreta con la actividad o progresión de la enfermedad (Scherer 2011, van Beers 2013). También FR y CarPA se han asociado con la persistencia y gravedad de la AR (Shi 2014, Humphreys 2015), incluso algunos autores defienden que el FR está más relacionado que los ACPA con la liberación de TNF- α , la actividad inflamatoria y la progresión del daño estructural (Sokolove 2014, Aletaha 2015, Tan 2016). Tanto, los ACPA, por efecto directo sobre los osteoclastos (Kleyer 2014), como el FR, a través del TNF- α y del activador del receptor del ligando NF- κ B (RANKL) (Lam 2000, Binder 2013), activan la osteoclastogénesis y la pérdida ósea. Los niveles séricos de FR (Böhler 2013) y, en menor medida, de ACPA (Kastbom 2004) pueden ser modificados por la respuesta terapéutica.

Tabla 1. Criterios de clasificación para artritis reumatoide ACR-EULAR 2010

¿Quiénes deben ser examinados? Pacientes que: Tengan al menos una articulación con clínica de sinovitis Con sinovitis que no puede ser explicada mejor con otro diagnóstico	
A. Afectación articular	(0-5)
1 articulación mediana o grande	0
2 a 10 articulaciones medianas o grandes	1
1 a 3 articulaciones pequeñas	2
4 a 10 articulaciones pequeñas	3
Más de 10 articulaciones (al menos 1 pequeña)	5
B. Serología	(0-3)
Negatividad para Anti CCP y FR	0
Al menos 1 positivo a título bajo	2
Al menos 1 positivo a título alto	3
C. Duración de la SINOVISIS	(0-1)
Menos de 6 semanas	0
Más de 6 semanas	1
D. Reactantes de fase aguda	(0-1)
Normalidad para PCR o VSG	0
Anormalidad para PCR o VSG	1
<i>Para clasificar a un paciente con un diagnóstico de AR debe tener al menos 6 de los 10 puntos posibles.</i>	

Fuente: (Aletaha 2010)

Los autoanticuerpos también son producidos en el tejido sinovial donde activan la inmunidad innata local y el complemento, potencian el reclutamiento de células inflamatorias (Trouw 2009), amplifican la respuesta de macrófagos y mastocitos, estimulando la secreción de TNF- α e IL-8 (Laurent 2011, Anquetil 2015, Sohn 2015, Suurmond 2015), activan a los neutrófilos e inducen la liberación de NET (NETosis), fuente de péptidos citrulinados, y activan la expresión de genes y de citoquinas proinflamatorias por los fibroblastos sinoviales (Carmona-Rivera 2013), especialmente cuando forman inmunocomplejos. Esta sucesión de estímulos antigénicos ocasionados por el daño articular parece contribuir a la perpetuación de la inflamación en la AR (Smolen 2009, Nathan 2010).

4.1.2.6 De la autoinmunidad a la enfermedad

Existen evidencias de que los ACPA son patógenos. Los pacientes con AR ACPA-positivo suelen experimentar artralgiyas y aumento de bajas laborales, antes de presentar artritis (Catrina 2016). La combinación de dolor y ACPA positivo, tiene un alto valor predictivo para el desarrollo de AR (van Steenbergem 2013, Nam 2016). La AR ACPA-positivo se asocia a pérdida ósea, incluso antes del desarrollo de la enfermedad (van Schaardenburg 2011, Kleyer 2014), lo que sugiere un efecto directo de los ACPA sobre el hueso. Estudios realizados en animales y humanos han confirmado que algunos ACPA, como la vimentina, se unen a péptidos citrulinados de los osteoclastos y estimulan la liberación de IL-8 (Kopesky 2014, Krishnamurthy 2016, Wigerblad 2016). La IL-8, de forma autocrina, induce osteoclastogénesis (Ossipova 2014, Krishnamurthy 2016) y estimula los nociceptores de las terminaciones de neuronas sensoriales de la articulación (Zhang 2013, Wigerblad 2016), que permiten explicar respectivamente la pérdida ósea con erosiones sutiles y las artralgiyas en ausencia de inflamación de individuos ACPA-positivo antes del comienzo de AR, pero no el desarrollo de artritis (Catrina 2016). Se ha postulado que la difusión de moléculas solubles hasta la articulación podría iniciar el proceso inflamatorio (Haavardsholm 2008).

En la etapa clínica, el proceso de enfermedad migra de los órganos linfoides secundarios a los tejidos periféricos, en particular a la sinovial, donde las células T, B y plasmáticas, junto con las CPA especializadas, crean estructuras linfoides organizadas e interactúan con células residentes sinoviales (FS), endoteliales, macrófagos, neuronales, condrales y óseas (Takemura 2001, Choy 2012). Una vez iniciada, la inflamación sinovial aumenta la actividad PAD y la citrulinación en fibroblastos y macrófagos sinoviales, lo que incrementa la producción de ACPA y su unión a péptidos citrulinados de estas células amplificando la inflamación (Makrygiannakis 2006, Sokolove 2011). Los ACPA también contribuyen a la perpetuación de la inflamación por otros mecanismos, como activación del complemento (Trouw 2009, Sokolove 2011), NETosis (Khandpur 2013), activación de macrófagos, mastocitos y plaquetas (Sokolove 2011, Habets 2015, Suurmond 2015), apoptosis de osteoblastos (Barbarroja 2014, Lu 2016) y estimulación de la expresión de mediadores protrombóticos, proinflamatorios y pro-oxidativos en monocitos y linfocitos (Barbarroja 2014). Además, en la perpetuación de la inflamación y la destrucción articular participan la producción de citoquinas inflamatorias (IL-6 y TNF- α), la transformación de FS en células semiautónomas, con la contribución de células T y B específicas de péptidos citrulinados (Patel 2014, Chemin 2016, McInnes 2016) y la proliferación de células inmunes y células residentes de la sinovial, que forman el pannus.

La membrana sinovial normal, relativamente acelular, está formada por una capa de revestimiento de 2-3 filas de espesor de células que contiene macrófagos dispersos rodeados por FS y escasos vasos sanguíneos. Las biopsias sinoviales en pacientes con artralgiyas ACPA/FR positivos (AR pre-clínica) son esencialmente normales (de Hair 2014). Cuando comienza la inflamación articular, la capa de revestimiento se va hipertrofiando (más de 10 líneas de espesor) por la entrada de células características de la respuesta inmune innata (macrófagos, células dendríticas, mastocitos, células asesinas naturales

(NK), células linfoides innatas) y adaptativa (como linfocitos B, linfocitos T y células plasmáticas), pero muy escasos neutrófilos (McInnes 2011). Las células de la sinovial reumatoide producen factor de transcripción HIF-1 y factores angiogénicos (HBGF, MAF, VEGF, PG E1 y E2, IL8, ENA-78, angiopoyetina 1 y heparinasa) para formar nuevos vasos sanguíneos que aseguren la migración celular y el mantenimiento de la sinovial hipertrófica (Szekanecz 2010). Las moléculas de adhesión producidas por las células endoteliales en respuesta a citoquinas generadas en la sinovial promueven la entrada de leucocitos (células T y B autorreactivas) a la articulación. Inicialmente las células T representan más del 50% del infiltrado sinovial, con una preponderancia de Th1 y Th17 y deficiencia de Th2 y de células T reguladoras funcionalmente alteradas (Firestein 2017), mientras que las células B sólo representan el 5%. La respuesta linfocitaria está dirigida por una variedad de antígenos (colágeno tipo II, gp 39 del cartílago, Ig G, PTMs y GPI, entre otros) presentados por las CPA, con la necesaria coestimulación (CD28/CD80, CD86, LFA1) (Liu 1992) y reconocidos por las células T, que pueden dar lugar a la producción de anticuerpos por las células B o a la activación de subtipos de células T helper (He 2000, Baeten 2004, De Rycke 2004, Nissim 2005, Kinloch 2008). Los ACPA generados, incluso si son monoclonales, tendrán reactividad cruzada contra otros péptidos citrulinados (Amara 2013, Corsiero 2013, Scally 2013, Catrina 2016, Croft 2016).

Los FS participan en el inicio y perpetuación de la AR, adoptando un fenotipo autónomo agresivo e invasivo que contribuye al daño articular. Pueden ser clasificados en diferentes fenotipos según su perfil de citoquinas (Croft 2016). Por el contrario, los neutrófilos están confinados en el líquido sinovial (hasta el 90% de las células), donde migraron y fueron retenidos por acción de C5a (el principal factor quimiotáctico de neutrófilos) y C4a (inhibidor de quimiotaxis para monocitos), y contribuyen al proceso inflamatorio, generando trampas extracelulares (NETs) y presentando antígenos (CPA).

El pannus sinovial tiene propiedades destructivas e invasivas (Karmakar 2010), que originan las lesiones erosivas características de la AR en la unión de la membrana sinovial al cartílago. El cartílago es inicialmente dañado por metaloproteasas secretadas por FS, PMN y condrocitos, especialmente elastasa (MMP-12) y estromelisin (MMP-3) (Constantin 2002, Liu 2004) y después invadido por FS del pannus en el sitio de unión de la cápsula articular. El hueso subcondral es dañado por las MMP y por osteoclastos activados por citoquinas (TNF- α , IL-8, IL-18, RANKL y catepsinas) secretadas por células inmunes de la sinovial (Hofbauer 2004, Dai 2007). Contrariamente a lo que ocurre en otras enfermedades articulares inflamatorias, en la AR activa no se aprecian signos de reparación ósea en respuesta a la inflamación (Firestein 2003, Walsh 2005), ya que aumentan los niveles de DKK-1 que inhibe la vía Wnt y la actividad osteoblástica (Diarra 2007, Goldring 2007). En ausencia de tratamiento eficaz, la inflamación persistente de la AR produce un daño articular y óseo progresivo (Weyand 2017).

Durante toda la evolución de la AR, están migrando células T y B desde los tejidos linfoides secundarios a los tejidos periféricos, donde interactúan con células residentes para ocasionar el daño tisular asociado a las manifestaciones articulares y extraarticulares. De esta forma, el proceso patológico de la AR se extiende a lo largo de

décadas con la implicación de múltiples microambientes tisulares diferentes.

4.1.3 Manifestaciones clínicas de la artritis reumatoide

La AR es una enfermedad sistémica inflamatoria crónica que afecta principalmente a las articulaciones sinoviales. En general, la artritis progresa de las articulaciones periféricas a las proximales, de forma simétrica. Sin tratamiento, produce destrucción articular e incapacidad musculoesquelética significativa en un periodo de 10-20 años (Pincus 1984).

4.1.3.1 AR de reciente comienzo

El comienzo de la artritis suele ser poliarticular e insidioso (forma típica), pero en ocasiones es agudo, intermitente, migratorio o monoarticular. Tiende a acompañarse de limitación funcional y síntomas sistémicos, como mialgias, cansancio, febrícula, pérdida de peso y depresión, pero las manifestaciones extraarticulares inicialmente son menos frecuentes.

En su forma típica comienza de forma insidiosa, simétrica y aditiva, sobre todo en las pequeñas articulaciones de manos (MCF e IFP) y pies (MTF) y las muñecas, aunque puede afectar a cualquier articulación de las extremidades (Fleming 1976, Lee 2001). Se acompaña de dolor articular generalizado y de rigidez prolongada tras el reposo (>1 hora) que refleja la gravedad de la inflamación articular (Lineker 1999). En los pacientes más mayores puede ser indistinguible de una polimialgia reumática (PMR) e, incluso, no desarrollar sinovitis hasta meses después. En algunos casos, se produce artritis de corta duración que resuelve completamente y se repiten con periodicidad variable (reumatismo palindrómico). Los pacientes (28-67%) que desarrollan AR suelen presentar factores de riesgo genéticos de susceptibilidad a AR, ACPA positivo y buena respuesta a hidroxicloroquina (Maksymowych 2002, Koskinen 2009, Katz 2012). En otras ocasiones, pueden presentar monoartritis (muñeca, rodilla, hombro, cadera o tobillo) durante semanas o meses, antes de extenderse a otras localizaciones.

Las articulaciones afectadas suelen ser periféricas, con tendencia a la simetría, y aparecen dolorosas a la palpación y a la movilización articular, hinchadas, con aumento leve de la temperatura. El calor y el enrojecimiento no son signos característicos de AR. El dolor a la compresión (Squeeze test) y la tumefacción palpable en MCF y MTF, así como la reducción de la fuerza de prensión de las manos, son muy característicos de AR (Wiesinger 2013, van den Bosch 2015). Las manos suelen ser la carta de presentación de la AR (Gordon 1985). Puede acompañarse de eritema o tenosinovitis palmar, dedo en resorte, edema del dorso de la mano (guante de boxeo) y síndrome del túnel del carpo (5%). Los pies suelen ser un reflejo de las manos. En ocasiones, se produce derrame sinovial en la rodilla puede dar lugar a un quiste palpable (Baker).

Inicialmente no suele encontrarse afectación proximal (hombros y caderas), axial (articulaciones interfacetarias, atloaxoidea, acromioclavicular, esternoclavicular, temporomandibular y cricoaritenoidea) ni extraarticular.

Los pacientes con AR presentan datos analíticos correspondientes a un proceso

inflamatorio sistémico, como anemia de trastornos crónicos, trombocitosis, leucocitosis leve y elevación de reactantes de fase aguda (VSG y PCR) y a un proceso autoinmune, como los autoanticuerpos, FR y/o ACPA (AR seropositiva) en el 80% de los casos y ANA en el 25% de los casos. Los autoanticuerpos FR y ACPA tienen implicaciones diagnósticas y pronósticas. El síndrome de Felty, con neutropenia y esplenomegalia, es muy infrecuente.

El líquido sinovial de las articulaciones afectadas suele ser de características inflamatorias, con un recuento elevado de leucocitos (hasta 25.000/mm³) y predominio de PMN. Los recuentos más elevados obligan a descartar infección coexistente (Krey 1979, Dougados 1996).

La RM y la ecografía son más sensibles para detectar inflamación y para predecir la formación de erosiones (McQueen 2003, Terslev 2003), pero en práctica clínica se utiliza la radiología simple de las manos y los pies para la valoración de los pacientes. Los cambios más precoces son el aumento de partes blandas y la osteopenia periarticular, pero alrededor del 30% de los pacientes presentan erosiones articulares durante el primer año (Koh 2015) y hasta el 90% de los no respondedores durante el 2º año (Fuchs 1989, van der Heijde 1992), más frecuentes en estiloides, MCF e IFP de las manos y MTF de los pies del miembro dominante.

4.1.3.2 Evolución clínica

La expresión clínica de la AR es diferente en cada paciente (Masi 1983). La actividad clínica suele ser fluctuante, influenciada por causas endógenas y modulada por el tratamiento. La remisión clínica mantenida sin tratamiento es muy rara (Pinals 1982, Gossec 2004). El daño estructural es acumulativo e irreversible y se asocia a la actividad inflamatoria y a los mecanismos de lesión y reparación ósea (Wolfe 1998), pero se ha comprobado progresión del daño en pacientes considerados en remisión clínica con FAMEs (Molenaar 2004), por lo que ACR y EULAR, para evitar la variabilidad, acordaron una definición de remisión, categórica o basada en un índice de actividad (SDAI), para ser utilizada en ensayos clínicos (Felson 2011) (**Tabla 2**), que ha demostrado ser de utilidad en la práctica clínica (Shahouri 2011).

Tabla 2. Nuevos criterios ACR / EULAR de remisión clínica de artritis reumatoide

Definición categórica
El paciente tiene que cumplir todos los criterios siguientes en cualquier momento. <ul style="list-style-type: none">• Articulaciones dolorosas ≤ 1*• Articulaciones inflamadas ≤ 1*• PCR ≤ 1 mg/dl• Valoración de actividad por el paciente ≤ 1 (en escala de 0-10)[†]
Definición basada en un índice
SDAI $\leq 3,3$ [‡]
* Para el recuento de articulaciones dolorosas e inflamadas, el uso del recuento de 28 articulaciones puede omitir articulaciones activamente implicadas como pies y tobillos, que deben ser tenidas en cuenta. [†] Se sugiere utilizar la EVA de valoración global de la enfermedad por el paciente. [‡] Definido como la suma simple del número de articulaciones dolorosas y de articulaciones inflamadas (usando el recuento de 28), la valoración global del paciente y del médico (escala de 0 a 10) y el valor de PCR (mg/dl).

Fuente: (Felson 2011)

4.1.3.2.1 Afectación articular

Con la progresión de la enfermedad se produce en casi todos los pacientes la afectación simétrica de las articulaciones periféricas, con daño estructural acumulado. En las manos, se producen deformidades características (ráfaga cubital, dedos en cuello de cisne, en Boutonnière o con el signo del arco) por afectación de tendones, que pueden llegar a romperse (pulgar, anular y meñique). En la muñeca se produce pérdida de la extensión con subluxación volar y desviación radial del carpo que deja una estiloides muy prominente (Hastings 1975). Se puede encontrar una limitación de la extensión del codo, pero la afectación destructiva de codo, hombros y manguito de los rotadores suele ser tardía.

En los pies, como en las manos, se pueden producir subluxaciones y deformidades de los dedos, limitación dolorosa de los movimientos del tarso, roturas tendinosas y neuropatía por atrapamiento (tibial). En la rodilla, se puede formar un quiste sinovial poplíteo (de Baker), detectable por palpación (Gerber 1974), cuya rotura puede confundirse con una TVP o tromboflebitis aguda (Kraag 1976). Las deformidades de rodilla y la afectación de cadera pueden aparecer en AR establecida.

La participación de las articulaciones axiales y centrales es menos común (20 al 50% de los pacientes) y por lo general más tardía. Las más conocidas son la subluxación atlo-axoidea y la afectación cricoaritenoidea.

4.1.3.2.2 Afectación extraarticular

Alrededor del 40% de los pacientes con AR presentarán, además de anemia y cansancio, manifestaciones extra-articulares en el curso de la enfermedad (Turesson 2003, Myasoedova 2011). Aparecen con mayor frecuencia en pacientes más mayores, fumadores y con autoanticuerpos (FR, ACPAs, ANAs), conllevan un aumento de la

gravedad de la enfermedad, de la morbilidad global, y de muerte prematura (Turesson 2002, Gabriel 2003, Turesson 2007) y pueden acompañarse de fiebre, pérdida de peso y fatigabilidad. Los trastornos depresivos están presentes entre 17 y 39% de los pacientes con AR (Matcham 2013, Rathbun 2013, Sturgeon 2016).

En la AR se produce con frecuencia pérdida ósea sistémica, periarticular y focal. Los pacientes con AR tienen un incremento del riesgo de osteoporosis por DMO (22%), debido a inmovilidad, inflamación sistémica y glucocorticoides (McDougall 1994, Haugeberg 2002, Deal 2012), de fractura mayor (30%) y de cadera (40%) por FRAX (Kanis 2008) y de fracturas vertebrales y de huesos largos (Ørstavik 2004, Roldán 2006), por lo que deben ser examinados y tratados con antirresortivos precozmente. La osteoporosis yuxta-articular se debe a la inhibición de la formación ósea por las citoquinas y la focal se debe a invasión del pannus y predice el desarrollo de erosiones (Jimenez-Boj 2007, Bejarano 2012, Black 2013). La debilidad muscular, frecuente en la AR, suele deberse a atrofia muscular por desuso, pero se deben tener en cuenta causas menos frecuentes, como miositis (con CPK, ENG y biopsia compatible), vasculitis y miopatía inducida por fármacos (glucocorticoides, antimaláricos y estatinas) en caso de debilidad muscular objetivable. En pacientes mayores con AR evolucionada y mal controlada, la sarcopenia (aumento de la masa grasa y disminución de la masa magra), contribuye a reducir la capacidad funcional y aumentar el riesgo cardiovascular (Giles 2008, Giles 2010, Ormseth 2013).

Las manifestaciones cutáneas en la AR son frecuentes y variadas, incluyendo nódulos subcutáneos, úlceras cutáneas, dermatosis neutrofilica, lesiones urticariformes, cambios dérmicos por corticoides, atrofia cutánea sobre las articulaciones y fenómeno de Raynaud (Sayah 2005). Las úlceras cutáneas en piernas, de origen multifactorial, tienen una evolución tórpida y se asocian a muerte prematura (Jebakumar 2014).

Los nódulos reumatoides, presentes hasta en un tercio de los pacientes, se asocian a FR, ACPA, alcohol y tabaco (Nyhäll-Wåhlin 2006, Kim 2008). Son la manifestación cutánea más frecuente (Sayah 2005, Highton 2007), aparecen predominantemente en las zonas de presión o roce, a veces son dolorosos y pueden ulcerarse. También pueden ser viscerales (hueso, pulmón, hígado, corazón), pueden surgir en múltiples zonas (nodulosis reumatoide) (Ginsberg 1975) y empeorar con MTX (nodulosis acelerada). Los pacientes de AR con nódulos son más propensos a desarrollar vasculitis, lesión articular más destructiva (Nyhäll-Wåhlin 2011), afectación extra-articular, mayor riesgo cardiovascular y muerte prematura (Kaushik 2015, England 2016).

La manifestación ocular más frecuente es la sequedad en el Síndrome de Sjögren (SS), insidiosa durante años, que puede llegar a producir úlceras en conjuntiva y córnea (Pertovaara 1999). Otras manifestaciones, como epiescleritis (enrojecimiento y dolor sin afectación de la visión), escleritis (inflamación dolorosa y destructiva en la esclera, córnea y úvea que conduce a la ceguera) y uveítis, son menos frecuentes (McGavin 1976). El SS es un trastorno inflamatorio crónico caracterizado por hipofunción de las glándulas exocrinas y otras manifestaciones extra-glandulares (Asmussen 1996, Ramos-Casals 2005), que puede aparecer de forma aislada (primario, SSP) o asociado a una enfermedad

reumática (secundario, SSS), siendo la artritis reumatoide la más frecuente. Las manifestaciones exocrinas principales son xeroftalmia, xerostomía, xerosis, dispareumnia y tos seca. Las extra-glandulares (25%) pueden ser muy diversas e interesar los sistemas cutáneo, musculoesquelético (Lindvall 2002, Kittridge 2011, Amezcua-Guerra 2013), pulmonar (Matsuyama 2003, Kreider 2014), cardíaco (Bartoloni 2015, Gravani 2015), digestivo (Skopouli 1994, Kaplan 2002, Ebert 2012), genitourinario (Lehrer 1994, Lee 2006) o neurológico (Delalande 2004, Mori 2005).

La afectación pulmonar es frecuente y constituye la segunda causa de muerte en la AR. Puede ser poco sintomática (Young A 2007) o dar manifestaciones tempranas (Marigliano 2013, O'Dwyer 2013). La más frecuente y grave es la enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPID), con una prevalencia entre el 10 y el 50% en función de la población estudiada y las técnicas de estudio empleadas (Suzuki 1994, Gabbay 1997, Dawson 2001, Suda 2015), y con una supervivencia mediana de 3 años (Bongartz 2010, Suda 2015). Se asocia a gravedad y seropositividad (FR y ACPA) de la AR, edad, sexo masculino y tabaquismo (Shidara K 2010, Kelly 2014). El TAC de alta resolución predice el patrón de EPID con una especificidad del 96-100%, siendo los más frecuentes neumonitis intersticial usual (NIU), neumonitis intersticial no específica (NINE) y neumonía organizativa (BONO) (Tanaka 2004, Lee 2005, Assayag 2014). Otras manifestaciones menos frecuentes son pleuritis, obstrucciones de vía aérea, hiperreactividad bronquial, bronquiolitis, bronquiectasias, nódulos reumatoideos, embolias y toxicidad por fármacos (King 2011, Kim 2013).

Los pacientes con AR tienen mayor prevalencia de factores clásicos de riesgo cardiovascular (CV) y presentan enfermedad arterial coronaria, insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular con mayor frecuencia que la población general, pero la afectación cardíaca reumatoide (miocarditis, pericarditis) es poco frecuente y se asocia a AR activa, seropositiva y extraarticular (Gabriel 2010, Lindhardsen 2012). La actividad inflamatoria es un factor de riesgo independiente para enfermedad coronaria (Turesson 2007) y para insuficiencia cardíaca. La enfermedad vascular no cardíaca puede tomar formas muy diversas, como vasculitis reumatoide (cutánea, visceral, neurológicas), arteriopatía aterosclerótica periférica, tromboembolismo venoso o accidente cerebrovasculares (del Rincón 2005, Liang 2006, Bacani 2012, Holmqvist 2012). En conjunto, las enfermedades CV constituyen la primera causa de mortalidad de los pacientes con AR.

El riñón puede afectarse por efectos directos de la enfermedad (glomerulonefritis, vasculitis o amiloidosis) (Helin 1995) o por toxicidad medicamentosa (Karie 2008). Las manifestaciones más frecuentes son proteinuria y disminución del filtrado glomerular.

La afectación neurológica central o periférica de la AR ocurre generalmente por compresión o infiltración de la médula o de los nervios por sinovitis y pannus, nódulos o vasculitis reumatoide. La afectación del SNC es variada, pero infrecuente, destacando la mielopatía cervical por inestabilidad (C1-C2) y los accidentes cerebrovasculares (Nakano 1975, Mayer 1976, Scott 1981, Sigal 1987, Bathon 1989, Starosta 2007, Aviña-Zubieta 2008, Narváez 2008, Molloy 2009, Takahashi 2014). Las neuropatías periféricas pueden ser compresivas (50% de los pacientes con AR) o no compresivas. La compresión del

mediano en el túnel del carpo es la manifestación neurológica más frecuente, pero pueden afectarse muchos otros nervios (Nakano 1975b, McGuigan 1983, White 1988). Otras causas de manifestaciones neurológicas son vascular, incluidas las vasculitis, muscular, del sistema nervioso autónomo y farmacológicas (Haslock 1970, Askari 1976, Lanzillo 1998, Bekkelund 1999, Kaltsonoudis 2014).

4.1.3.3 [Resultados a largo plazo](#)

Hasta mediados de los ochenta se consideraba que la AR era una enfermedad de buen pronóstico para la mayoría de los pacientes (Kelley 1985), pero el seguimiento a largo plazo de estos mismos pacientes reveló que la mayoría sufrían una enfermedad progresiva a pesar de la respuesta inicial a los tratamientos (Nissilä 1983, Pincus 1984, Emery 1991). La mayoría de los pacientes tenían "dificultades en la mayoría de las actividades de la vida diaria" (HAQ > 1) y daño articular radiológico a los 5 años de evolución (Sokka 2000), entraban en incapacidad laboral permanente hasta el 30% a los 3 años (Sokka 2003, Chung 2006) y más del 50% a los 10 años (Yelin 1980, Mäkisara 1982), la cuarta parte acababa teniendo al menos una prótesis de rodilla o cadera (Wolfe 1998b) y, en general, tenían una mortalidad elevada (Pincus 1984, Pincus 1989, Wolfe 1994) asociada fundamentalmente con la edad, el sexo masculino, la clase funcional y las comorbilidades (Young 2007b, Sokka 2008, Myasoedova 2010b, England 2016). La generalización del empleo temprano de los *FAME* disponibles consiguió mejorar el control de la actividad inflamatoria, pero no evitó la progresión del daño radiográfico, la pérdida de función, la incapacidad laboral, la necesidad de cirugía articular y la mortalidad prematura (Yelin 1980, Pincus 1984, Scott 1984, Fuchs 1988, Sokka 1999, Jantti 2002, Palm 2002, Pincus 2004). El reconocimiento de los graves resultados a largo plazo dio lugar al establecimiento de estrategias terapéuticas más agresivas (Pincus 1989, Wilske 1989, Pincus 1990), con un control más estricto durante el seguimiento (Combe 2007, Sokka 2008) y a la generalización del uso de MTX tras las escasas y exitosas experiencias comunicadas (Hoffmeister 1983, Weinblatt 1985). El empleo de MTX, un compuesto más eficaz y menos tóxico que los anteriores *FAME*, ha permitido realizar un tratamiento continuado y obtener mejores resultados a largo plazo (Pincus 2005, Uhlig 2008), manteniéndose la capacidad funcional (HAQ < 0,5) a los 10 años en la mayoría de los pacientes (Sokka 2000) y disminuyendo el daño estructural articular en 5 veces (antes del uso de agentes biológicos) (Luukkainen 1977, Larsen 1987, Fuchs 1989, Kaarela 1997, Graudal 1998, Pincus 2002, Yelin 2005), la tasa de prótesis (a pesar de aumentar en la población general) (Puolakka 2001, Dixon 2004, Chung 2006, Weiss 2006, Fevang 2007), la incapacidad laboral (Puolakka 2004, Puolakka 2005, Chung 2006) y la mortalidad (Krause 2000, Choi 2002, England 2016).

4.1.4 El tratamiento de la AR

Hemos visto que la AR se caracteriza por inflamación sinovial persistente con implicación de la inmunidad innata y adaptativa, que da lugar a un proceso proliferativo y destructivo en las articulaciones (Klareskog 2009, McInnes 2010, Scott 2010) y puede originar lesión articular significativa e irreversible tan pronto como en los dos primeros años de la enfermedad. La complejidad de su etiopatogenia y de su expresión clínica condicionan la dificultad para diseñar un tratamiento curativo para la AR, dicho lo cual es crítico controlar, rápida y eficazmente con todas las armas disponibles en el arsenal terapéutico, el proceso inflamatorio, lo que evitará la progresión de la destrucción articular y mejorará los resultados de la enfermedad (Lard 2002, Grigor 2004, Pincus 2005, Sokka 2009, Schoels 2010).

4.1.4.1 Principios generales

Los avances recientes en la comprensión de la enfermedad han permitido establecer un tratamiento por objetivos y las estrategias necesarias para conseguirlos. En la actualidad el principal objetivo terapéutico es alcanzar la remisión o disminuir la actividad de la enfermedad cuando la remisión no sea posible (Smolen 2010) (**Tabla 3**). Las estrategias más eficaces incluyen el reconocimiento y diagnóstico precoz, los cuidados por un médico experto, la introducción temprana de un *FAME* complementado con terapia antiinflamatoria (AINE y/o glucocorticoides) y un control estricto del seguimiento (Knevel 2010, Schoels 2010, Smolen 2010, Singh 2012, Smolen 2014, Singh 2016). La mejoría de los resultados conseguidos en los últimos años se deben más al empleo de estas estrategias que al uso de los nuevos fármacos, caracterizados por un mecanismo de acción dirigido (Sokka 2009).

En 2010, EULAR y ACR desarrollaron conjuntamente unos nuevos criterios de clasificación de AR (Aletaha 2010) para facilitar el diagnóstico precoz y la detección de pacientes con criterios de mal pronóstico (**Tabla 1**). La atención temprana y continuada de estos pacientes por un reumatólogo experto produce mejores resultados, tanto en la enfermedad precoz como en la establecida (Ward 1993, Lacaille 2005, Smolen 2010, van der Linden 2010, Smolen 2016). Junto al tratamiento farmacológico, se deben instaurar medidas específicas para minimizar los efectos adversos de la enfermedad y su tratamiento, como educación del paciente y asesoramiento sobre descanso, nutrición y hábitos de vida saludables, apoyo psicosocial, ejercicio físico, control de los factores de riesgo cardiovascular y de osteoporosis, e inmunizaciones.

Tabla 3. Tratamiento por objetivo de la artritis reumatoide

Principios globales
A. El tratamiento de la artritis reumatoide debe estar basado en la decisión conjunta del paciente y del reumatólogo
B. El objetivo principal del tratamiento es maximizar la calidad de vida relacionada con la salud a largo plazo mediante el control de los síntomas. La prevención del daño estructural, la normalización de la función y la participación en actividades sociales y laborales
C. La abolición de la inflamación es la principal manera de alcanzar estos objetivos
D. El tratamiento por objetivos, midiendo la actividad de la enfermedad y ajustando consecuentemente la terapia, optimiza los resultados en la artritis reumatoide
Recomendaciones
1. El objetivo principal del tratamiento debería ser un estado de remisión clínica
2. La remisión clínica se define como la ausencia de signos y síntomas de actividad inflamatoria significativa de la enfermedad
3. Mientras que la remisión debería ser un objetivo claro, la baja actividad podría ser un objetivo terapéutico alternativo aceptable, especialmente en casos de enfermedad de larga duración
4. El uso de medidas compuestas de actividad validadas, que incluyan evaluaciones de articulaciones, son necesarias en la práctica clínica rutinaria para guiar las decisiones de tratamiento
5. La elección de la medida (compuesta) de actividad de la enfermedad y el nivel del objetivo deberían estar influenciados por las comorbilidades, factores del paciente y riesgos derivados de los fármacos
6. Se deben obtener y documentar regularmente medidas de actividad de la enfermedad, con una frecuencia de hasta una vez al mes en pacientes con actividad alta/moderada, o menos frecuentemente (por ejemplo, una vez cada 6 meses) en pacientes que presentan baja actividad o remisión sostenidas.
7. Los cambios estructurales, la discapacidad física y las comorbilidades deberían ser considerados al tomar decisiones clínicas, además de evaluar medidas compuestas de actividad de la enfermedad
8. Hasta que se alcance el objetivo terapéutico deseado, la terapia debe ser ajustada al menos cada 3 meses
9. El objetivo terapéutico deseado debería ser mantenido durante el resto del transcurso de la enfermedad
10. El reumatólogo debería involucrar al paciente en marcar tanto el objetivo terapéutico como la estrategia para cumplir dicho objetivo

Fuente: (Smolen 2010)

4.1.4.2 Tratamiento farmacológico

Antes de iniciar el tratamiento, se debe realizar una analítica general con RFA, función hepática y renal, serología a virus de la hepatitis, VHB y VHC, radiografía de tórax y Mantoux (Saag 2008).

La elección del *FAME* inicial se basa en factores relacionados con la enfermedad (etapa, actividad, factores pronósticos y terapia previa) y con el paciente (comorbilidades, preferencias), pero todos deben recibir un *FAME* desde el principio, habitualmente acompañado de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o glucocorticoides (GC).

4.1.4.2.1 Fármacos modificadores de la enfermedad (FAME)

Los *FAME* incluyen diferentes tipos de fármacos que comparten el potencial de prevenir o reducir el daño estructural y preservar la integridad y la función de las articulaciones. Hasta hace apenas dos décadas, sólo disponíamos de un tipo de *FAME*, los fármacos modificadores de la enfermedad sintéticos clásicos (*FAMEsc*). Con la aparición de medicamentos biológicos y sintéticos dirigidos a dianas específicas, capaces de modificar la evolución de la enfermedad, se ha hecho necesario cambiar la nomenclatura.

4.1.4.2.1.1 *FAME* sintético clásico o convencional (*FAMEsc*)

Son los primeros *FAME* y los más usados en la AR, con la finalidad de inducir o mantener la remisión, evitar brotes o recaídas y reducir la necesidad de GC. Existe una gran variedad de *FAMEsc*, con diferentes mecanismos de acción, no siempre conocidos, sobre distintas vías de la cascada inflamatoria (**Tabla 4**). Algunos, como sales de oro, d-penicilamina, azatioprina o ciclosporina, han caído en desuso en favor de otros más eficaces y menos tóxicos. Los más utilizados en la actualidad son:

- **Metotrexato (MTX)**, piedra angular del tratamiento de la AR, es eficaz en monoterapia y potencia el efecto de la mayoría de las demás terapias disponibles.
- **Leflunomida (LF)** es eficaz en monoterapia y en combinación con otros *FAME*, incluidos MTX, biológicos y pequeñas moléculas, por lo que se utiliza con mucha frecuencia en caso de intolerancia, contraindicación o respuesta inadecuada a MTX. La diarrea, que habitualmente produce, puede limitar su uso. Como el MTX, el uso de LF está contraindicado en el embarazo.
- **Sulfasalacina (SSZ)** se emplea a menudo en combinación con HCQ y MTX, formando la llamada "triple terapia", que alcanza tasas de respuesta comparables a las alcanzadas con agentes biológicos. En España no es muy utilizada por la mala tolerancia de la presentación farmacéutica disponible.
- **Hidroxicloroquina (HCQ)**, segura y bien tolerada, es poco eficaz en monoterapia, por lo que uso queda restringido a pacientes con AR de muy escasa actividad. Se utiliza algo más en terapia combinada, ya que puede potenciar la eficacia de otros *FAMEsc*.

SSZ e HCQ son seguros en el embarazo.

Tabla 4. Mecanismos de acción de FAMEsc

FAMEsc	Mecanismos de acción reconocidos
Metotrexato	Estimula la liberación de adenosina por FS y células endoteliales
	Reduce la adhesión de neutrófilos
	Efecto antiproliferativo sobre FS y células endoteliales
	Inhibe la síntesis de leucotrieno B4 por neutrófilos
	Inhibe la producción local de IL-1
	Reduce los niveles séricos de IL-6 e IL-8
	Suprime la inmunidad mediada por células
	Inhibe la expresión del gen de colagenasa sinovial
Leflunomida	Inhibe la síntesis pirimidina y de ARN
Sulfasalacina	Inhibe la migración de PMN
	Reduce las respuestas de linfocitos
	Inhibe la angiogénesis
Hidroxicloroquina	Interfiere con el procesamiento normal de antígenos
	Inhibe las enzimas lisosomales
	Inhibe la liberación de IL-1
	Inhibe las respuestas de PMN y de linfocitos

4.1.4.2.1.2 FAME biológico (FAMEb)

Los FAMEb son terapias biológicas producidas por tecnología de ADN recombinante y dirigidas generalmente contra citoquinas o sus receptores o contra otras moléculas de la superficie celular. Por su nomenclatura podemos saber si se trata de anticuerpos monoclonales (-mab) y si estos son humanos (-mumab), humanizados (-zumab) o quiméricos (-ximab), o se trata de proteínas de fusión (-cept). Los anticuerpos se asocian con mayor riesgo de formación de anticuerpos neutralizantes antifármaco (más cuanto más extraños al organismo) que las proteínas de fusión.

Pueden ser clasificados según diana terapéutica contra la que van dirigidos como:

- **FAMEb anticitoquina**, dirigido contra una citoquina o su receptor. Producen
 - **Inhibición del TNF- α** . Disponemos de 5 inhibidores del TNF para el tratamiento

de la AR, con una eficacia similar entre ellos, que aumenta significativamente cuando se combinan con MTX.

Etanercept es una proteína de fusión que consta de dos subunidades del receptor soluble p75 del TNF unidos a la porción Fc de la IgG, que se administra semanalmente por vía SC.

Infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico (dominios variables murinos) dirigidos contra el TNF- α , que se administra vía IV cada 8 semanas después de la inducción.

Adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano de administración bisemanal por vía SC.

Golimumab, anticuerpo monoclonal humano IgG1 κ específico para TNF humano, se administra mensualmente por vía SC.

Certolizumab pegol es un fragmento Fab' de un anticuerpo humano ligado químicamente a polietilenglicol, neutraliza al TNF soluble y transmembrana y se administra por vía SC cada dos semanas.

- **Inhibición de IL-1.** **Anakinra**, antagonista del receptor de IL-1 humano recombinante (rHuIL-1Ra), es el único inhibidor de IL-1 disponible para el tratamiento de la AR, pero apenas se utiliza porque es significativamente menos eficaz que los inhibidores del TNF
- **Inhibición de IL-6.** **Tocilizumab** es un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado que se une a las formas solubles y transmembrana del receptor de IL-6 e impide que se una la citoquina e interaccione con gp-130 para producir sus efectos biológicos. Se puede administrar por vía SC cada semana o por vía IV cada mes.
- **FAMEb dirigido a células.** Pueden producir:
 - **Inhibición de la co-estimulación de células T.**

Abatacept es una proteína de fusión que comprende CTLA-4 y la porción Fc de IgG1 (CTLA4-Ig), que impide la unión de CD28 de la célula T se una a CD80/CD86 de la CPA inhibiendo la segunda señal requerida para la activación de la célula T y evitando la supresión de la actividad Treg y el aumento de la actividad T efectora. Se puede administrar semanalmente por vía SC o mensualmente por vía IV.
 - **Depleción de células B.**

Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico IgG1 anti CD20, que elimina las células B CD20-positivas, induce la citotoxicidad mediada por el complemento y estimula la apoptosis. Se administra por vía IV dos veces en dos semanas cada 6 meses en pacientes con AR refractaria a otros biológicos.

En conjunto, los **FAMEb** han supuesto un gran avance en el tratamiento de los pacientes con AR refractaria a **FAMEsc**, permitiendo un control óptimo de la enfermedad en una

proporción importante de estos pacientes. Generalmente se utilizan en combinación con MTX u otros *FAMEsc* (LF), porque aumenta su eficacia. Apenas existen ensayos clínicos comparativos entre distintos *FAMEb*, por lo que, exceptuando anakinra, se les atribuye una eficacia similar. Su coste es elevado.

Un **biosimilar** es definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un “producto bioterapéutico que es similar en términos de calidad, seguridad y eficacia a un producto bioterapéutico de referencia ya autorizado”. Es una copia similar, pero no idéntica, a un biológico original que ya no está bajo protección de patente. Tiene la misma secuencia de aminoácidos y la misma estructura que el producto de referencia y ha sido sometido a rigurosas pruebas analíticas y clínicas en comparación con el producto de referencia. Existen biosimilares (*FAMEbs*) comercializados de rituximab y varios inhibidores del TNF (etanercept, infliximab) que han impulsado un descenso en los precios, favoreciendo el acceso de los pacientes con AR a las terapias biológicas.

4.1.4.2.1.3 *FAME sintético dirigido (FAMEsd)*

Debido al coste y administración parenteral de los *FAMEb*, se están desarrollando inhibidores orales de moléculas pequeñas implicadas en la señalización celular (quinasas) que tienen un impacto en la producción de citoquinas inflamatorias. Estas moléculas, altamente específicas, son compuestos químicos relativamente simples, que requieren un proceso de fabricación menos costoso que los biológicos y pueden administrarse por vía oral. Las Janus quinasas (JAK) son proteínas tirosina quinasas citoplasmáticas que son críticas para la transducción de señales al núcleo de la cadena gamma común de los receptores de la membrana plasmática para IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, y IL-21. Dos inhibidores de JAK, que inhiben también la transducción de IL-6, han demostrado una eficacia similar a los *FAMEb* y están aprobados en Europa para su uso en la AR: tofacitinib y baricitinib. Pueden administrarse en combinación con *FAMEsc* o en monoterapia.

4.1.4.2.2 *Fármacos antiinflamatorios*

Los antiinflamatorios (AINEs y GC) se utilizan principalmente como terapia concomitante para el control temporal de la actividad en pacientes con AR que inician o modifican el régimen de un *FAME* o presentan brotes de actividad. Los AINEs actúan rápidamente, pero no son útiles para controlar la inflamación a largo plazo o para prevenir la lesión articular. Sin embargo, existe evidencia de que los GC retrasan la progresión radiográfica durante los dos primeros años de la enfermedad (Kirwan 1995, Kirwan 2007). Por sus efectos secundarios, no deben utilizarse solos, ni a dosis mayores de 10 mg diarios de forma prolongada (Hoes 2009), procurando reducir la dosis en cuanto se logra el control de la enfermedad. Cuando se requiera tratamiento prolongado, se debe administrar a dosis inferiores a 10 mg diarios, que generalmente se toleran bien e incluso pueden retrasar la progresión de la enfermedad (Da Silva 2006, Hoes 2009, Bakker 2012). Cuando el requerimiento de GC supera el máximo aceptable, se debe considerar que el paciente está en actividad y precisa una modificación de su terapia de fondo. Cuando la actividad se limita a una o dos articulaciones, puede ser preferible la administración intraarticular a la sistémica.

4.1.4.3 Evaluación y seguimiento

Los pacientes con AR deben ser atendidos periódicamente para la evaluación de los síntomas y de la situación funcional, por paciente y médico, las manifestaciones articulares y extra-articulares, marcadores biológicos, toxicidad farmacológica y daño articular radiológico (Sokka 2009b, Anderson 2012). De forma complementaria, debe medirse la actividad de la enfermedad inicialmente y en todas las visitas posteriores, mediante índices compuestos como DAS 28 (Disease Activity Score), SDAI (Simplified Disease Activity Index) y CDAI (Clinical Disease Activity Index), que son precisos y sensibles al cambio, discriminan bien entre baja, moderada y alta actividad de la enfermedad, cuentan con criterios de remisión y son factibles de utilizar en la clínica (Fries 1982, Smolen 2003, Anderson 2012) (Tabla 5). Del mismo modo, es importante preguntar por la rigidez y la fatiga y utilizar medidas de resultado declaradas por el paciente (PRO) como HAQ, RAPID3 (Saag 2008, Pincus 2010). La evaluación basal de la actividad es muy útil para elegir el tratamiento y evaluar la respuesta terapéutica. La mayoría de los enfermos tienen actividad basal moderada o alta y deben iniciar tratamiento con MTX. A continuación, se debe realizar un seguimiento estrecho, con revisiones cada 3 meses, como máximo, con evaluación de la actividad y ajuste del tratamiento, hasta conseguir el objetivo terapéutico planteado (remisión o baja actividad) y mantener el control de la actividad. Los protocolos terapéuticos basados en este enfoque general producen mejores resultados radiográficos y funcionales en comparación con enfoques menos agresivos (Möttönen 1999, Puolakka 2004, Grigor 2004, Goekoop-Ruiterman 2005, Goekoop-Ruiterman 2007, Finckh 2009, Rantalaiho 2009, Schipper 2010, Schoels 2010, Stoffer 2016). En resumen, la estrategia de tratar por objetivos (Smolen 2010), más que los agentes específicos utilizados, es lo que produce mejores resultados en los pacientes con AR (Pincus 2013).

Tabla 5. Índices de actividad de la AR

ÍNDICES	DOMINIOS					ACTIVIDAD ¹			
	NAD	NAT	RFA	VGEP	VGEM	Alta	Moderada	Baja	Remisión
DAS28	0-28	0-28	PCR/VSG	0-10		>5,1	5,1 – 3,2	<3,2	<2,6
CDAI	0-28	0-28	PCR (0-10)	0-10	0-10	>22	22 - 10	<10	<2,8
SDAI	0-28	0-28		0-10	0-10	>26	26 - 11	<11	<3,3

CDAI: Clinical disease activity index. SDAI: Simplified disease activity index. DAS: Disease activity score. NAD y NAT: Número de articulaciones dolorosas y tumefactas. PCR: proteína C reactiva. VSG: Velocidad de sedimentación globular. VGEP y VGEM Valoración global de la enfermedad por el paciente y por el médico. ¹ La actividad de la enfermedad se calcula: en CDAI y SDAI sumando el valor de cada dominio y en DAS mediante una compleja fórmula (calculadora).

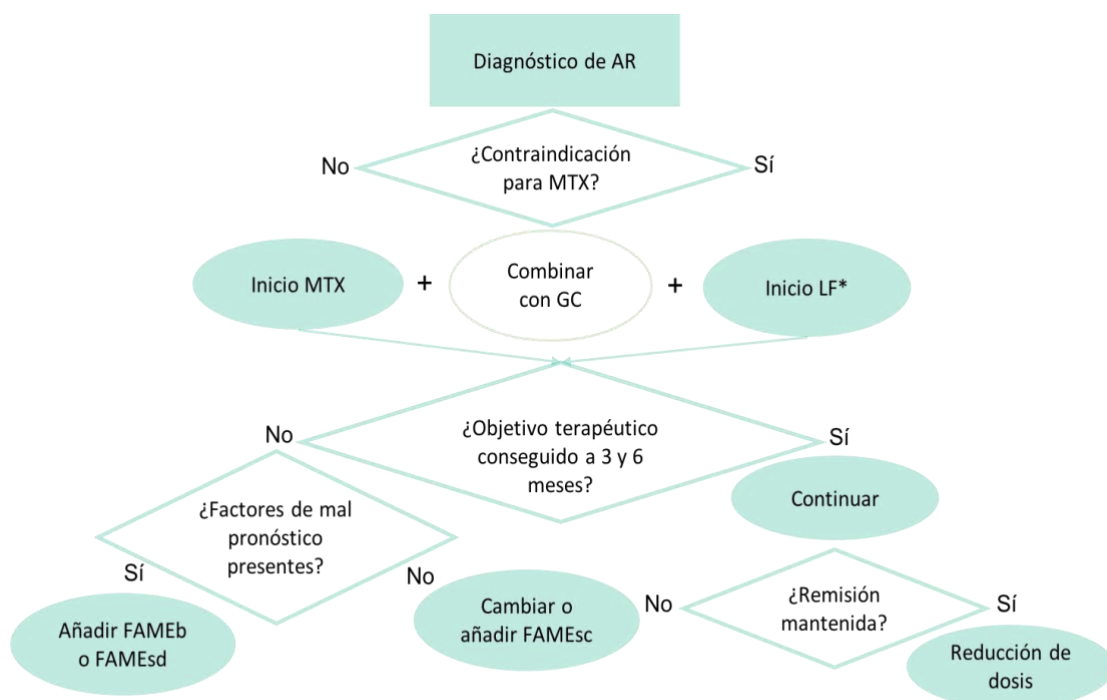
Tabla 6. Recomendaciones EULAR para el tratamiento de AR. Actualización 2016

Principios globales
A. El objetivo del tratamiento debe dirigirse a la mejor asistencia y debe basarse en una decisión compartida entre el paciente y el reumatólogo.
B. Las decisiones terapéuticas se basan en la actividad de la enfermedad y otros factores como la progresión de los cambios estructurales, comorbilidades y problemas de seguridad.
C. Los reumatólogos son los especialistas que deben ocuparse de la asistencia a pacientes con AR.
D. La AR conlleva importantes gastos individuales, médicos y sociales, que el reumatólogo responsable del paciente debe tener en cuenta a la hora de su tratamiento.
Recomendaciones
1. El tratamiento con <i>FAMEsc</i> debe iniciarse tan pronto como se establezca el diagnóstico.
2. El tratamiento debe dirigirse a alcanzar la remisión mantenida o la baja actividad de la enfermedad
3. En la enfermedad activa debe realizarse monitorización frecuente (cada 1-3 meses); si no hay mejoría a los 3 meses o no se consigue el objetivo terapéutico a los 6 meses debe ajustarse el tratamiento.
4. El MTX debe formar parte de la estrategia terapéutica inicial
5. En pacientes con contraindicación para MTX (o intolerancia precoz) puede utilizarse leflunomida o sulfasalacina como parte de la estrategia terapéutica inicial.
6. Debe considerarse el empleo de glucocorticoides a corto plazo cuando se inicia o modifican los <i>FAMEsc</i> , en diferentes regímenes de dosificación y vías de administración, pero deben reducirse tan pronto como sea clínicamente posible.
7. Si con la estrategia inicial con <i>FAMEsc</i> no se alcanza el objetivo terapéutico, pueden utilizarse otros <i>FAMEsc</i> en ausencia de factores de mal pronóstico.
8. Si con la estrategia inicial con <i>FAMEsc</i> no se alcanza el objetivo terapéutico y existen factores de mal pronóstico, puede añadirse un <i>FAMEb</i> o un <i>FAMEsd</i> ; la práctica actual suele ser comenzar con un <i>FAMEb</i> .
9. Los <i>FAMEb</i> y <i>FAMEsd</i> deben combinarse con <i>FAMEsc</i> ; en los pacientes que no pueden utilizar estos últimos, los <i>FAMEb</i> inhibidores de la IL-6 y los <i>FAMEsd</i> pueden ofrecer algunas ventajas sobre los <i>FAME</i> biológicos.
10. En los casos sin respuesta a <i>FAMEb</i> o <i>FAMEsd</i> , puede considerarse el tratamiento con otro <i>FAMEb</i> o <i>FAMEsd</i> ; si el tratamiento con un inhibidor del TNF ha fracasado puede utilizarse otro inhibidor del TNF o un compuesto con otro mecanismo de acción.
11. Si el paciente está en remisión mantenida después de disminuir los glucocorticoides se puede intentar disminuir los <i>FAMEb</i> , especialmente si se está utilizando tratamiento combinado con <i>FAMEsc</i> .
12. Si un paciente está en remisión mantenida se debe considerar la disminución de los <i>FAMEsc</i> .

Fuente: (Smolen 2017)

Las recomendaciones EULAR para el manejo de AR con *FAMEs* sintéticos y biológicos se recogen en la actualización de 2016 (Smolen 2017). Las estrategias de tratamiento por objetivos posicionan al MTX, si no hay contraindicación, como la primera opción en el tratamiento inicial de la AR. Si el paciente presenta intolerancia temprana o contraindicación a MTX, se iniciaría tratamiento con sulfasalacina o leflunomida, sin contabilizar la sustitución como fallo a *FAMEsc*. Recomiendan asociar GC al *FAMEsc*. En caso de no conseguir el objetivo terapéutico, por respuesta insuficiente o toxicidad, se plantean distintas opciones terapéuticas según las características de la enfermedad. Se considera que los pacientes que presentan FR/ACPA positivo, especialmente a títulos elevados, alta actividad de la enfermedad medida por uno de los índices compuestos, erosiones óseas tempranas o fallo al menos a dos *FAMEsc*, suelen tener peor pronóstico a largo plazo, por lo que se recomienda añadir al tratamiento un agente biológico (*FAMEb*) o un inhibidor de JAK quinasa (*FAMEsd*). Cuando no esté presente ninguno de estos factores de mal pronóstico, se puede intentar primero la sustitución o la combinación con otro *FAMEsc*, preferiblemente asociado a GC. Si el paciente no puede recibir *FAMEsc* por toxicidad/intolerancia, puede ser preferible el tratamiento en monoterapia con un inhibidor de IL-6 o un inhibidor de JAK (Tabla 6 y Figura 1).

Figura 1. Algoritmo de tratamiento AR basado en recomendaciones EULAR 2016



* En el original Leflunomida o Sulfasalacina, si bien en España Sulfasalacina es poco utilizada por la poca tolerabilidad de las presentaciones disponibles

Modificado de (Smolen 2017)

4.2 El Metotrexato

Ya hemos visto la importancia del MTX en el tratamiento de los pacientes con AR, situándolo en el eje sobre el que pivotan los demás tratamientos y el manejo de la enfermedad, lo que permite entender que este *FAMEsc* sea motivo de numerosos estudios y el tema principal de esta tesis. Una vez expuesta la situación actual del conocimiento sobre la AR, fundamental para comprender cómo funciona el MTX y qué podemos esperar de él, nos centraremos en detallar los aspectos más importantes del fármaco.

4.2.1 Administración y biodisponibilidad

MTX (ácido 4-amino-N10-metilpteroil-glutámico) es un análogo estructural del ácido fólico. Puede administrarse por vía oral, intramuscular y subcutánea, pero habitualmente se inicia como tratamiento oral. La absorción oral de MTX no se ve afectada por los alimentos (Hamilton 1995), pero su biodisponibilidad (proporción entre absorción oral y absorción intravenosa) varía entre los pacientes y disminuye conforme aumenta la dosis, de forma que puede disminuir hasta un 15% con 20 mg y hasta un 30% con 30 mg, respecto a la administración parenteral (Hoekstra 2004). El 80-90% se elimina por orina sin modificaciones, por lo que el deterioro de la función renal puede originar toxicidad.

MTX se administra una vez a la semana y tiene una vida media de entre 7 y 10 horas, por lo que la medición de sus niveles plasmáticos no tiene utilidad (Lafforgue 1995). Habitualmente, la dosificación se realiza comenzando por 10 mg incrementando (en 2,5-5 mg) cada 4-8 semanas hasta obtener la respuesta deseada o alcanzar 25 mg semanales, en ausencia de efectos secundarios. Cuando la respuesta es insuficiente, se debe comprobar la biodisponibilidad del fármaco.

La administración concomitante de ácido fólico (5-25 mg semanales) reduce la aparición de efectos secundarios y los niveles séricos de homocisteína, sin disminuir la eficacia de MTX (Morgan 1994, Slot 2001, Van Ede 2001, Hoekstra 2003, Morgan 2004), por lo que debe administrarse rutinariamente al día siguiente del MTX (Whittle 2004).

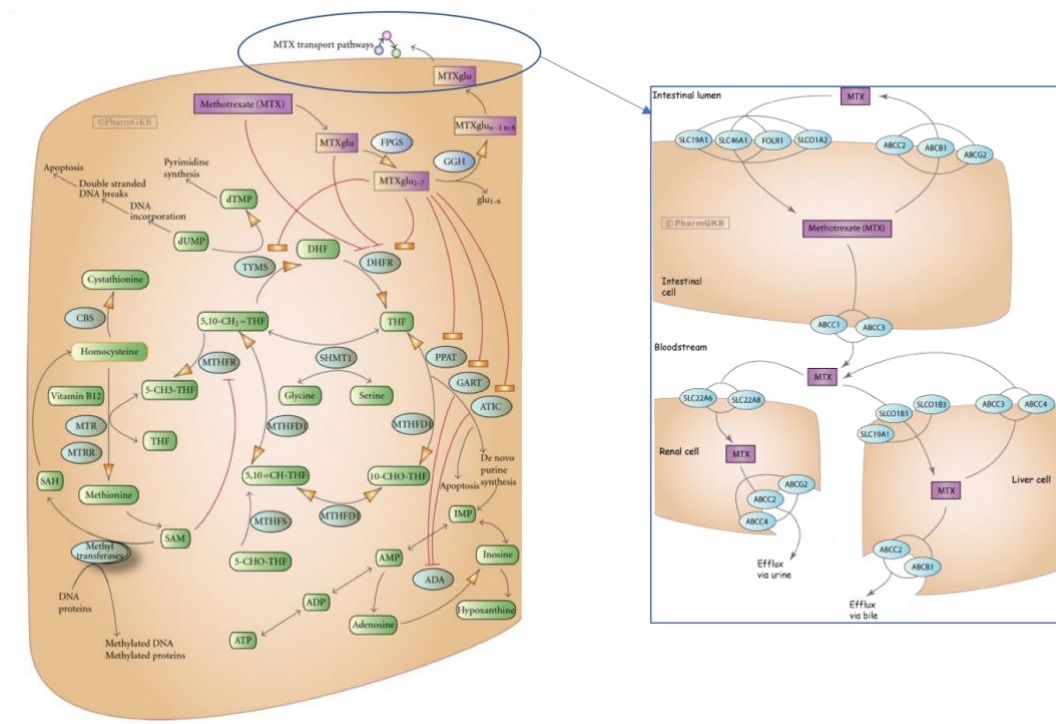
4.2.2 Función y mecanismos de acción

El MTX posee efectos antiproliferativos, inmunomoduladores y antiinflamatorios (Kremer 2008, Wessels 2008), que podrían concretarse en reducción de la proliferación celular, incremento de la apoptosis de células T, incremento de la liberación de adenosina endógena, alteración de la expresión de moléculas de adhesión celular y modulación de la expresión de citocinas, respuesta humoral y formación de hueso (Braun 2009). El MTX inhibe la síntesis de purinas, pirimidinas, aminoácidos y poliaminas, mediante la disminución de la concentración intracelular de ácido folínico (Cronstein 2005). Se sabe desde 1990 que el MTX inhibe reacciones de metilación vitales para las actividades celulares y la replicación (Nesher 1990). Posee funciones inmunomoduladoras suprimiendo la proliferación clonal de células T periféricas activadas y células T y B

sinoviales (Genestier 1998), disminuyendo la producción de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, y aumentando la secreción de citocinas antiinflamatorias por células T activadas (Gerards 2003, Johnston 2005), entre otros. Recientemente, se ha comprobado que el MTX reduce los niveles circulantes de IL-6 en pacientes con AR (Kremer 2016). Sus efectos antiinflamatorios se deben en parte al aumento de las concentraciones extracelulares de adenosina, un potente antiinflamatorio formado por la acción extracelular de la ecto-5'-nucleotidasa sobre los nucleótidos de adenina acumulados en la célula (Cronstein 2005, Swierkot 2006). Además, el MTX se ha asociado con una disminución de la inmunogenicidad de las terapias biológicas, probablemente por la inhibición de la biosíntesis de las purinas y la supresión de la clonalidad de las células T (Jani 2014).

El MTX ejerce sus funciones inhibiendo la vía del folato. Para ello, debe entrar en la célula y formar poliglutamatos de MTX (MTX-PG₂₋₅), que es el compuesto activo capaz de inhibir directamente enzimas importantes de la vía del ácido fólico, como DHFR, TYMS y ATIC. El MTX entra en una variedad de células, incluyendo hematíes, leucocitos, sinoviocitos y hepatocitos, a través de un mecanismo de transporte activo que está mediado por la proteína transportadora de folato reducido (RFC-1; SLC19A1) y sale de las células a través de casetes de unión a ATP (ABC), predominantemente ABCB1, ABCC1, ABCC2 y ABCG2 (Zhu 2014). Dentro de la célula, la enzima FPGS promueve la formación de MTX-PG₂₋₅ y la enzima GGH promueve la liberación de MTX de los poliglutamatos. La formación de MTX-PG₂₋₅ es un evento crítico y su concentración intracelular tiene relevancia clínica en el tratamiento de la AR (Kremer 2008). El MTX-PG₂₋₅ intracelular es más activo y se retiene más fácilmente, pero no alcanza concentraciones estables hasta 6 meses después de iniciar el tratamiento o modificar la dosis (Dalrymple 2008). El mecanismo de acción del MTX dentro de la célula es complejo (**Figura 2**). El MTX-PG₂₋₅ reduce la conversión de DHF a THF (dihidrofolación) mediante la inhibición competitiva de la enzima DHFR. THF es el precursor del cofactor SHMT, necesario para que la enzima MTHFR convierta el 5-10 metil-THF en 5-metil-THF, un cofactor de folato biológicamente activo. Las enzimas MTHFR, SHMT, MS, MTR y MTRR no son directamente inhibidas por MTX, aunque el nivel de expresión de las enzimas puede contribuir a los efectos anti-folato del MTX a través de sutiles alteraciones en las reservas de folato (Malik 2013, Ghodke-Puranik 2015). El MTX-PG₂₋₅ puede bloquear la biosíntesis de pirimidina de novo mediante la inhibición directa de TYMS (TSER), que cataliza la conversión de desoxiuridilato a desoxitimidilato. Por otro lado, el MTX-PG₂₋₅ puede inhibir la actividad de la enzima ATIC y promover la acumulación intracelular de aminoimidazol carboxamida adenosina ribonucleótido (AICAR), que conduce a la generación de adenosina a través de una serie de reacciones enzimáticas, y al aumento de las concentraciones extracelulares de adenosina, un agente antiinflamatorio. Esta vía incluye los intermediarios Inosín monofosfato e Inosín trifosfato y las enzimas clave ITPA, IMP (IMPDH) y AMP (AMPD1 y ADA). Los polimorfismos en los transportadores y en la vía metabólica del folato son de suma importancia ya que pueden modificar el transporte e influir en el efecto metabólico del MTX (Grabar 2008).

Figura 2. Transporte y mecanismos de acción intracelular del MTX



Reproducido con permiso de PharmaGKB

4.2.3 MTX en la artritis reumatoide

El MTX se empezó a utilizar en 1951, como los GC, pero su uso se extendió en la década de los ochenta, gracias a los resultados de eficacia obtenidos en pequeños ensayos clínicos (Andersen 1985, Weinblatt 1985). Durante las tres últimas décadas, ha sido el *FAME* más empleado en el tratamiento de la AR, con buenos resultados de eficacia y seguridad, como queda documentado en una revisión sistemática de 2014 (Lopez-Olivo 2014). Además, es un fármaco barato y con amplia experiencia de uso, que parece frenar la progresión radiológica del daño articular (Rich 1999, Lopez-Olivo 2014), mejorar el perfil aterogénico (Reiss 2008) y prolongar la esperanza de vida de los pacientes con AR (Choi 2002, Wasko 2008), por lo que es considerado internacionalmente como el *FAME* de primera elección. De hecho, ACR y EULAR recomiendan tratar a la mayoría de los pacientes con enfermedad moderada o grave inicialmente con MTX en monoterapia, en escalada rápida hasta 25 mg, a menos que haya una contraindicación (Singh 2016, Smolen 2017).

Aproximadamente la mitad de los pacientes no alcanzan una respuesta satisfactoria con MTX en monoterapia, y debe ser sustituido o asociado a otro *FAME* (Pincus 2003, Cronstein 2005). Los agentes biológicos (*FAMEb*), dirigidos contra las citoquinas o linfocitos, consiguen mejorar discretamente estas tasas de respuesta cuando se asocian a un *FAMEsc*, pero son tratamientos muy caros, ineficaces en hasta un tercio de los

pacientes y cuya seguridad a largo plazo suscita dudas.

El uso del MTX está limitado también por la aparición de efectos secundarios. Se estima que entre un 10 y 30% de los pacientes puede abandonar el tratamiento por toxicidad (Alarcon 1989, Lopez-Olivo 2014). Los efectos adversos más conocidos son síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, anorexia), elevación de transaminasas, lesiones cutáneo-mucosas, manifestaciones neurológicas (cefalea, aturdimiento), reacciones post-dosis (malestar general, artralgias, mialgias, febrícula), nodulosis acelerada, alopecia difusa, alteraciones hematológicas y neumonitis intersticial (Świerkot 2007, Albrecht 2010, Verstappen 2010).

4.3 Farmacogenética

La enorme variabilidad interindividual observada en la respuesta a fármacos se debe a diferentes factores dependientes del individuo, de la enfermedad y de los tratamientos concomitantes (Maitland-van der Zee 2000). Una mejor comprensión de su farmacología permite mejorar aún más la eficacia y disminuir la toxicidad del medicamento. Esta comprensión se puede obtener mediante el uso de los principios de la farmacogenética para estudiar las diferencias genéticas (polimorfismos) en las enzimas involucradas en las rutas metabólicas del MTX. La identificación de factores genéticos relacionados con la absorción, metabolismo y acción de los fármacos permitiría un uso más eficiente en la población, mejorando la respuesta y reduciendo la toxicidad, lo que conllevaría una reducción de los costes y de la morbimortalidad (Ernst 2001, Wang 2001, Evans 2003).

La farmacogenómica es una rama de la farmacología, que utiliza el ADN y la secuencia de aminoácidos para estudiar asociaciones entre las variaciones genéticas individuales y la respuesta de cada individuo a un fármaco, en términos de eficacia y de toxicidad (Roden 2006). El conocimiento del perfil genético de un paciente concreto puede ayudar a seleccionar el medicamento y la dosis adecuados para ese paciente, como parte de lo que se ha dado en llamar medicina personalizada.

Las variaciones genéticas son cambios en la secuencia del ADN y se clasifican en polimorfismos, si aparecen en más del 1% de la población, y mutaciones si su frecuencia es menor. El tipo más común de polimorfismo implica la variación en un solo par de bases. Los llamados polimorfismos de nucleótido único (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) están siendo objeto de estudio para buscar su posible relación con la respuesta a los fármacos. Cuando el SNP se encuentra en una región codificadora, la proteína resultante puede presentar un cambio en la secuencia de aminoácidos (SNP no sinónimo) o mantener la misma secuencia que la proteína nativa (SNP sinónimo) como consecuencia de la degeneración del código genético. Otras formas de variación incluyen inserciones, deleciones, variantes del número de copias y repeticiones en tándem cortas.

Todas las formas de variación tienen el potencial de afectar el fenotipo, independientemente de su frecuencia, pero el impacto depende de una serie de factores, incluyendo la ubicación dentro del genoma y las consecuencias funcionales de la variante. Desde la realización del primer genotipado en el campo de la farmacogenética

(Gonzalez 1988), se han caracterizado infinidad de mutaciones y polimorfismos farmacogenéticos funcionales que pueden afectar distintas propiedades del fármaco, como la farmacocinética (transporte y metabolismo del fármaco), y la farmacodinamia (unión al receptor), o producir reacciones idiosincrásicas, o diferentes efectos sobre la patogénesis de enfermedades.

4.3.1 Farmacogenética del Metotrexato

Existe una gran variabilidad en la respuesta clínica a MTX (Wesoly 2006), de forma que el 40-60% de los pacientes con AR no alcanza una respuesta adecuada y hasta un 30% pueden suspender el tratamiento por efectos secundarios (Ranganathan 2006, Wessels 2006, Kooloos 2010, Lopez-Olivo 2014). La respuesta a MTX depende de factores relacionados con el paciente (edad, sexo, hábitos, etnia y comorbilidades); con la enfermedad (duración, actividad, capacidad funcional y biomarcadores); con el tratamiento (adherencia, dosis y tratamientos concomitantes) y con las características genéticas (polimorfismos relacionados con el transporte y metabolismo del MTX) (Urano 2002, Dervieux 2004, Burgos 2009, Romao 2013). Por el momento no se dispone de métodos fiables para predecir la respuesta individual a MTX. La identificación de factores genéticos predictores de respuesta facilitaría la detección de pacientes que no van a responder bien a MTX en monoterapia, y la instauración precoz de un FAME alternativo o una terapia combinada, lo que permitiría reducir la morbilidad y mortalidad de la enfermedad (Burgos 2009). En las últimas décadas ha habido un gran interés en la identificación de estos biomarcadores genéticos. De manera global, se ha sugerido que los polimorfismos situados en los genes que codifican proteínas transportadoras de MTX y enzimas de la vía metabólica del folato, pueden ser predictores de respuesta y toxicidad al MTX (Ranganathan 2008).

4.3.1.1 Polimorfismos relacionados con el transporte celular de MTX

Los transportadores de membrana se expresan en numerosos tipos celulares y determinan la acumulación de fármacos en los tejidos, lo que condiciona su eficacia y toxicidad (Beringer 2005, Shitara 2006). Las dos principales superfamilias de proteínas transportadoras, **ABC (ATP-binding Cassette)** y **SLC (solute carrier)**, trabajan conjuntamente para influir en los niveles plasmáticos e intracelulares de fármacos. Comúnmente, SLC media la captación celular y ABC la exportación activa de fármacos (dependiente de ATP), manteniendo su concentración celular (Huang 2008). Las características químicas y estructurales del MTX, con una cadena lateral de glutamato polar, le hacen dependiente de un transportador de membrana para entrar (SLC) y salir (ABC) de las células (Lima 2015). Estos transportadores se expresan en diferentes tejidos y tienen gran influencia sobre la absorción, distribución y/o eliminación del MTX (Qiu 2006, Mikkelsen 2011). Los polimorfismos en los genes de estos transportadores pueden afectar los resultados del tratamiento de MTX en pacientes con AR, especialmente si modifican la expresión y función del transportador (**Figura 2**).

4.3.1.1.1 *Reduced folate carrier (RFC-1)*

SCL o RFC-1 es un intercambiador bidireccional de aniones que transporta al interior celular MTX y ácido folínico con mayor afinidad que ácido fólico (Ifergan 2008). Es la forma dominante de transporte intracelular de MTX, se expresa en la mayoría de los tejidos y parece tener un papel prominente en la membrana apical de las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado, membrana plasmática de hepatocitos y eritrocitos (Lima 2014).

El SNP de **SLC19A1 G80A (rs1051266)** consiste en la sustitución de histidina por arginina en el codón 27 (Arg27His, R27H), en el primer dominio transmembrana, alterando la estructura y la función del transportador (Chango 2000, Whetstine 2001), lo que podría modificar la entrada a la célula, la biodisponibilidad y la respuesta terapéutica al MTX, como sugieren diversos estudios (Yee 2010, Lima 2014).

- **SLC19A1 G80A y toxicidad.** Se ha observado asociación del alelo G con mayor riesgo de toxicidad por MTX, en pacientes caucásicos, en dos estudios (Grabar 2012, Lima 2014) y un meta-análisis (Qiu 2017), que no ha sido confirmada en otros muchos estudios (Dervieux 2006, Takatori 2006, Chatzikiyriakidou 2007, Kato 2012, Plaza-Plaza 2012, Owen 2013, Muralidharan 2015), incluidos dos meta-análisis (Kung 2014, Li 2016), con independencia del análisis genético empleado y de la etnia estudiada.

- **SLC19A1 G80A y eficacia.** Los resultados publicados son muy variables. Algunos estudios no encuentran asociación del SNP con la eficacia de MTX (Wessels 2006, Chatzikiyriakidou 2007, Muralidharan 2016), mientras que en otros se observa mejor respuesta a MTX en pacientes con el alelo A (Ghodke-Puranik 2015) o con el genotipo A/A (Drozdik 2007), así como mayor necesidad de biológicos, tras fallo a MTX, con el alelo G (Hayashi 2013). Los meta-análisis han confirmado asociación del genotipo A/A en general (Kung 2014, Li 2016) y del alelo A, tanto en la muestra total como en la población caucásica europea (Qiu 2017b), con la respuesta a MTX.

4.3.1.1.2 *ATP-binding Cassette (ABCB1)*

Los transportadores ABC están codificados por una gran familia de genes (49 genes agrupados en 7 subfamilias, desde la A hasta la G). Se encargan del transporte contra gradiente, dependiente de ATP, de sustratos a través de la membrana celular, lo que protege a las células y tejidos de toxinas ambientales y contribuye a la distribución, eficacia y toxicidad de los fármacos. El mejor caracterizado es el **ABCB1**, también conocido como **MDR-1 (resistencia a múltiples fármacos)** o **gp-P (glicoproteína P)**, que se expresa en intestino, hígado, riñón, cerebro, placenta, células Nk, linfocitos y células progenitoras de médula ósea (Fojo 1987, Dean 2001). Evita la acumulación de drogas y toxinas (Gottesman 1993) e interviene en el transporte de citocinas (principalmente IL-1, IL-2, IL-4 e IFN) de linfocitos circulantes activados (Drach 1996). Los linfocitos de pacientes con AR, sobre todo si son refractarios a FAMES, expresan más cantidad de gp-P, y más activa, que los controles sanos (Llorente 2000).

El gen **ABCB1** se encuentra en el cromosoma 7 (7q21,12). Se conocen más de 50 SNPs de **ABCB1**, pero el más estudiado es **C3435T (rs1045642)**, un SNP sinónimo situado en

el exón 26 del gen. La variante C3435T modifica la expresión de ABCB1 en diferentes tejidos y razas, disminuyendo la expresión y afinidad de la gp-P por el sustrato (Wang 2005) lo que disminuye el eflujo y favorece la acumulación del fármaco (Hoffmeyer 2000, Huang 2008). Diversos estudios han investigado la relación entre el polimorfismo *ABCB1* C3435T y la susceptibilidad a AR, respuesta a MTX y toxicidad por MTX.

- **SNP *ABCB1* C3435T y susceptibilidad a AR.** Ninguno de los cuatro estudios disponibles (Pawlik 2004, Puolakka 2004, Borowski 2007, Chen 2012, Plaza-Plaza 2012), ni el meta-análisis con 338 pacientes y 289 controles que los engloba (Lee 2016) han demostrado asociación entre el polimorfismo *ABCB1* C3435T y la susceptibilidad de padecer AR.

- **SNP *ABCB1* C3435T y respuesta a MTX.** Los resultados de estudios de asociación entre *ABCB1* C3435T y respuesta a MTX han sido contradictorios, encontrándose asociación del genotipo T/T con remisión clínica (Pawlik 2004, Drozdziak 2006) y también con ausencia de respuesta (Takatori 2006). Aunque en un meta-análisis reciente se ha observado asociación del polimorfismo con ausencia de respuesta a MTX en pacientes caucásicos con AR (Chen 2017), otros meta-análisis no han encontrado ninguna asociación con la respuesta a *FAMEsc* ni a MTX en toda la población de AR, ni en subgrupos étnicos (Lee 2016), ni en los pacientes tratados con MTX en monoterapia (Qiu 2017b).

- **SNP *ABCB1* C3435T y toxicidad por MTX.** Los resultados sobre la asociación del polimorfismo con la toxicidad por MTX en pacientes con AR también han sido contradictorios. Algunos autores han encontrado asociación de la toxicidad con el alelo C (Grabar 2008, Plaza-Plaza 2012), otros con el alelo T (Kooloos 2010, Samara 2014) y otros no observaron ninguna asociación (Takatori 2006) o esta no se mantuvo en los análisis ajustados (Kooloos 2010). Un meta-análisis (Lee 2016) de todos los estudios anteriores no encontró asociación entre el alelo T y toxicidad por MTX. Del mismo modo, tampoco se observó relación en otro meta-análisis de pacientes con AR tratados con MTX en monoterapia (Qiu 2017).

No se han encontrado asociaciones con SNP de *ABCC2* (Ranganathan 2008).

4.3.1.2 Polimorfismos de genes relacionados con MTX poliglutamado

El MTX posee una molécula de glutamato (MTX-PG₁). Una vez en el interior de la célula se van añadiendo secuencialmente moléculas de ácido glutámico para alargar la cadena, por acción de la enzima FPGS. Normalmente el MTX se almacena en complejos de 2 a 5 moléculas (MTX-PG₂₋₅). El estado estacionario se alcanza a las 28 semanas aproximadamente (Dalrymple 2008) y depende de la captación celular por RFC-1 así como de la actividad de FPGS (Yamamoto 2016). La enzima GGH está implicada en la escisión de MTX del MTX-PG₂₋₅. El MTX escindido puede ser expulsado de la célula por ABCB1. La concentración de MTX-PG₂₋₅ aumenta conforme aumenta la dosis semanal de MTX hasta los 15 mg, para después estabilizarse (Stamp 2009, Yamamoto 2016). Los estudios realizados en pacientes con AR tratados con MTX no encontraron asociación entre los niveles de MTX-PG₂₋₅ y la aparición de acontecimientos adversos (Dervieux 2006, Gervasini 2009, Stamp 2009, Yamamoto 2016).

Se han identificado varios SNP del gen *GGH*, C401T, G354T, T124G, C452T o A1102G (Gervasini 2009), localizados en su región promotora, que al eliminar el sitio de unión para los factores inhibidores de transcripción, podrían mejorar la actividad transcripcional del gen y la expresión de la proteína GGH, con descenso potencial de los niveles intracelulares de MTX-PG₂₋₅ en pacientes con AR tratados con MTX (Gervasini 2009, Hayashi 2009, Inoue 2014, Tarnowski 2016). Otro SNP, **GGH_T16C**, había sido relacionado previamente con la eficacia de MTX en AR (van der Straaten 2007), indicando que el alelo C puede reducir la actividad de GGH aumentando secundariamente los niveles intracelulares de MTX-PG₂₋₅. En este estudio, los pacientes que portaban el alelo C del SNP *GGH_T16C* y no más de 1 copia del haplotipo *GGH* 452C - 16T también tuvieron buena respuesta a MTX. Otros estudios no han encontrado una asociación significativa entre SNPs de *GGH* y la eficacia de MTX (Dervieux 2006, Wessels 2007). La interacción entre polimorfismos de *GGH* y transportadores de MTX podría disminuir la eficacia de este último, como se describió para MDR1 (Sharma 2008) y más recientemente para RFC (Hayashi 2013), sugiriendo incluso que la combinación de los alelos T del SNP *GGH_C401T* y A del *RFC_G80A* en pacientes con AR podría utilizarse como un marcador de no-respuesta a MTX. Por otro lado, se ha observado una asociación entre el genotipo C/C del SNP *GGH_C401T* y el aumento de la toxicidad general por MTX (Dervieux 2006), y entre el genotipo *GGH* -345 G/G y la aparición de mielosupresión (Jekic 2013).

Los polimorfismos del gen *FPGS* (A1994G, **C2572T** y G114A) han sido menos estudiados que los del *GGH* y no parecen tener un impacto significativo sobre los efectos de MTX (van der Straaten 2007, Sharma 2008).

Los resultados obtenidos hasta la fecha no parecen apoyar en general una contribución importante de los polimorfismos de *GGH* y *FPGS* a la variabilidad de la respuesta a MTX de los pacientes con AR.

4.3.1.3 Polimorfismos de genes relacionados con el metabolismo de MTX

4.3.1.3.1 Vía del folato

El MTX poliglutamado (MTX-PG₂₋₅) inhibe enzimas esenciales para la síntesis y reparación del ADN, y la replicación celular, tanto de forma directa (DHFR, TYMS yATIC) como indirecta (MTHFR). El *CCND1* controla la progresión de la célula a través de la fase G1/S y está implicado en la regulación de TYMS y DHFR.

La inhibición competitiva de la enzima DHFR es un mecanismo de acción importante de MTX, ya que impide la transformación de DHF en THF, lo que origina una carencia de coenzimas de folato y un deterioro de la síntesis de purina y pirimidina (Wessels 2006, Gervasini 2009, Chaabane 2016, Tarnowski 2016). Diferentes polimorfismos del gen *DHFR* (19-bp deleción, -G473A y A35289G) no han mostrado ninguna asociación con la eficacia y/o toxicidad de MTX en pacientes con AR (Zhu 2014, Chaabane 2016). En otros estudios se ha observado relación entre el SNP *DHFR_A317G* y una respuesta desfavorable a MTX (Milic 2012, Salazar 2014) y entre el polimorfismo rs12517451 y la

aparición de efectos adversos (Owen 2013) y pobre respuesta (Senapati 2014).

En el siguiente paso, THF es metilado hasta 5,10-metil THF y la enzima MTHFR cataliza la conversión irreversible del 5-10 metil THF en 5-metil THF, que es un cofactor folato biológicamente activo necesario para la síntesis de purina y timidina, que actúa como un donante de carbono para la remetilación de homocisteína a metionina (Malik 2012, Zhang 2014).

La enzima **MTHFR**, necesaria para la regeneración del folato reducido, es inhibida indirectamente por el MTX. Dado que el gen *MTHFR*, localizado en el cromosoma 1 (1p36.6), parece desempeñar un papel clave en el mantenimiento del equilibrio entre la síntesis, reparación y metilación del ADN, los polimorfismos en este gen podrían afectar a la respuesta a MTX de los pacientes con AR. Se han descrito varios polimorfismos de *MTHFR*, de los cuales los más frecuentes y ampliamente estudiados son los SNP *MTHFR_C677T* (rs1801133) y *MTHFR_A1298C* (rs1801131), que disminuyen la actividad de la enzima, aunque sólo el rs1801133 afecta su termolabilidad. Ambos polimorfismos de MTHFR pueden tener efectos diferentes sobre la toxicidad y la eficacia de MTX en pacientes con AR (Evans 2002, Urano 2002).

El **SNP C677T del gen MTHFR** consiste en la sustitución de alanina por valina en el codón 222 de la proteína MTHFR, que reduce su actividad enzimática y, consecuentemente, eleva los niveles de homocisteína y se altera la distribución de folatos (Hider 2007, Shao 2017). La actividad enzimática se reduce en un 70% en homocigotos y en un 40% en heterocigotos (Ranganathan 2006b, Hider 2007, Kurzawski 2007), por lo que cabría esperar un aumento de la eficacia de MTX en estos pacientes. Hasta la fecha, se han publicado 32 artículos (7 de eficacia, 16 de toxicidad y 9 de ambos) y 11 meta-análisis (Fisher 2009, Lee 2010, Spyridopoulou 2012, Davila-Fajardo 2013, Owen 2013b, Morgan 2014, Song 2014, Chen 2017, Qiu 2017, Shao 2017, Qiu 2017b) que han explorado la relación entre el SNP *MTHFR_C677T* y la respuesta a MTX en pacientes con AR. Todos los meta-análisis coinciden en la falta de asociación entre el polimorfismo y la eficacia de MTX (Fisher 2009, Lee 2010, Owen 2013b, Morgan 2014, Chen 2017, Shao 2017, Qiu 2017b) con independencia del modelo genético utilizado. En cambio, se ha observado consistentemente una asociación entre el polimorfismo y la aparición de acontecimientos adversos por MTX en pacientes con AR (Fisher 2009, Spyridopoulou 2012, Song 2014, Chen 2017, Shao 2017), en la muestra total y en los subgrupos de etnia caucásica y asiática oriental, en los tratados con MTX en monoterapia (Shao 2017) y, paradójicamente, en los que recibían suplementos con folato (Song 2014, Shao 2017). Otros tres metaanálisis no han encontrado asociación con toxicidad (Lee 2010, Owen 2013b, Qiu 2017).

El **SNP A1298C del gen MTHFR** consiste en la sustitución de glutamato por alanina en el dominio regulatorio c-terminal (codón 429) de la proteína MTHFR, lo que disminuye la actividad enzimática, proporciona sustrato a la enzima TS, aumenta la síntesis de DNA y reduce los efectos secundarios de MTX a dosis elevadas (Huang 2008). En general, no se ha encontrado ninguna asociación del polimorfismo rs1801131 con la eficacia ni con la toxicidad de MTX en pacientes con AR (Fisher 2009, Lee 2010, Owen 2013b, Morgan

2014, Qiu 2017), aunque se ha comunicado una disminución de acontecimientos adversos por MTX en pacientes con genotipo C/C del SNP *MTHFR_A1298C* (Ongaro 2009, Spyridopoulou 2012, Song 2014).

El SNP A1298C por sí mismo, no aumenta los niveles de homocisteína ni disminuye los niveles plasmáticos de folato, sin embargo los pacientes con el haplotipo 677T – 1298C tienen la actividad de la enzima MTHFR tan disminuida y los niveles de homocisteína tan elevados como los homocigotos para el alelo mutado de *MTHFR_677CTc* (Evans 2002).

La discrepancia entre los resultados observados y los esperados con los SNPs *MTHFR*, que disminuyen la actividad enzimática, pueden ser explicados por su interacción entre sí y con otros polimorfismos relacionados con el metabolismo del MTX (Anderson 2000, Ongaro 2009, Shao 2017), con otros factores genéticos y con factores clínicos, como el sexo, la edad, el hábito de fumar, la actividad basal y duración de la enfermedad y los tratamientos concomitantes, que pueden influir en la eficacia o toxicidad del MTX en los pacientes con AR (Anderson 2000, Van Ede 2001, Hoekstra 2003, Hider 2007, Hider 2009). Los suplementos de folatos podrían disminuir la toxicidad por MTX en pacientes con polimorfismos de MTHFR (Goodman 2001, Van Ede 2001).

Las enzimas MTR y MTRR participan en el metabolismo de folato y están implicadas en el metabolismo de adenosina y la conversión de homocisteína a metionina. Sin embargo, polimorfismos en estos genes (*MTR_A2756G* (rs1805087) o *MTRR_A66G* (rs1801394)) no parecen asociarse con la eficacia ni con la toxicidad por MTX (Berkun 2007, Stamp 2010, Chaabane 2016, Qiu 2017, Qiu 2017b).

4.3.1.3.2 Vía de las pirimidinas

TYMS convierte desoxiuridilato en desoxotimidilato para la síntesis de novo de pirimidinas. Por lo tanto, se trata de una enzima clave para la síntesis y reparación del ADN y su inhibición por MTX-PG₂₋₅ contribuye a los efectos antiproliferativos y antiinflamatorios del MTX. Los polimorfismos del gen *TYMS* pueden influir sobre los niveles de la enzima y afectar el resultado terapéutico del MTX (Lima 2014c). Los polimorfismos más estudiados son repeticiones en tándem de 28 pb en la región potenciadora en el 5'-UTR (rs34743033), 1494del6 y 34+ C157G. Los resultados de los estudios son muy diferentes inter e intra etnias (Inoue 2007, Ranganathan 2008, Świerkot 2015). El polimorfismo *TYMS* 28 bp (2R/3R) ha sido relacionado con peor respuesta y menor toxicidad en no caucásicos y con mayor toxicidad en caucásicos, mientras que el polimorfismo *TYMS* 1494 del6 ha sido relacionado con menor toxicidad general en los pacientes con AR (Kumagai 2003, Inoue 2009, Chaabane 2016, Chen 2017). Un meta-análisis que incluyó 3 estudios (Wessels 2007, Jekic 2013, Lima 2014c) con un total de 603 pacientes europeos de AR no encontró asociación entre el polimorfismo *TYMS* 28pb y la respuesta a MTX (Wessels 2007, Qiu 2017b).

4.3.1.3.3 Vía de la adenosina

ATIC es una enzima importante en la vía de la adenosina que participa en la síntesis de novo de purina y convierte AICAR en formyl-AICAR. MTX-PG₂₋₅, al inhibir ATIC, conduce

a una acumulación intracelular de AICAR, que a su vez inhibe dos enzimas importantes en el metabolismo de la adenosina, AMPD y ADA, y consecuentemente incrementa los niveles de AMP y adenosina.

Tras ser desfosforilada, la adenosina es liberada al espacio extracelular donde estimula su receptor produciendo potentes efectos antiinflamatorios (disminuye la adherencia de neutrófilos, inhibe células asesinas naturales, monocitos/macrófagos y linfocitos T) (Cronstein 2005, Ranganathan 2008). La adenosina parece mediar los efectos antiinflamatorios del MTX mediante su unión a los receptores A2A (ADORA2A) y A3 (Montesinos 2003, Stamp 2012). Hasta ahora, se ha encontrado relación de SNPs de ADORA2A con síntomas digestivos, pero no con eficacia (Hider 2008, Sharma 2009). Los antagonistas inespecíficos de los receptores de adenosina, la teofilina y la cafeína, reducen los efectos beneficiosos del MTX en animales (Montesinos 2000), pero no ha podido ser comprobado en humanos.

Los polimorfismos del gen *ATIC*, localizado en el cromosoma 2q35, pueden afectar el mecanismo de acción del MTX y, por lo tanto, sus resultados terapéuticos (Zhu 2014). El SNP más frecuente y estudiado es *ATIC_C347G* (rs2372536) en el exón 5, consistente en la sustitución de treonina por serina en la posición 116 del enzima. El alelo G se ha encontrado asociado con peor respuesta a MTX en pacientes caucásicos (Lee 2016b, Qiu 2017b), y mayor toxicidad general por MTX en la población global de AR (Wessels 2006b, Chen 2017) y en caucásicos (Lee 2016b).

El gen *AMPD1* codifica la enzima AMPD que cataliza la conversión de AMP a IMP. El polimorfismo *AMPD1_C34T* (rs17602729) codifica una proteína truncada, con pérdida de función, que favorece la conversión de AMP en adenosina (Morisaki 1992). Se ha comunicado que la presencia del alelo mutado T se asocia a buena respuesta a MTX de los pacientes con AR (Wessels 2006b, Chen 2017).

El gen *ITPA* codifica para la enzima ITPA que cataliza la conversión de ITP en IMP y la formación de Inosina. El SNP *ITPA_C94A* ha sido poco estudiado, pero parece que los pacientes con el genotipo C/C pueden tener una mejor respuesta (Wessels 2006b). Los pacientes que portaban simultáneamente el alelo T de *AMPD1_C34T* y los genotipos C/C de *ATIC_C347G* y de *ITPA_C94A* presentaron mejor resultados que los que portaban sólo uno o dos de ellos (Wessels 2006b).

El gen *ADA* codifica para la enzima ADA que cataliza la conversión de adenosina en Inosina. El genotipo A/A del SNP sinónimo *ADA_A534G* (rs244076) se ha visto asociado a una peor respuesta en hindúes (Sharma 2009).

4.4 Justificación de la tesis

La artritis reumatoide es una enfermedad muy heterogénea, tanto desde el punto de vista clínico como de respuesta al tratamiento. Existe una gran variabilidad interindividual en la respuesta a MTX, en términos de eficacia y de toxicidad. Por el momento no se dispone de métodos fiables para predecir la respuesta individual de un paciente a MTX, aunque la farmacogenética tiene un papel cada vez más importante. En este sentido, y debido a la complejidad de la enfermedad y del mecanismo de acción del fármaco, no parece probable que una variante genética única pueda ser capaz de predecir la respuesta a MTX en AR. Por consiguiente, a la hora de buscar posibles predictores de respuesta es importante tener en cuenta el efecto aditivo de variantes genéticas de las diferentes vías metabólicas del MTX, así como otros factores relacionados con la heterogeneidad de la enfermedad. La variabilidad en la respuesta terapéutica y la imposibilidad de predecir la toxicidad a MTX en los pacientes con AR, junto con el uso creciente de las terapias biológicas, eficaces, pero muy caras, han sugerido la necesidad de seleccionar, antes de iniciar el tratamiento, a los pacientes susceptibles de responder a MTX.

La selección de "pacientes respondedores", a partir de su caracterización clínica y del perfil de polimorfismos genéticos relacionados con el metabolismo del MTX, podría facilitar la obtención de dosis óptima, aumentar la tasa de respuesta, disminuir la frecuencia de efectos secundarios y de monitorización, y reducir la necesidad de terapias biológicas, de mayor coste económico y menor experiencia que MTX. De forma similar, la identificación de pacientes con AR no respondedores a MTX facilitaría el empleo inmediato de otros fármacos eficaces con el fin de evitar la progresión del daño articular y la exposición a toxicidad potencial del primero durante el tiempo necesario para confirmar su ineficacia.

Por lo tanto, esta estrategia de selección de pacientes puede optimizar el manejo de la AR, de forma más eficaz y segura, así como permitir una racionalización del gasto farmacéutico necesario para conseguir los mismos resultados.

5 HIPÓTESIS

En los pacientes con AR en monoterapia con MTX,

- la respuesta, incluida la remisión,
- y la toxicidad

están determinadas por factores del paciente y del tratamiento.

Al menos parcialmente, polimorfismos genéticos (**Tabla 7**)

- relacionados con la enfermedad
- y con el metabolismo del MTX
- y su mecanismo de acción

pueden estar relacionados con

- la respuesta, incluida la remisión
- y la toxicidad

Tabla 7. Matriz de hipótesis

Polimorfismo SNP referencia	Locus	Traslación aminoácido	Repercusión funcional	Vía relacionada	Efecto esperado	Toxicidad observada	Eficacia observada
ABCB1 3435C>T rs1045642	7q21,12	Ninguno	↓ expresión gp-P y ↓ afinidad sustrato	Eflujo de MTX	↑ MTX celular ↑ eficacia ↑ toxicidad	No concluyente	No concluyente
FPGS 2572G>A rs1544105	9q34.11		↓ niveles mRNA	Forma MTX-PG (MTX→MTX-PG)	↓ MTX ↓ eficacia ↓ toxicidad	No evaluada	No concluyente
GGH 16T>C rs1800909	8q12.3	Cys6Arg	↓ Actividad	Desagrega MTX (MTX-PG→MTX)	↑ MTX. ↑ eficacia ↑ toxicidad	No relacionado	No relacionado
MTHFR 677C>T rs1801133	1p36.22	Ala222Val	↓ Actividad	Regeneración del ácido fólico y síntesis de DNA	↑ Homocisteína ↑ eficacia ↑ toxicidad	Relacionado	No relacionado
MTHFR 1298A>C rs1801131	1p36.22	Glu429Ala	↓ Actividad	Regeneración del ácido fólico y síntesis de DNA	↑ Homocisteína ↑ eficacia ↑ toxicidad	No concluyente	No relacionado
ITPA 94C>A rs1127354	20p13	Pro32Thr	↓ Actividad	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No relacionado	↑ respuesta
AMPD1 34C>T rs17602729	1p13.2	Q45* (Stop prematuro)	↓ Actividad	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No relacionado	↑ respuesta
ADA 534A>G rs244076	20q13.12	Val178Val	Desconocida	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No evaluada	↓ respuesta

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar la potencial influencia de las características clínicas del individuo, la enfermedad y el tratamiento, y diferentes polimorfismos genéticos relacionados con el MTX, sobre la respuesta terapéutica, en términos de eficacia y seguridad, en pacientes con AR tratados con MTX en monoterapia.

6.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la asociación entre **características clínicas** de pacientes con AR y la **respuesta** a MTX en monoterapia.
2. Evaluar la asociación entre características clínicas de pacientes con AR y la **remisión** obtenida con MTX en monoterapia.
3. Evaluar la asociación entre las características clínicas de pacientes de AR y la **toxicidad general** por MTX en monoterapia.
4. Evaluar la influencia de determinados **polimorfismos genéticos** sobre la **respuesta** a MTX y **remisión** en monoterapia en pacientes con AR.
5. Evaluar la asociación entre los polimorfismos genéticos determinados y la **toxicidad general** por MTX en monoterapia en pacientes con AR.
6. Evaluar la asociación entre polimorfismos genéticos concretos y diferentes tipos específicos de **toxicidad** por MTX, en concreto:
 - de naturaleza hematológica
 - hepática
 - gastrointestinal
 - alopecia
 - neurológica

7 MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño

Estudio observacional longitudinal prospectivo de un mínimo de 6 meses de seguimiento.

7.2 Pacientes

7.2.1 Población accesible

La cohorte de Mérida está formada por los pacientes con AR que son seguidos en la consulta monográfica de AR del Hospital General de Mérida desde el 1/3/1990.

7.2.2 Criterios de selección

7.2.2.1 Criterios de inclusión

Para entrar en el estudio, los pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- Tener al menos 18 años cumplidos.
- Estar diagnosticados de AR según los criterios ACR de 1987.
- Encontrarse en seguimiento protocolizado en la consulta monográfica de AR (Se puede consultar la hoja de evaluación del paciente en el **anexo 11.5**).
- Recibir, o haber recibido en algún momento, tratamiento con metotrexato en monoterapia. Durante la monoterapia los pacientes también podían tomar, de forma concomitante, antiinflamatorios no esteroideos, prednisona oral y ácido fólico, pero no otros FAME desde el inicio.

7.2.2.2 Criterios de exclusión

- Deficiente adherencia o alta probabilidad de pérdida en el seguimiento.
- Incapacidad para proveer datos fiables.
- Haber recibido agentes biológicos, ciclofosfamida o terapia combinada de MTX antes de la monoterapia.
- Encontrarse participando en un ensayo clínico.

7.2.3 Muestreo y reclutamiento

Se utilizó un muestreo consecutivo a medida que los pacientes llegaban a la consulta. Se propuso la participación a todos los pacientes que se encontraban en seguimiento en las consultas monográficas de AR entre los años 2012 y 2015.

7.3 Mediciones y variables

7.3.1 Variables principales o de desenlace

7.3.1.1 Respuesta a MTX

Los pacientes se clasificaron en respondedores a MTX si alcanzaban un estado de baja actividad clínica, definido por un valor del DAS28-PCR <3.2 , y en no respondedores cuando permanecían con un valor ≥ 3.2 . Para poder establecer el criterio de respuesta, los pacientes debían haber recibido MTX en monoterapia a la dosis más alta tolerada durante al menos 6 meses. Por otro lado, los casos en los que se suspendió el MTX en cualquier momento por intolerancia o toxicidad se consideraron no respondedores.

7.3.1.2 Remisión

Se consideró que los pacientes respondedores que alcanzaron y mantuvieron un DAS28-PCR $<2,6$ se encontraban en remisión clínica, con independencia de que continuaran con MTX en monoterapia o sin ningún tratamiento.

7.3.1.3 Toxicidad por MTX

Aparición de algún acontecimiento adverso significativo relacionado con el MTX en cualquier momento del tratamiento. En la definición de toxicidad se incluyeron los siguientes episodios, siempre que no pudieran ser explicados por otras causas:

- Afectación hematológica: anemia ($Hb < 9$), leucopenia (< 4.000), trombopenia (< 150.000)
- Elevación de transaminasas (GOT y/o GPT) por encima de 2 veces el límite superior de la normalidad.
- Síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, sensación de plenitud abdominal, anorexia)
- Síntomas generales: molestias inespecíficas relacionadas con la administración (cansancio, malestar general, artralgias, mialgias y/o febrícula) y síntomas neurológicos inespecíficos y reversibles (letargia, aturdimiento, somnolencia, mareo, inestabilidad, desorientación)
- Alopecia difusa
- Mucositis / Dermatitis
- Nodulosis reumatoide acelerada
- Neumonitis intersticial

7.3.2 Factores en estudio

Se estudiaron los siguientes polimorfismos relacionados con las rutas metabólicas de MTX:

- Transporte del MTX

- Gen *ABCB1*. rs1045642 (3435C>T)
- Glutamación de MTX
 - Gen *GGH*. rs1800909 (T16C)
 - Gen *FPGS*. rs1544105 (G2572A)
- Transmetilación de ácido fólico
 - Gen *MTHFR*. rs1801133 (C677T).
 - Gen *MTHFR*. rs1801131(A1298C)
- Vía de la Adenosina
 - Gen *AMPD1*. rs17602729 (34C>T)
 - Gen *ADA*. rs244076 (534A>G)
 - Gen *ITPA*. rs1127354 (94C>A)

7.3.3 Variables descriptivas y factores de confusión

Como variables independientes y factores de confusión para el ajuste de modelos de regresión se analizaron las siguientes variables:

- Características demográficas y clínicas: sexo, nivel de estudios, tipo de trabajo, edad al inicio y al diagnóstico de AR, latencia desde el comienzo de la enfermedad hasta el inicio de MTX, actividad de la AR (DAS28-PCR), y capacidad funcional (Steinbrocker) al inicio de MTX.
- *FAME* previos a MTX, duración del tratamiento con MTX,
- Consumo de tabaco, ingesta de café y de alcohol, FR, anti CCP, anticuerpos antinucleares,
- Comorbilidad y complicaciones extraarticulares de AR

7.4 Recogida de datos

La información se obtuvo de la historia clínica de cada paciente. El protocolo aplicado durante el seguimiento permite monitorizar, en cada visita, la actividad inflamatoria y la capacidad funcional mediante el índice compuesto DAS28-PCR y el HAQ, respectivamente. Además, se evalúa la presencia de FR, ACPA, complicaciones extraarticulares, comorbilidad, y tolerancia, así como efectos secundarios del tratamiento (**Anexo 11.5**). Cada médico es responsable de la evaluación de su paciente y del ajuste del tratamiento tras la valoración clínica.

Además de los datos extraídos de la historia clínica, a todos los pacientes se les realizó una entrevista estructurada "ad hoc" (**Anexo 11.4**) para confirmar los datos demográficos y los relativos a fechas de inicio, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. Además, en esta entrevista se indagó por posibles efectos secundarios relacionados con MTX y se extrajo una muestra de sangre para el análisis de los polimorfismos.

Cuando se realizó el estudio, muchos pacientes ya no se encontraban en tratamiento con

MTX en monoterapia, sino que podían estar recibiendo otros *FAME* asociados o en sustitución de MTX.

7.4.1 Método de genotipado

Para la determinación de los genotipos se utilizaron muestras de sangre recogidas en tubos con EDTA potásico (Vacutainer®, BD, EE. UU.), previamente codificadas y almacenadas a -20 °C hasta su análisis. El aislamiento del ADN genómico en las muestras de sangre se realizó mediante el kit Centrapuregen kit (Indianápolis, IN, USA). El estudio de los polimorfismos de estos genes se llevó a cabo con metodología basada en la técnica de PCR a Tiempo Real (TR) mediante la utilización de sondas TaqMan (Tabla 8). Las reacciones de PCR-TR se efectuaron en un Sistema Fast 7300 Real-Time (Applied Biosystems, Forster City, CA, EE. UU.).

La determinación de cada polimorfismo se realizó mediante un kit de reactivos con ensayos TaqMan pre-desarrollados, que contiene un par de primers de PCR y un par de sondas TaqMan con fluorescencia de Applied Biosystems (Forster City, CA, EE. UU.), basado en la presencia de SNPs asociados a los alelos estudiados.

La reacción de amplificación se llevó a cabo en 20 µL con 30 ng de ADN humano molde, 1X de TaqMan Universal PCR Máster Mix (Applied Biosystems, Forster City, CA, EE. UU.), 1X de cada primer y sondas, y agua. Las condiciones iniciales fueron un paso de desnaturalización de 10 min a 95 °C, seguidos de 40 ciclos de desnaturalización a 92°C durante 15 segundos, y alineación a 60 °C 1 min. El proceso de detección alélica se efectuó durante 1 min a 60°C. Todos los análisis se realizaron en placas de 96 pocillos en las que se incluyeron un control negativo (sin ADN) y controles positivos (heterocigóticos y/u homocigóticos).

Tabla 8. Sondas TaqMan utilizadas para la determinación de las variantes alélicas de los diferentes genes estudiados

Gen	Polimorfismo	dbSNP ID	Assay ID
ABCB1	3435C> T	rs1045642	C__7586657_20
AMPD1	34C> T	rs17602729	C__33603912_10
ITPA	94C> A	rs1127354	C__27465000_10
GGH	16T> C	rs1800909	C__8894713_10
MTHFR	677C> T	rs1801133	C__1202883_20
MTHFR	1298A> C	rs1801131	C__850486_20
ADA	534A> G	rs244076	C__2217230_10
FPGS	2572G> A	rs1544105	C__8342611_10

dbSNP ID: database Single Nucleotid Polymorphism identification; Assay ID: TaqMan Assay identification. ABCB1: Glicoproteína P; AMPD1: Adenosina monofosfato deaminasa 1; ITPA: Inosin trifosfato pirofosfatasa; GGH: Gamma-glutamil hidroxilasa; MTHFR: 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa; ADA: Adenosina deaminasa; FPGS: Folipoliglutamato sintetasa. En rojo se indica el nucleótido menos frecuente que da lugar al polimorfismo.

7.5 Aspectos éticos

El proyecto para la realización de este trabajo de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura (**Anexo 11.3**).

Durante la realización del estudio se siguieron las recomendaciones internacionales sobre el manejo de muestras genéticas, así como los principios establecidos en la "Declaración de Helsinki" y revisiones posteriores (de la Asociación 2008), en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina, en la Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos, en la Directriz Tripartita de la ICH "Normas de Buena Práctica Clínica" y en los requerimientos legales vigentes en la Unión Europea, en España y en la Comunidad Autónoma de Extremadura.

Antes de su inclusión en el estudio, todos los pacientes debían otorgar su consentimiento por escrito, tras haber leído y comprendido el documento de información al paciente (Consentimiento Informado), que se adjunta en el **anexo 11.2**. Durante todo el estudio se mantuvo la adecuada confidencialidad de la información obtenida. A cada participante se le asignó una clave numérica de tal modo que no pudiera relacionarse la muestra e información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras fueron anonimizadas, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior de variantes alélicas que pudieran ser relevantes.

7.6 Análisis estadísticos

El análisis estadístico se llevó a cabo en diferentes y sucesivos pasos:

1. **Descriptivo.** Se describieron las características sociodemográficas, clínicas y genéticas (polimorfismos y genotipos), utilizando frecuencias absolutas y relativas (%) para las variables cualitativas y medidas de tendencia central (media y mediana) y de dispersión (desviación estándar y rango intercuartílico), en función de la distribución de las variables, para las variables cualitativas.
2. **Bivariante.** Se exploró la existencia de asociación entre las medidas de desenlace y los distintos polimorfismos y también las características clínicas. Se utilizaron tres medidas de resultado: respuesta a MTX, remisión, y acontecimientos adversos (globales, digestivos, hepáticos, y hematológicos). El análisis bivariante se llevó a cabo mediante modelos de regresión logística, utilizando como variable dependiente las distintas variables de desenlace, y como variables independientes las características clínicas y cada uno de los polimorfismos de interés (*ABCB1_3435CTc*; *FPGS_2572GAc*; *GGH_16TCc*; *MTHFR_677CTc*; *MTHFR_1298ACc*; *ITPA_94CAc*; *AMPD1_34CTc*; *ADA_534AGc*). Se valoró la independencia entre los alelos heredados de los padres mediante la comprobación del cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg. Los análisis se llevaron a cabo para los tres modelos de herencia de los polimorfismos, y se eligió el modelo que mejor se ajustó a los datos mediante los criterios de información Akaike (AIC) y bayesiano (BIC).

3. **Multivariante.** Se estudiaron las asociaciones entre polimorfismos y variables de respuesta, independientemente de las características clínicas. Para ello se construyeron modelos multivariantes de regresión logística, para cada medida de resultado y cada polimorfismo, controlando el efecto de variables relacionadas con tres bloques de información: paciente (edad al diagnóstico, sexo, hábitos sobre tabaco y alcohol), enfermedad (tiempo desde los síntomas al diagnóstico, FR, ACPA, erosiones óseas, DAS28-PCR, manifestaciones extra-articulares, Mantoux), y tratamiento (tiempo desde los síntomas y desde el diagnóstico hasta el tratamiento con el primer *FAME*, número de *FAME*s previos a MTX, tiempo desde el inicio de los síntomas hasta MTX, dosis de ácido fólico, prednisona y MTX, vía de administración). Además, y en el caso de la toxicidad, se creó una variable de suma de trastornos crónicos de entre los siguientes: HTA, diabetes, hipercolesterolemia, obesidad, accidente cerebrovascular, cardiopatía isquémica, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad tiroidea, alteraciones cardíacas, gastrointestinales y depresión. Las variables de control se eligieron en función del criterio clínico y de los resultados del análisis bivalente (valor $p < 0,25$). Se probó la existencia de interacción entre los SNPs y el sexo. Finalmente se estudiaron los determinantes clínicos de las variables de resultado mediante modelos multivariantes de regresión logística utilizando cada una de las medidas de resultado como variable dependiente. Como variables independientes se introdujeron las características clínicas y se controló el efecto de posibles factores de confusión. Para la inclusión de variables en los modelos se tuvieron en cuenta los resultados del análisis bivalente (variables con valor $p < 0,250$), el sentido teórico y el tamaño de la muestra. En el primer modelo (completo) se incluyeron las variables que en el análisis bivalente obtuvieron un valor $p < 0,250$ y se intentó explicar cada una de las variables de resultado con el modelo más parsimonioso o con menor número de variables independientes. La comparación entre modelos se llevó a cabo mediante las medidas de información AIC y BIC.
4. **Análisis de haplotipos de múltiples SNPs.** Habitualmente, los estudios de asociación prueban una serie de SNPs dentro de un gen candidato para determinar si alguno de ellos aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad. Por consiguiente, es necesario utilizar métodos de análisis que tengan en cuenta las comparaciones de múltiples SNPs. Los métodos de análisis basados en SNPs aislados tienen un poder limitado para detectar un verdadero efecto genético de un alelo específico situado en varios SNPs. Para ello se utilizan métodos basados en haplotipos, que analizan simultáneamente varios SNPs. Un haplotipo es una secuencia de SNPs situados en el mismo cromosoma, dentro de la región genómica de interés. Para este análisis se utilizaron las asociaciones de los SNPs de la *MTHFR* (677CTc y 1298ACc), que se sitúan en el mismo cromosoma y se heredan conjuntamente.

Todos los análisis se llevaron a cabo con el programa SNPstats (<https://www.snpstats.net/snpstats/start.htm?>)

7.7 Modelos de herencia

En los análisis de epidemiología genética es preciso tener en cuenta diversos modelos de herencia de alelos y genotipos de los SNPs. Se estudiaron los siguientes modelos:

- **Modelo dominante.** Una sola copia del alelo variante G es suficiente para modificar el riesgo y el ser portador de dos copias lo modifica en igual magnitud, es decir, que tanto los portadores del genotipo A/G como los del G/G tienen el mismo riesgo. Por tanto, la combinación A/G + G/G se compara con el genotipo A/A.
- **Modelo recesivo.** Hacen falta dos copias de la variante G para modificar el riesgo: los heterocigotos (A/G) y los homocigotos del alelo de mayor frecuencia (A/A) tienen el mismo riesgo, de tal forma que el genotipo G/G se compara con A/G + A/A.
- **Modelo codominante.** Cada genotipo proporciona un riesgo de enfermedad diferente y no aditivo. Básicamente el modelo asume que puede haber un riesgo distinto de los individuos heterocigotos y homocigotos variantes respecto a los homocigotos normales.
- **Modelo sobredominante.** Los individuos homocigotos para el genotipo más frecuente (A/A) y el genotipo variante (G/G) tienen el mismo riesgo. No suele usarse mucho en la clínica porque desde el punto de vista biológico es difícil de explicar.
- **Modelo aditivo.** Cada copia de G modifica el riesgo en una cantidad aditiva, por lo tanto, los homocigotos G/G tienen el doble de riesgo que los heterocigotos A/G (el efecto para los individuos heterocigotos (A/G) es la mitad que para los homocigotos variantes (G/G)).

8 RESULTADOS

8.1 Descripción de los pacientes incluidos

Se incluyó un total de 301 pacientes con una media de edad al diagnóstico de casi 50 años. La proporción mujeres / hombres fue 2:1. La **Tabla 9** muestra una descripción demográfica de la población. La mayoría de los pacientes no tenía estudios secundarios (67,5%) y realizaba trabajos físicos (81%). El sedentarismo (19%) fue muy escaso.

Tabla 9. Variables sociodemográficas

Variable	Valor
Edad al diagnóstico, media (DE)	49,6 (13,2)
Sexo (Mujer), n (%)	202 (67,1)
Nivel de estudios, n (%)	
Menos que la primaria	98 (32,6)
Primaria finalizada	105 (34,9)
Superiores a primaria	98 (32,6)
Tipo de trabajo habitual, n (%)	
Sedentario	57 (18,9)
Mixto	153 (50,8)
Activo	91 (30,2)

En la **Tabla 10** se muestran los hábitos de consumo de tabaco, café y alcohol de la muestra.

Tabla 10. Consumo de tabaco, café y té

Variable	Valor
Fumadores, n (%)	
Nunca	118 (39,2)
Exfumadores	97 (32,2)
Activos	86 (28,6)
Nº de cigarrillos diarios, m (DE)	15,5 (10,3)
Bebedores, n (%)	
Nunca	181 (60,1)
Ex bebedores	33 (11,0)
Activos	87 (28,9)
Cantidad de alcohol consumido por semana (sólo bebedores), n (%)	
<17 gr	65 (74,7)
17-28 gr	15 (17,2)
>28 gr	7 (8,0)
Consumidores de café o té, n (%)	192 (63,8)
Consumidores de café, n (%)	185 (61,5)
Consumo diario de té o café, mediana (P25-75)	1 (0-2)

Llama la atención la elevada exposición al tabaco (60% de los pacientes ha fumado en algún momento y casi el 30% eran fumadores activos), un dato que contrasta con un

elevado porcentaje de pacientes que no ha bebido nunca (60%). Continúa bebiendo el 28,9% de la muestra, generalmente en cantidad moderada (<17 gramos por semana). Casi dos tercios de la muestra consume cafeína con regularidad, mayoritariamente café y en cantidades moderadas.

Más del 75% de los pacientes presentó algún factor de riesgo cardiovascular (tabaquismo, obesidad, hiperlipidemia, hipertensión arterial o diabetes) (**Tabla 11**) y también más del 75% tenía alguna comorbilidad.

Tabla 11. Factores de riesgo cardiovascular

Variable	n (%)
Algún factor de riesgo cardiovascular (tabaco, obesidad, hiperlipemia, hipertensión, diabetes)	237 (78,7)
<i>Número de factores de riesgo</i>	
Ninguno	64 (21,3)
1	94 (31,2)
2	79 (26,3)
3	52 (17,3)
4	10 (3,3)
5	2 (0,7)

En la **Tabla 12** se detalla la frecuencia de cada una de las comorbilidades; las más frecuentes fueron hiperlipidemia, HTA, osteoporosis, obesidad y depresión.

El estudio de despistaje de tuberculosis, realizado por protocolo a todos los pacientes, arrojó un resultado positivo en el 15% de ellos (1 tuberculosis activa, 6 antiguas y 35 latentes).

Tabla 12. Comorbilidades

Variable	n (%)
Alguna comorbilidad	234 (77,7)
Hiperlipidemia	137 (45,5)
Hipertensión arterial	114 (37,9)
Osteoporosis	73 (24,3)
Obesidad (IMC>25)	72 (23,9)
Depresión	63 (20,9)
Alguna patología cardíaca	63 (20,9)
Afectación pulmonar	51 (16,9)
Diabetes Mellitus	49 (16,3)
Ictus	46 (15,3)
Mantoux positivo	42 (13,9)
Úlcera gastroduodenal	39 (13,0)
Enfermedad tiroidea	35 (11,6)

Variable	n (%)
Cardiopatía isquémica	20 (6,6)
Síndrome del túnel del carpo	20 (6,6)
Alguna fractura osteoporótica	18 (6,0)
Insuficiencia renal crónica	12 (4,0)
Migrañas	9 (3,0)
Colecistectomía / colelitiasis	8 (2,7)
Hepatitis vírica	5 (1,7)
Hipoacusia neurosensorial	4 (1,3)
Polineuropatía	4 (1,3)
Esteatosis	3 (1,0)
Estenosis de canal	3 (1,0)
Diverticulosis	2 (0,7)
Epilepsia	2 (0,7)
Enfermedad de Parkinson	2 (0,7)
Pancreatitis	2 (0,7)
Síndrome de piernas inquietas	2 (0,7)
Angiodisplasia de colon	2 (0,7)
Pólipos adenomatosos	2 (0,7)
Intolerancia a la lactosa	2 (0,7)
Impresión basilar	1 (0,3)
Poliomielitis	1 (0,3)
Síndrome de secreción inadecuada ADH	1 (0,3)
Adenocarcinoma de colon	1 (0,3)
Angioma hepático	1 (0,3)
Colitis ulcerosa	1 (0,3)
Cirugía bariátrica	1 (0,3)
Hipertransaminasemia	1 (0,3)
Hepatitis autoinmune	1 (0,3)
Hepatitis colestásica	1 (0,3)
Proctitis infecciosa	1 (0,3)
Disfunción eréctil	1 (0,3)

El patrón de presentación de la AR fue poliarticular en más de la mitad de los pacientes (60%) tal como se refleja en la **Tabla 13**. Presentaron manifestaciones extraarticulares el 24% (**Tabla 14**), siendo las más frecuente el síndrome de Sjögren secundario (11%), los nódulos reumatoideos (8%), el síndrome del túnel del carpo (6,6%) y la enfermedad pulmonar intersticial difusa (4,7%).

Tabla 13. Forma de inicio de AR

Variable	n (%)
Oligo / monoarticular	120 (39,9)
Poliarticular	181 (60,1)

Tabla 14. Manifestaciones extraarticulares

Variable	n (%)
Afectación extra-articular ¹	71 (23,6)
Síndrome de Sjögren	33 (11,0)
Afectación Pulmonar	
Enfermedad pulmonar intersticial difusa	14 (4,7)
Serositis	3 (1,0)
Nódulos reumatoides	24 (8,0)
Síndrome de Felty	2 (0,7)
Nefritis intersticial	3 (1,0)
Subluxación atlo-axoidea	1 (0,3)
Síndrome del túnel del carpo	20 (6,6)
Otra ²	14 (4,6)

¹Síndrome de Sjögren, serositis, nódulos subcutáneos, afectación pulmonar, afectación renal, síndrome de Felty, nefritis intersticial). ²Fiebre, anemia, afectación ocular (no síndrome seco).

El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico fue de 17,2 meses, y hasta el inicio del primer *FAME* de 24,0 meses (27,4 meses para MTX) (**Tabla 15**). El tiempo medio de seguimiento fue de 136 meses y la duración media de la monoterapia con MTX de 68 meses, con un máximo de 20,4 años. La exposición a la monoterapia de MTX fue de 1708 pacientes-año, permaneciendo en ella el 50% de los pacientes a los 7,2 años de seguimiento.

Tabla 15. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento

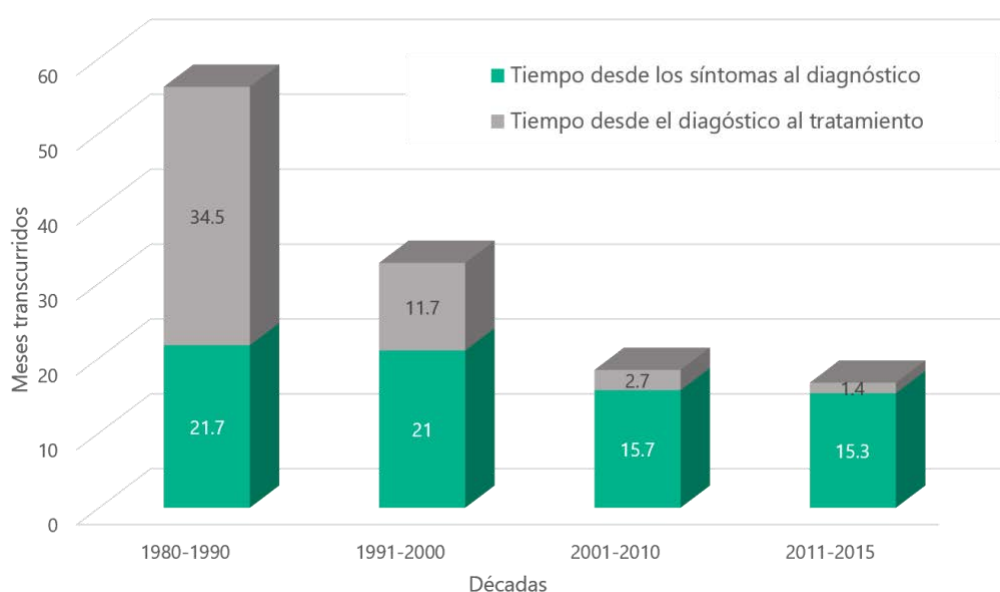
Variable	Meses, media (DE)
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico	17,2 (27,1)
Tiempo entre el inicio de los síntomas y el inicio de tratamiento	24,0 (38,9)
Tiempo entre diagnóstico y tratamiento con MTX	20,6 (45,3)
Tiempo entre diagnóstico y tratamiento con <i>FAME</i>	6,8 (23,9)
Tiempo entre síntomas y tratamiento con MTX	27,4 (62,8)
Duración de monoterapia con MTX	68,3 (58,0)
Tiempo desde el diagnóstico hasta el último contacto	135,8 (93,6)

Al analizar la demora hasta el diagnóstico y el tratamiento, estratificada por décadas naturales, se ve un acortamiento progresivo en el retraso diagnóstico y, sobre todo, en el tratamiento de los pacientes, desde los 21,7 y 56,2 meses en la década 80-90 hasta los 15,3 y 16,7 meses a partir de 2011, siendo especialmente importante la disminución del periodo transcurrido entre el diagnóstico y la instauración del primer *FAME* (de 34,5 hasta 1,4 meses) (**Tabla 16** y **Figura 3**).

Tabla 16. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento, por décadas

Variable	Meses, media (DE)
<i>Diagnóstico entre 1980-1990 (n=23)</i>	
Tiempo desde los síntomas hasta el diagnóstico	21,7 (29,8)
Tiempo desde el diagnóstico al tratamiento	34,5 (66,8)
<i>Diagnóstico entre 1991-2000 (n=64)</i>	
Tiempo desde los síntomas hasta el diagnóstico	21,0 (34,6)
Tiempo desde el diagnóstico al tratamiento	11,7 (25,2)
<i>Diagnóstico entre 2001-2010 (n=148)</i>	
Tiempo desde los síntomas hasta el diagnóstico	15,7 (26,0)
Tiempo desde el diagnóstico al tratamiento	2,7 (7,7)
<i>Diagnóstico entre 2011-2015 (n=66)</i>	
Tiempo desde los síntomas hasta el diagnóstico	15,3 (19,2)
Tiempo desde el diagnóstico al tratamiento	1,4 (3,2)

Figura 3. Tiempo desde inicio de síntomas hasta diagnóstico y tratamiento, por décadas



Casi un 84% de los pacientes tenía una AR seropositiva, bien para el factor reumatoide (80%) o bien para los anticuerpos antipéptido citrulinado (casi un 70%). Tan solo en 46 (15,3%) pacientes la AR fue seronegativa para ambos anticuerpos y en 181 (60,1%) fue positiva para FR y ACPA. Más del 90% de los pacientes no presentaban anticuerpos antinucleares (**Tabla 17**).

Tabla 17. Anticuerpos

Variables	Valor
Factor Reumatoide (FR)	
Positivo, n (%)	242 (80,4)
Valor medio (DE)	141,7 (212,3)
Valor medio (DE) de positivos	174,3 (225,0)
Anticuerpos antipéptido citrulinado (ACPA)	
Positivo, n (%)	193 (68,4)
Valor medio (DE)	156,4 (156,7)
Doble seropositividad (FR+ y ACPA+), n (%)	181 (60,1)
Doble seronegatividad (FR- y ACPA-), n (%)	46 (15,3)
Anticuerpos antinucleares	
Negativo, n (%)	274 (91,0)

En la **Tabla 18** se puede observar que más de la mitad de los pacientes mostraban erosiones radiográficas en manos y pies durante el primer año de seguimiento y que casi el 75% tenía algún deterioro de la función física (según la clasificación de Steinbrocker) al inicio del tratamiento.

Tabla 18. Situación radiográfica y clase funcional

Variable	n (%)
Presencia de erosiones radiográficas en manos y pies durante el 1 ^{er} año	163 (55,6)
Clase funcional de Steinbrocker al inicio del tratamiento	
I	78 (25,9)
II	170 (56,5)
III	52 (17,3)
IV	1 (0,4)

8.2 Tratamiento con MTX: descripción, respuesta y tolerabilidad

Al inicio del tratamiento con MTX, 81 (27%) pacientes había tomado previamente otros *FAMEsc*, mayoritariamente uno sólo (70,4%). Los más utilizados fueron antipalúdicos y sales de oro, en el 58% y 48%, respectivamente (**Tabla 19**).

Tabla 19. Uso de FAMEs

Variable	n (%)
Uso FAMEsc previos	81 (26,9)
Número de FAMEsc previos por paciente	
1	57 (70,4)
2	16 (19,7)
3	6 (7,4)
4	2 (2,5)
Nombre de los FAMEsc recibidos	
Leflunomida	8 (9,9)
Antimaláricos	47 (58,0)
Sulfasalacina	13 (16,0)
Sales de oro	39 (48,1)
D-penicilamina	4 (4,9)
Azatioprina	3 (3,7)

En la **Tabla 20** se muestran los índices de actividad, valores de PCR y tratamientos concomitantes al inicio del tratamiento con MTX. Los valores medios indican que los pacientes presentaban una actividad (evaluada mediante el índice de actividad DAS28-PCR) moderada ($4,5 \pm 0,8$), con una media de PCR de casi 18 mg/l. Una amplia mayoría (80,4%) tomaba prednisona de manera concomitante, con una dosis media diaria de 9,6 mg, y casi la totalidad (94%) recibieron suplementos de ácido fólico, siendo la dosis habitual 5 mg semanales administrados al día siguiente del MTX.

Tabla 20. Índices de actividad y tratamientos concomitantes al inicio del MTX

Variable	Valor
DAS28-PCR, media (DE)	4,5 (0,8)
PCR inicial en mg/l, media (DE)	17,8 (21,3)
Prednisona Inicial	
Pacientes con prednisona, n (%)	242 (80,4)
Dosis media utilizada en mg/d, media (DE)	9,6 (4,7)
Dosis mediana utilizada en mg/d, mediana (P25-75)	10 (5-10)
Ácido fólico semanal	
Pacientes con ácido fólico, n (%)	282 (93,7)
Dosis media utilizada en mg/semana, media (DE)	8,4 (7,8)
Dosis mediana utilizada en mg/semana, mediana (P25-75)	5 (5-10)

La dosis habitual de MTX utilizada en el 80,1% de los pacientes, en general con buena tolerancia (90% de los casos), fue de entre 15 y 20 mg/semana. Sólo en 13 (4,3%) pacientes se usaron dosis superiores (22,5 o 25 mg semanales), que fueron toleradas por menos del 77% de los casos. En 6 (2%) casos no hubo tolerancia a ninguna dosis de MTX con aparición temprana de efectos secundarios. La administración de MTX se inició por

vía oral en casi el 90% de los pacientes. Durante el seguimiento, en una tercera parte de los casos se cambió la vía de administración, habitualmente de oral a subcutánea. Las causas más frecuentes fueron el escalado de dosis y los efectos adversos (**Tabla 21**).

Tabla 21. Vía de administración y dosis máxima y tolerada de MTX

Variable	n (%)
<i>Vía Inicial</i>	
Oral	264 (87,7)
Parenteral	37 (12,3)
Cambio de vía de administración	99 (32,9)
<i>Dosis máxima de MTX (en mg/semana)</i>	
7,5	6 (2,0)
10	25 (8,3)
12,5	16 (5,3)
15	127 (42,2)
17,5	15 (5,0)
20	99 (32,9)
22,5	4 (1,3)
25	9 (3,0)
<i>Dosis máxima de MTX tolerada (en mg/semana)</i>	
0-5	6 (2,0)
7,5	7 (2,3)
10	42 (13,9)
12,5	18 (6,0)
15	124 (41,2)
17,5	13 (4,3)
20	81 (26,9)
22,5	2 (0,7)
25	8 (2,7)

La monoterapia fracasó en 152 (50,5%) pacientes, principalmente por falta de eficacia (43,9%). El MTX se mantuvo durante todo el seguimiento en 230 (76,4%) pacientes, si bien con interrupciones temporales por diferentes causas (infecciones, embarazos, acontecimientos adversos) en un tercio de la muestra. La causa más frecuente de suspensión definitiva de MTX fue toxicidad, en 56 (18,6%) pacientes (**Tabla 22**). En 109 pacientes (36,3%) se inició finalmente un fármaco biológico por respuesta insuficiente.

Tabla 22. Motivo de suspensión de MTX

Variable	n (%)
Remisión	11 (3,7)
Toxicidad/Intolerancia ¹	56 (18,6)
Ineficacia	4 (1,3)
Total suspensión	71(23,6)

¹Dos pacientes suspendieron por insuficiencia renal, no producida por el MTX.

8.3 Descripción de las variables principales o de resultado

8.3.1 Descripción de los polimorfismos presentes

En la **Tabla 23** se muestran las frecuencias de los polimorfismos genéticos estudiados y sus alelos. Los genotipos T/T *AMPD1* C34T y A/A *ITPA* C94A fueron muy infrecuentes, encontrándose por debajo del 1% de la muestra.

Tabla 23. Polimorfismos genéticos

Polimorfismo	Valor, n (%)
Polimorfismo <i>ABCB1</i> _3435CT	
C/C	80 (26,5)
C/T	159 (52,8)
T/T	62 (20,6)
Polimorfismo <i>AMPD1</i> _34CTc	
C/C	234 (77,7)
C/T	65 (21,6)
T/T	2 (0,7)
Polimorfismo <i>ITPA</i> _94CAc	
C/C	258 (85,7)
C/A	41 (13,6)
A/A	2 (0,7)
Polimorfismo <i>MTHFR</i> _677CTc	
C/C	124 (41,2)
C/T	132 (43,8)
T/T	45 (14,9)
Polimorfismo <i>MTHFR</i> 1298ACc	
A/A	153 (50,8)
A/C	126 (41,9)
C/C	22 (7,3)
Polimorfismo <i>GGH</i> _16TCc	
T/T	154 (51,2)
T/C	119 (39,5)
C/C	28 (9,3)
Polimorfismo <i>ADA</i> _534AGc	
A/A	213 (71,0)
A/G	76 (25,3)
G/G	11 (3,7)
Polimorfismo <i>FPGS</i> _2572GAc	
G/G	96 (31,9)
G/A	149 (49,5)
A/A	56 (18,6)

8.3.2 Respuesta a MTX

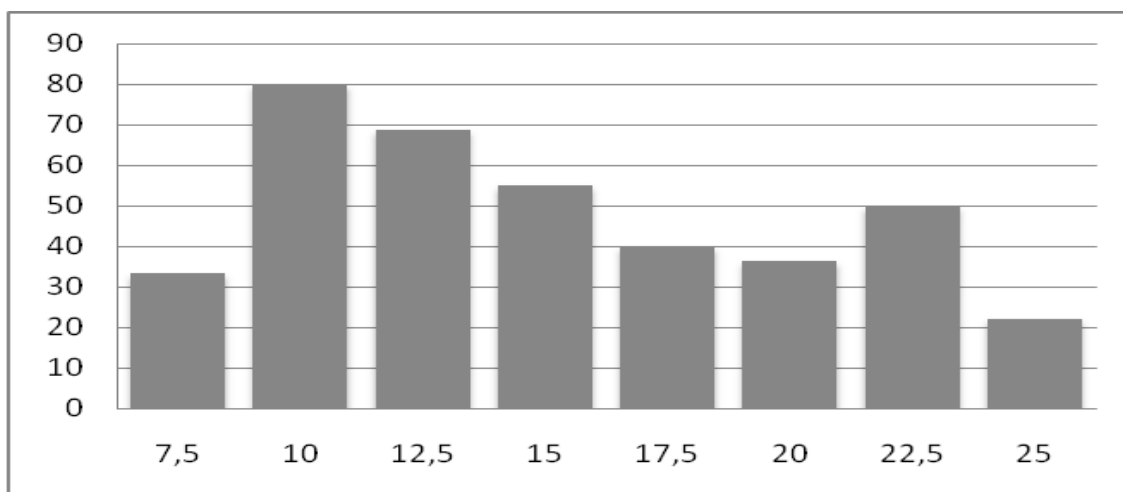
El porcentaje de respuesta a MTX en monoterapia, definida como la consecución a los 6 meses de un estado de baja actividad (DAS28-PCR <3,2) mantenida durante el seguimiento, fue del 49,5% y el de remisión (DAS28-PCR <2,6) del 33,2% de los pacientes.

En la **Tabla 24** y la **Figura 4** se muestra el porcentaje de pacientes que respondieron al MTX en función de la dosis máxima recibida en monoterapia.

Tabla 24. Respuesta DAS28-PCR <3,2, con MTX en monoterapia

Dosis de MTX (mg/sem)	Pacientes con esta dosis	% pacientes con DAS28-PCR<3,2
7,5	6	33,3
10	25	80,0
12,5	16	68,8
15	127	55,1
17,5	15	40,0
20	99	36,4
22,5	4	50,0
25	9	22,2

Figura 4. Porcentaje de respuesta en función de la dosis de MTX alcanzada



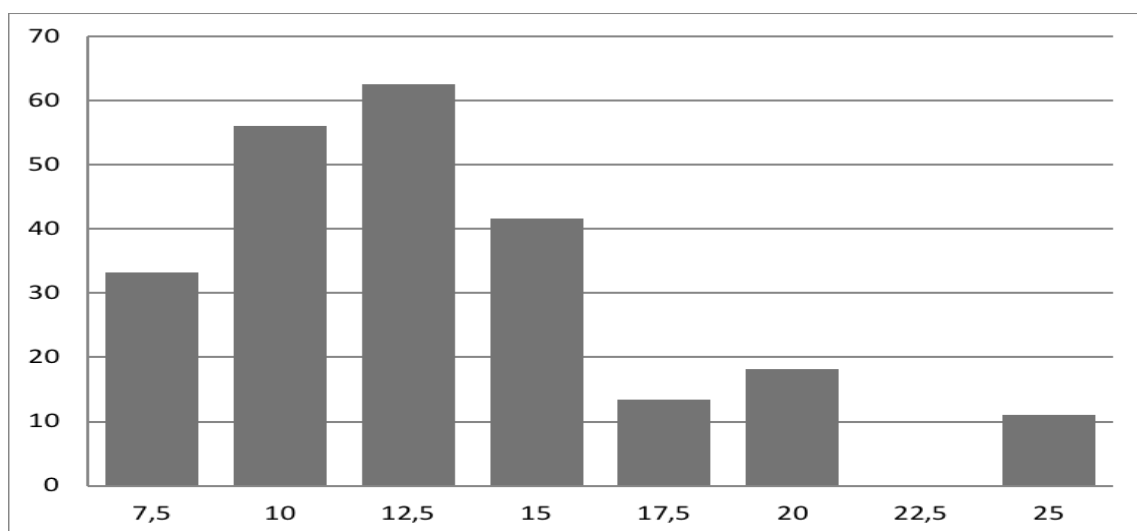
En la **Tabla 25** y la **Figura 5** se presentan los porcentajes de remisión (DAS28-PCR<2,6). El mayor porcentaje de respuesta / remisión se alcanzó con las dosis intermedias, lo que probablemente refleja el empleo de una cantidad inadecuada en las dosis más bajas y falta de respuesta en las más altas (ambos $p < 0,001$).

Los pacientes que alcanzaban la remisión con MTX lo hacían generalmente con un máximo de 15 mg.

Tabla 25. Respuesta DAS28-PCR <2,6, con MTX en monoterapia

Dosis de MTX (mg/sem)	Pacientes con esta dosis	% pacientes con DAS28-PCR <2,6
7,5	6	33,3
10	25	56,0
12,5	16	62,5
15	127	41,7
17,5	15	13,4
20	99	18,2
22,5	4	0,0
25	9	11,1

Figura 5. Porcentaje de remisión en función de la dosis de MTX alcanzada



Al estudiar la relación entre la respuesta a MTX en monoterapia y la década en que se realizó el diagnóstico de AR, se observó que el porcentaje de pacientes respondedores mejoró a partir del año 2000, como puede verse en la **Tabla 26**.

Tabla 26. Respuesta a MTX en función de la década de diagnóstico

Década	Pacientes diagnosticados en esa década (n)	Respuesta a MTX % (IC 95%)
1980-1990	23	26,1 (6,7 – 45,5)
1991-2000	64	29,7 (18,2 – 41,2)
2001-2010	148	58,2 (50,1 – 66,2)
2011-2015	66	57,6 (45,3 – 69,8)

8.3.3 Acontecimientos adversos

Se contabilizó al menos un acontecimiento adverso (AA) en 152 (50,5%) pacientes, siendo los más frecuentes los gastrointestinales, neurológicos/generales y hepáticos, presentes en el 29%, 18% y 9% de los pacientes, respectivamente (**Tabla 27**). Los acontecimientos adversos fueron causa de suspensión de MTX en 55 casos, que suponen un 36,2% de los pacientes con acontecimientos adversos y un 18% del total. Las causas de suspensión se presentan en la **Tabla 28**.

Tabla 27. Acontecimientos adversos

Variable	n (%)
Acontecimientos adversos (AA)	152 (50,5)
AA hematológicos	14 (4,6)
Leucopenia (sola o como parte de pancitopenia)	9 (3,0)
Trombopenia (sola o como parte de pancitopenia)	12 (4,0)
Pancitopenia	7 (2,3)
AA hepáticos (Elevación de transaminasas)	27 (9,0)
2 x LSN	13 (4,3)
3 x LSN	8 (2,7)
>3 x LSN	6 (2,0)
AA gastrointestinales	87(28,9)
Náuseas, vómitos, plenitud	80 (26,6)
Diarrea	10 (3,3)
AA neurológicos/generales	55 (18,3)
Alopecia	26 (8,6)
AA cutáneos	13(4,3)
Erupción	8 (2,6)
Úlceras orales	20(6,6)
Nodulosis acelerada	6 (2,0)
Afectación intersticial	2 (0,7)

Tabla 28. Causas de suspensión

Variable	n (%)
Suspensión por Acontecimientos Adversos	55 (36,2)
AA hematológicos	8 (14,5)
AA hepáticos (Elevación de transaminasas)	12 (21,8)
AA gastrointestinales	28 (50,9)
AA post-dosis/generales	22 (40%)
Alopecia	10 (18,2)
AA mucosos (úlceras)	4 (7,3)
Erupción	1(1,8)
Nodulosis acelerada	4 (7,3)

8.4 Asociación con características clínicas: bivalente y multivariante

8.4.1 Respuesta a Metotrexato

En relación con las características clínicas, el análisis bivalente mostró que la probabilidad de respuesta a MTX es mayor con el aumento de la edad en el momento del diagnóstico (OR=1,05), y disminuye con el tabaquismo actual (OR=0,37), la presencia de erosiones óseas (OR=0,26), el Mantoux positivo (OR=0,20), el incremento del DAS28-PCR basal (OR=0,08), el mayor número de *FAME* previos (OR=0,46) y las dosis más elevadas de ácido fólico (OR=0,97), MTX (OR=0,87), y prednisona (OR=0,93) (Tabla 29).

Tabla 29. Análisis bivalente de la respuesta a MTX – variables clínicas

Características	Respuesta a MTX OR [IC 95%]	valor p
<i>Sociodemográficas</i>		
Edad al diagnóstico	1,05 [1,03-1,07]	<0,0001
Sexo mujer	0,74 [0,46-1,20]	0,221
Fumador actual	0,37 [0,22-0,63]	<0,0001
Bebedor previo o actual	1,36 [0,86-2,17]	0,188
<i>De la propia enfermedad</i>		
Tiempo síntomas-diagnóstico	1,00 [0,99-1,01]	0,783
FR	0,61 [0,34-1,09]	0,094
ACPA	0,71 [0,43-1,18]	0,185
Erosiones óseas	0,26 [0,16-0,42]	<0,0001
DAS28-PCR basal	0,08 [0,04-0,14]	<0,0001
Manifestaciones extraarticulares	0,59 [0,34-1,01]	0,054
Mantoux	0,20 [0,09-0,44]	<0,0001
<i>Del tratamiento</i>		
Número <i>FAME</i> previos	0,46 [0,31-0,68]	<0,0001
Tiempo síntomas-MTX	0,99 [0,99-1,00]	0,056
Dosis de ácido fólico	0,97 [0,93-0,99]	0,039
Dosis MTX	0,87 [0,82-0,93]	<0,0001
MTX parenteral	1,80 [0,89-3,65]	0,103
Dosis de prednisona	0,93 [0,90-0,98]	0,004

En el análisis multivariante, la respuesta fue menor en mujeres (OR=0,45), fumadores (OR=0,38), pacientes con erosiones óseas (OR=0,35), elevación del DAS28-PCR basal (OR=0,08) y Mantoux positivo (OR=0,33) (Tabla 31).

8.4.2 Remisión clínica

Las características clínicas asociadas a mayor probabilidad de obtener la remisión fueron la mayor edad al diagnóstico (OR=1,03) y la utilización de la vía de administración parenteral (OR=2,10). Por el contrario, los factores relacionados con una menor probabilidad de remisión fueron el tabaquismo actual (OR=0,39), la presencia de erosiones óseas (OR=0,19), manifestaciones extra-articulares (OR=0,33) y Mantoux positivo (OR=0,18), junto con la mayor actividad basal de la enfermedad, medida por el DAS28-PCR (OR=0,15), el aumento del número de FAME previos (OR=0,51), de la dosis MTX (OR=0,83), y el mayor tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la administración de MTX (OR=0,99) (Tabla 30).

Tabla 30. Análisis bivariante de la remisión – variables clínicas

Características	Remisión OR [IC 95%]	valor p
<i>Sociodemográficas</i>		
Edad al diagnóstico	1,03 [1,01-1,05]	0,001
Sexo mujer	0,71 [0,43-1,18]	0,184
Fumador actual	0,39 [0,21-0,71]	0,002
Bebedor previo o actual	1,29 [0,79-2,10]	0,302
<i>De la propia enfermedad</i>		
Tiempo síntomas-diagnóstico	1,00 [0,99-1,01]	0,910
FR	0,88 [0,48-1,59]	0,666
ACPA	0,70 [0,41-1,17]	0,175
Erosiones óseas	0,19 [0,11-0,32]	<0,0001
DAS28-PCR basal	0,15 [0,09-0,24]	<0,0001
Manifestaciones extraarticulares	0,33 [0,17-0,64]	0,001
Mantoux	0,18 [0,06-0,52]	0,001
<i>Del tratamiento</i>		
Número FAME previos	0,51 [0,33-0,81]	0,004
Tiempo síntomas-MTX	0,99 [0,98-1,00]	0,012
Dosis de ácido fólico	0,98 [0,95-1,01]	0,203
Dosis MTX	0,83 [0,78-0,90]	<0,0001
MTX parenteral	2,10 [1,05-4,21]	0,036
Dosis de prednisona	0,97 [0,92-1,01]	0,131

En el análisis multivariante, la probabilidad de remisión fue menor en mujeres (OR=0,46), fumadores (OR=0,41), presencia de erosiones óseas en el primer año (OR=0,24), manifestaciones extraarticulares (OR=0,36), elevación del DAS28-PCR basal (OR=0,19) y mayor dosis de MTX (OR=0,90). Los pacientes ACPA-positivo tuvieron mayor probabilidad de remisión (OR=2,16) (Tabla 31).

Tabla 31. Análisis multivariante Respuesta / Remisión: variables clínicas

Características	Respuesta a MTX OR [IC 95%]	Valor p	Remisión OR [IC 95%]	Valor p
<i>Sociodemográficas</i>				
Edad al diagnóstico	1,04 [0,99-1,06]	0,125		
Sexo mujer	0,45 [0,20-0,98]	0,044	0,46 [0,23-0,94]	0,033
Fumador actual	0,38 [0,17-0,86]	0,021	0,41 [0,19-0,88]	0,022
Bebedor previo o actual				
<i>De la propia enfermedad</i>				
Tiempo síntomas-diagnóstico				
FR				
ACPA	1,76 [0,77-4,04]	0,179	2,16 [1,01-4,61]	0,047
Erosiones óseas	0,35 [0,16-0,79]	0,011	0,24 [0,11-0,51]	<0,0001
DAS28-PCR basal	0,11 [0,06-0,20]	<0,0001	0,19 [0,11-0,34]	<0,0001
Manif. extraarticulares			0,36 [0,15-0,88]	0,026
Mantoux	0,33 [0,11-0,99]	0,047		
<i>Del tratamiento</i>				
Número FAME previos	0,65 [0,37-1,15]	0,139		
Tiempo síntomas-MTX				
Dosis de ácido fólico	0,96 [0,91-1,00]	0,063		
Dosis MTX			0,90 [0,82-0,99]	0,048
MTX parenteral				
Dosis de prednisona	0,95 [0,89-1,02]	0,150		
		Pseudo R ² =0,46	Pseudo R ² =0,34	

8.4.3 Toxicidad por metotrexato

En la **Tabla 32** se muestran los resultados del análisis bivariante entre las características clínicas y la aparición de toxicidad por MTX, tanto global como de origen digestivo, hepático y hematológico.

La aparición de AA, considerados de forma global, está relacionada con la menor edad del paciente en el momento del diagnóstico (OR=0,98), el sexo femenino (OR=1,95), la elevación del DAS28-PCR (OR=1,38), la presencia de manifestaciones extraarticulares (OR=1,84), y el mayor número de trastornos crónicos (OR=1,14).

Las únicas características clínicas asociadas a la presentación de acontecimientos adversos de tipo digestivo fueron la menor edad al diagnóstico (OR=0,98), y el hecho de ser mujer (OR=2,33).

La presencia de un Mantoux positivo y el mayor número de trastornos crónicos incrementan considerablemente la probabilidad de aparición de AA de naturaleza

hepática, con OR de 2,97 y 1,20, respectivamente.

La aparición de AA de origen hematológico se relacionó con la existencia de erosiones (OR=12,1), el aumento del DAS28-PCR basal (OR=1,93), la presencia de manifestaciones extraarticulares (OR=4,04), el número de trastornos crónicos (OR=1,8), el número de FAME previos a MTX (OR=2,3) y la dosis inicial de prednisona (1,08), aunque esta última se sitúa en el límite de la significación estadística.

Tabla 32. Análisis bivariante de la toxicidad - variables clínicas

Característica	Globales OR (valor p)	Digestivos OR (valor p)	Hepáticos OR (valor p)	Hematológicos OR (valor p)
Edad al diagnóstico	0,98 (0,012)	0,98 (0,015)	1,00 (0,886)	1,01 (0,531)
Sexo mujer	1,95 (0,007)	2,33 (0,005)	0,69 (0,365)	2,02 (0,285)
Fumador actual	1,04 (0,884)	0,86 (0,601)	1,28 (0,567)	0,37 (0,197)
Bebedor previo o actual	0,73 (0,188)	0,63 (0,084)	1,71 (0,186)	0,53 (0,291)
Síntomas-diagnóstico	1,00 (0,406)	1,00 (0,865)	1,01 (0,154)	1,00 (0,867)
FR	0,83 (0,522)	0,82 (0,533)	1,08 (0,882)	3,56 (0,224)
ACPA	1,03 (0,898)	1,28 (0,403)	0,98 (0,960)	1,57 (0,504)
Erosiones óseas	1,33 (0,230)	0,91 (0,719)	1,31 (0,526)	12,1 (0,017)
DAS28-PCR	1,38 (0,023)	1,17 (0,305)	1,55 (0,065)	1,93 (0,036)
M. extraarticulares	1,84 (0,028)	1,14 (0,658)	2,05 (0,090)	4,04 (0,009)
Nº trastornos crónicos	1,14 (0,029)	1,07 (0,313)	1,20 (0,049)	1,8 (<0,0001)
Mantoux	1,71 (0,114)	1,84 (0,077)	2,97 (0,018)	0,95 (0,943)
Nº FAME previos	1,30 (0,106)	1,17 (0,332)	1,43 (0,110)	2,3 (<0,0001)
Síntomas-MTX	1,00 (0,446)	1,00 (0,077)	1,00 (0,355)	1,00 (0,064)
Dosis MTX	1,00 (0,976)	1,00 (0,989)	0,94 (0,283)	1,07 (0,354)
Vía parenteral	0,72 (0,347)	0,65 (0,300)	0,88 (0,845)	1,85 (0,358)
Dosis ácido fólico	1,00 (0,846)	0,99 (0,746)	0,97 (0,408)	0,92 (0,237)
Prednisona al inicio	0,99 (0,590)	0,98 (0,447)	1,00 (0,964)	1,08 (0,043)

En el análisis multivariante de la toxicidad (**Tabla 33**), los acontecimientos adversos considerados globalmente fueron más frecuentes en pacientes mujeres (OR=2,14), con mayor número de trastornos crónicos (OR=1,29), y menor edad (OR=0,97). La toxicidad digestiva aumentó en mujeres (OR=2,45) y pacientes con Mantoux positivo (OR=2,15) y menor edad (OR=0,98). El único determinante de la toxicidad hepática fue el Mantoux positivo (OR=2,65), mientras que las erosiones óseas y el número de trastornos crónicos incrementaron la probabilidad de toxicidad hematológica. No obstante, los modelos para toxicidad tienen menor capacidad explicativa que los relacionados con respuesta y remisión.

Tabla 33. Análisis multivariante de la toxicidad: variables clínicas

Característica	Globales OR (valor p)	Digestivos OR (valor p)	Hepáticos OR (valor p)	Hematológicos OR (valor p)
<i>Sociodemográficas</i>				
Edad al diagnóstico	0,97 (0,001)	0,98 (0,039)		
Sexo mujer	2,14 (0,004)	2,45 (0,004)		3,37 (0,108)
Fumador actual				
Bebedor previo o actual			1,39 (0,433)	
<i>De la enfermedad</i>				
Síntomas-diagnóstico				
FR				
ACPA				
Erosiones óseas				8,75 (0,045)
DAS28PCR				
M. extraarticulares				3,01 (0,075)
Nº trastornos crónicos	1,29 (<0,0001)		1,20 (0,062)	1,74 (<0,0001)
Mantoux positivo		2,15 (0,033)	2,65 (0,042)	
<i>Del tratamiento</i>				
Nº FAME previos				
Síntomas-MTX				
Dosis MTX				
Vía parenteral				
Dosis ácido fólico				
Prednisona al inicio				1,10 (0,066)
Pseudo R ² =0,06 Pseudo R ² =0,05 Pseudo R ² =0,05 Pseudo R ² =0,32				

8.5 Análisis de polimorfismos: bivalente y multivariante

8.5.1 Respuesta a Metotrexato

El análisis de los distintos SNPs demostró asociaciones entre los polimorfismos *ITPA_94CAc*, *MTHFR_677CTc* y *MTHFR_1298ACc* con la respuesta a MTX.

En el análisis bivalente, el genotipo C/C del SNP *MTHFR_1298ACc* se asoció con menor probabilidad de respuesta que los A/A y A/C, según un modelo de herencia recesivo (OR=0,36) y codominante (OR=0,33). Del mismo modo, el genotipo C/A del SNP *ITPA_94CAc* también se asoció con menor probabilidad de respuesta comparado con los C/C y A/A, según los modelos de herencia sobredominante (OR=0,48), dominante (OR=0,50) y codominante (OR=0,48). Se observó una interacción entre el SNP *GGH_16TCc* y el sexo, de forma que el genotipo C/C de este polimorfismo aumenta la posibilidad de respuesta en las mujeres (OR=2,95), pero no en los hombres (OR=0,27), según un modelo de herencia recesivo.

Con el fin de independizar el efecto de los polimorfismos sobre la respuesta a MTX, se realizaron modelos multivariantes de regresión logística para cada SNP controlando el efecto de variables clínicas. En este sentido, en los modelos multivariantes se introdujeron, además del polimorfismo en cuestión, todas las variables que en el bivalente mostraron un valor $p < 0,25$ y también las que tenían un sentido teórico. Siguiendo este criterio los modelos se ajustaron por: edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual) o cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones durante el primer año, DAS28-PCR basal, número de *FAME* previos a MTX, dosis de prednisona, acfol y MTX (máxima), tiempo transcurrido desde los síntomas hasta el inicio de MTX, vía de administración de MTX, Mantoux positivo y ANA positivo. Los resultados del análisis multivariante de la respuesta a MTX son independientes de las variables mencionadas y se muestran en la **Tabla 34**. Estos modelos ajustados demostraron que el genotipo C/C del SNP *MTHFR_1298ACc* disminuye la probabilidad de respuesta a MTX frente a los genotipos A/A y A/C, según un modelo de herencia recesivo (OR=0,09), efecto que se mantiene en los modelos aditivos (OR=0,42) y codominante (OR=0,07). Por el contrario, el genotipo T/T del polimorfismo *MTHFR_677CTc* aumenta la probabilidad de respuesta frente a los genotipos C/C y C/T según un modelo de herencia codominante (OR=4,02), que se mantiene en el modelo aditivo (OR=1,93). Sin embargo, en el modelo multivariante no se mantiene la asociación entre el polimorfismo *ITPA_94CAc* y la respuesta. La interacción entre el SNP *GGH_16TCc* y el sexo se mantiene en el análisis multivariante, de forma que la probabilidad de respuesta aumenta considerablemente en las mujeres con genotipo C/C (OR=11,56), según el modelo de herencia recesivo, aunque los intervalos de confianza son muy amplios. El análisis por sexos se puede ver en la **Tabla 35**.

Tabla 34. SNPs y respuesta a MTX: análisis bivariante y multivariante

SNP y Modelo	Genotipo	Respuesta	No respuesta	Bivariante		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
ABCB1_3435CTc							
Codominante	C/C	41 (27%)	39 (26%)	1	0,93	1	0,87
	C/T	81 (53%)	78 (52%)	1,01 (0,59-1,73)		1,29 (0,46-3,58)	
	T/T	30 (20%)	32 (21%)	1,12 (0,58-2,18)		1,30 (0,39-4,40)	
Dominante	C/C	41 (27%)	39 (26%)	1	0,88	1	0,6
	C/T-T/T	111 (73%)	110 (74%)	1,04 (0,62-1,74)		1,29 (0,50-3,38)	
Recesivo	C/C-C/T	122 (80%)	117 (78%)	1	0,71	1	0,84
	T/T	30 (20%)	32 (21%)	1,11 (0,64-1,95)		1,11 (0,40-3,10)	
Sobredominante	C/C-T/T	71 (47%)	71 (48%)	1	0,87	1	0,76
	C/T	81 (53%)	78 (52%)	0,96 (0,61-1,51)		1,15 (0,48-2,73)	
Log aditivo				1,06 (0,76-1,74)	0,75	1,15 (0,63-2,11)	0,65
AMPD1_34CTc							
Codominante	C/C	121 (80%)	113 (76%)	1	0,21	1	0,38
	C/T	31 (20%)	34 (23%)	1,17 (0,68-2,04)		1,49 (0,56-3,93)	
	T/T	0 (0%)	2 (1%)	NA (0-NA)		NA (0,00-NA)	
Dominante	C/C	121 (80%)	113 (76%)	1	0,43	1	0,35
	C/T-T/T	31 (20%)	36 (24%)	1,24 (0,72-2,14)		1,58 (0,60-4,15)	
Recesivo	C/C-C/T	152(100%)	147 (99%)	1	0,09	1	0,26
	T/T	0 (0%)	2 (1%)	NA (0-NA)		NA (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	121 (80%)	155 (77%)	1	0,61	1	0,46
	C/T	31 (20%)	34 (23%)	1,15 (0,67-2,00)		1,44 (0,54-3,80)	
Log aditivo				1,31 (0,78-2,21)	0,31	1,66 (0,66-4,20)	0,28

Modelos ajustados por edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número FAME previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 34. SNPs y respuesta a MTX: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Respuesta	No respuesta	Bivariante		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
ITPA_94CAc							
Codominante	C/C	124 (82%)	134 (90%)	1	0,1	1	0,99
	C/A	27 (18%)	14 (9%)	0,48 (0,24-0,96)		0,93 (0,28-3,08)	
	A/A	1 (1%)	1 (0,7%)	0,93 (0,06-14,95)		2,52 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	124 (82%)	134 (90%)	1	0,037	1	0,91
	C/A-A/A	28 (18%)	15 (10,1%)	0,50 (0,25-0,97)		0,93 (0,28-3,08)	
Recesivo	C/C-C/A	151 (99%)	148 (99%)	1	0,99	1	0,95
	A/A	1 (1%)	1 (1%)	1,02 (0,06-16,46)		2,56 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-A/A	125 (82%)	135 (91%)	1	0,033	1	0,90
	C/A	27 (18%)	14 (9%)	0,48 (0,24-0,96)		0,93 (0,28-3,08)	
Log aditivo				0,54 (0,29-1,02)		0,93 (0,28-3,08)	0,91
MTHFR_677CTc							
Codominante	C/C	68 (45%)	56 (38%)	1	0,45	1	0,086
	C/T	63 (41%)	69 (46%)	1,33 (0,81-2,17)		1,76 (0,73-4,29)	
	T/T	21 (14%)	24 (16%)	1,39 (0,70-2,75)		4,02 (1,07-15,2)	
Dominante	C/C	68 (45%)	56 (38%)	1	0,21	1	0,068
	C/T-T/T	84 (55%)	93 (62%)	1,34 (0,85-2,13)		2,16 (0,93-4,97)	
Recesivo	C/C-C/T	131 (86%)	125 (84%)	1	0,58	1	0,069
	T/T	21 (14%)	24 (16%)	1,20 (0,63-2,26)		3,01 (0,87-10,43)	
Sobredominante	C/C-T/T	89 (58%)	80 (54%)	1	0,40	1	0,59
	C/T	63 (41%)	69 (46%)	1,22 (0,63-2,26)		1,25 (0,55-2,84)	
Log aditivo				1,21 (0,88-1,67)	0,24	1,93 (1,05-3,55)	0,028

Modelos ajustados por edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número FAME previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 34. SNPs y respuesta a MTX: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Respuesta	No respuesta	Bivariante		Multivariante	
<i>MTHFR_1298ACc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	72 (47%)	81 (54%)	1	0,072	1	0,0066
	A/C	64 (42%)	62 (42%)	0,86 (0,54-1,38)		0,70 (0,30-1,62)	
	C/C	16 (10%)	6 (4%)	0,33 (0,12-0,90)		0,07 (0,01-0,38)	
Dominante	A/A	72 (47%)	81 (54%)	1	0,22	1	0,11
	A/C–C/C	80 (53%)	68 (46%)	0,76 (0,48-1,19)		0,52 (0,23-1,17)	
Recesivo	A/A–A/C	136 (89%)	143 (96%)	1	0,027	1	0,0022
	C/C	16 (10%)	6 (4%)	0,36 (0,14-0,94)		0,09 (0,02-0,44)	
Sobredominante	A/A–C/C	88 (58%)	87 (58%)	1	0,93	1	0,98
	A/C	64 (42%)	62 (42%)	0,98 (0,62-1,55)		0,99 (0,45-2,18)	
Log aditivo				0,71 (0,49-1,02)	0,061	0,42 (0,22-0,83)	0,01
<i>GGH_16TCc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	81 (53%)	73 (49%)	1	0,74	1	0,66
	T/C	58 (38%)	61 (41%)	1,17 (0,72-1,88)		1,03 (0,44-2,40)	
	C/C	13 (9%)	15 (10%)	1,28 (0,57-2,87)		0,55 (0,14-2,16)	
Dominante	T/T	81 (53%)	73 (49%)	1	0,46	1	0,83
	T/C–C/C	71 (47%)	76 (51%)	1,19 (0,76-1,87)		0,92 (0,41-2,05)	
Recesivo	T/T–T/C	139 (91%)	134 (90%)	1	0,65	1	0,36
	C/C	13 (9%)	15 (10%)	1,20 (0,55-2,61)		0,54 (0,15-1,98)	
Sobredominante	T/T–C/C	94 (62%)	88 (59%)	1	0,62	1	0,73
	T/C	58 (38%)	61 (41%)	1,12 (0,71-1,78)		1,15 (0,52-2,56)	
Log aditivo				1,15 (0,81-1,62)	0,44	0,83 (0,45-1,54)	0,56

Modelos ajustados por edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número *FAME* previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 34. SNPs y respuesta a MTX: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Respuesta	No respuesta	Bivariante		Multivariante	
ADA_534AGc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	107 (70%)	106 (72%)	1	0,68	1	0,83
	A/G	38 (35%)	38 (26%)	1,01 (0,60-1,70)		0,76 (0,31-1,87)	
	G/G	7 (5%)	4 (3%)	0,58 (0,16-2,03)		0,86 (0,08-9,09)	
Dominante	A/A	107 (70%)	106 (72%)	1	0,81	1	0,55
	A/G-G/G	45 (30%)	42 (28%)	0,94 (0,57-1,55)		0,77 (0,33-1,82)	
Recesivo	A/A-G/G	145 (95%)	144 (97%)	1	0,38	1	0,94
	G/G	7 (5%)	4 (3%)	0,58 (0,16-2,01)		0,92 (0,09-9,69)	
Sobredominante	A/A-G/G	114 (75%)	110 (74%)	1	0,89	1	0,56
	A/C	38 (25%)	38 (26%)	1,04 (0,62-1,74)		0,76 (0,31-1,87)	
Log aditivo				0,90 (0,59-1,37)	0,62	0,82 (0,39-1,72)	0,59
FPGS_2572GAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	52 (34%)	44 (29%)	1	0,68	1	0,84
	G/A	73 (48%)	76 (51%)	1,23 (0,74-2,06)		1,29 (0,50-3,31)	
	A/A	27 (18%)	29 (19%)	1,27 (0,66-2,46)		1,03 (0,30-3,48)	
Dominante	G/G	52 (34%)	44 (29%)	1	0,38	1	0,67
	G/A-A/A	100 (66%)	105 (70%)	1,24 (0,76-2,02)		1,22 (0,50-2,97)	
Recesivo	G/G-G/A	125 (82%)	44 (29%)	1	0,70	1	0,81
	A/A	27 (18%)	105 (70%)	1,12 (0,63-2,00)		0,88 (0,30-2,54)	
Sobredominante	G/G-A/A	79 (52%)	73 (49%)	1	0,61	1	0,56
	G/A	73 (48%)	76 (51%)	1,13 (0,72-1,77)		1,28 (0,56-2,91)	
Log aditivo				1,14 (0,82-1,58)	0,43	1,05 (0,57-1,91)	0,88

Modelos ajustados por edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número FAME previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 35. SNPs y respuesta a MTX: interacción por sexo

Modelo	Genotipo	Varones		Mujeres		
		Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	
GGH_16TCc						
	Codominante	T/T	1	1	1	1
	T/C	1,52 (0,63-3,63)	2,6 (0,49-13,68)	1,07 (0,60-1,92)	0,83 (0,29-2,31)	
	C/C	0,32 (0,08-1,35)	0,06 (0,01-0,47)	3,04 (1-9,26)	5,65 (0,62-51,21)	
Dominante	T/T	1	1	1	1	
	T/C-C/C	1,06 (0,48-2,34)	1,17 (0,30-4,52)	1,27 (0,73-2,20)	1,01 (0,41-2,51)	
Recesivo	T/T-T/C	1	1	1	1	
	C/C	0,27 (0,07-1,10)	0,05 (0,01-0,32)	2,95 (1-8,71)	11,56 (1,19-112,42)	
Sobredominante	T/T-C/C	1	1	1	1	
	T/C	1,83 (0,79-4,23)	7,58 (1,57-36,51)	0,92 (0,52-1,61)	0,62 (0,24-1,57)	
Log aditivo		0,79 (0,44-1,42)	0,50 (0,14-1,83)	1,40 (0,91-2,17)	1,22 (0,57-2,64)	

8.5.2 Remisión clínica

En el análisis bivariante el genotipo T/T del SNP *MTHFR_677CTc* aumenta ligeramente la probabilidad de remisión comparado con los C/C y C/T, pero no logra alcanzar la significación estadística. Tampoco se encontró asociación de otros SNPs con la obtención de remisión, ni se observaron efectos de interacción por sexo (**Tabla 36**).

Los modelos multivariantes de remisión con MTX se controlaron por edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de bebidas alcohólicas (previa o actual) y cafeína, manifestaciones extra-articulares, valor de FR y ACPA, erosiones durante el primer año, DAS28-PCR basal, número de *FAME* previos a MTX, dosis de prednisona, acfol y MTX (máxima), tiempo transcurrido desde los síntomas hasta el inicio de MTX, vía de administración de MTX, Mantoux positivo y ANA positivo (**Tabla 36**).

Los resultados del análisis multivariante mostraron una asociación de los polimorfismos *MTHFR_677CTc* y *FPGS_2572GAc* con la remisión de la enfermedad. El genotipo T/T del *MTHFR_677CTc* aumenta considerablemente la probabilidad de remisión (OR=4,07) según un patrón de herencia recesivo, efecto que se mantiene en los modelos codominante (OR=5,06) y aditivo (OR=2,06). Por el contrario, el genotipo G/A del *FPGS_2572GAc* disminuye la probabilidad de remisión con respecto a los homocigotos, según el modelo de herencia sobredominante, con un OR de 0,46. También se observó disminución de la probabilidad de remisión con el genotipo T/T del SNP *ABCB1 C3435T* en el modelo recesivo (OR=0,41), aunque no alcanzó significación estadística (p=0,05).

Estos efectos de ambos SNPs sobre la remisión son independientes de la edad al inicio de la enfermedad, el sexo, el tabaquismo, la ingesta de alcohol y cafeína, los títulos de FR y ACPA, el DS28-PCR basal, la presencia de erosiones, manifestaciones extraarticulares y Mantoux positivo, el número de *FAMEs* previos a MTX, el tiempo transcurrido entre los síntomas y el inicio de MTX, las dosis de prednisona, ácido fólico y de MTX y la vía de administración de MTX.

Tabla 36. SNPs y remisión: análisis bivalente y multivariante

SNP y Modelo	Genotipo	No remisión	Remisión	Bivalente		Multivariante	
<i>ABCB1_3435CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	52 (25,9%)	28 (28%)	1	0,72	1	0,13
	C/T	105 (52,2%)	54 (54%)	0,96 (0,54-1,68)		1,24 (0,50-3,12)	
	T/T	44 (21,9%)	18 (18%)	0,76 (0,37-1,55)		0,47 (0,16-1,37)	
Dominante	C/C	52 (21,9%)	28 (28%)	1	0,69	1	0,80
	C/T-T/T	149 (74,1%)	72 (72%)	0,90 (0,52-1,54)		0,90 (0,38-2,09)	
Recesivo	C/C-C/T	157 (78,1%)	82 (82%)	1	0,43	1	0,05
	T/T	44 (21,9%)	18 (18%)	0,78 (0,43-1,44)		0,41 (0,16-1,02)	
Sobredominante	C/C-T/T	96 (47,8%)	46 (46%)	1	0,77	1	0,15
	C/T	105 (52,2%)	54 (54%)	1,07 (0,66-1,74)		1,76 (0,81-3,82)	
Log aditivo				0,88 (0,62-1,25)	0,47	0,70 (0,41-1,19)	0,19
<i>AMPD1_34CTC</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	155 (77,1%)	79 (79%)	1	0,43	1	0,68
	C/T	44 (21,9%)	21 (21%)	0,94 (0,52-1,68)		0,96 (0,43-2,10)	
	T/T	2 (1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	155 (77,1%)	79 (79,0%)	1	0,71	1	0,79
	C/T-T/T	46 (22,9%)	21 (21,0%)	0,90 (0,50-1,60)		0,89 (0,37-2,12)	
Recesivo	C/C-C/T	199 (99%)	100 (100%)	1	0,20	1	0,39
	T/T	2 (1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	157 (78,1%)	79 (79,0%)	1	0,86	1	0,90
	C/T	44 (21,9%)	21 (21,0%)	0,95 (0,53-1,70)		0,94 (0,39-2,27)	
Log aditivo				0,86 (0,49-1,50)	0,59	0,85 (0,37-1,96)	0,71

Modelos ajustados por: edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número *FAME* previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 36. SNPs y remisión: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	No remisión	Remisión	Bivariante		Multivariante	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	168 (83,6%)	90 (90%)	1	0,18	1	0,20
	C/A	31 (15,4%)	10 (10%)	0,60 (0,28-1,28)		1,34 (0,40-4,41)	
	A/A	2 (1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	168 (83,6%)	90 (90%)	1	0,12	1	0,91
	C/A–A/A	33 (16,4%)	10 (10%)	0,57 (0,27-1,20)		1,07 (0,33-3,49)	
Recesivo	C/C–C/A	199 (99%)	100 (100%)	1	0,20	1	0,083
	A/A	2 (1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C–A/A	170 (84,6%)	90 (90%)	1	0,19	1	0,57
	C/A	31 (15,4%)	10 (10%)	0,61 (0,29-1,30)		1,42 (0,43-4,62)	
Log aditivo				0,55 (0,27-1,14)	0,09	0,84 (0,28-2,52)	0,76
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	89 (44,3%)	35 (35%)	1	0,14	1	0,015
	C/T	87 (43,3%)	45 (45%)	1,32 (0,77-2,24)		1,52 (0,67-3,43)	
	T/T	25 (12,4%)	20 (20%)	2,03 (1-4,12)		5,06 (1,61-15,89)	
Dominante	C/C	89 (44,3%)	35 (35%)	1	0,12	1	0,053
	C/T–T/T	112 (55,7%)	65 (65%)	1,48 (0,90-2,42)		2,10 (0,98-4,48)	
Recesivo	C/C–C/T	176 (87,6%)	80 (80%)	1	0,089	1	0,0064
	T/T	25 (12,4%)	20 (20%)	1,76 (0,92-3,35)		4,07 (1,42-11,65)	
Sobredominante	C/C–T/T	114 (56,7%)	55 (55%)	1	0,78	1	0,91
	C/T	87 (43,3%)	45 (45%)	1,07 (0,66-1,74)		0,96 (0,46-2,01)	
Log aditivo				1,40 (1-1,98)	0,051	2,06 (1,21-3,53)	0,0062

Modelos ajustados por: edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número *FAME* previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 36. SNPs y remisión: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	No remisión	Remisión	Bivariante		Multivariante	
<i>MTHFR_1298ACc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	101 (50,2%)	52 (52%)	1	0,53	1	0,53
	A/C	83 (41,3%)	43 (43%)	1,01 (0,61-1,65)		1,01 (0,47-2,17)	
	C/C	17 (8,5%)	5 (5%)	0,57 (0,20-1,64)		0,45 (0,11-1,89)	
Dominante	A/A	101 (50,2%)	52 (52%)	1	0,77	1	0,73
	A/C –C/C	100 (49,8%)	48 (48%)	0,93 (0,58-1,51)		0,88 (0,42-1,83)	
Recesivo	A/A –C/C	184 (91,5%)	95 (95%)	1	0,26	1	0,26
	C/C	17 (8,5%)	5 (5%)	0,57 (0,10-1,59)		0,45 (0,11-1,82)	
Sobredominante	A/A–C/C	118 (58,7%)	57 (57%)	1	0,78	1	0,79
	A/C	83 (41,3%)	43 (43%)	1,07 (0,66-1,74)		1,11 (0,53-2,34)	
Log aditivo				0,87 (0,59-1,29)	0,5	0,80 (0,45-1,43)	0,46
<i>GGH_16TCc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	106 (52,7%)	48 (48%)	1	0,66	1	0,98
	T/C	78 (38,8%)	41 (41%)	1,16 (0,70-1,93)		0,94 (0,43-2,05)	
	C/C	17 (8,5%)	11 (11%)	1,43 (0,62-3,28)		0,92 (0,27-3,07)	
Dominante	T/T	106 (52,7%)	48(48%)	1	0,44	1	0,86
	T/C–C/C	95 (47,3%)	52 (52%)	1,21 (0,75-1,95)		0,93 (0,44-1,97)	
Recesivo	T/T–T/C	184 (91,5%)	89 (89%)	1	0,48	1	0,92
	C/C	17 (8,5%)	11 (11%)	1,34 (0,60-2,98)		0,95 (0,30-2,95)	
Sobredominante	T/T-C/C	123 (61,2%)	59 (59%)	1	0,71	1	0,96
	T/C	78 (38,8%)	41 (41%)	1,10 (0,67-1,79)		0,96 (0,46-2,00)	
Log aditivo				1,18 (0,82-1,70)	0,37	0,95 (0,55-1,65)	0,86

Modelos ajustados por: edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número FAME previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

Tabla 36. SNPs y remisión: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	No remisión	Remisión	Bivariante		Multivariante	
<i>ADA_534AGc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	142 (70,7%)	71 (71,7%)	1	0,91	1	0,71
	A/G	51 (25,4%)	25 (25,2%)	0,98 (0,56-1,71)		1,41 (0,62-3,22)	
	G/G	8 (4%)	3 (3%)	0,75 (0,19-2,91)		1,25 (0,15-10,58)	
Dominante	A/A	142 (70,7%)	71 (71,7%)	1	0,85	1	0,42
	A/G –G/G	59 (29,4%)	28 (28,3%)	0,95 (0,56-1,62)		1,39 (0,62-3,11)	
Recesivo	A/A –G/G	193 (96%)	96 (97%)	1	0,68	1	0,92
	G/G	8 (4%)	3 (3%)	0,75 (0,20-2,91)		1,11 (0,14-9,04)	
Sobredominante	A/A–G/G	150 (74,6%)	74 (74,8%)	1	0,98	1	0,43
	A/C	51 (25,4%)	25 (25,2%)	0,99 (0,57-1,73)		1,39 (0,61-3,16)	
Log aditivo				0,93 (0,60-1,46)	0,76	1,30 (0,65-2,59)	0,46
<i>FPGS_2572GAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	65 (32,3%)	31 (31%)	1	0,23	1	0,078
	G/A	104 (51,7%)	45 (45%)	0,91 (0,52-1,58)		0,57 (0,24-1,34)	
	A/A	32 (15,9%)	24 (24%)	1,57 (0,80-3,11)		1,74 (0,58-5,21)	
Dominante	G/G	65 (32,3%)	31 (31%)	1	0,81	1	0,53
	G/A–A/A	136 (67,7%)	69 (69%)	1,06 (0,63-1,78)		0,77 (0,35-1,72)	
Recesivo	G/G– G/A	169 (84,1%)	76 (76%)	1	0,095	1	0,065
	A/A	32 (15,9%)	24 (24%)	1,67 (0,92-3,02)		2,45 (0,93-6,44)	
Sobredominante	G/G-A/A	97 (48,3%)	55 (55%)	1	0,27	1	0,042
	G/A	104 (51,7%)	45 (45%)	0,76 (0,47-1,23)		0,46 (0,22-0,98)	
Log aditivo				1,21 (0,86-1,71)	0,27	1,18 (0,69-2,02)	0,54

Modelos ajustados por: edad al inicio de la enfermedad, sexo, tabaquismo actual, ingesta de alcohol (previa o actual), cafeína, manifestaciones extraarticulares, valor FR y ACPA, erosiones, DAS28-PCR basal, número *FAME* previos, dosis de prednisona, acfol y MTX máxima, tiempo hasta el MTX, vía de administración, Mantoux positivo y ANA positivo.

8.5.3 Toxicidad por metotrexato

8.5.3.1 Acontecimientos adversos globales

Se observó una asociación en el análisis bivalente entre el polimorfismo *ADA_534AGc* y los AA globales (**Tabla 37**), de forma que el genotipo A/G disminuye significativamente la probabilidad de aparición de acontecimientos adversos frente al A/A y G/G, según los modelos sobredominante (OR=0,55) y codominante (0,57). No se encontró ninguna interacción por sexo.

Los modelos multivariantes para AA globales se controlaron por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux, y número de *FAME* previos y de trastornos crónicos. Los análisis ajustados (**Tabla 37**) confirmaron que el genotipo A/G del SNP *ADA_534AGc* disminuye la probabilidad de acontecimientos adversos globales comparado con los homocigotos, según los modelos sobredominante (OR=0,51) y codominante (OR=0,53). También mostraron que el genotipo C/T del polimorfismo *MTHFR_677CTc* aumenta la probabilidad de acontecimientos adversos en general frente a los genotipos C/C y T/T, según los modelos de herencia sobredominante (OR=1,95) y codominante (OR=1,80).

Tabla 37. SNPs y toxicidad global: análisis bivalente y multivariante

SNP y Modelo	Genotipo	Sin AA	AA	Bivalente		Multivariante	
<i>ABC1_3435CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	40 (26,9%)	40 (26,3%)	1	0,56	1	0,19
	C/T	82 (55%)	77 (50,7%)	0,94 (0,55-1,61)		0,85 (0,47-1,55)	
	T/T	27 (18,1%)	35 (23%)	1,30 (0,67-2,52)		1,56 (0,76-3,23)	
Dominante	C/C	40 (26,9%)	40 (26,3%)	1	0,92	1	0,92
	C/T-T/T	109 (73,2%)	112 (73,7%)	1,03 (0,62-1,71)		1,03 (0,59-1,80)	
Recesivo	C/C-C/T	122 (81,9%)	117 (77%)	1	0,29	1	0,082
	T/T	27 (18,1%)	35 (23%)	1,35 (0,77-2,37)		1,73 (0,93-3,21)	
Sobredominante	C/C-T/T	67 (45%)	75 (49,3%)	1	0,45	1	0,18
	C/T	82 (55%)	77 (50,7%)	0,84 (0,53-1,32)		0,70 (0,42-1,17)	
Log aditivo		---	---	1,12 (0,81-1,56)	0,49	1,22 (0,85-1,75)	0,28
<i>AMPD1_34CTC</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	114 (76,5%)	120 (79%)	1	0,23	1	0,35
	C/T	33 (22,1%)	32 (21,1%)	0,92 (0,53-1,60)		1,04 (0,57-1,91)	
	T/T	2 (1,3%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	114 (76,5%)	120 (79%)	1	0,61	1	0,95
	C/T-T/T	35 (23,5%)	32 (21,1%)	0,87 (0,50-1,50)		0,98 (0,54-1,79)	
Recesivo	C/C-C/T	147 (98,7%)	152 (100%)	1	0,093	1	0,15
	T/T	2 (1,3%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	116 (77,8%)	120 (79%)	1	0,82	1	0,86
	C/T	33 (22,1%)	32 (21,1%)	0,94 (0,54-1,62)		1,05 (0,57-1,94)	
Log aditivo		---	---	0,82 (0,49-1,38)	0,45	0,92 (0,52-1,63)	0,78

Modelos ajustados por: edad al diagnóstico, sexo, fumador actual, ingesta de alcohol (actual o previa) o cafeína, número de FAME previos a MTX, dosis de prednisona, acfol y MTX (máxima tolerada), vía de administración de MTX, Mantoux y número de trastornos crónicos.

Tabla 37. SNPs y toxicidad global: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin AA	AA	Bivariante		Multivariante	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	130 (87,2%)	128 (84,2%)	1	0,23	1	0,24
	C/A	19 (12,8%)	22 (14,5%)	1,18 (0,61-2,28)		1,23 (0,59-2,54)	
	A/A	0 (0%)	2 (1,3%)	NA (0,00-NA)		NA (0,00-NA)	
Dominante	C/C	130 (87,2%)	128 (84,2%)	1	0,45	1	0,45
	C/A–A/A	19 (12,8%)	24 (15,8%)	1,28 (0,67-2,46)		1,32 (0,64-2,72)	
Recesivo	C/C–C/A	149 (100%)	150 (98,7%)	1	0,098	1	0,11
	A/A	0 (0%)	2 (1,3%)	NA (0,00-NA)		NA (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C–A/A	130 (87,2%)	130 (85,5%)	1	0,66	1	0,64
	C/A	19 (12,8%)	22 (14,5%)	1,16 (0,60-2,24)		1,19 (0,58-2,46)	
Log aditivo		---	---	1,37 (0,74-2,52)	0,31	1,42 (0,71-2,82)	0,32
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	65 (43,6%)	59 (38,8%)	1	0,32	1	0,029
	C/T	59 (39,6%)	73 (48%)	1,36 (0,83-2,23)		1,80 (1,03-3,14)	
	T/T	25 (16,8%)	20 (13,2%)	0,88 (0,44-1,75)		0,73 (0,34-1,56)	
Dominante	C/C	65 (43,6%)	59 (38,8%)	1	0,4	1	0,19
	C/T–T/T	84 (56,4%)	93 (61,2%)	1,22 (0,77-1,93)		1,40 (0,84-2,34)	
Recesivo	C/C–C/T	124 (83,2%)	132 (86,8%)	1	0,38	1	0,099
	T/T	25 (16,8%)	20 (13,2%)	0,75 (0,40-1,42)		0,55 (0,27-1,12)	
Sobredominante	C/C–T/T	90 (60,4%)	79 (52%)	1	0,14	1	0,011
	C/T	59 (39,6%)	73 (48%)	1,41 (0,89-2,23)		1,95 (1,15-3,29)	
Log aditivo		---	---	1,02 (0,74-1,41)	0,88	1,01 (0,71-1,44)	0,94

Modelos ajustados por: edad al diagnóstico, sexo, fumador actual, ingesta de alcohol (actual o previa) o cafeína, número de FAMES previos a MTX, dosis de prednisona, acfól y MTX (máxima tolerada), vía de administración de MTX, Mantoux y número de trastornos crónicos.

Tabla 37. SNPs y toxicidad global: análisis bivariante y multivariante (cont.)

<i>SNP y Modelo</i>	<i>Genotipo</i>	<i>Sin AA</i>	<i>AA</i>	<i>Bivariante</i>		<i>Multivariante</i>	
<i>MTHFR_1298ACc</i>				<i>OR (IC95%)</i>	<i>Valor p</i>	<i>OR (IC95%)</i>	<i>Valor p</i>
Codominante	A/A	80 (53,7%)	73 (48%)	1	0,61	1	0,37
	A/C	59 (39,6%)	67 (44,1%)	1,24 (0,78-2,00)		1,36 (0,81-2,30)	
	C/C	10 (6,7%)	12 (7,9%)	1,32 (0,54-3,23)		1,72 (0,64-4,61)	
Dominante	A/A	80 (53,7%)	73 (48%)	1	0,33	1	0,18
	A/C–C/C	69 (46,3%)	79 (52%)	1,25 (0,80-1,97)		1,41 (0,85-2,33)	
Recesivo	A/A–C/C	139 (93,3%)	140 (92,1%)	1	0,69	1	0,42
	C/C	10 (6,7%)	12 (7,9%)	1,19 (0,50-2,85)		1,47 (0,57-3,81)	
Sobredominante	A/A–C/C	90 (60,4%)	85 (55,9%)	1	0,43	1	0,36
	A/C	59 (39,6%)	67 (44,1%)	1,20 (0,76-1,90)		1,26 (0,76-2,09)	
Log aditivo		---	---	1,19 (0,83-1,71)	0,34	1,33 (0,89-2,00)	0,16
<i>GGH_16TCc</i>				<i>OR (IC95%)</i>	<i>Valor p</i>	<i>OR (IC95%)</i>	<i>Valor p</i>
Codominante	T/T	79 (53%)	75 (49,3%)	1	0,15	1	0,14
	T/C	61 (40,9%)	58 (38,2%)	1 (0,62-1,62)		1,05 (0,62-1,77)	
	C/C	9 (6%)	19 (12,5%)	2,22 (0,95-5,22)		2,45 (0,97-6,22)	
Dominante	T/T	79 (53%)	75 (49,3%)	1	0,52	1	0,45
	T/C–C/C	70 (47%)	77 (50,7%)	1,16 (0,74-1,82)		1,21 (0,74-1,99)	
Recesivo	T/T–T/C	140 (94%)	133 (87,5%)	1	0,051	1	0,05
	C/C	9 (6%)	19 (12,5%)	2,22 (0,97-5,09)		2,40 (0,98-5,89)	
Sobredominante	T/T–C/C	88 (59,1%)	94 (61,8%)	1	0,62	1	0,71
	T/C	61 (40,9%)	58 (38,2%)	0,89 (0,56-1,41)		0,91 (0,55-1,50)	
Log aditivo		---	---	1,27 (0,90-1,79)	0,18	1,33 (0,90-1,95)	0,15

Modelos ajustados por: edad al diagnóstico, sexo, fumador actual, ingesta de alcohol (actual o previa) o cafeína, número de *FAME* previos a MTX, dosis de prednisona, acfól y MTX (máxima tolerada), vía de administración de MTX, Mantoux y número de trastornos crónicos.

Tabla 37. SNPs y toxicidad global: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin AA	AA	Bivariante		Multivariante	
<i>ADA_534AGc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	99 (66,9%)	114 (75%)	1	0,034	1	0,028
	A/G	46 (31,1%)	30 (19,7%)	0,57 (0,33-0,97)		0,53 (0,29-0,97)	
	G/G	3 (2%)	8 (5,3%)	2,32 (0,60-8,97)		2,78 (0,65-11,98)	
Dominante	A/A	99 (66,9%)	114 (75%)	1	0,12	1	0,15
	A/G–G/G	49 (33,1%)	38 (25%)	0,67 (0,41-1,11)		0,66 (0,38-1,16)	
Recesivo	A/A–G/G	145 (98%)	144 (94,7%)	1	0,13	1	0,094
	G/G	3 (2%)	8 (5,3%)	2,69 (0,70-10,32)		3,25 (0,76-13,92)	
Sobredominante	A/A–G/G	102 (68,9%)	122 (80,3%)	1	0,024	1	0,024
	A/G	46 (31,1%)	30 (19,7%)	0,55 (0,32-0,93)		0,51 (0,28-0,92)	
Log aditivo		---	---	0,85 (0,56-1,29)	0,44	0,86 (0,55-1,37)	0,53
<i>FPGS_2572GAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	48 (32,2%)	48 (31,6%)	1	0,9	1	0,79
	G/A	72 (48,3%)	77 (50,7%)	1,07 (0,64-1,79)		1,18 (0,67-2,07)	
	A/A	29 (19,5%)	27 (17,8%)	0,93 (0,48-1,80)		0,98 (0,47-2,06)	
Dominante	G/G	48 (32,2%)	48 (31,6%)	1	0,91	1	0,66
	G/A–A/A	101 (67,8%)	104 (68,4%)	1,03 (0,63-1,67)		1,13 (0,66-1,93)	
Recesivo	G/G–G/A	120 (80,5%)	125 (82,2%)	1	0,7	1	0,71
	A/A	29 (19,5%)	27 (17,8%)	0,89 (0,50-1,60)		0,88 (0,46-1,70)	
Sobredominante	G/G–A/A	77 (51,7%)	75 (49,3%)	1	0,69	1	0,49
	G/A	72 (48,3%)	77 (50,7%)	1,10 (0,70-1,73)		1,19 (0,73-1,95)	
Log aditivo		---	---	0,98 (0,71-1,35)	0,89	1,02 (0,71-1,46)	0,93

Modelos ajustados por: edad al diagnóstico, sexo, fumador actual, ingesta de alcohol (actual o previa) o cafeína, número de *FAME* previos a MTX, dosis de prednisona, acfol y MTX (máxima tolerada), vía de administración de MTX, Mantoux y número de trastornos crónicos.

8.5.3.2 Acontecimientos adversos digestivos

En el análisis bivalente, sólo se observó una menor frecuencia de eventos adversos digestivos en los pacientes con genotipo A/G del SNP *ADA_534AGc*, comparado con los genotipos A/A y G/G, según un modelo de herencia sobredominante (OR=0,52) (**Tabla 38**). Por otra parte, se encontró una interacción entre el polimorfismo *FPGS_2572GAc* y el sexo, de forma que la frecuencia de los AA gastrointestinales disminuye considerablemente en varones, especialmente para el genotipo G/A sobre los G/G y A/A, según los modelos de herencia sobredominante (OR=0,31) y codominante (OR=0,30; valor $p=0,028$), pero no en las mujeres (**Tabla 39**).

En el análisis multivariante para AA de naturaleza digestiva, controlado por la edad en el momento del diagnóstico, el sexo, tabaquismo actual, el consumo de alcohol (actual o previo) y café, la dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, la vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de *FAME* previos y de trastornos crónicos, se mantuvo la asociación del SNP *ADA_534AGc* y la interacción entre el polimorfismo *FPGS_2572GAc* y el sexo (**Tabla 38**). Los pacientes con el genotipo A/G del polimorfismo *ADA_534AGc* tuvieron AA digestivos con menor frecuencia que los homocigotos, según los modelos de herencia sobredominante (OR=0,39) y codominante (0,41). De la misma forma, los varones con el genotipo G/A del SNP *FPGS_2572GAc*, pero no las mujeres, tuvieron menor frecuencia de AA gastrointestinales, según los modelos de herencia sobredominante (OR=0,17), codominante (OR=0,15) y dominante (OR=0,25) (**Tabla 39**).

Tabla 38. SNPs y toxicidad digestiva: análisis bivalente y multivariante

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad digestiva	Bivalente		Multivariante	
<i>ABCB1_3435CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	58 (27,1%)	22 (25,3%)	1	0,92	1	0,88
	C/T	113 (52,8%)	46 (52,9%)	1,07 (0,59-1,95)		1,04 (0,52-2,07)	
	T/T	43 (20,1%)	19 (21,8%)	1,16 (0,56-2,42)		1,22 (0,54-2,75)	
Dominante	C/C	58 (27,1%)	22 (25,3%)	1	0,75	1	0,79
	C/T-T/T	156 (72,9%)	65 (74,7%)	1,10 (0,62-1,94)		1,09 (0,57-2,09)	
Recesivo	C/C-C/T	171 (79,9%)	68 (78,2%)	1	0,74	1	0,62
	T/T	43 (20,1%)	19 (21,8%)	1,11 (0,60-2,04)		1,19 (0,60-2,35)	
Sobredominante	C/C-T/T	101 (47,2%)	41 (47,1%)	1	0,99	1	0,87
	C/T	113 (52,8%)	46 (52,9%)	1,00 (0,61-1,65)		0,95 (0,53-1,69)	
Log aditivo				1,08 (0,75-1,55)	0,68	1,10 (0,73-1,66)	0,52
<i>AMPD1_34CTC</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	168 (78,5%)	66 (75,9%)	1,00	0,41	1	0,28
	C/T	44 (20,6%)	21 (24,1%)	1,21 (0,67-2,20)		1,49 (0,76-2,94)	
	T/T	2 (0,9%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	168 (78,5%)	66 (75,9%)	1,00	0,62	1	0,32
	C/T-T/T	46 (21,5%)	21 (24,1%)	1,16 (0,64-2,10)		1,42 (0,72-2,77)	
Recesivo	C/C-C/T	212 (99,1%)	87 (100%)	1,00	0,24	1	0,27
	T/T	2 (0,9%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	170 (79,4%)	66 (75,9%)	1	0,5	1	0,23
	C/T	44 (20,6%)	21 (24,1%)	1,23 (0,68-2,22)		1,51 (0,77-2,98)	
Log aditivo				1,09 (0,62-1,92)	0,76	1,30 (0,68-2,46)	0,43

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, el sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, las dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de *FAME* previos y de trastornos crónicos.

Tabla 38. SNPs y toxicidad digestiva: análisis bivalente y multivalente (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad digestiva	Bivalente		Multivalente	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	186 (86,9%)	72 (82,8%)	1	0,073	1	0,10
	C/A	28 (13,1%)	13 (14,9%)	1,20 (0,59-2,44)		1,50 (0,67-3,35)	
	A/A	0 (0%)	2 (2,3%)	NA (0,00-NA)		NA (0,00-NA)	
Dominante	C/C	186 (86,9%)	72 (82,8%)	1	0,36	1	0,21
	C/A-A/A	28 (13,1%)	15 (17,2%)	1,38 (0,70-2,74)		1,66 (0,76-3,63)	
Recesivo	C/C-C/A	214 (100%)	85 (97,7%)	1	0,025	1	0,058
	A/A	0 (0%)	2 (2,3%)	NA (0,00-NA)		NA (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-A/A	186 (86,9%)	74 (85,1%)	1	0,67	1	0,38
	C/A	28 (13,1%)	13 (14,9%)	1,17 (0,57-2,38)		1,43 (0,65-3,18)	
Log aditivo				1,54 (0,82-2,88)	0,19	1,80 (0,86-3,77)	0,12
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	91 (42,5%)	33 (37,9%)	1	0,62	1	0,39
	C/T	90 (42,1%)	42 (48,3%)	1,29 (0,75-2,21)		1,48 (0,80-2,73)	
	T/T	33 (15,4%)	12 (13,8%)	1,00 (0,46-2,17)		0,97 (0,41-2,27)	
Dominante	C/C	91 (42,5%)	33 (37,9%)	1	0,46	1	0,34
	C/T-T/T	123 (57,5%)	54 (62,1%)	1,21 (0,73-2,02)		1,32 (0,75-2,33)	
Recesivo	C/C-C/T	181 (84,6%)	75 (86,2%)	1	0,72	1	0,59
	T/T	3 (15,4%)	12 (13,8%)	0,88 (0,43-1,79)		0,80 (0,36-1,77)	
Sobredominante	C/C-T/T	124 (57,9%)	45 (51,7%)	1	0,32	1	0,17
	C/T	90 (42,1%)	42 (48,3%)	1,29 (0,78-2,12)		1,49 (0,84-2,64)	
Log aditivo				1,06 (0,75-1,51)	0,74	1,08 (0,73-1,59)	0,70

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, el sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, las dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de *FAME* previos y de trastornos crónicos.

Tabla 38. SNPs y toxicidad digestiva: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad digestiva	Bivalente		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
MTHFR_1298ACc							
Codominante	A/A	111 (51,9%)	42 (48,3%)	1	0,69	1	0,63
	A/C	89 (41,6%)	37 (42,5%)	1,10 (0,65-1,85)		1,05 (0,58-1,90)	
	C/C	14 (6,5%)	8 (9,2%)	1,51 (0,59-3,86)		1,70 (0,58-5,01)	
Dominante	A/A	111 (51,9%)	42 (48,3%)	1	0,57	1	0,69
	A/C-C/C	103 (48,1%)	45 (51,7%)	1,15 (0,70-1,90)		1,12 (0,64-1,99)	
Recesivo	A/A-A/C	200 (93,5%)	79 (90,8%)	1	0,43	1	0,34
	C/C	14 (6,5%)	8 (9,2%)	1,45 (0,58-3,58)		1,66 (0,59-4,69)	
Sobredominante	A/A-C/C	125 (58,4%)	50 (57,5%)	1	0,88	1	0,92
	A/C	89 (41,6%)	37 (42,5%)	1,04 (0,63-1,72)		0,97 (0,55-1,72)	
Log aditivo				1,17 (0,79-1,74)	0,43	1,18 (0,75-1,87)	0,47
GGH_16TCc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	107 (50%)	47 (54%)	1	0,36	1	0,19
	T/C	84 (39,2%)	35 (40,2%)	0,95 (0,56-1,60)		0,89 (0,50-1,60)	
	C/C	23 (10,8%)	5 (5,8%)	0,49 (0,18-1,38)		0,36 (0,11-1,17)	
Dominante	T/T	107 (50%)	47 (54%)	1	0,53	1	0,37
	T/C-C/C	107 (50%)	40 (46%)	0,85 (0,52-1,40)		0,78 (0,44-1,36)	
Recesivo	T/T-T/C	191 (89,2%)	82 (94,2%)	1	0,16	1	0,077
	C/C	23 (10,8%)	5 (5,8%)	0,51 (0,19-1,38)		0,38 (0,12-1,20)	
Sobredominante	T/T-C/C	130 (60,8%)	52 (59,8%)	1	0,88	1	0,93
	T/C	84 (39,2%)	35 (40,2%)	1,04 (0,63-1,73)		1,03 (0,58-1,81)	
Log aditivo				0,81 (0,55-1,19)	0,28	0,72 (0,46-1,13)	0,15

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, el sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, las dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 38. SNPs y toxicidad digestiva: análisis bivalente y multivalente (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad digestiva	Bivalente		Multivalente	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
ADA_534AGc							
Codominante	A/A	146 (68,5%)	67 (77%)	1	0,068	1	0,016
	A/G	61 (28,6%)	15 (17,2%)	0,54 (0,28-1,01)		0,41 (0,20-0,85)	
	G/G	6 (2,8%)	5 (5,8%)	1,82 (0,54-6,16)		2,17 (0,54-8,77)	
Dominante	A/A	146 (68,5%)	67 (77%)	1	0,14	1	0,053
	A/G –G/G	67 (31,5%)	20 (23%)	0,65 (0,37-1,16)		0,53 (0,27-1,02)	
Recesivo	A/A –A/G	207 (97,2%)	82 (94,2%)	1	0,24	1	0,33
	G/G	6 (2,8%)	5 (5,8%)	2,10 (0,62-7,08)		2,78 (0,70-11,05)	
Sobredominante	A/A–G/G	152 (71,4%)	72 (82,8%)	1	0,034	1	0,0074
	A/G	61 (28,6%)	15 (17,2%)	0,52 (0,28-0,98)		0,39 (0,19-0,80)	
Log aditivo				0,82 (0,51-1,33)	0,42	0,74 (0,43-1,28)	0,27
FPGS_2572GAc							
Codominante	G/G	63 (29,4%)	33 (37,9%)	1	0,30	1	0,37
	G/A	108 (50,5%)	41 (47,1%)	0,72 (0,42-1,26)		0,82 (0,44-1,51)	
	A/A	43 (20,1%)	13 (14,9%)	0,58 (0,27-1,22)		0,54 (0,23-1,28)	
Dominante	G/G	63 (29,4%)	33 (37,9%)	1	0,16	1	0,32
	G/A–A/A	151 (70,6%)	54 (62,1%)	0,68 (0,40-1,15)		0,74 (0,41-1,33)	
Recesivo	G/G– G/A	171 (79,9%)	74 (85,1%)	1	0,29	1	0,21
	A/A	43 (20,1%)	13 (14,9%)	0,70 (0,35-1,38)		0,61 (0,28-1,33)	
Sobredominante	G/G-A/A	106 (49,5%)	46 (52,9%)	1	0,60	1	1,00
	G/A	108 (50,5%)	41 (47,1%)	0,87 (0,53-1,44)		1,00 (0,58-1,74)	
Log aditivo				0,75 (0,52-1,08)	0,12	0,75 (0,51-1,13)	0,17

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, el sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, las dosis de prednisona, ácido fólico y

MTX, vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 39. SNPs y toxicidad digestiva: interacción por sexo

Modelo	Genotipo	Varones		Mujeres		
		Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	
FPGS_2572GAc						
	Codominante	G/G	1	1	1	1
		G/A	0,30 (0,09-0,98)	0,15 (0,04-0,66)	1,04 (0,54-1,98)	1,31 (0,65-2,65)
A/A		0,91 (0,22-3,72)	0,74 (0,15-3,60)	0,48 (0,20-1,18)	0,48 (0,18-1,27)	
Dominante	G/G	1	1	1	1	
	G/A-A/A	0,41 (0,14-1,18)	0,25 (0,07-0,88)	0,84 (0,46-1,55)	1 (0,51-1,94)	
Recesivo	G/G- G/A	1	1	1	1	
	A/A	1,82 (0,51-6,54)	2,20 (0,55-8,84)	0,47 (0,21-1,06)	0,41 (0,17-0,99)	
Sobredominante	G/G-A/A	1	1	1	1	
	G/A	0,31 (0,11-0,91)	0,17 (0,05-0,64)	1,33 (0,74-2,39)	1,68 (0,89-3,18)	
Log aditivo		0,76 (0,34-1,70)	0,66 (0,26-1,64)	0,75 (0,50-1,13)	0,77 (0,50-1,21)	

8.5.3.3 Acontecimientos adversos hepáticos

En el análisis bivariante, se encontró asociación de los polimorfismos *ADA_534AGc* y *MTHFR_1298ACc* con la elevación de transaminasas. Los pacientes homocigotos para el alelo mutado (genotipo G/G) del SNP *ADA_534AGc* tuvieron un incremento muy importante de la frecuencia de este tipo de eventos comparado con los portadores de los genotipos A/A y A/G, según los modelos de herencia recesivo (OR=10,11) y codominante (OR=8,04) (**Tabla 40**). Además, se encontró un efecto de interacción por sexo con el SNP *MTHFR_1298ACc* de tal forma que el riesgo de AA hepáticos aumenta de forma muy importante en varones portadores del genotipo C/C frente a los A/A y A/C (OR=9,56; valor $p=0,046$) en modelos de herencia recesivos, mientras que en las mujeres no se observa ningún efecto de este polimorfismo (**Tabla 41**).

Los modelos multivariantes de asociación entre SNPs y AA hepáticos se controlaron por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, ingesta de alcohol (actual o previo) y cafeína, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y número de FAMEs previos y de trastornos crónicos. Los resultados confirmaron un aumento muy importante de la probabilidad de AA hepáticos en los pacientes con genotipo G/G del polimorfismo *ADA_534AGc*, comparado con los A/A y A/G, en los modelos de herencia recesivo (OR=19,62) y codominante (OR=15,94) (**Tabla 40**). También confirmaron el efecto de interacción entre el *MTHFR_1298ACc* y el sexo, por el que los varones (pero no las mujeres) con genotipo C/C tienen un riesgo incrementado de AA hepáticos, que se mantiene en el modelo genético aditivo (OR=8,34; $p=0,003$).

Tabla 40. SNPs y toxicidad hepática: análisis bivalente y multivalente

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hepática	Bivalente		Multivalente	
<i>ABCB1_3435CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	73 (26,6%)	7 (25,9%)	1	0,35	1	0,56
	C/T	142 (51,8%)	17 (63%)	1,25 (0,50-3,15)		1,06 (0,38-2,92)	
	T/T	59 (21,5%)	3 (11,1%)	0,53 (0,13-2,14)		0,53 (0,12-2,33)	
Dominante	C/C	73 (26,6%)	7 (25,9%)	1	0,94	1	0,84
	C/T-T/T	201 (73,4%)	20 (74,1%)	1,04 (0,42-2,56)		0,90 (0,34-2,42)	
Recesivo	C/C-C/T	215 (78,5%)	24 (88,9%)	1	0,17	1	0,29
	T/T	59 (51,8%)	3 (11,1%)	0,46 (0,13-1,57)		0,51 (0,14-1,89)	
Sobredominante	C/C-T/T	132 (48,2%)	10 (37%)	1	0,27	1	0,52
	C/T	142 (51,8%)	17 (63%)	1,58 (0,70-3,57)		1,34 (0,55-3,28)	
Log aditivo				0,81 (0,45-1,45)	0,48	0,78 (0,41-1,51)	0,47
<i>AMPD1_34CTC</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	210 (76,6%)	24 (88,9%)	1	0,27	1	0,29
	C/T	62 (76,6%)	3 (11,1%)	0,42 (0,12-1,45)		0,40 (0,11-1,47)	
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	210 (76,6%)	24 (88,9%)	1	0,12	1	0,12
	C/T-T/T	64 (23,4%)	3 (11,1%)	0,41 (0,12-1,41)		0,39 (0,11-1,44)	
Recesivo	C/C-C/T	272 (99,3%)	27 (100%)	1	0,54	1	0,66
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	212 (77,4%)	24 (88,9%)	1	0,14	1	0,13
	C/T	62 (22,6%)	3 (11,1%)	0,43 (0,12-1,47)		0,40 (0,11-1,47)	
Log aditivo				0,41 (0,12-1,39)	0,11	0,39 (0,11-1,43)	0,12

Modelos ajustados: edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 40. SNPs y toxicidad hepática: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hepática	Bivariante		Multivariante	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	232 (84,7%)	26 (96,3%)	1	0,16	1	0,16
	C/A	40 (14,6%)	1 (3,7%)	0,22 (0,03-1,69)		0,20 (0,02-1,66)	
	A/A	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	232 (84,7%)	26 (96,3%)	1	0,058	1	0,058
	C/A-A/A	42 (15,3%)	1 (3,7%)	0,21 (0,03-1,61)		0,19 (0,02-1,59)	
Recesivo	C/C-C/A	272 (99,3%)	27 (100%)	1	0,54	1	0,60
	A/A	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-A/A	234 (85,4%)	26 (96,3%)	1	0,071	1	0,068
	C/A	40 (14,6%)	1 (3,7%)	0,23 (0,03-1,71)		0,20 (0,02-1,67)	
Log aditivo				0,22 (0,03-1,61)	0,056	0,20 (0,02-1,60)	0,056
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	109 (39,8%)	15 (55,6%)	1	0,24	1	0,19
	C/T	124 (45,3%)	8 (29,6%)	0,47 (0,19-1,15)		0,41 (0,15-1,09)	
	T/T	41 (15%)	4 (14,8%)	0,71 (0,22-2,26)		0,70 (0,20-2,41)	
Dominante	C/C	109 (39,8%)	15 (55,6%)	1	0,12	1	0,094
	C/T-T/T	165 (60,2%)	12 (44,4%)	0,53 (0,24-1,17)		0,48 (0,20-1,14)	
Recesivo	C/C-C/T	233 (85%)	23 (85,2%)	1	0,98	1	0,98
	T/T	41 (15%)	4 (14,8%)	0,99 (0,32-3,01)		1,02 (0,31-3,35)	
Sobredominante	C/C-T/T	150 (54,7%)	19 (70,4%)	1	0,11	1	0,082
	C/T	124 (45,3%)	8 (29,6%)	0,51 (0,22-1,20)		0,45 (0,18-1,14)	
Log aditivo				0,71 (0,39-1,19)	0,25	0,69 (0,36-1,30)	0,24

Modelos ajustados: edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 40. SNPs y toxicidad hepática: análisis bivalente y multivalente (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hepática	Bivalente		Multivalente	
<i>MTHFR_1298ACc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	142 (51,8%)	11 (40,7%)	1	0,52	1	0,24
	A/C	112 (40,9%)	14 (51,9%)	1,61 (0,71-3,69)		2,12 (0,83-5,44)	
	C/C	20 (7,3%)	2 (7,4%)	1,29 (0,27-6,25)		2,65 (0,44-15,90)	
Dominante	A/A	142 (51,8%)	11 (40,7%)	1	0,27	1	0,093
	A/C-C/C	132 (48,2%)	16 (59,3%)	1,56 (0,70-3,49)		2,17 (0,86-5,46)	
Recesivo	A/A-C/C	254 (92,7%)	25 (92,6%)	1	0,98	1	0,54
	C/C	20 (7,3%)	2 (7,4%)	1,02 (0,2-4,60)		1,72 (0,32-9,29)	
Sobredominante	A/A-C/C	162 (59,1%)	13 (48,1%)	1	0,27	1	0,17
	A/C	112 (40,9%)	14 (51,9%)	1,56 (0,71-3,44)		1,85 (0,76-4,48)	
Log aditivo				1,32 (0,72-2,42)	0,38	1,83 (0,88-3,77)	0,10
<i>GGH_16TCc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	141 (51,5%)	13 (48,1%)	1	0,92	1	0,85
	T/C	108 (39,4%)	11 (40,7%)	1,10 (0,48-2,56)		1,20 (0,49-2,95)	
	C/C	25 (9,1%)	3 (11,1%)	1,30 (0,35-4,90)		0,81 (0,17-3,73)	
Dominante	T/T	141 (51,5%)	13 (48,1%)	1	0,74	1	0,81
	T/C-C/C	133 (48,5%)	14 (51,9%)	1,14 (0,52-2,52)		1,11 (0,47-2,62)	
Recesivo	T/T-T/C	249 (90,9%)	24 (88,9%)	1	0,74	1	0,68
	C/C	25 (9,1%)	3 (11,1%)	1,24 (0,35-4,43)		0,74 (0,17-3,20)	
Sobredominante	T/T-C/C	166 (60,6%)	16 (59,3%)	1	0,89	1	0,61
	T/C	108 (39,4%)	11 (40,7%)	1,06 (0,47-2,36)		1,25 (0,53-2,95)	
Log aditivo				1,13 (0,62-2,04)	0,69	1,00 (0,53-1,89)	1

Modelos ajustados: edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 40. SNPs y toxicidad hepática: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hepática	Bivariante		Multivariante	
ADA_534AGc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	193 (70,7%)	20 (74,1%)	1	0,0005	1	0,0000
	A/G	74 (27,1%)	2 (7,4%)	0,26 (0,06-1,14)		0,28 (0,06-1,39)	
	G/G	6 (2,2%)	5 (18,5%)	8,04 (2,25-28,72)		15,94 (3,67-69,26)	
Dominante	A/A	193 (70,7%)	20 (74,1%)	1	0,71	1	0,84
	A/G –G/G	80 (29,3%)	7 (25,9%)	0,84 (0,34-2,08)		1,10 (0,42-2,93)	
Recesivo	A/A –G/G	267 (97,8%)	22 (81,5%)	1	0,001	1	0,0000
	G/G	6 (2,2%)	5 (18,5%)	10,11 (2,86-35,80)		19,62 (4,54-84,81)	
Sobredominante	A/A–G/G	199 (72,9%)	25 (92,6%)	1	0,012	1	0,027
	A/G	6 (2,2%)	2 (7,4%)	0,22 (0,05-0,93)		0,23 (0,05-1,08)	
Log aditivo				1,48 (0,77-2,86)	0,25	1,97 (0,96-4,02)	0,073
FPGS_2572GAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	89 (32,5%)	7 (25,9%)	1	0,57	1	0,5
	G/A	133 (48,5%)	16 (59,3%)	1,53 (0,60-3,87)		1,79 (0,66-4,89)	
	A/A	52 (19%)	4 (14,8%)	0,98 (0,27-3,50)		1,40 (0,34-5,69)	
Dominante	G/G	89 (32,5%)	7 (25,9%)	1	0,48	1	0,27
	G/A–A/A	185 (67,5%)	20 (74,1%)	1,37 (0,56-3,37)		1,71 (0,64-4,54)	
Recesivo	G/G– G/A	222 (81%)	23 (85,2%)	1	0,59	1	0,92
	A/A	52 (19%)	4 (14%)	0,74 (0,25-2,24)		0,94 (0,28-3,14)	
Sobredominante	G/G-A/A	141 (51,5%)	11 (40,7%)	1	0,29	1	0,28
	G/A	133 (48,5%)	16 (59,3%)	1,54 (0,69-3,44)		1,60 (0,68-3,78)	
Log aditivo				1,05 (0,60-1,85)	0,87	1,26 (0,67-2,38)	0,48

Modelos ajustados: edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 41. SNPs y toxicidad hepática: interacción por sexo

Modelo	Genotipo	Varones		Mujeres	
<i>MTHFR</i> _1298ACc		Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)
Codominante	A/A	1	1	1	1
	A/C	1,22 (0,31-4,88)	3,37 (0,55-20,53)	1,92 (0,67-5,53)	2,83 (0,82-9,73)
	C/C	10,40 (1,19-90,56)	928,3 (2,74-NA)	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)
Dominante	A/A	1	1	1	1
	A/C –C/C	1,73 (0,49-6,11)	4,93 (0,94-25,91)	1,56 (0,55-4,47)	2,35 (0,69-8,04)
Recesivo	A/A –C/C	1	1	1	1
	C/C	9,56 (1,20-76,24)	410,3 (1,81-NA)	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)
Sobredominante	A/A–C/C	1	1	1	1
	A/C	0,91 (0,25-3,33)	1,55 (0,34-7,17)	2,31 (0,80-6,62)	3,26 (0,95-11,21)
Log aditivo		2,26 (0,81-6,26)	8,34 (1,79-38,85)	1,03 (0,47-2,27)	1,38 (0,56-3,42)

8.5.3.4 Acontecimientos adversos hematológicos

Los pacientes portadores del alelo mutado (genotipos C/T y T/T) del SNP ABCB1_3435CTc tuvieron menor frecuencia de AA hematológicos que los homocigotos del alelo nativo (genotipo CC) en el análisis bivalente, según el modelo de herencia dominante (OR=0,29), efecto que se mantiene en el modelo aditivo (OR=0,30) (**Tabla 42**). También se observó un efecto de interacción de este SNP con el sexo, de forma que las mujeres, pero no los hombres, con el alelo T tuvieron una menor probabilidad de presentar toxicidad hematológica con cualquier modelo genético, efecto que se mantiene en el modelo aditivo (OR=0,18) (**Tabla 43**).

La asociación observada del alelo T del SNP ABCB1_3435CTc con menor frecuencia de aparición AA hematológicos, se confirmó en el análisis multivariante, según un modelo de herencia aditivo (OR=0,21), controlando el efecto de la edad en el momento del diagnóstico, el sexo, el tabaquismo actual, el café, el alcohol, el número de trastornos crónicos, el número de FAMEs, las dosis de prednisona, acfol y MTX y la vía de administración de MTX (**Tabla 42**).

Como se comentó en el bivalente, este efecto se produce especialmente a expensas de las mujeres, debido a un efecto de interacción entre este polimorfismo y el sexo que se mantiene en el multivariante, con un OR ajustado de 0,06 en mujeres (**Tabla 43**).

Tabla 42. SNPs y toxicidad hematológica: análisis bivalente y multivalente

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hematológica	Bivalente		Multivalente	
ABC _B _3435CTc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	72 (25,2%)	8 (53,3%)	1	0,0075	1	0,027
	C/T	152 (53,1%)	7 (46,7%)	0,41 (0,14-1,19)		0,30 (0,07-1,34)	
	T/T	62 (21,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	72 (25,2%)	8 (53,3%)	1	0,024	1	0,056
	C/T-T/T	214 (74,8%)	7 (46,7%)	0,29 (0,10-0,84)		0,23 (0,05-1,04)	
Recesivo	C/C-C/T	224 (78,3%)	15 (100%)	1	0,008	1	0,03
	T/T	62 (21,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	134 (46,9%)	8 (53,3%)	1	0,62	1	0,64
	C/T	152 (53,1%)	7 (46,7%)	0,77 (0,27-2,18)		0,72 (0,18-2,86)	
Log aditivo				0,30 (0,12-0,74)	0,005	0,21 (0,06-0,81)	0,014
AMPD1_34CTC				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	222 (77,6%)	12 (80%)	1	0,89	1	0,90
	C/T	62 (21,7%)	3 (20%)	0,90 (0,24-3,27)		1,42 (0,29-6,97)	
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	222 (77,6%)	12 (80%)	1	0,83	1	0,68
	C/T-T/T	64 (22,4%)	3 (20%)	0,87 (0,24-3,17)		1,41 (0,29-6,92)	
Recesivo	C/C-C/T	284 (99,3%)	15 (100%)	1	0,65	1	0,88
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	224 (78,3%)	12 (80%)	1	0,88	1	0,67
	C/T	62 (21,7%)	3 (20%)	0,90 (0,25-3,30)		1,42 (0,29-6,99)	
Log aditivo				0,84 (0,24-2,96)	0,79	1,39 (0,29-6,66)	0,69

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 42. SNPs y toxicidad hematológica: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hematológica	Bivalente		Multivariante	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	246 (86%)	12 (80%)	1	0,71	1	0,95
	C/A	38 (13,3%)	3 (20%)	1,62 (0,44-6,00)		1,27 (0,22-7,40)	
	A/A	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	246 (86%)	12 (80%)	1	0,54	1	0,81
	C/A-A/A	40 (14%)	3 (20%)	1,54 (0,42-5,69)		1,24 (0,21-7,16)	
Recesivo	C/C-C/A	284 (99,3%)	15 (100%)	1	0,65	1	0,83
	A/A	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-A/A	248 (86,7%)	12 (80%)	1	0,48	1	0,80
	C/A	38 (13,3%)	3 (20%)	1,63 (0,44-6,05)		1,26 (0,22-7,42)	
Log aditivo				1,39 (0,41-4,74)	0,61	1,20 (0,22-6,58)	0,83
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	118 (41,3%)	6 (60%)	1	0,86	1	0,90
	C/T	126 (44,1%)	6 (40%)	0,94 (0,29-2,98)		1,41 (0,32-6,24)	
	T/T	42 (14,7%)	3 (20%)	1,40 (0,34-5,87)		1,23 (0,20-7,44)	
Dominante	C/C	118 (41,3%)	6 (40%)	1	0,92	1	0,67
	C/T-T/T	168 (58,7%)	9 (60%)	1,05 (0,37-3,04)		1,34 (0,34-5,25)	
Recesivo	C/C-C/T	244 (85,3%)	12 (80%)	1	0,59	1	0,96
	T/T	42 (14,7%)	3 (20%)	1,45 (0,39-5,37)		1,04 (0,21-5,25)	
Sobredominante	C/C-T/T	160 (55,9%)	9 (60%)	1	0,76	1	0,70
	C/T	126 (44,1%)	6 (40%)	0,85 (0,29-2,44)		1,31 (0,34-5,00)	
Log aditivo				1,14 (0,55-2,36)	0,73	1,14 (0,48-2,69)	0,76

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 42. SNPs y toxicidad hematológica: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hematológica	Bivariante		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
MTHFR_1298ACc							
Codominante	A/A	144 (50,4%)	9 (60%)	1	0,76	1	0,53
	A/C	121 (42,3%)	5 (33,3%)	0,66 (0,22-2,03)		1,55 (0,35-6,86)	
	C/C	21 (7,3%)	1 (6,7%)	0,76 (0,09-6,32)		4,87 (0,32-73,95)	
Dominante	A/A	144 (50,4%)	9 (60%)	1	0,46	1	0,42
	A/C –C/C	142 (49,6%)	6 (40%)	0,68 (0,23-1,95)		1,79 (0,44-7,36)	
Recesivo	A/A –C/C	265 (92,7%)	14 (93,3%)	1	0,92	1	0,33
	C/C	21 (7,3%)	1 (6,7%)	0,90 (0,11-7,19)		4,00 (0,30-53,37)	
Sobredominante	A/A–C/C	165 (57,7%)	10 (66,7%)	1	0,49	1	0,70
	A/C	21 (42,3%)	5 (33,3%)	0,68 (0,23-2,05)		1,32 (0,32-5,49)	
Log aditivo				0,76 (0,31-1,82)	0,53	1,87 (0,58-5,99)	0,29
GGH_16TCc							
Codominante	T/T	14 (50%)	11 (73,3%)	1	0,084	1,00	0,15
	T/C	115 (40,2%)	4 (26,7%)	0,45 (0,14-1,46)		0,59 (0,14-2,50)	
	C/C	28 (9,8%)	0 (0,0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	T/T	143 (50%)	11 (73,3%)	1	0,072	1,00	0,24
	T/C–C/C	143 (50%)	4 (26,7%)	0,36 (0,11-1,17)		0,43 (0,10-1,82)	
Recesivo	T/T–T/C	258 (90,2%)	15 (100%)	1	0,083	1,00	0,074
	C/C	28 (9,8%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	T/T-C/C	171 (59,8%)	11 (73,3%)	1	0,28	1,00	0,60
	T/C	115 (40,2%)	4 (26,7%)	0,54 (0,17-1,74)		0,68 (0,16-2,94)	
Log aditivo				0,37 (0,13-1,07)	0,04	0,39 (0,11-1,40)	0,13

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 42. SNPs y toxicidad hematológica: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad hematológica	Bivariante		Multivariante	
ADA_534AGc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	203 (71,2%)	10 (66,7%)	1	0,83	1,00	0,68
	A/G	72 (25,3%)	4 (26,7%)	1,13 (0,34-3,71)		1,93 (0,43-8,66)	
	G/G	10 (3,5%)	1 (6,7%)	2,03 (0,41-3,73)		0,94 (0,06-14,94)	
Dominante	A/A	203 (71,2%)	10 (66,7%)	1	0,71	1,00	0,48
	A/G –G/G	82 (28,8%)	5 (33,3%)	1,24 (0,41-3,73)		1,67 (0,41-6,78)	
Recesivo	A/A –G/G	275 (96,5%)	14 (93,3%)	1	0,57	1,00	0,86
	G/G	10 (3,5%)	1 (6,7%)	1,96 (0,23-16,44)		0,78 (0,05-11,38)	
Sobredominante	A/A–G/G	213 (74,7%)	11 (73,3%)	1	0,90	1,00	0,38
	A/C	72 (25,3%)	4 (26,7%)	1,08 (0,33-3,48)		1,94 (0,44-8,53)	
Log aditivo				1,27 (0,53-3,09)	0,60	1,28 (0,45-3,60)	0,65
FPGS_2572GAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	92 (32,2%)	4 (26,7%)	1	0,9	1,00	0,66
	G/A	141 (49,3%)	8 (53,3%)	1,30 (0,38-4,46)		1,77 (0,35-8,88)	
	A/A	53 (18,5%)	3 (20%)	1,30 (0,28-6,04)		0,91 (0,09-9,46)	
Dominante	G/G	92 (32,2%)	4 (26,7%)	1	0,65	1,00	0,55
	G/A–A/A	194 (67,8%)	11 (73,3%)	1,30 (0,40-4,21)		1,61 (0,32-7,97)	
Recesivo	G/G– G/A	233 (81,5%)	12 (80%)	1	0,89	1,00	0,57
	A/A	53 (18,5%)	3 (20%)	1,10 (0,30-4,03)		0,58 (0,08-4,05)	
Sobredominante	G/G-A/A	145 (50,7%)	7 (46,7%)	1	0,76	1,00	0,36
	G/A	141 (49,3%)	8 (53,3%)	1,18 (0,42-3,33)		1,84 (0,48-6,96)	
Log aditivo				1,15 (0,55-2,41)	0,71	1,04 (0,37-2,95)	0,94

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 43. SNPs y toxicidad hematológica: interacción por sexo

Modelo	Genotipo	Varones		Mujeres	
<i>ABCB1_3435CTc</i>		Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)	Bivariante OR (IC 95%)	Multivariante OR (IC 95%)
Codominante	C/C	1	1	1	1
	C/T	NA (0,00-NA)	NA (0,00-NA)	0,22 (0,06-0,76)	0,07 (0,01-0,54)
	T/T	1 (0,00-NA)	8,42 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)
Dominante	C/C	1	1	1	1
	C/T – T/T	NA (0,00-NA)	NA (0,00-NA)	0,16 (0,05-0,55)	0,05 (0,01-0,44)
Recesivo	C/C – C/T	1	1	1	1
	T/T	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)	0,00 (0,00-NA)
Sobredominante	C/C – T/T	1	1	1	1
	C/T	NA (0,00-NA)	NA (0,00-NA)	0,40 (0,12-1,36)	0,18 (0,03-1,11)
Log aditivo		1,04 (0,21-5,25)	2,33 (0,18-29,6)	0,18 (0,06-0,58)	0,06 (0,01-0,45)

8.5.3.5 Alopecia

En el análisis bivalente, los pacientes con el alelo G (mutado) del SNP *ADA_534AGc* tuvieron menor probabilidad de desarrollar alopecia, según los modelos dominante (OR=0,19), codominante (OR=0,21), sobredominante (OR=0,23) y aditivo (OR=0,20). Por el contrario, el genotipo A/C del SNP *MTHFR_1298ACc* se asoció con mayor probabilidad de alopecia, según los modelos genéticos codominante (OR=2,64), dominante (OR=2,51) y sobredominante (OR=2,40) (**Tabla 44**).

En el análisis multivariante para la alopecia, controlando el efecto de los polimorfismos por la edad en el momento del diagnóstico, el sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, las dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, la vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de FAMEs previos y de trastornos crónicos, se confirmó el efecto protector del alelo G del SNP *ADA_534AGc*, según un modelo de herencia dominante (OR=0,16) que se mantuvo en el modelo aditivo (OR=0,18). También se mantuvo el incremento del riesgo de alopecia asociado al genotipo AC del SNP *MTHFR_1298ACc*, según los modelos de herencia sobredominante (OR=2,99) y codominante (OR=3,46) (**Tabla 44**).

No se observó interacción entre ninguno de los polimorfismos y el sexo en la aparición de alopecia, en el análisis bivalente ni en el multivariante.

Tabla 44. SNPs y alopecia: análisis bivalente y multivariante

SNP y Modelo		Sin alopecia	Con alopecia	Bivalente		Multivariante	
<i>ABCB1_3435CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	72 (26,2%)	8 (30,8%)	1	0,44	1	0,39
	C/T	144 (52,4%)	15 (57,7%)	0,94 (0,38-2,31)		1,21 (0,43-3,44)	
	T/T	59 (21,4%)	3 (11,5%)	0,46 (0,12-1,80)		0,48 (0,10-2,24)	
Dominante	C/C	72 (26,2%)	8 (30,8%)	1	0,62	1	0,98
	C/T-T/T	203 (73,8%)	18 (69,2%)	0,80 (0,33-1,91)		0,99 (0,36-2,73)	
Recesivo	C/C-C/T	216 (78,5%)	23 (88,5%)	1	0,20	1	0,19
	T/T	59 (21,4%)	3 (11,5%)	0,48 (0,14-1,65)		0,42 (0,11-1,66)	
Sobredominante	C/C-T/T	131 (47,6%)	11 (42,3%)	1	0,60	1	0,33
	C/T	144 (52,4%)	15 (57,7%)	1,24 (0,55-2,80)		1,58 (0,63-3,98)	
Log aditivo				0,73 (0,40-1,33)	0,30		0,46
<i>AMPD1_34CTC</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	215 (78,2%)	19 (73,1%)	1	0,67	1	0,64
	C/T	58 (21,1%)	7 (26,9%)	1,37 (0,55-3,41)		1,69 (0,57-5,07)	
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	215 (78,2%)	19 (73,1%)	1	0,56	1	0,36
	C/T-T/T	60 (21,8%)	7 (26,9%)	1,32 (0,53-3,29)		1,69 (0,56-5,06)	
Recesivo	C/C-C/T	273 (99,3%)	26 (100%)	1	0,55	1	0,89
	T/T	2 (0,7%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	217 (78,9%)	19 (73,1%)	1	0,50	1	0,35
	C/T	58 (21,1%)	7 (26,9%)	1,38 (0,55-3,44)		1,70 (0,57-5,07)	
Log aditivo				1,24 (0,52-2,97)	0,63	1,68 (0,56-4,98)	0,36

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 44. SNPs y alopecia: análisis bivalente y multivalente (cont.)

SNP y Modelo		Sin alopecia	Con alopecia	Bivalente		Multivalente	
<i>ITPA_94CAc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	236 (85,8%)	22 (84,6%)	1	0,30	1	0,60
	C/A	38 (13,8%)	3 (11,5%)	0,85 (0,24-2,97)		0,77 (0,17-3,43)	
	A/A	1 (0,4%)	1 (3,8%)	10,7 (0,65-177,5)		4,87 (0,18-128,4)	
Dominante	C/C	236 (85,8%)	22 (84,6%)	1	0,87	1	0,97
	C/A-A/A	39 (14,2%)	4 (15,4%)	1,10 (0,36-3,37)		0,98 (0,25-3,77)	
Recesivo	C/C-C/A	274 (99,6%)	25 (96,2%)	1	0,13	1	0,34
	A/A	1 (0,4%)	1 (3,8%)	10,9 (0,67-180,6)		5,13 (0,20-133,1)	
Sobredominante	C/C-A/A	237 (86,2%)	23 (88,5%)	1	0,74	1	0,67
	C/A	38 (13,8%)	3 (11,5%)	0,81 (0,23-2,84)		0,73 (0,17-3,20)	
Log aditivo				1,35 (0,51-3,56)	0,56	1,18 (0,38-3,70)	0,78
<i>MTHFR_677CTc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	111 (40,4%)	13 (50%)	1	0,42	1	0,39
	C/T	121 (44%)	11 (42,3%)	0,78 (0,33-1,80)		0,63 (0,24-1,68)	
	T/T	43 (15,6%)	2 (7,7%)	0,40 (0,09-1,83)		0,38 (0,07-1,96)	
Dominante	C/C	111 (40,4%)	13 (50%)	1	0,34	1	0,22
	C/T-T/T	164 (59,6%)	13 (50%)	0,68 (0,30-1,51)		0,56 (0,23-1,41)	
Recesivo	C/C-C/T	232 (84,4%)	24 (92,3%)	1	0,24	1	0,31
	T/T	43 (15,6%)	2 (7,7%)	0,45 (0,10-1,97)		0,46 (0,09-2,29)	
Sobredominante	C/C-T/T	154 (56%)	15 (57,7%)	1	0,87	1	0,58
	C/T	121 (44%)	11 (42,3%)	0,93 (0,41-2,11)		0,77 (0,30-1,96)	
Log aditivo				0,69 (0,37-1,26)	0,21	0,62 (0,31-1,25)	0,17

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 44. SNPs y alopecia: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo		Sin alopecia	Con alopecia	Bivalente		Multivariante	
<i>MTHFR_1298ACc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	145 (52,7%)	8 (30,8%)	1	0,085	1	0,06
	A/C	110 (40%)	16 (61,5%)	2,64 (1,09-6,38)		3,46 (1,18-10,10)	
	C/C	20 (7,3%)	2 (7,7%)	1,81 (0,36-9,14)		2,33 (0,35-15,40)	
Dominante	A/A	145 (52,7%)	8 (30,8%)	1	0,03	1	0,02
	A/C-C/C	130 (47,3%)	18 (69,2%)	2,51 (1,06-5,97)		3,28 (1,15-9,35)	
Recesivo	A/A-C/C	255 (92,7%)	24 (92,3%)	1	0,94	1	0,88
	C/C	20 (7,3%)	2 (7,7%)	1,06 (0,23-4,82)		1,15 (0,20-6,57)	
Sobredominante	A/A-C/C	165 (60%)	10 (38,5%)	1	0,035	1	0,027
	A/C	110 (40%)	16 (61,5%)	2,40 (1,05-5,48)		2,99 (1,10-8,07)	
Log aditivo				1,70 (0,93-3,13)	0,089	2,04 (0,96-4,35)	0,061
<i>GGH_16TCc</i>				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	139 (50,5%)	15 (57,7%)	1	0,78	1	0,64
	T/C	110 (40%)	9 (34,6%)	0,76 (0,32-1,80)		0,67 (0,25-1,77)	
	C/C	26 (9,4%)	2 (7,7%)	0,71 (0,15-3,30)		0,55 (0,09-3,45)	
Dominante	T/T	139 (50,5%)	15 (57,7%)	1	0,48	1	0,35
	T/C-C/C	136 (49,5%)	11 (42,3%)	0,75 (0,33-1,69)		0,65 (0,26-1,63)	
Recesivo	T/T-T/C	249 (90,5%)	24 (92,3%)	1	0,76	1	0,63
	C/C	26 (9,4%)	2 (7,7%)	0,80 (0,18-3,57)		0,65 (0,11-3,93)	
Sobredominante	T/T-C/C	165 (60%)	17 (65,4%)	1	0,59	1	0,5
	T/C	110 (40%)	9 (34,6%)	0,79 (0,34-1,85)		0,72 (0,28-1,87)	
Log aditivo				0,81 (0,42-1,53)	0,50		0,35

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 44. SNPs y alopecia: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo		Sin alopecia	Con alopecia	Bivalente		Multivariante	
ADA_534AGc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	189 (69%)	24 (92,3%)	1	0,015	1	0,023
	A/G	74 (27%)	2 (7,7%)	0,21 (0,05-0,92)		0,21 (0,04-1,11)	
	G/G	11 (4%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	A/A	189 (69%)	24 (92,3%)	1	0,0051	1	0,01
	A/G-G/G	85 (31%)	2 (7,7%)	0,19 (0,04-0,80)		0,16 (0,03-0,84)	
Recesivo	A/A-G/G	263 (96%)	26 (100%)	1	0,15	1	0,081
	G/G	11 (4%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	A/A-G/G	200 (73%)	24 (92,3%)	1	0,016	1	0,047
	A/G	74 (27%)	2 (7,7%)	0,23 (0,05-0,98)		0,23 (0,04-1,21)	
Log aditivo				0,20 (0,05-0,83)	0,0041	0,18 (0,04-0,86)	0,0069
FPGS_2572GAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	85 (30,9%)	11 (42,3%)	1	0,9	1	0,56
	G/A	139 (50,5%)	10 (38,5%)	0,56 (0,23-1,36)		0,58 (0,21-1,57)	
	A/A	51 (18,6%)	5 (19,2%)	0,76 (0,25-2,30)		0,72 (0,19-2,66)	
Dominante	G/G	85 (30,9%)	11 (42,3%)	1	0,65	1	0,31
	G/A-A/A	190 (69,1%)	15 (57,7%)	0,61 (0,27-1,38)		0,61 (0,24-1,56)	
Recesivo	G/G-G/A	224 (81,5%)	21 (80,8%)	1	0,89	1	0,97
	A/A	51 (18,6%)	5 (19,2%)	1,05 (0,38-2,90)		0,98 (0,30-3,23)	
Sobredominante	G/G-A/A	136 (49,5%)	16 (61,5%)	1	0,76	1	0,34
	G/A	139 (50,5%)	10 (38,5%)	0,61 (0,27-1,39)		0,65 (0,26-1,61)	
Log aditivo				0,80 (0,44-1,44)	0,71	0,78 (0,41-1,52)	0,47

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

8.5.3.6 Toxicidad neurológica

Se observó asociación de AA de naturaleza neurológica con varios polimorfismos (**Tabla 45**).

En el análisis bivariante, los homocigotos para el alelo mutado (genotipo C/C) del SNP GGH_16TCc presentaron mayor frecuencia de síntomas neurológicos que los pacientes con los genotipos T/T y T/C, según los modelos de herencia recesivo (OR=3,37) y codominante (OR=3,19). Por el contrario, el genotipo G/G del SNP ADA_534AGc se asoció a menor frecuencia de AA neurológicos según un modelo genético aditivo (OR=0,48) que los genotipos A/A y A/G.

En el análisis multivariante, se mantuvieron las mismas asociaciones. Los pacientes con el genotipo C/C del SNP GGH_16TCc tuvieron síntomas neurológicos con mayor frecuencia que los de los genotipos T/T y T/C, en los modelos recesivo (OR=4,01) y codominante (OR=3,76). Respecto al SNP ADA_534AGc, los portadores del alelo G (genotipos A/G y G/G) tuvieron menor frecuencia de este tipo de eventos, según el modelo genético dominante (OR=0,46), efecto que se mantuvo en el modelo aditivo (OR=0,45). Estos efectos de ambos SNPs sobre la aparición de síntomas neurológicos son independientes de la edad en el momento del diagnóstico, el sexo, consumo de tabaco (actual), de alcohol (actual o previo) y cafeína, las dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, la vía de administración de MTX, el Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

No se observó interacción entre ningún polimorfismo y el sexo para los síntomas neurológicos

Tabla 45. SNPs y toxicidad neurológica: análisis bivalente y multivariante

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad neurológica	Bivalente		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
ABCB1_3435CTc							
Codominante	C/C	65 (26,4%)	15 (27,3%)	1	0,56	1	0,30
	C/T	133 (54,1%)	26 (47,3%)			0,83 (0,39-1,78)	
	T/T	48 (19,5%)	14 (25,4%)	1,26 (0,56-2,86)		1,57 (0,65-3,77)	
Dominante	C/C	65 (26,4%)	15 (27,3%)	1	0,90	1	0,97
	C/T-T/T	181 (73,6%)	40 (72,7%)	0,96 (0,50-1,85)		1,02 (0,50-2,06)	
Recesivo	C/C-C/T	198 (80,5%)	41 (74,5%)	1	0,33	1	0,14
	T/T	48 (19,5%)	14 (25,4%)	1,41 (0,71-2,79)		1,77 (0,85-3,68)	
Sobredominante	C/C-T/T	113 (45,9%)	29 (52,7%)	1	0,36	1	0,23
	C/T	133 (54,1%)	26 (47,3%)	0,76 (0,42-1,37)		0,68 (0,36-1,28)	
Log aditivo				1,11 (0,73-1,71)	0,62	1,24 (0,78-1,97)	0,36
AMPD1_34CTC							
Codominante	C/C	189 (76,8%)	45 (81,8%)	1	0,51	1	0,55
	C/T	55 (22,4%)	10 (18,2%)	0,76 (0,36-1,61)		0,78 (0,35-1,75)	
	T/T	2 (0,8%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	C/C	189 (76,8%)	45 (81,8%)	1	0,41	1	0,47
	C/T-T/T	57 (23,2%)	10 (18,2%)	0,74 (0,35-1,55)		0,75 (0,33-1,67)	
Recesivo	C/C-C/T	244 (99,2%)	55 (100%)	1	0,37	1	0,36
	T/T	2 (0,8%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	C/C-T/T	191 (77,6%)	45 (81,8%)	1	0,49	1	0,56
	C/T	55 (22,4%)	10 (18,2%)	0,77 (0,37-1,63)		0,79 (0,35-1,77)	
Log aditivo				0,72 (0,35-1,49)	0,36	0,72 (0,33-1,58)	0,41

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 45. SNPs y toxicidad neurológica: análisis bivariante y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad neurológica	Bivariante		Multivariante	
ITPA_94CAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	214 (87%)	44 (80%)	1	0,33	1	0,52
	C/A	31 (12,6%)	10 (18,2%)	1,57 (0,72-3,43)		1,54 (0,66-3,60)	
	A/A	1 (0,4%)	1 (1,8%)	4,86 (0,30-79,25)		2,90 (0,12-68,97)	
Dominante	C/C	214 (87%)	44 (80%)	1	0,20	1	0,28
	C/A –A/A	32 (13%)	11 (20%)	1,67 (0,78-3,57)		1,59 (0,70-3,64)	
Recesivo	C/C –C/A	245 (99,6%)	54 (98,2%)	1	0,31	1	0,55
	A/A	1 (0,4%)	1 (1,8%)	4,54 (0,28-73,68)		2,65 (0,11-61,95)	
Sobredominante	C/C –A/A	215 (87,4%)	45 (81,8%)	1	0,29	1	0,34
	C/A	31 (12,6%)	10 (18,2%)	1,54 (0,71-3,37)		1,52 (0,65-3,54)	
Log aditivo				1,69 (0,84-3,39)	0,15	1,57 (0,73-3,38)	0,25
MTHFR_677CTc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	C/C	101 (41,1%)	23 (41,8%)	1	0,92	1	1
	C/T	109 (44,3%)	23 (41,8%)	0,93 (0,49-1,75)		0,99 (0,50-1,97)	
	T/T	36 (14,6%)	9 (16,4%)	1,10 (0,46-2,59)		0,98 (0,39-2,45)	
Dominante	C/C	101 (41,1%)	23 (41,8%)	1	0,92	1	0,97
	C/T –T/T	145 (58,9%)	32 (58,2%)	0,97 (0,54-1,75)		0,99 (0,52-1,87)	
Recesivo	C/C –C/T	210 (85,4%)	46 (83,6%)	1	0,75	1	0,98
	T/T	36 (14,6%)	9 (16,4%)	1,14 (0,51-2,53)		0,99 (0,42-2,31)	
Sobredominante	C/C –T/T	160 (55,9%)	9 (60%)	1	0,74	1	0,99
	C/T	109 (44,3%)	23 (41,8%)	0,90 (0,50-1,63)		1 (0,53-1,89)	
Log aditivo				1,02 (0,67-1,55)	0,93	0,62 (0,31-1,25)	0,97

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 45. SNPs y toxicidad neurológica: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad neurológica	Bivalente		Multivariante	
MTHFR_1298ACc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	124 (50,4%)	29 (52,7%)	1	0,95	1	0,92
	A/C	104 (42,3%)	22 (40%)	0,90 (0,49-1,67)		0,87 (0,44-1,70)	
	C/C	18 (7,3%)	4 (7,3%)	0,95 (0,30-3,02)		0,95 (0,27-3,33)	
Dominante	A/A	124 (50,4%)	29 (52,7%)	1	0,76	1	0,69
	A/C –C/C	122 (49,6%)	26 (47,3%)	0,91 (0,51-1,64)		0,88 (0,46-1,68)	
Recesivo	A/A –C/C	228 (92,7%)	51 (92,7%)	1	0,99	1	0,98
	C/C	18 (7,3%)	4 (7,3%)	0,99 (0,32-3,06)		1,01 (0,30-3,42)	
Sobredominante	A/A–C/C	142 (57,7%)	33 (60%)	1	0,76	1	0,68
	A/C	104 (42,3%)	22 (40%)	0,91 (0,50-1,65)		0,87 (0,45-1,68)	
Log aditivo				0,94 (0,59-1,51)	0,80	0,92 (0,55-1,55)	0,76
GGH_16TCc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	T/T	128 (52%)	26 (47,3%)	1	0,021	1,00	0,017
	T/C	101 (41,1%)	18 (32,7%)	0,88 (0,46-1,69)		0,87 (0,43-1,74)	
	C/C	17 (6,9%)	11 (20%)	3,19 (1,34-7,59)		3,76 (1,40-10,10)	
Dominante	T/T	128 (52%)	26 (47,3%)	1	0,50	1,00	0,56
	T/C–C/C	118 (48%)	29 (52,7%)	1,21 (0,67-2,17)		1,20 (0,64-2,26)	
Recesivo	T/T–T/C	229 (93,1%)	44 (80%)	1	0,0058	1,00	0,0047
	C/C	17 (6,9%)	11 (20%)	3,37 (1,48-7,68)		4,01 (1,57-10,25)	
Sobredominante	T/T-C/C	145 (58,9%)	37 (67,3%)	1	0,25	1,00	0,23
	T/C	101 (41,1%)	18 (32,7%)	0,70 (0,38-1,30)		0,67 (0,35-1,29)	
Log aditivo				1,49 (0,97-2,29)	0,072	1,54 (0,96-2,47)	0,075

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

Tabla 45. SNPs y toxicidad neurológica: análisis bivalente y multivariante (cont.)

SNP y Modelo	Genotipo	Sin toxicidad	Toxicidad neurológica	Bivalente		Multivariante	
ADA_534AGc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	A/A	168 (68,6%)	45 (81,8%)	1	0,03	1,00	0,043
	A/G	66 (26,9%)	10 (18,2%)	0,57 (0,27-1,19)		0,52 (0,24-1,16)	
	G/G	11 (4,5%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Dominante	A/A	168 (68,6%)	45 (81,8%)	1	0,042	1,00	0,041
	A/G-G/G	77 (31,4%)	10 (18,2%)	0,48 (0,23-1,01)		0,46 (0,21-1,00)	
Recesivo	A/A-G/G	234 (95,5%)	55 (100%)	1	0,033	1,00	0,081
	G/G	11 (4,5%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		0,00 (0,00-NA)	
Sobredominante	A/A-G/G	179 (73,1%)	45 (81,8%)	1	0,17	1,00	0,13
	A/G	66 (26,9%)	10 (18,2%)	0,60 (0,29-1,26)		0,55 (0,25-1,22)	
Log aditivo				0,48 (0,24-0,94)	0,019	0,45 (0,22-0,95)	0,022
FPGS_2572GAc				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
Codominante	G/G	74 (30,1%)	22 (40%)	1	0,34	1,00	0,43
	G/A	124 (50,4%)	25 (45,5%)	0,68 (0,36-1,29)		0,73 (0,37-1,44)	
	A/A	48 (19,5%)	8 (14,6%)	0,56 (0,23-1,36)		0,55 (0,21-1,44)	
Dominante	G/G	74 (30,1%)	22 (40%)	1	0,16	1,00	0,25
	G/A-A/A	172 (69,9%)	33 (60%)	0,65 (0,35-1,18)		0,68 (0,35-1,30)	
Recesivo	G/G-G/A	198 (80,5%)	47 (85,5%)	1	0,38	1,00	0,35
	A/A	48 (19,5%)	8 (14,6%)	0,70 (0,31-1,58)		0,67 (0,28-1,60)	
Sobredominante	G/G-A/A	122 (49,6%)	30 (54,5%)	1	0,5	1,00	0,69
	G/A	124 (50,4%)	25 (45,5%)	0,82 (0,46-1,47)		0,88 (0,47-1,64)	
Log aditivo				0,73 (0,48-1,12)	0,15	0,74 (0,47-1,17)	0,19

Modelos ajustados por edad en el momento del diagnóstico, sexo, fumador actual, consumo de alcohol (actual o previo) y café, dosis de prednisona, ácido fólico y MTX, vía de administración de MTX, Mantoux y el número de FAME previos y de trastornos crónicos.

8.5.4 Análisis de haplotipos

Sólo se analizaron los haplotipos de los polimorfismos de la MTHFR (677CTc y 1298ACc) que se sitúan en el mismo cromosoma y se heredan conjuntamente. Se realizaron modelos crudos o bivariantes y modelos ajustados o multivariantes. Las variables de ajuste fueron las mismas que las utilizadas para el análisis aislado de los diferentes SNPs.

8.5.4.1 Haplotipos de MTHFR y eficacia del MTX

Los resultados sobre la eficacia de MTX se expresan en la **Tabla 46**. El haplotipo C-C de la combinación MTHFR_677CTc y MTHFR_1298ACc se asocia con una disminución de la respuesta (OR=0,46) en los modelos ajustados. El haplotipo C-A disminuye la probabilidad de remisión tanto en el modelo crudo (OR=0,66) como en el ajustado (OR=0,40). En ambos casos, el efecto es independiente de la edad al inicio de la enfermedad, el sexo, el tabaquismo actual, la ingesta de alcohol (previa o actual) o cafeína, las manifestaciones extra-articulares, el valor FR y ACPA, las erosiones durante el primer año, el DAS28-PCR basal, el número de FAMEs previos a MTX, las dosis de prednisona, acfol y MTX (máxima), el tiempo transcurrido desde los síntomas hasta el inicio de MTX, la vía de administración de MTX y la positividad del Mantoux y los ANA. No se han observado efectos de interacción por sexo.

Tabla 46. Análisis de haplotipos: respuesta / remisión

	MTHFR_677CTc	MTHFR_1298ACc	Frecuencia	Bivariante		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
RESPUESTA							
Haplotipos	T	A	36,9%	1	---	1	---
	C	A	34,9%	0,95 (0,65 - 1,37)	0,77	0,77 (0,41 - 1,42)	0,40
	C	C	28,2%	0,69 (0,46 - 1,03)	0,071	0,46 (0,24 - 0,91)	0,027
REMISIÓN							
Haplotipos	T	A	36,9%	1	---	1	---
	C	A	34,9%	0,66 (0,44 - 0,99)	0,045	0,40 (0,21 - 0,74)	0,0042
	C	C	28,2%	0,74 (0,48 - 1,13)	0,16	0,62 (0,33 - 1,14)	0,12

8.5.4.2 Haplotipos de MTHFR y toxicidad por MTX

No encontramos asociación de ninguno de los haplotipos de los polimorfismos 677CTc y 1298ACc de la MTHFR con ninguno de los acontecimientos adversos ni con los AA globales (**Tabla 47**).

Sin embargo, se encontró una interacción entre los haplotipos de MTHFR y el sexo, de forma que el genotipo 677C – 1298C se asoció con un incremento de los AA globales y de naturaleza hepática en los varones, pero no en las mujeres (**Tabla 48**).

Tabla 47. Análisis de haplotipos: toxicidad

		MTHFR_677CTc	MTHFR_1298ACc	Frecuencia	Bivariante		Multivariante	
					OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
AA GLOBALES								
Haplotipos	C	A		36,9	1	---	1	---
	T	A		34,9	0,88 (0,61 - 1,27)	0,49	0,81 (0,54 - 1,22)	0,31
	C	C		23,2	1,12 (0,75 - 1,67)	0,57	1,12 (0,73 - 1,72)	0,61
TOXICIDAD DIGESTIVA								
Haplotipos	T	A		36,9	1	---	1	---
	C	A		34,9	0,84 (0,56 - 1,27)	0,41	0,85 (0,56 - 1,30)	0,46
	C	C		28,2	1,08 (0,70 - 1,67)	0,72	0,99 (0,64 - 1,55)	0,98
TOXICIDAD HEPÁTICA								
Haplotipos	C	A		36,9	1	---	1	---
	T	A		34,9	1,33 (0,68 - 2,60)	0,41	0,81 (0,52 - 1,27)	0,36
	C	C		23,2	1,51 (0,75 - 3,06)	0,25	1,07 (0,67 - 1,70)	0,78
TOXICIDAD HEMATOLÓGICA								
Haplotipos	T	A		36,9	1	---	1	---
	C	A		34,9	0,98 (0,43 - 2,22)	0,96	0,66 (0,22 - 1,97)	0,46
	C	C		28,2	0,75 (0,29 - 1,94)	0,55	1,76 (0,48 - 6,41)	0,39
ALOPECIA								
Haplotipos	T	A		36,9	1	---	1	---
	C	A		34,9	1,18 (0,58 - 2,41)	0,64	1,14 (0,54 - 2,43)	0,73
	C	C		28,2	1,85 (0,91 - 3,74)	0,088	1,85 (0,85 - 3,99)	0,12
TOXICIDAD NEUROLÓGICA								
Haplotipos	T	A		36,9	1	---	1	---
	C	A		34,9	1,01 (0,63 - 1,62)	0,97	1,02 (0,61 - 1,70)	0,95
	C	C		28,2	0,94 (0,56 - 1,59)	0,83	0,77 (0,44 - 1,36)	0,38

Tabla 48. Análisis de haplotipos: interacción por sexo

	MTHFR_677CTc	MTHFR_1298ACc	Frecuencia	Bivariante		Multivariante	
				OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
AA GLOBALES							
Varones	C	A	40,9%	1	---	1	---
	T	A	35,9%	1,91 (0,91 - 4,02)	0,09	2,02 (0,90 - 4,53)	0,091
	C	C	23,3%	2,95 (1,29 - 6,78)	0,012	4,35 (1,65 - 11,5)	0,004
Mujeres	T	A	37,4%	1	---	1	---
	C	A	31,9%	1,16 (0,74 - 1,82)	0,51	1,09 (0,67 - 1,77)	0,72
	C	C	30,7%	0,95 (0,59 - 1,51)	0,82	0,93 (0,56 - 1,53)	0,77
TOXICIDAD HEPÁTICA							
Varones	C	A	40,9%	1	---	1	---
	T	A	35,9%	2,44 (0,72 - 8,27)	0,16	2,92 (0,50 - 17,0)	0,24
	C	C	23,2%	3,65 (1,02 - 13,0)	0,049	11,9 (1,85 - 76,5)	0,011
Mujeres	T	A	37,4%	1	---	1	---
	C	A	31,9%	2,42 (1,00 - 5,89)	0,052	2,29 (0,90 - 5,83)	0,33
	C	C	30,7%	1,64 (0,61 - 4,37)	0,33	1,63 (0,59 - 4,48)	0,35

8.6 Síntesis de resultados

En la **Tabla 49** se muestra un resumen de las características clínicas asociadas a mala respuesta a MTX. Las mujeres, los fumadores actuales y los pacientes que partían de una enfermedad más activa, los que desarrollaron lesiones erosivas tempranas y afectación extraarticular, y los que precisaron dosis más elevadas de MTX tuvieron una menor probabilidad de conseguir buena respuesta y especialmente la remisión clínica. Los pacientes con Mantoux positivo se asociaron a peor respuesta y los pacientes ACPA positivo tuvieron mayor probabilidad de entrar en remisión.

Tabla 49. Características clínicas asociadas a mala respuesta a MTX

Características clínicas
Sexo femenino
Tabaquismo actual
Elevada actividad inflamatoria basal
Erosiones articulares tempranas
Afectación extraarticular
Mantoux positivo

Tuvieron mayor probabilidad de sufrir acontecimientos adversos, considerados globalmente, las mujeres y pacientes de menor edad y con mayor número de trastornos crónicos; los de tipo digestivo, las mujeres y pacientes de menor edad y Mantoux positivo; los hepáticos, el Mantoux positivo; y los hematológicos, los pacientes con comorbilidades y erosiones tempranas (**Tabla 50**).

Tabla 50. Características clínicas asociadas a toxicidad por MTX

Características	AA global	AA digestivo	AA hepático	AA hematológico
Sexo femenino	X	X		
Menor edad	X	X		
Trastornos crónicos	X			X
Erosiones tempranas				X
Mantoux +		X	X	

Con independencia de las características clínicas, la respuesta a MTX se asoció a los SNPs de *MTHFR* y *GGH* y la toxicidad se asoció, además de los anteriores, a *ADA* 534AGc y *FPGS* 2572GAc (Tabla 51).

La probabilidad de conseguir una buena respuesta clínica disminuyó en los homocigotos para el alelo mutado del *MTHFR* 1298ACc (genotipo CC) y en los hombres (pero no las mujeres) del *GGH* 16TCc. Por el contrario, los homocigotos para el alelo mutado del 677CTc (genotipo TT) tuvieron una mayor probabilidad de alcanzar la remisión clínica. En el análisis de haplotipos, la ausencia del alelo T (mutado) del 677CTc se asoció a una peor respuesta a MTX.

Respecto a la toxicidad, los AA globales aparecieron con mayor probabilidad en pacientes heterocigotos del *MTHFR* 677CTc y con menor probabilidad en los heterocigotos del *ADA* 534AG; los AA digestivos también fueron menos frecuentes en los heterocigotos del *ADA* 534AG, así como en los hombres (pero no las mujeres) heterocigotos del *FPGS* 2572GA. Los AA hepáticos fueron más frecuentes en los homocigotos del alelo mutado de *ADA* 534AG y especialmente en los hombres (pero no las mujeres) homocigotos para *MTHFR*_1298ACc. La alopecia se produjo con más frecuencia en los heterocigotos para *MTHFR*_1298ACc y con menor frecuencia en los portadores del alelo G del *ADA*_534AGc. Finalmente, los AA neurológicos aparecieron con mayor probabilidad en homocigotos para el alelo mutado de *GGH*_16TCc y con menor frecuencia en los portadores del alelo G del *ADA*_534AGc.

El haplotipo CC se asoció a mayor frecuencia de AA globales y hepáticos en hombres, pero no en mujeres.

Tabla 51. Efectos observados de los polimorfismos estudiados sobre la eficacia y toxicidad de MTX

Polimorfismo SNP referencia	Vía relacionada	Efecto esperado	Estudios previos		Cohorte de Mérida	
			Toxicidad	Eficacia	Toxicidad	Eficacia
ABCB1 3435C>T rs1045642	Eflujo de MTX	↑ eficacia ↑ toxicidad	No concluyente	No concluyente	alelo T (mujer) ↓ hematológica	No concluyente
FPGS 2572G>A rs1544105	Forma MTX-PG (MTX→MTX-PG)	↓ eficacia ↓ toxicidad	No evaluada	No concluyente	G/A (hombre) ↓ digestiva	No relacionado
GGH 16T>C rs1800909	Desagrega MTX (MTX-PG→MTX)	↑ eficacia ↑ toxicidad	No relacionado	No relacionado	C/C ↑ neurológica	C/C (hombre) ↓ eficacia
MTHFR 677C>T rs1801133	Regeneración del ácido fólico y síntesis de DNA	↑ homocisteína ↑ eficacia ↑ toxicidad	Relacionado	No relacionado	T/C ↑ global	C/C ↑ eficacia
MTHFR 1298A>C rs1801131	Regeneración del ácido fólico y síntesis de DNA	↑ eficacia ↑ toxicidad	No concluyente	No relacionado	C/C (hombre) ↑ hepática A/C ↑ alopecia	C/C ↓ eficacia
ITPA 94C>A rs1127354	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No relacionado	↑ respuesta	No concluyente	No concluyente
AMPD1 34C>T rs17602729	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No relacionado	↑ respuesta	No concluyente	No concluyente
ADA 534A>G rs244076	Síntesis de purinas	↑ adenosina ↑ eficacia	No evaluada	↓ respuesta	A/G ↓ global y digestiva G/G ↑ hepática alelo G ↓ alopecia	No relacionado
Haplotipo MTHFR 677CTc – 1298ACc	Regeneración del ácido fólico y síntesis de DNA	↑ eficacia ↑ toxicidad			Haplotipo C-C (hombre) ↑ global y hepática	Haplotipos C-A y C-C ↓ eficacia

9 DISCUSIÓN

El tratamiento de la AR ha cambiado drásticamente en los últimos 30 años. El empleo temprano de FAME, dentro de una estrategia de tratamiento por objetivos y de un seguimiento estrecho, consigue los mejores resultados. El MTX es el FAME de primera elección y las principales guías (Singh 2016, Smolen 2017) recomiendan su uso en monoterapia tan pronto como se identifique la enfermedad, siendo sustituido o acompañado por otros FAME, sintéticos o biológicos, si no se alcanza el objetivo buscado. Las guías hacen estas recomendaciones de forma generalizada, pero la respuesta es diferente en cada paciente. Las tasas de respuesta a MTX comunicadas en la literatura varían ampliamente, de forma que entre el 36 y 70% alcanza el estado de baja actividad, y entre el 13 y 60% la remisión clínica (Weinblatt 1994, Vermeer 2011, Rezaei 2012, Verstappen 2012). Se estima que aproximadamente la mitad de los pacientes no consigue un control adecuado de la enfermedad con MTX. Además, muchos pacientes presentan diversos acontecimientos adversos que pueden provocar la suspensión definitiva del tratamiento hasta en un 30% de los casos (Alarcon 1989, Lopez-Olivo 2014).

A pesar de su uso generalizado desde hace varias décadas, aún no podemos predecir qué pacientes tendrán una respuesta adecuada a MTX. El conocimiento de factores clínicos y genéticos asociados a esta respuesta permitiría tratar a los pacientes con AR de una forma más segura y eficiente. Los pacientes no respondedores podrían recibir un tratamiento más eficaz desde el principio, evitando retrasos en el control inflamatorio que podrían originar un daño irreversible. Además, se podrían evitar complicaciones en los pacientes intolerantes. Los pacientes respondedores podrían ser tratados con la dosis más adecuada de MTX y evitar la exposición innecesaria a otros fármacos.

9.1 Pacientes incluidos

En el estudio que conforma este trabajo de tesis se ha utilizado la información proveniente de una cohorte de pacientes del hospital de Mérida tratados con MTX en monoterapia. Se trata de una muestra típica de AR, con predominio de mujeres y con un inicio de la enfermedad cercano a los 50 años, con características representativas de una población mayoritariamente rural, esto es, escasa formación académica y casi total ausencia de sedentarismo. Las elevadas tasas de seropositividad (80%), erosiones en el primer año (>50%), deterioro funcional (>75%) y el valor medio del DAS28-PCR basal (4,5) indican que se trata de una población con AR de mal pronóstico. La cuarta parte desarrolló manifestaciones extraarticulares. La mayoría de los pacientes tenía algún factor de riesgo cardiovascular, incluido tabaquismo, y comorbilidades asociadas.

El tiempo medio de seguimiento desde el diagnóstico hasta la finalización del estudio (15/06/2015) fue de 136 meses. Durante los más de 35 años analizados, hemos observado una importante disminución del tiempo entre el diagnóstico y el inicio del primer FAME de 34,5 a 1,4 meses, que refleja la adherencia de los reumatólogos a las recomendaciones sobre el tratamiento de la AR (Singh 2016, Smolen 2017). Sin embargo, la demora en el diagnóstico se ha reducido menos (de 22 a 15 meses), indicando la

necesidad de mejorar el acceso de los pacientes a las consultas de artritis.

9.2 Tratamiento con MTX

Cuando iniciaron el tratamiento con MTX, los pacientes presentaban una actividad moderada de la enfermedad y recibieron de forma concomitante ácido fólico y, con mucha frecuencia, dosis bajas de prednisona, de acuerdo con las recomendaciones. Algo más de la cuarta parte de los enfermos había recibido previamente otros FAMEs previos a MTX, sobre todo antes del año 2000. Los más utilizados fueron los antipalúdicos y las sales de oro.

Los pacientes habitualmente iniciaron MTX por vía oral y la tercera parte precisó cambiar a la administración SC por escalado de dosis o por acontecimientos adversos. La dosis de mantenimiento habitual se situó entre 15 y 20 mg y fue bien tolerada por casi todos los pacientes. En cambio, la mayoría no toleró dosis superiores a 20 mg y apenas un 2% no toleró ninguna dosis.

Los pacientes recibieron MTX en monoterapia durante un promedio de 68 meses (máximo de 20,4 años), con una exposición de 1708 pacientes-año.

La monoterapia se suspendió en la mitad de los pacientes, principalmente por falta de eficacia y, en menor medida (menos del 10%) por toxicidad o intolerancia, siendo el MTX sustituido por otro FAME convencional o, en caso de respuesta insatisfactoria, asociado a un FAME convencional o biológico a MTX, según práctica clínica ajustada a guías.

Alrededor de dos tercios de los pacientes permanecían en monoterapia a los 5 años (probabilidad de supervivencia del 50% a los 7,2 años de seguimiento) y más de tres cuartos continuaban recibiendo MTX al final del seguimiento. Un meta-análisis de 159 estudios previos a la aparición de los biológicos reveló que la supervivencia a 5 años del tratamiento con MTX en AR era del 65%, muy superior a la de los demás FAME convencionales (Maetzel 2000).

9.3 Variables principales o de resultado

9.3.1 Polimorfismos

El MTX debe ser absorbido, metabolizado y transportado, antes de realizar su efecto en la célula diana. Además, es degradado y excretado del interior del organismo. Las variaciones en los genes que codifican las proteínas que intervienen en estos procesos pueden modificar los efectos esperados del fármaco, ocasionando ineficacia o toxicidad.

Se analizaron los polimorfismos genéticos relacionados con el transporte y almacenamiento (*ABCB1* C3435T, *FPGS* G2572A, *GGH* T16A), con la transmetilación (*MTHFR* A1298C y *MTHFR* C677T) y con la vía de adenosina (*ITPA* C94A, *AMPD1* C34T y *ADA* A534G) de mayor relevancia en la variabilidad de la respuesta a MTX (Urano 2002, Dervieux 2004, Burgos 2009, Romao 2013).

Existen diferencias raciales y étnicas en las frecuencias de los polimorfismos, que pueden ser responsables de diferentes desenlaces del tratamiento con MTX en distintas poblaciones. También pueden existir dentro de un grupo étnico diferencias entre la población estudiada y la población general.

El Proyecto 1000 Genomas es una iniciativa emprendida para analizar el material genético de mil personas en todo el mundo y así obtener una base de datos que permita estudiar la variabilidad genética humana. Se puede consultar libremente en <http://www.internationalgenome.org/>. Comparamos la frecuencia de los polimorfismos investigados entre la población estudiada y la población española representada en el Proyecto 1000 Genomas, tanto para la variante ancestral (wild type) (Figura 6) como para el alelo mutado (MAF, del inglés Minor allele frequency) (Figura 7). No encontramos diferencias significativas, por lo que podemos afirmar que se trata de una muestra representativa de la población española.

Por otro lado, podríamos afirmar también que ninguno de los polimorfismos estudiados está relacionado con la etiología de la enfermedad, ya que las frecuencias alélicas son similares a las de la población española.

Figura 6. Frecuencias de la variante ancestral en el estudio y la población española

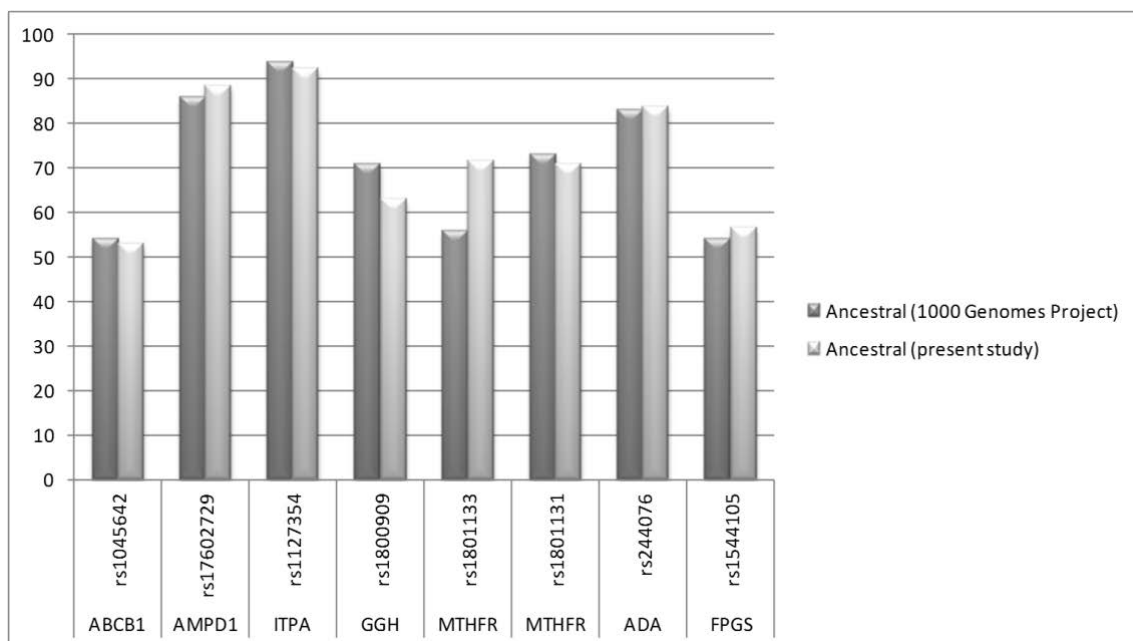
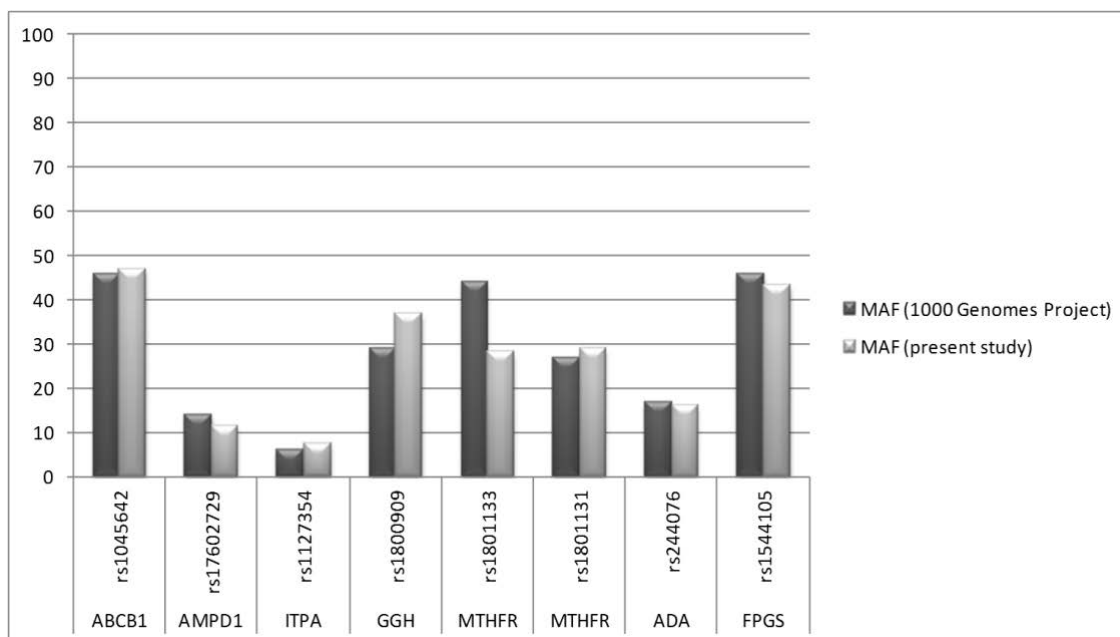


Figura 7. Frecuencias de la variante mutada en el estudio y la población española



9.3.2 Respuesta a MTX

Los pacientes fueron clasificados como respondedores si alcanzaban un estado de baja actividad (DAS28-PCR <3,2) o de remisión clínica (DAS28-PCR <2,6) con la monoterapia y lo mantenían durante todo el seguimiento. La mitad de los pacientes entraron en baja actividad con MTX en monoterapia (y 33% en remisión), siendo considerablemente mejor el porcentaje de respuesta a partir del año 2000 (58%). Estos datos se encuentran dentro de los rangos publicados por otros autores (Weinblatt 1994, Vermeer 2011, Rezaei 2012, Verstappen 2012).

Los pacientes que lograron el objetivo del tratamiento (baja actividad / remisión) generalmente (>95%) fue con dosis intermedias de MTX (de 10 a 20 mg semanales). Las dosis inferiores a 10 mg fueron insuficientes y las superiores a 20 mg no consiguieron mejorar mucho la tasa de respuesta (y además fueron mal toleradas).

9.3.3 Acontecimientos adversos

La mitad de la muestra presentó acontecimientos adversos relacionados con el MTX. Los AA más frecuentes fueron gastrointestinales, neurológicos y hepáticos, tal como se observó en una revisión sistemática previa (Salliot 2008).

Los acontecimientos adversos notificados en todos los estudios son leves y la mayoría de las veces se resuelven sin necesidad de suspender el tratamiento o sólo con interrupciones temporales. En nuestro caso, un tercio de los pacientes realizaron interrupciones temporales del tratamiento por diferentes causas (infecciones,

embarazos, acontecimientos adversos) y 18% suspendieron definitivamente MTX durante el seguimiento. Al analizar el origen, apreciamos que los AA presentados con mayor frecuencia (gastrointestinales, neurológicos, hepáticos y alopecia) y los hematológicos (poco frecuentes) fueron los más relacionados con la suspensión de MTX (51%, 40%, 22%, 18% y 15%, respectivamente).

9.4 Asociación con características clínicas

Los numerosos estudios que han investigado los factores sociales, demográficos, clínicos y genéticos asociados con la eficacia y toxicidad de MTX, han aportado resultados controvertidos.

9.4.1 Respuesta a metotrexato (baja actividad / remisión clínica)

En los estudios basados en el cuidado estándar de los pacientes con AR, los factores asociados a menor probabilidad de respuesta al tratamiento con MTX fueron el tabaquismo actual, el sexo femenino, menor edad de los pacientes y mayor actividad (y discapacidad) de la enfermedad al inicio del tratamiento (Hoekstra 2003, Wessels 2007, Katchamart 2010, Saevarsdottir 2011). En un meta-análisis, la duración de la enfermedad y el fracaso previo a otros FAMEs también se asociaron con una menor probabilidad de respuesta a MTX (Anderson 2000).

Ya comentamos que la mitad y un tercio de nuestros pacientes permanecieron en baja actividad y remisión respectivamente durante el seguimiento. La probabilidad de alcanzar un estado de baja actividad en el análisis bivariante aumentó con la edad del paciente al inicio de la enfermedad y disminuyó en los fumadores activos, en los que presentaban mayor actividad inflamatoria al inicio del tratamiento o erosiones durante el primer año y en los que habían sido tratados con otros FAME antes de MTX. La probabilidad de que además entrarán en remisión disminuyó con la duración de la enfermedad y con la afectación extraarticular, y aumentó con la administración subcutánea de MTX. La tasa de respuesta fue mejor en los pacientes cuyo primer FAME fue MTX y en los que recibieron este compuesto de forma más temprana.

Los resultados del análisis multivariante confirmaron que la probabilidad de respuesta a MTX fue menor en las mujeres, los fumadores activos, pacientes con erosiones óseas tempranas, elevación del DAS28-PCR basal y Mantoux positivo y que, además, la probabilidad de remisión fue menor con las manifestaciones extraarticulares y dosis más altas de MTX, y aumentó en los pacientes ACPA-positivo.

El tabaco es el principal factor de riesgo modificable en la AR. Se asocia a un aumento de la susceptibilidad de desarrollar AR (Vessey 1987, Sugiyama 2010, Lee Y 2014), a una evolución más grave de la enfermedad (Saag 1997, Masdottir 2000, Mikuls 2008), y a peor respuesta a diferentes tratamientos, incluyendo MTX en monoterapia y biológicos dirigidos contra el TNF- α (Hyrich KL 2006, Wessels 2007, Saevarsdottir 2011, Soderlin 2011). Más del 60% de nuestros pacientes había fumado en algún momento. A pesar de

que este hábito no se relacionó con la presencia o los títulos de ACPA, erosiones articulares, capacidad funcional o afectación extraarticular, los fumadores actuales (pero no los exfumadores) tuvieron una menor probabilidad de alcanzar un estado de baja actividad / remisión con MTX en monoterapia, un efecto que se mantuvo en los análisis multivariantes.

La remisión clínica con MTX parece asociarse más a la dosis que a la vía de administración (Wessels 2007, Goodman 2015). Sin embargo, cuando no se consigue el objetivo terapéutico o se precisan dosis superiores a 15 mg puede ser beneficioso cambiar a la vía SC, que además mejora la supervivencia del fármaco (Braun 2009). En nuestro estudio, el MTX se inició casi siempre por vía oral y en un tercio de los casos se cambió a la vía SC durante el seguimiento, generalmente en el escalado de dosis o por aparición de molestias gastrointestinales, de acuerdo con las recomendaciones (Visser 2009). El mayor porcentaje de baja actividad / remisión se alcanzó con dosis intermedias, lo que probablemente refleja el empleo de una cantidad inadecuada en las dosis más bajas y una falta de respuesta en las más altas. Esto es, los pacientes que respondían a MTX lo hacían generalmente con una dosis en torno a 15 mg. En el análisis multivariante, los pacientes con dosis más elevadas de MTX tuvieron menos probabilidad de alcanzar la remisión. En el estudio Camera (Verstappen 2007) los pacientes que alcanzaron la remisión precisaron una dosis media de MTX menor que los que no la alcanzaron ($p=0,008$), tanto en el grupo de intervención como en el grupo control. Y la tercera parte de los casos cambiaron a la administración SC por escalado de dosis o toxicidad; un resultado observado también en nuestro estudio.

Al inicio de la enfermedad, la monoterapia con MTX consigue mejores resultados, equiparables a los de la terapia biológica, cuando se añade prednisona (van der Goes 2016, Smolen 2017). En nuestra serie, más del 80% de los pacientes recibieron prednisona, con una mediana de dosis de 10 mg (5 – 10), lo que pudo favorecer las tasas de respuesta.

En nuestro estudio, las mujeres tuvieron menores tasas de respuesta que los hombres, en consonancia con observaciones previas (Alarcon 1995, Carmona 2010, Gonzalez-Alvaro 2015), y a pesar de que la tasa de otros factores de mal pronóstico, como el tabaquismo activo, la presencia de comorbilidad, o títulos altos de FR eran mayores en los hombres. Esto confirma una peor respuesta en mujeres de forma independiente.

El FR y los ACPA se consideran factores de mal pronóstico en AR (Visser 2009, McInnes 2010, Van den Broek 2012) y existen recomendaciones específicas para su tratamiento (Smolen 2014, Smolen 2017). El mero hecho de presentar estos biomarcadores lleva a los reumatólogos a utilizar dosis más altas de FAME y de forma precoz, lo que conlleva la paradoja de que la respuesta es mejor que en pacientes con mejor pronóstico, o al menos mejor pronóstico biológico, como se ha demostrado en estudios previos (González-Álvaro 2015). En nuestro estudio también se comprueba que los pacientes con FR y/o ACPA positivo recibieron dosis más elevadas de MTX y que no solo no presentaron peor respuesta al tratamiento, sino una mayor tasa de remisión que los que no tenían estos biomarcadores.

Existe un resultado consistente en nuestro estudio que resulta más difícil de explicar, sobre todo porque hay poca evidencia al respecto. A todos los pacientes incluidos en el estudio se les realizó despistaje de tuberculosis por protocolo. El Mantoux fue positivo en 42 (15%) pacientes, 1 con tuberculosis activa, 6 con tuberculosis antigua y 35 con tuberculosis latente. Estos pacientes tuvieron peor respuesta a MTX que los pacientes con Mantoux negativo. Se ha publicado un incremento del riesgo de tuberculosis en pacientes con AR en población española (Carmona 2003), pero no hemos encontrado en la literatura ningún trabajo que lo relacione con la respuesta terapéutica. Nos preguntamos si el aumento de expresión o actividad de ADA en las células observado en la tuberculosis (Ungerer 1992) puede interferir con la respuesta a MTX, disminuyendo la concentración de adenosina o actuando por otras vías. En cualquier caso, se trata de una hipótesis que precisa confirmación.

Otro dato esperanzador que arroja el estudio es que el porcentaje de pacientes respondedores a la monoterapia con MTX mejoró a partir del año 2000, pasando de menos del 30% a casi 60%. Esta mejoría puede deberse a varios factores, como el diagnóstico precoz, la intervención temprana, el seguimiento estricto con mejores herramientas de evaluación y el tratamiento por objetivos, todos ellos respaldados por la literatura científica y base para el tratamiento actual de la AR (Boers 1997, van Gestel 1998, Sokka 2000, Mottonen 2002, Pincus 2003, Grigor 2004, Saunders 2008, Smolen 2010). Desde la década de los noventa hasta 2015, el intervalo medio entre el inicio de la enfermedad y el diagnóstico pasó de 21 a 15 meses, y entre el diagnóstico y el inicio de MTX, de 34 a mes y medio. Además, desde el año 2000, MTX se utilizó generalmente como primer FAME y se inició más temprano. Todo esto no es sino un indicador de las buenas prácticas del servicio en colaboración con atención primaria.

9.4.2 Toxicidad por MTX

En una revisión sistemática que incluyó dos meta-análisis, 54 estudios prospectivos y 3 estudios caso-control (3463 pacientes con un seguimiento medio de 36,5 meses), casi el 73% de los casos presentó al menos un acontecimiento adverso, predominando los gastrointestinales y hepáticos (Salliot 2008). En general, la frecuencia de acontecimientos adversos detectados es mayor en los estudios prospectivos, pudiendo llegar hasta el 95% de los pacientes en los tratamientos más intensivos con dosis más elevadas de MTX (Verstappen 2007). En nuestro estudio, la mayoría de los pacientes alcanzó una dosis de MTX entre 15 y 20 mg, generalmente con buena tolerancia. En cambio, los pacientes que necesitaron dosis mayores de 20 mg (<5%) tuvieron mala tolerancia (75%). El diseño del estudio y las dosis empleadas pueden explicar que se registrara algún acontecimiento adverso relacionado con MTX en la mitad de los pacientes, solamente. La tercera parte de los casos, que supone el 18% de la muestra, tuvo que suspender definitivamente el fármaco por toxicidad. En estudios previos, la suspensión del MTX por efectos secundarios en AR varió entre el 6 y el 37% de los pacientes, dependiendo del tipo de estudio, la dosis, la frecuencia y la duración de la administración (Schnabel 1994, Hoekstra 2003, Verstappen 2007, Salliot 2008), y ocurrió predominantemente durante los

dos primeros años de tratamiento (Albrecht 2010). Asimismo, se ha relacionado con ausencia de suplementos de folato, eventos gastrointestinales previos y obesidad (Hoekstra 2003). También pueden contribuir otros factores, incluyendo los cambios en la farmacocinética y deterioro de la función renal asociados a la edad, los fármacos concomitantes (AINE y diuréticos) y otros trastornos crónicos concomitantes (Verstappen 2010, Verstappen 2012).

La práctica totalidad de nuestros pacientes recibió suplementos de ácido fólico. La aparición de toxicidad, considerada de forma global, se relacionó con la menor edad del paciente en el momento del diagnóstico, el sexo femenino, la actividad inflamatoria basal y la presencia de manifestaciones extraarticulares y comorbilidades, permaneciendo tras los análisis multivariantes el sexo, la edad y las comorbilidades.

La toxicidad de tipo digestivo fue más común en los pacientes más jóvenes y en las mujeres.

La presencia de un Mantoux positivo y el mayor número de trastornos crónicos incrementaron considerablemente la probabilidad de aparición de acontecimientos adversos de naturaleza hepática, pero tras controlar por factores de confusión sólo permaneció el Mantoux positivo, lo que probablemente esté reflejando toxicidad añadida por el propio tratamiento tuberculostático.

Los acontecimientos adversos hematológicos se relacionaron con la existencia de erosiones óseas y las comorbilidades, lo que podría reflejar una mayor gravedad general del paciente.

A la hora de interpretar todos los resultados de toxicidad, no obstante, hay que tener en cuenta que los modelos estadísticos para toxicidad mostraron menor capacidad explicativa que los de respuesta y remisión.

9.5 Polimorfismos genéticos

Además de los factores demográficos y clínicos, los polimorfismos genéticos relacionados con el transporte y metabolismo de MTX pueden participar en la variabilidad de la respuesta en términos de eficacia y seguridad (Urano 2002, Dervieux 2004, Burgos 2009, Romao 2013), ya que pueden modificar la expresión y la función de la proteína codificada. De los numerosos polimorfismos de genes relacionados con el MTX en AR, que han sido objeto de estudio y fueron mencionados en la introducción, nos vamos a centrar en los seleccionados para el presente estudio: *ABCB1* 3435C>T (rs1045642), *GGH* T16C (rs1800909), *FPGS* G2572A (rs1544105), *MTHFR* C677T (rs1801133), *MTHFR* A1298C (rs1801131), *AMPD1* 34C>T (rs17602729), *ADA* 534A>G (rs244076) e *ITPA* 94C>A (rs1127354). Para facilitar su comprensión, se discutirán los posibles efectos de cada SNP de forma agrupada.

9.5.1 Transporte y almacenamiento de MTX

En la introducción, se explicó que la expresión y función de la gp-P, codificada por un gen de resistencia a múltiples fármacos de la familia ATP (ABCB1 o MDRA-1), parece influir en la respuesta a FAMEs, pero también en la actividad de la AR. No obstante, los meta-análisis publicados no han encontrado una asociación consistente de este polimorfismo con la susceptibilidad a AR (Lee 2016), con la respuesta (Chen 2017), ni con la toxicidad (Lee 2016) por MTX.

En el **anexo 11.7.4** se resumen los resultados de los estudios que han explorado la relación entre el polimorfismo rs1045642 (ABCB1_3435CTc) y el desenlace del tratamiento con MTX en pacientes con AR. En nuestro estudio se ha encontrado que los homocigotos para el alelo mutado (genotipo T/T) tuvieron menor probabilidad de alcanzar la remisión, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística ($p=0,052$). Estos datos son concordantes con los encontrados en población caucásica en un meta-análisis reciente (Chen 2017) y podrían estar relacionados con el hallazgo de que los pacientes con el alelo T (genotipos C/T y T/T) presentan mayor actividad inflamatoria en AR (Muralidharan 2015).

No se encontró asociación entre el polimorfismo C3435T y la toxicidad global. Sin embargo, las mujeres portadoras del alelo mutado (genotipos C/T y T/T) sufrieron menor frecuencia de AA hematológicos, con independencia de los factores clínicos, encontrándose un efecto de interacción entre este polimorfismo y el sexo. Dos estudios de pequeño tamaño en caucásicos habían encontrado asociación entre toxicidad global por MTX y la presencia del alelo C (Grabar 2008, Plaza-Plaza 2012).

La relación entre el polimorfismo C3435T *ABCB1* y los efectos de MTX puede afectarse por otros polimorfismos de la familia de transportadores ABC que también intervienen en la salida de MTX de la célula (Lima 2015), los medicamentos concomitantes en el tratamiento de la AR que emplean el mismo transportador, como los hipolipemiantes, la recirculación entero-hepática del MTX administrado por vía oral e incluso las diferencias individuales en el fenotipo de gp-P resultante del SNP C3435T *ABCB1* en pacientes con AR (Takatori 2006). En nuestro caso, la mayoría de los pacientes recibieron MTX por vía oral en, siendo también muy frecuente la administración de hipolipemiantes.

También vimos que el almacenamiento intracelular de MTX se realiza en forma de MTX-PG₂₋₅ y que la enzima FPGS añade moléculas de glutamato al compuesto de MTX, mientras que la enzima GGH desnuda de glutamatos al MTX, favoreciendo su expulsión de la célula. La actividad de estas enzimas podría influir en los efectos del MTX. Sin embargo, los resultados de los escasos estudios realizados hasta la fecha no apoyan una contribución importante de los polimorfismos de *GGH* y *FPGS* a los efectos de MTX en los pacientes con AR. Se especula si la interacción entre los SNPs de los transportadores y de las enzimas de glutamación de MTX pueden tener algún efecto sobre la eficacia y toxicidad de MTX en esta enfermedad.

Los polimorfismos *FPGS* G2572A y *GGH* T16C, explorados en nuestra cohorte, disminuyen teóricamente la actividad de la enzima respectiva. Se observó una interacción

entre el SNP *GGH_16TCc* y el sexo, de forma que el genotipo C/C aumentaba considerablemente la posibilidad de respuesta en las mujeres, pero no en los hombres, que era independiente de las variables clínicas, aunque con unos intervalos de confianza muy amplios, que restan precisión a la estimación.

Los pacientes con el genotipo G/A del SNP *FPGS_G2572A* tuvieron menor probabilidad de remisión que los homocigotos.

También se encontró una interacción entre el polimorfismo *FPGS_2572GAc* y el sexo, de forma que los varones (pero no las mujeres) con genotipo G/A presentaron una frecuencia significativamente menor de AA gastrointestinales, según un modelo de herencia sobredominante, que se mantuvo en el análisis multivariante. Los pacientes con genotipo C/C del SNP *GGH T16C* presentaron mayor riesgo de AA neurológicos en el análisis bivariante y multivariante, que los portadores del alelo nativo. También tuvieron mayor frecuencia de AA globales, aunque no alcanzó significación estadística.

No encontramos relación entre la interacción de *MDR1* con *FPGS* o *GGH* y la respuesta a MTX.

9.5.2 Vías metabólicas del ácido fólico

El MTX-PG₂₋₅ almacenado en las células inhibe enzimas esenciales para la síntesis y reparación del ADN, y la replicación celular, tanto de forma directa (*DHFR*, *TYMS* y *ATIC*), como indirecta (*MTHFR*). La enzima *MTHFR* es necesaria para la regeneración del folato reducido y juega un papel clave en el mantenimiento del equilibrio entre la síntesis, reparación y metilación del ADN. Los polimorfismos más estudiados del *MTHFR*, *C677T* (*rs1801133*) y *A1298C* (*rs1801131*), disminuyen la actividad de la enzima y aumentan la aparición de efectos secundarios (Ranganathan 2006, Hider 2007), pero sólo *C677T* aumenta la concentración de homocisteína y disminuye los niveles séricos de folato. Asimismo, la disminución de 5-metilTHF, metionina, S-adenosilmetionina y de las reservas de THF resultantes de la inhibición por MTX de una *MTHFR* con actividad disminuida podría acompañarse de mayor eficacia (además de mayor toxicidad) del fármaco (Fowler 2001, Dervieux 2006, Kurzwaski 2007). En el capítulo de anexos se resumen los resultados de los estudios que han explorado la relación de los polimorfismos *rs1801131* (**Anexo 11.7.1**) y *rs1801133* (**Anexo 11.7.2**) y sus haplotipos (**Anexo 11.7.3**) con los desenlaces del tratamiento de MTX en pacientes con AR.

Algunos meta-análisis han encontrado asociación del polimorfismo *MTHFR_C677T* con la aparición de acontecimientos adversos por MTX (Fisher 2009, Spyridopoulou 2012, Song 2014, Chen 2017, Shao 2017), pero otros no (Lee 2010, Owen 2013b, Qiu 2017), y en ninguno se ha observado relación con la eficacia (Fisher 2009, Lee 2010, Owen 2013b, Morgan 2014, Chen 2017, Shao 2017, Qiu 2017b) independientemente del modelo genético utilizado, en contra de lo esperado. En general, no se ha observado ninguna asociación del polimorfismo *rs1801131* con la eficacia ni con la toxicidad de MTX en pacientes con AR (Fisher 2009, Lee 2010, Owen 2013b, Morgan 2014, Qiu 2017), aunque se ha comunicado una menor frecuencia de acontecimientos adversos por MTX en

pacientes con genotipo C/C del MTHFR_A1298C (Ongaro 2009, Spyridopoulou 2012, Song 2014). La discordancia e inconsistencia de los resultados de algunos estudios y metaanálisis puede estar en relación con las características de las muestras estudiadas, especialmente la etnia, las dosis y vía de administración de MTX, y la administración concomitante de otros FAME y otros fármacos, particularmente suplementos de folato. En los estudios más antiguos, los pacientes recibían dosis más bajas de MTX sin suplementos de folato. El MTX inhibe la DHFR, produciendo un estado de deficiencia efectiva de folato. Se ha demostrado que la administración de suplementos de ácido fólico no antagoniza la respuesta terapéutica y mejora su tolerabilidad, pero todavía existen diferencias pronunciadas en la práctica clínica (Taşbaş 2011). Ya comentamos, que los suplementos de ácido fólico aportados de forma sistemática a nuestros pacientes, puede explicar una frecuencia menor de efectos secundarios.

La discrepancia entre los resultados observados y los esperados con los SNP MTHFR, que disminuyen la actividad enzimática, pueden explicarse por la interacción entre polimorfismos del mismo o diferentes genes (Ongaro 2009, Shao 2017) y factores clínicos como el sexo, la edad, el hábito de fumar y la duración y actividad de la enfermedad al inicio, que pueden influir en la eficacia o toxicidad del MTX en los pacientes con AR (Anderson 2000, Van Ede 2001, Hoekstra 2003, Hider 2007, Hider 2009). En los análisis de muchos estudios no se han tenido en cuenta los factores de confusión, por lo que los resultados no están ajustados. En nuestro caso, y con el fin de independizar el efecto de los polimorfismos sobre la respuesta a MTX, se realizaron modelos multivariantes de regresión logística para cada SNP controlando el efecto de variables relacionadas con el paciente (edad al diagnóstico, sexo, hábitos sobre tabaco y alcohol, comorbilidades), la enfermedad (tiempo desde los síntomas al diagnóstico, FR, ACPA, erosiones óseas, DAS28-PCR basal, manifestaciones extra-articulares, Mantoux), y el tratamiento (tiempo desde los síntomas y desde el diagnóstico hasta el tratamiento con FAME, número de FAMEs previos, tiempo desde el inicio de los síntomas hasta MTX, dosis de ácido fólico, prednisona y MTX, vía de administración). Estos modelos ajustados demostraron que el genotipo T/T del *MTHFR_C677T* aumenta considerablemente la probabilidad de respuesta y de remisión en el análisis multivariante, mientras que el genotipo C/C del SNP *MTHFR_1298ACc* disminuye la probabilidad de respuesta a MTX frente a los genotipos A/A y A/C, en los análisis bivalente y multivariante. Resulta llamativo que los homocigotos para el alelo mutado de cada SNP tengan una asociación de signo opuesto con la eficacia de MTX, independiente de los determinantes clínicos, cuando teóricamente ambos polimorfismos producen una reducción de la actividad de la enzima.

Respecto a la toxicidad, los análisis ajustados mostraron que el genotipo C/T del polimorfismo *MTHFR_C677T* aumenta la probabilidad de acontecimientos adversos, considerados de forma global, frente a los genotipos C/C y T/T en los modelos de herencia sobredominante y codominante. Encontramos un efecto de interacción entre el *MTHFR_1298ACc* y el sexo que se mantuvo en el análisis multivariante, en el que los varones con el genotipo C/C tuvieron un importante incremento del riesgo de AA hepáticos que no se observó en mujeres.

El análisis de asociación de los polimorfismos C677T y A1298C de *MTHFR* sugirió que la ausencia del alelo 677T puede asociarse a una peor respuesta, ya que los haplotipos 677C-1298C y 677C-1298A disminuyen la probabilidad de respuesta, sin interacción por sexo. Además, el haplotipo 677C-1298C simultáneamente aumenta de forma importante la probabilidad de AA globales y hepáticos en los varones, pero no en las mujeres, evidenciando una interacción por sexo para la asociación del haplotipo y los AA. Estos efectos son independientes de las variables de control. En un estudio realizado en 174 polacos (Kurzawski 2007), el haplotipo 677T-1298C se asoció a una mayor probabilidad de remisión, sugiriendo que la disminución de la expresión de *MTHFR* se asocia a una mejor respuesta. En población japonesa (Urano 2002) los resultados han sido muy diferentes, ya que el haplotipo 677T-1298C no se encontró en ningún paciente, el haplotipo 677C-1298C se asoció a dosis más bajas de MTX y el haplotipo 677T-1298A a una mayor frecuencia de efectos secundarios. Un meta-análisis más reciente con 812 pacientes de 4 cohortes concluyó que los polimorfismos 677TCc y 1298ACc no tienen individualmente utilidad clínica para predecir la respuesta a MTX en AR temprana (Morgan 2014).

En población española, los resultados han sido muy variables. En un estudio de 124 pacientes (Salazar 2014) no encontraron asociación de ninguno de estos SNPs con eficacia o seguridad de MTX en monoterapia. En otro análisis de 67 pacientes se observó asociación del genotipo T/T del C677T con toxicidad global, pero no del haplotipo C677T y A1298C (Plaza-Plaza 2012). En un estudio retrospectivo multicéntrico de 468 casos se encontró una relación entre el genotipo T/T del C677T y la discontinuación de MTX por cualquier tipo de toxicidad, junto con una frecuencia mayor de intolerantes a MTX en el diplotipo 677T-1298A, que no alcanzó significación estadística (Caliz 2012). En estos dos últimos estudios, los pacientes podían estar recibiendo otros FAME de forma concomitante con MTX.

La inhibición de enzimas de la vía de adenosina (ATIC, AMPD, ADA, ITPA) por MTX conduce a un incremento de AMP y adenosina. Esta vía incluye los intermedios Inosina monofosfato e Inosina trifosfato y las enzimas clave ITPA, IMP (IMPDH) y AMP (AMPD1 y ADA). La adenosina se acumula en el interior de la célula y, tras ser desfosforilada, es liberada al espacio extracelular donde parece mediar los efectos antiinflamatorios de MTX por medio de los receptores A2A. El mecanismo de acción real de MTX, a la dosis baja utilizada en el tratamiento de la AR, aún no se conoce en su totalidad, pero se cree que los efectos antiinflamatorios, mediados por la liberación de adenosina, son más importantes que los efectos antiproliferativos (Cronstein 2006, Riksen 2006).

En nuestro estudio investigamos la asociación de polimorfismos de AMP deaminasa (*AMPD1*), Inosina trifosfato pirofosforilasa (*ITPA*) y adenosina deaminasa (*ADA*). El gen *AMPD1* codifica la enzima AMPD que cataliza la conversión de AMP a IMP. El polimorfismo 34C>T (rs17602729) disminuye la función de la enzima, favoreciendo la conversión de AMP en adenosina (Morisaki 1992). Se ha comunicado que el alelo T de *AMPD1* 34C/T se asocia a buena respuesta de los pacientes con AR al MTX, especialmente en monoterapia (Wessels 2006b, Chen 2017). Sin embargo, estos hallazgos no han sido

respaldados por otros estudios (Fransen 2012, Owen 2013). Incluso, los análisis de un estudio reciente realizado en pacientes caucásicos con AR de un hospital esloveno y otro serbio (Jenko 2018) han aportado resultados opuestos entre las dos muestras. Los autores interpretan que la asociación entre *AMPD1* rs17602729 y la eficacia del tratamiento con MTX está influenciada por variables de confusión como la dosis de MTX o el valor del DAS28 en el momento del diagnóstico. En nuestro caso, la frecuencia del alelo T fue muy baja y no encontramos ninguna asociación del polimorfismo de *AMPD1* C34T con la eficacia o toxicidad de MTX.

El gen *ITPA* codifica para la enzima *ITPA* que cataliza la conversión de ITP en IMP y la formación de Inosina. El SNP *ITPA* 94C>A teóricamente disminuye la actividad de la enzima y podría favorecer la formación de AMP y adenosina. Ha sido poco estudiado y los resultados obtenidos son contradictorios. En un estudio el genotipo C/C se asoció a buena respuesta a MTX y su asociación con el alelo T de *AMPD* 34C>T aumentó la respuesta (Wessels 2006b), mientras que otros dos estudios no respaldan dichos resultados (Fransen 2012, Owen 2013). En nuestro estudio encontramos que el genotipo C/A del SNP *ITPA_C94A* disminuye la probabilidad de respuesta respecto a A/A y C/C en el análisis bivariante, pero este efecto se pierde en el multivariante. Como ocurrió con el *AMPD1*, el genotipo AA del SNP *ITPA* fue muy infrecuente (<2%) por lo que no se deben extraer conclusiones.

ADA cataliza la conversión de adenosina en inosina. No se conoce el efecto del polimorfismo sobre la enzima, pero en un estudio en población hindú se ha observado una asociación del genotipo A/A del SNP sinónimo rs244076 A/G con peor respuesta a MTX en AR (Sharma 2009).

Los pacientes con el genotipo A/G del SNP *ADA* A534G tuvieron menos AA globales y especialmente menos AA digestivos que los genotipos A/A y G/G, en un modelo sobredominante, que se mantiene en el análisis multivariante. Además, observamos que el genotipo G/G se asoció de forma importante a la aparición de AA hepáticos, asociación que se mantuvo en el análisis ajustado, en un modelo de herencia recesivo. En cambio, los portadores del alelo mutado (genotipos A/G y G/G) desarrollaron alopecia por MTX con menor frecuencia que los homocigotos nativos (genotipo A/A) y los pacientes homocigotos para el alelo mutado (G/G) tuvieron menos acontecimientos neurológicos que los portadores del alelo nativo (A/G y A/A). No encontramos asociación del SNP A534G con la eficacia de MTX en AR.

9.6 Síntesis

La probabilidad de conseguir baja actividad / remisión en AR con MTX en monoterapia fue menor en las mujeres, los fumadores activos, pacientes con Mantoux positivo, enfermedad más grave (mayor actividad basal, erosiones durante el primer año y manifestaciones extraarticulares) y necesidad de mayores dosis de MTX. Los pacientes ACPA+ tuvieron mayor probabilidad de alcanzar la remisión clínica.

Además, con independencia de los determinantes clínicos, los pacientes homocigotos

para el alelo mutado (genotipo T/T) del SNP MTHFR C677T tuvieron mayor probabilidad de respuesta y de remisión, que los genotipos C/T y C/C, hallazgo congruente con la disminución del 70% de la actividad enzimática (Ranganathan 2006b, Hider 2007). Sin embargo, los pacientes homocigotos para el alelo mutado (genotipo C/C) del SNP MTHFR A1298C tuvieron menor probabilidad de alcanzar baja actividad, pero no remisión, que los genotipos AA y AC. Al analizar la asociación entre los SNP de MTHFR T677C - A1298C observamos que los haplotipos C-C y C-A tuvieron menor probabilidad de respuesta y remisión que los haplotipos T-C y T-A.

Las mujeres homocigotas para el alelo mutado (genotipo C/C) del SNP GGH T16C, aunque con unos intervalos de confianza muy amplios, presentaron un incremento importante de la probabilidad de respuesta, coherente con la disminución de la hidrólisis de MTX₂₋₅.

Respecto a la toxicidad por MTX, la presentación global de acontecimientos adversos fue más frecuente en mujeres, pacientes con mayor número de trastornos crónicos y menor edad. También fue más frecuente en los portadores del genotipo C/T del SNP MTHFR_T677C y del genotipo C/C del SNP GGH_T16C y menos frecuentes en aquellos con el genotipo A/G del SNP ADA_A534G, con independencia de los factores clínicos y demográficos.

La elevación de transaminasas se produjo con mayor frecuencia en pacientes con Mantoux positivo, probablemente por la medicación tuberculostática, y, de forma muy importante e independiente de las variables clínicas, en los portadores del genotipo G/G del SNP ADA_A534G y en los varones (pero no las mujeres) con el genotipo C/C del SNP MTHFR_A1298C.

Los varones (pero no las mujeres) con el haplotipo C-C de los SNPs C677T-A1298C del gen MTHFR tuvieron más AA globales y, sobre todo, hepáticos, con independencia de las variables clínicas.

La intolerancia digestiva fue mayor en mujeres, pacientes con Mantoux positivo y menor edad. Por el contrario, fue menos frecuente en enfermos con el genotipo A/G del SNP ADA_A534G y varones (pero no mujeres) con el genotipo A/A del SNP FPGS_G2572A en los análisis ajustados.

La toxicidad hematológica por MTX fue más frecuente en los pacientes con erosiones óseas y con mayor comorbilidad. En el análisis multivariante, los portadores del alelo mutado del SNP ABCB1_C3435T (genotipos C/T y T/T) tuvieron este tipo de toxicidad con menor frecuencia que los homocigotos wild type (C/C), sobre todo en las mujeres.

El alelo G del SNP ADA_534AGc mostró un efecto protector, mientras que el genotipo AC del SNP MTHFR_1298ACc aumento el riesgo de alopecia, con independencia de los determinantes clínicos

Los pacientes con el genotipo C/C del SNP GGH_16TCc tuvieron síntomas generales/neurológicos con mayor frecuencia que los de los genotipos T/T y T/C, mientras que los portadores del alelo G (genotipos A/G y G/G) del SNP ADA_534AGc,

tuvieron menor frecuencia de este tipo de eventos que los monocigotos del alelo nativo. No encontramos asociación de ninguno de los polimorfismos con la suspensión de MTX por acontecimientos adversos. No obstante, los modelos para toxicidad tienen menor capacidad explicativa que los relacionados con respuesta y remisión.

9.7 Consideraciones finales

La farmacogenética persigue el tratamiento individualizado desde el comienzo de la enfermedad, que permita aplicar oportunamente a cada paciente el fármaco que le puede aportar el mayor beneficio con la menor toxicidad posible. Además de aportar efectividad, este enfoque terapéutico permitiría un ahorro en costes directos e indirectos.

En el caso de la AR, facilitaría el tratamiento de los pacientes en fases muy tempranas, cuando la carga celular es menor y los mecanismos de la enfermedad aún no están muy establecidos, consiguiendo la remisión clínica mantenida y evitando la progresión del daño estructural y la incapacidad laboral. Además, la farmacogenética podría evitar o disminuir la utilización de tratamientos empíricos innecesarios, y disminuiría el número de consultas médicas y controles analíticos necesarios para evaluar eficacia y toxicidad.

Sin embargo, la AR es una enfermedad muy compleja desde el punto de vista etiopatogénico presentando una altísima variabilidad interindividual en todos los aspectos, incluida la respuesta terapéutica. A pesar de contar con un fármaco reconocido unánimemente como de primera elección para iniciar el tratamiento, desconocemos la respuesta que va a presentar cada paciente. Los numerosos estudios farmacogenéticos realizados hasta el momento no han permitido dilucidar esta cuestión. Una posible explicación a esta incertidumbre podría estar en relación con el hecho de que la respuesta al MTX está determinada por una interacción compleja de diversos factores, como la farmacocinética y farmacodinamia del fármaco, las características clínicas y la variabilidad genética. La complejidad de esta interacción hace que sea difícil dilucidar el efecto de un SNP individual sobre los efectos clínicos, como la eficacia y la toxicidad. Las características no genéticas, como la edad, el sexo, las comorbilidades y las terapias concomitantes añaden mayor complejidad a la interacción, tal como se ha demostrado en algunos estudios recientes.

En este trabajo, hemos intentado seleccionar los polimorfismos relacionados con el desenlace del tratamiento con MTX, tras realizar una revisión exhaustiva de la literatura científica. Con este fin, hemos seleccionado SNPs relacionados con el acúmulo intracelular de MTX-PG (MDR1, FPGS y GGH), la transmetilación (MTHFR) y la vía de la adenosina (AMDP1, ITPA y ADA). Sin lugar a dudas, el número de polimorfismos estudiados es pequeño y excluye polimorfismos relevantes, lo que constituye una limitación insalvable de nuestro estudio.

El estudio está realizado sobre una cohorte uniforme de pacientes con AR, atendida en un solo centro, con el mismo protocolo asistencial durante todo el seguimiento y sometida al mismo tratamiento, MTX en monoterapia. Se ha realizado una revisión

meticulosa del historial clínico de los pacientes, para recoger las variables del estudio. Para este objetivo, se elaboró un cuaderno de recogida de datos (CRD) con las variables mostradas en el **anexo 11.6**. Además, se realizó una encuesta para confirmar y suplementar la información recogida de la historia clínica. La muestra es necesariamente pequeña, acorde con el área de salud.

El análisis de cada polimorfismo se realizó con modelos multivariantes, para independizar su influencia de las variables clínicas que con frecuencia añaden confusión a los resultados. Además, se estudiaron diferentes modelos de herencia.

La homogeneidad de la muestra, el tratamiento en monoterapia, la doble comprobación de los datos (revisión de la historia y entrevista) y la rigurosidad del análisis estadístico aportan fiabilidad a los resultados.

Un polimorfismo causa una alteración en la función de la proteína codificada, pero no una proteína no funcionante, por lo que la repercusión sobre el efecto de un fármaco es pequeña. La alteración de la función de una proteína puede ser diferente en cada persona. Este efecto puede ser aún más importante en una enfermedad con tanta variabilidad como la AR, donde diferencias genéticas o epigenéticas relacionadas con la enfermedad, características individuales o variables clínicas, pueden tener más influencia sobre la respuesta terapéutica que un SNP individual relacionado con el metabolismo del MTX. Todo esto puede explicar las discordancias observadas entre los diferentes estudios, incluido el nuestro.

La farmacogenética es un campo de estudio apasionante para la individualización de los tratamientos. Su progresión será diferente según las características de las distintas patologías y tratamientos. La realización de estudios prospectivos en cohortes de gran tamaño y en etnias diferentes, que contemple las interacciones entre diferentes genes y con factores ambientales acabará dando resultados aplicables en la práctica clínica.

10 CONCLUSIONES

1. Conclusión general

- 1.1. Como conclusión general, podemos afirmar que las características clínicas y los polimorfismos estudiados tienen influencia sobre la respuesta terapéutica, en términos de eficacia y seguridad, de los pacientes con AR tratados con MTX en monoterapia y pueden explicar, al menos en parte, la variabilidad de la respuesta.

2. Conclusiones específicas relacionadas con las características clínicas

- 2.1. En pacientes con AR, se confirma que ser mujer, fumar, tener una enfermedad más grave (con DAS28 basal más elevado y erosiones tempranas) y un Mantoux positivo disminuyen la probabilidad de obtener una buena respuesta con MTX en monoterapia. Faltaría por entender el mecanismo por el que la tuberculosis se asocia a una peor respuesta a MTX.
- 2.2. La probabilidad de alcanzar la remisión clínica es menor en mujeres, fumadores, y pacientes con una enfermedad más grave (con DAS28 basal más elevado, erosiones tempranas y manifestaciones extraarticulares) y que precisan dosis más altas de MTX. El tabaquismo se confirma como el principal factor modificable de mala respuesta a MTX.
- 2.3. En cuanto a la toxicidad, los acontecimientos adversos, considerados globalmente y relacionados con MTX, fueron más frecuentes en pacientes del sexo femenino, con comorbilidades y menor edad. Se sugieren como factores de riesgo: el sexo y menor para la toxicidad digestiva, el Mantoux positivo para la digestiva y la hepática y la gravedad (erosiones y comorbilidad) para la hematológica. La mayoría de los pacientes con Mantoux positivo recibieron tuberculostáticos que pueden ser la causa de la toxicidad digestiva y hepática, pero faltaría por entender el mecanismo que subyace en la relación inversa entre edad y toxicidad.

3. Conclusiones específicas relacionadas con los polimorfismos genéticos

- 3.1. Con independencia de las características clínicas, la respuesta a MTX se asoció a los SNPs de los genes *MTHFR* y *GGH*. Los pacientes con AR que son homocigotos (T/T) para el polimorfismo de *MTHFR_C677T* tienen mayor probabilidad de respuesta al MTX (baja actividad y remisión), en concordancia con la disminución estimada del 70% de la actividad enzimática. Sin embargo,

los homocigotos (C/C) para el polimorfismo de *MTHFR*_A1298C tienen menor probabilidad de respuesta al MTX (baja actividad), con independencia de los determinantes clínicos. Los haplotipos C-C y C-A de los SNPs C677T-A1298C del gen *MTHFR* disminuyen la probabilidad de respuesta a MTX, sugiriendo que la ausencia en el haplotipo del alelo 677T confiere una peor respuesta. Los hombres homocigotos (C/C) del polimorfismo *GGH*_T16C, presentaron una menor probabilidad de respuesta clínica que los genotipos T/T y T/C.

- 3.2. Con independencia de las características clínicas, la toxicidad relacionada con MTX en los pacientes con AR se asoció a los SNP de *MTHFR*, *GGH* 16TCc, *ADA* 534AGc y *FPGS* 2572GAc.
- 3.3. La toxicidad considerada globalmente parece ser mayor en los heterocigotos (genotipo C/T) para *MTHFR*_T677C y en pacientes con el haplotipo C-C de los SNP 677TCc y 1298ACc y menor en los heterocigotos (genotipo A/G) para *ADA* 534AGc.
- 3.4. La toxicidad hepática se produjo con mayor frecuencia en pacientes homocigotos (genotipo G/G) para el SNP *ADA* 534AGc y en hombres (pero no en mujeres) homocigotos (genotipo C/C) para el SNP *MTHFR* 1298ACc y/o con el haplotipo C-C de los SNP 677TCc y 1298ACc de *MTHFR*.
- 3.5. Los pacientes heterocigotos (A/G) para el SNP *ADA* 534AGc y los hombres (pero no las mujeres) homocigotos (genotipo A/A) para el SNP *FPGS*_G2572A tuvieron menos síntomas digestivos.
- 3.6. El alelo T de *ABCB1*_C3435T (genotipos C/T y T/T) parece tener un efecto protector de toxicidad hematológica en mujeres (pero no en hombres).
- 3.7. La alopecia por MTX fue más frecuente en los heterocigotos del SNP *MTHFR* 1298ACc y menos frecuente en los portadores del alelo mutado (genotipos A/G y G/G) del SNP *ADA* 534AGc.
- 3.8. Los síntomas neurológicos se presentaron con mayor frecuencia en los homocigotos (genotipo C/C) del SNP *GGH* 16TCc y con menor frecuencia en los portadores del alelo mutado (genotipos A/G y G/G) del SNP *ADA* 534AGc.
- 3.9. Se encontraron diferencias en los efectos de portadores de polimorfismos de los

genes *MTHFR*, *GGH*, *FPGS* y *ABCB1* entre hombres y mujeres, por lo que los estudios de asociación de los polimorfismos genéticos deben tener en cuenta el sexo de los pacientes.

11 ANEXOS

11.1 Abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ABCB1	ATP-binding cassette B1
ACarP	Anticuerpo anti péptido carbamilo
ACPA	Anticuerpo anti-péptido citrulinado
ADA	Adenosina deaminasa
AI	Autoinmune
AICAR	Aminoimidazol carboxamida adenosina ribonucleótido
AMPD1	Adenosine monophosphate deaminase 1; AMP deaminasa
ANKRD55	Ankyrin-repeat domain 55
AR	Artritis reumatoide
BONO	Bronconeumonía organizativa
BTLA	B and T lymphocyte attenuator
CB	Célula B (Linfocito B)
CBP	Cirrosis biliar primaria
CD	Célula dendrítica
CD40	Proteína de membrana de CT helper
CMH	Complejo mayor de histocompatibilidad
MMP	Metaloproteinasas de la matriz
CMV	Citomegalovirus
CPA	Célula presentadora de antígenos
CT	Célula T (Linfocito T)
CTLA4	Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene
DE	Desviación estándar
DHEA	Dihidroepiandrosterona
DHFR	Enzima dihidrofolato reductasa
DKK	Dickkopf-related protein 1
DMO	Densitometría ósea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EBV	Virus de Epstein-Bar
ENA-78	Epithelial neutrophil activating peptide 78
EPID	Enfermedad pulmonar intersticial difusa
FAME	Fármacos modificadores de la enfermedad
Fc	Fracción cristizable de las inmunoglobulinas
FGE	Filtrado glomerular estimado
FPGS	Folipoliglutamato sintetasa
FR	Factor reumatoide
FRAX	Calculadora para evaluación del riesgo de fractura
FS	Fibroblasto sinovial
FH2	Ácido dihidrofólico
FH4	Ácido tetrahidrofólico (ácido folínico)
GC	Glucocorticoides

Abreviatura	Descripción
GGH	Gamma-glutamyl hidroxilasa
GP 39	Glicoproteína 39 del cartílago
GPI	Glucosa 6 fosfato isomerasa
GPI	Glycosylphosphatidyl inositol
GWAS	Genome-wide association studies
HAI	Hepatitis autoinmune
HBGF	Heparin-binding growth factors
HIF-1	Hipoxia-inducible factors 1
HLA	Antígeno leucocitario humano
HSP	Proteínas de shock caliente
HTA	Hipertensión arterial
IC	Inmunocomplejos
IFP	Interfalángica proximal
IGF-1	Insulin-like growth factor-I
IL	Interleuquina
ITPA	Inosín trifosfato pirofosfatasa
JAK	Janus kinase
JAKinib	Janus kinase inhibitor
LFA1	Lymphocyte function-associated1(receptor)
MAF	Macrophage angiogenic factor
MALT	Tejido linfoide asociado a las mucosas
MCF	Metacarpofalángica
MTF	Metatarsofalángica
MTHFR	5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa
MTR	Methionine synthase
MTRR	Methionine synthase reductase
MTX	Metotrexato
NETosis	Liberación de NETs
NETs	Neutrophil extracelular traps
NINE	Neumonitis intersticial no específica
NIU	Neumonitis intersticial usual
NK	Natural Killer
NO	Óxido nítrico
OC	Osteoclasto
OP	Osteoporosis
PCR	Proteína C-reactiva
PAD	Peptidylarginine deiminase
PADI4	Peptidylarginine deiminase 4 gene
PG	Prostaglandinas
PMN	Leucocitos Polimorfonucleares
PMR	Polimialgia reumática

Abreviatura	Descripción
PTMs	Protein post-translational modifications
PTPN22	Protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22
RANK	Receptor activator of nuclear factor κ B
RANKL	RANK ligand
RM	Resonancia magnética
SC	Subcutánea
SE	Epítipo compartido (Shared epitope)
SLC22A4	Solute carrier family 22 member 4 (OCTN, Organic cationic transporter)
SNPs	Single-nucleotide polymorphisms
STAT	Signal transducers and activators of transcription
TLR	Toll-like receptor
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNFAIP3	Tumor necrosis factor-alpha-induced protein 3
TRAF1/C5	TNF receptor-associated factor 1 / C 5
TVP	Trombosis venosa profunda
TYK2	Protein tyrosine kinase gene
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VSG	Velocidad de sedimentación globular

11.2 Hoja de información y consentimiento informado

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PARA INVESTIGACIÓN

ESTUDIO COORDINADO DE FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA A METOTREXATO EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

Le invitamos a participar en un proyecto de investigación realizado conjuntamente por el Servicio de Reumatología del Hospital de Mérida y el Centro de Investigación Clínica del Área de Badajoz (CICAB). Su decisión de participar o no en este estudio no afectará a su asistencia sanitaria en este servicio.

Antes de que decida si participar o no en este proyecto de investigación, lea detenidamente esta información. Haga las preguntas que desee para asegurarse de que lo entiende todo, Puede comentar su decisión con el médico, la enfermera, familia o amigos.

¿Quién puede participar en el estudio? Pacientes diagnosticados de Artritis Reumatoide que hayan recibido en algún momento Metotrexato para tratar su enfermedad.

¿Por qué se realiza este proyecto de investigación? Le pedimos que nos proporcione una muestra de sangre para realizar el estudio de algunos genes de sus células sanguíneas (su ADN), que pensamos que pueden estar relacionados con la evolución de su enfermedad y con la respuesta al Metotrexato.

La artritis reumatoide evoluciona de forma diferente en las personas. Algunos medicamentos como el metotrexato pueden funcionar de forma diferente en diferentes personas. Sabemos que existen factores genéticos (hereditarios) que influyen sobre el comportamiento de la artritis reumatoide y otros que pueden influir en la forma en la que actúan los medicamentos.

Queremos estudiar estas diferencias más detenidamente para:

- Encontrar las razones genéticas por las que determinadas personas responden con diferente eficacia al Metotrexato
- Encontrar las razones genéticas por las que determinadas personas manifiestan efectos secundarios
- Mejorar el tratamiento de la Artritis Reumatoide

¿Qué implica la participación en este proyecto de investigación? Si decide participar en este proyecto de investigación se le pedirá que proporcione una muestra de 10cc de sangre, que normalmente será tomada al mismo tiempo que se extrae sangre para los análisis rutinarios de seguimiento en las Consultas de Reumatología.

¿Existe algún riesgo o beneficio asociado con la participación en este proyecto de investigación? No es necesaria ninguna extracción adicional y, por lo tanto, no implica ningún riesgo añadido a su atención sanitaria habitual. Es posible que usted no obtenga ningún beneficio directo como resultado de su participación en este estudio. Sin embargo, los conocimientos obtenidos en este estudio pueden ayudar a mejorar el tratamiento de los pacientes con Artritis Reumatoide.

¿Qué sucederá con mis muestras? El CICAB conservará sus muestras durante un máximo de 15 años, Sólo se utilizará su muestra para la investigación descrita anteriormente. La investigación puede durar varios años y la muestra ser utilizada en diferentes ocasiones.

¿Cómo se asegura la confidencialidad de los resultados de este proyecto de investigación?

Usted tiene derecho a la privacidad y toda la información que se recoja durante este protocolo de investigación será confidencia., No se le identificará con ningún dato personal que permita identificarlo. Se le identificará sólo por un código único, que se conservará en lugar seguro y al que sólo tendrá acceso el personal investigador. Los datos estarán codificados, se conservarán y estarán protegidos durante un periodo de 15 años, de acuerdo con las leyes nacionales.

Todas las muestras se enviarán al CICAB, donde se marcarán con un número específico para usted, por parte del personal del CICAB, con lo cual se anonimizará la muestra. Por lo tanto, quien analice la muestra no podrá saber a quién pertenece la misma. Cualquier información obtenida para este proyecto de investigación no se utilizará para proporcionar información genética sobre usted o sus parientes a ningún tercero.

¿Puedo cambiar de opinión respecto a mi participación en este proyecto de investigación?

La decisión de participar en este proyecto depende sólo de usted y es totalmente voluntaria. Incluso si decide participar y proporcionar muestras de sangre, puede retirar su autorización por cualquier motivo. Esta decisión no afectará a su asistencia sanitaria ni a la relación médico-paciente. Si decide retirar su consentimiento, antes de que las muestras sean anonimizadas, sus muestras de sangre serán destruidas. Es importante que entienda que una vez anonimizadas, las muestras ya no podrán ser identificadas con usted.

¿Cómo puedo obtener más información? Usted puede hablar con su reumatólogo habitual o llamar al Dr..... al Tfno..... para consultar sus dudas u obtener información adicional sobre este proyecto de investigación.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO Y FIRMA

He leído la información anterior. He tenido la oportunidad de hacer preguntas. Todas mis preguntas han sido respondidas. Entiendo por qué se realiza y DESEO PARTICIPAR en el proyecto de investigación.

Firma del paciente

Nombre en mayúsculas

Fecha

Firma del investigador

Nombre en Mayúsculas

Fecha

11.3 Aprobación del Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura.



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN,
TRANSFERENCIA E INNOVACIÓN**

Campus Universitario
Avda de Elvas s/nº
06071 BADAJOZ

Tel.: 924 28 93 05
Fax: 924 27 29 83

NºRegistro42/2011

**D. FERNANDO HENAO DÁVILA, PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA
Y BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA.**

INFORMA: Que una vez analizada, por esta Comisión la solicitud de PROYECTO DE TESIS DOCTORAL titulado "Relación entre los polimorfismos genéticos relacionadas con el transporte celular y la glutamación del metotrexato y la respuesta terapéutica a metotrexato de Iso pacientes con Artritis reumatoide en el área de salud de Mérida " cuyo Investigador Principal es D. Eugenio Chamizo Carmona , ha decidido por unanimidad valorar positivamente el precitado proyecto por considerar que se ajusta a las normas éticas esenciales cumpliendo con la normativa vigente al efecto.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente informe en Badajoz a 7 de abril de 2011.



11.4 Modelo de entrevista estructurada.

“Factores Predictores de respuesta terapéutica a Metotrexato en pacientes con Artritis Reumatoide”

Fecha de Realización de la entrevista:

DATOS DE FILIACIÓN Y SOCIODEMOGRÁFICOS:

Número de Historia:

Fecha de Nacimiento:

Edad:

Sexo:

Nivel de estudios:

- Menos que primaria
- Primaria
- Secundaria/ Formación Profesional
- Universitarios

Trabajo Habitual:

- Sedentario (sentado la mayor parte de la jornada)
- Activo desde un punto de vista físico (realiza esfuerzos significativos)
- Mixto (actividad moderada)

HÁBITOS:

Fumador:

- Nunca
- Exfumador (más de un año sin fumar)
- Fumador actualmente:
 - Número de Cigarrillos
 - Número de puros

Consumo de alcohol:

- Nunca
- Ex bebedor habitual (más de un año)
- Bebedor actual:
 - Cantidad expresada en gramos

Consumo de café:

- SÍ-----Número de tazas de café al día
- NO

Consumo de té:

- SÍ-----Número de tazas de té al día
- NO

DATOS RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD

Fecha de inicio de los síntomas:

Fecha de diagnóstico:

Fecha de inicio de MTX:

SEROLOGÍA

- F.R. SÍ-----Título:
- NO

Anti-CCP. SÍ-----Título:

- NO
- DESC

EROSIONES. Presencia de Erosiones óseas en Radiografía simple al inicio de la enfermedad y/o antes de iniciar Metotrexato:

- SI
- NO
- DESC

DAS-PCR (o en su defecto PCR)

- Al inicio de MTX
- Al cambio de tratamiento
- Actual

Clase Funcional según ACR al iniciar tratamiento con Metotrexato:

FAMES previos al MTX:

- SÍ-----Especificar
- NO

Número de FAMES previos al inicio de Metotrexato:

Corticoides concomitantes:

- SÍ-----Dosis:
- NO

Acfol durante toma de Metotrexato:

- SÍ-----Dosis semanal:
- NO

Tiempo de tratamiento con Metotrexato:

- Monoterapia
- Total

Vía de administración (clasificación)

- ORAL
- SC

Dosis de MTX (clasificación) mg/sem

INCIDENCIAS SOBRE MTX

(Interrupciones >4 semanas, Cambio de vía y/o dosis de MTX, fechas y motivo, cambio de régimen terapéutico, fechas y motivo)

Efectos adversos durante el tratamiento con Metotrexato que no pueden ser explicados por otras causas:

- Afectación Hematológica
- Elevación de Transaminasas (GOT y/o GPT) por encima de 2 veces el límite superior de la normalidad
- Síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, sensación de plenitud abdominal, anorexia)
- Reacciones post-dosis (cansancio, malestar general, artralgias, mialgias y/o febrícula durante las 24 horas siguientes a la dosis)
- Síntomas neurológicos centrales (letargia, aturdimiento, somnolencia, mareo, inestabilidad, desorientación)
- Alopecia difusa
- Mucositis
- Dermatitis
- Nodulosis Reumatoide
- Neumonitis Intersticial

11.5 Hoja de evaluación del paciente.



REUMATOLOGIA

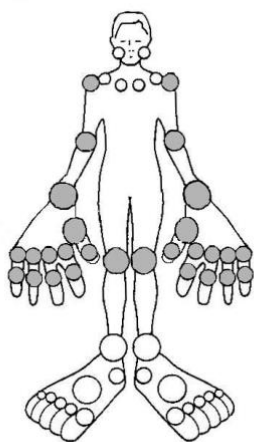
Paciente: _____

Nº Historia: _____

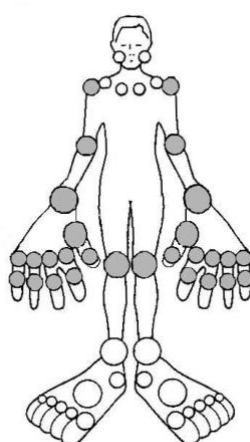
Fecha: _____

HAQ: _____

DAS 28: _____



DOLOR:



INFLAMACIÓN:

Valoración Global del Médico _____

		Sin Dificultad	Con alguna dificultad	Con mucha dificultad	Incapaz de hacerlo	
*Durante la última semana, ¿ha sido usted capaz de...						
	1) Vestirse solo, incluyendo abrocharse los botones y atarse los cordones de los zapatos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	2) Enjabonarse la cabeza?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Comer	3) Levantarse de una silla sin brazos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	4) Acostarse y levantarse de la cama?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Caminar	5) Cortar un filete de carne?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6) Abrir un cartón de leche nuevo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Higiene	7) Servirse la bebida?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	8) Caminar fuera de casa por un terreno llano?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Alcanzar	9) Subir cinco escalones?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	10) Lavarse y secarse todo el cuerpo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prensión	11) Sentarse y levantarse del retrete?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	12) Ducharse?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Otras	13) Coger un paquete de azúcar de 1 Kg de una estantería colocada por encima de su cabeza?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	14) Agacharse y recoger ropa del suelo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	15) Abrir la puerta de un coche?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	16) Abrir tarros cerrados que ya antes habían sido abiertos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	17) Abrir y cerrar los grifos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	18) Hacer los recados y las compras?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	19) Entrar y salir de un coche?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	20) Hacer tareas de casa como barrer o lavar los platos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

0	0.000
1	0.125
2	0.250
3	0.375
4	0.500
5	0.625
6	0.750
7	0.875
8	1.000
9	1.125
10	1.250
11	1.375
12	1.500
13	1.625
14	1.750
15	1.875
16	2.000
17	2.125
18	2.250
19	2.375
20	2.500

Señale para qué actividades **necesita la ayuda de otra persona**:

Vestirse, asearse ... Levantarse... Comer Caminar, pasear

Higiene personal Alcanzar ... Abrir y cerrar cosas... Recados y tareas de casa

Señale si utiliza alguno de estos **utensilios** habitualmente:

Cubiertos de mango ancho Bastón, muletas, andador o silla de ruedas

Asiento o barra especial para el baño Asiento alto para el retrete

Abridor para tarros previamente abiertos

Durante la última semana:

¿Cuánto dolor ha tenido?

Nada _____ Insoportable

¿Cómo se ha encontrado de su Artritis Reumatoide?

Muy Bien _____ Muy Mal

11.6 Variables recogidas en el CRD

Variable	Descripción y etiquetas
idpac	Número de paciente
fecnac	Fecha de nacimiento
edadini	Edad de inicio (calculada)
sexo	Sexo: hombre 1, mujer 0
nivelestudio	Nivel de estudios: 1 <primaria, 2 primaria, 3 >primaria
formacacad	Formación académica: hasta primaria 1, desde secundaria 0
trabhabitual	Trabajo habitual: 1 sedentario, 2 mixto, 3 activo
trabfisico	Trabajo físico: sedentario 0; mixto ó activo 1.
estadofumador	Estado de fumador: 1 nunca, 2 exfumador, 3 activo o actual
fumador	Fumador: actual o exfumador, 1; nunca, 0
fumactual	Fumador actual: Sí 1, No 0
cigadiario	Cigarrillos diarios (fumadores actuales)
estadobebedor	Paquetes año
bebedor	Bebedor: actual ó exbebedor, 1; nunca, 0
bebeactual	Bebedor actual: Sí 1, No 0.
alcolsem	Cantidad semanal de alcohol (bebe actual): <17, 17-28 y >28 gr
cafeina	Ingesta de cafeína (café o te): Sí 1, No 0
café	Ingesta de café: Si 1, No 0
cafediario	Número de tazas diarias de café
te	Ingesta de te: Si 1, no 0
tediario	Número de tazas diarias de te
comorbilidad	Comorbilidad: Ninguna, 0; Alguna, 1
frcv	Factores riesgo cardiovascular (tabaco, obesidad, HTA, HCOL o DM): Sí 1, No 0
numFRCV	Número de FRCV (tabaco, obesidad, HTA, HCOL o DM)
hta	Hipertensión arterial: Sí 1, No 0
dm	Diabetes Mellitus: Sí 1, No 0
hcol	Hipercolesterolemía: Sí 1, No 0
obes	Obesidad (IMC>27): Sí 1, No 0
acv	Ha sufrido accidentes vasculares: Sí 1, No 0
cardiopisquem	Ha sufrido Cardiopatía isquémica: Sí 1, No 0
neumo	Afectación pulmonar crónica Sí 1, No 0
op	Osteoporosis: Sí 1, No 0
fracturaop	Fractura osteoporótica: Sí 1, No 0
enftiroid	Enfermedad tiroidea: Sí 1, No 0
cardio	Cualquier patología cardiaca: Sí 1, No 0
irc	Insuficiencia renal crónica: Sí 1, No 0
stc	Síndrome del tunel del carpo: Sí 1, No 0
otraneuro	Afectación neurológica (diferente a STC): Sí 1, No 0
gd	Patología gastroduodenal: Sí 1, No 0
otradigest	Otras patologías digestivas: Sí 1, No 0
depre	Depresión nerviosa: Sí 1, No 0
inipoliart	Patrón de inicio poliarticular: Sí 1, No 0
afextraartic	Afectación extraarticular (Sjögren, serositis, nódulos, pulmonar, renal, Felty, otra): Sí 1, No 0

<i>sjogren</i>	Síndrome de Sjögren: Sí 1, No 0
<i>pulmonar</i>	Enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPID): Sí 1, No 0
<i>serositis</i>	Pleuritis/pericarditis: Sí 1, No 0
<i>nodulos</i>	Nódulos reumatoides: Sí 1, No 0
<i>felty</i>	Síndrome de Felty: Sí 1, No 0
<i>nefritis</i>	Nefritis intersticial: Sí 1, No 0
<i>otra</i>	Otra (fiebre, anemia, ocular diferente al síndrome seco): Sí 1, No 0
<i>feinisint</i>	Fecha de inicio de los síntomas
<i>fedco</i>	Fecha de diagnóstico de la artritis reumatoide
<i>tsintdco</i>	Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico
<i>feinifame</i>	Fecha de inicio de tratamiento con primer FAME
<i>tdcotto</i>	Tiempo entre diagnóstico y tratamiento con FAME
<i>tsinttto</i>	Tiempo entre el inicio de los síntomas y el inicio de tratamiento
<i>fr</i>	Factor reumatoide: Positivo 1, Negativo 0.
<i>valorfr</i>	Valor del FR en UI (positivo >14)
<i>acpa</i>	Anticuerpos antipéptido citrulinado: Positivo 1, Negativo 0.
<i>valoracpa</i>	Valor del ACPA en UI (positivo > 10; valor máximo=340)
<i>erosiones</i>	Erosiones Rx manos y pies (primer año): Sí 1, No 0,
<i>das28pcr</i>	Valor numérico de DAS28PCR (actividad inflamatoria)
<i>pcrini</i>	Valor PCR en mg/l
<i>clasfuncini</i>	Clase funcional al inicio del tratamiento
<i>fameprev</i>	FAME previo a MTX: 1 si, 0 no.
<i>numfames</i>	Numero de FAME antes de MTX
<i>tipofames</i>	Nombre de los FAME recibidos
<i>prednini</i>	Dosis inicial de prednisona en mg/día
<i>acfolsem</i>	Dosis inicial de acfol en mg/semana
<i>feinimtx</i>	Fecha de inicio de metotrexato
<i>tdx-mtx</i>	Tiempo entre diagnóstico y tratamiento con MTX
<i>tsintmtx</i>	Tiempo entre síntomas y tratamiento con MTX
<i>fefinmonoterapia</i>	Fecha de finalización de la monoterapia con MTX
<i>tmonomtx</i>	Duración de la monoterapia con MTX en meses
<i>motfinmono</i>	Motivo de la finalización de monoterapia: no finaliza 0; remisión 1, toxicidad/intolerancia 2, ineficacia 3.
<i>censuramono</i>	Sí 1, No 0
<i>fallomonot</i>	Sí 1 (ineficacia o toxicidad), No 0 (Remisión o no finalizan)
<i>fefinmtx</i>	Fecha de suspensión definitiva de MTX
<i>censuramtx</i>	Sí 1, No 0
<i>motfinmtx</i>	Motivo de suspensión: no suspendido, 0; remisión 1, intolerancia/toxicidad 2, ineficacia 3
<i>supervmtx</i>	Duración total de metotrexato (se contabiliza hasta 15/6/15)
<i>susptheadv</i>	Suspendido por acontecimiento adverso: Sí 1; No 0
<i>ffinseguim</i>	Fecha del último contacto (éxitus, desaparición, fin de estudio)
<i>tseguimto</i>	Tiempo desde el diagnóstico hasta el último contacto
<i>aadv</i>	Acontecimientos adversos (AA): Sí 1, No 0
<i>hematol</i>	AA hematológicos Sí 1, No 0
<i>leucopenia</i>	Sí 1, No 0 (sola o como parte de pancitopenia)
<i>trombopenia</i>	Sí 1, No 0 (sola o como parte de pancitopenia)
<i>pancitopenia</i>	Sí 1, No 0

hepát	AA hepáticos (elevación de transaminasas): Sí 1, No 0
lsnx	Transaminasas: veces que supera límite superior de normalidad
gi	AA gastrointestinales: Sí 1, No 0
sup	GI superior (nauseas, vómitos, asco, plenitud): Sí 1, No 0
diarrea	Diarrea: Sí 1, No 0
general	AA generales y neurológicos: Sí 1, No 0
alopecia	Alopecia: Sí 1, No 0
ulceras	Úlceras orales: Sí 1, No 0
dermat/fotos	Fotosensibilidad o erupción cutánea: Sí 1, No 0
nodulacel	Nodulosis acelerada: Sí 1, No 0
pulm	Afectación intersticial Sí 1, No 0
vía inicial	Vía de administración: SC 1, Oral 0
cambiovía	Cambio vía de administración por cualquier motivo: Sí 1, No 0
mtxmax	Máxima dosis de MTX administrada en mg semanal
mtxtol	Máxima dosis de MTX tolerada en mg semanal
interrup	Interrupciones de MTX Sí 1, No 0
tinterrup	Tiempo total de interrupción (en meses)
trealmtx	Tiempo real de administración de MTX
respmtx	Respuesta (DAS28PCR<3,2) a MTX en monoterapia: Sí 1, No 0
remismtx	Remisión (DAS28PCR<2,6) con MTX en monoterapia: Sí 1, No 0
biolog	Uso de biológico en no respondedores: Sí 1, No 0
mantoux	Tuberculosis antigua o actual (latente o activa): Sí 1, No 0
ana	Anticuerpos antinucleares: Positivo 1, Negativo 0.
ABCB1_3435C>T	Polimorfismo
AMPD1_34C>T	Polimorfismo
ITPA_94C>A	Polimorfismo
MTHFR_677C>T	Polimorfismo
MTHFR_1298A>C	Polimorfismo
GGH_16T>C	Polimorfismo
ADA_534A>G	Polimorfismo
FPGS_2782G>A	Polimorfismo

11.7 Estudios previos de los polimorfismos

11.7.1 Polimorfismo MTHFR_1298ACc (rs1801131)

MTHFR 1298ACc (rs1801131)				
Estudio	n	Población	Eficacia	Seguridad
(Berkani 2017)	54	Argelia	a A ↑eficacia	NS
(Berkun 2004)	93	Israel	NS	a C ↓toxicidad
(Boughrara 2017)	110	Argelia	NS	NS
(Caliz 2012)	468	España	X	NS
(Chaabane 2016)	141	Túnez	X	NS
(Choe 2012)	167	Corea	X	a C ↑ toxicidad
(Davis 2014)	319	USA	X	a C ↑ toxicidad
(Dervieux 2006)	48	USA	NS	a C ↑ toxicidad
(Ghodke-Puranik 2008)	34	India	NS	NS
(Ghodke-Puranik 2015)	322	India	a A ↑eficacia	NS
(Grabar 2008)	213	Eslovenia	NS	a C ↓toxicidad
(Hughes 2006)	223	USA	NS	a A ↑ toxicidad
(Iqbal 2015)	51	Pakistán	NS	X
(Kato 2012)	55	Japón	gt AA ↑eficacia	X
(Kumagai 2003)	115	Japón	NS	NS
(Kurzawski 2007)	174	Polonia	a C ↑eficacia	-
(Lima A 2014b)	233	Portugal	gt AA ↓eficacia	NS
(Mena 2011)	70	Méjico	X	a C ↑ toxicidad
(Morgan 2014)	302	Reino Unido	NS	X
(Owen 2013b)	309	Reino Unido	NS	NS
(Plaza-Plaza 2012)	174	España	NS	NS
(Salazar 2014)	124	España	NS	NS
(Saleh 2015)	159	Jordania	X	NS
(Soukup 2015)	120	Chequia	NS	X
(Stamp 2010)	200	N, Zelanda	NS	NS
(Świerkot 2015)	273	Polonia	NS	NS
(Taniguchi 2007)	208	Japón	NS	NS
(Taraborelli 2009)	84	Italia	NS	NS
(Taşbaş 2011)	64	Turquía	NS	NS
(Urano 2002)	106	Japón	a C ↑eficacia	NS
(Urano 2009)	731	Japón	X	NS
(Wessels 2006)	205	Holanda	gt AA ↑ eficacia	a C ↑ toxicidad
(Xiao 2010)	110	China	a C ↑eficacia	NS

a = alelo, gt = genotipo, NS = no significativo, X = no explorado

11.7.2 Polimorfismo MTHFR_677CTc (rs1801133)

MTHFR 677CTc (rs1801133)				
Estudio	n	Población	Eficacia	Toxicidad
(Aggarwal 2006)	150	India	NS	NS
(Berkani 2017)	54	Argelia	NS	a T ↑toxicidad
(Berkun 2004)	93	Israel	NS	a T ↑toxicidad
(Boughrara 2017)	110	Argelia	NS	NS
(Caliz 2012)	468	España	X	a T ↑toxicidad
(Chaabane 2016)	141	Túnez	X	a T ↑toxicidad
(Choe 2012)	167	Corea	X	NS
(Davis 2014)	319	USA	X	NS
(Dervieux 2006)	48	USA	a T ↓ eficacia	NS
(Ghodke-Puranik 2008)	34	India	NS	NS
(Ghodke-Puranik 2015)	322	India	NS	NS
(Grabar 2008)	213	Eslovenia	NS	NS
(Hayashi 2009)	87	Japón	NS	X
(Hughes 2006)	223	USA	NS	NS
(Inoue 2009)	36	Japón	NS	X
(Iqbal 2015)	51	Pakistán	NS	X
(Kim 2006)	385	Corea	X	a T ↑toxicidad
(Kumagai 2003)	115	Japón	NS	NS
(Kurzawski 2007)	174	Polonia	a T ↑ eficacia	X
(Lee 2009)	262	USA	NS	X
(Lima A 2014b)	233	Portugal	gt TT ↓ eficacia	NS
(Mena 2011)	70	Méjico	X	NS
(Morgan 2014)	302	Reino Unido	NS	X
(Owen 2013b)	309	Reino Unido	NS	NS
(Plaza-Plaza 2012)	174	España	NS	a T ↑toxicidad
(Ranganathan 2008)	127	USA	X	a T ↑toxicidad
(Salazar 2014)	124	España	NS	NS
(Saleh 2015)	159	Jordania	X	a T ↑toxicidad
(Soukup 2015)	120	R, Checa	NS	X
(Stamp 2010)	200	N, Zelanda	NS	NS
(Świerkot 2015)	273	Polonia	NS	a T ↑toxicidad
(Taniguchi 2007)	208	Japón	NS	a T ↑toxicidad
(Taraborelli 2009)	84	Italia	NS	NS
(Taşbaş 2011)	64	Turquía	NS	NS
(Van Ede 2001b)	236	Holanda	NS	a T ↑toxicidad
(Urano 2002)	106	Japón	NS	a T ↑toxicidad
(Urano 2009)	731	Japón	X	NS
(Weisman 2006)	214	USA	X	a T ↑toxicidad
(Wessels 2006)	205	Holanda	gt CC ↑ eficacia	NS
(Xiao 2010)	110	China	NS	a T ↑toxicidad

a = alelo, gt = genotipo, NS = no significativo, X = no explorado

11.7.3 Haplotipo MTHFR_1298ACc – MTHFR_677CTc

Haplotipo MTHFR 677CTc (rs1801133) - MTHFR 1298ACc (rs1801131)				
Estudio	n	Población	Eficacia	Toxicidad
(Caliz 2012)	468	España	X	T-A toxicidad (NS)
(Choe 2012)	167	Corea	X	C-A toxicidad
(Hughes 2006)	223	USA	NS	NS
(Kooloos 2009)	205	Holanda	NS	X
(Kurzawski 2007)	174	Polonia	T-C remisión	X
(Lee 2009)	262	USA	X	CT-AC hepática
(Lima 2016)	233	Portugal	T-A no respuesta	NS
Morgan 2014)	302	Reino Unido	NS	X
(Saleh 2015)	159	Jordania	X	T-A toxicidad
(Soukup 2015)	120	R. Checa	C-C eficacia T-A eficacia	X
(Taniguchi 2007) (Urano 2002)	156	Japón	C-C eficacia	T-A toxicidad (muy variable)
(Wessels 2006)	205	Holanda	C-A eficacia	NS
NS = no significativo, X = no explorado				

11.7.4 Polimorfismo ABCB1 3435CTc

ABCB1 3435CTc (rs1045642)				
Estudio	Población	n	Eficacia	Toxicidad
(Boughrara 2017)	Argelia	110	NS	NS
(Chen 2012)	China	223	gt CC ↓eficacia	X
(Drozdik 2006)	Polonia	174	gt TT ↑eficacia	X
(Grabar 2008)	Eslovenia	213	NS	gt TT ↑toxicidad
(Kato 2012)	Japón	55	gt TT ↑eficacia	X
(Kooloos 2010)	Holanda	205	NS	gt TT ↑toxicidad (NS)
(Moya 2016)	Europa	194	NS	NS
(Muralidharan 2015)	India Sur	336	NS	gt CT ↑toxicidad gt TT ↓toxicidad
(Pawlik 2004)	Polonia	92	gt TT ↑eficacia	X
(Plaza-Plaza 2012)	España	67	X	gt CC ↑toxicidad
(Ranganathan 2008)	USA	127	X	NS
(Samara 2014)	Jordania	159	NS	gt TT ↑toxicidad (a A en mujeres)
(Sharma 2008)	India Norte	281	gt CT ↓eficacia	X
(Stamp 2010)	N. Zelanda	200	NS	NS
(Takatori 2006)	Japón	124	gt TT ↓eficacia	NS

a = alelo, gt = genotipo, NS = no significativo, X = no explorado

12 BIBLIOGRAFÍA

Aggarwal, P., Naik, S., Mishra, K. P., Aggarwal, A., Misra, R. (2006). "Correlation between methotrexate efficacy & toxicity with C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate gene in rheumatoid arthritis patients on folate supplementation." Indian Journal of Medical Research **124**: 521-526.

Agrawal, S., Misra, R., Aggarwal, A. (2007). "Autoantibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA." Clin Rheumatol **26**(2): 201-204.

Aho, K., von Essen, R., Kurki, P., Palosuo, T., Heliövaara, M. (1993). "Antikeratin antibody and antiperinuclear factor as markers for subclinical rheumatoid disease process." J. Rheumatol. **20**(8): 1278–1281.

Alarcon, G. (1995). "Epidemiology of rheumatoid arthritis." Rheumatic Disease Clinics of North America **21**(3): 589-604.

Alarcon, G., Tracy, IC., Blackbun, WD Jr. (1989). "Methotrexate in rheumatoid arthritis. Toxic effects as the major factor in limiting long-term treatment. ." Arthritis Rheum **32**(6): 671-676.

Albani, S., Carson, DA. (1996). "A multistep molecular mimicry hypothesis for the pathogenesis of rheumatoid arthritis." Immunol Today **17**(10): 446-470.

Albani, S., Keystone, EC., Nelson, JL., et al. (1995). "Positive selection in autoimmunity: abnormal immune responses to a bacterial dnaJ antigenic determinant in patients with early rheumatoid arthritis." Nat Med **1**(5): 448-452.

Albrecht, K., Müller-Ladner, U. (2010). "Side effects and management of side effects of methotrexate in rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **28**: S95–101.

Aletaha, D., Alasti, F., Smolen, JS. (2015). "Rheumatoid factor, not antibodies against citrullinated proteins, is associated with baseline disease activity in rheumatoid arthritis clinical trials." Arthritis Res Ther **17**(1): 229-229.

Aletaha, D., Neogi, T., Silman, AJ., et al. (2010). "2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative." Arthritis Rheum **62**(9): 2569–2581.

Amara, K., Steen, J., Murray, F., et al. (2013). "Monoclonal IgG antibodies generated from joint-derived B cells of RA patients have a strong bias toward citrullinated autoantigen recognition." J Exp Med **210**(3): 445-455.

Amezcu-Guerra, L., Hofmann, F., Vargas, A., et al. (2013). "Joint involvement in primary Sjögren's syndrome: an ultrasound "target area approach to arthritis." Biomed Res Int. **640265**: 1-9.

Andersen, P., West, SG., O'Dell, JR., et al. (1985). "Weekly pulse methotrexate in rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects in a randomized, double-blind study. ." Ann Intern Med **103**(4): 489-496.

Anderson, J., Caplan, L., Yazdany, J., et al. (2012). "Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use in clinical practice." Arthritis Care Res (Hoboken) **64**(5): 640-647.

Anderson, J., Wells, G., Verhoeven, AC., et al. (2000). "Factors predicting response to treatment

in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration." Arthritis Rheum **43**(1): 22-29.

Anquetil, F., Clavel, C., Offer, G., et al. (2015). "IgM and IgA rheumatoid factors purified from rheumatoid arthritis sera boost the Fc receptor- and complement-dependent effector functions of the disease-specific anticitrullinated protein autoantibodies." J Immunol **194**: 3664–3674.

Ansar, A., Dauphinee, MJ., Talal, N. (1985). "Effects of short-term administration of sex hormones on normal and autoimmune mice." J Immunol **134**(1): 204-210.

Anzilotti, C., Merlini, G., Pratesi, F., et al. (2006). "Antibodies to viral citrullinated peptide in rheumatoid arthritis." J. Rheumatol. **33**(4): 647–651.

Arend, W., Firestein, GS. (2012). "Pre-rheumatoid arthritis: predisposition and transition to clinical synovitis." Nat Rev Rheumatol **8**(10): 573–586.

Askari, A., Vignos, PJ Jr., Moskowitz, RW. (1976). "Steroid myopathy in connective tissue disease." Am J Med **61**(4): 485-492.

Asmussen, K., Andersen, V., Bendixen, G., Schiødt, M. Oxholm, P. (1996). "A new model for classification of disease manifestations in primary Sjögren's syndrome: evaluation in a retrospective long-term study." J Intern Med **292**(6): 475-482.

Assayag, D., Elicker, BM., Urbania, TH., Colby, TV., et al. (2014). "Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: radiologic identification of usual interstitial pneumonia pattern." Radiology **270**(2): 583-588.

Aviña-Zubieta, J., Choi, HK., Sadatsafavi, M., et al. (2008). "Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies." Arthritis Care & Research **59**(12): 1690-1697.

Bacani, A., Gabriel, SE., Crowson, CS., et al. (2012). "Noncardiac vascular disease in rheumatoid arthritis: increase in venous thromboembolic events?" Arthritis Rheum **64**(1): 53-61.

Baeten, D., Steenbakkers, PG., Rijnders, AM., et al. (2004). "Detection of major histocompatibility complex/human cartilage gp-39 complexes in rheumatoid arthritis synovitis as a specific and independent histologic marker." Arthritis Rheum **54**(2): 444-451.

Bakker, M., Jacobs, JW., Welsing, PM., et al. (2012). "Low-dose prednisone inclusion in a methotrexate-based, tight control strategy for early rheumatoid arthritis: a randomized trial." Ann Intern Med **156**(5): 329-339.

Balandraud, N., Meynard, JB., Auger, I., et al. (2003). "Epstein-Barr virus load in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis: accurate quantification using real-time polymerase chain reaction." Arthritis Rheum **48**(5): 1223-1228.

Barbarroja, N., Pérez-Sanchez, C., Ruiz-Limon, P., al. (2014). "Anticyclic citrullinated protein antibodies are implicated in the development of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **34**(12): 2706-2716.

Bartoloni, E., Baldini, C., Schillaci, G., et al. (2015). "Cardiovascular disease risk burden in primary Sjögren's syndrome: results of a population-based multicentre cohort study." J Intern Med **278**(2): 185-192.

Bathon, J., Moreland, LW., Di Bartolomeo, AG. (1989). "Inflammatory central nervous system involvement in rheumatoid arthritis." Semin Arthritis Rheum. **18**(4): 258-266.

Begovich, A., Carlton, VE., Honigberg, LA., et al. (2004). "A missense singlenucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis." Am J Hum Genet **75**(2): 330–337.

Bejarano, V., Hensor, E., Green, M., et al. (2012). "Relationship between early bone mineral density changes and long-term function and radiographic progression in rheumatoid arthritis. ." Arthritis Care Res (Hoboken) **64**(1): 66-70.

Bekkelund, S., Torbergsen, T., Husby, G., Mellgren, SI. (1999). "Myopathy and neuropathy in rheumatoid arthritis. A quantitative controlled electromyographic study." J Rheumatol **26**(11): 2348-2351.

Bengtsson, C., Nordmark, B., Klareskog, L., Lundberg, I., Alfredsson, L. (2005). "Socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study." Ann Rheum Dis **64**(11): 1588–1594.

Berglin, E., Kokkonen, H., Einarsdottir, E., et al. (2010). "Influence of female hormonal factors, in relation to autoantibodies and genetic markers, on the development of rheumatoid arthritis in northern Sweden: a case-control study." Scand J Rheumatol **39**(6): 454–460.

Bergstrom, U., Jacobsson, LT., Nilsson, JA., Berglund, G., Turesson, C. (2011). "Pulmonary dysfunction, smoking, socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis." Rheumatology (Oxford) **50**(11): 2005–2013.

Beringer, P., Slaughter, RL. (2005). "Transporters and their impact on drug disposition." Ann Pharmacother **39**(6): 1097-1108.

Berkani, L. M., Rahal, F., Allam, I., Benani, S. M., Laadjouz, A., Djidjik, R. (2017). "Association of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms with methotrexate efficiency and toxicity in Algerian rheumatoid arthritis patients." Heliyon **3**(11): e00467.

Berkun, Y., Atta, IA., Rubinow, A., et al. (2007). "2756GG genotype of methionine synthase reductase gene is more prevalent in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate and is associated with methotrexate-induced nodulosis." J Rheumatol **34**(8): 1664-1669.

Berkun, Y., Levartovsky, D., Rubinow, A., Orbach, H., et al. (2004). "Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene." Ann Rheum Dis **63**(10): 1227-1231.

Binder, N., Puchner, A., Niederreiter, B., et al. (2013). "Tumor necrosis factor–inhibiting therapy preferentially targets bone destruction but not synovial inflammation in a tumor necrosis factor–driven model of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **65**: 608–617.

Black, R., Spargo, L., Schultz, C., et al. (2013). "Decline in hand bone mineral density indicates increased risk of erosive change in early rheumatoid arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **66**(4): 515-522.

Block, K., Zheng, Z., Dent, AL., et al. (2016). "Gut Microbiota Regulates K/BxN Autoimmune Arthritis through Follicular Helper T but Not Th17 Cells." J Immunol **196**(4): 1550-1557.

Boers, M., Verhoeven, AC., Markusse, HM., et al. (1997). "Randomised comparison of combined step-down prednisolone, methotrexate and sulphasalazine with sulphasalazine alone in early rheumatoid arthritis." Lancet **350**(9074): 309-318.

Böhler, C., Radner, H., Smolen, JS., Aletaha, D. (2013). "Serological changes in the course of traditional and biological disease modifying therapy of rheumatoid arthritis." Ann. Rheum. Dis. **72**: 241–244.

Bongartz, T., Nannini, C., Medina-Velasquez, YF., et al. (2010). "Incidence and mortality of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a population-based study." Arthritis Rheum **62**(6): 1583-1591.

Borowski, L., Lopes, RP., Gonzalez, TP., et al. (2007). "Is steroid resistance related to multidrug resistance-I (MDR-I) in rheumatoid arthritis?" Int Immunopharmacol **7**(6): 836-844.

Bossini-Castillo, L., de Kovel, C., Källberg, H., et al. (2015). "A genome-wide association study of rheumatoid arthritis without antibodies against citrullinated peptides." Ann Rheum Dis **74**(3): e15-e15.

Bottini, N., Firestein, GS. (2013). "Epigenetics in rheumatoid arthritis: a primer for rheumatologists." Current rheumatology reports **15**(11): 372-372.

Boughrara, W., Benzaoui, A., Aberkane, M., Moghtit, FZ., et al. (2017). "No correlation between MTHFR c. 677 C> T, MTHFR c. 1298 A> C, and ABCB1 c. 3435 C> T polymorphisms and methotrexate therapeutic outcome of rheumatoid arthritis in West Algerian population." Inflammation Research **66**(6): 505-513.

Braun, J., Rau, R. (2009). "An update on methotrexate." Current Opinion in Rheumatology **21**(3): 216-223.

Brink, M., Hansson, M., Mathsson, L., et al. (2013). "Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **65**(4): 899–910.

Burgos, P., Danila, MI., Kelley, JM., et al. (2009). "Understanding personalized medicine in rheumatoid arthritis: a clinician's guide to the future." Ther Adv Musculoskelet Dis **1**(2): 97-105.

Burmester, G., Altstidl, U., Kalden, JR., Emmrich, F. (1991). "Stimulatory response towards the 65 kDa heat shock protein and other mycobacterial antigens in patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **18**(2): 171-176.

Caliz, R., del Amo, J., Balsa, A., et al. (2012). "The C677T polymorphism in the MTHFR gene is associated with the toxicity of methotrexate in a Spanish rheumatoid arthritis population." Scand J Rheumatol **41**(1): 10-14.

Carlens, C., Hergens, MP., Grunewald, J., et al. (2010). "Smoking, use of moist snuff, and risk of chronic inflammatory diseases." Am J Respir Crit Care Med **181**(11): 1217-1222.

Carmona, L., Cross, M., Williams, B., et al (2010). "Rheumatoid arthritis." Best Practice and Research: Clinical Rheumatology **24**(6): 733-745.

Carmona, L., Hernández-García, C., Vadillo, C., et al. (2003). "Increased risk of tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis." The Journal of rheumatology **30**(7): 1436-1439.

- Carmona, L., Villaverde, V., Hernández-García, C., Ballina, J., et al. (2002). "The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain." Rheumatology (Oxford) **41**(1): 88-95.
- Carmona-Rivera, C., Khandpur, R., Vivekanandan-Giri, A., et al. (2013). "Neutrophil extra-cellular traps are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis." Sci Transl Med **5**: 178ra140.
- Catrina, A., Joshua, V., Klareskog, L., Malmström, V. (2016a). "Mechanisms involved in triggering rheumatoid arthritis." Immunol. Rev. **269**(1): 162–174.
- Catrina, A., Svensson, Cl., Malmström, V., Schett, G., Klareskog, L. (2016). "Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis." Nature Reviews Rheumatology **13**(2): 79-86.
- Cha, S., Choi, CB., Han, TU., et al. (2007). "Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels with PADI4 haplotypes in early rheumatoid arthritis and with shared epitope alleles in very late rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **56**(5): 1454-1463.
- Chaabane, S., Marzouk, S., Akrou, R., et al (2016). "Genetic determinants of methotrexate toxicity in Tunisian patients with rheumatoid arthritis: a study of polymorphisms involved in the MTX metabolic pathway." Eur J Drug Metab Pharmacokinet **41**(4): 385-393.
- Chango, A., Emery-Fillon, N., de Courcy, GP., Lambert, D., et al. (2000). "A polymorphism (80 G > A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia." Mol Genet Metab **70**(4): 310-315.
- Chatzikyriakidou, A., Georgiou, I., Voulgari, PV., et al. (2007). "Transcription regulatory polymorphism -43T>C in the 5'-flanking region of SLC19A1 gene could affect rheumatoid arthritis patient response to methotrexate therapy." Rheumatology International **27**(11): 1057-1061.
- Chemin, K., Klareskog, L., Malmstrom, V. (2016). "Is rheumatoid arthritis an autoimmune disease? ." Curr Opin Rheumatol **28**(2): 181-188.
- Chen, J., Chen, L., Mao, N., Liu, Y. (2012). "Association of the MDR1 3435 polymorphism in patients with refractory rheumatoid arthritis in a Chinese population." Rheumatol Int **32**(10): 3127-3130.
- Chen, Q., Jin, Z., Xiang, C., et al. (2014). "Absence of protective effect of oral contraceptive use on the development of rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies." International Journal of Rheumatic Diseases **17**(7): 725–737.
- Chen, Y., Zou, K., Sun, J., et al. (2017). "Are gene polymorphisms related to treatment outcomes of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis? A systematic review and meta-analysis." Pharmacogenomics **18**(2): 175-195.
- Choe, J., Lee, H., Jung, HY., Park, SH., et al. (2012). "Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, C677T and A1298C, are associated with methotrexate-related toxicities in Korean patients with rheumatoid arthritis." Rheumatol Int **32**(6): 1837-1842.
- Choi, H., Hernán, MA., Seeger, JD., et al. (2002). "Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study." Lancet **359**(9313): 1173-1177.
- Choy, E. (2012). "Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of

rheumatoid arthritis." Rheumatology (Oxford) **51**(Suppl. 5): v3-v11.

Chung, C., Sokka, T., Arbogast, P., Pincus, T. (2006). "Work disability in early rheumatoid arthritis: higher rates but better clinical status in Finland compared with the US." Ann Rheum Dis **65**(12): 1653-1657.

Combe, B., Landewe, R., Lukas, C., et al. (2007). "EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT)." Ann Rheum Dis **66**(1): 34-35.

Constantin, A., Lauwers-Cancès, V., Navaux, F., et al. (2002). "Stromelysin 1 (matrix metalloproteinase 3) and HLA-DRB1 gene polymorphisms: Association with severity and progression of rheumatoid arthritis in a prospective study." Arthritis Rheum **46**(7): 1754-1762.

Corsiero, E., Bombardieri, M., Carlotti, E., et al (2013). "Recombinant monoclonal antibodies derived from single CD19+ synovial B cells of RA patients with tertiary lymphoid structures display a strong immunoreactivity towards citrullinated histones." Arthritis Rheum **65**: S1127-S1128.

Courvoisier, N., Dougados, M., Cantagrel, A., et al. (2008). "Prognostic factors of 10-year radiographic outcome in early rheumatoid arthritis: a prospective study." Arthritis Res Ther **10**(5): R106.

Criswell, L., Merlino, LA., Cerhan, JR., et al. (2002). "Cigarette smoking and the risk of rheumatoid arthritis among postmenopausal women: results from the Iowa Women's Health Study." Am J Med **112**(6): 465-471.

Criswell, L., Saag, KG., Mikuls, TR., et al. (2006). "Smoking interacts with genetic risk factors in the development of rheumatoid arthritis among older Caucasian women." Ann Rheum Dis **65**(9): 1163-1167.

Croft, A., Naylor, AJ., Marshall, JL., et al (2016). "Rheumatoid synovial fibroblasts differentiate into distinct subsets in the presence of cytokines and cartilage." Arthritis Res Ther **18**(1): 270-270.

Cronstein, B. (2005). "Low-dose methotrexate: A mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis." Pharmacological Reviews **57**(2): 163-172.

Cronstein, B. (2006). "Going with the flow: methotrexate, adenosine, and blood flow. ." Ann Rheum Dis. **65**(4): 421–422.

Crowson, C., Matteson, EL., Davis, JM 3rd., Gabriel, SE. (2013). "Contribution of obesity to the rise in incidence of rheumatoid arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **65**(1): 71-77.

Crowson, C., Matteson, EL., Myasoedova, E., et al. (2011). "The lifetime risk of adult-onset rheumatoid arthritis and other inflammatory autoimmune rheumatic diseases." Arthritis Rheum **63**(3): 633-639.

Cutolo, M., Kitaz, G., Riel, P. (2014). "Burden of disease in treated rheumatoid arthritis patients: Going beyond the joint." Seminars in Arthritis and Rheumatism **43**(4): 479-488.

Da Silva, J., Jacobs, JW., Kirwan, JR, et al. (2006). "Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published evidence and prospective trial data." Ann Rheum Dis **65**(3): 285-

293.

Dai, S., Shan, Z., Xu, H., Nishioka, K. (2007). "Cellular targets of interleukin-18 in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **66**(11): 1411-1418.

Dalrymple, J., Stamp, LK., O'donnell, JL., et al. (2008). "Pharmacokinetics of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatism **58**(11): 3299-3308.

Davila-Fajardo, C., Swen, JJ., Cabeza Barrera, J., Guchelaar, HJ. (2013). "Genetic risk factors for drug-induced liver injury in rheumatoid arthritis patients using low-dose methotrexate." Pharmacogenomics **14**(1): 63-73.

Davis, L., Polk, B., Mann, A., Wolff, RK., et al. (2014). "Folic acid pathway single nucleotide polymorphisms associated with methotrexate significant adverse events in United States veterans with rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **32**(3): 324-332.

de Hair, M., van de Sande, MG., Ramwadhoebe, TH., et al. (2014). "Features of the synovium of individuals at risk of developing rheumatoid arthritis: implications for understanding preclinical rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **66**(3): 513-522.

de la Asociación, M. M. (2008). Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y animales. 59ª Asamblea General, Seúl, Corea.

de Pablo, P., Dietrich, T., McAlindon, TE. (2008). "Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population." J Rheumatol **35**(1): 70-76.

De Rycke, L., Peene, I., Hoffman, IE., et al. (2004). "Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations." Ann Rheum Dis **63**(12): 1587-1593.

Deal, C. (2012). "Bone loss in rheumatoid arthritis: systemic, periarticular, and focal." Curr Rheumatol Rep **14**(3): 231-237.

Dean, M., Hamon, Y., Chimini, G. (2001). "The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily." J Lipid Res **42**(7): 1007-1017.

Deighton, C., Gray, J., Bint, AJ., Walker, DJ. (1992). "Specificity of the proteus antibody response in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **51**(11): 1206-1207.

Deighton, C., Walker, DJ., Griffiths, ID., et al (1989). "The contribution of HLA to rheumatoid arthritis." Clin Genet **36**(3): 178-182

del Rincón, I., Haas, RW., Pogolian, S., Escalante, A. (2005). "Lower limb arterial incompressibility and obstruction in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **64**(3): 425-432.

Delalande, S., de Seze, J., Fauchais, AL., et al. (2004). "Neurologic manifestations in primary Sjögren syndrome: a study of 82 patients." Medicine (Baltimore) **83**(5): 280-291.

Dervieux, T., Greenstein, N., Kremer, J. (2006). "Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatism **54**(10): 3095-3103.

- Dervieux, T., Kremer, J., Lein, DO., et al. (2004). "Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and (gamma)-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis." Pharmacogenetics **14**(11): 733-739.
- Di Giuseppe, D., Alfredsson, L., Bottai, M., et al. (2012). "Long term alcohol intake and risk of rheumatoid arthritis in women: a population based cohort study." BMJ **345**: e4230.
- Di Giuseppe, D., Bottai, M., Askling, J., Wolk, A. (2015). "Physical activity and risk of rheumatoid arthritis in women: a population-based prospective study." Arthritis Research and Therapy **17**(1): 40-47.
- Diarra, D., Stolina, M., Polzer, K., et al (2007). "Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling." Nat Med **13**(2): 156-163.
- Diogo, D., Bastarache, L., Liao, KP., et al. (2015). "TYK2 protein-coding variants protect against rheumatoid arthritis and autoimmunity, with no evidence of major pleiotropic effects on non-autoimmune complex traits." PLOS ONE **10**: e0122271.
- Dixon, T., Shaw, M., Ebrahim, S., Dieppe, P. (2004). "Trends in hip and knee joint replacement: socioeconomic inequalities and projections of need." Ann rheum dis **63**(7): 825-830.
- Doran, M., Crowson, CS., O'Fallon, WM., Gabriel, SE. (2004). "The effect of oral contraceptives and estrogen replacement therapy on the risk of rheumatoid arthritis: a population based study." J Rheumatol **31**(2): 207–213.
- Doran, M., Pond, GR., Crowson, CS., O'Fallon, WM., Gabriel, SE. (2002). "Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, over a forty-year period." Arthritis Rheum **46**(3): 625-631.
- Dougados, M. (1996). "Synovial fluid cell analysis." Baillieres Clin Rheumatol **10**(3): 519-534.
- Drach, J., Gsur, A., Hamilton, G., et al. (1996). "Involvement of P-glycoprotein in the transmembrane transport of interleukin-2, IL-4, and interferon-gamma in normal human T lymphocytes." Blood **88**(5): 1747-1754.
- Drozdziak, M., Rudas, T., Pawlik, A., et al. (2006). "The effect of 3435C>T MDR1 gene polymorphism on rheumatoid arthritis treatment with disease-modifying antirheumatic drugs." European Journal of Clinical Pharmacology **62**(11): 933-937.
- Drozdziak, M., Rudas, T., Pawlik, A., et al. (2007). "Reduced folate carrier-1 80G>A polymorphism affects methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis." Pharmacogenomics Journal **7**(6): 404-407.
- Ebert, E. (2012). "Gastrointestinal and hepatic manifestations of Sjogren syndrome." J Clin Gastroenterol **46**(1): 25-30.
- Emery, P., Gough, A. (1991). "Why early arthritis clinics?" Br J Rheumatol **30**(4): 241-242.
- England, B., Sayles, H., Michaud, K., et al. (2016). "Cause-Specific Mortality in Male US Veterans With Rheumatoid Arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **68**(1): 36-45.
- Ernst, F., Grizzle, AJ. (2001). "Drug-related morbidity and mortality: updating the cost-of-illness model." J Am Pharm Assoc (Wash) **41**(2): 192-199.

- Evans, W. (2002). "Differing effects of methylenetetrahydrofolate reductase single nucleotide polymorphisms on methotrexate efficacy and toxicity in rheumatoid arthritis." Pharmacogenetics **12**(3): 181-182.
- Evans, W., McLeod, HL. (2003). "Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects." N Engl J Med **348**(6): 538-549.
- Fattah, N., Hassan, HE., Galal, ZA., El Sayed, E. (2009). "Assessment of anti-cyclic citrullinated peptide in psoriatic arthritis." BMC Res Notes **2**(1): 44-44.
- Feitsma, A., Worthington, J., van der Helm-van Mil, AH., et al. (2007). "Protective effect of noninherited maternal HLA-DR antigens on rheumatoid arthritis development." Proc Natl Acad Sci USA **104**: 19966–19970.
- Felson, D., Smolen, JS., Wells, G., et al. (2011). "American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials." Arthritis Rheumatism **63**(3): 573-586.
- Ferrell, P., Aitchison, CT., Pearson, GR., Tan, EM. (1981). "Seroepidemiological study of relationships between Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis." J Clin Invest **67**(3): 681-687.
- Fevang, B., Lie, S., Havelin, L., et al. (2007). "Reduction in orthopedic surgery among patients with chronic inflammatory joint disease in Norway 1994–2004." Arthritis Care Res (Hoboken) **57**(3): 529-532.
- Finckh, A., Bansback, N., Marra, CA., et al. (2009). "Treatment of very early rheumatoid arthritis with symptomatic therapy, disease-modifying antirheumatic drugs, or biologic agents: a cost-effectiveness analysis." Ann Intern Med **151**(9): 612-621.
- Finckh, A., Turesson, C. (2014). "The impact of obesity on the development and progression of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **73**(11): 1911–1913.
- Firestein, G. (2003). "Evolving concepts of rheumatoid arthritis." Nature **423**(6937): 356-361.
- Firestein, G. (2014). "The disease formerly known as rheumatoid arthritis." Arthritis Res Ther **16**(3): 114-117.
- Firestein, G., McInnes, I. (2017). "Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis." Immunity **46**(2): 183–196.
- Fisher, M., Cronstein, BN. (2009). "Metaanalysis of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms affecting methotrexate toxicity." J Rheumatol **36**(3): 539-545.
- Fleming, A., Crown, JM., Corbett, M. (1976). "Early rheumatoid disease. I. Onset." Ann Rheum Dis **35**(4): 357-360.
- Fojo, A., Ueda, K., Slamon, D., et al. (1987). "Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(1): 265-269.
- Foulquier, C., Sebbag, M., Clavel, C., et al. (2007). "Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation." Arthritis Rheum **56**(11): 3541-3553.

- Fowler, B. (2001). "The folate cycle and disease in humans." *Kidney Int* **78**(Suppl): S221-S229.
- Fransen, J., Kooloos, WM., Wessels, JAM., et al (2012). "Clinical pharmacogenetic model to predict response of MTX monotherapy in patients with established rheumatoid arthritis after DMARD failure." *Pharmacogenomics* **13**(9): 1087-1094.
- Fries, J., Spitz, PW., Young, DY. (1982). "The dimensions of health outcomes: the health assessment questionnaire, disability and pain scales." *J Rheumatol* **9**(5): 789-793.
- Fries, J., Wolfe, F., Apple, R., et al. (2002). "HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity, and treatment bias." *Arthritis Rheum* **46**(9): 2320–2329.
- Frisell, T., Holmqvist, M., Kallberg, H., Klareskog, L., et al. (2013). "Familial risks and heritability of rheumatoid arthritis: role of rheumatoid factor/anti-citrullinated protein antibody status, number and type of affected relatives, sex, and age." *Arthritis Rheumatism* **65**(11): 2773–2782.
- Fuchs, H., Callahan, LF., Kaye, JJ., et al. (1988). "Radiographic and joint count findings of the hand in rheumatoid arthritis: related and unrelated findings." *Arthritis Rheum* **31**(1): 44-51.
- Fuchs, H., Kaye, JJ., Callahan, LF., et al. (1989). "Evidence of significant radiographic damage in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease." *J Rheumatol* **16**(5): 585-591.
- Gabriel, S. (2010). "Heart disease and rheumatoid arthritis: understanding the risks." *Ann Rheum Dis* **69**(Suppl 1): i61-i64.
- Gabriel, S., Crowson, CS., Kremers, HM., et al. (2003). "Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years." *Arthritis Rheum* **48**(1): 54-58.
- Genestier, L., Paillet, R., Fournel, S., et al. (1998). "Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells." *J Clin Invest* **102**(2): 322-328.
- Gerards, A., de Lathouder, S., de Groot, ER., et al. (2003). "Inhibition of cytokine production by methotrexate. Studies in healthy volunteers and patients with rheumatoid arthritis." *Rheumatology (Oxford)* **42**(10): 1189-1196.
- Gerber, N., Dixon, AS. (1974). "Synovial cysts and juxta-articular bone cysts." *Semin Arthritis Rheum.* **3**(4): 323-348.
- Gerlag, D., Raza, K., van Baarsen, LG., et al. (2012). "EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis." *Ann Rheum Dis* **71**: 638-641.
- Gervasini, G. (2009). "Polymorphisms in methotrexate pathways: What is clinically relevant, what is not, and what is promising." *Current Drug Metabolism* **10**(6): 547-566.
- Ghodke-Puranik, Y., Chopra, A., Joshi, K., Patwardhan, B. (2008). "Are Thymidylate synthase and Methylene tetrahydrofolate reductase genes linked with methotrexate response (efficacy, toxicity) in Indian (Asian) rheumatoid arthritis patients?" *Clin Rheumatol* **27**(6): 787-789.
- Ghodke-Puranik, Y., Puranik, AS., Shintre, P., et al. (2015). "Folate metabolic pathway single nucleotide polymorphisms: a predictive pharmacogenetic marker of methotrexate response in

- Indian (Asian) patients with rheumatoid arthritis." Pharmacogenomics **16**(18): 2019-2034.
- Giles, J., Allison, M., Blumenthal, RS., et al. (2010). "Abdominal adiposity in rheumatoid arthritis: association with cardiometabolic risk factors and disease characteristics." Arthritis Rheum **62**(11): 3173-3182.
- Giles, J., Bartlett, SJ., Andersen, RE., et al. (2008). "Association of body composition with disability in rheumatoid arthritis: impact of appendicular fat and lean tissue mass." Arthritis Rheum **59**(10): 1407-1415.
- Ginsberg, M., Genant, HK., Yü, TF., McCarty, DJ. (1975). "Rheumatoid nodulosis: an unusual variant of rheumatoid disease." Arthritis Rheum **18**(1): 49-58.
- Goekoop-Ruiterman, Y., de Vries-Bouwstra, JK., Allaart, CF., et al. (2005). "Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial." Arthritis Rheum **52**(11): 3381-3390.
- Goekoop-Ruiterman, Y., de Vries-Bouwstra, JK., Allaart, CF., et al. (2007). "Comparison of treatment strategies in early rheumatoid arthritis: a randomized trial." Ann Intern Med **146**(6): 406-415.
- Goldring, S., Goldring, MB. (2007). "Eating bone or adding it: the Wnt pathway decides." Nat Med **13**(2): 133-134.
- Gonzalez, F., Skoda, RC., Kimura, S., et al. (1988). "Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism." Nature **331**(6155): 442-446.
- Gonzalez-Alvaro, I., Ortiz, A. M., Seoane, I. V., et al (2015). "Biomarkers predicting a need for intensive treatment in patients with early arthritis." Current pharmaceutical design **21**(2): 170-181.
- Goodman, M., McDuffie, K., Hernandez, B., Wilkens, LR., et al. (2001). "Association of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and dietary folate with the risk of cervical dysplasia." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **10**: 1275-1280.
- Goodman, S., Cronstein, BN., Bykerk, VP. (2015). "Outcomes related to methotrexate dose and route of administration in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review." Clinical and experimental rheumatology **33**(2): 272-278.
- Gordon, D. (1985). Rheumatoid arthritis contemporary patient management series. New York: medicine examin, Publishing, 34.
- Gossec, L., Dougados, M., Goupille, P., et al. (2004). "Prognostic factors for remission in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study." Ann Rheum Dis **63**(6): 675-680.
- Gottesman, M., Pastan, I. (1993). "Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter." Annu Rev Biochem **62**(1): 385-427.
- Grabar, P., Leandro-Garcia, LJ., Inglada-Perez, L., et al. (2012). "Genetic variation in the SLC19A1 gene and methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients." Pharmacogenomics **13**(14): 1583-1594.
- Grabar, P., Logar, D., Lestan, B., Dolzan, V. (2008). "Genetic determinants of methotrexate toxicity

in rheumatoid arthritis patients: A study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism." Eur J Clin Pharmacol **64**(11): 1057-1068.

Graudal, N., Jurik, AG., de Carvalho, A., Graudal, HK. (1998). "Radiographic progression in rheumatoid arthritis: a long-term prospective study of 109 patients." Arthritis Rheum **41**(8): 1470-1480.

Gravani, F., Papadaki, I., Antypa, E., et al. (2015). "Subclinical atherosclerosis and impaired bone health in patients with primary Sjogren's syndrome: prevalence, clinical and laboratory associations." Arthritis Res Ther **17**(1): 99-112.

Gregersen, P., Silver, J., Winchester, RJ. (1987). "The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **30**(11): 1205-1213.

Grigor, C., Capell, H., Stirling, A., et al. (2004). "Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single blind randomised controlled trial." Lancet **364**(9430): 263-269.

Grimbacher, B., Warnatz, K., Yong, PF., Korganow, AS., Peter, HH. (2016). "The crossroads of autoimmunity and immunodeficiency: lessons from polygenic traits and monogenic defects." J Allergy Clin Immunol **137**(1): 3-17.

Haavardsholm, E., Boyesen, P., Ostergaard, M., et al. (2008). "Magnetic resonance imaging findings in 84 patients with early rheumatoid arthritis: bone marrow oedema predicts erosive progression." Ann Rheum Dis **67**(6): 794-800.

Habets, K., Trouw, LA., Levarht, EN., et al. (2015). "Anti-citrullinated protein antibodies contribute to platelet activation in rheumatoid arthritis." Arthritis Res Ther **17**(1): 209-222.

Haj Hensvold, A., Magnusson, PK., Joshua, V., et al. (2015). "Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: an epidemiological investigation in twins." Ann Rheum Dis **74**(2): 375-380.

Hamilton, R., Kremer, JM. (1995). "The effects of food on methotrexate absorption." J Rheumatol **22**(4): 630-632.

Haslock, D., Harriman, DF., Wright, V. (1970). "Neuromuscular disorders associated with rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **29**(2): 197-197.

Hastings, D., Evans, JA. (1975). "Rheumatoid wrist deformities and their relation to ulnar drift." J Bone Joint Surg Am **57**(7): 930-934.

Haugeberg, G., Ørstavik, RE., Uhlig, T., et al. (2002). "Clinical decision rules in rheumatoid arthritis: do they identify patients at high risk for osteoporosis? Testing clinical criteria in a population based cohort of patients with rheumatoid arthritis recruited from the Oslo Rheumatoid Arthritis Register." Ann Rheum Dis **61**(12): 1085-1089.

Hayashi, H., Tazoe, Y., Tsuboi, S., et al. (2013). "A single nucleotide polymorphism of reduced folate carrier 1 predicts methotrexate efficacy in Japanese patients with rheumatoid arthritis." Drug Metab Pharmacokinet **28**(2): 164-168.

Hayashi, H. F., C. Daimon, T., et al. (2009). "Genetic polymorphisms in folate pathway enzymes

as a possible marker for predicting the outcome of methotrexate therapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis." Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics **34**(3): 355-361.

Hazes, J., Dijkmans, BA., Vandenbroucke, JP., et al. (1990). "Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: cigarette smoking and alcohol consumption." Ann Rheum Dis **49**(12): 980–982.

He, X., Kang, AH., Stuart, JM. (2000). "Accumulation of T cells reactive to type II collagen in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **27**(3): 589-593.

Heikkila, R., Aho, K., Heliovaara, M., et al. (1998). "Serum androgen-anabolic hormones and the risk of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **57**(5): 281–285.

Helin, H., Korpela, MM., Mustonen, JT., Pasternack, AI. (1995). "Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **38**(2): 242-247.

Heliovaara, M., Aho, K., Aromaa, A., Knekt, P., Reunanen, A. (1993). "Smoking and risk of rheumatoid arthritis." J Rheumatol **20**(11): 1830–1835.

Heliovaara, M., Aho, K., Knekt, P., et al. (2000). "Coffee consumption, rheumatoid factor, and the risk of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **59**(8): 631–635.

Helmick, C., Felson, DT., Lawrence, RC., Gabriel, S., et al (2008). "Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States: Part I." Arthritis Rheumatol **58**(1): 15-25.

Hemminki, K., Li, X., Sundquist, J., Sundquist, K. (2009). "Familial associations of rheumatoid arthritis with autoimmune diseases and related conditions." Arthritis Rheum **60**(3): 661–668.

Hensvold, A., Magnusson, PK., Joshua, V., et al. (2015). "Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: an epidemiological investigation in twins. ." Ann Rheum Dis **74**(2): 375–380.

Hernandez Avila, M., Liang, MH., Willett, WC., et al. (1990). "Reproductive factors, smoking, and the risk for rheumatoid arthritis." Epidemiology **1**(4): 285–291.

Hider, S., Bruce, IN., Thomson, W. (2007). "The pharmacogenetics of methotrexate." Rheumatology **46**(10): 1520-1524.

Hider, S., Silman, AJ., Thomson, W., et al. (2009). "Can clinical factors at presentation be used to predict outcome of treatment with methotrexate in patients with early inflammatory polyarthritis?" Ann Rheum Dis **68**(1): 57-62.

Hider, S., Thomson, W., Mack, LF., et al. (2008). "Polymorphisms within the adenosine receptor 2a gene are associated with adverse events in RA patients treated with MTX." Rheumatology **47**(8): 1156-1159.

Highton, J., Hessian, PA., Stamp, L. (2007). "The Rheumatoid nodule: peripheral or central to rheumatoid arthritis?" Rheumatology (Oxford) **46**(9): 1385-1387.

Hochberg, M. (1990). "Changes in the incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in England and Wales, 1970-1982." Sem Arthritis Rheum **19**(5): 294-302.

Hoekstra, M., Haagsma, C., Neef, C., et al. (2004). "Bioavailability of higher dose methotrexate

comparing oral and subcutaneous administration in patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **31**(4): 645-648.

Hoekstra, M., van Ede, AE., Haagsma, CJ., et al. (2003). "Factors associated with toxicity, final dose, and efficacy of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **62**(5): 423-426.

Hoes, J., Jacobs, JW., Verstappen, SM., et al. (2009). "Adverse events of low- to medium-dose oral glucocorticoids in inflammatory diseases: a meta-analysis." Ann Rheum Dis **68**(12): 1833-1838.

Hofbauer, L., Schoppet, M. (2004). "Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases." JAMA **292**(4): 490-495.

Hoffmeister, R. (1983). "Methotrexate therapy in rheumatoid arthritis: 15 years experience." Am J Med **75**(Suppl 6A): 69-73.

Hoffmeyer, S., Burk, O., Von Richter, O., et al. (2000). "Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo." Proc Natl Acad Sci USA **97**(7): 3473-3478.

Holick, M. (2007). "Vitamin D deficiency." N Engl J Med **357**: 266–281.

Holmqvist, M., Neovius, M., Eriksson, J., et al. (2012). "Risk of venous thromboembolism in patients with rheumatoid arthritis and association with disease duration and hospitalization." JAMA **308**(13): 1350-1356.

Horowitz, S., Evinson, B., Borer, A., Horowitz, J. (2000). "Mycoplasma fermentans in rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides." J Rheumatol **27**(12): 2747-2753.

Hsiao, Y., Chen, YT., Tseng, CM., et al. (2015). "Sleep disorders and increased risk of autoimmune diseases in individuals without sleep apnea." Sleep **38**(4): 581–586.

Hu, Y., Costenbader, KH., Gao, X., et al. (2014). "Sugar-sweetened soda consumption and risk of developing rheumatoid arthritis in women." The American Journal of Clinical Nutrition **100**(3): 959–967.

Huang, L., Tissing, WJ., de Jonge, R., et al. (2008). "Polymorphisms in folate-related genes: association with side effects of high-dose methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia." Leukemia Research **22**(9): 1798-1801.

Huang, Y., Penchala, S., Pham, AN., Wang, J. (2008). "Genetic variations and gene expression of transporters in drug disposition and response." Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology **4**(3): 237-254.

Hughes, L., Beasley, TM., Patel, H., Tiwari, HK., et al. (2006). "Racial or ethnic differences in allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and their influence on response to methotrexate in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **65**(9): 1213-1218.

Humphreys, J., Verheul, M., Barton, A., et al. (2015). "Association of anticarbamylated protein antibodies with long-term disability and increased disease activity in patients with early

inflammatory arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register." Lancet **385**(Suppl 1): S44.

Hyrich KL, W. K., Silman AJ, Symmons DP. (2006). "Predictors of response to anti-TNF-alpha therapy among patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register." Rheumatology (Oxford) **45**(12): 1558–1565.

Ifergan, I., Jansen, G., Assaraf, YG. (2008). "The reduced folate carrier (RFC) is cytotoxic to cells under conditions of severe folate deprivation RFC as a double edged sword in folate homeostasis." J Biol Chem **283**(30): 20687-20695.

Inoue, K., Yuasa, H. (2014). "Molecular basis for pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in rheumatoid arthritis therapy." Drug Metab Pharmacokinet. **29**(1): 12-19.

Inoue, S., Hashiguchi, M., Chiyoda, T., et al. (2007). "Pharmacogenetic study of methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase in Japanese and assessment of ethnic and gender differences." Pharmacogenomics **8**(1): 41-47.

Inoue, S., Hashiguchi, M., Takagi, K., Kawai, S., Mochizuki, M. (2009). "Preliminary study to identify the predictive factors for the response to methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis." Yakugaku Zasshi **129**(7): 843-849.

Iqbal, M., Ali, AA., Mehboobali, N., Iqbal, K. (2015). "Short Communication: Lack of association between MTHFR gene polymorphisms and response to methotrexate treatment in Pakistani patients with rheumatoid arthritis." Pak J Pharm Sci. **28**(5): 1789-1792.

Jacobsson, L., Jacobsson, ME., Askling, J., Knowler, WC. (2003). "Perinatal characteristics and risk of rheumatoid arthritis." BMJ **326**(7398): 1068-1069.

Jani, M., Barton, A., Warren, RB., et al. (2014). "The role of DMARDs in reducing the immunogenicity of TNF inhibitors in chronic inflammatory diseases." Rheumatology **53**(2): 213-222.

Jantti, J., Kaarela, K., Belt, EA., Kautiainen, HJ. (2002). "Incidence of severe outcome in rheumatoid arthritis during 20 years." J Rheumatol **29**(4): 688-692.

Jawaheer, D., Li, W., Graham, RR., et al. (2002). "Dissecting the genetic complexity of the association between human leukocyte antigens and rheumatoid arthritis." Am J Hum Genet **71**(3): 585–594.

Jawaheer, D., Lum, RF., Gregersen, PK., Criswell, LA. (2006). "Influence of male sex on disease phenotype in familial rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **54**(10): 3087-3094.

Jebakumar, A., Udayakumar, PD., Crowson, CS., et al. (2014). "Occurrence and effect of lower extremity ulcer in rheumatoid arthritis - a population-based Study." J Rheumatol **41**(3): 437-443.

Jekic, B., Lukovic, L., Bunjevacki, V., et al. (2013). "Association of the TYMS 3G/3G genotype with poor response and GGH 354GG genotype with the bone marrow toxicity of the methotrexate in RA patients." European Journal of Clinical Pharmacology **69**(3): 377-383.

Jenko, B., Tomsic, M., Praprotnik, S., Jekic, B., Milic, V., Dolzan, V. (2018). "Clinical pharmacogenetic models of treatment response to methotrexate monotherapy in Slovenian and Serbian rheumatoid arthritis patients: differences in patient's management may preclude generalization of the models." Frontiers in Pharmacology **9**(20): 1-8.

- Jimenez-Boj, E., Nöbauer-Huhmann, I., Hanslik-Schnabel, B., et al. (2007). "Bone erosions and bone marrow edema as defined by magnetic resonance imaging reflect true bone marrow inflammation in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **56**(4): 1118-1124.
- Jin, Z., Xiang, C., Cai, Q., et al. (2014). "Alcohol consumption as a preventive factor for developing rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis of prospective studies." Ann Rheum Dis **73**(11): 1962-1967.
- Johnston, A., Gudjonsson, JE., Sigmundsdottir, H., et al. (2005). "The anti-inflammatory action of methotrexate is not mediated by lymphocyte apoptosis, but by the suppression of activation and adhesion molecules." Clin Immunol **114**(2): 154-163.
- Jorgensen, C., Picot, MC., Bologna, C., Sany, J. (1996). "Oral contraception, parity, breast feeding, and severity of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **55**(2): 94-98.
- Juarez, M., Bang, H., Hammar, F., et al. (2016). "Identification of novel antiacetylated vimentin antibodies in patients with early inflammatory arthritis." Ann Rheum Dis **75**(6): 1099-1107.
- Kaarela, K., Kautiainen, H. (1997). "Continuous progression of radiological destruction in seropositive rheumatoid arthritis." J Rheumatol **24**(7): 1285-1287.
- Kaipainen-Seppanen, O., Kautiainen, H. (2006). "Declining trend in the incidence of rheumatoid factor-positive rheumatoid arthritis in Finland 1980-2000." J Rheumatol **33**(11): 2132-2138.
- Källberg, H., Jacobsen, S., Bengtsson, C., et al. (2009). "Alcohol consumption is associated with decreased risk of rheumatoid arthritis: results from two Scandinavian case-control studies." Ann Rheum Dis **68**: 222-227.
- Källberg, H., Padyukov, L., Plenge, RM., et al. (2007). "Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis." Am J Hum Genet **80**: 867-875.
- Kaltsonoudis, E., Zikou, AK., Voulgari, PV., et al. (2014). "Neurological adverse events in patients receiving anti-TNF therapy: a prospective imaging and electrophysiological study." Arthritis Res Ther **16**(3): 1-7.
- Kaminsky, Z., Tang, T., Wang, SC., Ptak, C., et al. (2009). "DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins." Nat Genet **41**(2): 240-245.
- Kanis, J., Johnell, O., Oden, A., et al. (2008). "FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK." Osteoporos Int **19**(4): 385-397.
- Kaplan, M., Ike, RW. (2002). "The liver is a common non-exocrine target in primary Sjögren's syndrome: a retrospective review." BMC Gastroenterol **2**(1): 21-29.
- Karie, S., Gandjbakhch, F., Janus, N., et al. (2008). "Kidney disease in RA patients: prevalence and implication on RA-related drugs management: the MATRIX study." Rheumatology (Oxford) **47**(3): 350-354.
- Karlson, E., Lee, IM., Cook, NR., et al. (1999). "A retrospective cohort study of cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis in female health professionals." Arthritis Rheum **42**: 910-917.
- Karlson, E., Mandl, LA., Aweh, GN., Grodstein, F. (2003). "Coffee consumption and risk of

rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **48**: 3055–3060.

Karlson, E., Mandl, LA., Hankinson, SE., Grodstein, F. (2004). "Do breast-feeding and other reproductive factors influence future risk of rheumatoid arthritis? Results from the Nurses' Health Study." Arthritis Rheum **50**: 3458–3467.

Karmakar, S., Kay, J., Gravallesse, E. M. (2010). "Bone damage in rheumatoid arthritis: mechanistic insights and approaches to prevention." Rheum Dis Clin North Am **36**(2): 385-404.

Kastbom, A., Strandberg, G., Lindroos, A., Skogh, T. (2004). "Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project)." Ann Rheum Dis **63**: 1085–1089.

Katchamart, W., Johnson, S., Lin, HJL., et al (2010). "Predictors for remission in rheumatoid arthritis patients: A systematic review." Arthritis Care and Research **62**(8): 1128-1143.

Kato, T., Hamada, A., Mori, S., Saito, H. (2012). "Genetic polymorphisms in metabolic and cellular transport pathway of methotrexate impact clinical outcome of methotrexate monotherapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis." Drug Metabolism and Pharmacokinetics **27**(2): 192-199.

Katz, S., Russell, AS. (2012). "Palindromic rheumatism: a pre-rheumatoid arthritis state?" J Rheumatol **39**: 1912-1913.

Kaushik, P., Solomon, DH., Greenberg, JD., et al. (2015). "Subcutaneous nodules are associated with cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: results from a large US registry." Clin Rheumatol **34**(10): 1697-1704.

Kelley, W., Harris, ED Jr., Ruddy, S., Sledge, CB. (1985). Rheumatoid Arthritis. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W.B. Saunders. **II**.

Kelly, C., Saravanan, V., Nisar, M., et al. (2014). "Rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: associations, prognostic factors and physiological and radiological characteristics--a large multicentre UK study." Rheumatology (Oxford) **53**(9): 1676-1682.

Khandpur, R., Carmona-Rivera, C., Vivekanandan-Giri, A., et al. (2013). "NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis." Science translational medicine **5**(178): 178ra140.

Kharlamova, N., Jiang, X., Sherina, N., et al. (2016). "Antibodies to Porphyromonas gingivalis Indicate Interaction Between Oral Infection, Smoking, and Risk Genes in Rheumatoid Arthritis Etiology." Arthritis Rheumatol **68**(3): 604-613.

Khuder, S., Peshimam, AZ., Agraharam, S. (2002). "Environmental risk factors for rheumatoid arthritis." Rev Environ Health **17**(4): 307-315.

Kim, K., Bang, SY., Lee, HS., Bae, SC. (2017). "Update on the genetic architecture of rheumatoid arthritis." Nat Rev Rheumatol **13**: 13–24.

Kim, S., Jun, JB., El-Sohemy, A., Bae, SC. (2006). "Cost-effectiveness analysis of MTHFR polymorphism screening by polymerase chain reaction in Korean patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate." J Rheumatology **33**(7): 1266-1274.

- Kim, S., Park, SH., Shin, IH., Choe, JY. (2008). "Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, smoking, alcohol consumption, and disease duration as risk factors for extraarticular manifestations in Korean patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **35**(6): 995-1001.
- Kim, S., Schneeweiss, S., Liu, J., Solomon, DH. (2013). "Risk of venous thromboembolism in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **65**(10): 1600-1607.
- King, T., Kim, EJ., Kinder, BW. (2011). Connective tissue diseases. Interstitial Lung Disease. M. Schwarz, King, TEJr. (Eds). Shelton, CT 680, People's Medical Publishing House-USA.
- Kinloch, A., Lundberg, K., Wait, R., et al. (2008). "Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis." Arthritis Rheum **58**(8): 2287-2295.
- Kinslow, J., Blum, LK., Deane, KD., et al. (2016). "Elevated IgA plasmablast levels in subjects at risk of developing rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **68**: 2372–2383.
- Kirwan, J. (1995). "The effect of glucocorticoids on joint destruction in rheumatoid arthritis. The Arthritis and Rheumatism Council Low-Dose Glucocorticoid Study Group." N Engl J Med **333**(3): 142-147.
- Kirwan, J., Bijlsma, JW., Boers, M., Shea, BJ. (2007). "Effects of glucocorticoids on radiological progression in rheumatoid arthritis." Cochrane Database Syst Rev **CD006356**.
- Kittridge, A., Routhouska, SB., Korman, NJ. (2011). "Dermatologic manifestations of Sjögren syndrome." J Cutan Med Surg **15**(1): 8-14.
- Klareskog, L., Catrina, AI., Paget, S. (2009). "Rheumatoid arthritis." Lancet **373**(9664): 659-672.
- Kleyer, A., Finzel, S., Rech, J., et al. (2014). "Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies." Ann Rheum Dis **73**: 854–860.
- Knevel, R., Schoels, M., Huizinga, TW., et al. (2010). "Current evidence for a strategic approach to the management of rheumatoid arthritis with disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **69**(6): 987-994.
- Kochi, Y., Yamada, R., Suzuki, A., et al. (2005). "A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities." Nat Genet **37**: 478–485.
- Koh, J., Jung, SM., Lee, JJ., et al. (2015). "Radiographic Structural Damage Is Worse in the Dominant than the Non-Dominant Hand in Individuals with Early Rheumatoid Arthritis." PLoS One **10**(8): e0135409.
- Koning, F., Thomas, R., Rossjohn, J., Toes, RE. (2015). "Coeliac disease and rheumatoid arthritis: similar mechanisms, different antigens." Nat Rev Rheumatol **11**: 450–461.
- Kooloos, W., Wessels, JA., van der Kooij, SM., Allaart, C. F., et al (2009). "Optimization of the clinical pharmacogenetic model to predict methotrexate treatment response: the influence of the number of haplotypes of MTHFR 1298A-677C alleles on probability to respond." Ann Rheum Dis **68**(8): 1371-1371.
- Kooloos, W., Wessels, JA., Van Der Straaten, T., et al. (2010). "Functional polymorphisms and

methotrexate treatment outcome in recent-onset rheumatoid arthritis." Pharmacogenomics **11**(2): 163-175.

Kopesky, P., Tiedemann, K., Alkekha, D., Zechner, C., et al (2014). "Autocrine signaling is a key regulatory element during osteoclastogenesis." Biology Open **3**(8): 767-776.

Koskinen, E., Hannonen, P., Sokka, T. (2009). "Palindromic rheumatism: longterm outcomes of 60 patients diagnosed in 1967-84." J Rheumatol **36**(9): 1873-1875.

Koziel, J., Mydel, P., Potempa, J. (2014). "The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review." Curr Rheumatol Rep **16**(3): 408-415.

Kraag, G., Thevathasan, EM., Gordon, DA., Walker, IH. (1976). "The hemorrhagic crescent sign of acute synovial rupture." Ann Intern Med **85**(4): 477-478.

Krause, D., Schleusser, B., Herborn, G., Rau, R. (2000). "Response to methotrexate treatment is associated with reduced mortality in patients with severe rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **43**(1): 14-21.

Kreider, M., Highland, K. (2014). "Pulmonary involvement in Sjögren syndrome." Semin Respir Crit Care Med **35**(2): 255-264.

Kremer, J. (2008). "Methotrexate treatment of rheumatic diseases: Can we do better?" Arthritis Rheumatism **58**(11): 3279-3282.

Kremer, J., Lawrence, DA., Hamilton, R., McInnes, IB. (2016). "Long-term study of the impact of methotrexate on serum cytokines and lymphocyte subsets in patients with active rheumatoid arthritis: correlation with pharmacokinetic measures." RMD Open **2**: e000287.

Krey, P., Bailen, DA. (1979). "Synovial fluid leukocytosis. A study of extremes." Am J Med **67**(3): 436-442.

Krishnamurthy, A., Joshua, V., Hensvold, H., et al. (2016). "Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss." Ann Rheum Dis **75**(4): 721-729.

Kuller, L., Mackey, RH., Walitt, BT., et al. (2014). "Determinants of mortality among postmenopausal women in the women's health initiative who report rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **66**: 497-507.

Kumagai, K., Hiyama, K., Oyama, T., et al. (2003). "Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis." Int J Mol Med **11**(5): 593-600.

Kung, T., Dennis, J., Ma, Y., et al. (2014). "RFC1 80G>A is a genetic determinant of methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis: a human genome epidemiologic review and meta-analysis of observational studies." Arthritis Rheumatol **66**(5): 1111-1120.

Kurzawski, M., Pawlik, A., Safranow, K., Herczynska, M., Drozdik, M. (2007). "677C>T and 1298A>C MTHFR polymorphisms affect methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis." Pharmacogenomics **8**(11): 1551-1559.

Kwoh, C., Anderson, LG., Greene, JM., et al. (2002). "Guidelines for the management of

rheumatoid arthritis: 2002 update - American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines." Arthritis Rheum **46**(2): 328-346.

Lacaille, D., Anis, AH., Guh, DP., Esdaile, JM. (2005). "Gaps in care for rheumatoid arthritis: a population study." Arthritis Rheum **53**(2): 241-248.

Lafforgue, P., Monjanel-Mouterde, S., Durand, A., et al. (1995). "Lack of correlation between pharmacokinetics and efficacy of low dose methotrexate in patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **5**(5): 844-849.

Lam, J., Takeshita, S., Barker, JE., et al. (2000). "TNF- α induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand." J Clin Invest **106**: 1481-1488.

Lanzillo, B., Pappone, N., Crisci, C., et al. (1998). "Subclinical peripheral nerve involvement in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **41**(7): 1196-1202.

Lard, L., Boers, M., Verhoeven, A., et al. (2002). "Early and aggressive treatment of rheumatoid arthritis patients affects the association of HLA class II antigens with progression of joint damage." Arthritis Rheumatism **46**(4): 899-905.

Larsen, A., Thoen, J. (1987). "Hand radiography of 200 patients with rheumatoid arthritis repeated after an interval of one year." Scand J Rheumatol **16**(6): 395-401.

Laurent, L., Clavel, C., Lemaire, O., et al. (2011). "Fc gamma receptor profile of monocytes and macrophages from rheumatoid arthritis patients and their response to immune complexes formed with autoantibodies to citrullinated proteins." Ann Rheum Dis **70**: 1052-1059.

Lee, D., Weinblatt, ME. (2001). "Rheumatoid arthritis." Lancet **358**(9285): 903-911.

Lee, H., Irigoyen, P., Kern, M., et al. (2007). "Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts." Arthritis Rheum **56**: 1745-1753.

Lee, H., Kim, DS., Yoo, B., Seo, JB., et al. (2005). "Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease." Chest **127**(6): 2019-2027.

Lee, K., Chen, MY., Yeh, JH., et al. (2006). "Lower urinary tract symptoms in female patients with rheumatoid arthritis." Scand J Rheumatol **35**(2): 96-101.

Lee, Y., Bae, SC. (2016b). "Association of the ATIC 347 C/G polymorphism with responsiveness to and toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis: a meta-analysis." Rheumatol Int **36**(11): 1591-1599.

Lee, Y., Bae, SC., Song, GG. (2016). "Association of the ABCB1 C3435T polymorphism with responsiveness to and toxicity of DMARDs in rheumatoid arthritis : A meta-analysis." Z Rheumatol **75**(7): 707-715.

Lee Y, B. S., Song G. (2014). "Gene-environmental interaction between smoking and shared epitope on the development of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: a meta-analysis." International Journal of Rheumatic Diseases **17**: 528-535.

Lee, Y., Cui, J., Costenbader, KH., Shadick, NA., et al (2009). "Investigation of candidate

polymorphisms and disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate." Rheumatology **48**(6): 613-617.

Lee, Y., Song, GG. (2010). "Associations between the C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR and the efficacy and toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis: A meta-analysis." Clinical Drug Investigation **30**(2): 101-108.

Lehrer, S., Bogursky, E., Yemini, M., et al. (1994). "Gynecologic manifestations of Sjögren's syndrome." Am J Obstet Gynecol **170**(3): 835-837.

Lenz, T., Deutsch, AJ., Han, B., et al. (2015). "Widespread non-additive and interaction effects within HLA loci modulate the risk of autoimmune diseases." Nat Genet **47**: 1085–1090.

Li, X., Hu, M., Li, W., et al. (2016). "The association between reduced folate carrier-1 gene 80G/A polymorphism and methotrexate efficacy or methotrexate related-toxicity in rheumatoid arthritis: A meta-analysis." International immunopharmacology **38**: 8-15.

Liang, K., Liang, KV., Matteson, EL., et al. (2006). "Incidence of noncardiac vascular disease in rheumatoid arthritis and relationship to extraarticular disease manifestations." Arthritis Rheum **54**(2): 642-648.

Liao, K., Alfredsson, L., Karlson, EW. (2009). "Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis." Curr Opin Rheumatol **21**(3): 279-283.

Liao, K., Karlson, EW. (2011). Classification and epidemiology of rheumatoid arthritis. Rheumatology. Hochberg. Philadelphia, Mosby. **I**: 823-828.

Lima, A., Bernardes, M., Azevedo, R., et al. (2014). "SLC19A1, SLC46A1 and SLC01B1 polymorphisms as predictors of methotrexate-related toxicity in Portuguese rheumatoid arthritis patients." Toxicol Sci **142**(1): 196-209.

Lima, A., Bernardes, M., Azevedo, R., et al. (2015). "Pharmacogenomics of Methotrexate Membrane Transport Pathway: Can Clinical Response to Methotrexate in Rheumatoid Arthritis Be Predicted?" Int J Mol Sci **16**(6): 13760-13780.

Lima, A., Bernardes, M., Azevedo, R., Seabra, V., Medeiros, R. (2016). "Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome." Pharmacogenomics **17**(15): 1649-1674.

Lima A, M. J., Bernardes M, Sousa H, Azevedo R, Seabra V, Medeiros R. (2014b). "Prediction of methotrexate clinical response in Portuguese rheumatoid arthritis patients: implication of MTHFR rs1801133 and ATIC rs4673993 polymorphisms." Biomed Res Int **2014**: 368681-368681.

Lima, A., Seabra, V., Bernardes, M., et al. (2014c). "Role of key TYMS polymorphisms on methotrexate therapeutic outcome in portuguese rheumatoid arthritis patients." PLoS One **9**(10): e108165.

Lindhardsen, J., Ahlehoff, O., Gislason, GH., et al. (2012). "Risk of atrial fibrillation and stroke in rheumatoid arthritis: Danish nationwide cohort study." MBMJ **344**: e1257.

Lindvall, B., Bengtsson, A., Ernerudh, J., Eriksson, P. (2002). "Subclinical myositis is common in primary Sjögren's syndrome and is not related to muscle pain." J Rheumatol **29**(4): 717-725.

- Lineker, S., Badley, E., Charles, C., et al. (1999). "Defining morning stiffness in rheumatoid arthritis." J Rheumatol **26**(5): 1052-1057.
- Linn-Rasker, S., van der Helm-van Mil, AH., van Gaalen, FA., et al. (2006). "Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles." Ann. Rheum. Dis **65**: 366-371.
- Linos, A., Worthington, JW., O'Fallon, WM., Kurland, LT. (1980). "The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota: a study of incidence, prevalence, and mortality." Am J Epidemiol. **111**(1): 87-98.
- Liu, M., Sun, H., Wang, X., et al (2004). "Association of increased expression of macrophage elastase (matrix metalloproteinase 12) with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **50**(10): 3112-3117.
- Liu, X., Zeng, B., Zhang, J., et al (2016). "Role of the gut microbiome in modulating arthritis progression in mice." Sci Rep **6**: 30594.
- Liu, Y., Linsley, P. S. (1992). "Costimulation of T-cell growth." Current opinion in immunology **4**(3): 265-270.
- Llorente, L., Richaud-Patin, Y., Díaz-Borjón, A., et al. (2000). "Multidrug resistance-1 (MDR-1) in rheumatic autoimmune disorders. Part I: increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from rheumatoid arthritis patients might influence disease outcome." Joint Bone Spine **67**(1): 30-39.
- Lopez-Olivo, M., Siddhanamatha, HR., Shea, B., et al. (2014). "Methotrexate for treating rheumatoid arthritis." Cochrane Database Syst Rev **CD000957**.
- Lu, B., Hiraki, LT., Sparks, JA., et al. (2014). "Being overweight or obese and risk of developing rheumatoid arthritis among women: a prospective cohort study." Ann Rheum Dis **73**(1): 1914–1922.
- Lu, M., Yu, CL., Yu, HC., et al. (2016). "Anti-citrullinated protein antibodies promote apoptosis of mature human Saos-2 osteoblasts via cell-surface binding to citrullinated heat shock protein 60." Immunobiology **221**(1): 76-83.
- Lundberg, K., Bengtsson, C., Kharlamova, N., et al. (2013). "Genetic and environmental determinants for disease risk in subsets of rheumatoid arthritis defined by the anticitrullinated protein/peptide antibody fine specificity profile." Ann Rheum Dis **72**: 652–658.
- Lundberg, K., Wegner, N., Yucel-Lindberg, T., Venables, PJ. (2010). "Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection." Nat Rev Rheumatol **6**: 727–730.
- Luukkainen, R., Kajander, A., Isomäki, H. (1977). "Effect of gold on progression of erosions in rheumatoid arthritis: better results with early treatment." Scand J Rheumatol **6**(3): 189-192.
- MacGregor, A., Snieder, H., et al. (2000). "Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twings." Arthritis Rheum **43**: 30-37.
- Maetzel, A., Wong, A., Strand, V., et al. (2000). "Meta-analysis of treatment termination rates among rheumatoid arthritis patients receiving disease-modifying anti-rheumatic drugs." Rheumatology **39**: 975–981.

- Mahdi, H., Fisher, BA., Källberg, H., et al. (2009). "Specific interaction between genotype, smoking and autoimmunity to citrullinated α -enolase in the etiology of rheumatoid arthritis." Nat Genet **41**: 1319–1324.
- Maitland-van der Zee, A., de Boer, A., Leufkens, HG. (2000). "The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics." Eur J Pharmacol **410**(2): 121-130.
- Mäkisara, G., Mäkisara, P. (1982). "Prognosis of functional capacity and work capacity in rheumatoid arthritis." Clin Rheumatol **1**(2): 117-125.
- Makrygiannakis, D., af Klint, E., Lundberg, IE., et al (2006). "Citrullination is an inflammation-dependent process." Ann Rheum Dis **65**(9): 1219-1222.
- Makrygiannakis, D., Hermansson, M., Ulfgren, AK., et al (2008). "Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells." Ann Rheum Dis **67**(10): 1488-1492.
- Maksymowych, W., Suarez-Almazor, M. E., Buenviaje, H., et al (2002). "HLA and cytokine gene polymorphisms in relation to occurrence of palindromic rheumatism and its progression to rheumatoid arthritis." J Rheumatol **29**(11): 2319-2326.
- Malik, F., Ranganathan, P. (2012). "Metaanalysis of 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase (ATIC) 347C>G polymorphism affecting methotrexate efficacy and toxicity in rheumatoid arthritis patients." Arthritis Rheumatism **64**: S154.
- Malik, F., Ranganathan, P. (2013). "Methotrexate pharmacogenetics in rheumatoid arthritis: A status report." Pharmacogenomics **14**(3): 305-314.
- Marigliano, B., Soriano, A., Margiotta, D., Vadaacca, M., & Afeltra, A. (2013). "Lung involvement in connective tissue diseases: a comprehensive review and a focus on rheumatoid arthritis." Autoimmunity reviews **12**(11): 1076-1084.
- Marotte, H., Farge, P., Gaudin, P., et al. (2006). "The association between periodontal disease and joint destruction in rheumatoid arthritis extends the link between the HLA-DR shared epitope and severity of bone destruction." Ann Rheum Dis **65**(7): 905-909.
- Masdottir, B., Jonsson, T., Manfreðsdóttir, V., Víkingsson, A., et al. (2000). "Smoking, rheumatoid factor isotypes and severity of rheumatoid arthritis." Rheumatology **39**(11): 1202-1205.
- Masi, A. (1983). "Articular patterns in the early course of rheumatoid arthritis." Am J Med **75**(6): 16-26.
- Matcham, F., Rayner, L., Steer, S., Hotopf, M. (2013). "The prevalence of depression in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis." Rheumatology (Oxford) **52**(12): 2136-2148.
- Matsuyama, N., Ashizawa, K., Okimoto, T., et al. (2003). "Pulmonary lesions associated with Sjögren's syndrome: radiographic and CT findings." Br J Radiol **76**(912): 880-884.
- Mattey, D., Dawes, PT., Fisher, J., et al. (2002). "Nodular disease in rheumatoid arthritis: Association with cigarette smoking and HLA-DRB1/TNF gene interaction." J Rheumatol **29**(11): 2313-2318.

- Mayer, J., Messner, RP., Kaplan, RJ. (1976). "Brain stem compression in rheumatoid arthritis." JAMA **236**(18): 2094-2095.
- McDougall, R., Sibley, J., Haga, M., Russell, A. (1994). "Outcome in patients with rheumatoid arthritis receiving prednisone compared to matched controls." J Rheumatol **21**(7): 1207-1213.
- McGavin, D., Williamson, J., Forrester, JV., et al. (1976). "Episcleritis and scleritis. A study of their clinical manifestations and association with rheumatoid arthritis." Br J Ophthalmol **60**(3): 192-226.
- McGuigan, L., Burke, D., Fleming, A. (1983). "Tarsal tunnel syndrome and peripheral neuropathy in rheumatoid disease." Ann Rheum Dis **42**(2): 128-131.
- McInnes, I., Buckley, CD., Isaacs, JD. (2016). "Cytokines in rheumatoid arthritis - shaping the immunological landscape." Nat Rev Rheumatol **12**(1): 63-68.
- McInnes, I., O'Dell, JR. (2010). "State-of-the-art: rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **69**(11): 1898-1906.
- McInnes, I., Schett, G. (2011). "The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis." N Engl J Med **365**: 2205-2219.
- McQueen, F., Benton, N., Perry, D., et al. (2003). "Bone edema scored on magnetic resonance imaging scans of the dominant carpus at presentation predicts radiographic joint damage of the hands and feet six years later in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **48**(7): 1814-1827.
- Mena, J., Salazar-Paramo, M., Gonzalez-Lopez, L., Gamez-Nava, JI., et al. (2011). "Polymorphisms C677T and A1298C in the MTHFR gene in Mexican patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate: Implication with elevation of transaminases." Pharmacogenomics Journal **11**(4): 287-291.
- Merlino, L., Curtis, J., Mikuls, TR., et al. (2004). "Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study." Arthritis Rheum **50**: 72-77.
- Mikkelsen, T., Thorn, CF., Yang, JJ., et al. (2011). "PharmGKB summary: Methotrexate pathway." Pharmacogenetics and Genomics **21**(10): 679-686.
- Mikuls, T. (2010). "Help stop tooth decay...and prevent RA?" J Rheumatol **37**(6): 1083-1085.
- Mikuls, T., Cerhan, JR., Criswell, LA., et al. (2002). "Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study." Arthritis Rheum **46**: 83-91.
- Mikuls, T., Hughes, LB., Westfall, AO., et al. (2008). "Cigarette smoking, disease severity and autoantibody expression in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **67**(11): 1529-1534.
- Milic, V., Jekic, B., Lukovic, L., et al. (2012). "Association of dihydrofolate reductase (DHFR) - 317AA genotype with poor response to methotrexate in patients with rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **30**(2): 178-183.
- Molenaar, E., Voskuyl, AE., Dinant, HJ., et al. (2004). "Progression of radiologic damage in

- patients with rheumatoid arthritis in clinical remission." Arthritis Rheum **50**(1): 36-42.
- Molloy, E., Calabrese, LH. (2009). "Progressive multifocal leukoencephalopathy: a national estimate of frequency in systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases." Arthritis Rheum **60**(12): 3761-3765.
- Montesinos, M., Desai, A., Delano, D., et al. (2003). "Adenosine A2A or A3 receptors are required for inhibition of inflammation by methotrexate and its analog MX-68." Arthritis Rheum **48**(1): 240-247.
- Montesinos, M., Yap, JS., Desai, A., et al. (2000). "Reversal of the antiinflammatory effects of methotrexate by the nonselective adenosine receptor antagonists theophylline and caffeine: evidence that the antiinflammatory effects of methotrexate are mediated via multiple adenosine receptors in rat adjuvant arthritis." Arthritis Rheum **43**(3): 656-663.
- Morgan, A., Thomson, W., Martin, SG., et al. (2009). "Reevaluation of the interaction between HLA-DRB1 shared epitope alleles, PTPN22, and smoking in determining susceptibility to autoantibody-positive and autoantibody-negative rheumatoid arthritis in a large UK Caucasian population." Arthritis Rheum. **60**(9): 2565–2576.
- Morgan, M., Al-Shaarawy, N., Martin, S., et al. (2014). "MTHFR functional genetic variation and methotrexate treatment response in rheumatoid arthritis: a meta-analysis." Pharmacogenomics **15**(4): 467-475.
- Morgan, S., Baggot, J., Vaughn, WH., Austin, JS., et al. (1994). "Supplementation with folic acid during methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: a double-blind, placebo-controlled trial." Ann Intern Med **191**: 833-841.
- Morgan, S., Oster, RA., Lee, JY., Alarcón, GS., Baggott, JE. (2004). "The effect of folic acid and folinic acid supplements on purine metabolism in methotrexate-treated rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **50**(10): 3104-3111.
- Mori, K., Iijima, M., Koike, H., et al. (2005). "The wide spectrum of clinical manifestations in Sjögren's syndrome-associated neuropathy." Brain **128**(11): 2518-2534.
- Morisaki, T., Gross, M., Morisaki, H., et al. (1992). "Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(14): 6457-6461.
- Mottonen, T., Hannonen, P., Korpela, M., et al. (2002). "Delay to institution of therapy and induction of remission using single-drug or combination disease-modifying antirheumatic drug therapy in early rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **46**: 894–898.
- Möttönen, T., Hannonen, P., Leirisalo-Repo, M., et al. (1999). "Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. FIN-RACo trial group." Lancet **353**(9164): 1568-1573.
- Moya, P., Salazar, J., Arranz, MJ., Díaz-Torné, C., et al. (2016). "Methotrexate pharmacokinetic genetic variants are associated with outcome in rheumatoid arthritis patients." Pharmacogenomics **17**(1): 25-29.
- Muralidharan, N., Antony, PT., Jain, VK., Mariaselvam, CM., Negi, VS. (2015). "Multidrug resistance 1 (MDR1) 3435C>T gene polymorphism influences the clinical phenotype and methotrexate-induced adverse events in South Indian Tamil rheumatoid arthritis." Eur Rev Med

Pharmacol Sci **71**(8): 959-965.

Muralidharan, N., Mariaselvam, CM., Mithun, CB., Negi, VS. (2016). "Reduced folate carrier-1 80G > A gene polymorphism is not associated with methotrexate treatment response in South Indian Tamils with rheumatoid arthritis." Clin Rheumatol **35**(4): 879-885.

Myasoedova, E., Crowson, CS., Kremers, HM., et al. (2010). "Is the incidence of rheumatoid arthritis rising?: results from Olmsted County, Minnesota, 1955-2007. ." Arthritis Rheum **62**(6): 1576-1582.

Myasoedova, E., Crowson, CS., Turesson, C., et al. (2011). "Incidence of extraarticular rheumatoid arthritis in Olmsted County, Minnesota, in 1995-2007 versus 1985-1994: a population-based study." J Rheumatol **38**(6): 983-989.

Myasoedova, E., Davis, JM III., Crowson, CS., Gabriel, SE. (2010b). "Epidemiology of rheumatoid arthritis: rheumatoid arthritis and mortality." Curr Rheumatol Rep **12**(5): 379--385.

Nakano, K. (1975). "Neurologic complications of rheumatoid arthritis." Orthop Clin North Am **6**(3): 861-880.

Nakano, K. (1975b). "The entrapment neuropathies of rheumatoid arthritis." Orthop Clin North Am **6**(3): 837-860.

Nam, J., Hunt, L., Hensor, EM., Emery, P. (2016). "Enriching case selection for imminent RA: the use of anti-CCP antibodies in individuals with new non-specific musculoskeletal symptoms - a cohort study." Ann Rheum Dis **75**(8): 1452-1456.

Narváez, J., Narváez, J., Serrallonga, M., et al. (2008). "Cervical spine involvement in rheumatoid arthritis: correlation between neurological manifestations and magnetic resonance imaging findings." Rheumatology (Oxford) **47**(12): 1814-1819.

Nathan, C., Ding, A. (2010). "Nonresolving inflammation." Cell **140**: 871--882.

Nelson, J., Hughes, KA., Smith, AG., et al. (1993). "Maternal-fetal disparity in HLA class II alloantigens and the pregnancy-induced amelioration of rheumatoid arthritis." N Engl J Med **329**(7): 466-471.

Nelson, J., Mickelson, E., Masewicz, S., et al. (1991). "Dw14(DRB1*0404) is a Dw4-dependent risk factor for rheumatoid arthritis. Rethinking the "shared epitope" hypothesis." Tissue Antigens **38**: 145--151.

Neovius, M., Simard, JF., Askling, J., group As. (2011). "Nationwide prevalence of rheumatoid arthritis and penetration of disease-modifying drugs in Sweden." Ann. Rheum. Dis. **70**: 624-629.

Nepom, G., Holbeck, SL., Seyfried, CE., Wilske, KR., Nepom, BS. (1986). "Identification of HLA-Dw14 genes in DR4+ rheumatoid arthritis." Lancet **328**: 1002--1005.

Nesher, G., Moore, TL. (1990). "The in vitro effects of methotrexate on peripheral blood mononuclear cells: modulation by methyl donors and spermidine." Arthritis Rheum **33**: 954-959.

Nielen, M., van Schaardenburg, D., Reesink, HW., et al. (2004). "Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors." Arthritis Rheum **50**: 380--386.

- Nishimura, K., Sugiyama, D., Kogata, Y., et al. (2007). "Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis." Ann Intern Med **146**: 797–808.
- Nissilä, M., Isomäki, H., Kaarela, K., et al. (1983). "Prognosis of inflammatory joint diseases. A three-year follow-up study." Scand J Rheumatol **13**(1): 33-38.
- Nissim, A., Winyard, PG., Corrigall, V., et al. (2005). "Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint." Arthritis Rheum **52**(12): 3829-3838.
- Nyhäll-Wåhlin, B., Jacobsson, LT., Petersson, IF., et al. (2006). "Smoking is a strong risk factor for rheumatoid nodules in early rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **65**(5): 601-606.
- Nyhäll-Wåhlin, B., Turesson, C., Jacobsson, LT., et al. (2011). "The presence of rheumatoid nodules at early rheumatoid arthritis diagnosis is a sign of extra-articular disease and predicts radiographic progression of joint destruction over 5 years." Scand J Rheumatol **40**(2): 81-87.
- O'Dwyer, D., Armstrong, ME., Cooke, G., et al. (2013). "Rheumatoid arthritis (RA) associated interstitial lung disease (ILD)." Eur J Int Med **24**(7): 597-603.
- Okada, Y., Terao, C., Ikari, K., et al. (2012). "Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population." Nat Genet **44**: 511–516.
- Okada, Y., Wu, D., Trynka, G., et al. (2014). "Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery." Nature **506**(7488): 376–381.
- Ongaro, A., De Mattei, M., Della Porta, MG., et al. (2009). "Gene polymorphisms in folate metabolizing enzymes in adult acute lymphoblastic leukemia: effects on methotrexate-related toxicity and survival." Haematologica **94**(10): 1391-1398.
- Ormseth, M., Lipson, A., Alexopoulos, N., et al. (2013). "Association of epicardial adipose tissue with cardiometabolic risk and metabolic syndrome in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **65**(9): 1410-1415.
- Ørstavik, R., Haugeberg, G., Mowinckel, P., et al. (2004). "Vertebral deformities in rheumatoid arthritis: a comparison with population-based controls." Arch Intern Med **164**(4): 420-425.
- Ossipova, E., Cerqueira, CF., Reed, E., et al. (2014). "Affinity purified anti-citrullinated protein/peptide antibodies target antigens expressed in the rheumatoid joint." Arthritis Res Ther **16**(4): R167.
- Owen, S., Hider, SL., Martin, P., et al. (2013). "Genetic polymorphisms in key methotrexate pathway genes are associated with response to treatment in rheumatoid arthritis patients." Pharmacogenomics Journal **13**(3): 227-234.
- Owen, S., Lunt, M., Bowes, J., et al (2013b). "MTHFR gene polymorphisms and outcome of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis: Analysis of key polymorphisms and meta-analysis of C677T and A1298C polymorphisms." Pharmacogenomics Journal **13**(2): 137-147.
- Paimela, L., Gripenberg, M., Kurki, P., Leirisalo-Repo, M. (1992). "Antikeratin antibodies: diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **51**: 743–746.

- Palm, T., Kaarela, K., Hakala, MS., et al. (2002). "Need and sequence of large joint replacements in rheumatoid arthritis. A 25-year follow-up study." Clin Exp Rheumatol **20**(3): 392-394.
- Pan, X., Gu, JQ., Shan, ZY. (2015). "Increased risk of thyroid autoimmunity in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis." Endocrine **50**(1): 79-86.
- Patel, R., Filer, A., Barone, F. Buckley, CD. (2014). "Stroma: fertile soil for inflammation." Best Pract Res Clin Rheumatol **28**(4): 565-576.
- Pattison, D., Harrison, RA., Symmons, DP. (2004). "The role of diet in susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review." J Rheumatol **31**: 1310–1319.
- Pawlik, A., Wrzesniewska, J., Fiedorowicz-Fabrycy, I., Gawronska-Szklarz, B. (2004). "The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis." Int J Clin Pharmacol Ther **42**(9): 496-503.
- Pedersen, J., Svendsen, AJ., Horslev-Petersen, K. (2007). "Incidence of rheumatoid arthritis in the Southern part of Denmark from 1995 to 2001." Open Rheumatol J **1**: 18-23.
- Pedersen, M., Jacobsen, S., Garred, P., et al. (2007b). "Strong combined geneenvironment effects in anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis: a nationwide casecontrol study in Denmark." Arthritis Rheum **56**: 1446–1453.
- Pedersen, M., Jacobsen, S., Klarlund, M., et al. (2006). "Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides." Arthritis Res Ther **8**: R133.
- Pedersen, M., Jacobsen, S., Klarlund, M., Frisch, M. (2006b). "Socioeconomic status and risk of rheumatoid arthritis: a Danish case-control study." J Rheumatol **33**: 1069–1074.
- Pertovaara, M., Korpela, M., Uusitalo, H-, et al. (1999). "Clinical follow up study of 87 patients with sicca symptoms (dryness of eyes or mouth, or both)." Ann Rheum Dis **58**(7): 423-427.
- Peschken, C., Esdaile, JM. (1999). "Rheumatic diseases in North America's indigenous peoples." Semin Arthritis Rheum. **28**(6): 368-391.
- Pikwer, M., Bergstrom, U., Nilsson, JA., et al. (2009). "Breast feeding, but not use of oral contraceptives, is associated with a reduced risk of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **68**: 526–530.
- Pinals, R., Baum J, Bland J, et al. (1982). "Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis." Bull Rheum Dis **32**(1): 7-10.
- Pincus, T., Callahan, LF. (1989). "Reassessment of twelve traditional paradigms concerning the diagnosis, prevalence, morbidity and mortality of rheumatoid arthritis." Scand J Rheumatol **18**(Suppl 79): 67-96.
- Pincus, T., Callahan, LF. (1990). "Remodeling the pyramid or remodeling the paradigms concerning rheumatoid arthritis: lessons from Hodgkin's disease and coronary artery disease." J Rheumatol **17**(12): 1582-1585.
- Pincus, T., Callahan, LF., Sale, WG., et al. (1984). "Severe functional declines, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years."

Arthritis Rheum **27**: 864–872.

Pincus, T., Castrejón, I. (2013). "Evidence that the strategy is more important than the agent to treat rheumatoid arthritis. Data from clinical trials of combinations of non-biologic DMARDs, with protocol-driven intensification of therapy for tight control or treat-to-target." Bull Hosp Jt Dis **71**(Suppl 1): S33-S40.

Pincus, T., Ferraccioli, G., Sokka, T., et al. (2002). "Evidence from clinical trials and longterm observational studies that disease-modifying antirheumatic drugs slow radiographic progression in rheumatoid arthritis: updating a 1983 review." Rheumatology **41**(12): 1346-1356.

Pincus, T., Sokka, T., Kautiainen, H. (2005). "Patients seen for standard rheumatoid arthritis care have significantly better articular, radiographic, laboratory, and functional status in 2000 than in 1985." Arthritis Rheum **52**(4): 1009-1019.

Pincus, T., Sokka, T., Kavanaugh, A. (2004). "Relative versus absolute goals of therapies for RA: ACR 20 or ACR 50 responses versus target values for 'near remission' of DAS or single measures." Clin Exp Rheumatol **22**(Suppl 35): S50.

Pincus, T., Swearingen, C.J., Bergman, M.J., et al. (2010). "RAPID3 (Routine Assessment of Patient Index Data) on an MDHAQ (Multidimensional Health Assessment Questionnaire): agreement with DAS28 (Disease Activity Score) and CDAI (Clinical Disease Activity Index) activity categories, scored in five versus more than ninety seconds." Arthritis Care Res (Hoboken) **62**(2): 181-189.

Pincus, T., Yazici, Y., Sokka, T., Aletaha, D., Smolen, J.S. (2003). "Methotrexate as the" anchor drug" for the treatment of early rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **21**(5 Suppl 31): S179-185.

Piper, K., Hanssen, A.D., Lewallen, D.G., et al. (2006). "Lack of detection of human retrovirus-5 proviral DNA in synovial tissue and blood specimens from individuals with rheumatoid arthritis or osteoarthritis." Arthritis Rheum **55**(1): 123-125.

Pladevall-Vila, M., Delclos, G.L, Varas, C., et al. (1996). "Controversy of oral contraceptives and risk of rheumatoid arthritis: meta-analysis of conflicting studies and review of conflicting metaanalyses with special emphasis on analysis of heterogeneity." Am J Epidemiol. **144**: 1–14.

Plant, D., Thomson, W., Lunt, M., et al. (2011). "The role of rheumatoid arthritis genetic susceptibility markers in the prediction of erosive disease in patients with early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register." Rheumatology (Oxford) **50**: 78–84.

Plaza-Plaza, J., Aguilera, M., Canadas-Garre, M., et al. (2012). "Pharmacogenetic polymorphisms contributing to toxicity induced by methotrexate in the southern Spanish population with rheumatoid arthritis." OMICS **16**(11): 589-595.

Puolakka, K., Kautiainen, H., Möttönen, T., et al. (2004). "Impact of initial aggressive drug treatment with a combination of disease-modifying antirheumatic drugs on the development of work disability in early rheumatoid arthritis: a five-year randomized followup trial." Arthritis Rheum **50**(1): 55-62.

Puolakka, K., Kautiainen, H., Möttönen, T., et al. (2005). "Early suppression of disease activity is essential for maintenance of work capacity in patients with recentonset rheumatoid arthritis: five-year experience from the FIN-RACo trial." Arthritis Rheum **52**(1): 36-41.

Puolakka, T., Pajamaki, K.J., Halonen, P.J, et al. (2001). "The Finnish Arthroplasty Register: report

of the hip register." Acta Orthop Scand **72**(5): 433-441.

Qiu, A., Jansen, M, Sakaris, A., Min, SH., et al. (2006). "Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption." Cell **127**(5): 917-928.

Qiu, Q., Huang, J., Lin, Y., et al (2017). "Polymorphisms and pharmacogenomics for the toxicity of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis." Medicine (Baltimore) **96**(11): e6337.

Qiu, Q., Huang, J., Shu, X., et al (2017b). "Polymorphisms and Pharmacogenomics for the Clinical Efficacy of Methotrexate in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-analysis." Sci Rep **7**: 44015.

Ramos-Casals, M., Tzioufas, AG., Font, J. (2005). "Primary Sjögren's syndrome: new clinical and therapeutic concepts." Ann Rheum Dis **64**(3): 347-354.

Ranganathan, P. (2006). "Association of methotrexate effects and single-nucleotide polymorphisms in the folate pathway in rheumatoid arthritis: comment on the article by Wessels et al." Arthritis Rheum **54**(10): 3372-3372.

Ranganathan, P. (2008). "Pharmacogenomics in rheumatoid arthritis." Methods Mol Biol **448**: 413-435.

Ranganathan, P., Culverhouse, R., Marsh, S., Mody, A., et al. (2008). "Methotrexate (MTX) pathway gene polymorphisms and their effects on MTX toxicity in Caucasian and African American patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **35**(4): 572-579.

Ranganathan, P., McLeod, HL. (2006b). "Methotrexate pharmacogenetics: the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **54**(5): 1366-1377.

Rantalaiho, V., Korpela, M., Hannonen, P., et al. (2009). "The good initial response to therapy with a combination of traditional disease-modifying antirheumatic drugs is sustained over time: the eleven-year results of the Finnish rheumatoid arthritis combination therapy trial." Arthritis Rheum **60**(5): 1222-1231.

Rantapaa-Dahlqvist, S., de Jong, BA., Berglin, E., et al. (2003). "Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **48**: 2741-2749.

Rathbun, A., Reed, GW., Harrold, LR. (2013). "The temporal relationship between depression and rheumatoid arthritis disease activity, treatment persistence and response: a systematic review." Rheumatology (Oxford) **52**(10): 1785-1794.

Raychaudhuri, S., Sandor, C., Stahl, EA., et al. (2012). "Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis." Nat Genet **44**: 291–296.

Reiss, A., Carsons, SE., Anwar, K., et al. (2008). "Atheroprotective effects of methotrexate on reverse cholesterol transport proteins and foam cell transformation in human THP-1 monocyte/macrophages." Arthritis Rheum **58**(12): 3675-3683.

Remmers, E., Plenge, RM., Lee, AT., et al. (2007). "STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus." N Engl J Med **357**: 977–986.

- Rezaei, H., Saevarsdottir, S., Forslind, K., et al. (2012). "In early rheumatoid arthritis, patients with a good initial response to methotrexate have excellent 2-year clinical outcomes, but radiological progression is not fully prevented: data from the methotrexate responders population in the SWEFOT trial." Ann Rheum Dis **71**(2): 186-191.
- Rich, E., Moreland, LW., Alarcón, GS. (1999). "Paucity of radiographic progression in rheumatoid arthritis treated with methotrexate as the first disease modifying antirheumatic drug." J Rheumatol **26**(2): 259-261.
- Riksen, N., Barrera, P., van den Broek, PH., et al. (2006). "Methotrexate modulates the kinetics of adenosine in humans in vivo." Ann Rheum Dis **65**(4): 465-470.
- Roden, D., Altman, RB., Benowitz, NL., et al. (2006). "Pharmacogenomics: challenges and opportunities." Ann Intern Med **145**: 749-757.
- Roldán, J., Del Rincón, I., Escalante, A. (2006). "Loss of cortical bone from the metacarpal diaphysis in patients with rheumatoid arthritis: independent effects of systemic inflammation and glucocorticoids." J Rheumatol **33**(3): 508-516.
- Romao, V., Canhao, H., Fonseca, JE. (2013). "Old drugs, old problems: Where do we stand in prediction of rheumatoid arthritis responsiveness to methotrexate and other synthetic DMARDs?" BMC Medicine **11**(1): 17-41.
- Rombouts, Y., Ewing, E., van de Stadt, LA., et al. (2015). "Anticitrullinated protein antibodies acquire a pro-inflammatory Fc glycosylation phenotype prior to the onset of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **74**: 234-241.
- Rose, H., Ragan, C., Pearce, E., Lipman, MO. (1948). "Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis." Proc Soc Exp Biol Med **68**(1): 1-6.
- Rosell, M., Wesley, AM., Rydin, K., Klareskog, L., Alfredsson, L. (2009). "Dietary fish and fish oil and the risk of rheumatoid arthritis." Epidemiology **20**: 896-901.
- Rosenstein, E., Greenwald, RA., Kushner, LJ., Weissmann, G. (2004). "Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis." Inflammation **28**: 311-318.
- Saag, K., Cerhan, JR., Kolluri, S., et al. (1997). "Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity." Ann Rheum Dis **56**(8): 463-469.
- Saag, K., Teng, GG., Patkar, NM., et al. (2008). "American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **59**(6): 762-784.
- Saal, J., Krimmel, M., Steidle, M., et al. (1999). "Synovial Epstein-Barr virus infection increases the risk of rheumatoid arthritis in individuals with the shared HLA-DR4 epitope." Arthritis Rheum **42**(7): 1485-1496.
- Saevarsdottir, S., Wedrén, S., Seddighzadeh, M., et al. (2011). "Patients with early rheumatoid arthritis who smoke are less likely to respond to treatment with methotrexate and tumor necrosis factor inhibitors: observations from the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis and the Swedish Rheumatology Register cohorts." Arthritis Rheum **63**(1): 26-36.

- Salazar, J., Moya, P., Altés, A., et al. (2014). "Polymorphisms in genes involved in the mechanism of action of methotrexate: are they associated with outcome in rheumatoid arthritis patients?" Pharmacogenomics **15**(8): 1079-1090.
- Saleh, M., Irshaid, YM., Mustafa, KN. (2015). "Methylene tetrahydrofolate reductase genotypes frequencies: association with toxicity and response to methotrexate in rheumatoid arthritis patients." Int J Clin Pharmacol Ther **53**(2): 154-162.
- Salliot, C., van der Heijde, D. (2008). "Long-term safety of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature research." Ann Rheum Dis **68**(7): 1100-1104.
- Samara, S., Irshaid, YM., Mustafa, KN. (2014). "Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients." Int J Clin Pharmacol Ther **52**(9): 746-755.
- Sandberg, M., Wedren, S., Klareskog, L., et al. (2014). "Patients with regular physical activity before onset of rheumatoid arthritis present with milder disease." Ann Rheum Dis **73**(8): 1541-1544.
- Saunders, S., Capell, HA., Stirling, A., et al. (2008). "Triple therapy in early active rheumatoid arthritis: a randomized, single-blind, controlled trial comparing step-up and parallel treatment strategies." Arthritis Rheumatol **58**(5): 1310-1317.
- Sayah, A., English 3rd, JC. (2005). "Rheumatoid arthritis: a review of the cutaneous manifestations." J Am Acad Dermatol **53**(2): 191-209.
- Scally, S., Petersen, J., Law, SC., et al. (2013). "A molecular basis for the association of the HLA-DRB1 locus, citrullination, and rheumatoid arthritis." J Exp Med **210**(12): 2569–2582.
- Schaefferbeke, T., Renaudin, H., Clerc, M., et al. (1997). "Systematic detection of mycoplasmas by culture and polymerase chain reaction (PCR) procedures in 209 synovial fluid samples." Br J Rheumatol **36**(3): 310-314.
- Schellekens, G., de Jong, BA., van den Hoogen, FH., van de Putte, LB., van Venrooij, WJ. (1998). "Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies." J Clin Invest **101**(1): 273–281.
- Schellekens, G., Visser, H., de Jong, BA., et al. (2000). "The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide." Arthritis Rheum **43**(1): 155-163.
- Scher, J., Sczesnak, A., Longman, RS., et al. (2013). "Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis." eLife **2**: e01202.
- Scherer, H., van der Woude, D., Willemze, A., et al. (2011). "Distinct ACPA fine specificities, formed under the influence of HLA shared epitope alleles, have no effect on radiographic joint damage in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **70**(8): 1461–1464.
- Schipper, L., van Hulst, LT., Grol, R., et al. (2010). "Meta-analysis of tight control strategies in rheumatoid arthritis: protocolized treatment has additional value with respect to the clinical outcome." Rheumatology (Oxford) **49**(11): 2154-2164.
- Schnabel, A., Reinhold-Keller, E., Willmann, V., Gross, WL. (1994). "Tolerability of methotrexate starting with 15 or 25 mg/week for rheumatoid arthritis." Rheumatol Int **14**(1): 33-38.

- Schoels, M., Knevel, R., Aletaha, D., et al. (2010). "Evidence for treating rheumatoid arthritis to target: results of a systematic literature search." Ann Rheum Dis **69**(4): 638-643.
- Scott, D., Bacon, PA., Tribe, CR. (1981). "Systemic rheumatoid vasculitis: a clinical and laboratory study of 50 cases." Medicine (Baltimore) **60**(4): 288-297.
- Scott, D., Grindulis, KA., Struthers, GR., et al. (1984). "Progression of radiological changes in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **43**(1): 8-17.
- Scott, D., Wolfe, F., Huizinga, TW. (2010). "Rheumatoid arthritis." Lancet **376**(9746): 1094-1108.
- Scott, I., Steer, S., Lewis, CM., Cope, AP. (2011). "Precipitating and perpetuating factors of rheumatoid arthritis immunopathology: linking the triad of genetic predisposition, environmental risk factors and autoimmunity to disease pathogenesis." Best Pract Res Clin Rheumatol **25**(4): 447-468.
- Seidl, C., Donner, H., Fischer, B., et al. (1998). "CTLA4 codon 17 dimorphism in patients with rheumatoid arthritis." Tissue Antigens **51**(1): 62-66.
- Senapati, S., Singh, S., Das, M., et al. (2014). "Genome-wide analysis of methotrexate pharmacogenomics in rheumatoid arthritis shows multiple novel risk variants and leads for TYMS regulation." Pharmacogenet Genomics. **24**(4): 211-219.
- Shahouri, S., Michaud, K., Mikuls, TR., et al. (2011). "Remission of rheumatoid arthritis in clinical practice: application of the American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism 2011 remission criteria." Arthritis Rheumatism **63**(11): 3204-3215.
- Shao, W., Yuan, Y., Li, Y. (2017). "Association Between MTHFR C677T Polymorphism and Methotrexate Treatment Outcome in Rheumatoid Arthritis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis." Genet Test Mol Biomarkers **21**(5): 275-285.
- Sharma, S., Das, M., Kumar, A., et al. (2009). "Purine biosynthetic pathway genes and methotrexate response in rheumatoid arthritis patients among north Indians." Pharmacogenetics and Genomics **19**(10): 823-828.
- Sharma, S., Das, M., Kumar, A., Marwaha, V., et al. (2008). "Interaction of genes from influx-metabolism-efflux pathway and their influence on methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis patients among Indians." Pharmacogenetics and Genomics **18**(12): 1041-1049.
- Shi, J., van de Stadt, LA., Levarht, EW., et al. (2014). "Anticarbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **73**: 780-783.
- Shidara K, H. D., Inoue E, Yamada T, et al (2010). "Incidence of and risk factors for interstitial pneumonia in patients with rheumatoid arthritis in a large Japanese observational cohort, IORRA." Mod Rheumatol **20**(3): 280-286.
- Shitara, Y., Horie, T., Sugiyama, Y. (2006). "Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution." Eur J Pharm Sci **27**(5): 425-446.
- Shmerling, R., Delbanco, TL. (1991). "The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility. ." Am. J. Med. **91**(5): 528-534.
- Sigal, L. (1987). "The neurologic presentation of vasculitic and rheumatologic syndromes. A

review." Medicine (Baltimore) **66**(3): 157-180.

Silman, A., MacGregor, AJ., Thomson, W., et al. (1993). "Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study." Br J Rheumatol **32**(10): 903-907.

Silman, A., Newman, J, MacGregor, AJ. (1996). "Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins." Arthritis Rheum **39**(5): 732-735.

Singh, J., Furst, DE., Bharat, A., et al. (2012). "2012 update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis." Arthritis Care Res (Hoboken) **64**(5): 625-639.

Singh, J., Saag, KG., Bridges, SL., et al. (2016). "2015 American College of Rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **68**(1): 1-26.

Singh, U., Singh, S., Singh, NK., Verma, PK., Singh, S. (2011). "Anticyclic citrullinated peptide autoantibodies in systemic lupus erythematosus." Rheumatol Int **31**(6): 765–767.

Skopouli, F., Barbatis, C., Moutsopoulos, HM. (1994). "Liver involvement in primary Sjögren's syndrome." Br J Rheumatol **33**(8): 745-748.

Slot, O. (2001). "Changes in plasma homocysteine in arthritis patients starting treatment with low-dose methotrexate subsequently supplemented with folic acid." Scand J Rheumatol **30**(5): 305-307.

Smolen, J., Aletaha, D., Bijlsma, JW., et al. (2010). "Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force." Ann Rheum Dis **69**(4): 631-637.

Smolen, J., Aletaha, D., Steiner, G. (2009). "Does damage cause inflammation? Revisiting the link between joint damage and inflammation." Ann Rheum Dis **68**(2): 159-162.

Smolen, J., Breedveld, FC., Burmester, GR., et al. (2016). "Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force." Ann Rheum Dis **75**(1): 3-15.

Smolen, J., Breedveld, FC., Schiff, MH., et al. (2003). "A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice." Rheumatology (Oxford) **42**(2): 244-257.

Smolen, J., Landewé, R., Bijlsma, J., Burmester, G., et al. (2017). "EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update." Ann Rheum Dis **76**(6): 960-977.

Smolen, J., Landewé, R., Breedveld, FC., et al. (2014). "EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update." Ann Rheum Dis **73**(3): 492-509.

Soderlin, M., Petersson, I., Bergman, S., Svensson, B. (2011). "Smoking at onset of rheumatoid arthritis (RA) and its effect on disease activity and functional status: experiences from BARFOT, a long-term observational study on early RA." Scand J Rheumatol **40**(4): 249–255.

Sohn, D., Rhodes, C., Onuma, K., et al. (2015). "Local joint inflammation and histone citrullination

in a murine model of the transition from preclinical autoimmunity to inflammatory arthritis." Arthritis Rheumatol **67**(11): 2877–2887.

Sokka, T. (2003). "Work disability in early rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **21**(5; SUPP 31): S71-S74.

Sokka, T., Abelson, B., Pincus, T. (2008). "Mortality in rheumatoid arthritis: 2008 update." Clin Exp Rheumatol **26**(Suppl 51): S35.

Sokka, T., Envalds, M., Pincus, T. (2008). "Treatment of rheumatoid arthritis: a global perspective on the use of antirheumatic drugs." Mod Rheumatol **18**(3): 228-239.

Sokka, T., Kaarela, K., Möttönen, TT., Hannonen, PJ. (1999). "Conventional monotherapy compared to a 'sawtooth' treatment strategy in the radiographic procession of rheumatoid arthritis over the first eight years." Clin Exp Rheumatol **17**: 527-532.

Sokka, T., Mäkinen, H. (2009b). "Drug management of early rheumatoid arthritis - 2008." Best Pract Res Clin Rheumatol **23**(1): 93-102.

Sokka, T., Möttönen, T., Hannonen, P. (2000). "Disease-modifying antirheumatic drug use according to the 'sawtooth' treatment strategy improves the functional outcome in rheumatoid arthritis: results of a long-term follow-up study with review of the literature." Rheumatology **39**(1): 34-42.

Sokka, T., Pincus, T. (2009). "Rheumatoid arthritis: strategy more important than agent." Lancet **347**(9688): 430-432.

Sokolove, J., Johnson, DS., Lahey, LJ., et al. (2014). "Rheumatoid factor as a potentiator of anti-citrullinated protein antibody-mediated inflammation in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatol **66**(4): 813–821.

Sokolove, J., Zhao, X., Chandra, PE., Robinson, WH. (2011). "Immune complexes containing citrullinated fibrinogen costimulate macrophages via Toll-like receptor 4 and Fcγ receptor." Arthritis Rheum **63**(1): 53-62.

Song, G., Bae, SC., Lee, YH. (2014). "Association of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms with methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis: a meta-analysis." Clin Rheumatol **33**(12): 1715-1724.

Soukup, T., Dosedel, M., Pavek, P., Nekvindova, J., et al (2015). "The impact of C677T and A1298C MTHFR polymorphisms on methotrexate therapeutic response in East Bohemian region rheumatoid arthritis patients." Rheumatol Int **35**(7): 1149-1161.

Sparks, J., Chen, C., Jiang, X., et al. (2015). "Improved performance of epidemiologic and genetic risk models for rheumatoid arthritis serologic phenotypes using family history." Ann Rheum Dis **74**(8): 1522-1529.

Sparks, J., Chen, CY., Hiraki, LT., et al. (2014). "Contributions of familial rheumatoid arthritis or lupus and environmental factors to risk of rheumatoid arthritis in women: a prospective cohort study." Arthritis Care Res (Hoboken) **66**(10): 1438-1446.

Spector, T. (1990). "Rheumatoid arthritis." Rheum Dis Clin North Am **16**: 513-537.

- Spyridopoulou, K., Dimou, NL., Hamodrakas, SJ., Bagos, PG. (2012). "Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and their association with methotrexate toxicity: A meta-analysis." Pharmacogenetics and Genomics **22**(2): 117-133.
- Stahl, E., Raychaudhuri, S., Remmers, EF., et al. (2010). "Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci." Nat Genet **42**(6): 508–514.
- Stamp, L., Chapman, PT., O'Donnell, JL., Zhang, M., et al. (2010). "Polymorphisms within the folate pathway predict folate concentrations but are not associated with disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate." Pharmacogenetics and Genomics **20**(6): 367-376.
- Stamp, L., Hazlett, J., Roberts, RL., et al. (2012). "Adenosine receptor expression in rheumatoid synovium: A basis for methotrexate action." Arthritis Research and Therapy **14**(3): R138.
- Stamp, L., O'donnell, JL., Chapman, PT., et al. (2009). "Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment." Arthritis Rheum **60**(8): 2248-2256.
- Starosta, M., Brandwein, SR. (2007). "Clinical manifestations and treatment of rheumatoid pachymeningitis." Neurology **68**(13): 1079-1080.
- Stastny, P. (1978). "Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. ." N Engl J Med **298**(16): 869–871.
- Stoffer, M., Schoels, MM., Smolen, JS., et al. (2016). "Evidence for treating rheumatoid arthritis to target: results of a systematic literature search update." Ann Rheum Dis **75**(1): 16-22.
- Stolt, P., Yahya, A., Bengtsson, C., et al. (2010). "Silica exposure among male current smokers is associated with a high risk of developing ACPA-positive rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **69**(6): 1072-1076.
- Sturgeon, J., Finan, PH., Zautra, AJ. (2016). "Affective disturbance in rheumatoid arthritis: psychological and disease-related pathways." Nat Rev Rheumatol **12**(9): 532-542.
- Suda, T. (2015). "Up-to-Date Information on Rheumatoid Arthritis-Associated Interstitial Lung Disease." Clinical Medicine Insights: Circulatory, Respiratory and Pulmonary Medicine **2015**(Suppl. 1): 155.
- Sugiyama, D., Nishimura, K., Tamaki, K., Tsuji, G., et al. (2010). "Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies." Ann Rheum Dis **69**(1): 70-81.
- Suurmond, J., Rivellesse, F., Dorjee, AL., et al. (2015). "Toll-like receptor triggering augments activation of human mast cells by anticitrullinated protein antibodies." Ann Rheum Dis **74**(10): 1915–1923.
- Suzuki, A., Yamada, R., Chang, X., et al. (2003). "Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis." Nat. Genet. **34**(4): 395–402.
- Svard, A., Skogh, T., Alfredsson, L., et al. (2015). "Associations with smoking and shared epitope differ between IgA- and IgG-class antibodies to cyclic citrullinated peptides in early rheumatoid

arthritis." Arthritis Rheumatol **67**(8): 2032–2037.

Świerkot, J. (2007). "Toxicity of Low Dose Methotrexate in Rheumatoid Arthritis." Adv Clin Exp Med **16**(2): 287–295.

Świerkot, J., Ślęzak, R., Karpiński, P., Pawłowska, J., et al. (2015). "Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCII genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis." Pol Arch Med Wewn **125**(3): 152-161.

Swierkot, J., Szechiński, J. (2006). "Methotrexate in rheumatoid arthritis." Pharmacological Reports **58**(473): 473-492.

Symmons, D., Bankhead, CR., Harrison, BJ., et al. (1997). "Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England." Arthritis Rheum **40**(11): 1955–1961.

Syversen, S., Goll, GL., van der Heijde, D., et al. (2010). "Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a 10-year prospective study." Ann Rheum Dis **69**(2): 345–351.

Szekanecz, Z., Besenyi, T., Szentpétery, A., Koch, AE. (2010). "Angiogenesis and vasculogenesis in rheumatoid arthritis." Curr Opin Rheumatol **22**(3): 299-306.

Takagi, H., Ishiguro, N., Iwata, H., Kanamono, T. (2000). "Genetic association between rheumatoid arthritis and estrogen receptor microsatellite polymorphism." J Rheumatol **27**(7): 1638-1642.

Takahashi, M., Yamamoto, J., Idei, M., et al. (2014). "Multiple intracranial nodules associated with rheumatoid arthritis: case report." Neurol Med Chir (Tokyo) **54**(4): 317-320.

Takatori, R., Takahashi, KA., Tokunaga, D., Hojo, T., et al. (2006). "ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients." Clin Exp Rheumatol **24**(5): 546-554.

Takemura, S., Braun, A., Crowson, C., et al. (2001). "Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis." J Immunol **167**(2): 1072-1080.

Tan, E., Smolen, JS. (2016). "Historical observations contributing in-sights on etiopathogenesis of rheumatoid arthritis and role of rheumatoid factor." J Exp Med **213**(10): 1937–1950.

Tanaka, N., Kim, JS., Newell, JD., Brown, KK., et al. (2004). "Rheumatoid arthritis-related lung diseases: CT findings." Radiology **232**(1): 81-91.

Taniguchi, A., Urano, W., Tanaka, E., Furihata, S., et al. (2007). "Validation of the associations between single nucleotide polymorphisms or haplotypes and responses to disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a proposal for prospective pharmacogenomic study in clinical practice." Pharmacogenet Genomics **17**(6): 383-390.

Taraborelli, M., Andreoli, L., Archetti, S., Ferrari, M., et al. (2009). "Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in methotrexate treatment of rheumatoid arthritis patients. Review of the literature and personal experience." Reumatismo **61**(2): 98-106.

Tarnowski, M., Paradowska-Gorycka, A., Dabrowska-Zamojcin, E., et al. (2016). "The effect of gene polymorphisms on patient responses to rheumatoid arthritis therapy." Expert Opin Drug Metab Toxicol **12**(1): 41-55.

Taşbaş, Ö., Borman, P., Karabulut, H. G., Tükün, A., Yorgancıoğlu, R. (2011). "The frequency of A1298C and C677T polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate gene in Turkish patients with rheumatoid arthritis: Relationship with methotrexate toxicity." Open Rheumatology Journal **5**(1): 30-35.

Tedeschi, S., Costenbader, KH. (2016). "Is there a role for diet in the therapy of rheumatoid arthritis?" Curr Rheumatol Rep **18**(5): 23-32.

Tengstrand, B., Carlström, K., Felländer-Tsai, L., Hafström, I. (2003). "Abnormal levels of serum dehydroepiandrosterone, estrone, and estradiol in men with rheumatoid arthritis: high correlation between serum estradiol and current degree of inflammation. ." J Rheumatol **30**(11): 2338-2343.

Tengstrand, B., Carlström, K., Hafström, I. (2002). "Bioavailable testosterone in men with rheumatoid arthritis-high frequency of hypogonadism." Rheumatology (Oxford) **41**(3): 285-289.

Terao, C., Ohmura, K., Ikari, K., et al. (2014). "Effects of smoking and shared epitope on the production of anticitrullinated peptide antibody in a Japanese adult population." Arthritis Care Res (Hoboken) **66**(12): 1818–1827.

Terao, C., Raychaudhuri, S., Gregersen, PK. (2016). "Recent Advances in Defining the Genetic Basis of Rheumatoid Arthritis." Annu Rev Genom Hum Genet **17**: 273-301.

Terslev, L., Torp-Pedersen, S., Savnik, A., et al. (2003). "Doppler ultrasound and magnetic resonance imaging of synovial inflammation of the hand in rheumatoid arthritis: a comparative study." Arthritis Rheum **48**(9): 2434-2441.

Thomson, W., Barton, A., Ke, X., et al. (2007). "Rheumatoid arthritis association at 6q23." Nat Genet **39**(12): 1431-1433.

Tokuhiro, S., Yamada, R., Chang, X., et al. (2003). "An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis." Nat. Genet. **35**(4): 341–348.

Trouw, L., Haisma, EM., Levarht, EW., et al. (2009). "Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies from rheumatoid arthritis patients activate complement via both the classical and alternative pathways." Arthritis Rheum **60**(7): 1923–1931.

Tsaprouni, L., Yang, TP., Bell, J., et al. (2014). "Cigarette smoking reduces DNA methylation levels at multiple genomic loci but the effect is partially reversible upon cessation." Epigenetics **9**(10): 1382–1396.

Tukaj, S., Kotlarz, A., Jozwik, A., et al. (2010). "Hsp40 proteins modulate humoral and cellular immune response in rheumatoid arthritis patients." Cell Stress Chaperones **15**(5): 555-566.

Tureson, C., McClelland, RL., Christianson, TJ., Matteson, EL. (2007). "Severe extra-articular disease manifestations are associated with an increased risk of first ever cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **66**(1): 70-75.

Turesson, C., O'Fallon, WM., Crowson, CS., et al. (2002). "Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **29**(1): 62-67.

Turesson, C., O'Fallon, WM., Crowson, CS., et al. (2003). "Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years." Ann Rheum Dis **63**(8): 722-727.

Turk, S., van Beers-Tas, MH., van Schaardenburg, D. (2014). "Prediction of future rheumatoid arthritis." Rheumatic Disease Clinics of North America **40**(4): 753–770.

Uhlig, T., Heiberg, T., Mowinckel, P., Kvien, TK. (2008). "Rheumatoid arthritis is milder in the new millennium: health status in patients with rheumatoid arthritis 1994–2004." Ann Rheum Dis **67**(12): 1710-1715.

Ungerer, J., Oosthuizen, HM., Blassbort, SH., Vermaak, WJH. (1992). "Serum Adenosine Deaminase: Isoenzymes and Diagnostic Application." Clin Chem **38**(7): 1322-1326.

Urano, W., Furuya, T., Inoue, E., Taniguchi, A., et al. (2009). "Associations between methotrexate treatment and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms with incident fractures in Japanese female rheumatoid arthritis patients." J Bone Miner Metab **27**(5): 574-583.

Urano, W., Taniguchi, A., Yamanaka, H., Tanaka, E, et al. (2002). "Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses." Pharmacogenetics **12**(3): 183-190.

van Beers, J., Willemze, A., Jansen, JJ., et al. (2013). "ACPA fine-specificity profiles in early rheumatoid arthritis patients do not correlate with clinical features at baseline or with disease progression." Arthritis Res Ther **15**(5): R140.

van de Stadt, L., de Koning, MH., van de Stadt, RJ., et al. (2011). "Development of the anticitrullinated protein antibody repertoire prior to the onset of rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **70**(Suppl 2): A1.

van den Bosch, W., Mangnus, L., Reijniere, M., et al. (2015). "The diagnostic accuracy of the squeeze test to identify arthritis: a cross-sectional cohort study." Ann Rheum Dis **74**(10): 1886–1889.

Van den Broek, M., Dirven, L., Klarenbeek, NB., et al. (2012). "The association of treatment response and joint damage with ACPA-status in recent-onset RA: a subanalysis of the 8-year follow-up of the BeSt study." Ann Rheum Dis **71**(2): 245-248.

van der Goes, M., Jacobs, JW., Bijlsma, JW. (2016). "Rediscovering the therapeutic use of glucocorticoids in rheumatoid arthritis." op rheumatol **28**(3): 289-296.

van der Heijde, D., van Leeuwen MA, van Riel PL, et al. (1992). "Biannual radiographic assessments of hands and feet in a three-year prospective followup of patients with early rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **35**(1): 26-34.

van der Helm-van Mil, A., Verpoort, KN., Breedveld, FC., et al. (2006). "The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **54**(4):

1117–1121.

van der Helm-van Mil, A., Verpoort, KN., le Cessie, S., et al. (2007). "The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide." *Arthritis Rheum* **56**(2): 425–432.

van der Linden, M., le Cessie, S., Raza, K., et al. (2010). "Long-term impact of delay in assessment of patients with early arthritis." *Arthritis Rheum* **62**(12): 3537–3546.

van der Straaten, R., Wessels, JAM., de Vries-Bouwstra, JK., et al. (2007). "Exploratory analysis of four polymorphisms in human GGH and FPGS genes and their effect in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients." *Pharmacogenomics* **8**(2): 141–150.

van der Woude, D., Lie, BA., Lundström, E., et al. (2010). "Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations." *Arthritis Rheum* **62**(5): 1236–1245.

van der Woude, D., Rantapaa-Dahlqvist, S., Ioan-Facsinay, A., et al. (2010). "Epitope spreading of the anticitrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis." *Ann Rheum Dis* **69**(8): 1554–1561.

Van Ede, A., Laan, RF., Blom, HJ., Huizinga, TW., et al. (2001b). "The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: A genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients." *Arthritis Rheumatism* **44**(11): 2525–2530.

Van Ede, A., Laan, RF., Rood, MJ., Huizinga, TW., et al. (2001). "Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, doubleblind, placebo-controlled study." *Arthritis Rheum* **44**(7): 1515–1524.

van Eden, W., Thole, JE., van der Zee, R., et al. (1988). "Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis." *Nature* **331**(6152): 171–173.

van Gaalen, F., Linn-Rasker, SP., van Venrooij, WJ., et al. (2004). "Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study." *Arthritis Rheum* **50**(3): 709–715.

van Gestel, A., Haagsma, CJ., van Riel, PL. (1998). "Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts." *Arthritis Rheumatol* **41**(10): 1845–1850.

van Schaardenburg, D., Nielen, MM., Lems, WF., et al. (2011). "Bone metabolism is altered in preclinical rheumatoid arthritis." *Ann Rheum Dis* **70**(6): 1173–1174.

van Steenberg, H., Huizinga, TW., van der Helm-van Mil, AH. (2013). "The preclinical phase of rheumatoid arthritis: what is acknowledged and what needs to be assessed?" *Arthritis Rheum* **65**(9): 2219–2232.

Vassallo, R., Luckey, D., Behrens, M., et al. (2014). "Cellular and humoral immunity in arthritis are profoundly influenced by the interaction between cigarette smoke effects and host HLA-DR and

DQ genes." Clin. Immunol. **152**(1): 25-35.

Vermeer, M., Kuper, HH., Hoekstra, M., et al (2011). "Implementation of a treat-to-target strategy in very early rheumatoid arthritis: results of the Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring remission induction cohort study." Arthritis Rheumatol **63**(10): 2865-2872.

Vernerova, L., Spoutil, F., et al. (2016). "A combination of CD28 (rs1980422) and IRF5 (rs10488631) Polimorphisms is associated with seropositivity in Rheumatoid Arthritis: A case control study." PLoS One **11**(4): e0153316.

Verpoort, K., Papendrecht-van der Voort, EA., van der Helm-van Mil, AH., et al. (2007). "Association of smoking with the constitution of the anti-cyclic citrullinated peptide response in the absence of HLA-DRB1 shared epitope alleles." Arthritis Rheum **56**(9): 2913–2918.

Verstappen, S., Bakker, M., Heurkens, A., et al. (2010). "Adverse events and factors associated with toxicity in patients with early rheumatoid arthritis treated with methotrexate tight control therapy: the CAMERA study." Ann Rheum Dis **69**(6): 1044-1048.

Verstappen, S., Jacobs, JWG., Van der Veen, MJ., et al. (2007). "Intensive treatment with methotrexate in early rheumatoid arthritis: aiming for remission. Computer Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis (CAMERA, an open-label strategy trial)." Ann Rheum Dis **66**(11): 1443-1449.

Verstappen, S., Owen, SA., Hyrich, KL. (2012). "Prediction of response and adverse events to methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis." Int J Clin Rheumatol **7**(5): 559-567.

Vessey, M., Villard-Mackintosh, L., Yeates, D. (1987). "Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis." Contraception **35**(5): 457–464.

Viatte, S., Plant, D., Han, B., et al. (2015). "Association of HLA-DRB1 Haplotypes With Rheumatoid Arthritis Severity, Mortality, and Treatment Response." JAMA **313**(16): 1645–1656.

Visser, K., van der Heijde, D. (2009). "Optimal dosage and route of administration of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature." Ann rheum dis **68**(7): 1094–1099.

Vries, R., Woude, D., Houwing, J., Toes, R. (2011). "Genetics of ACPA-positive rheumatoid arthritis: the beginning of the end?" Ann Rheum Dis **70**(Suppl 1): i51–i54.

Waler, E. (1940). "On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep red corpuscles." Acta Path Microbiol Scand **17**(2): 172-188.

Walsh, N., Crotti, TN., Goldring, SR., Gravalles, EM. (2005). "Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone." Immunol Rev **208**(1): 228-251.

Wang, D., Johnson, AD., Papp, AC., et al. (2005). "Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C> T affects mRNA stability." Pharmacogenetics and genomics **15**(10): 693-704.

Wang, L., McLeod, HL., Weinshilboum, RM. (2001). "Genomics and drug response." N Engl J Med **364**(12): 1144-1153.

- Ward, M., Leigh, JP., Fries, JF. (1993). "Progression of functional disability in patients with rheumatoid arthritis. Associations with rheumatology subspecialty care." Arch Intern Med **153**(19): 2229-2237.
- Wasko, M. (2008). "Rheumatoid arthritis and cardiovascular disease." Current Rheumatology Reports **10**(5): 390-397.
- Webber, M., Moir, W., Zeig-Owens, R., et al. (2015). "Nested case-control study of selected systemic autoimmune diseases in World Trade Center rescue/recovery workers." Arthritis Rheumatol **67**(5): 1369-1376.
- Wegner, N., Lundberg, K., Kinloch, A., et al. (2010b). "Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis." Immunol Rev **233**(1): 34-54.
- Wegner, N., Wait, R., Sroka, A., et al. (2010). "Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. ." Arthritis Rheum **62**(9): 2662–2672.
- Weinblatt, M., Coblyn, JS., Fox, DA., et al. (1985). "Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis." N Engl J Med **312**(13): 818-822.
- Weinblatt, M., Kaplan, H., Germain, BF., et al (1994). "Methotrexate in rheumatoid arthritis. A five-year prospective multicenter study." Arthritis Rheumatol **37**(10): 1492-1498.
- Weisman, M., Furst, DE., Park, GS., Kremer, JM., et al. (2006). "Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheumatism **54**(2): 607-612.
- Weiss, R., Stark, A., Wick, MC., et al. (2006). "Orthopaedic surgery of the lower limbs in 49,802 rheumatoid arthritis patients: results from the Swedish National Inpatient Registry during 1987 to 2001." Ann Rheum Dis **63**(7): 825-830.
- Wesley, A., Bengtsson, C., Elkan, AC., et al. (2013). "Association between body mass index and anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis: results from a population-based case-control study." Arthritis Care and Research **65**(1): 107–112.
- Wesoly, J., Wessels, JAM., Guchelaar, HJ., Huizinga, TWJ. (2006). "Genetic markers of treatment response in rheumatoid arthritis." Current Rheumatology Reports **8**(5): 369-377.
- Wessels, J., De Vries-Bouwstra, JK., Heijmans, BT., Slagboom, PE., et al. (2006). "Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes." Arthritis Rheumatism **54**(4): 1087-1095.
- Wessels, J., Huizinga, TWJ., Guchelaar, HJ. (2008). "Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis." Rheumatology **47**(3): 249-255.
- Wessels, J., Kooloos, WM., De Jonge, R., et al. (2006b). "Relationship between genetic variants in the adenosine pathway and outcome of methotrexate treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **54**(9): 2830-2839.

- Wessels, J., van der Kooij, SM., le Cessie, S., et al. (2007). "A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **56**(6): 1765-1775.
- Weyand, C., Goronzy, JJ. (2017). "Immunometabolism in early and late stages of rheumatoid arthritis." Nat Rev Rheumatol **13**(5): 291-301.
- Weyand, C., Hicok, KC., Conn, DL., Goronzy, JJ. (1992). "The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis." Ann Intern Med **117**(10): 801–806.
- Whetstine, J., Gifford, AJ., Witt, T., et al. (2001). "Single nucleotide polymorphisms in the human reduced folate carrier: characterization of a high-frequency G/A variant at position 80 and transport properties of the His(27) and Arg(27) carriers." Clin Cancer Res **7**(11): 3416-3422.
- White, S., Goodfellow, JW., Mowat, A. (1988). "Posterior interosseous nerve palsy in rheumatoid arthritis." J Bone Joint Surg Br **70**(3): 468-471.
- Whittle, S., Hughes, RA. (2004). "Folate supplementation and methotrexate treatment in rheumatoid arthritis: a review." Rheumatology **43**(3): 267-271.
- Wiesinger, T., Smolen, JS., Aletaha, D., Stamm, T. (2013). "Compression test (Gaenslen's squeeze test) positivity, joint tenderness, and disease activity in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis care & research **65**(4): 653-657.
- Wigerblad, G., Bas, DB., Fernandes-Cerqueira, C., et al. (2016). "Autoantibodies to citrullinated proteins induce joint pain independent of inflammation via a chemokine-dependent mechanism." Ann Rheum Dis **75**(4): 730-738.
- Wilske, K., Healey, LA. (1989). "Remodeling the pyramid: a concept whose time has come." J Rheumatol **16**(5): 565-567.
- Wolfe, F. (2000). "The effect of smoking on clinical, laboratory, and radiographic status in rheumatoid arthritis." J Rheumatol **27**(3): 630-637.
- Wolfe, F., Mitchell, DM., Sibley, JT., et al. (1994). "The mortality of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **37**(4): 481-494.
- Wolfe, F., Sharp, JT. (1998). "Radiographic outcome of recent-onset rheumatoid arthritis: a 19-year study of radiographic progression." Arthritis Rheum **45**(9): 1571-1582.
- Wolfe, F., Zwiilich, S. (1998b). "The long-term outcomes of rheumatoid arthritis. A 23-year prospective, longitudinal study of total joint replacement and its predictors in 1600 patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **41**(6): 1072-1082.
- Wordsworth, B., Stedeford, J., Rosenberg, WM., Bell, JI. (1991). "Limited heterogeneity of the HLA class II contribution to susceptibility to rheumatoid arthritis is suggested by positive associations with HLA-DR4, DR1 and DRw10." Br J Rheumatol **30**(3): 178-180.
- Wordsworth, P., Lanchbury, JS., Sakkas, LI., et al. (1989). "HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region." PNAS **86**: 10049–10053.
- Xiao, H., Xu, J., Zhou, X., Stankovich, J., et al. (2010). "Associations between the genetic

polymorphisms of MTHFR and outcomes of methotrexate treatment in rheumatoid arthritis." Clini Exp Rheumatol **28**(5): 728-733.

Yamamoto, T., Shikano, K., Nanki, T., Kawai, S. (2016). "Folylpolyglutamate synthase is a major determinant of intracellular methotrexate polyglutamates in patients with rheumatoid arthritis." Sci Rep **6**: 35615.

Yee, S., Gong, L., Badagnani, I., et al. (2010). "SLC19A1 pharmacogenomics summary." Pharmacogenetics and Genomics **20**(11): 708-715.

Yelamos, J., Garcia-Lozano, JR., Moreno, I., et al. (1993). "Association of HLADR4-Dw15 (DRB1*0405) and DR10 with rheumatoid arthritis in a Spanish population." Arthritis Rheum **36**(6): 811-814.

Yelin, E. (2005). "Is early intervention worth it?" J Rheumatol **72**(Suppl): 36-38.

Yelin, E., Meenan, R., Nevitt, M., Epstein, W. (1980). "Work disability in rheumatoid arthritis: effects of disease, social, and work factors." Ann Intern Med **93**(4): 551-556.

Young A, K. G. (2007). "Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis." Best Pract Res Clin Rheumatol **21**(5): 907-927.

Young, A., Koduri, G., Batley, M., et al. (2007b). "Mortality in rheumatoid arthritis. Increased in the early course of disease, in ischaemic heart disease and in pulmonary fibrosis." Rheumatol (Oxford) **46**(2): 350-357.

Yu, K., See, LC., Kuo, CF., Chou, JJ., Chou, MJ. (2013). "Prevalence and incidence in patients with autoimmune rheumatic diseases: a nationwide population-based study in Taiwan." Arthritis Care Res **65**(2): 244–250.

Zhang, L., Yang, S., Wei, W., et al. (2014). "Genetic polymorphisms affect efficacy and adverse drug reactions of DMARDs in rheumatoid arthritis." Pharmacogenet Genomics **24**(11): 531-538.

Zhang, Z., Cao, DL., Zhang, X., et al. (2013). "Chemokine contribution to neuropathic pain: respective induction of CXCL1 and CXCR2 in spinal cord astrocytes and neurons." Pain **154**(10): 2185-2197.

Zhu, H., Deng, FY., Mo, XB., et al. (2014). "Pharmacogenetics and pharmacogenomics for rheumatoid arthritis responsiveness to methotrexate treatment: the 2013 update." Pharmacogenomics **15**(4): 551-566.