

59

CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FARMACIA HOSPITALARIA
VALLADOLID



GRUPO PkGen

Grupo de Farmacocinética y Farmacogenética Clínica



DEL 30 DE SEPTIEMBRE AL 3 DE OCTUBRE DE 2014

- **Asistenciales**
 - Establecer marcos básicos de actuación en FC y FG para los fármacos sujetos a esta actividad o en las poblaciones de pacientes con comportamientos diferenciales.
 - Promover y apoyar la creación de nuevas UFC y UFG en los SF.
 - Promover la relación con otros grupos o asociaciones profesionales.
 - Creación y mantenimiento de página web del grupo.

- **Docentes**
 - Detallar un catálogo de hospitales con UFC/UFC con sus respectivas carteras de servicios, disponibilidad y tiempos para la rotación.
 - Fomentar cursos y actividades docentes en FC/FG.

- **Investigación**
 - Diseñar e impulsar estudios de farmacocinética-farmacogenética.
 - Promover trabajos de investigación con solicitud de proyectos a organismos oficiales y publicaciones.

Actividad investigadora. Becas y Proyectos financiados

- Desarrollo, actualización y mejora del programa PKS-Abbott. (Proyecto en fase de desarrollo final. Prevista su finalización en enero 2014).
- Monitorización farmacocinética y farmacogenética de voriconazol en hospitales Españoles: Desarrollo paralelo de su farmacocinética poblacional y análisis de la influencia de los polimorfismos del CYP2C19 en la misma. Adjudicado en la convocatoria para Grupos de Trabajo de la SEFH 2011/12 (4.200 €). Situación: Actualmente en fase de reclutamiento de pacientes y recogida de datos.
- Búsqueda de marcadores genéticos y dianas farmacocinéticas en el tratamiento de la artritis reumatoide con etanercept. Adjudicado en la convocatoria para Grupos de Trabajo de la SEFH 2013/14 (17.600 €). Inicio en Julio 2013.

TÍTULO

**Búsqueda de marcadores genéticos y dianas farmacocinéticas en el tratamiento de la
artritis reumatoide con etanercept**

Situación actual: EN FASE DE APROBACIÓN POR LOS CEICs PARTICIPANTES Y POR LAS
COMUNIDADES AUTÓNOMAS PARTICIPANTES

Calificación AEMPS: EPA-SP (*OBSERVACIONAL PROSPECTIVO*)

Servicios de Farmacia participantes:

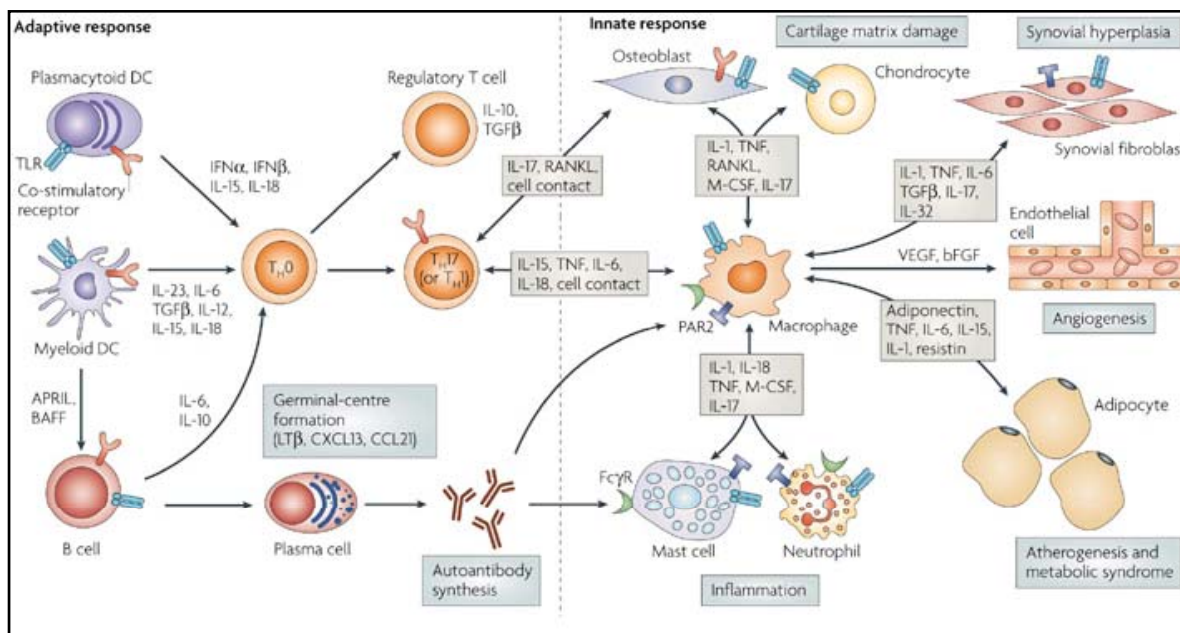
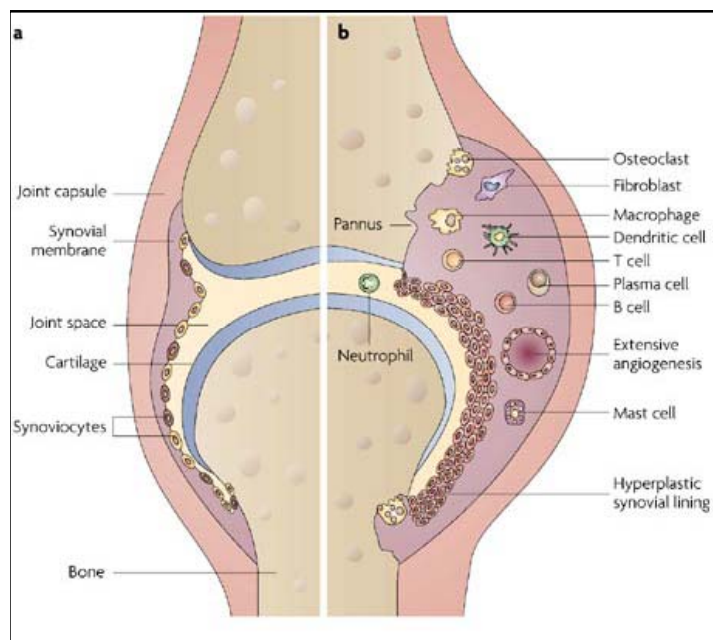
Pendiente de inclusión

A modo de introducción

**ASPECTOS FARMACOGENÉTICOS Y FARMACOCINÉTICOS EN LA
ARTRITIS REUMATOIDE**

Componentes genéticos de la artritis reumatoide

La realidad es que la AR es una enfermedad inflamatoria compleja:
Multicelular, Polimolecular y Poligénica

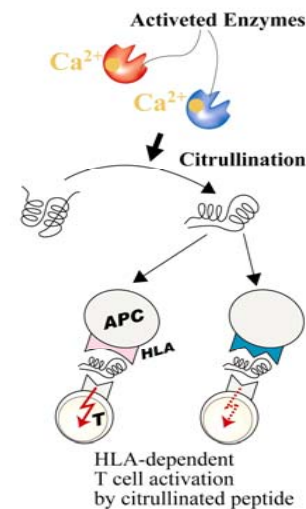
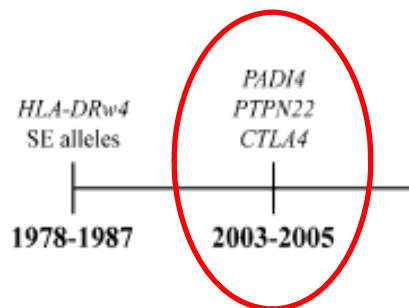
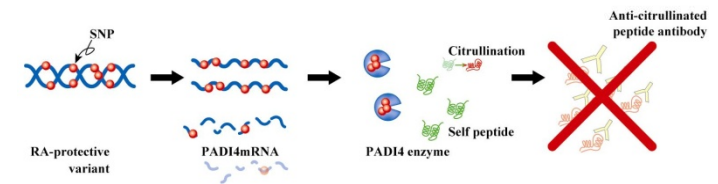
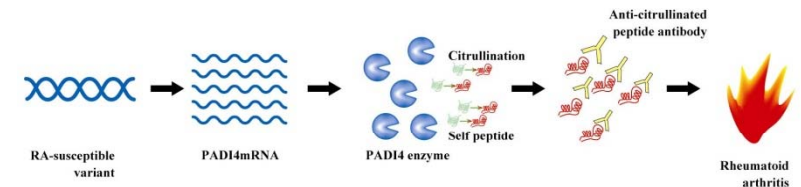


Componentes genéticos de la artritis reumatoide

Hasta el año 2003 no se identifican factores genéticos de AR diferentes al *locus HLA*

Año 2003-2005

La peptidarginil deaminasa (**PADI4**)
 Protein tirosín fosfatasa no-receptor tipo 22 (**PTPN22**)
 Antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (**CTLA4**)



Immunogenetics (2011) 63:459–466

Am J Hum Genet. 2005 Dec;77(6):1044–60

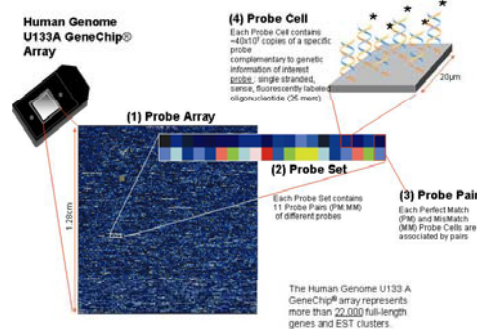
Am J Hum Genet. 2004 Aug;75(2):330–7.

Nat Genet. 2003 Aug;34(4):395–402.

Componentes genéticos de la artritis reumatoide

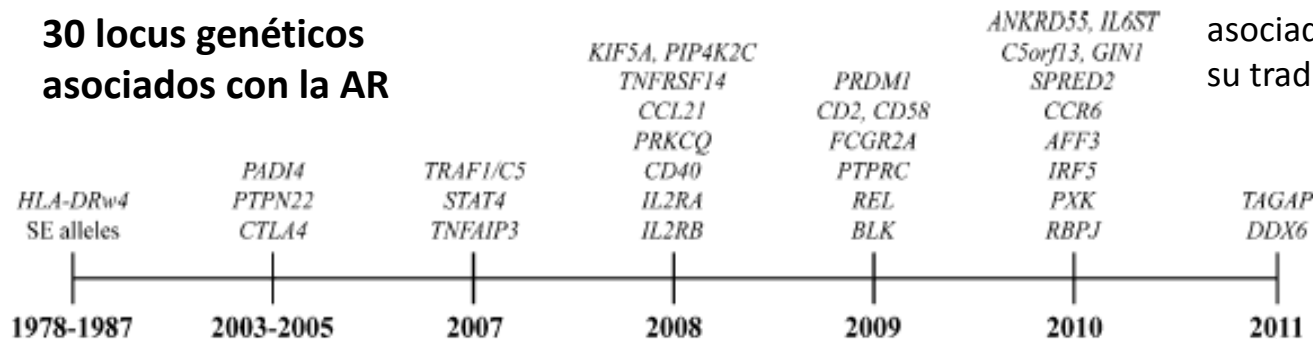
A partir del año 2007

Marcadores genéticos de la AR en la era de los estudios de **ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS)**



Detección de 500,568 SNPs conocidos (se calcula que existen sobre 3 millones de SNPs)

30 locus genéticos asociados con la AR



Para la mayoría de estos SNP asociados a la AR no se conoce su traducción funcional

Componentes genéticos de la artritis reumatoide

North American Rheumatoid Arthritis Consortium (NARAC) I, NARAC III

+

Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC)

Análisis de 8,000 genes relacionados con 700 rutas en un total de 7,000 pacientes con AR

Variantes genéticas replicadas en los estudios NARAC y WTCCC

Gene	Chromosome	Start pos	End pos	Most selected SNP in block	Allele	P-value (meta-analysis)	OR (95% CI)
HLA-DRA	6	32495624	32540802	rs9268853	C	4.56E-109	2.40 (2.20 - 2.60)
HLA-DQA1	6	32693160	32739407	rs9272219	T	9.58E-46	0.52 (0.48-0.57)
MICA	6	31459349	31511069	rs1063635	A	1.42E-17	0.74 (0.69-0.79)
HLA-G	6	29882734	29926878	rs1610677	C	4.12E-15	0.76 (0.71-0.81)
IL2RB	22	35831016	35872708	rs743777	G	2.09E-06	1.19 (1.10-1.30)
HLA-C	6	31324507	31367834	rs6906846	A	2.26E-05	0.85 (0.79-0.92)
EGFR	7	55033429	55128489	rs17172446	A	0.0001	0.86 (0.79-0.93)
TEC	4	47812556	47986571	rs2457414	C	0.0016	0.89 (0.83-0.96)
PTPN22 ^a	1	114137960	114235857	rs2488457	G	0.0020	1.13 (1.10-1.20)
PDE4D	5	58280444	58658855	rs829451	T	0.0030	1.12 (1.10-1.20)
SHC4	15	46882243	46992983	rs16961743	T	0.0050	1.40 (1.10-1.80)
CACNA1D	3	53474897	53575012	rs3774425	A	0.0078	0.90 (0.85-0.98)
CACNA1A	19	13155623	13331522	rs3774425	A	0.0084	0.90 (0.83-0.97)
VAV3	1	107894802	108046933	rs10494071	T	0.0091	1.19 (1.00-1.37)
CACNB2	10	18578665	18827827	rs1757217	T	0.0132	1.15 (1.00-1.21)
PDE1C	7	31775674	31790442	rs992185	A	0.0163	0.80 (0.67-0.96)
FGF14	13	101150762	101335129	rs1537930	C	0.0167	1.10 (1.00-1.21)
ITGA9	3	37448558	37577446	rs6788347	G	0.0196	1.08 (1.00-1.21)
ADCY2	5	7594566	7712781	rs7717535	T	0.0200	0.92 (0.86-0.99)
CACNA2D1	7	81573468	81851660	rs38564	T	0.0274	0.92 (0.85-0.99)
PDE4B	1	66010515	66545937	rs17128076	A	0.0376	1.23 (1.00-1.50)

Utilidad de los estudios combinados de diferentes GWAS en el descubrimiento de nuevas vías relacionadas con la AR

Componentes genéticos de la artritis reumatoide

68% susceptibilidad
genética

La gran mayoría de estudios genéticos de asociación con AR se han realizado con pacientes positivos para Ac anticitrulinados

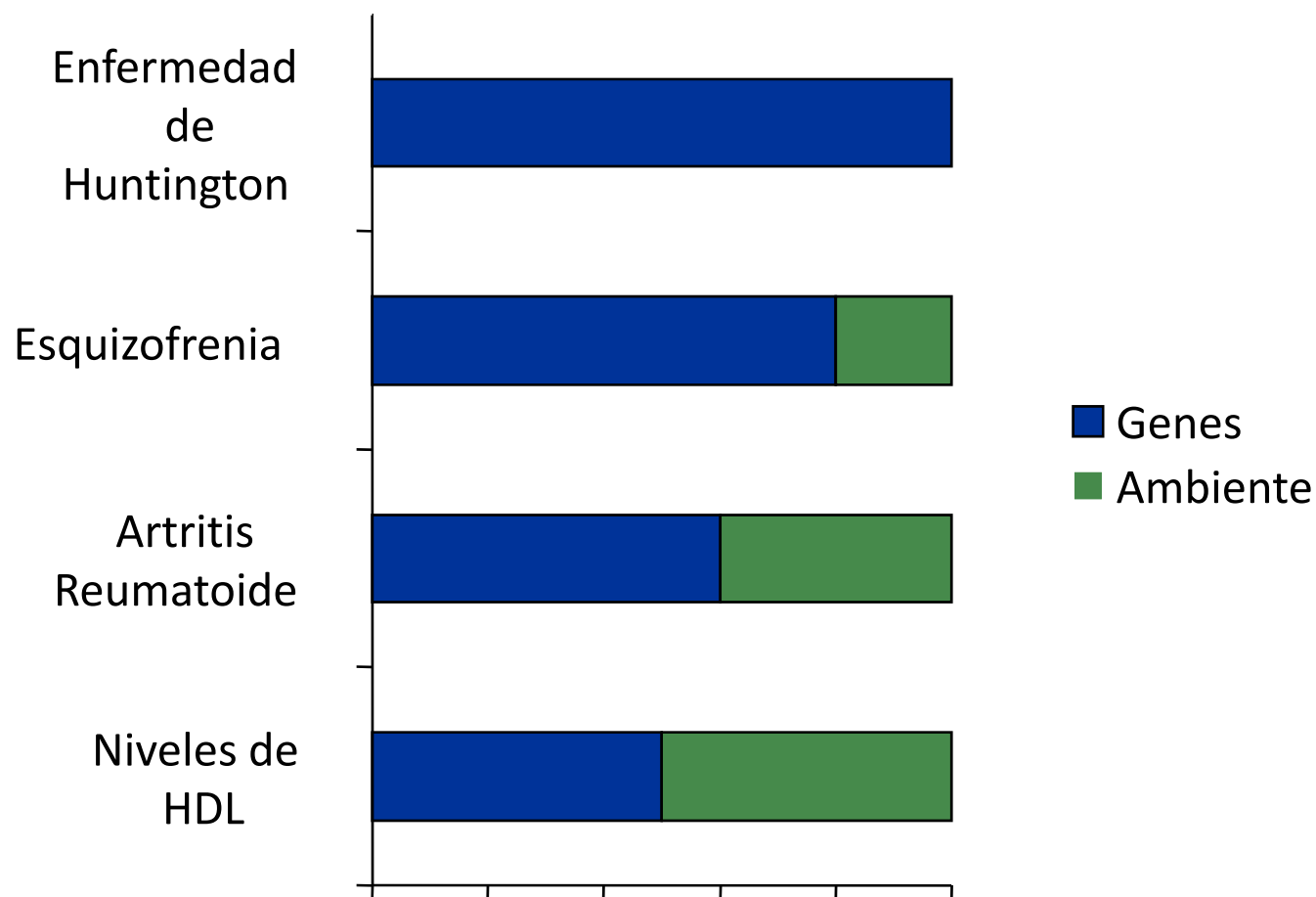
66% susceptibilidad
genética

En pacientes negativos para Ac anticitrulinados:

HLA-DR3
Factor regulador de interferon 5
Neuropéptido S

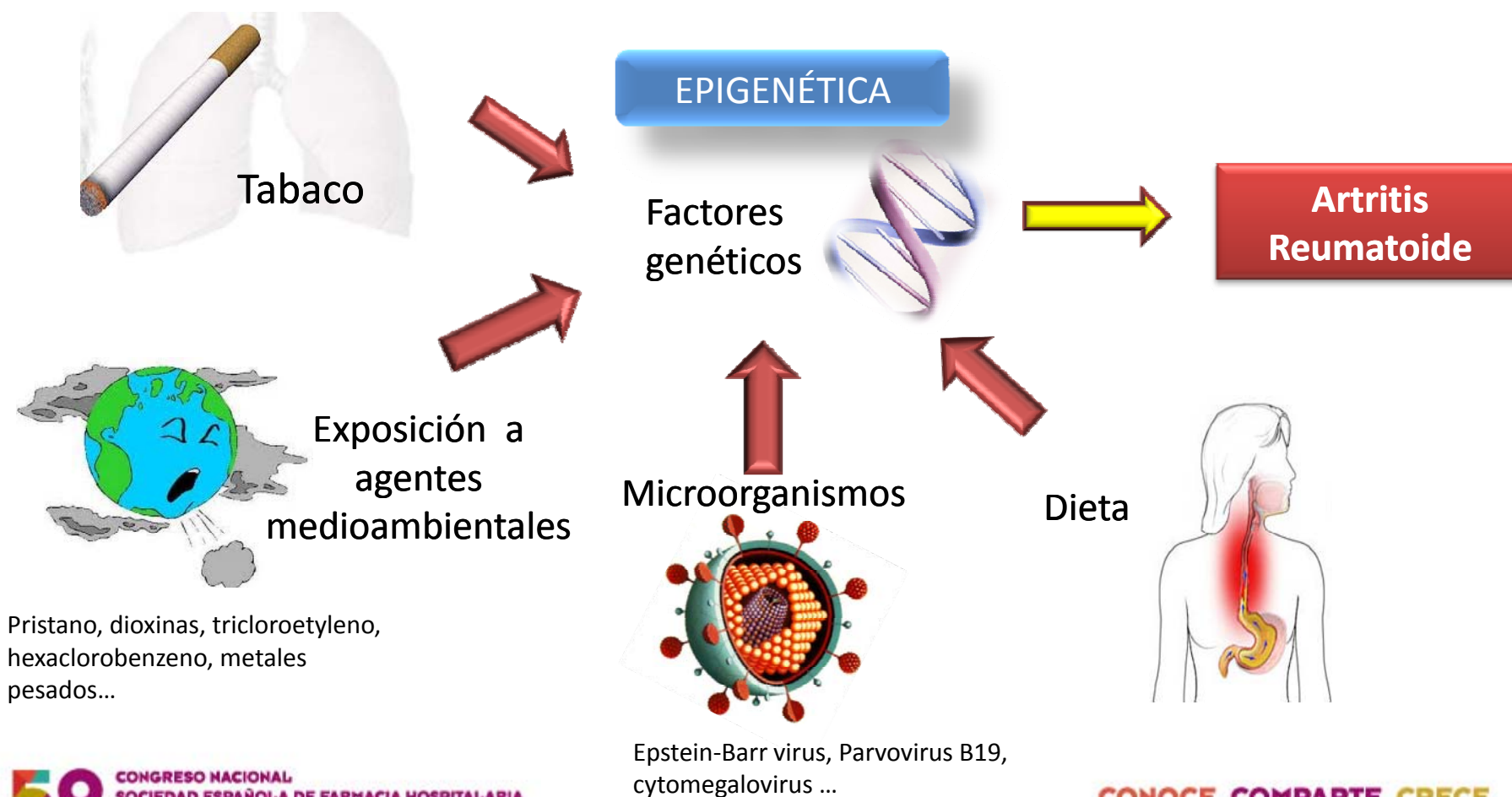
¿Existen factores ambientales que modifiquen las características genéticas y por tanto la susceptibilidad/ evolución del a artritis reumatoide ?

No solo el genoma determina la salud



¿ Cómo pueden los factores externos modificar la genética y la susceptibilidad a la AR ?

Factores de riesgo potenciales



¿ El tratamiento de la artritis reumatoide está condicionado por la dotación genética de cada individuo ?

Un gran arsenal terapéutico y pocas evidencias genéticas

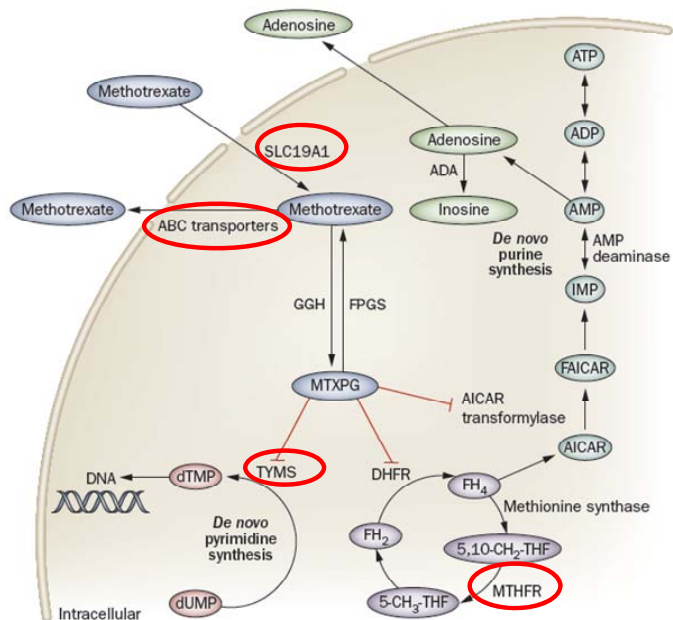
FAMES

**Metotrexato
Azathioprine
Sulfasalazina
Leflunomida**

Agentes biológicos:

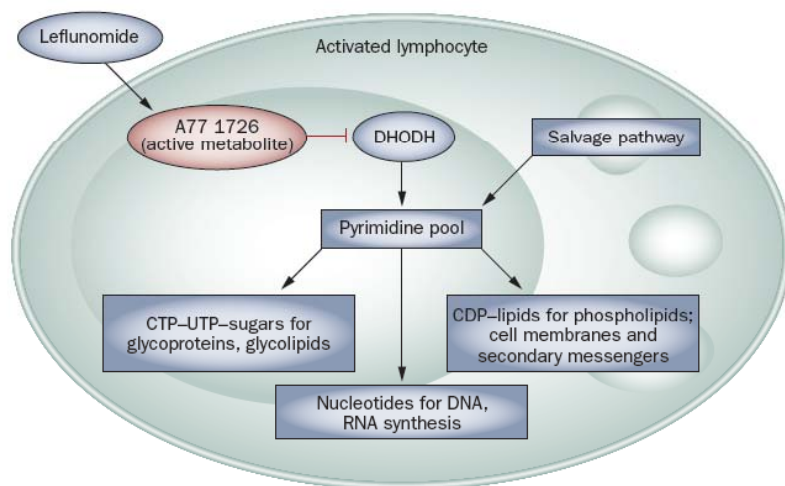
**Anti-TNF α
Abatacept
Rituximab
Anakinra
Tocilizumab**

METOTREXATO

**Table 1** | Pharmacogenetics of methotrexate—known variants and putative clinical effects

Gene, product and role	Variant	Cellular effects of variant	Studies, designs and participants	Reported clinical effects
Folate pathway variants				
SLC19A1, FOLT, transports folate (and methotrexate) into cell	80G>A	Results in higher intracellular levels of MTXPGs	Takatori (2006), ²⁶ retrospective, <i>n</i> =124; all patients with RA	No effect on efficacy
			Dervieux (2004), ³⁰ cross-sectional, <i>n</i> =108; all patients with RA	Associated with increased efficacy
MTHFR, MTHFR, generation of 5-methyl tetrahydrofolate	677C>T	Produces a thermolabile MTHFR variant; decreases enzyme levels	Van Ede <i>et al.</i> (2001), ¹³ prospective, <i>n</i> =236; all patients with RA	Associated with discontinuation of methotrexate due to increased toxicity
			Urano <i>et al.</i> (2002), ¹⁵ retrospective, <i>n</i> =106; all patients with RA	Associated with increased toxicity
			Fisher & Cronstein (2009), ¹⁶ meta-analysis, <i>n</i> =1,400	Associated with increased toxicity
			Lee & Song (2010), ¹⁷ meta-analysis, <i>n</i> =1,514	No effect on toxicity or efficacy
			Weisman <i>et al.</i> (2006), ³¹ cross-sectional, <i>n</i> =214; all patients with RA	Associated with increased toxicity
	1298A>C	Decreases MTHFR enzymatic activity	Berkun <i>et al.</i> (2004), ¹⁴ cross-sectional, <i>n</i> =93; all patients with RA	Associated with reduced toxicity
			Urano <i>et al.</i> (2002), ¹⁵ retrospective, <i>n</i> =106; all patients with RA	Associated with increased efficacy
			Fisher & Cronstein (2009), ¹⁶ meta-analysis, <i>n</i> =660	No effect on toxicity
			Lee (2010), ¹⁷ meta-analysis, <i>n</i> =1,514	No effect on toxicity or efficacy
SHMT1, SHMT, generation of 5,10-methylene tetrahydrofolate	1420C>T	Alters enzyme activity	Weisman <i>et al.</i> (2006), ²¹ cross-sectional, <i>n</i> =214; all patients with RA	Associated with increased toxicity
Drug transporter variants				
ABCB1, MDR1, efflux pump	3435C>T	Increases efflux of methotrexate	Takatori <i>et al.</i> (2006), ²⁶ retrospective, <i>n</i> =124; all patients with RA	Associated with decreased efficacy
Nucleotide synthesis variants				
TYMS, TYMS, conversion of dUMP to dTMP in <i>de novo</i> pyrimidine synthesis (inhibited by MTXPGs)	5'-UTR repeat element	Triple repeat allele associated with increased TYMS activity	Kumagai <i>et al.</i> (2003), ²⁴ retrospective, <i>n</i> =167; 115 patients with RA treated with methotrexate, 52 controls	Triple repeat allele associated with decreased efficacy
			Dervieux <i>et al.</i> (2004), ³⁰ cross-sectional, <i>n</i> =108; all patients with RA	Triple repeat allele associated with decreased efficacy
			Weisman <i>et al.</i> (2006), ³¹ cross-sectional, <i>n</i> =214; all patients with RA	Double repeat allele associated with toxicity
	3'-UTR deletion	Decreases mRNA stability and expression	Kumagai <i>et al.</i> (2003), ²⁴ retrospective, <i>n</i> =167; 115 patients with RA treated with methotrexate, 52 controls	Associated with improved efficacy
ATIC, PURH, formylation of AICAR during <i>de novo</i> purine synthesis (inhibited by MTXPGs)	347C>G	Alters enzyme activity and increases intracellular AICAR levels	Wessels <i>et al.</i> (2006), ²⁵ prospective, <i>n</i> =205; all patients with RA	Associated with improved efficacy and increased toxicity
			Takatori <i>et al.</i> (2006), ²⁶ retrospective, <i>n</i> =124; all patients with RA	No effect on efficacy
			Dervieux <i>et al.</i> (2004), ³⁰ cross-sectional, <i>n</i> =108; all patients with RA	Associated with improved efficacy
			Weisman <i>et al.</i> (2006), ³¹ cross-sectional, <i>n</i> =214; all patients with RA	Associated with increased toxicity
Cytokine pathway variants				
IL1RN, IL-1Ra, blocks induction of inflammation by IL-1 (the ratio of IL-1:IL-1Ra is thought to be affected by methotrexate)	IL-1RN*3	Modulates IL-1 cytokine synthesis	Tolusso <i>et al.</i> (2006), ²⁹ cross-sectional, <i>n</i> =304; 126 patients with RA, 178 healthy controls	Associated with decreased efficacy

FAMES: Leflunomida



El SNP 19C>A, localizado en el extremo NH2 de la DHODH condiciona la toxicidad de leflunomida

Variantes alélicas del ESR1 se correlacionan con una mayor eficacia de leflunomida

Variantes alélicas del CYP1A2*1F se correlacionan con una mayor función metabolizadora y con niveles mayores de leflunomida, causando toxicidad

Debido al bajo número de estudios no existen hoy día protocolos genéticos de decisión clínica para leflunomida

Table 4 | Pharmacogenetics of leflunomide—known variants and putative clinical effects

Gene, product and role	Variant	Cellular effects of variants	Studies, designs and participants	Reported clinical effects
<i>DHODH</i> , DHODH, key enzyme of <i>de novo</i> pyrimidine synthesis	19 C>A	Alters N-terminal region of DHODH, affecting insertion into mitochondrial membrane	Pawlik (2009), ⁶² prospective, n=147; all patients with RA	Associated with increased efficacy
			Grabar (2009), ⁶³ retrospective, n=105; all patients with RA	Associated with increased toxicity
<i>ESR1</i> , estrogen receptor, interferes with downmodulation of cytokines	rs9340799 AA rs2234693 TT	Alters estrogen receptor expression	Dziedziejko (2010), ⁶⁴ prospective, n=115; all women with RA	Associated with increased efficacy
<i>CYP1A2</i> , CYP enzyme, involved in activation of leflunomide	CYP1A2*1F CC	Increases activation, leading to higher drug levels	Grabar (2008), ⁶⁸ prospective, n=106; all patients with RA	Associated with increased toxicity

Agentes biológicos: Anti-TNF

Table 5 | Pharmacogenetics of biologic agents

Gene, product and role	Variant	Cellular effects of variant	Studies, designs and participants	Reported clinical effects
TNF blockers				
TNF locus, TNF and its receptors	-308 G>A	Influences TNF production	Seitz (2007), ⁹¹ prospective, <i>n</i> = 86; 54 patients with RA, 10 with PsA, 22 with AS	Associated with increased efficacy
			Cuchacovich (2006), ⁹² prospective, <i>n</i> = 81; all patients with RA	Associated with increased efficacy
			Lee (2010), ⁹³ meta-analysis (13 studies), 1,817 patients with RA	No effect on efficacy
	-238A>G	Influences TNF production	Lee (2010), ⁹³ meta-analysis (13 studies), 1,817 patients with RA	Associated with increased efficacy
	TNFRSF1B 196 T>G	Influences receptor shedding and ligand binding; might increase IL-6 production	Fabris (2002), ⁹⁴ retrospective, <i>n</i> = 175; all patients with RA	Associated with decreased efficacy
			Potter (2010), ⁹⁵ retrospective, <i>n</i> = 602, all patients with RA	No effect on efficacy
	TNF microsatellites a-e	Affect DNA folding and conformation	Martinez (2004), ⁹⁶ prospective, <i>n</i> = 420; 78 patients with RA, 342 healthy controls	No effect on efficacy with individual microsatellites; TNFa11;b4 haplotype more frequent in responders to infliximab
			Criswell (2004), ⁹⁷ prospective, <i>n</i> = 457; all patients with RA	No effect on efficacy
FCGR genes, FcγR, receptors for IgG	FcγR IIIA Val158Phe	Influences FcγR affinity for IgG1; affects ADCC	Kastbom (2007), ⁹⁰ prospective, <i>n</i> = 282; all patients with RA	No effect on efficacy
PTPRC, receptor-type tyrosine-protein phosphatase C (CD45), regulates BCR and TCR signaling, and secretion of TNF by monocytes	rs10919563	Influences the secretion of cytokines including TNF	Cui (2010), ⁹⁸ prospective, <i>n</i> = 1,283; all patients with RA	Associated with increased efficacy
MAPK14, MAPK 14, signaling molecule involved in production of proinflammatory cytokines and MMPs	SNPs in MAPK14 and in genes encoding proteins upstream and downstream in signaling pathway	Influence MAPK signaling pathway, production of cytokines and MMPs	Coulthard (2011), ¹⁰² prospective, <i>n</i> = 1,102; all patients with RA	Associated with increased efficacy of infliximab and adalimumab, but not etanercept

¿ El tratamiento de la artritis reumatoide está condicionado por la dotación genética de cada individuo ?

Farmacogenética de la AR en la era de los estudios ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS)

Anti-TNF

- Estudio de 3 cohortes (WTCCC) independientes (566 pacientes la primera, 410 pacientes la segunda y 364 pacientes la tercera) en pacientes con AR tratados con anti-TNF
- Interrogados 500,568 SNPs en los 23 cromosomas
- El alelo minoritario del gen *EYA4* (*rs17301249*) se asoció con una buena respuesta al tratamiento anti-TNF (coeficiente de correlación= -0.27 , $P = 5.67 \times 10^{-5}$),
- El alelo minoritario del gen *PDZD2* (*rs1532269*) se correlacionó con una respuesta reducida (coeficiente de correlación = 0.20 , $P = 7.37 \times 10^{-4}$).

EYA4 se localiza en el cromosoma 6q23.2, y codifica un factor nuclear que regula la expresión de INF- β y el ligando de la quimiocina CXC-10.

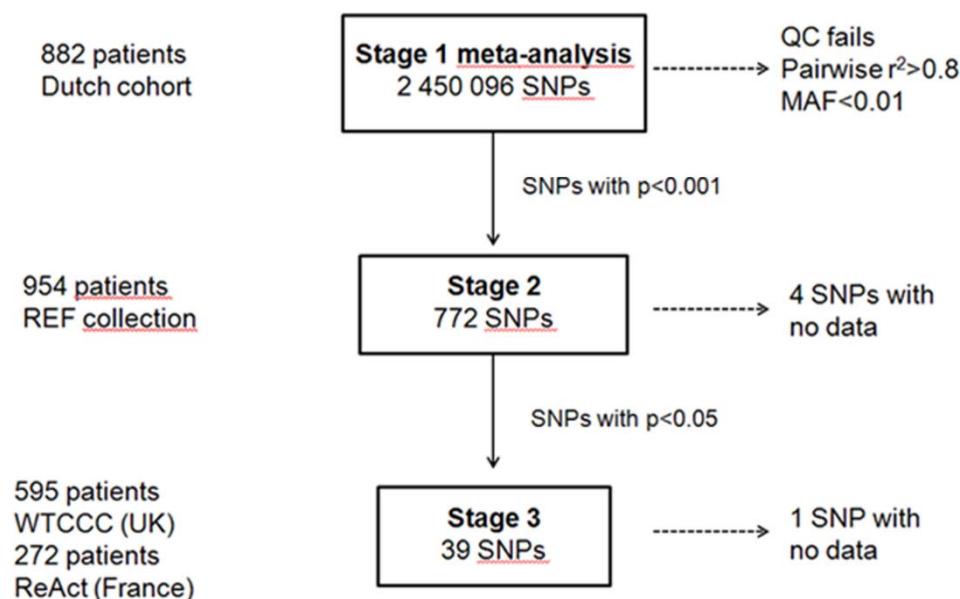
PDZD2 se piensa que afecta a la secreción de insulina, pudiendo explicar la relación entre los niveles de insulina y la actividad inflamatoria en la AR

Farmacogenética de la AR en la era de los estudios ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS)

Anti-TNF

Otros reciente estudio GWAS realizado en diferentes cohortes encontró marcadores asociados a la respuesta con anti-TNF- α , principalmente en CNTN5 (rs1813443, rs1568885), LOC100130480 (rs4411591) así como en el locus PDE3A-SLCO1C1 (rs3794271)

Ningún marcador alcanza el nivel de significación para genome-wide studies ($p < 5 \times 10^{-8}$)



Farmacogenética de la AR en la era de los estudios ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS)

Anti-TNF

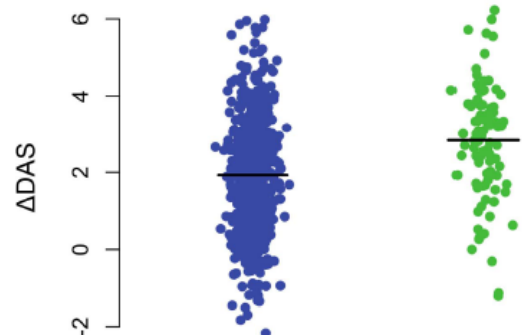
GWAS. PLOS Genetics, 2013

Table 1. Samples and clinical data.

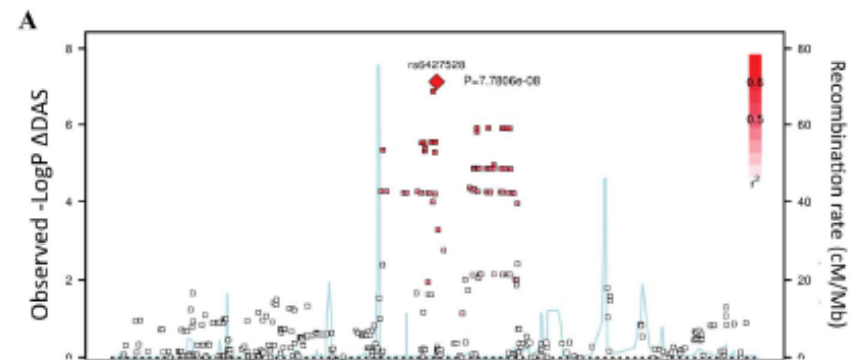
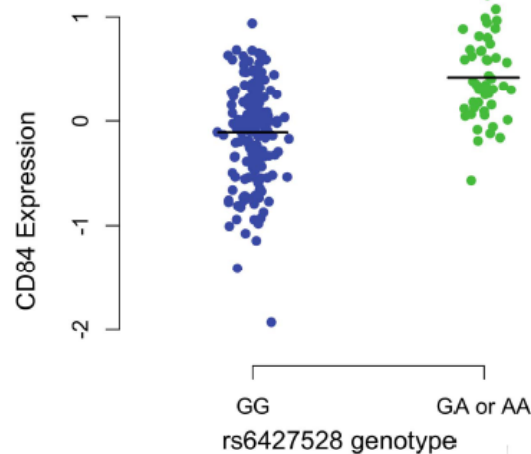
Collection (analysis batch):	REF	BRAGGSS	DREAM	ReAct	Total
Sample sizes	959*	595	880*	272	2706
Drug subsets					
etanercept	365	259	109	0	733
infliximab	415	268	211	0	894
adalimumab	174	68	557	272	1071
EULAR Reponse categories					
Good responder	432**	161	313	92	998
Moderate responder	243	258	359	131	991
Non-responder	322	176	208	49	755
Genotype platform	mixed	Affy 500K	Illu550K +650K	Illumina OmniExpress	
Clinical variables					
Age, yr; mean (SD)	53.6 (12.7)	57.4 (10.9)	54.8 (12.9)	53.9 (10.8)	
Disease duration, yr; mean (SD)	6.7 (9.4)	14 (9.8)	9.6 (9.5)	12 (9.1)	
Gender, female %	75.6	77.3	68.3	77.9	
Seropositive, %	87	78	80	70	
MTX co-therapy, %	65.6	85.6	76.0	50.0	
Baseline DAS, mean (SD)	5.5 (1.2)	6.7 (0.9)	5.5 (1.2)	5.9 (1.0)	
ΔDAS, mean (SD)	1.9 (1.6)	2.5 (1.5)	1.9 (1.3)	2.2 (1.3)	
Mean treatment duration	4.6	5.6	3	3	
Study design	All***	Observational	Observational	Observational	

- El polimorfismo rs6427528 en la región 3'UTR del gen CD84 como predictor de buena respuesta a etanercept

Δ DAS, $P = 8 \times 10^{-8}$;



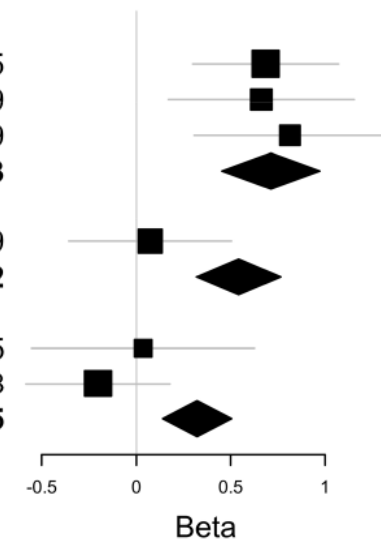
CD84 expresión, $P = 1 \times 10^{-11}$



Collection	N
REF	365
WTCCC	259
DREAM	109
GWAS Meta-analysis ($P=8e-08$)	733

Reuma.pt	139
Combined Europeans ($P=2e-06$)	872

Kyoto	65
IORRA	88
Combined Overall ($P=5e-04$)	1,025

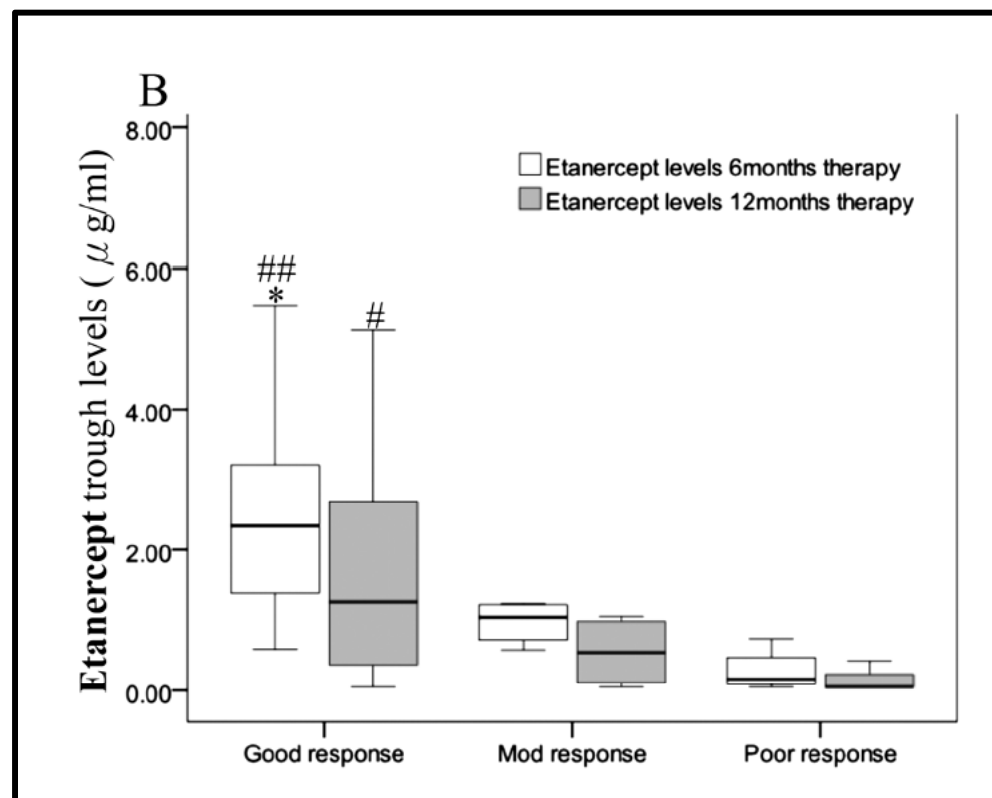


ASPECTOS FARMACOCINÉTICOS

EXTENDED REPORT

Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis

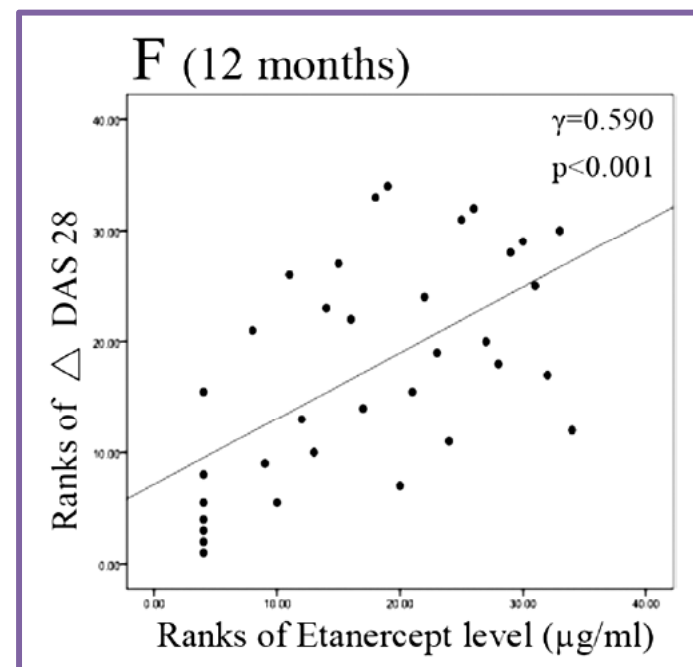
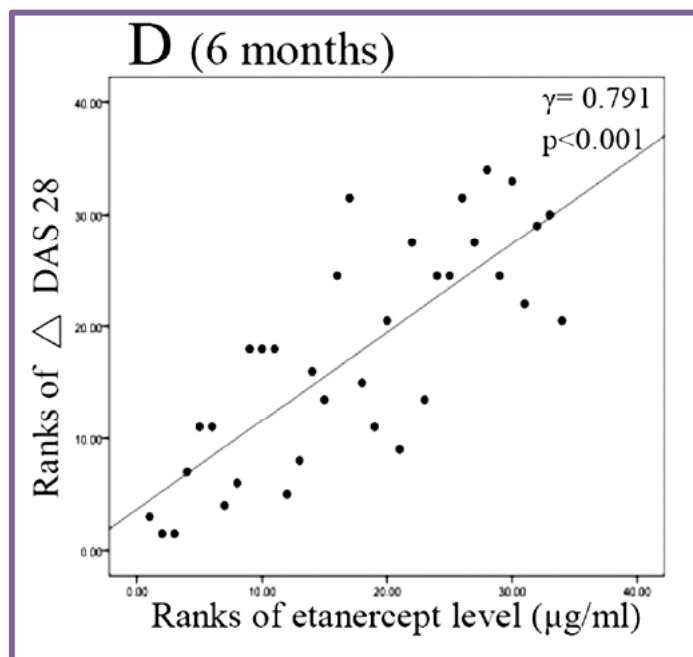
Der-Yuan Chen,^{1,2,3} Yi-Ming Chen,¹ Wen-Chan Tsai,⁴ Jui-Cheng Tseng,⁵
Yi-Hsing Chen,¹ Chia-Wei Hsieh,^{1,2} Wei-Ting Hung,¹ Joung-Liang Lan⁶



EXTENDED REPORT

Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis

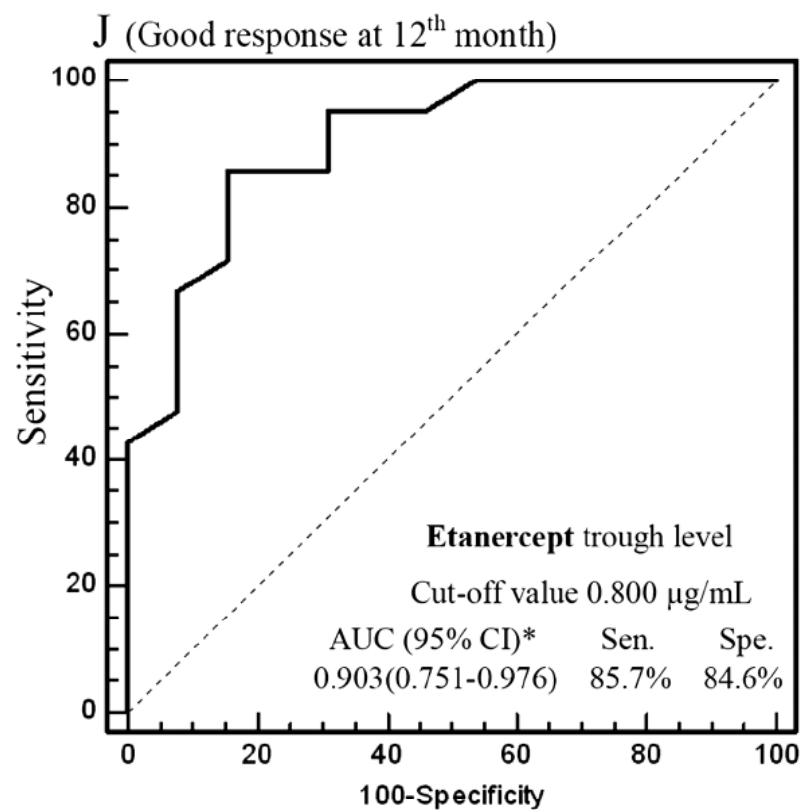
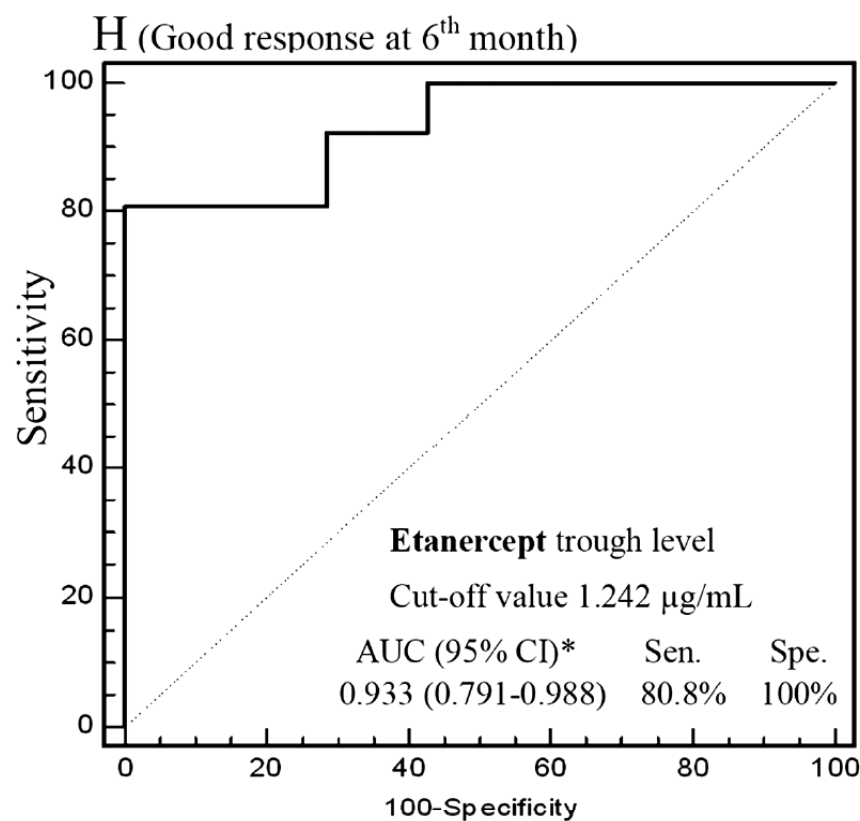
Der-Yuan Chen,^{1,2,3} Yi-Ming Chen,¹ Wen-Chan Tsai,⁴ Jui-Cheng Tseng,⁵
Yi-Hsing Chen,¹ Chia-Wei Hsieh,^{1,2} Wei-Ting Hung,¹ Joung-Liang Lan⁶



EXTENDED REPORT

Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis

Der-Yuan Chen,^{1,2,3} Yi-Ming Chen,¹ Wen-Chan Tsai,⁴ Jui-Cheng Tseng,⁵
Yi-Hsing Chen,¹ Chia-Wei Hsieh,^{1,2} Wei-Ting Hung,¹ Joung-Liang Lan⁶



Hipótesis

- Variaciones del gen CD84 se encuentran fuertemente asociadas a la respuesta a etanercept en población española. Dicho marcador puede ser de potencial utilidad en la indicación clínica de etanercept en pacientes españoles con artritis reumatoide
- El estudio conjunto de otras variables genéticas previamente asociadas a la respuesta a los anti-TNF- α podría añadir sinergia en la predicción a la respuesta a etanercept
- El establecimiento de una diana farmacocinética y su correlación con los biomarcadores podría modular la respuesta al tratamiento

Objetivos. Principal.

- Efecto del marcador rs6427528 del gen CD84 sobre la respuesta al tratamiento con etanercept en pacientes con artritis reumatoide en hospitales españoles, medido como mejora clínica del DAS28 a los 3, 6 y 12 meses de iniciar el tratamiento.

Objetivos. Secundarios.

- Efecto de haplotipos de marcadores genéticos previamente asociados a la respuesta o falta de respuesta de anti-TNF- α como potenciadores del efecto predictivo de la variante rs6427528 del gen CD84 sobre la respuesta clínica de etanercept medida como mejora del DAS28 a los 3, 6 y 12 meses de iniciar el tratamiento.
- Análisis poblacional farmacocinético de etanercept y correlación de las concentraciones plasmáticas y/o marcadores genéticos sobre la respuesta clínica al tratamiento medido como mejora clínica del DAS28 a 1, 3 y 6 meses de iniciar el tratamiento.

PUESTA EN MARCHA DEL ESTUDIO

1. NOTIFICACIÓN DE LA INTENCIÓN DE PARTICIPAR: PERSONA DE CONTACTO O IP DEL CENTRO SE PONE EN CONTACTO CON IP COORDINADOR DEL PROYECTO **PATRICIO MAS:** patricio.mas.serrano@gmail.com

NECESITAMOS SABER CUANTOS HOSPITALES POR COMUNIDAD AUTÓNOMA QUIEREN PARTICIPAR

2. EL IP COORDINADOR DEL ESTUDIO MANDARÁ LA CLASIFICACIÓN DE LA AEMPS, LA DEL CEIC DE REFERENCIA Y EL PROTOCOLO DE ESTUDIO A CADA UNO DE LOS CENTROS PARTICIPANTES.

PATRICIO MAS: patricio.mas.serrano@gmail.com

3. PASAR EL PROYECTO POR EL CEIC DE CADA CENTRO: PARA ELLO CADA CENTRO MODIFICARÁ EL LISTADO DE INVESTIGADORES ESPECÍFICO PARA ESE CENTRO, INDICANDO EL CEIC DE REFERENCIA Y LOS DATOS DEL INVESTIGADOR COORDINADOR DEL PROYECTO.

4. UNA VEZ DETECTADO EL NÚMERO DE HOSPITALES POR COMUNIDAD AUTÓNOMA EL INVESTIGADOR COORDINADOR ENVIARÁ LA DOCUMENTACIÓN Y SOLICITARÁ LA AUTORIZACIÓN DE LAS RESPECTIVAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS. Esta autorización se enviará a cada uno de los centros participantes para que puedan empezar el estudio.

Diseño del estudio

- **Objetivo biomarcador** (Objetivo principal y secundario farmacogenético).
 - Estudio observacional.
 - retrospectivo.
 - Multicéntrico.
- **Objetivo farmacocinético** (Objetivo secundario análisis farmacocinético).
 - Estudio observacional.
 - Prospectivo.
 - Multicéntrico.

Criterios de Inclusión.

- Pacientes diagnosticados de AR, > 18 años inicio tto.
- Pacientes con actividad de la enfermedad moderada (DAS28 > 3,2 y <5,1) al inicio del tratamiento con ETN.
- Pacientes en tratamiento con ETN con o sin MTX duración del tratamiento > 1 mes.
- Pacientes con AR con datos en HC de DAS28 basal, a los 3 meses y/o 6 y 12 meses de inicio tto ETN.
- Pacientes con AR con datos en HC de + ó - factor reumatoideo y anticuerpos anti péptido citrulinado en el periodo de tratamiento con etenercept.
- Haber leído y firmado el consentimiento informado.

Criterios de exclusión.

- Pacientes menores de 18 años durante el tratamiento con etanercept.
- Pacientes con ausencia de datos del DAS28 o de serología (factor reumatoide y anticuerpos anti péptido citrulinado) en HC en el momento en el que empezaron terapia con ETN.
- Pacientes con una duración del tratamiento con ETN no superior a los 3 meses.
- Pacientes que no firmen el consentimiento informado

Variables de estudio. Clínicas.

- Eficacia clínica del tratamiento de AR con ETN:
 - Objetivo Biomarcador (OB) (estudio retrospectivo)
 - Objetivo Farmacocinético (OF) (estudio prospectivo)

- Tto AR: (Historia Clínica)

- Régimen posológico
- Toxicidad
- Respuesta: DAS28
 - OB basal, 6 , 12 meses.
 - OF basal, 1, 3, 6 meses.

Respuesta óptima $\downarrow \Delta$ DAS28 de 2

Tipos de respuesta (EULAR):

a) **Buen respondedor:** DAS28 a los 3 ó 6 meses $< 3,2$ y Δ DAS28 $> 1,2$

b) **No respondedor:** Δ DAS28 a los 3 ó 6 meses $< 0,6$ o Δ DAS28 $\leq 1,2$ y DAS28 final tto $> 5,1$

c) **Respondedor moderado:** Δ DAS28 a los 3 o 6 meses entre 1,2 y 0,7. DAS28 final tto entre 3,2 y 5,1.

Variables de estudio. Clínicas. Co-variables

- Co-tratamiento MTX + ETN.
- Presencia de factor reumatoideo (si/no)
- Anticuerpos antipéptido citrulinado (si/no)
- Edad
- pinzamiento articular (si/no),
- nódulos reumatoideos (si/no)
- manifestaciones extraarticulares (si/no)
- erosiones (si/no)
- fumador (si/no)
- duración de la enfermedad (años) Al inicio Tto.
- Sexo.
- toxicidad al tratamiento con etanercept (si/no) o metotrexato (si/no).

Variables de estudio. Genéticas.

- Como objetivo principal: Genotipo rs6427528 (A/G) gen CD84.
- Como variables del objetivo secundario y búsqueda de haplotipos se determinarán:

ARRAY de polimorfismos según evidencias previas:

TNFSF1b polymorphism (rs1061622); TNFR1A (rs767455); PDZD2 (rs1532269); EYA4 (rs17301249); TNF- α locus haplotype (-238G (rs361525)/-308G (rs1800629)/-857C (rs1799724); Fcgamma RIIIA-158(rs396991); Fcgamma RIIA (rs1801274); IL-10 -819 (rs1800871) and -1082 (rs1800896); NELL1 (rs10833455, rs10833456, rs7932820); MAGI2 (rs10265155, rs1990099); CNTN5 (rs1813443, rs1813443); LOC100130480 (rs4411591); PDE3A-SLCO1C1 locus (rs3794271); STAT4: rs7574865; PTPN22: rs2476601; IL-6 receptor soluble: rs8192284; IL-6: rs1800795; IL4: rs2070874; TRAILR1: rs20575; MAP2K6 (rs2716191); PTPRC (rs10919563); *MTHFD1* (rs17850560); *AMPD1* (rs17602729); *ITPA* (rs1127354); *ATIC* (rs2372536); *MTHFR* (rs1801133); *MTHFR* (rs1801131); DHODH (rs3213422); CYP1A2*1F (rs762551)

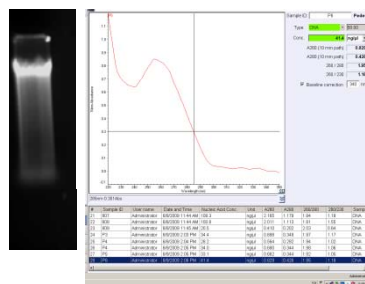
Variables de estudio. Genéticas.

- **EXTRACCIÓN DE DNA GENÓMICO Y GENOTIPADO:**
- **PARTICIPACIÓN DE 15-20 CENTROS: 15-20 PACIENTES POR CENTRO**
- DNA de sangre periférica con el kit comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Madrid).

Cuantificación y análisis de integridad y pureza

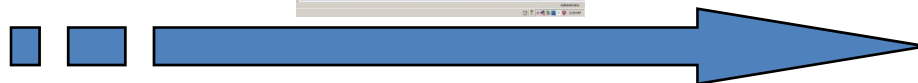


Extracción
de DNA



Ratio de pureza aceptable de
absorción

$$260\text{nm}/280\text{nm} = 1.8-1.98$$



- Sangre venosa periférica (5ml aproximados). En tubo SIN GEL y con anticoagulante (el tubo de tapón lila para gasometrias)

- La extracción puede realizarse en cualquier momento del estudio.

- Las muestras se almacenarán en el mismo tubo sin procesar a -20°C hasta el momento del envío al laboratorio central

- Una vez reclutadas todas las muestras en cada uno de los centros, estas se enviarán todas juntas al centro de análisis.

Dirección de envío:

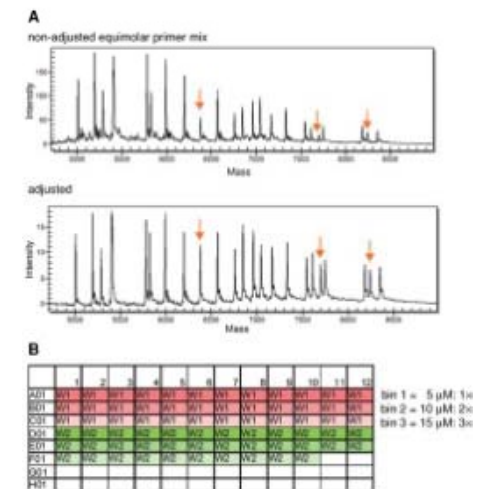
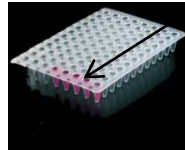
Avenida tres cruces nº2, Fundación de Investigación del hospital general de valencia, Hospital general de valencia, pabellón B, 4ª planta; CP: 46014, Valencia

IDENTIFICAR LOS DIFERENTES SNPS.

- El genotipado se realiza por espectroscopía de masas (MALDI-TOF) utilizando la plataforma Sequenom®.
- Se externaliza el genotipado en la Unidad Central de Investigación de la Universidad de Valencia



Cada pocillo admite una muestra de ADN y hasta 40 pares de primers para la detección de 40 SNPs diferentes



Variables de estudio. Farmacocinéticas.

- Objetivo Farmacocinético se determinará mediante técnica ELISA de TheraDiag®.
 - Cp valle ETN : 1, 3 y 6 meses.
 - Cp valle Anti-ETN : 1 , 3 y 6 meses.

NÚMERO DE CENTROS PARTICIPANTES: MÍNIMO DE 10 CENTROS

CADA HOSPITAL DEBE INCLUIR AL MENOS 5 PACIENTES

Variables de estudio. Farmacocinéticas.

CONDICIONES DE EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA Y ALMACENAMIENTO Y ENVÍO

- Tipo de muestra: suero tubo 10 mL con separador de gel.
- Tiempo de muestreo
 - Muestras en valle previo a la dosis.
- Tratamiento de muestra
 - Centrifugar a Tª ambiente.
 - Alicuotar en 3 tubos 3 ml de polipropileno.
- Almacenamiento: -80°C
- Condiciones de envío: Una vez reclutados los 5 pacientes por centro se contactará con IP coordinador:
 - Dirección de envío:
Patricio Más Serrano
Hospital General Universitario de Alicante

Variables y Análisis de datos PG

SNP

Respuesta tto ETN

Toxicidad tto ETN

MTX

~~MTX~~

test χ^2 por medio de modelo
de frecuencia alélicas
seguida de corrección
bonferroni mediante test
SPSS 17.0

- Sexo
- Edad
- DAS28
- daño articular
- factor reumatoideo
- AcAPC

Modelo de regresión logística
SPSS 17.0

Análisis de datos.

Parámetros PK poblacionales :

- fijos
- Var. Interindividual.
- Var. Intraindividual.

Método paramétrico
NONMEM v 7.2

Método no paramétrico
BigWinPops USC*PACK

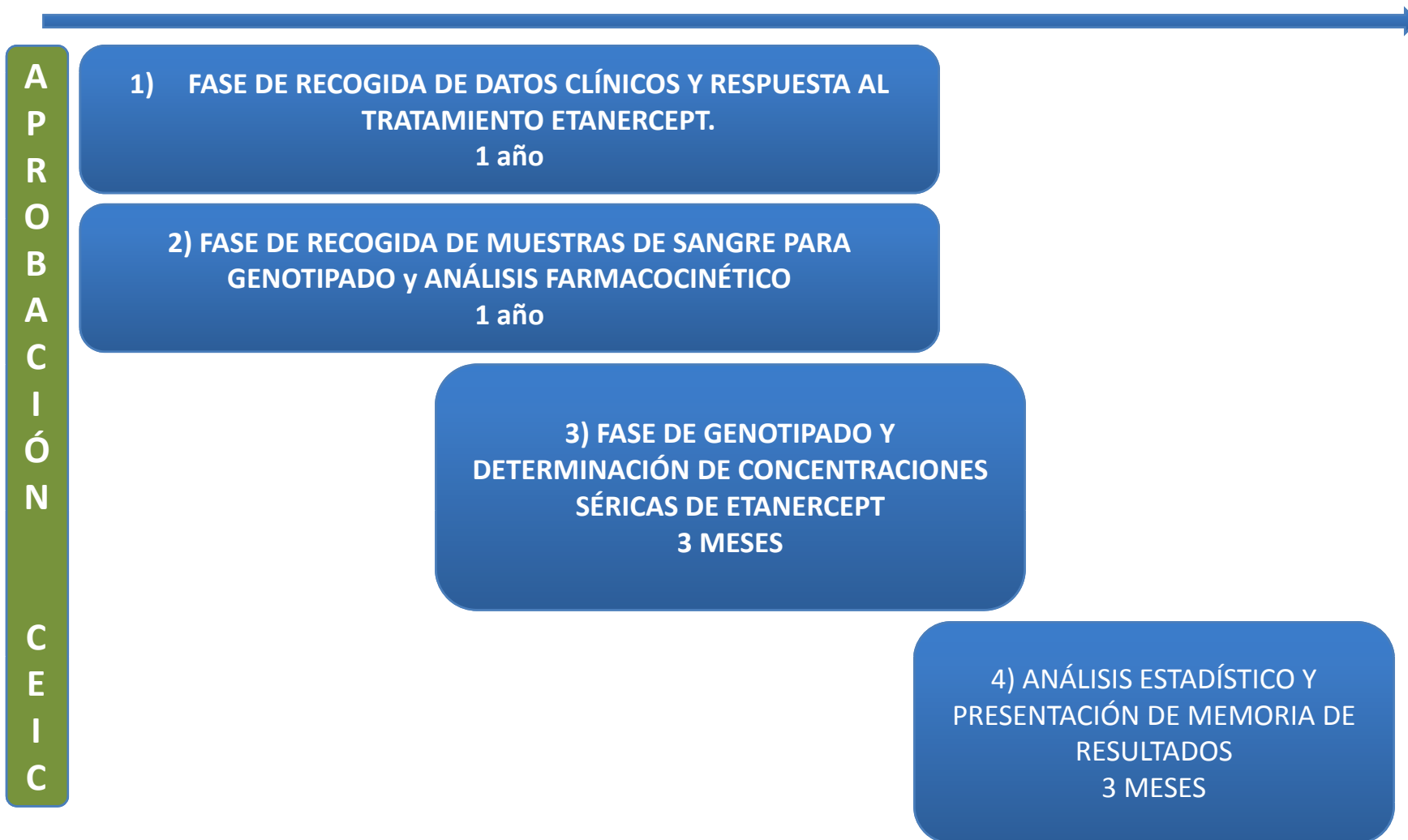
* Validación interna de modelos.

- Eficacia
- Cp

test χ^2 y ods ratio. SPSS 17.0.

Cronograma.

2 AÑOS



CRD.

Demográficos:

Peso (kg):

Talla (cm):

Fecha nacimiento: __ / __ / ____

Sexo:

☐ Hombre.

☐ Mujer.

Parámetros farmacogenéticos.

Tratamiento etanercept:

Fecha inicio tto: __ / __ / ____

Genotipo rs6427528 del gen CD84.

☐ A ☐ G

Regimen posológico:

etanercept			
Fecha inicio	dosis	intervalo	fecha fin

CRD.

Respuesta

DAS28

BASAL	1 MES	3 MESES	6 MESES	12 MESES

4) Variables farmacocinéticas:

Fecha	Concentración plasmática etanercept. (valle)	
1 mes __ / __ / ____		
3 meses __ / __ / ____		
6 meses __ / __ / ____		

CRD.

Medicación crónica concomitante desde 5 días anteriores al inicio tratamiento:

FÁRMACO	PAUTA POSOLÓGICA		VÍA	FECHA INICIO	FECHA FIN	INDICACIÓN
	DOSIS	INTERVALO				

CRD.

Acontecimientos adversos:

	Inicio		Final				
ACONTECIMIENTO ADVERSO	Fecha	Hora	Fecha	Hora	INTENSIDA D (1)	RELACION CAUSAL (2)	ACTITUD (3)

(1) Leve, moderada, grave y mortal.

(2) Definida, probable, posible, condicional (Según ANEXO II del protocolo).

(3) Si se necesita tratamiento concomitante, se debe anotar en la hoja siguiente.