



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

TÍTULO:

*DETERMINACIÓN DE FACTORES DE RIESGO PARA FALLA AL  
TRATAMIENTO CON FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD  
EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE DE INICIO RECIENTE.  
ESTUDIO DE CASOS Y TESTIGOS ANIDADO EN UNA COHORTE.*

TESIS QUE PRESENTA PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CAMPO  
DEL CONOCIMIENTO DE LAS CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA JORGE ROJAS SERRANO

TUTORES: Dr. Rubén Burgos-Vargas  
Dra. Florencia Vargas-Vorácková

Ciudad Universitaria, octubre de 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	9
3. JUSTIFICACIÓN	9
4. HIPÓTESIS	10
5. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA	10
6. DISEÑO	11
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	14
8. RESULTADOS	16
9. DISCUSIÓN	25
10.ANEXOS	31
11.PUBLICACIÓN	56

## **INTRODUCCION**

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria autoinmune, que afecta a las articulaciones diartrodiales periféricas, que sin tratamiento produce la destrucción articular ocasionando importante limitación física.(1) Es una enfermedad sistémica: el daño producido por la AR no se limita a las articulaciones y puede afectar órganos internos como pulmones, serosas, sistema nervioso periférico y vasos sanguíneos. Los pacientes con AR tienen mayor mortalidad al compararse con la población general, sobre todo por enfermedades cardiovasculares.(1) Afecta alrededor del 0.3 al 1% de la población mundial y en México es la enfermedad articular inflamatoria más frecuente.(2;3)

En los últimos años se ha comprobado que el curso natural de la AR es susceptible de ser modificado por diversos medicamentos (fármacos modificadores de la enfermedad, FARME).(4) Estos medicamentos han demostrado beneficio significativo en los síntomas y de manera muy importante, ésta mejoría se asocia con una disminución del daño articular y de la mortalidad. La disminución de la mortalidad es más evidente en aquellos pacientes que alcanzan una respuesta ACR 50 con tratamiento a base de metotrexato. (5-7)

Además de los FARME, se han desarrollado nuevos tratamientos biológicos que están dirigidos a componentes específicos del sistema inmunológico, estos agentes disminuyen las manifestaciones inflamatorias y la progresión radiográfica.(8) Sin embargo, el cambio más importante en el tratamiento de la AR es en el diseño de nuevas estrategias de tratamiento, las cuales consisten en el uso escalonado o combinado de varios FARME,(9) o bien el

uso de metotrexato con algún agente biológico. (10) Ambas estrategias resultan en un mayor número de pacientes que alcanzan una respuesta clínicamente significativa al compararlos con la terapia con un sólo FARME o un solo agente biológico. Estos resultados demostrados en ensayos clínicos controlados, se han visto reflejados en los pacientes de la práctica diaria, ya que los pacientes atendidos en las clínicas de artritis reumatoide en la década de los 90, se encontraban mejor clínica, radiográfica y funcionalmente al compararse con los pacientes de las mismas clínicas atendidos en décadas anteriores. (11)

A pesar de lo anterior, existe un grupo de pacientes que no alcanza una respuesta clínica según los índices clinimétricos del ACR o del EULAR(12;13). La proporción de pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente (menos de 5 años de evolución) que están dentro de este grupo y que son tratados con estrategias de tratamiento escalonado o con múltiples FARME es de un 18%.(9;14) Este grupo de pacientes al no alcanzar una buena respuesta terapéutica, tiene menor calidad de vida, mayor destrucción articular y potencialmente no se están beneficiando de la disminución de la mortalidad asociada con la respuesta a tratamiento con los FARME.

### **CONCEPTO DE FALLA A TRATAMIENTO EN LA ARTRITIS REUMATOIDE.**

Un avance fundamental en la evaluación de los distintos tratamientos para la AR, es la capacidad de medir objetivamente la respuesta a los mismos utilizando distintos métodos clinimétricos. Los métodos que se utilizan para este fin pueden dividirse en dos grupos: a) los métodos que evalúan si el tratamiento administrado produce una *respuesta clínicamente significativa*

en los pacientes con AR, como son el índice del ACR y del EULAR (12;13) y b) los índices que miden la actividad de la enfermedad como el DAS, DAS28, SDAI y CDAI.(12;15;16)

*El índice de respuesta del ACR clasifica de manera dicotómica a los pacientes en aquellos que presentaron respuesta a un tratamiento y en aquellos que tuvieron falla para alcanzar dicha respuesta. Originalmente fue propuesto para evaluar una mejoría de sólo un 20% en 5 de 7 items para clasificar a un paciente como con una respuesta ACR 20. Debido a la mejoría en el tratamiento de la AR, el índice ha sido ampliado a metas más ambiciosas, como la mejoría de un 50% o de un 70% (respuestas ACR 50 y ACR 70 respectivamente). (17) En ensayos clínicos con tratamientos escalonados o combinados con FARME tradicionales, entre el 75% al 84% de los pacientes alcanzan una respuesta ACR 50, (9;14) por lo que a diferencia de décadas anteriores, el alcanzar esta meta terapéutica en una cohorte de pacientes con AR de inicio reciente, tratados con un esquema combinado a base de metotrexate y sulfasalazina parece factible. Es por esto que en este trabajo, se utilizó como desenlace principal en su análisis, la no respuesta ACR 50 o falla para alcanzar esta respuesta con el tratamiento como medida de desenlace principal. Además, como medida de desenlace adicional se analizó la no respuesta ACR 70 y la falla a alcanzar una actividad baja de la enfermedad según el índice CDAI, (puntaje de  $\leq 10$ ) (cuadro 1).*

**Cuadro1.** Fórmulas para el cálculo de CDAI y SDAI. (CDAI: clinical disease activity index; SDAI: simplified disease activity index)

CDAI: Suma algebraica de cuenta de articulaciones dolorosas (28 articulaciones) + cuenta de articulaciones inflamadas (28 articulaciones) + Evaluación de actividad del médico tratante (en centímetros con un decimal) + evaluación de actividad del paciente (en centímetros con un decimal).

SDAI: Suma algebraica de cuenta de articulaciones dolorosas (28 articulaciones) + cuenta de articulaciones inflamadas (28 articulaciones) + Evaluación de actividad del médico tratante (en centímetros con un decimal) + evaluación de actividad del paciente (en centímetros con un decimal) + valor de la proteína C reactiva.

Como interpretar el CDA, SDAI y DAS 28

Nivel de actividad de la artritis reumatoide	SDAI	CDAI	DAS28
Remisión	$\leq 3.3$	$\leq 2.8$	$< 2.6$
Actividad baja de la enfermedad	$\leq 11$	$\leq 10$	$< 3.2$
Actividad moderada de la enfermedad	$\leq 26$	$\leq 22$	$< 5.1$
Actividad alta de la enfermedad	$>26$	$>22$	$\geq 5.1$

## **FACTORES ASOCIADOS A LA FALTA DE RESPUESTA A UN TRATAMIENTO EN LA ARTRITIS REUMATOIDE.**

Hasta el momento existe controversia en cuanto a que factores *están asociados a la falla al tratamiento o la falta de respuesta clínicamente significativa según los índices de respuesta del ACR o del EULAR con FARME.*

(18) Los estudios publicados son difíciles de interpretar debido a la presencia de múltiples confusores al momento de iniciar tratamiento con

FARME o agentes biológicos. Dentro de los factores identificados a una falla para alcanzar una respuesta ACR 20 está el tiempo de evolución de la AR,(19) Anderson y cols. realizaron un meta-análisis en el que se encontró que los pacientes que iniciaban tratamiento con algún FARME 10 años después del inicio de la enfermedad, alcanzaban una respuesta clínicamente significativa en un 35%, a diferencia de los pacientes con menos de un año de evolución en los que el 53% alcanzaban esta respuesta ACR 20. Otro factor asociado con una falta de respuesta es el uso previo de otros FARME. (20) Esta asociación pudiera estar confundida con la cronicidad de la enfermedad o bien con una mayor gravedad de la misma.

El factor de cronicidad en la respuesta al tratamiento debe ser analizado cuidadosamente, ya que aquellos pacientes que inician tratamiento con un tiempo prolongado de evolución tienen daño crónico, esto es destrucción articular que por sí misma puede ocasionar dolor y limitación funcional, que no va a mejorar con los FARME. De tal manera que los pacientes con larga evolución, con uso previo de FARME en realidad no alcanzan una respuesta ACR 20 por el daño crónico acumulado.

Se han estudiado otros factores, entre ellos la presencia de marcadores inflamatorios, inmunogenéticos y los farmacogenéticos. Entre los primeros, ningún marcador de inflamación ha demostrado una asociación contundente con una falla a los FARME. (19-22) Los estudios que evalúan esta asociación son difíciles de interpretar por lo heterogéneo de los pacientes y del tiempo de evolución de la AR al iniciar los FARME. El factor reumatoide (FR) se ha asociado con un mayor daño articular y con la falla a 3 o más FARME. (23) Sin embargo, otros estudios no han encontrado que el FR influya en la respuesta



al tratamiento (24;25). Otros auto-anticuerpos que pudieran influir en la respuesta al tratamiento son los anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, sin embargo los anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados también comparten la misma base genética con el factor reumatoide, por lo que es probable que su papel como predictor de evolución sea limitado. El factor más estudiado es la presencia de los alelos HLA-DRB1 portadores del epitope compartido (EC). O'Dell describió que los pacientes portadores del EC tienen baja probabilidad de alcanzar una respuesta ACR 50 si son tratados con un solo FARME(25), por el contrario Mottonen (9) no encontró que la presencia del EC tuviera un valor pronóstico en la respuesta al tratamiento. Lard y cols.(26) también encontraron que los pacientes con EC tienden a responder bien a esquemas de tratamiento combinado y disminuyen la progresión del daño radiográfico. El tratamiento de la AR ha evolucionado de tal manera, que el uso de esquemas escalonados utilizando combinaciones de FARME, dirigidos a alcanzar una respuesta terapéutica (27) es cada vez más frecuente, por lo tanto el papel del EC como marcador de pronóstico es cuestionable.

Otra vía por la cual los pacientes con AR pudieran tener una mala respuesta a los FARME es la concerniente al metabolismo de los mismos. El fármaco más utilizado en el manejo de la AR es el metotrexato (MTX), por su eficiencia, su perfil de seguridad, el beneficio al largo plazo en la disminución de la mortalidad, a que se puede usar con otros fármacos o agentes biológicos en esquemas combinados. (5;14;28)Por lo anterior el estudio de los factores implicados en la falla al MTX es fundamental para el manejo de los pacientes con AR. Actualmente se sabe que los niveles séricos de metotrexato no

tienen una correlación directa con la eficacia del fármaco.(29) Sin embargo, los niveles intracelulares de poliglutamatos de metotrexato (PGTMTX) sí. (30) Los niveles elevados de PGTMTX en los leucocitos polimorfonucleares y eritrocitos correlacionan con la respuesta clínica al fármaco. Uno de los mecanismos de acción propuestos para el MTX es la inhibición por parte de los PGTMTX intracelular de la enzima transformilasa de ribonucleótido de aminoimidazol carboxamida (AICAR, por sus siglas en inglés), lo que ocasiona a su vez la inhibición de otras dos enzimas involucradas en el metabolismo de la adenosina: la adenosina de aminosasa y la AMP deaminasa. El resultado final es un aumento de la adenosina en los compartimentos intracelular y extracelular, que tiene un fuerte efecto anti-inflamatorio.

El metotrexato es transportado al espacio intracelular por el transportador de folatos reducidos-1 (TFR-1). Un polimorfismo de un solo nucleótido (PSN) en este gen pudiera dar lugar a variaciones en el transporte del metotrexato a nivel celular. El PSN del TFR-1G80A lleva a la substitución de una arginina por histidina en el codón 27 en el primer dominio transmembrana de la proteína TFR-1.(31) Existe información discordante al respecto de si este polimorfismo altera el flujo de MTX al interior de las células, (32;33) se ha informado que los pacientes con AR con un genotipo TFR 80 A/A tienen mayores concentraciones intracelulares de PGTMTX (32;33) y mejor respuesta terapéutica que los pacientes con los genotipos TFR G/A y TFR G/G. (34;35) La deficiencia en los estudios previamente citados, está en el método clinimétrico utilizado que es laxo y de que no se brinda información al respecto del ajuste en el análisis para otras variables confusoras, como el tiempo de evolución.

---

Cuadro 1. Gen con polimorfismo de un solo nucleótido evaluado en este proyecto, como candidato a estar asociado a una falta de respuesta ACR 50.

---

<b>Gen candidato</b>	<b>Locus del PSN</b>	<b>Función probablemente asociada con la falla a alcanzar una respuesta ACR 50</b>
TRF-1 (G80A)	21q22.3	Variaciones en el flujo del metotrexato al espacio intracelular, el genotipo TFR-1 80 A/A se ha asociado a mejor respuesta al tratamiento.

---

Por último, algunos factores ambientales pudieran estar implicados en la falla a la respuesta con FARME, el tabaquismo es un factor de riesgo ambiental documentado para la AR.(36) Al revisar diversos estudios de cohortes, el tabaquismo es un factor de riesgo para la mayor gravedad de la enfermedad y la presencia de manifestaciones sistémicas.(37-41) Más recientemente, en modelos de respuesta a metotrexato, el tabaquismo se ha sido asociado como un factor de mala respuesta al tratamiento,(16) sin embargo, el estudio citado tiene deficiencias en su análisis, ya que el análisis del modelo multivariado está claramente sobre ajustado y no se puede interpretar de manera adecuada la verdadera magnitud de la asociación. Debido a que es un factor potencialmente modificable, a que se ha asociado a mayor gravedad de la AR y de que es un factor asociado con riesgo a padecer AR, es necesario identificar si el tabaquismo se asocia a una mala respuesta a

FARME, en un estudio en el que se ajuste a todos los posibles confusores, incluyendo el tiempo de evolución y el esquema de tratamiento, además de utilizar métodos clinimétricos confiables.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Identificar los factores asociados a la falla a alcanzar una respuesta ACR50 a los 6 meses después de iniciado el tratamiento con FARME, en pacientes con AR de inicio reciente.

### **ESPECÍFICOS**

Estimar si existe asociación entre la falla al tratamiento definida ésta como la falla a alcanzar una respuesta ACR 50 a los 6 meses después de haber iniciado tratamiento con FARME en pacientes con AR de inicio reciente con:

- a) El PSN del TRF-1 (G80A)
- b) El tabaquismo definido como el acto de fumar un cigarro por día.

## **JUSTIFICACIÓN**

La AR es la enfermedad articular inflamatoria más frecuente en nuestro medio, actualmente existen tratamientos que son capaces de mejorar la sintomatología y el pronóstico, tanto en funcionalidad como en la supervivencia. Sin embargo, alrededor del 18% de los pacientes con AR de inicio reciente no responden adecuadamente a los tratamientos con FARME. Identificar los factores asociados a la falla tratamiento en la artritis de inicio

reciente nos permitiría diseñar o elegir esquemas especiales de tratamiento en este grupo de pacientes.

### **HIPOTESIS**

- a) Los pacientes con AR de inicio reciente con falla al tratamiento tienen mayor frecuencia (al menos un 20%) de PSN del TFR del tipo TFR G/A y TFR G/G al compararla con la de los pacientes con respuesta adecuada al tratamiento.
- b) Los pacientes con AR de inicio reciente con falla al tratamiento tienen mayor frecuencia, (al menos un 20%) de tabaquismo al compararlos con los pacientes con respuesta adecuada al tratamiento.

### **CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA.**

Para probar la hipótesis  $H_0: P1 = P2$  Vs.  $H_1: P1 \neq P2$ , para la alternativa específica  $| P1-P2 | = \Delta$ , con un nivel  $\alpha$  de 0.05 y un poder de 0.80, se utilizó la siguiente fórmula:

$$n_1 = \left[ \sqrt{p^- q^-} (1 + 1/k) Z_{1-\alpha/2} + \sqrt{p_1 q_1 + (p_2 q_2 / k) Z_{1-\alpha}^2} \right]^2 / \Delta^2$$

$$n_2 = k n_1$$

donde  $p_1, p_2 =$  probabilidad esperada del fenómeno a estudiar en ambos grupos, y  $q_1, q_2 = 1-p_1, 1-p_2$ .

$$\Delta = | p_1 - p_2 |$$

$$p^- = p_1 + k p_2 / 1+k$$

$$q^- = 1 - p^-.$$

K= 2.

Para probar la primera hipótesis, que es nuestro primer objetivo, y en base a que consideramos una delta de 0.20, con una proporción esperada en el grupo de estudio de 0.8 y en el grupo control de 0.60 de PSN del TFR del tipo TFR G/A y TFR G/G. En base a lo anterior se calcularon:

N1= 65

N2= 130.

## **DISEÑO**

Estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.

### **CENTRO DE CAPTURA DE LOS PACIENTES:**

Se incluyeron a los pacientes de la clínica ARRECIEN del servicio de reumatología del Hospital General de México. Esta clínica está diseñada para atender a pacientes con AR que al momento de su ingreso tienen menos de un año de evolución. Todos los pacientes reciben el mismo esquema de tratamiento combinado a base de MTX y sulfasalazina. Las modificaciones en las dosis de estos fármacos, o la decisión de cambiar el esquema es tomada por un reumatólogo *y tiene como objetivo alcanzar el control de la enfermedad*. En caso de que los pacientes hubieran recibido tratamiento previo con glucocorticoides, los pacientes son sometidos a un esquema de reducción con prednisona con el fin de suspender este fármaco a los 3 meses después del ingreso a la clínica.

Los pacientes tienen consultas frecuentes en las cuales se lleva a cabo la evaluación clinimétrica con los siguientes índices: HAQ, EuroQuol, escalas

visuales análogas de dolor y funcionalidad, y una escala visual análoga de actividad de la enfermedad de acuerdo al médico tratante. En cada consulta se les hace un conteo de 28 articulaciones inflamadas y dolorosas, así como pruebas de laboratorio de acuerdo al criterio del médico tratante, por lo que en base a esas mediciones, se puede determinar la respuesta de cada paciente de acuerdo a los índices clinimétricos del ACR y CDAI.(12;15;16) Las evaluaciones clínicas de conteo articular y de valoración de la actividad de la enfermedad las hizo un reumatólogo y se registraron en un formato pre establecido. Una vez que un paciente ha sido evaluado por un médico tratante, el mismo médico lleva a cabo el seguimiento. El utilizar esta cohorte nos permitió controlar para dos factores fundamentales: el tiempo de evolución de la enfermedad y el tipo e intensidad del tratamiento.

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

### **CASOS:**

- 1.-Pacientes con AR (ACR/87) de inicio reciente (menos de un año de evolución) atendidos en la clínica ARRECIEN
- 2.-Con falla para alcanzar una respuesta ACR 50 a los 6 meses de tratamiento.
- 3.-Pacientes mestizos mexicanos (descendientes de población indígena y caucásica, con al menos 2 generaciones de familiares nacidas en México.)
- 4.-Que tengan apego y seguimiento completo en la clínica ARRECIEN

### **TESTIGOS:**

- 1.-Pacientes con AR de inicio reciente atendidos en la clínica ARRECIEN.

- 2.- Pacientes mestizos mexicanos (descendientes de población indígena y caucásica, con al menos 2 generaciones familiares nacidas en México.)
- 3.-Con una respuesta ACR 50 a los 6 meses de tratamiento.
- 4.-Que tengan apego y seguimiento completo en la clínica ARRECIEN

### **EVALUACIÓN DE LOS PACIENTES.**

Se revisaron los expedientes de los pacientes de la clínica ARRECIEN y se registró si habían alcanzado o no una respuesta ACR 50 a los 6 meses de tratamiento. Se midieron las siguientes variables en la primera evaluación (las definiciones completas se encuentran en el anexo): edad, género, nivel de escolaridad, número de articulaciones inflamadas y dolorosas en una cuenta de 28 articulaciones, uso previo de glucocorticoides, nivel de proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, factor reumatoide por nefelometría, tabaquismo definido como el consumo de un cigarrillo al día, determinación de anti péptido cíclico citrulinado por ELISA, cifra de hemoglobina y leucocitos, y plaquetas al momento del ingreso a la clínica ARRECIEN. En cada evaluación se obtuvieron las variables necesarias para el cálculo del índice clinimétrico CDAI, para obtener una valoración de la actividad de la enfermedad, por último en la evaluación a los 6 meses de seguimiento, se determinó que pacientes habían alcanzado una respuesta ACR50 y cuales no.

### **GENOTIPIFICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEOTIDO**

En su primera evaluación, en caso de aceptar previa firma de consentimiento informado, se tomó una muestra de sangre total con EDTA para obtener ADN



y otra muestra en tubo seco para obtener suero para estudios serológicos. El ADN genómico se obtuvo con el Kit Qiagen DNA easy (Qiagen, Basilea, Suiza). La genotipificación del polimorfismo del gen TFR-1 (G80A) se realizó utilizando el ensayo de nucleasa 5' de TaqMan de Applied Biosystems. La amplificación con PCR se realizó con 25 µl que contienen 15 ng de ADN genómico, con 0.625 µl de 40X mezcla de ensayo y 8.8 µl de ADN/ ARN as libre de agua. Las secuencias de los cebadores y de las sondas TaqMan son las siguientes: para el cebador hacia adelante 5'-AGTGTCACCTTCGTCCCCTC-3' y para el cebador hacia atrás 5'-CTCCCGCGTGAAGTTCTT-3', junto con una mezcla de AmpliTaqGold (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: desnaturalización a 95°C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos de 92°C por 15 segundos y 60 °C por un minuto. Se utilizó un sistema de PCR de tiempo real de 96 placas WellGeneAmp 7500 (Applied Biosystems). Los individuos con el genotipo 80GG presentaron 3 fragmentos de 125 pares de base, 68 pares de base y 37 pares de base respectivamente, los sujetos con el genotipo 80AA presentaron dos fragmentos: de 162 pares de base y de pares de base.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables continuas se describen como medias, medianas, desviaciones estandar, valores mínimos y máximos. Las categóricas con frecuencias y porcentajes. Las pruebas de hipótesis se realizaron con la prueba t de Student o la prueba de rangos sumados de Wilcoxon según corresponda. Las categóricas con la  $\chi^2$  o la prueba exacta de Fisher de acuerdo a su distribución probabilística. La fuerza de asociación de los distintos factores de

riesgo analizados con respecto a los desenlaces evaluados, se estimó con riesgos relativos con intervalos de confianza al 95%. Para analizar la existencia de interacciones se utilizó la prueba de homogeneidad de Mantel y Haenzel y para evaluar la presencia de confusores, se utilizó el método de Mantel y Haenzel para el cálculo de riesgos relativos ajustados a la presencia de un posible confusor ( $RR^{MH}$ ).

En el caso del análisis de polimorfismos, se realizó una prueba de  $\chi^2$  para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg, posteriormente se realizaron pruebas de  $\chi^2$  para evaluar la posible asociación de los polimorfismos con el desenlace evaluado, junto con el cálculo de RR. Todas las pruebas de hipótesis están a dos colas con un nivel  $\alpha$  del 5%.

#### **PRECEPTOS ÉTICOS A CONSIDERAR.**

Este es un estudio de casos y testigos en el cual no se realizó ninguna intervención terapéutica o quirúrgica. La toma de sangre no implica riesgo alguno para los pacientes. A todo paciente se le solicitó su consentimiento informado para la toma de muestras y estudio genético. Los pacientes tienen el derecho a no participar en el estudio si así lo desean y en dado caso, también tienen el derecho a abandonar el estudio, sin detrimento a su atención médica rutinaria. El estudio fue aprobado por los comités de ciencia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Ismael Cosío Villegas y del Hospital General de México, O.D. El estudio genético se realizó solamente en aquellos pacientes que así lo aceptaron y en todo momento se guardó la confidencialidad de los resultados.

## RESULTADOS.

Ciento cuarenta y cuatro pacientes de un total de 335 pacientes de la clínica ARRECIEN completaron el seguimiento de 6 meses y fueron incluidos en este trabajo. Las razones por las que no se incluyó al resto de los pacientes en el análisis de los resultados fueron la falta de apego al tratamiento, la pérdida del seguimiento o un seguimiento menor. Las características demográficas de los pacientes incluidos están en el cuadro 1. Las características generales de los pacientes no incluidos en el análisis final no difieren de las de la cohorte con seguimiento completo, a excepción del puntaje de la escala CDAI que fue mayor en el grupo de seguimiento completo, (mediana de 36.5 (22-50) vs mediana de 28 (16-44),  $p < 0.007$ ).

Cuadro 1. Características de los pacientes del estudio.

	<b>Pacientes n=144</b>
Edad (media $\pm$ DE) (años)	37.4 $\pm$ 12.23
Mujeres	127 (88)
Con falla para alcanzar una respuesta ACR 50	62 (43)
Años de escolaridad (mediana) (RIC)	9 (6 - 9)
Positivos al factor reumatoide	133 (92)
Positivos a los anticuerpos anti PCC	85/112 (76)

Puntaje del CDAI basal (mediana) (RIC)	36.5 (21- 49.5)
Tiempo de inicio de los síntomas a la primera evaluación (mediana) (RIC) (semanas)	24 (16-28)
Uso previo de glucocorticoides	59/135 (44)
Tabaquismo ( $\geq 1$ cigarro por día)	22/129 (17)

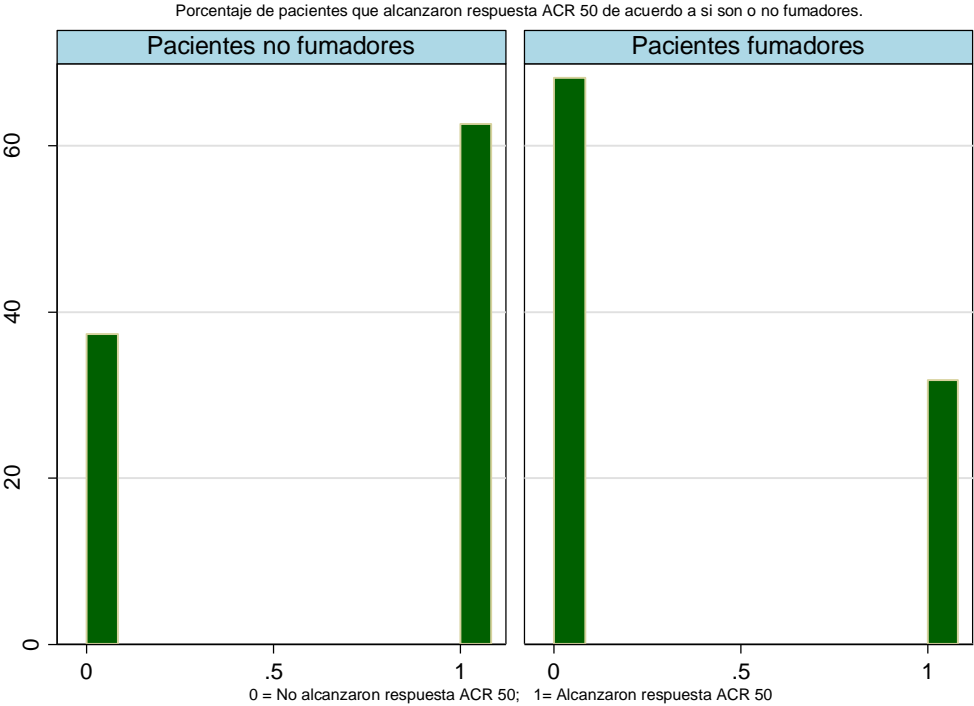
---

\*A menos que se indique otra cosa: n (%)

RIC: rango intercuartilar.

Sesenta y dos (43%) de los 144 pacientes que completaron el seguimiento a 6 meses no alcanzaron la respuesta ACR 50. Al realizar el análisis univariado, se encontró que el grupo de pacientes con falla para alcanzar una respuesta ACR 50 fue diferente al grupo que alcanzó ACR en la frecuencia de tabaquismo (cuadro 3). Los pacientes que fumaban tenían un riesgo de falla para alcanzar una respuesta ACR 50 de un 68.18% comparado con el riesgo de los no expuestos a este factor de un 37.38% para un RR de 1.82 (IC 1.25-2.65,  $P < 0.008$ ). La diferencia de riesgo es de un 30.79%, esta diferencia es clínicamente significativa. En la gráfica 1, se muestra la misma información desde una perspectiva diferente: se divide a los pacientes de acuerdo al estado de tabaquismo y se grafica el porcentaje de aquellos que alcanzaron una respuesta ACR 50 y los que no. La otra variable que mostró tendencia a la significancia es la educación formal, ( $P < 0.08$ , RR 1.43, IC 95%: 0.96- 2.13) ya que el 51% (24/27) de los pacientes que no terminaron la primaria, presentaron una falla para alcanzar una respuesta ACR 50, comparados con

el 35.5% (32/90) que no alcanzaron una respuesta ACR 50 de los pacientes que si terminaron la primaria.



Gráfica 1. Histograma del porcentaje de pacientes que alcanzaron una respuesta ACR 50 de acuerdo al estado de tabaquismo.

**Cuadro 3. Comparación entre los pacientes que alcanzaron respuesta ACR 50 y los que no alcanzaron dicha respuesta terapéutica.**

Variable	Sin respuesta ACR 50 n: 62	Con respuesta ACR 50 n: 82	P RR (95% CI)
Edad (media $\pm$ DE) años	37 $\pm$ 13.09	35.5 $\pm$ 11.6	0.5
Mujeres	55 (88.7)	72(87.8)	0.86 1.05 (0.57-1.92)
Fumadores	15/55 (27.3)	7/74(9)	<0.008 1.82 ( 1.25-2.65)
Uso previo de glucocorticoides	28/57 (49)	32/79 (39.7)	0.27 1.24 (0.84 – 1.84)
Uso de glucocorticoides a los 6 meses de seguimiento.	19/61 (31.15)	10/82 (12.2)	< 0.006 3.25 $\text{¥}$ (1.28- 8.56)
Positivos al factor reumatoide	56/62 (90)	77/82 (94)	0.42 0.77 (0.-2643- 1.37)
Puntaje de CDAI basal (mediana) (RIC)	36.5 (22-50)	38 (21-49)	0.67
Puntaje de CDAI a los 6 meses (mediana) (RIC)	17.5 (12-29)	4 (2-6)	<0.0001
Pacientes con $\leq$ 6 años de educación formal	24/56 (42%)	23/81 (28)	<0.08 1.43 (0.96-2.13)
Tiempo de inicio de síntomas (mediana) (RIC) (semanas)	24 (13-32)	24 (16-26)	0.32

\*A menos de que se indique otra cosa: n (%)

RIC: rango intercuartil

$\text{¥}$  Razón de momios.

Posterior a este análisis, se realizó la evaluación de la posible interacción de estas dos variables mediante la prueba de homogeneidad de Mantel y Haenzel. Los resultados de este análisis estratificado están en el cuadro 4. En resumen, la prueba de homogeneidad de Mantel y Haenzel tuvo un resultado de  $P < 0.18$  lo que descarta la presencia de interacción, el  $RR^{MH}$  de la asociación entre el tabaquismo y la falla a alcanzar una respuesta ACR 50 una vez ajustado a si los pacientes había terminado o no la primaria se estimó en 1.95 (IC 95%: 1.32- 2.89).

Cuadro 4. Asociación entre el tabaquismo y la falla para alcanzar respuesta ACR 50, una vez ajustada al nivel de escolaridad. (> 6 años de escolaridad formal). El RR crudo es de 1.82 (IC 95%: 1.25 – 2.65), el  $RR^{MH}$  es de 1.95 (IC 95%: 1.32 – 2.89).

Nivel de educación formal.	Tabaquismo	Sin respuesta ACR 50	Con respuesta ACR 50	Total	RR (95% CI)
> 6 años de educación formal.	Fumadores	9	4	13	2.5 (1.46 - 4.26)
	No fumadores	18	47	65	
	Total	27	52	78	
≤ 6 años de educación formal	Fumadores	6	3	9	1.45 (.81 – 2.62)
	No fumadores	16	19	35	
	Total	31	13	44	

Después se analizó la asociación entre el tabaquismo, la baja escolaridad (< 6 años de escolaridad formal) y su asociación con la falla a alcanzar una respuesta ACR 70. En este análisis se encontró una modificación del efecto (interacción) con respecto al nivel de educación formal. El resultado se presenta en el siguiente cuadro:

CUADRO 5. Asociación entre el tabaquismo y la falla para alcanzar una respuesta ACR 70, una vez ajustado para el nivel de escolaridad. (< 6 años de escolaridad formal). En este caso, la asociación entre el tabaquismo y la falla para alcanzar una respuesta ACR 70 sufrió de una modificación del efecto (interacción) con la baja escolaridad formal (prueba de homogeneidad de Mantel y Heanzel < 0.06), de tal manera que se presentan sólo los RR de los dos estratos de escolaridad.

Nivel de educación formal	Estado del tabaquismo	Sin respuesta ACR 70	Con respuesta ACR 70	Total	RR (95% CI)
> 6 años de educación formal	Fumadores	12	1	13	1.53 (1.19 - 1.98)
	No fumadores	39	26	65	
	Total	51	27	78	
≤ 6 años de escolaridad formal	Fumadores	6	3	9	.99 (.56 - 1.55)
	No fumadores	25	10	35	
	Total	31	13	44	



Prueba de homogeneidad de Mantel y Haenszel,  $P < 0.06$ .

Los resultados son muy similares a los observados al utilizar como variable de desenlace la falla a alcanzar un nivel bajo de actividad ( $< 10$  puntos) de la escala CDAI a los 6 meses de seguimiento. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Asociación entre el tabaquismo y la falla para alcanzar un nivel bajo de actividad de la escala CDAI, una vez ajustado para el nivel de escolaridad ( $< 6$  años de escolaridad formal). En este caso, la asociación entre el tabaquismo y la falla para alcanzar un nivel bajo de actividad según el índice CDAI tiene una interacción con la baja escolaridad formal (prueba de homogeneidad de Mantel y Heanzel  $< 0.057$ ).

Nivel de educación formal	Estado del tabaquismo	Pacientes que no alcanzaron un nivel de actividad bajo según el índice CDAI	Pacientes que alcanzaron un nivel bajo de actividad según el índice CDAI	Total	RR (95% CI)
> 6 años de educación formal	Fumadores	7	6	13	2.33 (1.19 - 4.56)
	No fumadores	15	50	65	
	Total	22	56	78	
$\leq 6$ años de escolaridad formal.	Fumadores	6	3	9	.77 (.28 - 2.11)
	No fumadores	15	2	35	
	Total	21	23	44	

Prueba de homogeneidad de Mantel y Haenszel,  $P < 0.057$

## **RESULTADOS DEL ANÁLISIS GENÉTICO.**

De los 144 pacientes, noventa y tres dieron su consentimiento informado para realizar el análisis genético. En una primera fase, la frecuencia de los genotipos del TRF1 de 61 de estos 93 pacientes fue estimada de la siguiente manera: TRF G/G en 21 (34%), TRF G/A en 35 (56%) y TRF A/A en 6 (10%). La prueba del equilibrio de Hardy Weinberg no fue estadísticamente significativa ( $P < 0.40$ ). Al analizar la hipótesis de que los pacientes sin respuesta ACR 50 tendrían mayor frecuencia de los genotipos TRF-G/A o G/G, se encontró que estos genotipos estaban presentes en 55/61 sujetos evaluados y que el riesgo estimado para no alcanzar una respuesta ACR 50 en los sujetos con estos genotipos fue de 0.6, para un RR de 1.2, con IC al 95% de .52 a 2.74,  $P < 0.7$ , por lo que no se rechazó la hipótesis de nulidad. La frecuencia detallada de los genotipos de acuerdo a si los pacientes habían presentado o no una respuesta ACR 50 está en el cuadro 7, en este cuadro se hace un análisis complementario con una prueba de Fisher R x C, mismo que es congruente con el análisis anterior. Debido a que el resultado fue completamente diferente al esperado, se decidió no hacer la genotipificación en el resto de las 32 muestras restantes. Debido a que no hay ninguna diferencia entre la frecuencia de los alelos y la respuesta ACR 50, además de que no existe ninguna evidencia de que estos alelos se asocien a tabaquismo este resultado no es necesario ajustarlo a confusor.

Cuadro 7. Frecuencia de los genotipos de los polimorfismos de un solo nucleótido del TRF-1 de acuerdo a si presentaron respuesta ACR 50 o no, la frecuencia de la distribución de los polimorfismos fue la misma en ambos grupos. La prueba de hipótesis se hizo con una prueba de Fisher RxC.

Genotipos de polimorfismos de un solo nucleótido	Sin respuesta ACR 50 n:36	Con respuesta ACR 50 n:25	P
TFR G/G	12 (33%)	9 (36%)	
TFR G/A	21 (58%)	13 (52%)	<0.81
TFR A/A	3 (9%)	3 (12%)	

## DISCUSIÓN

En este trabajo se encontró que el tabaquismo está asociado a la falla para alcanzar una respuesta ACR 50 en pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. La diferencia de riesgo encontrada entre los pacientes con tabaquismo y los que no fuman con respecto a no alcanzar una respuesta ACR 50 es de un 30%, esta diferencia es importante desde el punto de vista clínico. Los resultados del análisis genético no fueron acordes con la hipótesis de que los polimorfismos del TRF-1 están asociados al pronóstico en cuanto a la respuesta al tratamiento en AR.

El estudio tiene diversos mecanismos para ajustar a los probables confusores que pudieran estar modificando la asociación entre los factores de riesgo y el desenlace. Los pacientes están restringidos a la misma estrategia de tratamiento y tiempo de evolución, que son los dos principales confusores identificados en estudios previos.(42) Los pacientes del estudio tienen como máximo un año desde el inicio de los síntomas y recibieron tratamiento combinado con metotrexato y sulfazalasina, con una estrategia de tratamiento guiada de acuerdo a los puntajes de los distintos índices clinimétricos que se toman en cada consulta. (27) El mecanismo de restricción controla desde el diseño mismo del estudio para los confusores anteriormente mencionados y le da solidez a la asociación encontrada entre la falla a alcanzar una respuesta ACR 50 y el tabaquismo. El ajuste a confusor desde el punto de vista estadístico se llevó a cabo con el método de Mantel y Haenzel, en este análisis no se documentó la presencia de interacción o de confusor con la variable educación con respecto al desenlace principal del estudio.

El tabaquismo ha sido asociado como un factor de riesgo para desarrollar AR,(43-47) como un factor de riesgo a tener enfermedad grave y manifestaciones sistémicas (45;46;48-50) y recientemente, como un factor de mal pronóstico a la respuesta al tratamiento.(51-54) Recientemente se han publicado diversos estudios, con diferentes aproximaciones metodológicas, en los que se ha encontrado la asociación entre tabaquismo y la falta de respuesta clínicamente significativa al tratamiento de la AR. El primero de ellos, el estudio BARFOT es un estudio de cohorte y también tienen el mecanismo de restricción con respecto al tiempo de evolución, pero no está restringido a tratamiento y en éste, se encontró que el tabaquismo se asocia a menor respuesta al tratamiento según los criterios de respuesta del EULAR, ajustado al tiempo de evolución de los pacientes. Otro estudio de cohorte que también restringe para el tiempo de evolución, y que evalúa de manera separada a los pacientes con metotrexato y a los que recibieron tratamiento con agentes biológicos inhibidores de TNF- $\alpha$  es el estudio EIRA (54). En este estudio se reportó que tanto los pacientes con monoterapia con metotrexato y aquellos sometidos a tratamiento con inhibidores de TNF- $\alpha$ , tienen menor probabilidad de alcanzar una buena respuesta según el índice EULAR si es que son fumadores y por último, la evaluación de los sujetos incluidos en el ensayo clínico SWEFOT al brazo de monoterapia con metotrexato, (53) encontró que los factores de riesgo asociados con mayor probabilidad a no alcanzar una respuesta EULAR son el tabaquismo, además del sexo femenino, menor edad al momento del inicio de los síntomas y mayor tiempo de evolución con respecto al inicio del tratamiento. Todos los resultados anteriores, si bien tienen diferencias con respecto al método

clínico utilizado en la evaluación de los pacientes, son concordantes con los resultados de este estudio en que el tabaquismo está asociado a una baja probabilidad a alcanzar una respuesta clínicamente significativa y podemos añadir, que ésta falla o mala respuesta no es exclusiva a un solo tratamiento, ya este fenómeno se ha reportado al menos con monoterapia con metotrexato, agentes inhibidores de TNF- $\alpha$  y como en el presente estudio, combinaciones de FARMES. Los otros factores de riesgo encontrados en el análisis del ensayo SWEFOT no mostraron asociación en este trabajo.

Al analizar la asociación del tabaquismo con la falla a alcanzar una respuesta clínica más ambiciosa como la respuesta ACR 70 o un puntaje de CDAI por debajo o igual a 10, (actividad baja de la AR), se encontró una interacción con la variable baja escolaridad formal. La interpretación de este resultado es que en aquellos pacientes con más de 6 años de escolaridad formal, el tabaquismo se asocia con riesgo a no alcanzar una respuesta ACR 70 (RR 1.53 IC95%: 1.19 – 1.98), o un nivel de CDAI  $\leq$  10 (RR 2.33, IC 95%: 1.19-4.56). Sin embargo esta asociación no se documentó en aquellos pacientes con menos de 6 años de escolaridad formal, con este resultado únicamente podemos especular que, los pacientes con menos de 6 años de educación formal pudieran tener menor apego a tratamiento debido a diversos factores, que pudieran ser desde menor capacidad para entender las indicaciones médicas o menor acceso a medicamentos por diversos aspectos de su economía personal. Sin embargo, el hecho de que se confirmó la asociación en el estrato de mayor educación entre el tabaquismo y el riesgo a no alcanzar una respuesta ACR 70 o puntaje de CDAI  $\leq$  10, es acorde con todos los trabajos que reportan esta asociación.

El tabaquismo al parecer produce una respuesta inflamatoria a nivel pulmonar lo que produce un aumento en la actividad de las enzimas deamininasas de peptidil argininda, responsables de la modificación de la arginina a citrulina, este proceso pudiera dar lugar a una estimulación mayor del proceso inflamatorio de la AR.(55) Otra posible explicación es que los pacientes con tabaquismo tienen mayor prevalencia de periodontitis causada por la porfiromona gingivalis, agente que tiene deamininasas de peptidil arginina, que pudieran estar provocando el proceso de citrulinización.(55) Es importante mencionar que el tabaquismo sólo se ha asociado con la AR seropositiva, en esta cohorte, alrededor del 90% de los pacientes son seropositivos a factor reumatoide o a los péptidos citrulinados.

En cuanto a los resultados del análisis genético, no se documentó la asociación propuesta con los polimorfismos del TRF-1 G80A.(34;56;57) Este fenómeno ha sido una constante de los estudios de asociación genética. Si bien es cierto de que no se terminó la tipificación de las muestras obtenidas, el resultado de las muestras tipificados no son acordes con alguna tendencia hacia la hipótesis planteada en el protocolo del estudio. Por este motivo se decidió no desperdiciar recursos y no tipificar las muestras faltantes. En cuanto al porque de estos resultados, lo primero que debemos mencionar es que en el reporte original de esta probable asociación, el método clinimétrico utilizado es laxo y poco confiable.(57) En el caso del presente estudio, el método clinimétrico y el análisis estadístico es confiable y riguroso.

Todo estudio de análisis genético tiene riesgo de estratificación poblacional. Para disminuir este riesgo en el presente estudio, los pacientes incluidos se restringieron a la definición de mestizo mexicano, que es que el individuo

cuya familia tiene al menos dos generaciones nacidas en México. Este mecanismo si bien no es perfecto, ayuda a controlar para este posible efecto confusor. El uso de otros métodos para controlar la estratificación como el control genómico, método estadístico que a manera similar de las múltiples comparaciones hace más estricta la definición de lo que es estadísticamente significativo, no fue considerado como adecuado y es sujeto a críticas en el concepto mismo, ya que el confusor es un sesgo, y ningún sesgo puede ser corregido desde el punto de vista estadístico. Otro punto que vale la pena comentar es el referente a si los resultados deben ser limitados al estrato de la población mestizo mexicana. Al respecto se ha propuesto que los resultados y las conclusiones de los análisis farmacogenéticos se limiten a las poblaciones de donde se obtiene la muestra,(58) esto también debe ser tomado en cuenta al interpretar los resultados de este trabajo.

Por último, cabe comentar las limitantes del estudio, en primer lugar la falta de un método de control estricto en cuanto a la toma de los medicamentos por parte de los pacientes, si bien en cada consulta el médico tratante hace un interrogatorio intensivo en cuanto al apego al tratamiento por parte de los pacientes, es probable de que no se haya identificado la falta de apego al mismo, sobre todo en el estrato de pacientes con menos de 6 años de escolaridad formal. Otra limitante es que se dejó a fuera del análisis a 191 pacientes por diversos motivos. Cabe mencionar que en la comparación de los pacientes incluidos con respecto a los que no fueron analizados en este estudio no se encontró una diferencia significativa, salvo en que los pacientes incluidos tenían mayores puntajes de la escala CDAI.



En conclusión, en esta tesis se identificó al tabaquismo como un factor independiente asociado a riesgo de presentar una falta de respuesta clínicamente significativa, definida como una respuesta ACR 50. El resultado de otros estudios publicados recientemente son acordes con esta conclusión. Los PSN del TRF-1 G80A no mostraron asociación con respecto a la respuesta al tratamiento en AR de menos de un año de evolución.

## Anexo I

### VARIABLES:

#### Variables dependiente:

**Falla al tratamiento:** Se define como la falla para alcanzar una respuesta ACR 50 según el índice clínicométrico del ACR, Tipo de variable: nominal, dicotómica: Si (1) o No (0).

Tipo de variable: nominal, dicotómica: Si (1) o No (0).

El índice clinimétrico ACR 50 consiste en 7 ítems:

<b>Medida de Actividad</b>	<b>Método de Evaluación</b>
Cuenta de articulaciones dolorosas	Evaluación de 28 o más articulaciones, la cuenta de articular debe ser realizada al presionar o manipular la articulación en el examen físico. La cuenta articular se realiza en base a una dicotomía de si una articulación es dolorosa o no.
Cuenta de articulaciones con derrame	Evaluada en 28 o más articulaciones, esta es también una dicotomía en base si está o no inflamada una articulación.
Evaluación de la percepción de dolor por parte del paciente	En base a una escala visual análoga, o una escala de Likert que evalúe el nivel de dolor del paciente
Evaluación global del paciente de la actividad de la	Evaluación genral de la actividad de la enfermedad por medio de la pregunta del AIMS: "Considerando todas las maneras en que la artritis

Enfermedad	la afecta, marque una X en la escala por que bien Ud se siente” Se acepta también una escala visual análoga de 10 cm o una escala de Likert
Evaluación Global de la actividad de la enfermedad por parte del médico tratante	Evaluada por escala visual análoga (10 cm) o por medio de escala de Likert.
Evaluación de la función física	Evaluada por cualquier instrumento que haya sido validado, tenga consistencia y sensibilidad al cambio. Algunos de los índices utilizados aquí son el AIMS y el HAQ
Evaluación de reactante de fase aguda	Evaluada por velocidad de sedimentación globular o proteína C reactiva.

---

La mejoría ACR 50 se define como:

Forzoso: Mejoría de  $\geq 50\%$  en la cuenta de articulaciones dolorosas e inflamadas.

Más la mejoría de  $\geq 50\%$  en al menos 3 de las siguientes:

Percepción del dolor por parte del paciente.

Evaluación global del paciente

Evaluación global del médico

Evaluación de la función física.

Reactante de fase aguda.

**Criterios del ACR/87:** Variable Nominal, dicotómica.

0) Ausentes, 1) Presentes

Criterios de la ACR 1987 en la visita 1.

1.- Rigidez matutina	Rigidez matutina en y alrededor de las articulaciones, durando al menos una hora para la mejoría máxima
2.-Artritis en 3 o más áreas articulares	Edema de tejidos blandos o líquido ( excluyéndose crecimiento óseo) detectado por médico, presentándose simultáneamente por al menos 6 semanas ( IFP, MCF, carpos, codos, rodillas, tobillos, MTF).
3.-Artritis en articulaciones de manos	Inflamación de carpos, MCF o IFP por al menos 6 semanas
4.-Artritis simétrica	Afección simultánea de las mismas áreas articulares (definidas en 2) en ambos lados del cuerpo (afección bilateral de IFP, MCF, o MTF es aceptable aun sin una simetría absoluta) por lo menos 6 semanas.
5.-Nódulos reumatoides	Nódulos subcutáneos sobre prominencias óseas, superficies extensoras o en regiones yuxta articulares, detectadas por un médico.
6.-Factor reumatoide	Detectado por método positivo en < del 5% de los controles sanos.
7-Cambios radiográficos	Típicos de AR en radiografías de manos y

	muñecas. Debe incluir erosiones o descalcificaciones óseas localizadas en o alrededor a la articulación afectada, ( No califican cambios únicos de OAD ).
--	---

Para cumplir los criterios, el paciente debe tener presente al menos 4 items.

**Variables Independientes:**

**Sexo:** en base a la apariencia externa

Tipo de variable: nominal, dicotómica: Masculino (1), Femenino (0)

**Edad:** edad del paciente al inicio de los síntomas.

Tipo de variable: dimensional, medida en años.

**Escolaridad:** Medida en años de escolaridad formal

Tipo de variable: cuantitativa, medida en años de escolaridad formal.

**Evolución:** Medida en meses de evolución.

Tipo de variable: ordinal, de 0 a 12.

**Articulaciones inflamadas en la primera visita:** Definida como articulación inflamada en la primera visita, documentada por médico reumatólogo (presencia de derrame articular, con o sin dolor y limitación funcional, sin antecedente de trauma).

**Rigidez articular matutina:** Esta se evaluará de dos maneras.

a) Variable nominal, dicotómica, Presente (1), Ausente (0).

b) Variable dimensional, en minutos.

La presencia de ambas se obtendrá por interrogatorio, realizado por reumatólogo.

**Uso previo de corticoesteroides:** si el paciente había utilizado glucocorticoides previo a la primera visita.

**Tabaquismo:** Dicotómica 1) positivo, 0) negativo, se define como el sujeto que fuma al menos un cigarro al día.

Tipo de variable: nominal, dicotómica, Si (1), No (0).

**Cuenta articular:** A cada paciente se le realiza al momento de su ingreso a la clínica ARRECIEN un conteo articular de 68 articulaciones, que se exploraran cada una por un médico reumatólogo.

El conteo articular se divide en dos:

**Cuenta de articulaciones dolorosas:** Es el número de articulaciones dolorosas que se encuentran a la exploración física, al presionar cada articulación con los pulgares, hasta que la parte sub ungeal del explorador cambia de color, del rosado al blanco

Tipo de variable: dimensional, de 0 a 68.

**Cuenta de articulaciones con derrame articular:** Es el número de articulaciones con derrame articular, documentadas por médico reumatólogo en la exploración física.

Tipo de variable: dimensional, de 0 a 68.

**Hemoglobina:** valor de hemoglobina en g/dL documentado por citometría hemática.

Tipo de variable: dimensional, expresada en g/dL.

**Plaquetas:** cifra documentada en citometría hemática, expresada K/ $\mu$ L.

Tipo de variable dimensional.

**Velocidad de Sedimentación globular:** Realizada por el método de Wintrobe.

Tipo de variable: dimensional, valores mayores a 0,

Esta variable se expresará también como nominal, dicotómica: normal (0), elevada (1).

**Proteína C reactiva nefelometría:** Valor de proteína C reactiva determinado por nefelometría.

Tipo de variable: dimensional,

Ésta variable también se expresa en una escala nominal, dicotómica: normal (0), elevada (1).

### **Factor reumatoide**

Factor reumatoide IgM por nefelometría: Determinado por nefelometría, se solicita de rutina en la primera evaluación,

Tipo de variable: dimensional, expresada en unidades por dL.

También se codificará a esta variable como nominal, dicotómica. Normal (0), elevada (1).

**Anticuerpos anti-peptidos cíclicos citrulinados:** Se determinará por el método de ELISA de segunda generación (EUROINMUN/diagnostics). Se expresará de dos maneras:

Variable dimensional, en unidades arbitrarias.

Variable nominal, dicotómica: No elevados (0), elevados (1).

### **Presencia de polimorfismos de un solo nucleótido:**

Se determinará por medio de PCR la presencia de PSN para las siguientes:

- a) PSN del TFR del tipo TFR G/A y TFR G/G
- b) Variables nominales; 0= ausentes, 1) presentes.

**Hoja de Recolección de datos:**

**Determinación de factores de riesgo para falla al tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente.**

**Estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.**

**EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON ARTRITIS REUMATOIDE DE INICIO RECIENTE**

CLAVE DEL ESTUDIO: \_\_\_\_\_

Registro HGM: \_\_\_\_\_

Fecha de ingreso ARRECIEN (dd/mm/aaaa):

\_\_ \_\_ / \_\_ \_\_ / \_\_ \_\_ \_\_ \_\_

Fecha de la Evaluación actual: \_\_ \_\_ / \_\_ \_\_ / \_\_ \_\_ \_\_ \_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad del paciente al ingreso a la clínica ARRECIEN: \_\_\_\_\_ (años cumplidos)

Genro: 0) Femenino 1) Masculino

Grupo étnico: Mestizo mexicano 0) No 1) Si

Si el paciente no es mestizo mexicano, no prosiga con la captura de datos.

Teléfono: \_\_\_\_\_.

Años de escolaridad formal:

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |

Evolución (semanas de evolución al momento del inicio del tratamiento):

| \_\_ | \_\_ |

Rigidez Articular Matutina (minutos): | \_\_ | \_\_ | \_\_ |

Clase funcional: | \_\_ |

¿Cumple criterios del ACR para AR?

0) No 1) Si

Número de criterios: | \_\_ |



En caso de no contar con criterios del ACR, el paciente tiene clínica de artritis reumatoide y anti - PCC positivos:

0) No 1) Si  
Clave del estudio: \_\_\_\_\_

En caso de que no se cumplan alguno de los dos criterios anteriores, descarte al paciente.

**DATOS DE LA PRIMERA EVALUACIÓN:**

Número de articulaciones Inflamadas en la primera evaluación (cuenta de 28 articulaciones):

|\_|\_|

Número de articulaciones dolorosas en la primera evaluación: (cuenta de 28 articulaciones):

|\_|\_|

Valor de la escala visual análoga del dolor en la primera evaluación:

|\_|\_|\_|

Valor de la escala visual análoga de la percepción de actividad de la enfermedad por parte del paciente

|\_|\_|\_|

Valor de la escala visual análoga de la actividad global de la enfermedad por parte del médico tratante.

|\_|\_|\_|

Evaluación de la función física por medio del HAQ:

|\_| . |\_|\_|\_|

Evaluación de reactante de fase aguda en la primera evaluación:

VSG: |\_|\_|\_|

PCR: |\_|\_|\_|·|\_|\_|

RESULTADOS DE EXÁMENES DE LABORATORIO, PRIMERA EVALUACIÓN:

Hemoglobina: |\_|\_|·|\_|

Clave del estudio: \_\_\_\_\_

Leucocitos: |\_|\_|·|\_|\_|\_|

Plaquetas: |\_|\_|\_|

Factor Reumatoide |\_|\_|\_|\_|

Anti-péptidos ciclicos citrulinados: |\_|\_|\_|\_|

Uso previo de glucocorticoides:

0) No 1) Si

DOSIS MÁXIMA DE METOTREXATO: |\_|\_|·|\_|

DOSIS MÁXIMA DE SULFAZALASINA : |\_|\_|\_|\_|

EFFECTOS ADVERSOS ASOCIADOS AL METOTREXATO 0) No 1) Si

CUAL: \_\_\_\_\_

USA CORTICOSTEROIRES 0) No 1) Si

Fármaco y dosis: \_\_\_\_\_ |\_|\_|·|\_| MG.

TABAQUISMO.

Fuma un cigarrillo por día

0) No 1) Si

### **EVALUACIÓN A LOS 6 MESES.**

Número de articulaciones Inflamadas a los seis meses de seguimiento (cuenta de 28 articulaciones):

|\_|\_|

Número de articulaciones dolorosas a los seis meses de seguimiento (cuenta de 28 articulaciones):

|\_|\_|

Valor de la escala visual análoga del dolor a los seis meses de seguimiento:

|\_|\_|\_|

Valor de la escala visual análoga de la percepción de actividad de la enfermedad por parte del paciente a los seis meses de seguimiento.

|\_|\_|\_|

Clave del estudio: \_\_\_\_\_

Valor de la escala visual análoga de la actividad global de la enfermedad por parte del médico tratante a los seis meses de seguimiento.

|\_|\_|\_|

Evaluación de la función física por medio del HAQ a los seis meses de seguimiento:

|\_| . |\_|\_|\_|

Evaluación de reactante de fase aguda en la primera evaluación a los seis meses de seguimiento:

VSG: |\_|\_|

PCR: |\_|\_| . |\_|\_|

Clave del estudio: \_\_\_\_\_

**Si el paciente no cumplió una mejoría ACR 50 a los 6 meses, clasifique al paciente como caso.**

0) No 1) Si

**RESULTADO DE ESTUDIO INMUNOGENÉTICO**

Presencia de alelos HLA DRB1 con epitope compartido:

0) No 1) Si

### RESULTADO DE ESTUDIO FARMACOGENÉTICO

PSN del TFR del tipo TFR G/A

0) No 1) Si

PSN del TFR del Tipo TFR G/G

0) No 1) Si

### ANEXO III

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

México DF a \_\_\_\_\_ del 200\_\_\_\_\_

ESTIMADO PACIENTE:

La Artritis Reumatoide es una enfermedad crónica que produce inflamación y destrucción de las articulaciones. Afortunadamente existe tratamiento y la mayoría de pacientes responde bien. Sin embargo, hay un grupo de pacientes, casi el 20%, que no responde adecuadamente. Estas personas tienen muchas molestias y una mala calidad de vida. Actualmente no se sabe que hace que una persona con artritis responda bien al tratamiento o por el contrario, tenga una mala respuesta al mismo, por este motivo decidimos llevar a cabo un estudio denominado: **Determinación de factores de riesgo para falla al tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. Estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.** Este estudio tiene como finalidad conocer porque un paciente con artritis falla a responder a los tratamientos, si logramos nuestro objetivo, podríamos corregir estos factores.

Ud. es candidato a participar en el estudio, su participación consiste en permitir que la información de su expediente ingrese a nuestro estudio, y donar una muestra de sangre para el estudio de autoanticuerpos y de marcadores genéticos. La participación en el

estudio es voluntaria, en caso de no aceptar la misma, Ud. Tiene garantizado que su atención médica no está en riesgo, por otro lado, si en un principio Ud. decide participar pero posteriormente desea retirarse del estudio, Ud puede hacerlo en cualquier momento sin poner en riesgo su atención médica.

La información obtenida será analizada y se hará pública en congresos médicos y revistas médicas especializadas con el fin de compartir nuestra experiencia con otros médicos. Sin embargo en todo momento se respetará su confidencialidad ya que nunca se revelará el nombre de los pacientes de los que se obtuvo la información

Si tiene alguna duda o comentario, no dude comunicarse con nosotros

Médicos responsables del Proyecto.

Jorge Rojas Serrano

Médico Reumatólogo.

Dr. Rubén Burgos-Vargas

Médico reumatólogo

Servicio de Reumatología Hospital General de México.

Teléfono: 5004 3849

Consentimiento Informado:

Por este medio, Yo \_\_\_\_\_

Acepto participar en el estudio **Determinación de factores de riesgo para falla al tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad en**

**pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.**

, he sido informado por

\_\_\_\_\_

Acerca de la naturaleza del estudio y comprendo adecuadamente en que consiste el proyecto de investigación y la importancia de este. Se que mi participación no condiciona mi atención en el Hospital General de México, y que la atención médica que reciba será la que mis médicos tratantes consideren como la más adecuada para mi.

Nombre y Firma del Paciente

Nombre y Firma del Primer Testigo

Nombre y Firma del Segundo Testigo.

## ANEXO V

### Consentimiento e Información para los Pacientes. Análisis Genético

Estimado Paciente:

Usted ha decidido participar en el estudio: **Determinación de factores de riesgo para falla al tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. Estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.** Nos gustaría ahora obtener una muestra de sangre de Usted para un análisis genético (ADN o ácido desoxirribonucleico).

La respuesta a los medicamentos puede tener una base genética o hereditaria. Sabemos que algunos gens pueden influir en la gravedad de la inflamación, por lo anterior tenemos planeado conservar una muestra de sangre de cada uno de los pacientes participantes en el estudio. Ésta muestra de sangre será analizada para las siguientes características genéticas:

- Análisis de HLA clase II: estas proteínas influyen en la defensa del cuerpo contra materiales extraños.
- Gens de los transportadores de folatos a nivel celular: estos genes regulan el transporte de los medicamentos en las células

Por estudios previos se sabe que estos gens tienen alguna influencia en la gravedad de la artritis, sin embargo aun no se sabe su papel en la respuesta a los medicamentos. Por lo tanto, este análisis es muy importante. Para poder hacer el análisis genético, se requiere de una muestra de sangre de entre 5 a 10 ml, que se congelará y se almacenará para su posterior análisis, ésta muestra será utilizada únicamente para pruebas genéticas. Si la muestra se pierde o sufre algún daño, se requerirá que le sea tomada otra muestra.

El manejo de la muestra será completamente confidencial, jamás se revelará a quien pertenece cada prueba. A cada muestra se le asignará una clave confidencial. Por ésta

razón tampoco se brindará ningún tipo de asesoría genética. La muestra se guardará 20 años, esto es para que en caso de que se encuentre algún gen que tenga alguna participación importante en el origen o curso de la artritis, su muestra será utilizada para estudios con estos gens.

Si Usted tiene alguna pregunta, puede consultar a los médicos encargados del estudio:

Dr Rubén Burgos Vargas

Dr. Jorge Rojas Serrano

Teléfonos: 5004 3849

Acepto participar en la parte genética del estudio: **determinación de factores de riesgo para falla al tratamiento con fármacos modificadores de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. estudio de casos y testigos anidado en una cohorte.**

.

Fui completamente informado por el Dr. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_, acerca de la naturaleza y consecuencias de las pruebas genéticas.

He leído y entendido la información escrita. Todas mis dudas fueron contestadas y he tenido suficiente tiempo para considerar mi participación en este estudio.

Doy mi consentimiento para que se tome una muestra de sangre para análisis genético	Si	No
---	----	----



Doy mi consentimiento para que se tome una muestra de sangre para análisis genético posterior.	Si	No
--	----	----

---

Nombre del Paciente y Firma

Fecha\_\_\_\_\_

---

Nombre de primer testigo y firma

---

Nombre del segundo testigo y firma.

## Reference List

(1) Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2010; 376(9746):1094-108.

(2) Cardiel MH, Rojas-Serrano J. Community based study to estimate prevalence, burden of illness and help seeking behavior in rheumatic diseases in Mexico City. A COPCORD study. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20(5):617-24.

(3) Pelaez-Ballestas I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M et al. Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol Suppl* 2011; 86:3-8.

(4) van der Heijde DM, van Riel PL, Nuvér-Zwart IH, Gribnau FW, van de Putte LB. Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1989; 1(8646):1036-8.

(5) Choi HK, Hernan MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet* 2002; 359(9313):1173-7.

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

(7) Egsmose C, Lund B, Borg G, Pettersson H, Berg E, Brodin U et al. Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2nd line therapy: 5 year followup of a prospective double blind placebo controlled study. *J Rheumatol* 1995; 22(12):2208-13.

(8) Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet* 2007; 370(9602):1861-74.

(9) Mottonen T, Hannonen P, Leirisalo-Repo M, Nissila M, Kautiainen H, Korpela M et al. Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. FIN-RACo trial group. *Lancet* 1999; 353(9164):1568-73.

(10) Klareskog L, van der Heijde D, de Jager JP, Gough A, Kalden J, Malaise M et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363(9410):675-81.

(11) Sokka T, Kautiainen H, Hakkinen A, Hannonen P. Radiographic progression is getting milder in patients with early rheumatoid arthritis. Results of 3 cohorts over 5 years. *J Rheumatol* 2004; 31(6):1073-82.

(12) Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C et al. American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38(6):727-35.

(13) van Gestel AM, Prevoe ML, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996; 39(1):34-40.

(14) Grigor C, Capell H, Stirling A, McMahon AD, Lock P, Vallance R et al. Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364(9430):263-9.

(15) Aletaha D, Smolen JS. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and Clinical Disease Activity Index (CDAI) to monitor patients in standard clinical care. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2007; 21(4):663-75.

(16) Wessels JA, van der Kooij SM, le CS, Kievit W, Barerra P, Allaart CF et al. A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56(6):1765-75.

(17) Felson DT. Whither the ACR20? *J Rheumatol* 2004; 31(5):835-7.

(18) Hider SL, Buckley C, Silman AJ, Symmons DP, Bruce IN. Factors influencing response to disease modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32(1):11-6.

(19) Anderson JJ, Wells G, Verhoeven AC, Felson DT. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1):22-9.

(20) Fries JF, Williams CA, Singh G, Ramey DR. Response to therapy in rheumatoid arthritis is influenced by immediately prior therapy. *J Rheumatol* 1997; 24(5):838-44.

(21) Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis Rheum* 2005; 52(9):2625-36.

(22) Situnayake RD, McConkey B. Clinical and laboratory effects of prolonged therapy with sulfasalazine, gold or penicillamine: the effects of disease duration on treatment response. *J Rheumatol* 1990; 17(10):1268-73.

(23) Morgan C, Lunt M, Brightwell H, Bradburn P, Fallow W, Lay M et al. Contribution of patient related differences to multidrug resistance in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(1):15-9.

(24) Aletaha D, Smolen JS. The rheumatoid arthritis patient in the clinic: comparing more than 1,300 consecutive DMARD courses. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41(12):1367-74.

(25) O'Dell JR, Nepom BS, Haire C, Gersuk VH, Gaur L, Moore GF et al. HLA-DRB1 typing in rheumatoid arthritis: predicting response to specific treatments. *Ann Rheum Dis* 1998; 57(4):209-13.

(26) Lard LR, Boers M, Verhoeven A, Vos K, Visser H, Hazes JM et al. Early and aggressive treatment of rheumatoid arthritis patients affects the association of HLA class II antigens with progression of joint damage. *Arthritis Rheum* 2002; 46(4):899-905.

(27) Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(4):631-7.

(28) Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(6):964-75.

(29) Ranganathan P, McLeod HL. Methotrexate pharmacogenetics: the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54(5):1366-77.

(30) Angelis-Stoforidis P, Vajda FJ, Christophidis N. Methotrexate polyglutamate levels in circulating erythrocytes and polymorphs correlate with clinical efficacy in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17(3):313-20.

(31) Chango A, Emery-Fillon N, de Courcy GP, Lambert D, Pfister M, Rosenblatt DS et al. A polymorphism (80G->A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. *Mol Genet Metab* 2000; 70(4):310-5.

(32) Laverdiere C, Chiasson S, Costea I, Moghrabi A, Krajinovic M. Polymorphism G80A in the reduced folate carrier gene and its relationship to methotrexate plasma levels and outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100(10):3832-4.

(33) Whetstine JR, Gifford AJ, Witt T, Liu XY, Flatley RM, Norris M et al. 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* 2001; 7(11):3416-22.

(34) Drozdik M, Rudas T, Pawlik A, Gornik W, Kurzawski M, Herczynska M. Reduced folate carrier-1 80G>A polymorphism affects methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J* 2007; 7(6):404-7.

(35) Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Walsh M et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9):2766-74.

(36) Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54(1):38-46.

(37) Wolfe F. The effect of smoking on clinical, laboratory, and radiographic status in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27(3):630-7.

(38) Nyhall-Wahlin BM, Turesson C, Jacobsson LT, Nilsson JA, Forslind K, Albertsson K et al. 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* 2011; 40(2):81-7.

(39) Nyhall-Wahlin BM, Petersson IF, Nilsson JA, Jacobsson LT, Turesson C. High disease activity disability burden and smoking predict severe extra-articular manifestations in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48(4):416-20.

(40) Nyhall-Wahlin BM, Petersson IF, Nilsson JA, Jacobsson LT, Turesson C. High disease activity disability burden and smoking predict severe extra-articular manifestations in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48(4):416-20.

(41) Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(9):835-41.

(42) Anderson JJ, Wells G, Verhoeven AC, Felson DT. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1):22-9.



(43) Kallberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Ronnelid J, Klareskog L et al. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(3):508-11.

(44) Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A et al. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(1):70-81.

(45) Michou L, Teixeira VH, Pierlot C, Lasbleiz S, Bardin T, Dieude P et al. Associations between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(4):466-70.

(46) Lee HS, Irigoyen P, Kern M, Lee A, Batliwalla F, Khalili H et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2007; 56(6):1745-53.

(47) Symmons DP, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DG et al. 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* 1997; 40(11):1955-61.

(48) Ruiz-Esquide V, Gomez-Puerta JA, Canete JD, Graell E, Vazquez I, Ercilla MG et al. Effects of smoking on disease activity and radiographic progression in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2011; 38(12):2536-9.

(49) Nyhall-Wahlin BM, Petersson IF, Nilsson JA, Jacobsson LT, Turesson C. High disease activity disability burden and smoking predict severe extra-articular manifestations in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48(4):416-20.

(50) Goodson NJ, Farragher TM, Symmons DP. Rheumatoid factor, smoking, and disease severity: associations with mortality in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35(6):945-9.

(51) Soderlin M, Petersson I, Geborek P. The effect of smoking on response and drug survival in rheumatoid arthritis patients treated with their first anti-TNF drug. *Scand J Rheumatol* 2011.

(52) Soderlin MK, Petersson IF, Bergman S, Svensson B. 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* 2011; 40(4):249-55.

(53) Saevarsdottir S, Wallin H, Seddighzadeh M, Ernestam S, Geborek P, Petersson IF et al. Predictors of response to methotrexate in early DMARD naive rheumatoid arthritis: results from the initial open-label phase of the SWEFOT trial. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(3):469-75.

(54) Saevarsdottir S, Wedren S, Seddighzadeh M, Bengtsson C, Wesley A, Lindblad S et al. 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* 2011; 63(1):26-36.

(55) Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2009; 373(9664):659-72.

(56) Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Caldwell J et al. Pharmacogenetic and metabolite measurements are associated with clinical status in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate: results of a multicentred cross sectional observational study. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(8):1180-5.

(57) Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Walsh M et al. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9):2766-74.

(58) Dervieux T. Pharmacogenomics of methotrexate in rheumatoid arthritis: does race make a difference? *J Rheumatol* 2008; 35(4):550-2.

## Very recent onset arthritis: the value of initial rheumatologist evaluation and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis

Jorge Rojas-Serrano · Rubén Burgos-Vargas ·  
Leticia Lino Pérez · Conrado García García ·  
Francisco Moctezuma · Janitzia Vázquez-Mellado

Received: 21 March 2009 / Revised: 15 May 2009 / Accepted: 20 May 2009 / Published online: 7 June 2009  
© Clinical Rheumatology 2009

**Abstract** The objective of this study is to identify baseline factors associated with rheumatoid arthritis (RA) diagnosis at the end of 1-year follow-up in a cohort of patients with very recent onset arthritis. Incident cases with self-reported arthritis ( $\leq 12$  weeks) referred by primary care physicians were assessed by a designated rheumatologist who predicted in those with  $\geq 1$  swollen joint the diagnosis of RA at the end of follow-up. Patients were regularly seen and diagnosed through follow-up by staff rheumatologists who were blind to diagnostic prediction. Of 119 referrals, 78 (65.5%; age  $35.5 \pm 13.5$  years; 69 females) were diagnosed at baseline as very recent onset arthritis (median duration 6 weeks (0–12 weeks)); of 75 patients completing 1-year follow-up, 51 (66.5%) were classified as RA; 12 (16%) had self-limited arthritis; and 13 (17.5%) other diagnoses. The characteristics of patients with RA as final diagnosis were polyarthritis, morning stiffness  $\geq 1$  h, high counts of swollen joints, and low frequency of systemic symptoms. Rheumatologist prediction of RA and anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) anti-

bodies was strongly associated with RA as a final diagnosis in the logistic regression analysis. Sensitivity and specificity of the rheumatologist prediction were 94% and 74%, for anti-CCP antibodies, 56% and 96%; the combination of both variables had a specificity of 100% and a sensitivity of 53%, and a positive predictive value of 98%. The combination of RA as predicted diagnosis by a rheumatologist and anti-CCP antibodies is highly specific for RA diagnosis in patients with very early arthritis.

**Keywords** Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies · Rheumatoid arthritis · Very early arthritis

### Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory autoimmune disease capable of causing joint destruction and considerable physical disability [1]. The course of RA, however, may be modified with the so-called disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) and biologic agents, such as the tumor necrosis factor-alpha blockers, rituximab, abatacept, and several other drugs under clinical study. Today, there is enough evidence that patients receiving DMARDs develop less joint damage and have a better functional capacity than those not receiving such long-term treatment [2–4]. Moreover, the use of methotrexate may improve survival in patients with RA [5, 6]. Nowadays, RA treatment includes early use of DMARDs initiated as soon as the diagnosis is confirmed.

Unfortunately, early diagnosis of RA is very difficult since patients with very recent onset arthritis ( $\leq 12$  weeks of evolution) may have been diagnosed with other diseases, including self-limited arthritis. In consequence, the sensi-

---

J. Rojas-Serrano  
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias,  
Ismael Cosío Villegas,  
Universidad Nacional Autónoma de México, Faculty of Medicine,  
Mexico City, Mexico  
e-mail: jrojas@iner.gob.mx

R. Burgos-Vargas · L. Lino Pérez · C. García García ·  
F. Moctezuma · J. Vázquez-Mellado (✉)  
Department of Rheumatology, Hospital General de México,  
Universidad Nacional Autónoma de México, Faculty of Medicine,  
Dr. Balmis 148,  
Mexico DF 06720, Mexico  
e-mail: jvazquezmellado@gmail.com

R. Burgos-Vargas  
e-mail: burgosv@prodigy.net.mx

tivity and specificity classification criteria for RA of the American College of Rheumatology (ACR) are ineffective for patients with recent onset arthritis [7]. Therefore, at least two criteria to predict RA or persistent arthritis in patients with recent onset disease have been proposed [8, 9]. Their application in clinical practice, however, may be inconvenient.

Machold et al. [10] suggested that a diagnosis of RA in patients with very recent onset arthritis may be accurate in the very first visit if they are referred to a rheumatologist. In this context, we conducted this study to identify the factors associated with a diagnosis of RA, including the rheumatologist's predictive ability in a cohort of patients with very recent onset arthritis after 1 year of follow-up.

### Patients and methods

In a period of 20 months, we included all incident cases of 16-year-old patients or older with self-reported arthritis of  $\leq 12$  week's duration. The main inclusion criterion was the rheumatologist's confirmation of arthritis (joint pain and swelling in  $\geq 1$  joint). Most patients were referred by the primary care physicians practicing at our center. To assure patient's early referral, we designed a fast-track program through which every patient suspected to have very recent onset arthritis of any kind would be evaluated by a rheumatologist in  $\leq 5$  days. To sensitize primary care physicians of the relevance of early referral of any patient with suspected very recent arthritis, we gave a rheumatology update course and trained them in the physical examination of the rheumatic disorders. Patients referred by the emergency or internal medicine departments were also evaluated in  $\leq 5$  days.

All patients were assessed at baseline by a designated rheumatologist (JR-S) according to a standardized clinical evaluation, which included the recognition of the type of arthritis (monoarthritis, oligoarthritis (2–4 joints), and polyarthritis ( $>5$  joints)), the duration of morning stiffness, the presence of systemic manifestations (fever, skin rash, abnormal values of aminotransferase levels, leukopenia, thrombocytopenia, and abnormal urinalysis), previous use of glucocorticoids, and joint count (62 joints for swelling and 64 for tenderness). A complete blood count, function liver tests, as well as IgM rheumatoid factor (RF) and C-reactive protein (CRP) by nephelometry were performed in all patients. One week after baseline, the same rheumatologist (JR-S) reviewed all clinical information and predicted whether the patient would have RA or not at the end of the following year. Patients were seen every 2 months by six staff rheumatologists blinded to JR-S diagnostic prediction and treated each case according to their own criteria. At the end of the 1-year follow-up, three

staff rheumatologists (LL-P, CG-G, and FM) performed a complete physical examination, analyzed all laboratory and radiographic studies, and classified each case as RA according to the ACR criteria [11] or other diagnoses. Patients with persistent arthritis not meeting the ACR criteria for RA [11] were diagnosed as persistent arthritis (arthritis in at least 1 joint and/or treatment with DMARDs at the last visit after ruling out other diagnoses [9]) and considered equivalent to RA. Self-limiting arthritis was defined as the absence of arthritis on the examination of a patient not taken DMARDs or glucocorticoids in the last 3 months [12]. All patients signed an informed consent to be included in the study, and the ethics committee approved the study protocol.

**Antibodies** Baseline serum samples were collected from all patients. The samples were frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$  until the end of follow-up and the confirmation of the diagnosis. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies and IgM and IgA RF were measured by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA, Euroimmune diagnostics, Germany, 2005) according to the manufacturer's instructions. Sensibility and specificity of these autoantibodies were determined to predict persistent arthritis at different cut-off values using receiver operating characteristic (ROC) curves.

**Statistical analysis** Continuous variables are expressed by means of  $\pm$ SD, medians and range, and categorical variables in frequencies and percents. The *t* test or the Wilcoxon rank-sum tests were used for continuous variables according to the distribution of the variable and the  $\chi^2$ -test for categorical variables. We calculated the sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios for the different diagnostic tests. A stepwise logistic regression model with RA as dependent variable was carried out with variables associated with RA at the end of 1 year of follow-up that were identified in the univariate analysis. The model was evaluated with the log-likelihood  $\chi^2$  of the model and the Hosmer and Lemeshow goodness-of-fit-test. All hypothesis testing was two-sided, with a 5% threshold for statistical significance. The statistical analysis was carried out with STATA (9.2).

### Results

One hundred nineteen patients with a suspected diagnosis of arthritis of less than 12 weeks were referred to the Department of Rheumatology. Seventy-eight (65.5%) of such patients were actually considered to have very recent onset arthritis. The mean age of the group was  $35.5 \pm$

**Table 1** Characteristics of patients enrolled in the cohort, presentation pattern, and 1 year of follow-up outcomes

Variable <sup>a</sup>	Patients (N=78)
Age (mean±SD; years)	35.5±13.5
Female	69 (88)
Arthritis duration before baseline evaluation (weeks) <sup>b</sup>	6 (0–12)
Presentation pattern	
Monoarthritis	2 (3)
Oligoarthritis (2–4 joints)	10 (12)
Polyarthritis	64 (85)
Positive RF by nephelometry (whole cohort)	45/75 (60)
Positive anti-CCP antibodies (whole cohort)	29/76 (38)
Rheumatoid arthritis after 1-year follow-up <sup>c</sup>	51/77 (66.5)
Self-limiting arthritis	12/77 (16)
Other chronic rheumatic diseases	13/77 (17.5)

<sup>a</sup> Unless indicated otherwise: n, (%)

<sup>b</sup> Median (range)

<sup>c</sup> Three patients in this group did not fulfill the ACR classification criteria for RA, but had persistent arthritis, which, according to Visser [9], was defined as the presence of arthritis in at least 1 joint and/or treatment with DMARDs at the last visit after ruling out other diagnoses and classified in our study as part of the group of RA

13.5 years (median 34 years, range 16–76 years), and 69 were females (Table 1). Arthritis had lasted for a median of 6 weeks (range 0–12 weeks) at baseline.

Seventy-five patients completed the 1-year follow-up; two patients—one of them with systemic lupus erythematosus (SLE) [13] and another with erosive arthritis—completed only 6 months; another patient was lost to follow-up and was not included in the analysis.

Fifty-one patients (66.5%) out of 75 who completed the 1-year follow-up were classified as RA (n=48) or persistent arthritis (n=3); 12 (16%) of these patients had self-limited arthritis and 13 (17.5%), other diagnoses, specifically, gout (n=3), SLE (n=6), systemic sclerosis (n=1), dermatomyositis (n=2), or Sjögren’s syndrome (n=1).

The proportion of patients with polyarthritis and morning stiffness ≥1 h was higher among RA patients than among those with other diagnosis (90% vs 65%, P=0.008 and 80% vs 57%, P=0.03, respectively); regarding joint counts, the numbers of tender and swollen joints were also higher in RA patients (Table 2). Systemic manifestations were in contrast, negatively associated with RA (2/51 (4%) vs 10/26 (38%); relative risk ratio, 0.10; 95% confidence interval, 0.02–0.43; P=0.0001).

In the logistic regression analysis, two variables were related to the diagnosis of RA: (1) the baseline presumptive diagnosis of RA made by the designated rheumatologist (JR-S) and (2) the presence of anti-CCP antibodies (Table 4).

**Diagnostic tests** Table 3 shows the diagnostic value of each test in predicting RA at the end of the 1-year follow-up. Briefly, the sensitivity and specificity of anti-CCP antibodies (cut-off level set at 25 IU/ml) were 56% and 96%, respectively. The predictive values of IgM and IgA RF by ELISA were not accurate. In contrast, the performance of RF by nephelometry was reasonably good in predicting RA (Table 3). Sensitivity and specificity of RA or persistent arthritis diagnosis at baseline were 94% and 74%, respectively. The combination of RA or persistent arthritis diagnosis at baseline and the presence of anti-CCP antibodies increased the specificity up to 100% and the positive predictive value up to 98% whilst the sensitivity dropped out to 53%. Nevertheless, the area under a ROC curve of the combination of these two variables in predicting RA was of 0.91 (Fig. 1).

**Discussion**

In this work, we found two variables strongly associated with RA diagnosis after 1 year of follow-up in patients with very early arthritis: RA as a presumptive diagnosis made by a rheumatologist and anti-CCP antibodies at baseline (Table 4). When both variables were combined, their sensitivity was 53%, and specificity was 100%. The diagnostic value of the evaluation made by the rheumatologist in the initial 3 months was as good as that of Machold et al. [10] in a cohort of 108 patients with very recent arthritis, in which, 65% of the cases were accurately diagnosed as RA in their first visit to the rheumatology clinic. As suggested [15], the identification

**Table 2** Differences between patients with persistent arthritis and other diagnosis

Variable	Rheumatoid arthritis N=51, n (%)	Other diagnosis. N=26, n (%)	P value
Age (years)	37.2±13	32.3±15	0.14
Polyarthritis	46 (90)	17 (65)	0.008
Arthritis in:			
Shoulders	25 (49)	4 (15)	0.004
Wrists	46 (90)	19 (73)	0.05
Metatarsophalangeal joints	19 (37)	2 (7)	0.006
Morning stiffness >1 h	41 (80)	15 (57)	0.03
Tender joints	24 (2–52) <sup>a</sup>	14.5 (1–46) <sup>a</sup>	0.04
Swollen joints	16 (1–40) <sup>a</sup>	8 (1–28) <sup>a</sup>	0.01
Systemic manifestations	2 (4)	10 (38)	0.0001

<sup>a</sup> Median (range)

**Table 3** Diagnostic tests performance in the prediction of rheumatoid arthritis after 1 year of follow-up

Diagnostic test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV <sup>a</sup> (%)	LR+ <sup>b</sup>
Anti-CCP	56 (29/51)	96 (25/26)	96.5	14
Rheumatoid factor (nephelometry)	75 (38/51)	69 (18/26)	82	2.41
Diagnosis of RA proposed by a rheumatologist	94 (48/51)	73 (19/26)	87	3.5
Diagnosis of RA proposed by a rheumatologist+anti-CCP positive	53 (27/51)	100 (26/26)	98	53 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Positive predictive value

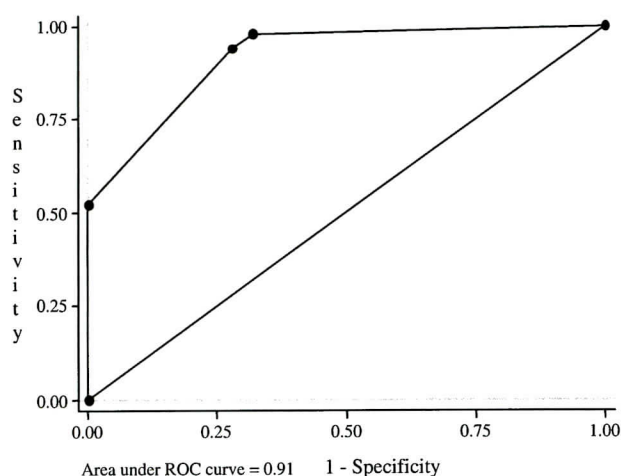
<sup>b</sup>Likelihood ratio for a positive result

<sup>c</sup>This LR+ was calculated using a specificity of 0.99 ( $LR+=sensitivity/1-specificity$ ), as the specificity is of 100%, we were unable to calculate the LR+ using the data of the work. The value of 0.99 was chosen as the nearest value of the 100% specificity. The LR+ using the lowest 95% CI of the specificity (86.3–100%) is 3.86

of anti-CCP antibodies was also found to be useful as a diagnostic test.

Until now, two models for the prediction of RA or persistent arthritis have been proposed. One of them was developed during the study of patients with <2 years of symptoms and a definite diagnosis after 2 years of follow-up [9]; the other model was developed while studying a cohort of 570 patients with undifferentiated arthritis, of whom, 43% of them had <12 weeks of symptoms [8]. Assessment criteria for the first model were symptom duration (<6 weeks, >6 weeks, <6 months, and >6 months), morning stiffness  $\geq 1$  h, arthritis in  $\geq 3$  joint groups, pain under bilateral compression of the metatarsophalangeal joints, IgM RF, anti-CCP, and erosions on hand or foot radiographs. When disease had been presented for more than 6 months, criteria were more strongly associated with RA (odds ratio, 5.59). The area under the ROC curve (AUC) of the model was 0.84 for discrimination between self-limiting and persistent arthritis. This model has not

been independently validated. The second model proposed a prediction rule [8] consisting of nine clinical variables: sex, age, localization of symptoms, morning stiffness, tender and swollen joint counts, CRP level, RF, and anti-CCP antibodies. In order to obtain a prediction rule, the regression coefficients of the predictive variables were rounded to the nearest number ending in 0.5 or 0.0 resulting in a weighted score. The values for the independent predictive variables can be summed, and the range of possible values is 0–14. This model has different cut-off values: when the score is  $>4$ , the model has a sensitivity of 90% and a specificity of 37.8% for the prediction of RA; when the score is  $\geq 8$ , the sensitivity is 44% and the specificity is 96% for a positive predictive value of 84%. The AUC of this model was 0.89. This prediction rule has been validated using an independent cohort of patients with undifferentiated arthritis. Both models included clinical variables used by seasoned clinicians in the diagnosis of RA and do not perform better than an expert clinician, in fact, the areas under the ROC curve of such models and the area under the ROC curve of the model proposed in this work are very similar (0.84, 0.89, and 0.91). In our study, the sensitivity of the expert's clinical evaluation was high (94%) and the specificity better than that of the second model (73% vs 37.8%) at the same sensitivity value. Nevertheless, 27% were false positives in the expert's initial evaluation. The higher sensitivity of the expert's opinion depend on its ability to recognize the RA like



**Fig. 1** The area under the ROC curve for the prediction model for rheumatoid arthritis in very recent onset arthritis. When both variables are present, the model has a sensitivity of 53% and a specificity of 100% with an area under the ROC curve of 0.91

**Table 4** Prediction model for rheumatoid arthritis in very recent onset arthritis after 1 year of follow-up

Variable	OR (95% CI)	P value
Diagnosis of rheumatoid arthritis proposed by a rheumatologist	60.23 (6.9–525.9)	0.0001
Anti-CCP antibodies	52.6 (3.27–843)	0.005

Log-likelihood  $\chi^2$  of the model,  $P < 0.0001$

Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit-test,  $P = 0.993$

pattern of arthritis in patients with early onset even before the results of anti-CCP antibodies test became available.

Some characteristics of our cohort deserve mention. The percentage of patients with RA seems high, but Machold et al. [10] reported similar figures (61.1%) in the same clinical situation. Since the median age of patients in our cohort was lower than that of some European cohorts, the clinical expression of RA would be more typical when compared with the picture seen in older patients and, therefore, facilitate the rheumatologist diagnosis.

Interestingly, IgM and IgA RF by ELISA were not useful as predictors of RA. Like anti-CCP antibodies, RF may appear in the serum many years before any clinical manifestation of RA [16, 17]. Previous studies have found that the presence of IgM RF by ELISA is a strong predictor of RA or persistent arthritis [9, 15]. From our point of view, differences between such studies and results obtained from this study may be explained by differences between ELISA kits. In this sense, comparing the performance of the latter model with those suggested previously should be valuable.

Some limitations of this study could be the relatively small number of patients included, although the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit-test indicated a good fit of the model. Secondly, the relatively short time of follow-up. On the evidence that patients with RA benefit from treatment with DMARDs, it has been recommended that patients must begin treatment within the first 3 months after RA is diagnosed [14]. Nevertheless, patients with very recent onset arthritis are difficult to diagnose, and the ACR classification criteria for RA perform poorly in this group of patients [7].

In conclusion, this study demonstrates that the combination of RA as presumptive diagnosis by a rheumatologist and positive anti-CCP antibodies is highly specific for RA diagnosis in patients with very early arthritis.

**Disclosures** None.

## References

- Gordon DA, Hastings DE (2003) Clinical features of rheumatoid arthritis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (eds) *Rheumatology*, 3rd edn. Mosby, Edinburgh, pp 765–780
- Van der Heijde D, van Riel PL, Nuvér-Zwart HH, Gribnau FW, van de Putte LBA (1989) Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1:1036–1038
- Egsmose C, Lund B, Borg G, Pettersson H, Berg E, Brodin U et al (1995) Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2nd line therapy: 5-year followup of a prospective double blind placebo controlled study. *J Rheumatol* 22:2208–2213
- Abu-Shakra M, Toker R, Flusser D, Flusser G, Friger M, Sukenik S et al (1998) Clinical and radiographic outcomes of rheumatoid arthritis patients not treated with disease modifying drugs. *Arthritis Rheum* 41:1190–1195
- 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* 43:14–21
- Choi HK, Hernán MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F (2002) Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet* 359:1173–1177
- Harrison BJ, Symmons DPM, Barret EM, Silman AJ (1998) The performance of the 1987 ARA classification criteria for rheumatoid arthritis in a population based cohort of patients with early inflammatory polyarthritis. *J Rheumatol* 25:2324–2330
- Van der Helm-van Mil AHM, Saskia LC, von Dongen H, Breedveld FC, Toes REM, Huizinga TWJ (2007) A prediction rule for disease outcome in patients with recent-onset undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 56:433–440
- Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JMW (2002) How to diagnose rheumatoid arthritis early. A prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 46:357–365
- Machold KP, Stamm TA, Eberl GJM, Nell VKP, Dunky A, Uffman M (2002) Very recent onset arthritis-clinical, laboratory, and radiological findings during the first year of disease. *J Rheumatol* 29:2278–2287
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS et al (1988) The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31:315–324
- Harrison BJ, Symmons DPM, Brennan P, Barret EM, Silman AJ (1996) Natural remission in inflammatory polyarthritis: issues of definition and prediction. *Br J Rheumatol* 35:1096–1100
- Tan EM, Cohen AS, Fries JR et al (1982) The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25:1271–1277
- O'Dell JR (2004) Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 350:2591–2602
- Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC et al (2000) The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43:155–163
- Nielen MMJ, Van Schaardenburg D, Reesink HW, Van de Stadt RJ, Van der Horst-Bruinsma IE, De Koning MHMT et al (2004) Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. A study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 50:380–386
- Rantapää-Dahlqvist S, De Jong BAW, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H et al (2003) Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48:2741–2749



## Current smoking status is associated to a non-ACR 50 response in early rheumatoid arthritis. A cohort study

Jorge Rojas-Serrano · Leticia Lino Pérez · Conrado García García ·  
Francisco Moctezuma · Everardo Álvarez-Hernández · Janitzia Vázquez-Mellado ·  
José Luis Montiel · Rubén Burgos-Vargas

Received: 10 September 2010 / Revised: 6 April 2011 / Accepted: 6 May 2011  
© Clinical Rheumatology 2011

**Abstract** The purpose of this study is to determine factors associated with a non-ACR 50 response at 6 months of follow-up, in a cohort of patients with early rheumatoid arthritis (RA). Early RA patients (symptom duration <1 year), treated with the same combination treatment (methotrexate and sulfasalazine), were included. Demographic characteristics of the patients including current smoker status (defined as a patient that smokes at least one cigarette per day), years of formal education, a 28-joint count for swelling and tenderness were registered. A basal HAQ questionnaire, visual scales for global assessment, and pain were answered by all patients, and a CDAI basal score was calculated. The ACR 50 response was determined at 6 months follow-up. Multivariable logistic

regression analysis was used to calculate adjusted ORs. Two hundred twenty-five patients were evaluated, but only 144 had a complete follow-up, 43% of the latter did not reach an ACR 50 response. The only factor associated with this outcome was current smoking (OR 3.58,  $P < 0.008$ , 95% CI 1.23–11.22). Low level of formal education ( $\leq 6$  years) had a tendency towards a statistical difference ( $P < 0.08$ ). After controlling with low level of formal education, sex, age in years, and CDAI baseline value with multivariable logistic regression analysis, current smoking status had an adjusted OR of 3.91 ( $P < 0.009$ , 95% CI 1.41–10.81). Smoking is associated with a non-ACR 50 response in early rheumatoid arthritis in patients treated with a combination therapy with methotrexate and sulfasalazine.

This work was supported by grants of the CONACyT, SALUD-2007-01-71161, a Mexican agency supporting science.

J. Rojas-Serrano  
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Ismael Cosío Villegas, Universidad Nacional Autónoma de México,  
Faculty of Medicine,  
Mexico City, Mexico  
e-mail: jrojas@iner.gob.mx

L. L. Pérez · C. G. García · F. Moctezuma ·  
E. Álvarez-Hernández · J. Vázquez-Mellado · R. Burgos-Vargas  
Department of Rheumatology, Hospital General de México,  
Mexico City, Mexico

J. Vázquez-Mellado · R. Burgos-Vargas (✉)  
Universidad Nacional Autónoma de México, Faculty of Medicine,  
Mexico City, Mexico  
e-mail: burgosv@prodigy.net.mx

J. L. Montiel  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos,  
Facultad de Farmacia,  
Mexico City, Mexico

**Keywords** Early rheumatoid arthritis · Methotrexate ·  
Prognostic factors · Rheumatoid arthritis · Sulfasalazine

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that can cause joint destruction and important physical disability [1]. The course of RA may be modified with mono- or better combined therapy with disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs). Patients receiving DMARDs develop less joint damage and have better functional capacity than those not receiving such treatments [2–4]. Moreover, the use of methotrexate may improve survival in patients with RA [5]. In fact, it has been described that patients with an ACR 50 response to methotrexate have a standardized mortality ratio of 1.47 with respect to general population [6]. Data from two clinical trials suggest that around 75% of RA patients achieved ACR 50 clinical response at 1 year with combined DMARDs therapy [7, 8]. Preliminary data from our early RA clinic suggest that around 60% of our patients reached

ACR 50 with the combination of methotrexate and sulfasalazine [9]. Because ACR 50 response is associated with an improvement in survival and nowadays is a feasible goal of RA treatment, factors associated with a non-ACR 50 response are clinically relevant.

Factors associated with a poor response to DMARDs are the disease activity at baseline, smoking status, sex, and duration of RA [10–12]. Polymorphisms of genes related with methotrexate metabolism have been also implicated in DMARDs response [11–13], but the results of such studies lack replication [14, 15]. The objective of this study is to identify factors associated with a lack of ACR 50 response to DMARDs at 6 months of follow-up in a cohort of patients with early RA treated with the combination of methotrexate and sulfasalazine.

### Patients and methods

Patients with RA [14] aged  $\geq 16$  years old, with  $< 1$  year of symptoms at baseline attending the early rheumatoid arthritis clinic (ARRECIEN) between March 2004 and January 2009 at the Hospital General de México in México City were included in this study. The variables collected at baseline were: age, sex, occupation, years of formal education, current smoking status (defined as a patient that currently smokes  $\geq 1$  cigarette per day), disease duration (weeks), morning stiffness (minutes), a 28-joint count for swelling and tenderness, and previous use of glucocorticoids. The health assessment questionnaire [15], patients' global assessment of health, and pain level as well as physician assessment of disease activity on visual analogue scales and the clinical disease activity index (CDAI) scores were also included [16]. A complete blood count, function liver tests as well as rheumatoid factor, and C-reactive protein by nephelometry were performed. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP) assays (Euro-immune diagnostics, Germany, 2005) were measured by enzyme-linked immunosorbent assays. Patients signed an informed consent to be included in the study, and the ethics committee approved the study protocol.

All patients received a combination of methotrexate and sulfasalazine and some prednisone with the purpose of inducing remission. The treatment protocol consisted of methotrexate and sulfasalazine at initial doses of 10 mg per week and 1,500 mg/per day, respectively which were then escalated up to 25 mg/week of the former and 2,500 mg/day of the latter. Prednisone doses were increased or reduced according to clinical response in patients who already received prednisone at baseline and in patients who started it thereafter. DMARDs and prednisone dose changes were made every 2 months by any of the five attending rheumatologists. ACR 50 response [17] was evaluated at a

6-month follow-up, and patients were then classified as ACR 50 responders and ACR 50 nonresponders.

**Statistical analysis** A univariate analysis was done to compare baseline characteristics of ACR 50 nonresponders and responders with  $\chi^2$ ,  $t$ , or Wilcoxon rank sum tests as appropriate. In the case of categorical variables, crude odds ratios (OR) were estimated to evaluate the strength of the association with a non-ACR response. Those variables with a  $P$  value  $\leq 0.25$  were included in a multivariable logistic regression analysis to adjust for confounding and to evaluate for interactions and to obtain adjusted ORs. A second multivariable logistic regression analysis was done to adjust to the following variables: age, sex, years of formal education, and basal CDAI value. We also present a parallel analysis using crude risk ratios (RR) and adjusted RR using the Mantel–Haenszel method to evaluate confounding and interactions. The reason to present this analysis is that OR tends to overestimate RR when the risks in the exposed and unexposed are greater than 10%.  $\alpha$  was set at 5%, all analysis are two sided. The statistical analysis was done with Stata (10.1)

### Results

One hundred and forty four out of 225 patients with early RA admitted to the ARRECIEN clinic between March 2004 and January 2009 were included in this analysis. Eighty-one patients were excluded due to loss of follow-up, not treatment compliance or less than 6 months of follow-up. The main characteristics of the 144 patient cohort are in Table 1. There is a great proportion of female patients (88%) and 43% of these patients were classified as non-ACR 50 responders at a 6-month follow-up.

**Comparison between ACR 50 nonresponders and responders** The comparison of ACR 50 nonresponders and responders was not statistically significant, except in the current smoker status [OR 3.58 (95% CI 1.23–11.22),  $P < 0.008$ ; Table 2]. A variable that showed a statistical tendency was  $\leq 6$  years of formal education [elementary school in México; OR 1.89 (95% CI 0.86–4.11)  $P < 0.08$ ]. As expected, the CDAI values of nonresponders were considerably higher to responders at a 6-month follow-up, but no baseline differences in the CDAI score were found. After this, we built a multivariable logistic regression model with the only two variables that had a  $P$  value  $\leq 25\%$ , the adjusted OR for current smoking status as a risk factor for a non-ACR response was 4.12 (95% CI 1.52–11.22,  $P < 0.005$ ). The adjusted OR for low level of formal

**Table 1** Characteristics of the patients enrolled in this study

	Patients (n=144)
Age (mean±SD) (in years)	37.4±12.23
Females	127 (88)
ACR 50 nonresponders at 6-month follow-up	62 (43)
Formal education, median (IQR)	9 (6–9)
Rheumatoid factor positivity	133 (92)
Anti-CCP positivity	85/112 (76)
Basal CDAI score, median (IQR)	36.5 (21–49.5)
Time from symptoms onset at baseline, median (IQR) (in weeks)	24 (16–28)
Corticosteroid use prior to baseline	59/135 (44)
Current smokers (≥1 cigarette per day)	22/129 (17)

Unless indicated otherwise, *n* (%)

IQR interquartile range

education was 1.87 (95% CI 0.85–4.09,  $P<0.12$ ). The interaction of the variables was evaluated and excluded. A second model adjusting for sex, age in years, and CDAI baseline score gave an adjusted OR for current smoking of 3.91 (95% CI 1.41–10.81,  $P<0.009$ ), and for low level of formal education an OR of 2.03 (95% CI 0.78–5.22,  $P<0.15$ ). The other variables evaluated in this model did not show any statistical significance. We also report crude RR and adjusted RR with the Mantel–Haenszel method for current smoking and a non-ACR 50 response (Table 3). The crude RR was 1.82 (95% CI 1.25–2.65,  $P<0.008$ ), and the adjusted  $RR_{MH}$  was 1.95 (95% CI 1.32–2.89). The test of homogeneity was not statistically significant ( $P<0.19$ ), showing no interaction effect. In a subsequent analysis, the possible association between current smoking status and level of formal education with an ACR 20 and 70 response was evaluated. In the case of ACR 20, there was no association or interaction; but in the case of the ACR 70, the association between current smoking status suffered of a

modifier effect (interaction) from the variable low level of formal education ( $\leq 6$  years of formal education; test of homogeneity MH,  $P<0.06$ ). So we report the RR of each stratum: current smokers with more than 6 years of formal education, RR 1.53 (95% CI 1.19–1.98) and current smokers with  $\leq 6$  years of formal education, RR 0.93 (95% CI 0.56–1.55; Table 4).

## Discussion

We found in this early RA cohort, all patients treated with the same combination therapy (methotrexate with sulfasalazine), that current smoking is associated with a non-ACR 50 response. We believe that the association is solid in biological, methodological, and statistical terms. Smoking has been associated with RA [18–21] and rheumatoid factor positivity [22, 23]; apparently, smoking triggers a process

**Table 2** Comparison between ACR 50 nonresponders and responders

Variable	ACR 50 nonresponders, <i>n</i> =62	ACR 50 responders, <i>n</i> =82	<i>P</i> , OR (95% CI)
Age (mean±SD), in years	37±13.09	35.5±11.6	0.5
Females	55 (88.7)	72 (87.8)	0.86, 1.09 (0.34–3.60)
Current smokers	15/55 (27.3)	7/74 (9)	<0.008, 3.58 (1.23–11.22)
Corticosteroid use prior to baseline	28/57 (49)	31/78 (39.7)	0.27, 1.46 (0.69–3.08)
Use of corticosteroid at 6-month follow-up	19/61 (31.15)	10/82 (12.2)	<0.006, 3.25 (1.28–8.56)
Rheumatoid factor positivity	56/62 (90)	77/82 (94)	0.42, 0.60 (0.13–2.52)
Anti-CCP positivity	34/44 (77.3)	51/68 (75)	0.78, 1.13 (0.42–3.12)
Baseline CDAI, median (IQR)	36.5 (22–50)	38 (21–49)	0.67
6-month CDAI, median (IQR)	17.5 (12–29)	4 (2–6)	<0.0001
Patients with $\leq 6$ years of formal education	24/56 (42)	23/81 (28)	<0.08, 1.89 (0.86–4.11)
Time from symptoms onset at baseline, median (IQR) (in weeks)	24 (13–32)	24 (16–26)	0.32

Unless indicated otherwise, *n* (%)

IQR interquartile range

**Table 3** Stratified analysis with crude RR and adjusted RR using the Mantel–Haenszel method, for the association of current smoking status and non-ACR 50 response adjusting with low level of formal education (<6 years)

Level of formal education	Smoking status	ACR 50 nonresponders	ACR 50 Responders	Total	RR (95% CI)
>6 years of formal education	Current smokers	9	4	13	2.5
	Nonsmokers	18	47	65	(1.46–4.26)
	Total	27	51	78	
≤6 years of formal education	Current smokers	6	3	9	1.45
	Nonsmokers	16	19	35	(0.81–2.62)
	Total	22	22	44	

Crude RR 1.82 (95% CI 1.25–2.65,  $P<0.008$ )

Adjusted RR using the MH method 1.95 (95% CI 1.32–2.89)

Test of homogeneity of Mantel and Haenszel,  $P<0.19$

inside the lungs that causes citrullination in certain proteins, which in turn may determine an immune response against citrullinated peptides and be a first step in RA pathogenesis [24, 25]. In this way, a biological plausibility of our findings may be sustained. A persistent citrullination of proteins in the lungs in RA smokers patients may cause a more aggressive disease and less susceptible of being modified by DMARDs.

We know of two other studies that have found an association between smoking and a poor clinical response. Wessels et al. [26] developed a clinical pharmacogenetic model to predict clinical response to methotrexate and found that smoking was independently associated to a failure to respond to this drug, and Saevarsdottir et al. [27] recently reported that smoking is associated to a non-response to methotrexate and anti-TNF treatment using the EULAR response criteria, in a population-based study of incident RA.

The design of the study allows control for confounding in three important aspects: first, all patients received the same combination treatment, secondly is that all patients had less than 1 year of RA symptoms at baseline, and thirdly, all patients were evaluated by a rheumatologist for the same outcomes. This gives a solid methodological background of the association we found.

We present the results of our study using two statistical methods that allow controlling for confounding first: multivariable logistic regression models in which the independent association of current smoking with a non-ACR 50 response was found. Nevertheless, OR tend to overestimate RR as in this case, so we present a parallel analysis using the adjusted RR with the method of Mantel–Haenszel to control for confounding. Both analyses were congruent in results and interpretation.

The limitations of our study are also given by its cohort nature: we have a high proportion of losses of patients that were evaluated with less than 1 year of RA symptoms, but that were lost at follow-up or simply did not take medications as prescribed. As the results indicate, the population that our institution attends has a low level of education and a low socioeconomic level. This explains in part this high proportion of losses. Nevertheless we believe that patients included in this report represent the population being evaluated. Another limitation is that we only registered smoking status as a categorical variable and did not register the number of cigarettes per day that patients smoked. In conclusion, our results indicate that smoking is associated with a non-ACR 50 response in early rheumatoid arthritis, in patients treated with a combination therapy with methotrexate and sulfasalazine.

**Table 4** The association between current smoking status and a non-ACR 70 response suffered of a modifier effect from low level of formal education

Level of formal education	Smoking status	ACR 70 nonresponders	ACR 70 Responders	Total	RR (95% CI)
>6 years of formal education	Current smokers	12	1	13	1.53
	Nonsmokers	39	26	65	(1.19–1.98)
	Total	51	27	78	
≤6 years of formal education	Current smokers	6	3	9	0.99
	Nonsmokers	25	10	35	(0.56–1.55)
	Total	31	13	44	

Test of homogeneity of Mantel and Haenszel,  $P<0.06$

**Disclosures** None.

## References

- Gordon DA, Hastings DE (2003) Clinical features of rheumatoid arthritis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblat ME, Weisman MH (eds) *Rheumatology*, 3rd edn. Mosby, Edinburgh, pp 765–780
- Van der Heijde D, van Riel PL, Nuver-Zwart HH, Gribnau FW, van de Putte LBA (1989) Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1:1036–1038
- Egsmose C, Lund B, Borg G, Pettersson H, Berg E, Brodin U, Trang L (1995) Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2nd line therapy: 5-year followup of a prospective double blind placebo controlled study. *J Rheumatol* 22:2208–2213
- Abu-Shakra M, Tokar R, Flusser D, Flusser G, Friger M, Sukenik S, Buskila D (1998) Clinical and radiographic outcomes of rheumatoid arthritis patients not treated with disease-modifying drugs. *Arthritis Rheum* 41:1190–1195
- Choi HK, Hernán MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F (2002) Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet* 359:1173–1177
- Krause D, Schlessner B, Herborn G, Rau R (2000) Response to methotrexate treatment is associated with reduced mortality in patients with severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43:14–21
- Möttönen T, Hannonen P, Leirisalo-Repo M et al (1999) Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Lancet* 353:1568–1573
- Grigor C, Appel H, Stirling A et al (2004) Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomized controlled trial. *Lancet* 364:263–269
- Rojas-Serrano J, Burgos-Vargas R, Lino-Pérez L (2010) El tabaquismo se asocia a una falla para alcanzar una respuesta ACR 50. Estudio de cohorte de pacientes con artritis reumatoide de inicio reciente. *Reumatol Clin* 6:s39–s40
- Gossec L, Dougados M, Goupille P et al (2004) Prognostic factors for remission in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study. *Ann Rheum Dis* 63:675–680
- Hider SL, Buckley C, Silman AJ, Symmons DPM, Bruce IN (2005) Factors influencing response to disease modifying anti-rheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 32:11–16
- Anderson JJ, Wells G, Verhoven AC, Felson DT (2000) Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration. *Arthritis Rheum* 43:22–29
- Ranganathan P, McLeod HL (2006) Methotrexate pharmacogenetics. The first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:1366–1377
- Lee YC, Cui J, Costenbader KH et al (2009) Investigation of candidate polymorphisms and disease activity in rheumatoid arthritis patients on methotrexate. *Rheumatology* 48:613–617
- Dervieux T (2009) Methotrexate pharmacogenomics in rheumatoid arthritis: introducing false-positive report probability (editorial). *Rheumatology* 48:1619–1620
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al (1988) The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31:315–324
- Cardiel MH, Abello-Banfi M, Ruiz-Mercado R, Alarcón-Segovia D (1993) How to measure health status in rheumatoid arthritis in non-English speaking patients: validation of a Spanish version of the Health Assessment Questionnaire Disability Index (Spanish HAQ-DI). *Clin Exp Rheumatol* 11:117–121
- Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH et al (2003) A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology* 42:244–257
- Felson DT, Anderson JJ, Boers M et al (1995) American College of Rheumatology preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 38:727–735
- Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Yeates D (1987) Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis. *Contraception* 35:457–464
- Silman AJ, Newman J, Mac Gregor AJ (1996) Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum* 39:732–735
- Symmons DP, 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* 40:1955–1961
- Karlson EW, Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH (1999) A retrospective cohort study of cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis in female health professionals. *Arthritis Rheum* 42:910–917
- Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L (2004) A gene–environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 50:3085–3092
- Klareskog L, Stolt P, Lundberg K et al (2006) A new model for an etiology of rheumatoid arthritis. Smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 54:38–46
- Wessels JAM, 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* 56:1765–1775
- Saevarsdottir S, Wedrén S, Seddighzadeh M et al (2009) Smoking is associated with non response to methotrexate and to anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis. Results from Swedish EIRA study (abstract). *Arthritis Rheum* 60:S237–S238