

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Factores clínicos, ambientales y genéticos implicados en la
respuesta al tratamiento con fingolimod en pacientes con
esclerosis múltiple**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Victoria Galán Sánchez-Seco

DIRECTORES

Rafael Arroyo González
Roberto Álvarez Lafuente
María de la Cruz Cuadrado Pérez

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas



Tesis doctoral

**FACTORES CLÍNICOS, AMBIENTALES Y GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA
RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON FINGOLIMOD EN PACIENTES CON
ESCLEROSIS MÚLTIPLE**

Victoria Galán Sánchez-Seco

Directores

Rafael Arroyo González

Roberto Álvarez Lafuente

María de la Luz Cuadrado Pérez

Madrid, 2017

A mi familia de sangre y a la que encontré en el Clínico

AGRADECIMIENTOS.

Querría expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me han acompañado en la realización de este proyecto, en especial:

A la Dra. Lucía Ayuso, a la Dra. Lluisa Rubio y a Isabel García, porque a su lado comenzó a despertarse mi interés por la esclerosis múltiple.

También a mis directores de tesis. Al Dr. Rafael Arroyo, por lo mucho que he aprendido de él de esclerosis múltiple y de la vida, por su ejemplo de entusiasmo e ilusión incluso en los momentos más difíciles, por toda su ayuda tanto en lo profesional como en lo personal. Al Dr. Roberto Álvarez, por su apoyo indispensable para la realización de esta tesis y por su ejemplo de trabajo siempre bien hecho. Y a la Dra. M^a Luz Cuadrado, por su valiosísima ayuda, por sus orientaciones y sus consejos, siempre salpicados de cariño.

A la Dra. Cristina Fernández por la supervisión de los aspectos metodológicos de este trabajo.

A Nacho, a Conchi, a Chus, a Rosa, a Moni, a Ana, a Ángel, a María, a Marta y al resto de personas que componían la Unidad de Enfermedades Desmielinizantes del Hospital Clínico San Carlos cuando comencé la realización de este trabajo, porque a su lado he vivido los que hasta ahora han sido los mejores momentos de mi vida profesional.

A mis padres y a mis hermanos, por su cariño y apoyo siempre incondicionales.

A José Manuel, a Mercedes, a Javier, a Emma, a M^a José, a Susana y a todos los que sé que mientras esté defendiendo mi tesis estarán rezando por mí.

Y, por supuesto, a Dios, porque todo lo que tengo me lo ha dado Él.

A todos, gracias de corazón.

ÍNDICE.

	Páginas
ÍNDICE.....	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	15
1. RESUMEN.....	19
2. ABSTRACT.....	25
3. INTRODUCCIÓN.....	31
▪ 3.1. Epidemiología de la esclerosis múltiple.....	33
▪ 3.2. Etiopatogenia de la esclerosis múltiple.....	35
▫ 3.2.1. Genética y esclerosis múltiple.....	35
▫ 3.2.2. Factores ambientales y esclerosis múltiple.....	36
· 3.2.2.1. Virus.....	37
· 3.2.2.2. Vitamina D, tabaco, consumo de sal, obesidad y microbiota intestinal...	41
▪ 3.3. Anatomía patológica de la esclerosis múltiple.....	43
▪ 3.4. Formas clínicas de esclerosis múltiple.....	46
▪ 3.5. Tratamiento de la esclerosis múltiple.....	49
▪ 3.6. Mecanismo de acción del fingolimod	52

▪ 3.7. Factores predictores de respuesta a los fármacos para la esclerosis múltiple....	54
4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	57
5. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	61
6. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	65
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	69
▪ 7.1. Diseño del estudio.....	71
▪ 7.2. Población del estudio.....	71
▪ 7.3. Variables de evaluación.....	72
▫ 7.3.1. Variables principales (variables dependientes).....	72
▫ 7.3.2. Variables demográficas y clínicas.....	72
▫ 7.3.3. Variables serológicas.....	73
▫ 7.3.4. Variables genéticas.....	73
▪ 7.4. Recogida y análisis de los datos demográficos y clínicos.....	73
▪ 7.5. Recogida y análisis de los datos serológicos.....	73
▪ 7.6. Recogida y análisis de los datos genéticos.....	74
▫ 7.6.1. Genotipado HLA y análisis de la asociación del HLA-II con la respuesta al fingolimod.....	75
▫ 7.6.2. Genotipado de SNP no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple y análisis de su asociación con la respuesta al fingolimod.....	76

▪ 7.7. Análisis estadístico.....	83
8. RESULTADOS.....	85
▪ 8.1. Características demográficas y clínicas de la muestra.....	87
▪ 8.2. Efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod.....	89
▪ 8.3. Asociación de la respuesta al fingolimod con factores demográficos y clínicos.....	90
▪ 8.4. Asociación del virus herpes humano tipo 6 con la respuesta al fingolimod.....	95
▪ 8.5. Asociación de las variantes alélicas del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) con la respuesta al fingolimod.....	97
▪ 8.6. Asociación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.....	100
9. DISCUSIÓN.....	103
▪ 9.1. Efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod.....	105
▪ 9.2. Asociación de la respuesta al fingolimod con factores demográficos y clínicos.....	110
▪ 9.3. Asociación del virus herpes humano tipo 6 con la respuesta al fingolimod.....	113
▪ 9.4. Asociación de las variantes alélicas del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) con la respuesta al fingolimod.....	114

▪ 9.5. Asociación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.....	116
▪ 9.6. Posibles implicaciones en la práctica clínica.....	118
▪ 9.7. Limitaciones del estudio y líneas de investigación futuras.....	119
10. CONCLUSIONES.....	121
BIBLIOGRAFÍA.....	125
ANEXOS.....	165
ANEXO I. Publicación relacionada con la presente tesis doctoral.....	167
ANEXO II. Resultados estadísticos de la relación de polimorfismos de nucleótido simple no pertenecientes al sistema de antígenos leucocitarios humanos e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.....	171

ÍNDICE DE TABLAS.

	Páginas
▪ Tabla 1. Características clínicas según tratamiento modificador de la enfermedad previo.....	88
▪ Tabla 2. Reacciones adversas en nuestra muestra de pacientes tratados con fingolimod.....	90
▪ Tabla 3. Pacientes libres de brotes en relación con factores demográficos y clínicos.....	92
▪ Tabla 4. Pacientes libres de progresión de la discapacidad en relación con factores demográficos y clínicos.....	93
▪ Tabla 5. Pacientes libres de actividad clínica en relación con factores demográficos y clínicos.....	94
▪ Tabla 6. Variables descriptivas de la submuestra con serologías para el VHH-6 y de la muestra completa.....	95
▪ Tabla 7. Asociación de la respuesta al fingolimod con los cambios mensuales de IgG e IgM frente al VHH-6.....	96
▪ Tabla 8. Variables descriptivas de la submuestra con las variables alélicas del sistema HLA y de la muestra completa.....	97
▪ Tabla 9. Distribución de las frecuencias alélicas HLA-DR en nuestra muestra y en la población europea.....	98

- Tabla 10. Asociación del HLADRB1 con la respuesta terapéutica al fingolimod..... 99
- Tabla 11. Variables descriptivas de la submuestra con análisis de SNP y de la muestra completa..... 100
- Tabla 12. Asociación de los 42 SNP estudiados con la respuesta clínica al fingolimod..... 101

ÍNDICE DE FIGURAS.

	Páginas
▪ Figura 1. Mapa mundial de prevalencia de la EM.....	34
▪ Figura 2. Neurodegeneración en la EM.....	44
▪ Figura 3. Formas clínicas de EM.....	47
▪ Figura 4. Evolución de los fármacos modificadores de la enfermedad y año de aprobación en EEUU y Europa.....	51
▪ Figura 5. Efecto de la activación del receptor de esfingosina 1 fosfato (S1P).....	52
▪ Figura 6. Reducción de la tasa anual de brotes.....	91
▪ Figura 7. Distribución de pacientes respondedores (R) y no respondedores (NR) a los 24 meses de tratamiento con fingolimod en función de la presencia o ausencia del alelo HLA-DR6.....	99

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.

A: adenina.

Ac: anticuerpo.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

Ag: antígeno.

AG: acetato de glatirámero.

ARN: ácido ribonucleico.

BOC: bandas oligoclonales.

BOCM: bandas oligoclonales de inmunoglobulinas M.

C: citosina.

CPA: células presentadoras de antígenos.

DE: desviación estándar.

EAE: encefalitis alérgica experimental.

EDSS: *Expanded Disability Status Scale*.

EM: esclerosis múltiple.

EM-PP: esclerosis múltiple primaria–progresiva.

EM-PR: esclerosis múltiple progresiva–recurrente.

EM-RR: esclerosis múltiple recurrente–remitente.

EM-SP: esclerosis múltiple secundariamente progresiva.

G: guanina.

GWAS: estudio de asociación de genoma completo.

HERV: retrovirus endógenos humanos.

HLA: antígenos leucocitarios humanos.

HR: *hazard ratio*.

IAM: infarto agudo de miocardio.

IC: intervalo de confianza.

IFN- α : interferón alfa.

IFN- β : interferón beta.

IFN- γ : interferón gamma.

Ig: inmunoglobulina.

INM: tratamiento inmunomodulador.

LCR: líquido cefalorraquídeo.

LMP: leucoencefalopatía multifocal progresiva.

MAF: alelo de frecuencia menor.

MSRV: *multiple sclerosis associated retrovirus*.

NK: células *Natural Killer*.

NR: no respondedor.

PBMC: células mononucleares de sangre periférica.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PCR-SSOP: reacción en cadena de la polimerasa por primer de secuencia específica.

PD: progresión de la discapacidad.

R: respondedor.

RAM: reacciones adversas medicamentosas.

RM: resonancia magnética.

SBAN: sustancia blanca de apariencia normal.

SC: subcutáneo.

SCA: síndrome clínico aislado.

SGAN: sustancia gris de apariencia normal.

SNC: sistema nervioso central.

SNP: polimorfismo de nucleótido simple.

S1P: esfingosina 1 fosfato.

T: timina.

TAB: tasa anual de brotes.

TCN: linfocitos T centrales de memoria.

Thf: células T foliculares.

TMB: tetrametilbencidina.

Tn: linfocitos T *naïve*.

Treg: células T reguladoras.

TNF: factor de necrosis tumoral.

TVP: trombosis venosa profunda.

VEB: virus de Epstein-Barr.

VHH-6: virus herpes humano tipo 6.

1. RESUMEN

Introducción: La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante y neurodegenerativa del sistema nervioso central, de origen multifactorial, en la que intervienen factores genéticos y ambientales. Clásicamente se han distinguido varias formas clínicas según el curso evolutivo: EM recurrente-remitente (EM-RR), EM secundariamente progresiva (EM-SP), EM primaria-progresiva y EM progresiva-recurrente (EM-PR). Más recientemente se ha incluido también el síndrome clínico aislado (SCA), que consiste en un primer episodio atribuible a un proceso desmielinizante en pacientes que no cumplen criterios diagnósticos de EM. Actualmente solo están comercializados tratamientos para la EM-RR y EM-SP con brotes, así como para los pacientes con un SCA y alto riesgo de conversión a una EM clínicamente definida.

Entre los fármacos de primera línea modificadores de la enfermedad se incluyen el interferón beta (IFN- β) 1b subcutáneo (SC), el IFN-beta 1a SC, el IFN- β 1a intramuscular y el acetato de glatirámico, de administración SC. Más recientemente se han comercializado un IFN- β 1a pegilado SC y dos fármacos orales, teriflunomida y dimetilfumarato. Para pacientes con un debut agresivo o con una respuesta subóptima a los fármacos anteriores, existe una segunda línea de tratamiento en la que se incluyen la mitoxantrona, el natalizumab, el fingolimod, el alemtuzumab y el daclizumab. El abanico terapéutico cada vez es más amplio y existe una gran variabilidad en la respuesta entre distintos pacientes. Así como para los fármacos clásicos de primera línea se han identificado diversos predictores de respuesta terapéutica, apenas existen estudios de predicción de la respuesta para los fármacos de segunda línea y de más reciente introducción, como el fingolimod.

Objetivos: Analizar la efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod en pacientes con EM en la práctica clínica diaria y la asociación del grado de respuesta con variables demográficas y clínicas (edad, sexo, tratamiento previo, puntuación basal en la

Expanded Disability Status Scale [EDSS] y número de brotes durante el año previo), serológicas (modificación de los títulos de anticuerpos [Ac] IgG e IgM frente al virus herpes humano tipo 6 [VHH-6]) y genéticas (antígenos leucocitarios humanos [*Human Leukocyte Antigen*, HLA] de tipo II y polimorfismos de nucleótido simple [*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNP] de genes asociados con el riesgo de padecer EM y no pertenecientes al sistema HLA).

Material y métodos: Se llevó a cabo un estudio de cohorte retrospectivo por revisión de las historias clínicas de los pacientes con EM de la Unidad de Enfermedades Desmielinizantes del Hospital Clínico San Carlos de Madrid que habían recibido al menos una dosis de fingolimod de 0,5 mg entre el 1 de enero de 2004 y el 31 de enero de 2015 (n=167). Se obtuvieron muestras de sangre para la determinación de los títulos de Ac anti-VHH-6 (n=103) al inicio del tratamiento, semestralmente y en caso de brote, y para el análisis genético de las variantes del HLA-DRB1, HLA-DQA1 y HLA-DQB1 (n=125), y de 42 SNP de genes no HLA (n=133) de todos los pacientes posibles. Se registraron la presencia de brotes y de progresión de la discapacidad (PD) así como de reacciones adversas medicamentosas (RAM) a lo largo del tratamiento. Se definió PD como el aumento de $\geq 1,5$ puntos en pacientes con EDSS basal de 0, el aumento de ≥ 1 punto en los pacientes con EDSS basales entre 1 y 5,0 o el aumento de $\geq 0,5$ puntos para EDSS de 5,5 o superiores. Se definió como paciente respondedor a aquel libre de brotes y de PD y como no respondedor al que presentó brotes y/o PD.

La comparación entre las variables cualitativas se realizó mediante el test Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher. Para comparar las variables cuantitativas continuas se emplearon el test de la t de Student (2 grupos) o el análisis de la varianza (ANOVA; >2 grupos), o bien los tests de U de Mann Whitney o de Kruskal-Wallis cuando las variables no seguían una distribución normal. El análisis de la reducción de la tasa anual de brotes

(TAB) se llevó a cabo mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas. Se estimaron las funciones de supervivencia por el método de tabla de vida para el estudio de los eventos brotes y/o PD según los datos clínicos, serológicos y genéticos. La comparación de las funciones de supervivencia de los distintos subgrupos se realizó con el test exacto de Breslow. Se ajustó un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I < 0,05.

Resultados: Fueron incluidos 167 pacientes. El 70,7% eran mujeres. La edad media al inicio del tratamiento con fingolimod fue de 38,6 años (desviación estándar [DE] 8,5). Ciento treinta y ocho (82,6%) presentaban formas EM-RR, 26 (15,6%) EM-SP y 3 (1,8%) EM-PR. Ochenta y seis (51,5%) habían recibido fármacos inmunomoduladores previamente y habían suspendido el tratamiento por reacciones adversas o por falta de respuesta; cincuenta y cinco (33,9%) habían retirado el natalizumab por riesgo de leucoencefalopatía multifocal progresiva; y 26 (15,6%) eran pacientes sin tratamiento previo (*naïve*). La EDSS media basal fue 2,9 (DE 1,7) y la TAB del año previo al inicio del fingolimod, 0,48 (DE 0,8).

La TAB disminuyó un 62,5% a los 12 meses del inicio del fingolimod y un 83,3% a los 24 meses ($p < 0,001$). Aquellos pacientes que habían recibido inmunomoduladores presentaron una reducción de la TAB del 64,4% y del 81,4% a los 12 y a los 24 meses, respectivamente ($p < 0,001$). En el caso de los pacientes *naïve*, esta reducción fue del 79,3% a los 12 meses y del 91,4% a los 24 meses ($p < 0,05$). En el grupo de los pacientes procedentes de natalizumab, las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. En conjunto, el 74,8% se mantenían libres de brotes y de PD (pacientes respondedores) a los 12 meses y el 63,8% a los 24 meses. En cuanto a la seguridad, 32 (19,2%) pacientes presentaron RAM, en su mayoría predecibles y de grado leve.

La tasa de pacientes respondedores no mostró asociación con las variables demográficas y clínicas, si bien se observó una tendencia a obtener mejores resultados cuando el fingolimod se empleó como tratamiento de inicio que tras el fracaso de otras terapias (*hazard ratio* [HR] 0,428, intervalo de confianza [IC] 95% 0,175-1,042, $p=0,062$). Respecto al VHH-6, no se encontró ninguna asociación entre el cambio mensual de los títulos de Ac y la respuesta clínica. En referencia al sistema HLA, la presencia del alelo HLA-DR6 se asoció con una peor respuesta al fingolimod (HR 1,939 [1,036-3,630], $p=0,038$). Por último, se halló una asociación estadísticamente significativa con una mejor respuesta para dos de los 42 SNP no HLA estudiados, rs2283792 (HR 0,283 [0,084-0,954], $p=0,042$ para los portadores del alelo T) y rs9282641 (HR 0,164 [0,032-0,828], $p=0,029$ para el genotipo AG; HR 0,131 [0,029-0,589], $p=0,008$ en el caso del genotipo GG), ambos relacionados con el sistema inmune.

Conclusiones: En la práctica clínica diaria el fingolimod es un fármaco bien tolerado y efectivo en los pacientes con EM. No hemos identificado factores clínicos que permitan predecir la respuesta al fármaco. La presencia del HLA-DR6+ podría considerarse un factor predictor negativo, mientras que determinados alelos de dos SNP relacionados con el sistema inmune podrían ser factores predictores positivos de la respuesta terapéutica al fingolimod. Estos datos podrían servir para personalizar el tratamiento modificador de la enfermedad de una forma más eficiente.

Palabras clave: Esclerosis múltiple, efectividad, fingolimod, HLA-DR6, polimorfismo de nucleótido simple, virus herpes humano tipo 6.

2. ABSTRACT

Introduction: Multiple sclerosis (MS) is a demyelinating and neurodegenerative disease of the central nervous system. It is a multifactorial disease in which genetic and environmental factors are involved. Several clinical forms are described in accordance with their clinical course: relapsing-remitting MS (RRMS), secondary progressive MS (SPMS), progressive primary MS and progressive-relapsing MS (PRMS). Clinically isolated syndrome (CIS), defined as a demyelinating event in patients that do not fulfill diagnostic criteria for MS, has been recently included in this classification. Approved treatments exist for RRMS and SPMS with relapses, and CIS patients at high risk of conversion into clinically defined MS.

Classic first-line disease modifying treatments include subcutaneous interferon beta (IFN- β) 1b, subcutaneous IFN-beta 1a, intramuscular IFN- β 1a, and subcutaneous glatiramer acetate. More recently, pegylated subcutaneous IFN- β 1a and 2 oral drugs, teriflunomide and dimethyl fumarate, have been added to the repertoire. Patients with aggressive onset RRMS or suboptimal response to first-line medication are often offered second-tier drugs - mitoxantrone, natalizumab, fingolimod, alemtuzumab and daclizumab, among others. The therapeutic range is increasing and there is a great variability in the response between different patients. While several therapeutic response predictors have been described for first-line therapy, predictors for second-line drugs, and specially fingolimod, of more recent introduction, are lacking.

Objectives: To analyse the effectiveness and safety of fingolimod treatment in patients with MS in daily clinical practice and the relation between therapeutic response and demographic and clinical variables (age, sex, previous treatment, baseline score in the Expanded Disability Status Scale [EDSS] and number of relapses during the previous year), serological factors (modification of antibody IgG and IgM against human herpes virus type 6 [HHV-6]) and genetic data (human leukocyte antigens [HLA] and single

nucleotide polymorphisms (SNPs) of genes associated with the risk of developing MS and not belonging to the HLA system).

Material and methods: A retrospective cohort study was carried out. Medical records of patients with MS treated at the Demyelinating Disease Clinic of the Hospital Clínico San Carlos of Madrid that had received at least one dose of fingolimod of 0.5 mg between 1 January 2004 and 31 January 2015 (n=167) were reviewed. Blood samples were obtained for the determination of IgG and IgM anti-HHV6 levels at the beginning of the treatment, bi-annually and in the event of a relapse, and for the genetic analysis of HLA-DRB1, HLA-DQA1 and HLA-DQB1 (n=125), and 42 SNP non-HLA genes (n=133) from all possible patients. The presence of relapses and progression of disability (PD) as well as adverse drug reactions (ADR) were recorded throughout the treatment. We defined PD as increasing ≥ 1.5 points in patients with baseline EDSS of 0, an increase of ≥ 1 point in patients with baseline EDSS between 1 and 5.0 or an increase of ≥ 0.5 points in subjects with EDSS onset of 5.5 or higher. Patient responders were defined as those free of relapses, and PD and nonresponders as those with relapses and/or PD.

Qualitative variables were compared using the Chi-square test or Fisher's exact test. To compare the continuous quantitative variables, Student t test (2 groups) or analysis of variance (ANOVA; > 2 groups) or the Mann Whitney or Kruskal-Wallis U tests were used when the variable was not normally distributed. Annual relapse rate (ARR) reduction analysis was carried out using the Wilcoxon test for paired samples. Survival functions were estimated using the life table method for the study of relapses and/or PD events according to clinical, serological and genetic data. Comparison of the survival functions of different subgroups was performed using the Breslow exact test. The results were fitted into a Cox proportional hazards regression model. The null hypothesis was rejected with an error of type I < 0.05 .

Results: 167 patients were included in the study. 118 (70.7%) were female. The mean age at start of fingolimod treatment was 38.6 years (standard deviation [SD] 8.5). 138 (82.6%) had RRMS, 26 (15.6%) SPMS and 3 (1.8%) PRMS. 86 patients (51.5%), had received previous immunomodulatory treatment, withdrawal being motivated by adverse effects or lack of effectiveness; 55 (32.9%) received fingolimod after withdrawal of natalizumab because of the risk of developing progressive multifocal leukoencephalopathy; and 26 (15.6%) were patients without previous disease modifying treatment (naïve patients). The baseline mean EDSS was 2.9 (SD 1.7) and the ARR was 0.48 (SD 0.8).

ARR decreased by 62.5% at 12 months of treatment with fingolimod and 83.3% at 24 months ($p < 0.001$). Patients who had received immunomodulators had a reduction in the ARR of 64.4% and 81.4% at 12 and 24 months, respectively ($p < 0.001$). For naïve patients, this reduction was 79.3% at 12 months and 91.4% at 24 months ($p < 0.05$). Differences in ARR reduction were not statistically significant in the group of patients receiving natalizumab. 74,8% at 12 months, and 63,8% at 24 months remained free of clinical activity (neither relapses or PD). Regarding drug safety, 32 (19.2%) patients presented ADR, which were for the most part predictable and mild.

No association between the response rate and demographic and clinical variable was found. However, there was a trend favouring the use of fingolimod as a starting drug than as an add-on therapy (hazard ratio [HR] 0.428, confidence interval [CI] 95% 0.175-1.042]. Regarding HHV-6, no association was found between changes in IgG and IgM levels and the degree of drug response. As for the HLA system, the presence of the HLA-DR6 allele was associated with a worse response to fingolimod (HR 1.939 [1.036-3.630], $p=0.038$). Finally, a statistically significant association was found in 2 of the 42 SNPs studied, rs2283792 (HR 0.283 [0.084-0.954], $p=0.042$ for carriers of the T allele) and

rs9282641 (HR 0.164 [0.032-0.828], $p = 0.029$ for the AG genotype; HR 0.131 [0.029-0.589], $p = 0.008$ for the GG genotype), both related to the immune system.

Conclusions: In our daily clinical practice, fingolimod is a well-tolerated and effective drug in patients with MS. We have not identified any clinical factors useful in predicting response to the drug. The presence of HLA-DR6+ could be considered a negative predictor, whereas the presence of certain alleles of 2 SNPs related to the immune system could be a positive predictors of the therapeutic response to fingolimod. These data could serve to customize the disease-modifying treatment in a more efficient way.

Keywords: Effectiveness, fingolimod, HLA-DR6, human herpesvirus type 6, multiple sclerosis, single nucleotide polymorphism.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Epidemiología de la esclerosis múltiple.

La esclerosis múltiple (EM) es una de las enfermedades neurológicas más frecuentes y la segunda causa de discapacidad entre los adultos jóvenes en Occidente después de los traumatismos por accidentes de tráfico. Tanto en los pacientes como en su entorno condiciona una merma en la calidad de vida y conlleva un fuerte impacto socioeconómico^{1,2}.

En cuanto a su distribución geográfica, en los primeros estudios realizados por Kurtzke³⁻⁶ se describían tres zonas con diferentes riesgos. Se consideraban zonas de alta prevalencia aquellas que presentaban al menos 30 casos/100 000 habitantes: la mayor parte del norte y centro de Europa, norte de Estados Unidos, sur de Canadá y el sur de Nueva Zelanda y Australia. Zonas de mediana prevalencia eran aquellas con cifras de entre 5 y 30 casos/100 000 habitantes: sur de Europa, sur de Estados Unidos, algunas partes del norte y del sur de África, Oriente Medio y la India. Regiones con una prevalencia inferior a 5 casos/100 000 habitantes se consideraban de baja prevalencia e incluían a China, Japón, Sudamérica y el resto de América Latina.

Desde aquellos primeros trabajos numerosos estudios epidemiológicos han documentado un claro aumento de las tasas de incidencia y prevalencia durante los últimos 25-30 años en todas las regiones analizadas⁷⁻¹⁴. Parece que no solo asistimos a un incremento de la prevalencia por un mayor grado de sospecha, mejores métodos diagnósticos y mayor supervivencia de los pacientes gracias a una mejor asistencia médica, sino que existe un aumento real de la incidencia de la enfermedad, especialmente en mujeres.

Los estudios más recientes han puesto también de manifiesto una disminución del efecto de la latitud sobre el riesgo de padecer EM^{8,15,16}. Aunque en general se sigue aceptando¹⁷ que la incidencia de EM aumenta conforme aumenta la latitud en ambos hemisferios, para volver a disminuir más allá de 65° hacia el norte o hacia el sur, se han demostrado

excepciones como el riesgo especialmente alto en Cerdeña y Sicilia¹⁸⁻²⁰ y las cifras bajas en regiones nórdicas de los países escandinavos²¹. Esto indicaría que en la patogenia de la enfermedad no influyen únicamente factores ambientales sino también genéticos. Las diferencias raciales podrían explicar también parte de la distribución geográfica, ya que si observamos cómo se distribuye la frecuencia de la enfermedad según la raza y dentro de una misma zona, encontramos que los blancos son una población de alto riesgo mientras que negros y asiáticos tienen un riesgo bajo.

Los últimos trabajos realizados en España encuentran una prevalencia de entre 41-125 casos/100 000 habitantes y una incidencia de entre 2,6 y 5,8 casos/100 000 habitantes²²⁻³⁹, que la sitúan dentro del grupo de riesgo intermedio-alto, semejante al de otros países europeos, especialmente de la cuenca mediterránea, como se muestra en la figura 1.

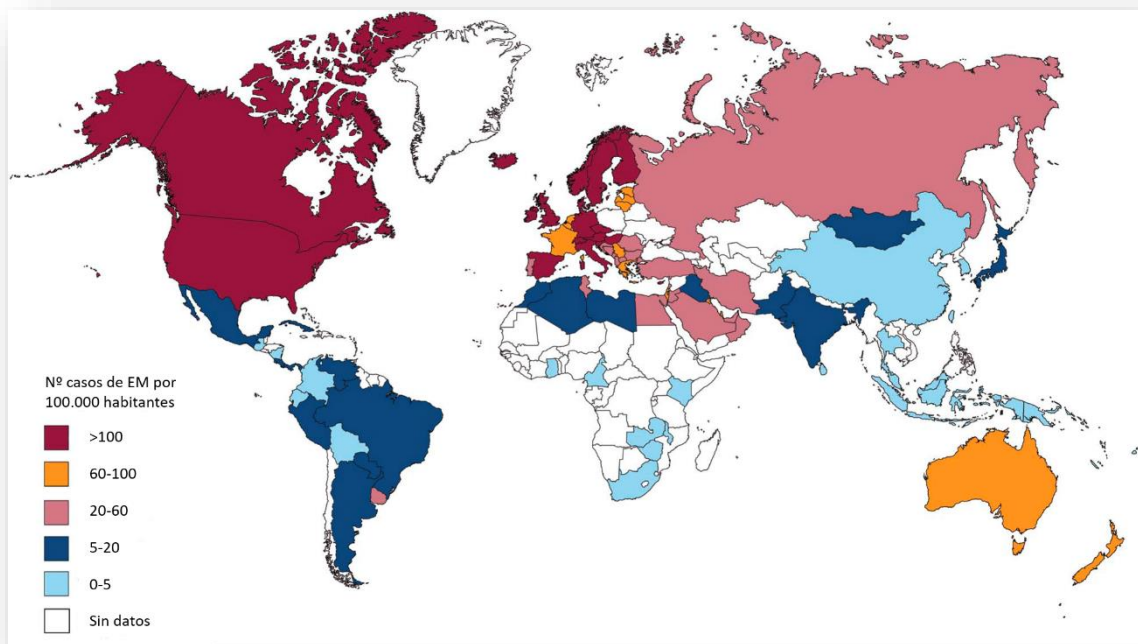


Figura 1. Mapa mundial de la prevalencia de EM. Modificado de www.atlasofms.org, MSIF 2013.

En cuanto a la distribución por sexos, la enfermedad se manifiesta con mayor frecuencia en mujeres que en varones, especialmente en las formas que cursan en brotes, con una

proporción en torno a 3:1. El sexo influye no solo en la susceptibilidad y la expresión fenotípica sino también en el curso evolutivo, de modo que las mujeres presentan brotes más frecuentes pero con un aparente avance más lento de la enfermedad. Las causas de estas diferencias aún se desconocen⁴⁰.

3.2. Etiopatogenia de la esclerosis múltiple.

Nos encontramos ante una enfermedad compleja en la que intervienen factores independientes de inflamación, desmielinización, neurodegeneración, remielinización y reparación axonal. Aunque la patogénesis no se ha dilucidado por completo, e incluso se ha postulado que pueden existir distintas vías patogénicas en diferentes pacientes, las evidencias disponibles apuntan a que se trata de una enfermedad de etiología disimmune y de origen multifactorial en la que participan e interaccionan diferentes factores genéticos de susceptibilidad y diversos factores ambientales.⁴¹.

3.2.1. Genética y esclerosis múltiple.

La evidencia de la influencia genética es inequívoca, estando demostrada la existencia de una predisposición genética a padecer la enfermedad. La concordancia entre gemelos monocigóticos es del 31% frente a un 5% en los dicigóticos. Además, aunque el riesgo absoluto de padecer la enfermedad teniendo un familiar de primer grado afecto es inferior al 5%, el riesgo relativo es entre 20 y 40 veces superior que en la población general. En el caso de que ambos progenitores estén afectados, la tasa asciende al 30%^{42,43}.

El complejo de histocompatibilidad humana (*Human Leukocyte Antigen*, HLA) se considera el mayor factor de riesgo genético en la EM y podría explicar alrededor del 20% de la susceptibilidad genética. Durante los últimos años los estudios de asociación de genoma completo (*genome-wide association studies*, GWAS) han permitido matizar y

ampliar la asociación ya conocida desde los años 70 gracias a los primeros estudios serológicos⁴⁴. Actualmente están definidos varios alelos del complejo HLA relacionados con el riesgo de desarrollar EM⁴⁵⁻⁴⁷. El HLA-DRB1*15:01 es el que presenta una asociación más fuerte, de modo que cada copia de este gen triplica el riesgo de EM, si bien no guarda relación ni con la forma evolutiva ni con la gravedad. También se ha descrito un mayor riesgo de EM con los alelos HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*13:03, HLA-DRB1*08:01 y HLA-DQB1*03:02. En cambio, los alelos HLA-A-*02:01, HLA-B*44:02, HLA-B*38:01 y HLA-B*55:01 parecen tener un efecto protector.

Los avances tecnológicos y los últimos y extensos GWAS han permitido descubrir otros genes relacionados con la EM. Se han caracterizado 103 variantes de tipo polimorfismo de nucleótido simple (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNP) situados fuera del sistema HLA, con un incremento del riesgo más modesto, de entre 1,08 y 1,22 veces^{45,48,49}, y que junto con el HLA explicarían el 25% de la carga genética en la EM⁵⁰. Estos SNP están localizados en genes implicados en todos los posibles mecanismos patogénicos de la EM, como son el desarrollo de la inmunidad (moléculas coestimuladoras, citoquinas...), neurodegeneración y factores ambientales (genes del metabolismo de la vitamina D). No obstante, hasta un 80% están relacionados con la regulación de la respuesta inmune y más de un 30% de los SNP se correlacionan a su vez con el riesgo de padecer otras enfermedades autoinmunes, lo que refleja la gran importancia que tiene en el desarrollo de la EM el mecanismo disimmune^{45,49}.

3.2.2. Factores ambientales y esclerosis múltiple.

Existen claras variaciones geográficas en la epidemiología de la enfermedad que no pueden ser explicadas únicamente por el mecanismo genético, lo cual apoya fuertemente la influencia de factores ambientales en el desarrollo de la EM. Ejemplos de estas variaciones geográficas son el efecto del gradiente de la latitud^{6,51} o los cambios del riesgo

de padecer la enfermedad entre personas con un mismo origen étnico que migran a zonas con distinta prevalencia⁵²⁻⁵⁴.

Los estudios de migración han puesto de manifiesto que la exposición al posible factor de riesgo ocurre antes de la adolescencia, y a nivel macroambiental, sin influencia del ambiente familiar. Las personas que migran antes de la adolescencia adquieren el riesgo de padecer EM de la población receptora, mientras que aquellas que migran después de dicha edad mantienen el riesgo de su área geográfica original.

Dentro de estos factores ambientales, aquellos para los que, hasta el momento, se han encontrado un mayor número de evidencias son el virus de Epstein-Barr (VEB), el virus herpes humano tipo 6 (VHH-6) y algunos retrovirus endógenos humanos (*Human Endogenous Retrovirus*, HERV)⁵⁵⁻⁵⁷, el déficit de vitamina D⁵⁸⁻⁶³, el hábito tabáquico⁶⁴⁻⁶⁶, el consumo de sal^{67,68}, el índice de masa corporal elevado durante la infancia y la adolescencia⁶⁹⁻⁷³ y la composición de la microbiota intestinal⁷⁴⁻⁷⁶. Todos estos factores ambientales podrían explicar, en parte, el aumento que han experimentado la incidencia y la prevalencia en los países occidentales durante las últimas décadas^{77,78}.

Otros muchos factores han sido también propuestos como posiblemente relacionados con la patogenia o el riesgo de padecer EM. Entre ellos se han citado los solventes orgánicos, el estrés, el alto nivel educativo, el exceso de higiene, el orden de nacimiento en la familia, la edad a la que se adquieren las primeras infecciones, el nivel de estrógenos y otros agentes infecciosos como el *Acinetobacter* o la *Pseudomonas aeruginosa*, aunque ninguno de ellos ha conseguido un nivel de evidencia suficiente^{59,60,64}.

3.2.2.1. Virus.

Como queda dicho, la implicación en la patogenia de la EM de los virus es conocida y existe una creciente evidencia sobre aquellos que están involucrados en la enfermedad.

Así, la infección por el VEB ha emergido como uno de los factores ambientales más interesantes y su asociación con la EM parece clara gracias a los resultados de los numerosos estudios llevados a cabo en los últimos 30 años. Está ampliamente descrita la mayor seroprevalencia del VEB en los pacientes con EM (80-99%) frente a los sujetos sanos (40-90%)⁷⁹⁻⁸². El riesgo de padecer EM es unas 10 veces superior entre los individuos que experimentan una infección no diagnosticada por el VEB en la infancia temprana y 20 veces superior entre las personas que desarrollan mononucleosis infecciosa más tardíamente⁸³. También se ha analizado la posible asociación entre la presencia de anticuerpos (Ac) frente a este virus y del alelo HLA-DRB1*15:01, observándose que la combinación de ambos factores puede multiplicar hasta 24 veces el riesgo de padecer EM⁸⁴.

Como potencial mecanismo biológico subyacente se ha propuesto una expansión de células T autorreactivas específicas para el VEB en respuesta a la infección de los linfocitos B, que atraviesan la barrera hematoencefálica y pueden desencadenar la enfermedad. Se ha descrito una relación entre la aparición de brotes y la replicación activa del virus⁸⁵ y entre la presencia de células T y de Ac autorreactivos frente a la mielina y el VEB^{86,87} y se han identificado dos péptidos de este virus como dianas de la respuesta inmune en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes con EM⁸⁸.

También existen numerosas evidencias de la relación del VHH-6 con la EM. Se trata de un virus con alta seroprevalencia en la población, presente en casi todos los sujetos a partir de los dos años de edad⁸⁹. El VHH-6 muestra tropismo por células del sistema nervioso central (SNC) y del sistema inmunitario y, tras la primoinfección, puede quedar latente con reactivaciones periódicas a lo largo de la vida. Están descritas dos variantes: el VHH-6A, la más neurotrópica y más frecuentemente relacionada con la EM, así como con otros trastornos neurológicos como la enfermedad de Alzheimer y los gliomas, y el

VHH-6B, que causa el exantema súbito de la infancia o roséola del lactante⁹⁰, y que en ocasiones se relaciona también con trastornos neurológicos como encefalitis y crisis febriles⁹¹.

Se ha señalado un posible aumento de la muerte de oligodendrocitos y una disminución de la proliferación celular mediada por este virus^{92,93} así como un posible efecto desmielinizante por reacción cruzada contra la mielina por mimetismo molecular⁹⁴⁻⁹⁶. Además, se han sugerido posibles interacciones con el sistema inmune, tras describirse que puede infectar células dendríticas inmaduras produciendo en ellas alteraciones fenotípicas y funcionales⁹⁷.

A nivel de laboratorio se ha detectado ácido desoxirribonucleico (ADN) del VHH-6 en las placas de desmielinización y en la sustancia blanca aparentemente normal de los sujetos con EM⁹⁸⁻¹⁰⁰, en el LCR de los pacientes y en linfocitos, oligodendrocitos y microglía de tejidos lesionados¹⁰¹⁻¹⁰⁴, así como replicación activa viral mediante detección de ácido ribonucleico (ARN), aunque estos resultados no se han conseguido reproducir en todos los estudios¹⁰⁵. También se ha descrito una relación entre los títulos de Ac y la replicación activa del virus con las exacerbaciones de la enfermedad^{103,106-109}, con estudios de resonancia magnética (RM) que relacionan la evolución de las imágenes obtenidas por captación de gadolinio con la evolución de la infección¹⁰², si bien no todos los estudios confirman estos datos¹¹⁰.

Por último, también se ha relacionado la respuesta terapéutica al interferón beta (IFN- β) con su poder antiviral y la disminución de la replicación activa del VHH-6. Se ha demostrado que el tratamiento con IFN- β reduce la carga viral durante los brotes de la enfermedad, aunque no durante las fases de remisión^{111,112}, y que la persistencia del VHH-6 en sangre se asocia con una menor tasa de respuesta al IFN- β ^{113,114}, al acetato de glatirámico (AG)¹¹⁴ y al natalizumab¹¹⁴. Incluso se ha descrito una interacción entre el

VHH-6 y SNP en los locus de los genes MHCIIA y CD46 con la respuesta terapéutica al IFN- β y la presencia de brotes, lo que explicaría interrelaciones entre los factores ambientales y genéticos^{115,116}. Estas asociaciones se encuentran sobre todo en la fase recurrente-remitente de la EM y no durante las fases progresivas, lo que podría justificar, al menos en parte, la falta de efectividad de los tratamientos en estas formas clínicas de la enfermedad¹¹⁷.

Tras el hallazgo, a finales de los años 80, de partículas retrovirales en cultivos de células leptomeníngeas y monocitos de pacientes con EM^{118,119}, los HERV han sido los últimos agentes virales implicados en la etiopatogenia de la enfermedad. Evolutivamente se considera que entraron en nuestro genoma hace millones de años a través de la infección de la línea germinal por antiguos retrovirus exógenos. Representan entre el 5 y el 8% del genoma y, en general, son regiones de ADN inactivas. Sin embargo, algunas copias sí tienen capacidad codificante. Varias de estas secuencias parecen ser específicamente activadas en pacientes con EM, produciéndose diversos péptidos e incluso viriones completos que pueden participar en la patogenia de la EM^{120,121}.

Estas partículas se denominaron inicialmente MSR V (*multiple sclerosis associated retrovirus*), aunque actualmente se integran en la familia HERV-W, que codifica una proteína de cubierta *env* (*envelope*), capaz de activar una cascada autoinmune y proinflamatoria. Se han encontrado partículas de estos virus en muestras de sangre, en el LCR y en biopsias cerebrales de pacientes^{122,123}. A nivel experimental, otros estudios han demostrado acciones neurotóxicas contra los oligodendrocitos¹²⁴ y activación de respuestas inmunitarias innatas y de células T¹²⁵.

Por otra parte, al igual que ocurría con el VEB y el VHH-6, los HERV no solo se han asociado con la susceptibilidad de padecer EM, sino también con un peor curso evolutivo. Su presencia se ha relacionado con un riesgo mayor de recaídas, puntuaciones más altas

en la *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) y porcentajes superiores de conversión a formas clínicas progresivas^{126,127}.

Se plantea también la posibilidad de que el VHH-6 y los HERV interactúen entre sí en la etiopatogenia de la EM¹²⁸, lo que ha dado lugar a la hipótesis de los “dos disparos”. También se han implicado en esta teoría al virus herpes simple tipo 1 y al VEB, sugiriéndose que podrían transactivar regiones previamente no codificantes de los HERV^{129,130}. Así, al igual que es aceptado por todos que se trata de una enfermedad poligénica en la que distintos genes contribuyen a la susceptibilidad, es posible también que sean varios virus los que contribuyan o interactúen con los otros para desencadenar el proceso autoinmune que da lugar a la EM.

3.2.2.2. Vitamina D, tabaco, consumo de sal, obesidad y microbiota intestinal.

Dos factores a los que se les ha atribuido la relación entre la geografía y la incidencia de la EM son la vitamina D y la exposición a la luz solar. Estas hipótesis surgen de numerosos estudios epidemiológicos en los cuales se describe que niveles más altos de vitamina D podrían disminuir el riesgo de EM⁵⁸⁻⁶³.

Está demostrado que la vitamina D es un factor ambiental que influye en la expresión génica a través de mecanismos epigenéticos, como son la metilación del ADN, la modificación de histonas o de micro-ARN¹³¹. Se trata de una vitamina con acciones en distintos órganos, fundamentalmente en el intestino y el riñón (aumenta la reabsorción de calcio y fósforo), la piel (disminuye la síntesis de vitamina D3), la glándula paratiroides (disminuye la secreción de paratohormona), los islotes pancreáticos (aumenta la síntesis y secreción de insulina) o las células inmunológicas. Entre sus diversas acciones inmunomoduladoras se incluyen la disminución de la expresión de moléculas coestimuladoras, la supresión de interleuquinas inflamatorias, la disminución de

respuestas Th1¹³² de células T específicas de la proteína básica de la mielina¹³³ y de respuestas humorales y proliferación de linfocitos B¹³⁴.

Existen modelos animales que han relacionado la vitamina D con el desarrollo y gravedad de la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE)^{135,136}. A nivel clínico, muchos otros estudios han encontrado datos que apoyan el efecto protector de la vitamina D¹³⁷ en la EM. En general, los ensayos con vitamina D como terapia adyuvante a fármacos inmunomoduladores han mostrado efectos beneficiosos en algunas variables radiológicas analizadas, pero no cambios estadísticamente significativos en las variables clínicas¹³⁸. No obstante, sí existe un estudio que aboga por el efecto positivo que los suplementos de vitamina D tienen sobre el rendimiento cognitivo y la ansiedad de los pacientes con déficit de esta vitamina¹³⁹. Otras investigaciones, tanto epidemiológicas como terapéuticas, no han confirmado estos resultados¹⁴⁰⁻¹⁴².

Por último, y dificultando aún más esta posible relación, se ha sugerido que la exposición solar y la vitamina D no producen efectos idénticos, y que parte del efecto beneficioso de la radiación solar sobre el riesgo de padecer EM iría vehiculada por mecanismos independientes de la vitamina D¹⁴³⁻¹⁴⁵.

El tabaco es otro de los factores ambientales propuestos, aunque los mecanismos por los que modifica el riesgo de EM y, posiblemente, la progresión de la enfermedad, son desconocidos. En la mayoría de los estudios el grado de asociación ha sido moderado^{65,66} y el riesgo se cree que está unido a la duración y a la intensidad del hábito, con menor impacto de la edad de inicio, y parece disminuir pasados 10 años desde su interrupción⁶⁵. Este riesgo se ha encontrado en ambos sexos y también está descrito para los fumadores pasivos¹⁴⁶.

Respecto a la sal, otro de los factores en estudio, parece existir un incremento de la actividad de la enfermedad, tanto clínica como radiológica, en aquellos pacientes con un consumo moderado o alto respecto a los que realizan una ingesta más baja¹⁴⁷.

La obesidad durante la infancia y la adolescencia también se propone como factor ambiental posiblemente involucrado en el riesgo de padecer EM^{73,77}. Dicho factor supone un mayor impacto en el sexo femenino aunque, al igual que ocurre con los factores anteriores, ejerce una influencia moderada^{69,70}.

Para concluir, se sugieren también diferencias en los niveles de determinados microorganismos intestinales entre los pacientes con EM y los individuos sanos. Dichas diferencias podrían ir ligadas a variaciones en la expresión de genes implicados en la respuesta inmunitaria^{74,75}. Falta por identificar adecuadamente estas poblaciones bacterianas, definir bien su papel en la patogenia y dilucidar posibles opciones terapéuticas⁷⁶.

3.3. Anatomía patológica de la esclerosis múltiple.

A nivel anatomopatológico la EM se caracteriza por la presencia de múltiples lesiones focales desmielinizantes en la sustancia blanca del SNC, con un grado variable de destrucción axonal (figura 2). El estadio evolutivo de estas lesiones (placas) es diferente entre ellas y sus localizaciones más frecuentes son la sustancia blanca periventricular, los nervios ópticos, el troncoencéfalo, el cerebelo y la médula espinal. Aunque en menor número, también pueden aparecer placas en la sustancia gris¹⁴⁸, tanto en el córtex como en los ganglios basales, el tronco o la médula espinal.

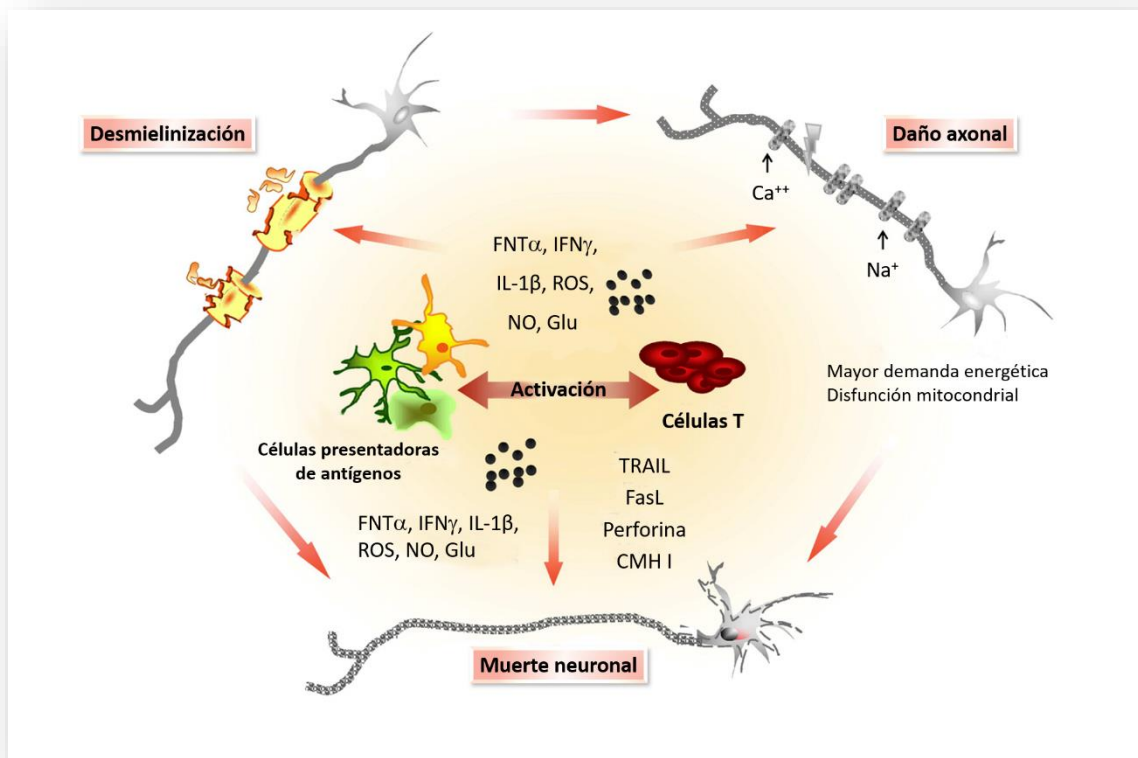


Figura 2. Neurodegeneración en la EM. Adaptado de Hertz J et al. Experimental Neurology, 2010.

Puede distinguirse entre placas activas o inactivas de desmielinización. Las placas activas se caracterizan por la presencia de una intensa infiltración por parte de macrófagos activados que contienen fragmentos de mielina. Las inactivas, por el contrario, son hipocelulares, sin signos de fragmentación activa de la mielina, presentan intensa gliosis y marcada reducción de la densidad axonal, y en ellas los oligodendrocitos son muy escasos o están ausentes.

Por otro lado, los estudios anatomopatológicos llevados a cabo en las dos últimas décadas, realizados casi exclusivamente sobre lesiones desmielinizantes activas, han mostrado la presencia de un patrón heterogéneo de desmielinización entre lesiones de diferentes pacientes, mientras que las placas activas dentro del mismo paciente son bastante similares. Se diferencian, aunque con cierta controversia, cuatro patrones¹⁴⁹:

- Patrón I: placas con infiltrados inflamatorios con predominio de linfocitos T y de macrófagos.
- Patrón II: desmielinización asociada a macrófagos con depósito local de inmunoglobulinas (Ig) y activación del complemento. Es, junto al patrón I, el más frecuente y unidos representan el 75% de los casos.
- Patrón III: apoptosis de los oligodendrocitos y mielina vesiculizada. Se corresponde con la enfermedad de Baló, que se caracteriza por la presencia de placas con capas concéntricas.
- Patrón IV: degeneración primaria de los oligodendrocitos en la sustancia blanca periplaca con destrucción secundaria de la mielina. Este patrón solo se encuentra en pacientes que presentan desde el inicio formas progresivas de la enfermedad.

Si bien la EM es una enfermedad típicamente parcheada, algunos estudios han demostrado que todo el tejido cerebral está afectado¹⁵⁰, por lo que se habla de “sustancia blanca de apariencia normal” (SBAN) y de “sustancia gris de apariencia normal” (SGAN). En la SBAN se puede observar activación de microglía, pérdida de axones, desmielinización, inflamación microscópica, pérdida de precursores de oligodendrocitos o gliosis. En la SGAN también se observa activación de la microglía y pérdida de axones y mielina de forma difusa.

En cuanto al daño axonal¹⁵¹, se ha puesto en relación con la discapacidad irreversible desarrollada por los pacientes. Los hallazgos actuales sugieren que se correlaciona con la inflamación, puede producirse independientemente de la desmielinización activa, se encuentra presente en las fases tempranas de la enfermedad y se observa además en la SBAN y en la SGAN. El ataque inmunológico directo sobre el axón podría intervenir en los mecanismos patogénicos del daño axonal facilitando la activación de microglía local y la atracción de macrófagos, con la consiguiente secreción de sustancias neurotóxicas

como el óxido nítrico, citoquinas y metaloproteasas. En concentraciones elevadas, estas sustancias pueden lesionar el axón de forma irreversible. En las fases crónicas el daño axonal se relaciona con fenómenos neurodegenerativos.

Además, los estudios muestran de modo consistente también la presencia de remielinización¹⁵², fenómeno que puede ocurrir precozmente e incluso de forma simultánea a la desmielinización. Si en las placas crónicas la remielinización es incompleta y generalmente queda restringida al borde, en las placas agudas puede producirse una extensa remielinización dando lugar a las denominadas *shadow plaques* (placas sombreadas), que son placas muy bien delimitadas con vainas de mielina más delgadas que se tiñen de forma pálida. La extensión de la remielinización parece depender de la mayor o menor capacidad para llevarla a cabo por parte de los oligodendrocitos o de sus células progenitoras presentes en las lesiones y, así como se observa variabilidad entre el grado de remielinización entre unas lesiones y otras, también se ha observado una gran variabilidad entre los distintos pacientes.

3.4. Formas clínicas de esclerosis múltiple.

La principal característica clínica de la EM es su variabilidad, ya que los síntomas pueden cambiar mucho de unas personas a otras e incluso dentro de una misma persona a lo largo de la evolución de la enfermedad. A pesar de esta posible multiplicidad clínica, dado que las lesiones desmielinizantes muestran predilección por ciertas áreas del SNC, existen complejos de síntomas y signos más o menos típicos de la enfermedad, como son la neuritis óptica, la mielitis parcial o los síndromes de tronco cerebral.

En función de su curso clínico se han distinguido clásicamente distintos tipos de EM¹⁵³⁻

¹⁵⁶ (figura 3):

- EM remitente-recurrente (EM-RR), con un curso caracterizado por la aparición de episodios de disfunción neurológica aguda compatibles con brotes, que pueden dejar o no secuelas, y con periodos de estabilidad entre ellos. Es la forma más común al inicio, representando en torno al 80-85% de los casos, si bien muchos pacientes evolucionan posteriormente a una forma secundariamente progresiva.
- EM primaria-progresiva (EM-PP), en la que los síntomas progresan desde el inicio de la enfermedad, sin exacerbaciones, con algún periodo ocasional de estabilidad. Esta forma suele tener una edad de presentación más tardía y una mayor discapacidad. Supone alrededor del 10% de los casos al inicio de la enfermedad.
- EM secundariamente progresiva (EM-SP), caracterizada por una etapa inicial con brotes seguida por otra fase de progresión, con o sin brotes.
- EM progresiva-recurrente (EM-PR), que presenta progresión desde el inicio y brotes superpuestos, con o sin recuperación, con deterioro continuo entre ellos.

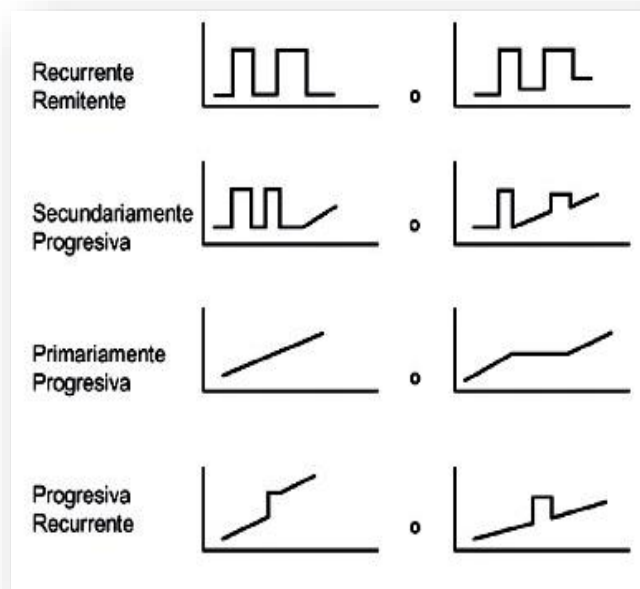


Figura 3. Formas clínicas de EM.

Más recientemente Lublin et al¹⁵⁷ han establecido una nueva clasificación fenotípica en la que se incluye también el concepto de síndrome clínico aislado (SCA) en relación con los pacientes que han experimentado un primer episodio de disfunción neurológica aguda sugestivo de brote pero que no cumplen criterios para establecer el diagnóstico de EM. La EM-RR se diferencia en formas activas o no activas según la presencia de brotes y/o de lesiones captantes de gadolinio en RM o de incremento de la carga lesional en secuencias T2 (aparición de lesiones nuevas o aumentadas de tamaño) y las formas progresivas (tanto las primarias como las secundarias) quedan también diferenciadas en relación con la existencia o no de actividad clínica y/o radiológica así como de progresión del grado de discapacidad. De este modo se podrían diferenciar los siguientes grupos:

- SCA:
 - No activo.
 - Activo.
- EM-RR:
 - No activa.
 - Activa.
- EM-SP/EM-PP:
 - No activa y sin progresión
 - No activa pero con progresión.
 - Activa pero sin progresión.
 - Activa y con progresión.

3.5. Tratamiento de la esclerosis múltiple.

Aunque no existe hoy en día un tratamiento definitivo, sí existen fármacos de eficacia probada para la EM (figura 4) capaces de producir efectos beneficiosos en los pacientes como son la reducción de la tasa de brotes, de la progresión de la discapacidad (PD) y de las lesiones en RM. Los primeros aprobados para la EM-RR fueron el IFN- β 1b subcutáneo (SC)¹⁵⁸, el IFN- β 1a intramuscular¹⁵⁹, el IFN- β 1a SC¹⁶⁰ y el AG¹⁶¹⁻¹⁶³. Los objetivos primarios de eficacia de todos los estudios fundamentales resultaron superponibles, con una disminución de las tasas anualizadas de brotes (TAB) en torno al 30%. Los estudios posteriores de seguimiento¹⁶⁴⁻¹⁶⁸, así como los de comparación entre ellos¹⁶⁹⁻¹⁷¹, parecen confirmar los datos de efectividad semejante y de seguridad a largo plazo. Posteriormente estos fármacos también demostraron su eficacia en pacientes con un primer episodio desmielinizante o SCA y con una RM característica de EM, retrasando el tiempo hasta la aparición de un segundo brote y disminuyendo el porcentaje de pacientes con conversión a EM clínicamente definida¹⁷²⁻¹⁷⁵. Por último, varios ensayos clínicos han demostrado la eficacia del IFN- β en las formas de EM-SP con brotes¹⁷⁶⁻¹⁸⁰. En este caso el beneficio es más limitado y parece guardar relación con la modificación del componente inflamatorio de la enfermedad, con menor influencia sobre el degenerativo.

Más recientemente se han comercializado en España dos fármacos orales que también se pueden emplear como primera línea de tratamiento: teriflunomida, cuya potencia terapéutica es equiparable a la de los IFN- β y el AG, y que ha demostrado eficacia tanto en pacientes con EM-RR como en aquellos con un SCA y una RM característica¹⁸¹⁻¹⁸³, y dimetilfumarato (BG-12)¹⁸⁴⁻¹⁸⁶, que posee una eficacia a nivel clínico y radiológico superior a la de los fármacos previos para los pacientes con EM-RR. En la actualidad

disponemos además de un IFN- β 1a pegilado de administración SC, aprobado para pacientes con EM-RR^{187,188}.

Durante los últimos años hemos asistido a grandes avances con la aparición de nuevos tratamientos con mayor potencia terapéutica que los ya referidos. Estos son mitoxantrona¹⁸⁹, natalizumab^{190,191}, fingolimod^{192,193}, alemtuzumab^{194,195} y daclizumab^{196,197}. Sin embargo, estos fármacos presentan posibles reacciones adversas más complejas, por lo que se reservan para los pacientes con formas clínicas más agresivas y/o con respuesta subóptima a los fármacos previos.

La mitoxantrona es un análogo de la antraciclina con amplia actividad sobre el sistema inmune (inhibe la inmunidad humoral y posee efectos antiproliferativos sobre las células B y T y los macrófagos), que se ha utilizado como agente quimioterápico en distintas neoplasias. Los estudios de vigilancia han reflejado un riesgo de disfunción sistólica aproximado del 12% y un riesgo de leucemia de alrededor del 0,8%¹⁹⁸, por lo que su uso cada vez es menos frecuente.

El natalizumab es un Ac monoclonal dirigido contra la integrina $\alpha 4\beta 1$ presente en la superficie de todos los leucocitos excepto los neutrófilos, y que impide su paso al SNC. Está claramente definido el riesgo de desarrollo de leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP) asociado a su uso en pacientes con serología positiva para el virus JC^{199,200}. Recientemente se está estudiando la presencia de bandas oligoclonales (BOC) IgM lípido-específicas en el LCR de los pacientes con EM como posible dato estratificador del riesgo de esta complicación²⁰¹.

El fingolimod es un inmunosupresor selectivo. Se trata de un análogo de la esfingosina que produce una retención rápida, selectiva y reversible de los linfocitos dentro de los ganglios linfáticos, limitando así la invasión de linfocitos autorreactivos en el SNC y, por

lo tanto, el daño inflamatorio. Existe un riesgo en torno al 0,2% de aparición de bloqueo auriculoventricular de segundo grado tras la primera dosis y de desarrollo de edema macular en aproximadamente el 0,5% de los pacientes²⁰².

El alemtuzumab es un Ac monoclonal humanizado dirigido contra el antígeno (Ag) CD52. Entre sus posibles efectos adversos se ha descrito el desarrollo de otras enfermedades autoinmunes hasta en un tercio de los pacientes, sobre todo tiroideas. Además puede provocar la aparición de púrpura y de nefropatías^{203,204}.

Por último, el daclizumab es también un Ac monoclonal que se dirige contra la subunidad alfa (CD25) del receptor de la IL-2 de los linfocitos T inhibiendo su proliferación. Aunque todavía no se ha comercializado en España sí se encuentra disponible ya en otros países europeos. Respecto a los efectos adversos, los más frecuentemente descritos han sido las reacciones cutáneas (sobre todo eritema e induración), con un caso de fallecimiento tras complicaciones y desarrollo de un absceso en psoriasis. También se ha observado un incremento de las infecciones, en su mayoría de grado leve, y hepatotoxicidad.

Esta situación actual está a punto de complicarse todavía más en los próximos años por la inminente comercialización en España de nuevos tratamientos que han concluido recientemente los ensayos clínicos en fases II y III, como son ofatumumab²⁰⁵, cladribina²⁰⁶, laquinimod²⁰⁷, ocrelizumab^{208,209} y siponimod²¹⁰.



Figura 4. Evolución de los fármacos modificadores de la enfermedad y año de aprobación en EEUU y Europa. Modificado de Sorensen et al. Acta Neurol Scand 2016.

3.6. Mecanismo de acción del fingolimod.

El fingolimod es un derivado químico de un metabolito fúngico, la miriocina²¹¹. Se trata de un análogo estructural de la esfingosina, un metabolito de la esfingomielina. Ambas sustancias, el fingolimod y la esfingosina, son sustratos de una enzima intracelular, la esfingosinasa ²¹²⁻²¹⁴, la cual fosforila ambas sustancias convirtiéndolas en sus metabolitos activos fosforilados, esfingosina fosfato y fingolimod fosfato.

Se han descrito cinco subtipos de receptor de esfingosina 1 fosfato (S1P1–S1P5). Estos están ampliamente distribuidos en diferentes tipos celulares, como son los linfocitos B y T CD4+ y CD8+, las células *Natural Killer* (NK), las células dendríticas, los macrófagos, los miocitos, las neuronas y las células endoteliales²¹⁵. El fingolimod fosfato es agonista de los subtipos S1P1 (implicado en la salida de linfocitos de los ganglios linfáticos, en la migración de astrocitos, en la frecuencia cardíaca y en el tono vasomotor), S1P3 (ejerce funciones de regulación de la frecuencia cardíaca, del tono vasomotor y de la migración de astrocitos), S1P4 (función desconocida) y S1P5 (regula la migración de células presentadoras de oligodendrocitos), siendo su afinidad por el subtipo 2 muy baja²¹⁶. Cuando el fingolimod se une a los receptores de S1P, se produce la internalización y destrucción del receptor, quedando la célula sin receptores disponibles para la acción de la sustancia endógena, la esfingosina^{217,218} (figura 5).

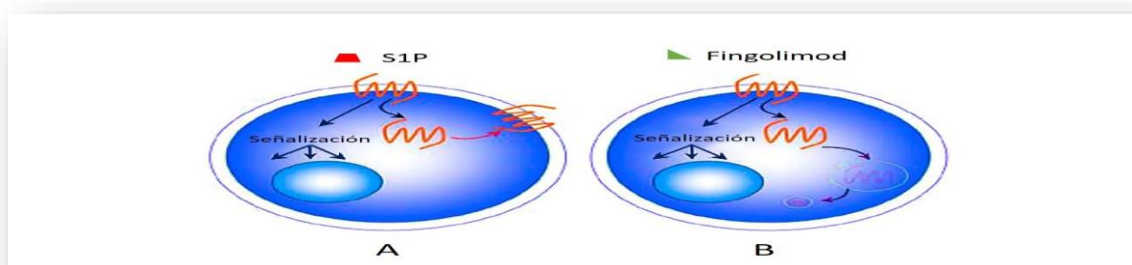


Figura 5. Efecto de la activación del receptor de esfingosina 1 fosfato (S1P). Adaptado de García-Merino JA et al. Rev Neurol 2012²¹⁵.

Normalmente menos del 2% de los linfocitos recirculan entre la sangre periférica y los ganglios linfáticos, siendo su salida desde los ganglios linfáticos un proceso dependiente de S1P. Cuando el fingolimod actúa sobre los linfocitos T *naïve* (Tn) o linfocitos T centrales de memoria (TCM), estos son retenidos reversiblemente dentro de los ganglios linfáticos²¹⁹⁻²²². Como consecuencia hay menos linfocitos autorreactivos circulantes y, por lo tanto, se reduce el número de linfocitos que pueden pasar al interior del SNC y generar el daño inflamatorio propio de la EM. En este caso, los Tn y TCM pierden la señalización de salida de los ganglios linfáticos (señal S1P, mediada por el receptor S1P) y mantienen una señal de retención dentro del ganglio linfático, que es la señal CCR7^{223,224}. Los linfocitos T efectores de memoria, que tienen funciones efectoras inmediatas y que no recirculan entre la sangre y los ganglios linfáticos²²⁵⁻²²⁷, sino que se alojan en tejidos realizando inmunovigilancia, no son afectados por el fingolimod.

Se considera que las células productoras de IL-17 o Th17 desempeñan un papel fundamental en la patogenia de la EM. En un estudio realizado en pacientes tratados con fingolimod, se observó que las células con el fenotipo Th17 pertenecían, en su mayoría, al grupo de las TCM, y que su número disminuía marcadamente con el fingolimod junto con el de estas últimas. Este dato sugiere que la reducción de células Th17 en sangre periférica puede ser uno de los mecanismos relacionados con la eficacia de este fármaco en la EM. Los efectos del fingolimod sobre las células T reguladoras CD4⁺ CD25⁺ son sumamente complejos y diversos experimentos han aportado resultados contradictorios, si bien la mayoría de los estudios indican que facilita la actividad de esta subpoblación. El fingolimod afecta, asimismo, a la circulación de las células B y reduce su número en la sangre, aunque la capacidad de producción de Ac está preservada. En pacientes con EM tratados con este fármaco existe un descenso marcado de las células B circulantes, pero no así en el LCR, sin repercusión significativa sobre la síntesis intratecal de IgG y

la presencia de BOC. La información disponible sobre células B es menor que sobre las T, pero es probable que la alteración de su circulación sea uno de los factores que contribuya a la eficacia del fármaco²¹⁵.

Teniendo en cuenta que el fingolimod es una molécula lipofílica y que las neuronas y células gliales expresan receptores S1P, es posible que tenga también un efecto directo sobre el SNC. Existen evidencias de que el fingolimod cumple algún papel neuroprotector, de remielinización o reparación en modelos animales de EAE, pero de momento esto no se ha comprobado en seres humanos²²⁸⁻²³¹.

3.7. Factores predictores de respuesta a los fármacos para la esclerosis múltiple.

El fracaso terapéutico para los agentes modificadores de la enfermedad de primera línea (IFN- β , AG, teriflunomida o dimetil fumarato) puede variar de forma muy amplia según los criterios elegidos para definir la respuesta al tratamiento como subóptima. Entre estos criterios encontramos la aparición de brotes, la presencia de lesiones nuevas o aumentadas de tamaño en secuencias T2 en RM o captantes de gadolinio y/o el incremento del grado de discapacidad. Así, dependiendo del rigor de los criterios empleados, los pacientes no respondedores al IFN- β tras dos años de tratamiento podrían variar del 7 al 49%^{232,233}.

Dada la creciente aparición de fármacos para la EM y que en los estudios realizados no se han logrado definir características clínicas y/o epidemiológicas que discriminen entre respondedores y no respondedores, resulta de gran importancia buscar biomarcadores que permitan personalizar el tratamiento y poder elegir el mejor fármaco en cada paciente concreto.

En este sentido, el fármaco sobre el que más estudios se han publicado es el IFN- β , habiéndose encontrado asociación con marcadores inmunológicos, serológicos y

genéticos. Como marcadores inmunológicos que predicen una buena respuesta al IFN- β se han señalado los niveles bajos de IFN- γ ^{234,235}, el aumento de la expresión de la proteína B7-H1 (PD-L1)²³⁶, la inducción temprana y mantenida de la expresión del ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF²³⁷⁻²³⁹, la disminución de la expresión del Ag 4 de activación muy tardío^{240,241}, cantidades superiores de HLA soluble²⁴²⁻²⁴⁴, el incremento de la expresión de las moléculas coestimuladoras CD80, CD86 y PD-L2^{245,2456} y del inflamasoma NLRP3²⁴⁷ y niveles bajos de la actividad inhibitoria del IFN (IIA)²⁴⁸. Asociados con una mala respuesta, se han descrito la reducción de los niveles séricos de IL-10²⁴⁹⁻²⁵¹, la presencia de Ac neutralizantes^{252,253}, el aumento de IL-17^{254,255} y la presencia de BOC de tipo IgM lípido-específicas en el LCR²⁵⁶. En cuanto a los estudios serológicos, se ha publicado la presencia del VHH-6 en sangre y en suero como un factor predictor de mala respuesta^{111-114,116}. Asimismo se han encontrado varios genes asociados con la respuesta terapéutica al IFN- β , sobre todo aquellos implicados en la vía del IFN de clase I y del sistema glutamatérgico, si bien estas asociaciones aún son débiles^{257,258}. No obstante, la mayoría de las investigaciones actuales de factores predictivos de respuesta se centran fundamentalmente en la búsqueda de SNP²⁵⁹⁻²⁶⁶. Respecto a los alelos del complejo HLA I y II, un estudio reciente ha encontrado una asociación con mejor respuesta para el alelo HLA-DRB1*04 y para el haplotipo HLA-A*03-B*44-DRB1*04²⁶⁷, si bien otros estudios no han detectado relación o han mostrado resultados contradictorios²⁶⁸⁻²⁷⁰.

Aunque en menor número, existen también estudios de respuesta al AG, encontrándose como posibles factores predictores de buena respuesta los niveles de IL5²⁷¹, IL13²⁷¹ e IL27²⁷², el aumento de la expresión de ARN mensajero del factor de transcripción GATA3 y linfotóxina beta²⁷³, los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro²⁷⁴, la positividad para el gen HLA-DRB1*1501^{275,276} y la presencia de células B reactivas

contra Ag del cerebro²⁷⁷. Por el contrario, el incremento de los títulos de Ac frente al VHH-6 en sangre se relacionaría con mala respuesta clínica¹¹⁴.

Apenas se han realizado estudios sobre factores predictores de respuesta para fármacos de segunda línea. En este grupo existen ya algunos trabajos que relacionan la presencia de Ac neutralizantes frente al natalizumab o niveles altos de Ac anti-VHH-6 con fallo del tratamiento^{278,114}. Además se han identificado algunos marcadores clínicos que pueden predecir una mejor respuesta al natalizumab²⁷⁹⁻²⁸¹. En el caso del fingolimod, se ha publicado un estudio en una pequeña cohorte de pacientes en el que se sugiere que la presencia de niveles más bajos de linfocitos T emigrantes tímicos recientes en sangre periférica y de células B transicionales tras el inicio del tratamiento podría predecir una mejor respuesta²⁸².

4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La esclerosis múltiple (EM) es una de las enfermedades neurológicas más frecuentes entre los adultos jóvenes en Occidente y una de las principales causas de discapacidad en este grupo de edad, con tasas crecientes de incidencia y de prevalencia en los últimos años. Todas estas circunstancias hacen de la EM una de las enfermedades con mayor impacto personal y socioeconómico.

En la variabilidad característica de la EM se han implicado diversos factores clínicos así como factores ambientales y genéticos. Estos mismos factores podrían explicar las grandes diferencias interindividuales en la respuesta a los tratamientos actualmente disponibles.

En los últimos años el abanico terapéutico de la EM se ha ampliado considerablemente. Entre los tratamientos modificadores de la enfermedad de más reciente introducción encontramos el fingolimod, el primer fármaco oral del que se dispuso para la EM. Así como para los fármacos clásicos de primera línea se han identificado diversos biomarcadores que pueden predecir la respuesta terapéutica, es de esperar que existan factores predictores de respuesta para los tratamientos de segunda línea o de más reciente introducción, como el fingolimod. Consideramos preciso conocer qué factores clínicos, ambientales y/o genéticos pueden constituirse en biomarcadores que permitan predecir la respuesta al tratamiento con fingolimod o seleccionar el subgrupo de pacientes con EM que más pueda beneficiarse de este tratamiento. Estos datos podrían ser de gran utilidad en la práctica clínica diaria a fin de poder personalizar el tratamiento modificador de la enfermedad de una forma más eficiente.

5. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

1. En los pacientes con esclerosis múltiple (EM) tratados con fingolimod el sexo femenino, una menor edad al inicio del tratamiento, la ausencia de tratamientos previos, una puntuación en la *Expanded Disability Status Scale* basal ≤ 3 y una tasa anual de brotes (TAB) ≤ 2 el año anterior al inicio del tratamiento se asocian con un mayor grado de respuesta terapéutica.
2. El aumento de los títulos de los anticuerpos IgG e IgM frente al virus herpes humano tipo 6 a lo largo del tratamiento se relaciona con una peor respuesta clínica al fingolimod
3. La presencia de determinadas variantes alélicas del complejo de histocompatibilidad humana (HLA-DRB1) predice el grado de respuesta al fingolimod.
4. Existe una asociación entre determinados polimorfismos de nucleótido simple de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la EM con la respuesta al fingolimod.
5. La efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod en pacientes con EM en la práctica clínica habitual son semejantes a la eficacia y seguridad observadas en los ensayos clínicos.

6. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1. Objetivos primarios:

- Analizar la posible asociación de factores demográficos y clínicos (sexo, edad de inicio, tipo de tratamiento previo, puntuación en la *Expanded Disability Status Scale* basal y número de brotes en el año anterior al inicio del tratamiento) con el grado de respuesta al fingolimod en pacientes con esclerosis múltiple (EM).
- Analizar la posible asociación del virus herpes humano tipo 6 con la respuesta clínica al fingolimod a través del estudio de la variación mensual en los títulos de los anticuerpos IgG e IgM frente a dicho virus a lo largo del tratamiento.
- Analizar la posible asociación de las variantes alélicas del complejo de histocompatibilidad humana (HLA-DRB1) con la respuesta al fingolimod.
- Analizar la posible asociación de 42 polimorfismos de nucleótido simple de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la EM con la respuesta al fingolimod.

2. Objetivo secundario:

- Analizar la efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod en pacientes con EM en la práctica clínica habitual.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Diseño del estudio.

Se llevó a cabo un estudio de cohorte retrospectivo de pacientes con esclerosis múltiple (EM) que se encontraban en seguimiento en las consultas de la Unidad de Enfermedades Desmielinizantes del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y que habían recibido tratamiento con fingolimod entre el 1 de enero de 2004 y el 31 de enero de 2015.

Los pacientes dieron su autorización, previa a la extracción de las muestras de sangre, para la utilización de sus datos clínicos y analíticos. El trabajo cumple los requisitos de la declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínico San Carlos. Los resultados del estudio son totalmente confidenciales sin posibilidad de reconocimiento individual del paciente, habiéndose adoptado todas las medidas oportunas para preservar dicha confidencialidad según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, sobre la protección de datos.

7.2. Población del estudio.

Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de esclerosis múltiple recurrente-remitente (EM-RR) según los criterios de McDonald 2010²⁸³ y los pacientes con esclerosis múltiple secundariamente progresiva (EM-SP) o esclerosis múltiple progresiva-recurrente (EM-PR) según la definición de Lublin 1996¹⁵⁴ de los que se disponía de muestras de sangre para análisis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y serologías virales y que habían recibido al menos una dosis de fingolimod de 0,5 mg. Se incluyeron también pacientes que iniciaron tratamiento con fingolimod dentro de fases II y III de ensayo clínico dado que el seguimiento que se hace con ellos es el mismo que en la práctica clínica diaria y añade datos de seguridad a largo plazo.

7.3. Variables de evaluación.

7.3.1. Variables principales (variables dependientes).

- Respondedor (sí/no). Se consideró como respondedor al paciente que no había presentado ni brotes ni progresión de la discapacidad (PD) durante el tratamiento y como no respondedor a aquel que había experimentado brotes y/o PD.
- Brotes durante el tratamiento con fingolimod (sí/no). Se consideró como brote la aparición de síntomas o signos de disfunción neurológica aguda de 24 o más horas de duración o deterioro significativo de síntomas preexistentes que habían estado estabilizados o ausentes durante al menos 30 días tras excluir fiebre o enfermedad intercurrente.
- PD durante el tratamiento con fingolimod (sí/no). La PD dependió de la puntuación previa al inicio del fingolimod en la *Expanded Disability Status Scale* (EDSS): 1) aumento $\geq 1,5$ puntos si la EDSS previa era de 0; 2) aumento > 1 punto si la EDSS se encontraba entre 1 y 5; y 3) aumento $\geq 0,5$ puntos si la EDSS era de 5,5 o superior.
- Aparición de reacciones adversas medicamentosas (RAM) (sí/no y tipo de RAM).

7.3.2. Variables demográficas y clínicas.

- Sexo (varón/mujer).
- Edad al inicio del tratamiento con fingolimod (años).
- Forma clínica de EM (EM-RR, EM-SP, EM-PR).
- Tratamientos modificadores para la EM recibidos previamente al fingolimod (inmunomoduladores/natalizumab/ninguno).
- Tasa anual de brotes (TAB) en el año previo al inicio del fingolimod (número de brotes durante el año previo).
- Puntuación en la EDSS previa al inicio del estudio (0-10 puntos).

7.3.3. Variables serológicas.

- Títulos de IgG frente al virus herpes humano tipo 6 (VHH-6).
- Títulos de IgM frente al VHH-6.

7.3.4. Variables genéticas.

- Variantes alélicas del complejo de histocompatibilidad humana (HLA-DRB1).
- Polimorfismos de nucleótido simple (SNP) no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la EM.

7.4. Recogida y análisis de los datos demográficos y clínicos.

Mediante la revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes se registraron el sexo, la edad al inicio del tratamiento con fingolimod, la forma clínica de EM, los tratamientos modificadores de la enfermedad recibidos previamente, el número de brotes durante el año anterior y la puntuación basal en la escala EDSS y semestralmente durante el seguimiento. Se registraron también la presencia o no de brotes y de PD así como de RAM a lo largo del tratamiento.

7.5. Recogida y análisis de los datos serológicos.

En la visita basal, previa al inicio del tratamiento con fingolimod, se extrajeron muestras de suero para la realización de la serología del VHH-6. Estas fueron tomadas de nuevo en cada visita de seguimiento y en caso de brote de EM.

El suero era obtenido mediante centrifugación, recogándose 2 ml de muestra, que se separaba en alícuotas y se almacenaba a -80°C para la posterior determinación de anticuerpos (Ac) frente al VHH-6.

La determinación de los niveles de Ac se llevó a cabo mediante un método de ELISA (Panbio) con pocillos recubiertos con el antígeno (Ag) del VHH-6. La detección y cuantificación de las inmunoglobulinas (Ig) anti-VHH-6 que quedan unidas al Ag en los pocillos se realizó mediante una reacción colorimétrica utilizando un conjugado de peroxidasa y el cromógeno TMB (tetrametilbencidina/peróxido de hidrógeno) como sustrato de la enzima. Las medidas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de 600-650 nm (Tecan®) tras detener el desarrollo de la reacción con una solución de parada (ácido fosfórico 1 M).

Para la calibración se midieron los calibradores por triplicado, realizándose un control negativo y positivo por cada 40 muestras.

El resultado del título de Ac se presentó en unidades Panbio. Para el cálculo de la prevalencia se consideraron títulos de Ig ≥ 9 unidades Panbio como positivos.

Posteriormente se estudió la variación mensual respecto al valor basal de IgG e IgM durante los 24 meses siguientes al inicio del tratamiento con fingolimod y su relación con la aparición de brotes y/o de PD.

7.6. Recogida y análisis de los datos genéticos.

En la visita basal se extrajeron también muestras de sangre para el análisis de ADN. La muestra se componía de 10 ml de sangre periférica obtenida mediante venopunción y almacenada en tubos estériles con EDTA. Dichas muestras fueron utilizadas para la extracción directa de ADN.

Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron extraídas después de centrifugar 8 ml de sangre total en tubos CPT (Becton Dickinson, NJ, USA) a 2500 g

durante 30 minutos. El ADN de estas células fue extraído según las instrucciones de la casa comercial con el *QIAamp ADN Blood Mini Kit* (QIAGEN, Hilden, Germany).

El suero se obtuvo tras la centrifugación de 5 ml de sangre total en tubo seco a 2500 g durante 14 minutos.

Con el fin de evaluar la existencia de una posible contaminación entre muestras, durante el proceso de extracción de ADN por cada grupo de 15 muestras se introdujo un blanco (mezcla de reacción y PBS). Todas estas muestras fueron alicuotadas y posteriormente almacenadas a -80°C hasta su procesamiento y/o posterior análisis.

La cuantificación de ADN extraído de PBMC se llevó a cabo por espectrofotometría ($\lambda=260$ nm) (BioPhotometer, Eppendorf) valorando la pureza del mismo (A_{260}/A_{280}), siempre mayor de 1,7, y permitiendo ajustar la concentración a 40 ng/ μ l con el eluyente de la extracción. La cuantificación de ADN se realizó teniendo en cuenta que una unidad de densidad óptica (DO) se corresponde con 50 ng/ μ l.

7.6.1. Genotipado HLA y análisis de la asociación del HLA-II con la respuesta al fingolimod.

El tipaje del locus HLA-DRB1, HLA-DQA1 y HLA-DQB1 se hizo mediante la técnica PCR-SSOP (*Polymerrase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotid Probe*), lo que implica la amplificación mediante PCR del segundo exón de cada uno de estos genes por ser en ellos donde se concentran los polimorfismos que distinguen los alelos. A continuación el producto es transferido a una membrana de nitrocelulosa mediante la técnica de *Dot-Blot*. Después los productos transferidos se hibridan con sondas oligonucleotídicas específicas de alelo marcadas con digoxigenina para proceder al revelado (por quimioluminiscencia) y, finalmente, a la interpretación de los resultados.

Dado el elevado desequilibrio de ligamiento entre los diferentes alelos del sistema HLA, se analizó la asociación de la respuesta al fingolimod con el locus HLA-DRB1.

Se compararon los grupos portadores de al menos un alelo frente a pacientes sin dicho alelo.

7.6.2. Genotipado de SNP no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple y análisis de su asociación con la respuesta al fingolimod.

El genotipado de los SNP no HLA se hizo en el CEGEN con la tecnología iPLEX® Gold MassARRAY Sequenom (www.cegen.org).

En primer lugar, se amplificaron los fragmentos de ADN que contenían los SNP de interés mediante una PCR multiplex. A continuación se realiza la reacción de discriminación alélica, que termina al añadir la base diferente (extensión de única base o SBE). La diferencia de masas entre ambas bases se detectó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF.

Las reacciones tuvieron lugar en placas de 384 pocillos, con un volumen final de 9 µl, y los productos de dichas reacciones fueron transferidos de forma automatizada mediante un robot a la superficie del chip, que pasó a ser leído en el espectrómetro de masas.

Se seleccionaron 42 SNP no pertenecientes al complejo HLA de los 57 asociados al riesgo de padecer EM descritos en uno de los últimos estudios de asociación de genoma completo (*genome-wide association studies*, GWAS) del grupo internacional de genética en EM⁴⁵:

1) rs10201872 (C/T). Gen SP140. Alelo de frecuencia menor (MAF): T=0,100/217. Codifica la proteína SP140, proteína con dominio de zinc que forma parte del cuerpo

nuclear y que interviene en funciones de regulación del sistema inmune y de transcripción^{284,285}.

2) rs10466829 (A/G). Gen CLECL1. MAF: A=0,498/1084. Codifica para la proteína *C-type lectin-like domain family 1*, presente sobre todo en células dendríticas y células B. Actúa como molécula coestimuladora de las células T, favoreciendo respuestas tipo Th2 y aumentando la producción de IL-4^{284,286}.

3) rs11129295 (C/T). Gen EOMES (*eomesodermin homolog*). MAF: C=0,494/1076. Interviene en la diferenciación de los linfocitos T CD8+ durante la respuesta inmune, regulando la transcripción de genes efectores líticos. La presencia de TGFB1 e IL-4 aumentan su expresión^{284,287,288}.

4) rs11154801 (A/C). Gen MYB. MAF: A=0,287/626. Protooncogén de la familia MYB de factores de transcripción. Regula funciones de diferenciación y proliferación de los progenitores hematopoyéticos, con especial importancia en el desarrollo y mantenimiento de la respuesta Th2^{289,290}.

5) rs11810217 (C/T). Gen EVI5 (*ecotropic viral integration site 5*). MAF: T=0,153/334. Oncogén que actúa regulando la estabilidad y el cúmulo de factores críticos para la fase G1 del ciclo celular. Su depleción ocasiona alteraciones y detención de la mitosis²⁹¹.

6) rs12212193 (A/G). Gen BACH2. MAF: G=0,300/653. Factor de transcripción de la familia bZIP (*basic leucine zipper*). Se han observado en modelos animales funciones de este gen en la maduración de las células B y producción de Ig^{292,293}, y en la formación de células T reguladoras y disminución de la diferenciación a células T efectoras Th1, Th2 y Th17²⁹⁴.

7) rs12368653 (A/G). Gen CYP27B1. MAF: A=0,317/690. Enzima de la familia del citocromo P450 localizada en la membrana interna mitocondrial. Metaboliza el último

paso de la síntesis de vitamina D al hidroxilar la 25-dihidroxi-vitamina D3 a la forma activa 1 α ,25-dihidroxivitamina D3²⁹⁵.

8) rs12466022 (A/C). Gen no conocido. MAF: A=0,304/663.

9) rs1250550 (G/T). Gen ZMIZ1. MAF: T=0,295/643. Factor de transcripción. Regula diversos procesos celulares aunque se sabe poco sobre esta proteína²⁹⁶.

10) rs13192841 (A/G). Gen no conocido. MAF: A=0,189/411.

11) rs13333054 (C/T). Gen IRF8. MAF: T=0,302/657. Factor de transcripción de la familia de factores reguladores de los IFN de tipo I (IFN- α e IFN- β) y genes del HLA-I inducibles por IFN. Presente de forma mayoritaria en células del sistema inmunitario, actúa regulando su diferenciación y la respuesta inmunitaria a través de la unión con el heterodímero BATF-JUNB^{297,298}.

12) rs1335532 (C/T). Gen CD58 o LFA-3. MAF: C=0,382/832. Expresado en las células presentadoras de Ag (CPA). Es el ligando del receptor CD2 de las células T y favorece la unión entre ambos tipos celulares²⁹⁹.

13) rs140522 (A/G). Gen SCO2. MAF: A=0,376/819. Proteína de ensamblaje para la síntesis de la citocromo C oxidasa. Permite la unión de cobre a dicha enzima para su correcto funcionamiento para la producción de energía en la cadena respiratoria mitocondrial. Mutaciones de esta proteína se han asociado con una forma de cardioencefalomiopatía infantil fatal³⁰⁰.

14) rs1520333 (C/T). Gen IL7. MAF: C=0,415/904. Interleuquina que actúa sobre los progenitores linfoides inmaduros favoreciendo su desarrollo, especialmente de las células B³⁰¹.

15) rs17066096 (A/G). Gen IL22RA2. MAF: G=0,172/375. Codifica para una proteína soluble que se une al receptor de IL-22 actuando como antagonista de esta citoquina e impidiendo sus acciones inflamatorias^{302,303}.

16) rs17174870 (C/T). Gen MERTK. MAF: T=0,218/475. Proteín-quinasa. Se ha relacionado con diversas funciones celulares, entre las que destacan la diferenciación y migración celular y la fagocitosis de células apoptóticas. Posee acciones antiinflamatorias dado que regula a la baja vías de señalización de citoquinas inflamatorias a través de la inhibición de los receptores *Toll-like*³⁰⁴.

17) rs1738074 (A/G). Gen TAGAP. MAF: A=0,441/961. GTPasa. Interviene en procesos de activación de las células T³⁰⁵.

18) rs2019960 (C/T). Gen PVT1. MAF: C=0,243/530. Oncogén relacionado con el factor de transcripción c-myc. Se encuentra alterado en diferentes tumores, principalmente en el neuroblastoma y en procesos linfoproliferativos^{306,307}.

19) rs2119704 (A/C). Gen GALC (GPR65). MAF: A=0,129/280. Galactocerebrosidasa. Metaboliza la galactosilceramida, uno de los principales lípidos de la mielina³⁰⁸. Mutaciones en este gen dan lugar a la leucodistrofia de células globoides o enfermedad de Krabbe.

20) rs2243123 (C/T). Gen IL12A. MAF: C=0,198/431. Subunidad α de la IL-12. Necesaria para la inducción de IFN- γ independiente de linfocitos T y para la diferenciación de las células Th1 y Th2³⁰⁹.

21) rs2248359 (C/T). Gen CYP24A1. MAF: T=0,439/956. Codifica la proteína 1,25 dihidroxivitamina D3 24-hidroxilasa, proteína de la familia del citocromo P450 que participa en el metabolismo del calcio, iniciando la degradación de la vitamina D activa³¹⁰.

22) rs2283792 (G/T). Gen MAPK1. MAF: T=0,459/1000. Pertenece a la familia de las proteín-quinasa activadas por mitógeno. Interviene como factor de transcripción en múltiples procesos celulares, como división celular, endocitosis, quimiotaxis, apoptosis, etc²⁸⁴. A nivel inmunológico, en modelos animales, se ha observado una disminución de los linfocitos CD4 y CD8 maduros³¹¹.

23) rs2293370 (C/T). Gen TMEM39A (CD80). MAF: T=0,210/458. Molécula coestimuladora presente en las CPA. Media la unión con los linfocitos T durante la presentación antigénica³¹².

24) rs2300603 (C/T). Gen BATF. MAF: C=0,221/481. Pertenece a la superfamilia de activadores de la proteína 1 (AP-1) de los factores de transcripción bZIP. Actúa en la elaboración y mantenimiento de la respuesta inmune, regulando la activación de varios linajes celulares, entre los que se encuentran la diferenciación hacia células Th17^{313,314}, células T foliculares³¹³, células dendríticas³¹⁵, células CD8³¹⁶ y células B³¹⁷.

25) rs2303759 (G/T). Gen CD37 (DKKL1). MAF: G=0,270/588. Proteína de la superfamilia de transmembrana-4, presente mayoritariamente en la superficie celular de los linfocitos B. Podría intervenir en la transducción de diferentes funciones celulares y en las interacciones entre células T y B³¹⁸.

26) rs2546890 (A/G). Gen IL12B. MAF: A=0,433/944. Subunidad β de la interleuquina inflamatoria IL-12³⁰⁹.

27) rs3118470 (C/T). Gen IL2RA. MAF: C=0,319/694. Subunidad α del receptor de IL-2, también denominada CD25. La unión de la IL-2 a su receptor induce la proliferación de diferentes poblaciones linfocitarias. Es la diana del fármaco inmunosupresor daclizumab, Ac monoclonal para el tratamiento de la EM^{196,197}.

28) rs4410871 (C/T). Gen MYC. MAF: T=0,298/650. Protooncogén relacionado con la regulación de la división y el ciclo celular³¹⁹.

29) rs4613763 (C/T). Gen PTGER4. MAF: C=0,110/239. Receptor 4 de la prostaglandina E con acciones antiinflamatorias^{320,321}.

30) rs4648356 (A/C). Gen MMEL1 (TNFRSF14). MAF: A=0,420/914. Metaloendopeptidasa de membrana tipo 1. Aunque se conoce poco sobre las funciones de este gen se supone que, al igual que otras metaloproteasas, está implicada en la degradación de diversos péptidos de pequeño tamaño³²².

31) rs4902647 (C/T). Gen ZFP36L1. MAF: C=0,497/1083. Codifica la proteína *zinc finger protein 36 C3H1 type-like 1*, también conocida como factor de respuesta al butirato. Es un factor de transcripción celular del grupo de los genes de respuesta rápida. Interviene en múltiples acciones celulares, especialmente en la respuesta a factores de crecimiento, y, en menor grado, en la regulación de células T y B^{323,324}.

32) rs669607 (G/T). Gen no conocido. MAF: T=0,389/847.

33) rs7200786 (A/G). Gen CLEC16A (CIITA). MAF: A=0,492/1072. Proteína con dominio de lectina tipo C. Está presente en células B, NK y células dendríticas y se asocia con el riesgo de desarrollar otras enfermedades autoinmunes además de la EM³²⁵ como pueden ser la diabetes mellitus o la artritis reumatoide.

34) rs7238078 (G/T). Gen MALT1. MAF: G=0,226/492. Paracaspasa esencial en la activación de células T y, en menor medida, de las células B, a través del factor de transcripción *Nuclear Factor Kappa Beta*³²⁶.

35) rs7522462 (A/G). Gen KIF21B. MAF: A=0,150/326. Codifica una proteína de tipo quinesina cuya acción principal es el transporte axonal. Se especula sobre su posible papel neurodegenerativo en la EM³²⁷.

36) rs7595037 (C/T). Gen PLEK. MAF: C=0,352/767. Codifica la proteína *Pleckstrin*. Es uno de los principales sustratos de la proteína-quinasa C de las plaquetas. No se conoce de forma exacta su función, aunque se piensa que podría actuar regulando diferentes funciones celulares, como agregación plaquetaria y coagulación, organización del citoesqueleto, diferenciación de células hematopoyéticas y señalización y tráfico celular³²⁸⁻³³¹.

37) rs7923837 (A/G). Gen HHEX. MAF: A=0,427/930. Forma parte de los factores de transcripción de la familia *homeobox*. En modelos animales se ha encontrado la implicación de este gen en la formación de células B y producción de Ac³³².

38) rs802734 (C/T). Gen THEMIS. MAF: C=0,198/432. Controla la correcta maduración y selección de los linfocitos T³³³.

39) rs8112449 (A/G). Gen TYK2 (ICAM3). MAF: A=0,351/765. Tirosín-quinasa 2. Interviene en las vías de señalización de los IFN-I e IFN-II y varias citoquinas entre las que se encuentran la IL-12, IL-6, IL-10 e IL-23³³⁴.

40) rs874628 (C/T). Gen MPV17L2. MAF: C=0,192/418. Proteína-2 de membrana mitocondrial de la que se desconoce su función exacta.

41) rs9282641 (A/G). Gen CD86. MAF: A=0,050/109. Molécula coestimuladora de los linfocitos T³³⁵⁻³³⁷.

42) rs949143 (A/G). Gen ARL6IP4. MAF: G=0,462/1007. Codifica para una proteína de función desconocida, aunque se piensa que puede intervenir en funciones de “*splicing*”³³⁸.

7.7. Análisis estadístico.

Las variables categóricas se representaron con sus números absolutos y distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumieron con su media y desviación estándar, o con la mediana y el rango intercuartílico en caso de asimetría. La EDSS se utilizó para los cálculos estadísticos como una variable cuantitativa continua, al igual que en la mayoría de los trabajos realizados por otros grupos, dada la correlación lineal entre la puntuación EDSS y la situación clínica.

En el caso de las variables cualitativas, la comparación entre los grupos se realizó con el test Chi-cuadrado, excepto en los casos en los que las condiciones para su aplicación no fueron válidas (estas condiciones exigen que los valores esperados de al menos el 80% de las celdas en una tabla de contingencia sean >5), en cuyo caso se aplicó el test exacto de Fisher. Para las variables cuantitativas continuas, se empleó el test de la t de Student (comparación de 2 grupos) o el análisis de la varianza (ANOVA, en el caso de >2 grupos) cuando las variables seguían una distribución normal. En caso contrario, se empleó el test de U de Mann Whitney o el de Kruskal-Wallis (según se tratara de comparar 2 o más grupos, respectivamente). Para confirmar que las variables seguían una distribución normal se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnoff. El análisis de la reducción de la TAB se llevó a cabo mediante el test de Wilcoxon para muestras pareadas.

Se estimaron las funciones de supervivencia por el método de tabla de vida para los datos demográficos y clínicos (sexo, edad, tratamiento previo, EDSS basal y número de brotes durante el año previo), serológicos (variación mensual de los títulos de IgG e IgM frente al VHH-6) y genéticos (HLA y SNP no pertenecientes al sistema HLA) para el estudio de los eventos brotes y/o PD. La comparación de las funciones de supervivencia de los distintos subgrupos se realizó mediante el test exacto de Breslow. Este test consiste en comparar el número de eventos observados en cada uno de los subgrupos con el número

de eventos esperados en el caso de que la distribución de la variable dependiente fuera la misma en todas las categorías (hipótesis nula).

Se ajustó un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Este modelo calcula el riesgo de presentar un suceso en expuestos frente a no expuestos en cada momento dado. Para ello calcula cuánto aumenta la probabilidad de que se produzca el suceso, en el intervalo temporal siguiente, entre los sujetos que todavía no lo han presentado. Si se lleva esta medida al límite, y se va reduciendo el intervalo de tiempo hasta 0, se llega al riesgo instantáneo, que oscila con el tiempo, pero del que el modelo calcula una extrapolación media. Este índice se conoce como cociente de riesgos instantáneos (*hazard ratio*, HR). Se evaluó la existencia de interacciones, introduciendo las variables independientes multiplicativas con pruebas de significación estadística, y se mantuvieron en el modelo los términos de interacción estadísticamente significativos.

Se presentaron las HR junto a sus intervalos de confianza al 95%. La HR puede tomar valores entre 0 e infinito. El valor neutro es 1, que indica el mismo riesgo en los dos grupos. Un valor <1 señala menor riesgo en el grupo expuesto. Por último, un valor >1 indica un riesgo mayor en expuestos, tanto más alto cuanto mayor sea el valor de la HR. Para medir el grado de significación estadística de los resultados se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error $\alpha < 0,05$.

El paquete informático utilizado para el análisis fue SPSS para Windows versión 20.0.

8. RESULTADOS

8.1. Características demográficas y clínicas de la muestra.

Un total de 167 pacientes fueron incluidos en el estudio. Ciento dieciocho (70,7%) eran mujeres y 49 varones (29,3%). La media de edad al diagnóstico de la enfermedad fue de 28 años (desviación estándar [DE] 7,3) y la del inicio del tratamiento con fingolimod, de 38,6 años (DE 8,5); 22 pacientes eran menores de 30 años, 68 tenían entre 30 y 39 años, 60 entre 40 y 49 y 17 tenían 50 o más años.

Ciento treinta y ocho pacientes (82,6%) presentaban formas remitentes-recurrentes de la enfermedad (EM-RR), 26 (15,6%) formas secundarias progresivas con brotes (EM-SP) y 3 (1,8%), formas progresivas-recurrentes (EM-PR). En cuanto a la procedencia, la mitad de la muestra, 86 pacientes (51,5%), había recibido tratamiento inmunomodulador previo, estando la retirada motivada por reacciones adversas o por falta de efectividad, 55 (32,9%) comenzaban a recibir fingolimod tras retirada del natalizumab por riesgo de desarrollo de leucoencefalopatía multifocal progresiva, y 26 (15,6%) eran pacientes sin tratamiento modificador de la enfermedad previo (pacientes *naïve*). La puntuación media basal en la *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) fue de 2,9 (DE 1,7) y la mediana de brotes durante el año previo al inicio del tratamiento con fingolimod, de 0 (rango intercuartílico [RIC] 0-1). La mediana de tiempo en tratamiento fue de 28 meses (RIC 20-33).

Las características basales de la población estratificada por los tratamientos recibidos previamente se recogen en la tabla 1. Los pacientes *naïve* tenían mayor edad en el momento del diagnóstico de la enfermedad (media 32,9 años, DE 8,2) que aquellos que habían recibido tratamiento inmunomodulador o natalizumab previamente (media [DE] 27,6 [7,1] y 27,6 [7,6] años, respectivamente) ($p=0,001$) y un menor tiempo de evolución desde el inicio de la enfermedad hasta el comienzo del tratamiento con fingolimod (mediana [RIC] 2,5 [1,2-6,9] vs 9,5 [6,3-13,4] y 12,3 [7,9-15,7] años, respectivamente)

($p < 0,001$). Estos pacientes presentaban una EDSS basal media menor (1,5, DE 0,8) que el grupo procedente de tratamiento inmunomodulador (2,9, DE 1,8) y que el que había recibido natalizumab (3,2, DE 1,6) ($p < 0,001$). También los pacientes *naïve* habían recibido durante más tiempo fingolimod que los otros dos grupos: mediana 69,0 (RIC 24,5-96,0) meses vs 27,0 (RIC 19,0-32,0) y 27,0 (RIC 14,0-30,0) meses para aquellos procedentes de tratamiento inmunomodulador o natalizumab, respectivamente ($p < 0,001$)³³⁹.

Tabla 1. Características clínicas según tratamiento modificador de la enfermedad previo.

	Inmunomodulador (n=86)	Natalizumab (n=55)	Naïve (n=26)	p
Edad al diagnóstico de EM (años), media (DE)	27,6 (7,1)	27, 6 (7,6)	32,9 (8,2)	0,001
Edad al inicio* (años), media (DE)	37,9 (9,2)	40,2 (8,0)	37,9 (7,2)	0,224
Duración de la enfermedad al inicio* (años), mediana (RIC)	9,5 (6,3-13,4)	12,3 (7,9-15,7)	2,5 (1,2-6,9)	<0,001
EDSS al inicio*, media (DE)	2,9 (1,8)	3,2 (1,6)	1,5 (0,8)	<0,001
Brotos año previo, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-1,25)	1
Tiempo en tratamiento con fingolimod (meses), mediana (RIC)	27,0 (19,0-32,0)**	27,0 (14,0-30,0)	69,0 (24,5-96,0)***	<0,001

*Inicio de tratamiento con fingolimod; **11 pacientes procedentes de ensayos clínicos; ***16 pacientes procedentes de ensayos clínicos; DE: desviación estándar; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; RIC: rango intercuartílico.

8.2. Efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod.

Si analizamos la efectividad del fármaco, nos encontramos con que la tasa anual de brotes (TAB) a los 12 meses del inicio del tratamiento con fingolimod (147 pacientes cumplían al menos un año de tratamiento) experimentó una reducción del 62,5%. A los 24 meses (109 pacientes incluidos), esta reducción de la TAB fue del 83,3% ($p < 0,001$, en ambos casos) (figura 6).

A los 12 meses, el 81,6% del total de pacientes se mantenía libre de brotes y a los 24 meses, el 74,6%. En cuanto a la progresión de la discapacidad (PD), el 89,7% y el 82,4% a los 12 y 24 meses, respectivamente, se mantenía estable. Si consideramos como pacientes respondedores a aquellos libres de actividad clínica (ni aparición de brotes ni PD), nos encontramos con un 74,8% a los 12 meses y con un 63,8% de respondedores a los 24 meses del inicio del tratamiento con fingolimod.

Respecto a la seguridad del fármaco, 32 pacientes (19,2%) presentaron reacciones adversas medicamentosas (RAM) (tabla 2). En la primera dosis se registró una única RAM consistente en un bloqueo auriculoventricular de 2º grado tipo I. A los 15 meses se registró un linfoma de Hodgkin tipo esclerosis nodular, a los 48 meses un infarto agudo de miocardio y a los 60, una trombosis venosa profunda.

Dieciséis pacientes (9,6%) precisaron finalización del tratamiento: ocho por ineficacia (seis procedían de tratamiento previo con natalizumab y dos de tratamiento inmunomodulador), dos por alergia o intolerancia, tres por hipertransaminasemia (incrementos >5 veces el límite superior de la normalidad) mantenida, uno por linfopenia ($<200/\mu\text{l}$) mantenida, uno por aparición del linfoma ya referido y uno por hipertensión arterial.

Las RAM que no precisaron retirada de la medicación incluyeron infecciones respiratorias y del tracto urinario leves, linfopenias e hipertransaminasemias leves, molestias digestivas y aparición de cefalea y fatiga³³⁹.

Tabla 2. Reacciones adversas en nuestra muestra de pacientes tratados con fingolimod.

Variables	Total pacientes (n=167)
Total RAM, n (%)	32 (19,2%)
Alergia/intolerancia	2 (1,2%)
Hipertransaminasemia	3 (1,8%)
Linfopenia	1 (0,6%)
Linfoma	1 (0,6%)
Hipertensión arterial	1 (0,6%)
Bloqueo auriculoventricular	1 (0,6%)
Infarto agudo de miocardio	1 (0,6%)
Trombosis venosa profunda	1 (0,6%)
Otras RAM leves*	21 (12,6%)

*Infecciones respiratorias y del tracto urinario, linfopenias e hipertransaminasemias transitorias, molestias digestivas, cefalea, fatiga y urticaria; RAM: reacciones adversas medicamentosas.

8.3. Asociación de la respuesta al fingolimod con factores demográficos y clínicos.

Si analizamos qué ocurrió con la TAB según el tratamiento recibido previamente, vemos que aquellos pacientes que habían recibido fármacos inmunomoduladores presentaron una reducción del 64,4% y del 81,4% a los 12 y a los 24 meses del inicio del tratamiento con fingolimod, respectivamente ($p < 0,001$, en los dos casos). En cuanto a los pacientes *naïve*, esta reducción fue del 79,3% a los 12 meses del inicio del tratamiento y del 91,4% a los 24 meses ($p < 0,05$, en ambos casos). En el grupo de los pacientes procedentes de natalizumab, las diferencias en la reducción de la TAB no resultaron estadísticamente

significativas: reducción al año del 36,0% (p=0,303) y del 64,0% a los dos años del inicio del fingolimod (p=0,061) (figura 6).

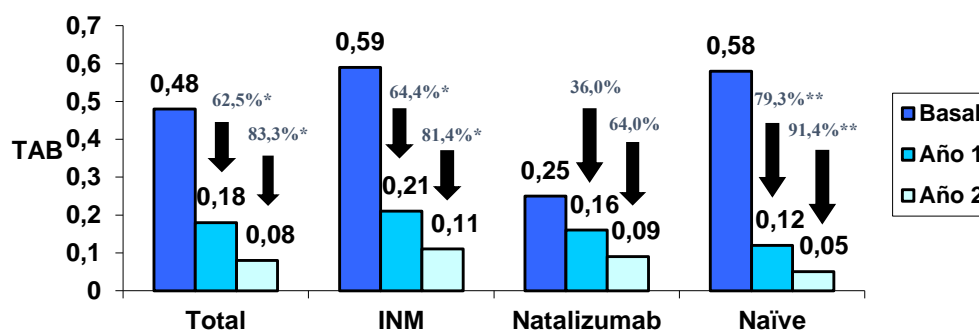


Figura 6. Reducción de la tasa anual de brotes (TAB); *p<0,001; **p<0,05; INM: tratamiento inmunomodulador.

A continuación las tablas 2, 3 y 4 representan los pacientes libres de brotes, de PD o de actividad clínica (ni brotes ni PD) de forma global y en función del sexo, de la edad, del tratamiento recibido previamente, de la EDSS basal y del número de brotes durante el año previo al comienzo del fingolimod. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables analizadas, aunque sí una tendencia a obtener una mejor respuesta clínica en pacientes *naïve* que en aquellos que comenzaban a recibir el fingolimod tras el fracaso de otras terapias previas (*hazard ratio* [HR] 0,428, intervalo de confianza [IC] 95% [0,175-1,042], p=0,062):

Tabla 3. Pacientes libres de brotes en relación con factores demográficos y clínicos.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	P
Global	81,6	3,0	74,6	3,6		
	N=125		N=85			
Sexo						
Hombre	79,4	5,8	77,0	6,1	1	
	N=37		N=25			
Mujer	85,4	3,3	82,5	3,6	1,018 (0,190-1,995)	0,958
	N=89		N=87			
Grupo de edad						
<30 años	77,3	8,9	77,3	8,9	1	
	N=16		N=13			
30-40 años	84,7	4,2	80,2	4,7	1,212 (0,452-3,249)	0,702
	N=60		N=48			
>40 años	88,8	3,7	74,8	5,6	1,018 (0,375-2,760)	
	N=58		N=36			
	N=52		N=31			
Tratamiento previo						
INM	78,6	4,5	69,8	5,2	1	
	N=64		N=40			
Natalizumab	83,4	5,1	78,2	5,9	0,780 (0,390-1,560)	0,481
	N=41		N=28			
Naïve	87,9	6,6	83,3	7,7	0,440 (0,150-1,290)	0,135
	N=20		N=15			
EDSS basal						
≤3	81,5	3,9	76,4	4,4	1	
	N=73		N=53			
>3	81,9	4,7	72,0	5,9	1,095 (0,586-2,043)	0,777
	N=52		N=31			
Nº brotes año previo						
0	81,2	3,7	76,7	4,1	1	
	N=85		N=59			
1	80,3	7,2	67,0	9,3	1,196 (0,562-2,549)	0,642
	N=24		N=14			
2	83,3	8,8	76,4	10,4	0,963 (0,337-2,755)	0,944
	N=12		N=9			
3	100,0	-	66,7	27,2	1,094 (0,148-8,067)	0,930
	N=3		N=2			

EDSS: Expanded Disability Status Scale; HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza; INM: tratamiento inmunomodulador.

Tabla 4. Pacientes libres de progresión de la discapacidad en relación con factores demográficos y clínicos.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	P
Global	89,7 N=133	2,4	82,4 N=91	3,2		
Sexo						
Hombre	91,2 N=41	4,2	82,6 N=28	6,1	1	
Mujer	89,2 N=92	3,0	82,5 N=63	3,8	1,199 (0,536-2,682)	0,659
Grupo de edad						
<30 años	95,5 N=20	4,4	95,5 N=14	4,4	1	
30-40 años	89,1 N=54	3,9	77,4 N=34	5,6	5,186 (0,681-39,481)	0,112
>40 años	88,4 N=58	3,9	82,7 N=42	4,8	5,553 (0,736-41,894)	0,096
Tratamiento previo						
INM	87,8 N=69	3,6	79,7 N=43	4,8	1	
Natalizumab	90,1 N=42	4,2	82,3 N=31	5,7	1,223 (0,566-2,647)	0,608
Naïve	95,7 N=22	4,3	90,6 N=18	6,3	0,396 (0,115-1,361)	0,141
EDSS basal						
≤3	90,3 N=78	3,1	84,6 N=55	4,0	1	
>3	88,9 N=55	3,9	81,5 N=43	5,1	1,411 (0,684-2,912)	0,352
Nº brotes año previo						
0	90,4 N=91	2,9	81,0 N=62	4,1	1	
1	80,1 N=23	7,3	75,1 N=15	8,4	1,323 (0,562-3,114)	0,522
2	100 N=15	-	100 N=11	-	-	-
3	100,0 N=3	-	100,0 N=1	-	-	-

EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; INM: tratamiento inmunomodulador.

Tabla 5. Pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en relación con factores demográficos y clínicos.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	P
Global	74,8 N=115	3,4	63,8 N=72	4,0		
Sexo						
Hombre	77,4 N=37	6,0	69,4 N=25	6,9	1	
Mujer	73,7 N=78	4,1	61,6 N=47	4,8	1,299 (0,723-2,336)	0,382
Grupo de edad						
<30 años	72,7 N=16	9,5	72,7 N=12	9,5	1	
30-40 años	75,8 N=49	5,1	61,0 N=28	6,3	1,509 (0,622-3,659)	0,363
>40 años	74,4 N=50	5,2	63,2 N=31	6,1	1,368 (0,563-3,229)	0,489
Tratamiento previo						
INM	70,2 N=57	5,0	56,6 N=31	5,8	1	
Natalizumab	75,9 N=38	5,8	68,4 N=25	6,7	0,807 (0,457-1,427)	0,461
Naive	87,9 N=20	6,6	78,1 N=15	8,8	0,428 (0,175-1,042)	0,062
EDSS basal						
≤3	76,3 N=68	4,3	66,9 N=46	5,1	1	
>3	72,8 N=47	5,5	59,6 N=26	6,4	1,231 (0,734-2,063)	0,431
Nº brotes año previo						
0	73,9 N=78	4,2	63,7 N=50	4,8	1	
1	70,5 N=21	8,3	56,5 N=11	9,9	1,074 (0,564-2,045)	0,828
2	83,3 N=12	8,8	76,4 N=9	10,4	0,599 (0,215-1,672)	0,328
3	100 N=3	27,2	66,7 N=2	27,2	0,674 (0,093-4,900)	0,696

EDSS: Expanded Disability Status Scale; HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza; INM: tratamiento inmunomodulador.

8.4. Asociación del virus herpes humano tipo 6 con la respuesta al fingolimod.

De los 167 pacientes de la población original, se disponía de muestras de serología para el virus herpes humano tipo 6 (VHH-6) de 103. Los descriptivos clínicos y demográficos de esta muestra eran semejantes a los de la muestra completa, sin diferencias significativas en la composición de las variables clínicas y epidemiológicas (tabla 6).

Tabla 6. Variables descriptivas de la submuestra con serologías para el VHH-6 y de la muestra completa.

VARIABLES	Muestra completa (n=167)	Submuestra VHH-6 (n=103)	p
Sexo (M) (%)	70,7	76,7	0,278
Edad diagnóstico EM (años), media (DE)	28,0 (7,3)	27,5 (7,1)	0,658
Edad inicio tratamiento (años), media (DE)	38,6 (8,5)	38,8 (8,8)	0,663
EMRR (%)	82,6	81,6	0,904
EDSS basal, media (DE)	2,9 (1,7)	3,1 (1,6)	0,330
Brotos año previo, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,730

DE: desviación estándar; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; M: mujeres; RIC: rango intercuartílico; VHH-6: virus herpes humano tipo 6.

No se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre la variación mensual de los títulos de anticuerpos frente al VHH-6 y la respuesta al fingolimod. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7. Asociación de la respuesta clínica al fingolimod (ni brotes ni progresión de la discapacidad) con los cambios mensuales de IgG e IgM frente al VHH-6.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (Pacientes libres de brotes y de PD) (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (Pacientes libres de brotes y de PD) (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	P
Ac anti VHH-6						
Títulos IgG anti VHH-6						
Aumento mensual no superior a la mediana o no disminución	75,0 N=12	10,8	61,4 N=8	12,4	1	
Aumento mensual por encima de la mediana	68,8 N=11	11,6	62,5 N=9	12,1	0,835 (0,281-2,486)	0,747
Disminución mensual no por debajo de la mediana	73,5 N=25	7,6	67,6 N=20	8,0	0,733 (0,284-1,892)	0,521
Disminución mensual por debajo de la mediana	70,1 N=25	7,6	60,2 N=13	8,4	1,108 (0,455-2,694)	0,822
Títulos IgM anti VHH-6						
Aumento mensual no superior a la mediana o no disminución	66,7 N=18	9,1	54,9 N=12	9,7	1	
Aumento mensual por encima de la mediana	69,2 N=18	9,1	69,2 N=13	9,1	0,698 (0,298-1,637)	0,409
Disminución mensual no por debajo de la mediana	76,6 N=19	8,4	68,5 N=15	9,2	0,638 (0,273-1,495)	0,301
Disminución mensual por debajo de la mediana	79,2 N=19	8,3	61,6 N=11	10,1	0,717 (0,306-1,677)	0,442

Ac: anticuerpos; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; PD: progresión de la discapacidad; VHH-6: virus herpes humano tipo 6.

8.5. Asociación de las variantes alélicas del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) con la respuesta al fingolimod.

De los 167 pacientes incluidos en el estudio, se disponía de análisis de las variantes alélicas del HLA de 125 sujetos. Los descriptivos clínicos y demográficos de esta muestra eran semejantes a los de la muestra completa, sin diferencias significativas en la composición de las variables clínicas y epidemiológicas (tabla 8).

Tabla 8. Variables descriptivas de la submuestra con las variantes alélicas del sistema HLA y de la muestra completa.

VARIABLES	Muestra completa (n=167)	Submuestra HLA (n=125)	p
Sexo (M) (%)	70,7	70,4	0,532
Edad diagnóstico EM (años), media (DE)	28,0 (7,3)	27,7 (7,2)	0,953
Edad inicio tratamiento (años), media (DE)	38,6 (8,5)	39,3 (8)	0,784
EMRR (%)	82,6	78,4	0,573
EDSS basal, media (DE)	2,9 (1,7)	3,1 (1,7)	0,942
Brotos año previo, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,528

DE: desviación estándar; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; HLA: antígenos leucocitarios humanos; M: mujeres; RIC: rango intercuartílico.

En general, las frecuencias de los diferentes alelos HLA-DR encontradas en nuestra muestra fueron semejantes a las cifras previamente descritas en poblaciones europeas³⁴⁰ (tabla 9) y, como era de esperar, la relación de algunos de estos alelos con la respuesta terapéutica al fingolimod no pudo ser analizada dada su baja representación en estas poblaciones y en nuestra muestra. Estos alelos fueron el HLA-DR10, sin representación en nuestra muestra, y el HLA-DR9, con escasa representatividad, por lo que las estimaciones resultarían incorrectas.

Tabla 9. Distribución de las frecuencias alélicas HLA-DR en nuestra muestra y en la población europea (Klitz W et al. Tissue Antigens 2003)³⁴⁰.

HLA	Frecuencia en nuestra muestra (%)	Frecuencia en población europea (%)
DR1	12,6	11,1
DR2	18,4	16,4
DR3	16,9	13,2
DR4	12,1	17,5
DR5	7,7	10,0
DR6	12,1	12,9
DR7	16,9	14,9
DR8	1,9	2,4
DR9	1,0	0,8
DR10	0	0,7

Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia del HLA-DR6 y la respuesta clínica al fármaco (HR 1,939 [1,036-3,630], p=0,038). Este hallazgo traduciría una probabilidad mayor de aparición de brotes y/o de PD en los pacientes portadores de este alelo.

En la figura 7 se representa la distribución de pacientes respondedores y no respondedores en función de la presencia o ausencia del HLA-DR6:

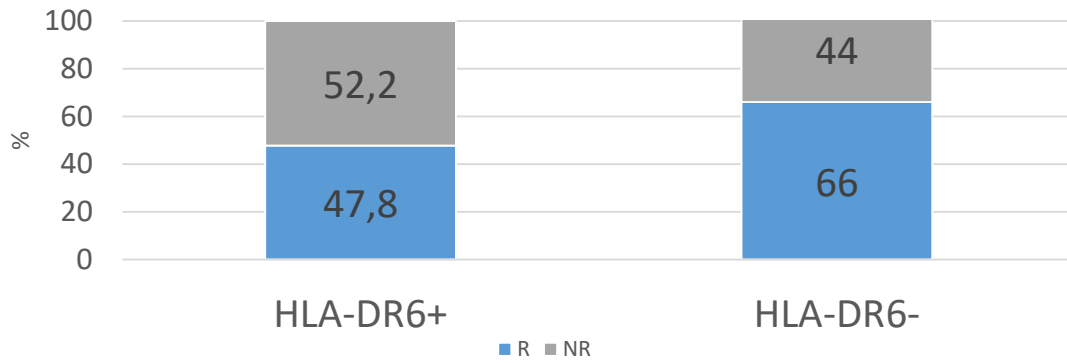


Figura 7. Distribución de pacientes respondedores (R) y no respondedores (NR) a los 24 meses de tratamiento con fingolimod en función de la presencia o ausencia del alelo HLA-DR6.

Tan solo dos pacientes eran homocigotos para dicho alelo HLA-DR6, por lo que no se pudieron realizar posteriores cálculos para investigar un posible efecto aditivo de dicho gen sobre la efectividad terapéutica del fingolimod. El resto de los alelos del HLA-DR no mostró asociación con la respuesta al fingolimod. Los resultados, con la HR, IC al 95% y el valor p de significación se muestran en la tabla 10:

Tabla 10. Asociaciones del HLA-DRB1 con la respuesta clínica (ausencia de brotes y de progresión de la discapacidad) al fingolimod.

HLA	HR (Respuesta)	IC 95%	P
DR1	1,168	0,618-2,209	0,632
DR2	0,760	0,418-1,381	0,367
DR3	0,849	0,453-1,588	0,607
DR4	1,011	0,516-1,977	0,975
DR5	0,921	0,392-2,167	0,851
DR6	1,939	1,036-3,630	0,038
DR7	0,804	0,432-1,499	0,493
DR8	1,451	0,450-4,681	0,533

HLA: antígenos leucocitarios humanos; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza.

8.6. Asociación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.

Se disponía de los datos de los SNP de 133 pacientes de los 167 de la muestra total. Al igual que ocurría con las submuestras para el HHV-6 y el HLA en cuanto a las características demográficas y clínicas, no se hallaron diferencias significativas respecto a la muestra original (tabla 11).

Tabla 11. Variables descriptivas de la submuestra con análisis de los SNP y de la muestra completa.

VARIABLES	Muestra completa (n=167)	Submuestra SNP (n=133)	p
Sexo (M) (%)	70,7	70,7	0,997
Edad diagnóstico EM (años), media (DE)	28,0 (7,3)	27,4 (7,1)	0,725
Edad inicio tratamiento (años), media (DE)	38,6 (8,5)	39,1 (8,5)	0,884
EMRR (%)	82,6	78,9	0,685
EDSS basal, media (DE)	2,9 (1,7)	3,1 (1,7)	0,814
Brotos año previo, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,858

DE: desviación estándar; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; M: mujeres; RIC: rango intercuartílico; SNP: polimorfismos de nucleótido simple.

Se analizaron un total de 42 SNP. Se encontró una asociación estadísticamente significativa con la respuesta al fingolimod (ausencia tanto de brotes como de PD) en dos de ellos: rs2283792 (HR 0,283 [0,084-0,954], p=0,042 para los portadores del alelo T) y rs9282641 (HR 0,164 [0,032-0,828], p=0,029 para el genotipo AG; HR 0,131 [0,029-0,589], p=0,008 en el caso del genotipo GG), ambos relacionados con el sistema inmune. Para el resto de SNP, no se encontró asociación con la efectividad del fingolimod.

En la siguiente tabla se resumen todos los SNP estudiados, junto con su gen propuesto, las funciones de dicho gen y el grado de asociación con la respuesta terapéutica al fingolimod. Los resultados completos se recogen en el anexo II.

Tabla 12. Asociación de los 42 SNP estudiados con la respuesta clínica (ausencia de brotes y de progresión de la discapacidad) al fingolimod.

SNP (gen propuesto)	Asociación	Funciones
rs10201872 (SP140)	N	Regulación sistema inmune y transcripción.
rs10466829 (CLECL1)	N	Molécula coestimuladora linfocitos T. Favorece diferenciación a Th2 y producción IL-4
rs11129295 (EOMES)	N	Diferenciación linfocitos T-CD8. Expresión aumentada en presencia de TGB- β e IL-4.
rs11154801 (MYB)	N	Factor de transcripción. Diferenciación y proliferación de progenitores hematopoyéticos. Especial importancia mantenimiento respuesta Th2
rs11810217 (EVI5)	N	Oncogén. Regulación de la mitosis.
rs12212193 (BACH2)	N	Maduración células B y producción de Ig. Formación células Treg. Disminución células Th1, Th2 y Th17 efectoras.
rs12368653 (CYP27B1)	N	Enzima de la familia del citocromo p450. Síntesis vitamina D3 activa.
rs12466022	N	Gen no conocido.
rs1250550 (ZMIZ1)	N	Factor de transcripción. Función desconocida.
rs13192841	N	Gen no conocido.
rs13333054 (IRF8)	N	Factor de transcripción de la familia IFN-I.
rs1335532 (CD58 o LFA-3)	N	Ligando de CD2. Favorece la unión CPA – linfocito T.
rs140522 (SCO2)	N	Proteína de ensamblaje de la citocromo C oxidasa.
rs1520333 (IL7)	N	Maduración de progenitores linfoides.
rs17066096 (IL22RA2)	N	Receptor soluble de la IL-22. Acciones antiinflamatorias al antagonizar la función de la IL-22.
rs17174870 (MERTK)	N	Proteín-kinasa. Destacan sus acciones antiinflamatorias por inhibición de los receptores <i>Toll-like</i> .
rs1738074 (TAGAP)	N	GTPasa. Activación de linfocitos T.
rs2019960 (PVT1)	N	Factor de transcripción. Relacionado con c-myc.
rs2119704 (GALC)	N	Galactocerebrosidasa. Metaboliza la galactosilceramida, uno de los principales lípidos de la mielina.
rs2243123 (IL12A)	N	Subunidad alfa de la IL12. Necesaria para la inducción de IFN- γ independiente de linfocitos T, y para la diferenciación de Th1 y Th2.
rs2248359 (CYP24A1)	N	Degradación de la vitamina D.
rs2283792 (MAPK1)	As*	Proteín-quinasa que actúa como factor de transcripción. Regula diversos procesos celulares. A nivel inmunológico se ha observado disminución de CD4 y CD8.

Continuación tabla 12. Asociación de los 42 SNP estudiados con la respuesta clínica (ausencia de brotes y de progresión de la discapacidad) al fingolimod.

SNP (gen propuesto)	Asociación	Funciones
rs2293370 (TMEM39A [CD80])	N	Presente en las CPA. Media la unión con los linfocitos T durante la presentación antigénica. Su ligando es el CD28.
rs2300603 (BATF)	N	Elaboración y mantenimiento de la respuesta inmune (linfocitos Th17, Thf, CD8, B, y células dendríticas).
rs2303759 (CD37 [DKKL1])	N	Presente en linfocitos B. Media las interacciones linfocito B-T.
rs2546890 (IL12B)	N	Subunidad β de la interleuquina inflamatoria IL-12.
rs3118470 (IL2RA)	N	Subunidad α del receptor de IL-2. Regulación proliferación linfocitos T y B. Diana de daclizumab.
rs4410871 (MYC)	N	Protooncogén. Regulación de la división celular.
rs4613763 (PTGER4)	N	Receptor 4 de la prostaglandina E. Acciones antiinflamatorias.
rs4648356 (MMEL1 [TNFRSF14])	N	Metaloproteasa. Degradación de neuropéptidos.
rs4902647 (ZFP36L1)	N	Factor de transcripción. Regulación células T y B y respuesta a factores de crecimiento.
rs669607	N	Gen no conocido.
rs7200786 (CLEC16A [CIITA])	N	Presente en linfocitos B, NK y células dendríticas Asociado con diversas enfermedades autoinmunes
rs7238078 (MALT1)	N	Activación de linfocitos T y B a través del NF- κ B.
rs7522462 (KIF21B)	N	Transporte axonal.
rs7595037 (PLEK)	N	Diferentes acciones. Agregación plaquetaria y coagulación, organización del citoesqueleto, diferenciación de células hematopoyéticas, señalización y tráfico celular.
rs7923837 (HHEX)	N	Producción de Ac y células B.
rs802734 (THEMIS)	N	Maduración y selección de linfocitos T.
rs8112449 (TYK2 [ICAM3])	N	Tirosín-quinasa. Regulación de la vía de señalización de IFN-I, IFN-II y citocinas IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23.
rs874628 (MPV17L2)	N	Función desconocida.
rs9282641 (CD86)	As**	Molécula coestimuladora de los linfocitos T. Actúa conjuntamente con CD80.
rs949143 (ARL6IP4)	N	Funciones de <i>splicing</i> .

*T 0,283 (0,084-0,954), p=0,042; **AG 0,164 (0,032-0,828), p=0,029; GG 0,131 (0,029-0,589), p=0,008; A: adenina; As: asociado; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; N: no asociado; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

9. DISCUSIÓN

9.1. Efectividad y seguridad del tratamiento con fingolimod.

Nuestro estudio recoge una muestra amplia de 167 pacientes con esclerosis múltiple (EM) tratados con fingolimod. Se trataba mayoritariamente de formas remitentes-recurrentes puras (82,6%), con una tasa anual de brotes (TAB) basal baja (0,48, desviación estándar [DE] 0,8) y un grado de discapacidad leve/moderado (puntuación en la *Expanded Disability Status Scale* [EDSS] basal media 2,9, DE 1,7).

Aunque formalmente no está aprobado el tratamiento con fingolimod en las formas progresivas de EM, en nuestro estudio 29 pacientes (17,4%) presentaban estas formas clínicas de la enfermedad. No obstante, estos pacientes continuaban también presentando brotes, por lo que al tratarse de un fármaco con eficacia probada para el control de la actividad inflamatoria, en algunos centros se contempla su administración por uso compasivo en este grupo de pacientes. Además, estos pacientes se encuentran en muchas ocasiones en tratamiento con otros fármacos para la EM y, o bien dichas terapias fracasan, o bien es conveniente cambiarlas para disminuir sus posibles efectos adversos.

La mitad del total comenzaron a recibir fingolimod tras retirada de tratamiento inmunomodulador (interferón beta [IFN- β] o acetato de glatirámico [AG]) por efectos adversos o por falta de efectividad, una tercera parte por cuestiones de seguridad en relación con el tratamiento previo con natalizumab y el resto eran pacientes *naïve*.

De forma global, la TAB disminuyó a 0,18 (DE 0,39) y a 0,08 (DE 0,28) a los 12 y a los 24 meses del inicio del tratamiento con fingolimod, lo que supone una reducción de la TAB del 62,5% y del 83,3%, respectivamente.

Vemos, comparando la TAB del primer y segundo año, diferencias estadísticamente significativas a favor de mejores resultados el segundo año de tratamiento. Esto puede traducir un efecto progresivo del fármaco, incrementándose y consolidándose la respuesta

con un mayor tiempo de exposición. En este sentido es conocido el hecho de que los efectos del fingolimod, así como los de la mayoría de los fármacos modificadores de la enfermedad disponibles actualmente, no son inmediatos. A nivel radiológico el control sobre la aparición de lesiones nuevas o aumentadas de tamaño en secuencias T2 o captantes de gadolinio, se observa ya a partir del sexto mes³⁴¹. Y a nivel clínico se acepta generalmente un cumplimiento de entre 6 y 12 meses de medicación estable como tiempo mínimo para valorar adecuadamente la respuesta terapéutica.

En este mismo sentido, a pesar de haber seguido unos criterios estrictos para considerar a un paciente como respondedor (ausencia tanto de brotes como de progresión de la discapacidad [PD] desde el inicio del tratamiento), y que algunos de los pacientes que se han catalogado como de no respondedores se corresponden con aquellos que presentaron actividad de la enfermedad antes del sexto mes de tratamiento, los resultados de efectividad siguen siendo robustos, con un 74,8% de respondedores del total de pacientes tras 12 meses de tratamiento y un 63,8% a los 24 meses.

En cuanto a la seguridad del fármaco, las reacciones adversas medicamentosas (RAM) ocurrieron en el 19% de los pacientes, cifra inferior a la reportada en otras series^{342,343}. También fue menor la proporción de pacientes que interrumpieron el tratamiento por aparición de RAM (4,8%)^{343,344}. En la serie presentada por Hersh et al³⁴³, la mayoría de los abandonos fueron debidos a la aparición de RAM (13,1%), mientras que en nuestro estudio solo la mitad estuvieron motivados por los efectos adversos. Si seguimos fijándonos en la serie de Hersh et al, vemos que las RAM que con más frecuencia motivaron la retirada del tratamiento con fingolimod fueron las infecciones y la cefalea. En nuestra serie todas las infecciones fueron leves y ningún paciente tuvo que abandonar el tratamiento por este motivo ni por la aparición de cefalea. En el caso de la serie de

Bianco et al³⁴⁴, las discontinuaciones por RAM llegaron al 11,3%, cifra igualmente superior a la registrada en nuestra serie.

A pesar de que el fingolimod es un agonista de los receptores S1P1 presentes en el tejido cardíaco, solo un paciente presentó un trastorno de la conducción después de la primera dosis (bloqueo auriculoventricular de segundo grado tipo 1). Un segundo paciente, con factores de riesgo vascular previos, sufrió un infarto agudo de miocardio (IAM) tras cuatro años de tratamiento. En nuestro conocimiento solo existe otro caso recogido en la literatura de IAM en un paciente con EM en tratamiento con fingolimod³⁴⁴, si bien están descritos dos casos más de elevación de enzimas cardíacas (troponina T) no asociados a cambios electrocardiográficos³⁴⁵. Solo en uno de los casos se relacionaron los síntomas con el tratamiento, que fue suspendido.

En nuestra serie registramos un caso de trombosis venosa profunda (TVP) en una paciente de 52 años sin antecedentes personales médico-quirúrgicos significativos y en la que no se consiguió demostrar la existencia de factores de riesgo para TVP. No tenemos conocimiento de otros casos publicados en los que se relacione el fingolimod con la aparición de TVP o con alteraciones hematológicas que puedan incrementar el riesgo de fenómenos trombóticos.

Por último, y en relación con un caso de linfoma de Hodgkin tipo esclerosis nodular, encontramos cuatro casos descritos en la literatura de enfermedades linfoproliferativas en pacientes con EM que se encontraban recibiendo tratamiento con fingolimod: un linfoma conjuntival³⁴⁶, dos papulosis linfomatoides^{347,348} y un linfoma del sistema nervioso central (SNC) de células B³⁴⁹. La asociación con el fingolimod no resulta claramente demostrable, si bien en el caso del linfoma conjuntival, dada la atipicidad de la presentación, los autores apuntan a una posible relación. En los pacientes que presentaron papulosis linfomatoides, hubo una relación temporal clara entre la aparición de la clínica

y la introducción del fármaco así como entre la retirada del mismo y la resolución del cuadro, lo que apoya la existencia de una relación de causalidad. Estos autores apuntan, además, a una relación entre el mecanismo de acción del fingolimod y un deterioro de la vigilancia inmunológica que conduciría, como consecuencia, a un incremento del riesgo de aparición de trastornos linfoproliferativos. Asimismo, en el paciente que presentó el linfoma del SNC, con desenlace fatal, la relación causal tampoco pudo ser excluida. En el caso de nuestro paciente, se trataba de un varón de 46 años, sin otros antecedentes médicos de relevancia, en el que el diagnóstico del linfoma tuvo lugar a los 15 meses del inicio del tratamiento. No había datos atípicos ni en las características demográficas del paciente ni en la forma de presentación y curso evolutivo del linfoma, por lo que aunque no podemos confirmar una relación causal estricta, tampoco podemos excluirla.

En lo referente al porcentaje de pacientes que interrumpieron el tratamiento (9,6%), también fue inferior a las tasas reportadas en otros estudios en práctica clínica: 25%³⁴³, 24%³⁴⁴ y 18%³⁵⁰. De estas interrupciones solo la mitad (4,8%) estuvieron motivadas por falta de efectividad frente a un 7,2% en la serie de Hersh et al³⁴³ y a un 5,6% en la de Bianco et al³⁴⁴.

Si nos fijamos en los ensayos clínicos fundamentales y comparamos los datos de eficacia con los resultados de efectividad de nuestra serie, encontramos un alto grado de concordancia. Así, la TAB tras el primer año de tratamiento con fingolimod fue de 0,18 tanto en nuestra serie como en el estudio TRANSFORMS¹⁹³. El segundo año la TAB bajó a 0,08 en nuestro estudio vs 0,16¹⁹² en los pacientes incluidos en el estudio FREEDOMS. Un 81,6% y un 74,6% de nuestros pacientes se mantenían libres de brotes a los 12 y 24 meses, respectivamente, vs a un 82,6%¹⁹³ y 70,4%¹⁹². Respecto a la PD, en nuestra serie se mantenían estables el 89,7% a los 12 meses y el 82,4% a los 24 meses mientras que en los estudios FREEDOMS Y TRANSFORMS lo hacían el 94,1%¹⁹³ y el 87,5%¹⁹². Aunque

similares, vemos unos resultados algo mejores en los ensayos clínicos respecto a la PD. En este punto habría que tener en cuenta que en estos ensayos la EDSS basal media (2,3, DE 1,3¹⁹² y 2,2, DE 1,3¹⁹³) era algo inferior a la de nuestra serie (2,9, DE 1,7). Conocida es la relación entre puntuaciones en la EDSS próximas a 3 y el inicio de fases progresivas de la EM. Nuestros pacientes, en conjunto, se encontraban más cercanos a estas formas clínicas de la enfermedad (de hecho, como ya se ha expuesto, 29 de los 167 pacientes presentaban formas progresivas), lo que podría justificar unos datos discretamente inferiores a los registrados en los ensayos clínicos fundamentales respecto a la prevención de la PD.

Por otra parte, en cuanto a la seguridad en nuestro estudio comparada con la registrada en los estudios FREEDOMS Y TRANSFORMS, las RAM y las retiradas tanto por RAM como por falta de efectividad también son semejantes, si bien las retiradas del fármaco por RAM son algo inferiores en nuestra serie: 4,8% vs 7,5 %¹⁹² y 5,6%¹⁹³.

Por tanto, a partir de los resultados de nuestro estudio, podemos concluir que la respuesta terapéutica al fingolimod en la práctica clínica diaria es similar a la objetivada en los ensayos clínicos fundamentales, lo que refrenda y apoya su uso como terapia consolidada para pacientes con EM con alta actividad desde el inicio, en los que tienen que abandonar el natalizumab por razones de seguridad y en aquellos que deben suspender tratamientos inmunomoduladores previos por falta de efectividad o por aparición de RAM. En general los efectos secundarios han sido poco frecuentes y en su mayoría predecibles y de grado leve. A pesar de la aparición de tres efectos adversos graves según Directiva de la Unión Europea 2000/38/CE³⁵¹ (un IAM, una TVP y un linfoma) no se puede establecer una relación causal estricta con el mecanismo de acción del fingolimod (relación “posible” según la escala de imputabilidad de Naranjo et al³⁵²), por lo que consideramos que la

tolerabilidad del fármaco es adecuada con la elección correcta del paciente y con la monitorización según la ficha técnica.

9.2. Asociación de la respuesta al fingolimod con factores demográficos y clínicos.

Aproximadamente el 50% de los pacientes incluidos en los estudios FREEDOMS¹⁹² y TRANSFORMS¹⁹³ eran pacientes *naïve*. De este modo, los datos disponibles sobre resultados con fingolimod en pacientes que habían recibido previamente otros tratamientos proceden de la práctica clínica diaria. Si analizamos en nuestra serie qué ocurre con la TAB atendiendo al tratamiento recibido con anterioridad al fingolimod, vemos cómo en los pacientes procedentes de tratamiento inmunomodulador la reducción de la TAB el primer año fue de un 64,4% y el segundo, de un 81,4%. Esto, unido a solo dos casos de falta de efectividad en este grupo, postula al fingolimod como una alternativa válida para pacientes tratados con inmunomoduladores en los que persiste actividad de la enfermedad, en consonancia con otros estudios³⁴⁴.

De igual modo, en aquellos pacientes que habían recibido previamente tratamiento con natalizumab, y en cuyo caso el cambio al fingolimod había sido motivado por cuestiones de seguridad, el fingolimod también demostró ser una alternativa efectiva y segura, como ya se había observado en otros estudios³⁴⁴. No obstante, nos gustaría señalar que seis de los ocho pacientes que abandonaron el tratamiento por falta de efectividad habían recibido previamente natalizumab. En este sentido podemos hacer dos consideraciones: la primera es que los pacientes que reciben natalizumab tienen habitualmente un curso más agresivo de la enfermedad, lo que dificulta la respuesta terapéutica a cualquiera de los fármacos actualmente disponibles y, además, su retirada puede ocasionar la aparición de un síndrome de reconstitución inmune. La segunda consideración es que el riesgo de

desarrollo de leucoencefalopatía multifocal progresiva obliga en muchas ocasiones, a pesar de un control estricto de la EM con el natalizumab, a la realización de un cambio terapéutico. En enero de 2015, momento en el que finaliza este estudio, solo estaban comercializados en España como fármacos de segunda línea, además del natalizumab, el fingolimod y la mitoxantrona (en desuso por su perfil de efectos adversos). De este modo, la sustitución por el fingolimod era la única alternativa para los pacientes que precisaban tratamiento de segunda línea pero que por cuestiones de seguridad no podían seguir recibiendo el natalizumab. Si tenemos en cuenta que solo un 10,9% de estos pacientes tuvo que discontinuar el tratamiento por falta de efectividad, nos encontramos con un dato más para apoyar su uso en este grupo de pacientes.

Por último, en el caso de los pacientes *naïve*, el fingolimod demostró una reducción del 79,3% de la TAB el primer año y del 91,4% el segundo año y ninguno de ellos tuvo que discontinuar el tratamiento por falta de efectividad.

Hasta la fecha no existe un consenso sólido respecto a datos demográficos y/o clínicos que puedan ser útiles como variables predictivas para pronosticar la respuesta al tratamiento con fingolimod. En nuestro estudio la capacidad del fármaco para reducir la frecuencia de brotes y de la PD resultó independiente, como ha quedado reflejado, de la edad, del sexo, del tratamiento previo, del número de brotes durante el año previo y de la EDSS basal, con resultados similares a los de otros estudios publicados^{342-344,350}. Por tanto, no parecen existir factores clínicos claros que permitan predecir la probabilidad de respuesta al fármaco, si bien se puede observar una tendencia a obtener mejores resultados cuando el fingolimod se emplea como fármaco de inicio que cuando ya han fracasado otros tratamientos.

En este sentido, es conocida la importancia del control temprano de la enfermedad y el peso que tienen sobre la evolución posterior los brotes en los dos primeros años tras el

debut de la EM, el tiempo transcurrido entre el primer y el segundo brote de la enfermedad y el tiempo en alcanzar una EDSS \geq 3,0³⁵³. Nuestros pacientes *naïve* tenían un menor tiempo de evolución al comienzo del tratamiento con el fingolimod (mediana 2,5, rango intercuartílico [RIC] 1,2-6,9 años) que los pacientes procedentes de tratamiento inmunomodulador (9,5 [6,3-13,4] años) y que los que habían recibido natalizumab (12,3, [7,9-15,7] años) ($p < 0,001$). Lo mismo ocurría con la puntuación basal en la EDSS (1,5 [DE 0,8], vs 2,9 [DE 1,8] y 3,2 [1,6] en el grupo procedente de tratamiento inmunomodulador y de natalizumab, respectivamente) ($p < 0,001$). Por tanto, se podría establecer una relación entre la tendencia observada a obtener mejores resultados en el grupo de nuestros pacientes *naïve* con el uso del fingolimod en una fase más temprana de la EM y con un grado de discapacidad leve.

En esta misma dirección apunta un trabajo³⁵⁴ en el que se relacionan puntuaciones en la EDSS $>$ 3 con un mayor riesgo de brotes (*hazard ratio* [HR] 2,27, intervalo de confianza [IC] al 95% 1,12-4,61, $p = 0,022$) y de fracaso terapéutico (HR 4,24 [1,79-10,05], $p = 0,01$). Estos autores concluyen que el fingolimod podría ser un tratamiento más adecuado en formas más precoces de la enfermedad, con un grado de discapacidad menor.

En muchas ocasiones nos encontramos en la práctica clínica diaria con pacientes a los que se les instaura tratamiento de segunda línea después de múltiples tratamientos fallidos, comenzando a recibir fármacos de mayor potencia terapéutica cuando ya han pasado varios años del inicio de la enfermedad y el grado de discapacidad ya es al menos moderado. Así, a la vista de nuestros resultados y de los obtenidos en otros trabajos previamente publicados, parece razonable preconizar la necesidad de la instauración de un tratamiento óptimo de la forma más precoz posible.

En el último trabajo referido³⁵⁴ también se encuentra una asociación con mayor riesgo de fracaso terapéutico con fingolimod en pacientes con bandas oligoclonales de

inmunoglobulinas M (BOCM) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (HR 2,45 [1,14-5,30], $p=0,022$). En nuestra serie no disponemos de este último dato para analizar, aunque sería interesante plantear futuros estudios que incluyeran la presencia de BOCM como posible factor clínico predictor de respuesta al tratamiento con fingolimod.

9.3. Asociación del virus herpes humano tipo 6 con la respuesta al fingolimod.

Hasta ahora era conocida una peor respuesta al IFN- β , al AG y al natalizumab¹¹⁴, con incremento tanto del número de brotes como de la PD, en aquellos pacientes en los que los títulos de inmunoglobulinas G o M (IgG o IgM) frente al virus herpes humano tipo 6 (VHH-6) se elevaban a lo largo del tratamiento, aunque no existen estudios publicados por el momento con fingolimod. Se especula con que la efectividad del IFN- β podría estar en relación, entre otros factores, con sus propiedades antivirales, lo que iría en consonancia con los hallazgos respecto a los títulos de Ac frente al VHH-6 y la respuesta al mismo. Esta relación no está tan clara en el caso del AG y el natalizumab, aunque en el caso de este último se postula como mecanismo implicado el efecto del fármaco sobre la síntesis de Ig.

En nuestro estudio no hemos encontrado una relación entre los cambios mensuales de los títulos de IgG e IgM frente al virus, aunque dados los hallazgos encontrados en el caso de otros fármacos sería interesante plantear futuros estudios con un tamaño muestral mayor que nos permitiera comprobar si realmente puede existir alguna asociación en el caso del fingolimod. De ser así podría convertirse en un útil y sencillo biomarcador para predecir la respuesta clínica al fármaco. No obstante, así como en el caso del IFN- β o el natalizumab hay una aparente relación entre el virus y el mecanismo de acción del fármaco, no ocurriría lo mismo en el caso del fingolimod, sin propiedades antivirales y

sin efecto sobre la síntesis de Ig. En cualquier caso, tampoco estaría clara la relación entre el VHH-6 y el mecanismo de acción del AG y se ha demostrado una asociación entre la variación de los títulos de Ig frente al VHH-6 y la respuesta al fármaco, por lo que la existencia de esta relación no puede descartarse para otros fármacos modificadores del curso de la enfermedad.

9.4. Asociación de las variantes alélicas del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) con la respuesta al fingolimod.

Hemos conseguido demostrar una asociación para los pacientes HLA-DR6+ con peor respuesta al fármaco. Tan solo dos pacientes eran homocigotos para dicho alelo, por lo que no se pudo analizar si la dosis del gen pudiera tener algún efecto aditivo sobre la efectividad terapéutica del fingolimod.

Clásicamente este alelo se había estudiado en relación con la respuesta en infecciones como la del virus de la hepatitis C y en enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico. También encontramos descrita en la literatura la presencia de este gen como un posible factor protector frente a la EM³⁵⁵ o asociado con formas menos agresivas de la enfermedad como planteaban Perini et al³⁵⁶, aunque no existen estudios que lo relacionen con una mejor o peor respuesta a un determinado tratamiento modificador del curso de la enfermedad.

Por otra parte, si bien es cierto que con el fingolimod no existen estudios publicados que predigan la respuesta en función de las variantes alélicas del HLA-II, sí que se han encontrado recientemente asociaciones interesantes para el IFN- β y el AG^{267,276}. En estudios previos, sin embargo, no se habían detectado estas relaciones o los resultados habían resultado contradictorios. El alelo HLA-DRB1*04 se ha relacionado con una

mejor respuesta al IFN- β ²⁶⁷. En el caso del AG²⁷⁶, es la presencia de los alelos HLA-DR2 o HLA-DQ6, o la ausencia del HLA-DR3 y HLA-DQ6, la que se relaciona con una respuesta favorable al tratamiento. No obstante, ambos estudios concluyen la necesidad de replicar los resultados obtenidos antes de poder hacer ninguna recomendación desde el punto de vista clínico.

Para explicar las asociaciones encontradas, en el caso del AG se propone que las diferencias alélicas en las moléculas del HLA-II podrían dar lugar a diferencias conformacionales en el complejo formado por la unión del AG al HLA-II y a los receptores de células T. Estas diferencias influirían en la respuesta inmune al AG y, en consecuencia, en su efectividad. El IFN- β , disminuye la expresión del HLA-II y de moléculas coestimuladoras, por lo que interviene en la presentación de antígeno necesaria para la activación de los linfocitos T. Las diferencias alélicas conducirían también a cambios en la conformación del HLA, el IFN- β disminuiría su expresión y todo ello influiría en la activación linfocitaria.

Sin embargo, el mecanismo de acción del fingolimod no nos permite plantear una hipótesis sobre la relación entre la presencia de un determinado alelo del sistema HLA y la respuesta clínica al fármaco. Otra posibilidad sería que el grado de respuesta no estuviera en relación con el mecanismo de acción del fármaco sino con las características de la EM. Así, está descrita la asociación del HLA-DR6 con formas menos agresivas de la enfermedad³⁵⁶, por lo que sería esperable una mejor respuesta, aunque no encontramos en la literatura que esta asociación haya sido replicada posteriormente, lo que obliga a ser cautos con la interpretación de los resultados. No obstante, nuestros hallazgos apuntan justamente en el sentido contrario, de tal forma que los portadores de este alelo no serían buenos candidatos al tratamiento con fingolimod.

De igual forma, y como también se planteaba en los estudios con el IFN- β y el AG, resultaría interesante poder validar nuestros resultados en futuras investigaciones. De llegarse a confirmar la asociación se podría realizar la prueba de forma previa al inicio del tratamiento con fingolimod. No obstante, la prevalencia en la población europea de este gen ronda el 12%, por lo que la aplicabilidad de la técnica parece limitada si tenemos en cuenta que solo un pequeño porcentaje de los pacientes con EM se podría beneficiar de ella. En cualquier caso, como concluyen Dhib-Jalbut et al²⁷⁶ en su artículo, estos hallazgos podrían representar un paso hacia la terapia personalizada en nuestros pacientes con EM.

9.5. Asociación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de genes no pertenecientes al sistema HLA e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.

Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la respuesta terapéutica al fingolimod y dos de los 42 SNP analizados, concretamente el rs2283792 y el rs9282641.

En general, se acepta en los estudios de asociación con SNP que el hallazgo de un resultado positivo para una determinada variante no puede interpretarse como una relación directa con dicho SNP o con el gen de dicho SNP. En muchas ocasiones los SNP así descubiertos se encuentran en regiones intrónicas del gen, con lo que no codifican para la síntesis de proteínas, y podría ser que únicamente estuvieran cumpliendo funciones reguladoras de la transcripción de ese u otros genes. De igual manera, en el caso de los SNP existe un elevado desequilibrio de ligamiento. Esto podría significar que el SNP descubierto no tuviera nada que ver con el objeto de la investigación, sino que se heredaría en bloque con la variante genética relacionada, la cual no sería identificada.

Los dos SNP asociados guardaban alguna conexión teórica con la patogenia de la EM o con el mecanismo del fármaco como para poder justificar su relación, pues ambos se encuentran en genes relacionados de una u otra manera con la función y regulación del sistema inmunitario:

- rs2283792 (gen MAPK1). El alelo T tenía una HR 0,283 (0,084-0,954). Codifica para una proteína que regula diversos procesos celulares y que a nivel inmunológico produce una disminución de CD4 y CD8. Este hallazgo podría sugerir un efecto beneficioso sumatorio a la linfopenia provocada por secuestro linfático con el uso del fingolimod.

- rs9282641 (gen CD86). HR 0,164 (IC 95 % 0,032-0,828) para el genotipo AG y HR 0,131 (IC 95% 0,029-0,589) para el GG. El gen codifica para una molécula coestimuladora de los linfocitos T. La acción de CD86 consiste en la mediación en la adhesión de las células T con las células presentadoras de antígeno (CPA) foráneas. Esta y otras moléculas son coestimuladoras y su interacción con sus receptores o ligandos determinará si el linfocito T responderá frente a los antígenos presentados por las CPA. La interacción de la CPA con las células T estimula la producción de IL-2, que es necesaria para la supervivencia y funcionalidad normal de los linfocitos T reguladores (Treg), que son inhibidores de la respuesta T. Ante una deficiencia se generaría una respuesta autoinmune descontrolada por medio de linfocitos T. Por tanto, el efecto protector de este SNP se podría explicar por la sinergia entre el efecto inmunosupresor del fármaco y el mantenimiento de la funcionalidad de los Treg, que contribuiría a la tolerancia inmunológica.

No obstante, estos resultados deberían ser validados en cohortes independientes, con un tamaño muestral mayor, para confirmar su posible implicación como posibles predictores en la respuesta al fingolimod.

Hubo 40 SNP para los que no se encontró ninguna relación con la respuesta terapéutica al fingolimod a pesar de codificar proteínas relacionadas con todos los mecanismos patogénicos implicados en la EM y con los posibles modos de acción del fármaco (sistema inmune, posibles mecanismos degenerativos y de daño axonal y metabolismo de la vitamina D).

9.6. Posibles implicaciones en la práctica clínica.

Como ha quedado dicho, así como para los fármacos clásicos de primera línea se han identificado diversos biomarcadores que pueden ayudar a predecir la respuesta terapéutica, no hay factores predictores bien establecidos en el caso de los fármacos de segunda línea como el fingolimod. Disponer de estos biomarcadores sería de gran utilidad en la práctica clínica diaria para poder personalizar el tratamiento modificador de la enfermedad de una forma más eficiente.

Aunque con este estudio no hemos llegado a identificar factores clínicos que predigan una mejor respuesta al tratamiento de los pacientes con EM con fingolimod, sí que hemos observado una tendencia a obtener mejores resultados cuando se emplea como fármaco de inicio que cuando ya han fracasado otras terapias. Por ficha técnica, actualmente solo es posible pautar fingolimod como fármaco de entrada en aquellos pacientes que presentan un inicio agresivo de la enfermedad. Por este motivo la mayoría de los pacientes con EM, como se refleja en nuestra serie, comienzan a recibir el fingolimod tras presentar una respuesta subóptima a otros tratamientos o por motivos de seguridad. Dada la tendencia observada y su buen perfil de seguridad, podría resultar muy interesante plantear un reposicionamiento terapéutico del tratamiento con fingolimod.

Por otra parte, aunque sería necesario validar los resultados en cohortes independientes con un tamaño muestral mayor, podría resultar útil la determinación del HLA-II y de los SNP rs2283792 y rs9282641 como potenciales biomarcadores predictores de respuesta al tratamiento.

9.7. Limitaciones del estudio y líneas de investigación futuras.

Consideramos necesario mencionar algunas limitaciones que presenta nuestro estudio. En primer lugar, el tamaño de la muestra es limitado y podría haber resultado insuficiente para detectar diferencias significativas en el caso de algunas de las variables estudiadas. Asimismo, el tiempo de seguimiento es moderado, lo que nos impide arrojar datos de efectividad y seguridad a más largo plazo. Por otro lado, no disponemos de parámetros de respuesta radiológica, solo clínicos. Si tenemos en cuenta la última clasificación fenotípica de la EM realizada por Lublin et al¹⁵⁷, comprobamos el peso actual que tienen los estudios de neuroimagen en la clasificación de la EM. De este modo, la actividad de la enfermedad se mide no solo por criterios clínicos (brotes y/o PD), sino también radiológicos (aparición de lesiones nuevas y/o aumentadas de tamaño en secuencias T2 o que presentan realce tras la administración de contraste paramagnético). La importancia de este punto radica en que, si bien no hay criterios estrictos que establezcan cuándo se debe considerar como subóptima la respuesta a un tratamiento, la presencia de actividad radiológica, aun en ausencia de actividad clínica, podría considerarse indicativa de fracaso terapéutico. Por tanto, es posible que algunos de los pacientes que hemos definido como respondedores (por ausencia de actividad clínica) puedan presentar actividad radiológica, lo cual podría tener implicaciones desde el punto de vista terapéutico.

De cara al futuro sería interesante plantear la realización de estudios multicéntricos que permitan aumentar el tamaño muestral. También resultaría interesante incluir el análisis de otras variables clínicas, ya analizadas por otros grupos³⁵⁴, como puede ser la presencia de BOCM en el LCR. Además, sería precisa la recogida de los datos de respuesta, no solo clínica, sino también radiológica.

10. CONCLUSIONES

1. En nuestra serie de pacientes con esclerosis múltiple (EM), la efectividad del fingolimod ha sido similar a la eficacia observada en los ensayos clínicos fundamentales, con una reducción de la tasa anual de brotes del 62,5%, un 81,6% de pacientes libres de brotes y un 89,7% de pacientes sin progresión de la discapacidad a los 12 meses del inicio del tratamiento.

2. En nuestra serie, la incidencia de reacciones adversas medicamentosas fue del 19,2% (90,6% de grado leve) y el porcentaje de abandonos por efectos adversos fue del 4,8%. Estos datos indican que el perfil de seguridad del fingolimod es bueno cuando se lleva a cabo una correcta selección de los pacientes. No obstante, hemos registrado tres reacciones adversas graves, lo que apoya la necesidad de una estricta monitorización según ficha técnica.

3. No hemos identificado factores demográficos o clínicos que permitan predecir la respuesta al tratamiento con fingolimod en pacientes con EM. Sin embargo, hemos podido observar una tendencia a obtener mejores resultados cuando el fingolimod se emplea como tratamiento de inicio que cuando ya han fracasado otras terapias previas. Esta tendencia podría estar en relación con un grado de discapacidad más leve y un menor tiempo de evolución de la EM en este grupo de pacientes.

4. A diferencia de los datos obtenidos en estudios con interferón beta, acetato de glatirámico y natalizumab, no hemos encontrado asociación entre el grado de respuesta al fingolimod y la variación de los títulos de anticuerpos frente al virus herpes humano tipo 6 a lo largo del tratamiento.

5. En nuestra muestra, la presencia del alelo HLA-DR6 del sistema de antígenos leucocitarios humanos se asoció con una peor respuesta clínica al tratamiento con fingolimod. Por tanto, la presencia de dicho alelo podría ser un factor predictor negativo

de respuesta al fármaco, si bien este resultado debería confirmarse en cohortes independientes.

6. Hemos detectado una asociación entre algunos de los polimorfismos de nucleótido simple (SNP) vinculados a la susceptibilidad de padecer EM (rs2283792 y rs9282641) y la respuesta terapéutica al fingolimod. Dichos SNP se localizan en genes relacionados con el sistema inmune, por lo que la asociación encontrada podría tener que ver tanto con la patogenia de la EM como con el mecanismo de acción del fingolimod. En nuestra serie la presencia del alelo T del rs2283792 y los genotipos AG y GG del rs9282641 se han comportado como factores predictores positivos de respuesta al fingolimod. No obstante, estos resultados deberían ser validados mediante estudios de replicación en cohortes independientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benito-León J, Morales JM, Rivera-Navarro J, Mitchell A. A review about the impact of multiple sclerosis on health-related quality of life. *Disabil Rehabil.* 2003 Dec 2;25(23):1291–303.
2. Mitchell AJ, Benito-León J, González J-MM, Rivera-Navarro J. Quality of life and its assessment in multiple sclerosis: integrating physical and psychological components of wellbeing. *Lancet Neurol.* 2005 Sep;4(9):556–66.
3. Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Part one. *Acta Neurol Scand.* 1975 Feb;51(2):110–36.
4. Kurtzke JF. Geography in multiple sclerosis. *J Neurol.* 1977 Apr 28;215(1):1–26.
5. Kurtzke JF, Beebe GW, Norman JE Jr. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 1. Race, sex, and geographic distribution. *Neurology.* 1979 Sep;29(9 Pt 1):1228–35.
6. Kurtzke JF. Geographic distribution of multiple sclerosis: An update with special reference to Europe and the Mediterranean region. *Acta Neurol Scand.* 1980 Aug;62(2):65–80.
7. Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci.* 2001 Apr;22(2):117–39.
8. Alonso A, Hernán MA. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology.* 2008 Jul 8;71(2):129–35.
9. Koch-Henriksen N. The Danish Multiple Sclerosis Registry: a 50-year follow-up. *Mult Scler.* 1999 Aug;5(4):293–6.
10. Svenson LW, Warren S, Warren KG, Metz LM, Patten SB, Schopflocher DP. Prevalence of multiple sclerosis in First Nations people of Alberta. *Can J Neurol Sci.* 2007 May;34(2):175–80.
11. Houzen H, Niino M, Hata D, Nakano F, Kikuchi S, Fukazawa T, et al. Increasing prevalence and incidence of multiple sclerosis in northern Japan. *Mult Scler.* 2008 Aug;14(7):887–92.

- 12.** Ranzato F, Perini P, Tzintzeva E, Tiberio M, Calabrese M, Ermani M, et al. Increasing frequency of multiple sclerosis in Padova, Italy: a 30 year epidemiological survey. *Mult Scler.* 2003 Aug;9(4):387–92.
- 13.** Cristiano E, Patrucco L, Miguez J, Giunta D, Correale J, Fiol M, et al. Increasing prevalence of multiple sclerosis in Buenos Aires, Argentina. *Mult Scler Relat Disord.* 2016 Sep;9:91-4.
- 14.** Broła W, Sobolewski P, Flaga S, Fudala M, Szczuchniak W, Stoiński J, et al. Prevalence and incidence of multiple sclerosis in central Poland, 2010-2014. *BMC Neurol.* 2016 Aug 11;16(1):134.
- 15.** Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol.* 2010 May;9(5):520–32.
- 16.** Koch-Henriksen N, Sorensen PS. Why does the north-south gradient of incidence of multiple sclerosis seem to have disappeared on the northern hemisphere? *J Neurol Sci.* 2011 Dec 15;311(1-2):58–63.
- 17.** Simpson S Jr, Blizzard L, Otahal P, Van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a metaanalysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2011 Oct;82(10):1132–41.
- 18.** Grimaldi LME, Palmeri B, Salemi G, Giglia G, D’Amelio M, Grimaldi R, et al. High prevalence and fast rising incidence of multiple sclerosis in Caltanissetta, Sicily, southern Italy. *Neuroepidemiology.* 2007;28(1):28–32.
- 19.** Nicoletti A, Patti F, Lo Fermo S, Messina S, Bruno E, Quattrocchi G, et al. Increasing frequency of multiple sclerosis in Catania, Sicily: a 30-year survey. *Mult Scler.* 2011 Mar;17(3):273–80.
- 20.** Pugliatti M, Solinas G, Sotgiu S, Castiglia P, Rosati G. Multiple sclerosis distribution in northern Sardinia: spatial cluster analysis of prevalence. *Neurology.* 2002 Jan 22;58(2):277–82.
- 21.** Grønlie SA, Myrvoll E, Hansen G, Grønning M, Mellgren SI. Multiple sclerosis in North Norway, and first appearance in an indigenous population. *J Neurol.* 2000 Feb;247(2):129–33.

22. Fernández O, Luque G, San Román C, Bravo M, Dean G. The prevalence of multiple sclerosis in the Sanitary District of Vélez-Málaga, southern Spain. *Neurology*. 1994 Mar;44(3 Pt 1):425–9.
23. Sempere AP, Clavería LE, Duarte J, Coria F, Cabezas C. Multiple sclerosis in Spain. *Neurology*. 1995 Jan;45(1):202.
24. Bufill E, Blesa R, Galan I, Dean G. Prevalence of multiple sclerosis in the region of Osona, Catalonia, northern Spain. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1995 May;58(5):577–81.
25. Uria DF, Abad P, Calatayud MT, Virgala P, Diaz A, Chamizo C, et al. Multiple sclerosis in Gijon health district, Asturias, northern Spain. *Acta Neurol Scand*. 1997 Dec;96(6):375–9.
26. Pina MA, Ara JR, Modrego PJ, Morales F, Capablo JL. Prevalence of multiple sclerosis in the sanitary district of Calatayud, Northern Spain: is Spain a zone of high risk for this disease? *Neuroepidemiology*. 1998;17(5):258–64.
27. Benito-León J, Martín E, Vela L, Villar ME, Felgueroso B, Marrero C, et al. Multiple sclerosis in Móstoles, central Spain. *Acta Neurol Scand*. 1998 Oct;98(4):238–42.
28. Tola MA, Yugueros MI, Fernández-Buey N, Fernández-Herranz R. Prevalence of multiple sclerosis in Valladolid, northern Spain. *J Neurol*. 1999 Mar;246(3):170–4.
29. Mallada-Frechín J, Matías-Guiu Guía J, Martín R, López-Arlandis JM, Camacho-Cuartero JM, Beltrán I, et al. Prevalencia de la esclerosis múltiple en el área sanitaria de Alcoy. *Rev Neurol*. 2000 Jun 16;30(12):1131–4.
30. Casquero P, Villoslada P, Montalbán X, Torrent M. Frequency of multiple sclerosis in Menorca, Balearic islands, Spain. *Neuroepidemiology*. 2001 May;20(2):129–33.
31. Aladro Y, Alemany MJ, Pérez-Vieitez MC, Amela R, Conde M, Reyes MP, et al. Prevalence and incidence of multiple sclerosis in Las Palmas, Canary Islands, Spain. *Neuroepidemiology*. 2005;24(1-2):70–5.
32. Ares B, Prieto JM, Lema M, Dapena D, Arias M, Noya M. Prevalence of multiple sclerosis in Santiago de Compostela (Galicia, Spain). *Mult Scler*. 2007 Mar;13(2):262–4.

33. De Sá J. Epidemiología de la esclerosis múltiple en Portugal y España. *Rev Neurol*. 2010 Oct 1;51(7):387–92.
34. Fernández O, Fernández V, Guerrero M, León A, López Madrona J, Alonso A, et al. Multiple sclerosis prevalence in Malaga Southern Spain estimated by capture-recapture method. *Mult Scler* 2012; 18: 372-6.
35. Otero-Romero S, Roura P, Solá J, Sastre-Garriga J, Nos C, Vaqué J, et al. Increase in the prevalence of multiple sclerosis over a 17-year period in Osona, Catalonia, Spain. *Mult Scler* 2013; 19: 245-8.
36. Bártulos-Iglesias M, Marzo-Sola ME, Estrella-Ruiza LA, Bravo-Anguiano B. Estudio epidemiológico de la esclerosis múltiple en La Rioja. *Neurologia* 2015; 30: 552-60.
37. Izquierdo G, Vengas A, Sanabria C, Navarro G. Long-term epidemiology of multiple sclerosis en the Northern Seville District. *Acta Neurol Scand*. 2015 Aug;132(2):111-7.
38. Carreón-Guarnizo E, Andréu-Reinón E, Cerdán-Sánchez M, Carrasco-Torres R, Hernández-Clares R, Prieto-Valiente L, et al. Prevalencia de la esclerosis múltiple en la Región de Murcia. *Rev Neurol*. 2016; 62: 396-402.
39. Candelieri-Merlicco A, Valero-Delgado F, Martínez-Vidal S, Lastres-Arias M del C, Aparicio-Castro E, et al. Prevalence of multiple sclerosis in Health District III, Murcia, Spain. *Mult Scler Relat Disord*. 2016 Sep;9:31-5.
40. Fernández O, Álvarez-Cermeño JC, Arnal-García C, Arroyo-González R, Brieva LI, Calles-Hernández MC, et al. Revisión de las novedades presentadas en el XXIX Congreso del Comité Europeo para el Tratamiento e Investigación en Esclerosis Múltiple (ECTRIMS) (I). *Rev Neurol* 2014; 59: 269-80.
41. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000 Sep 28;343(13):938–52.
42. Ebers GC, Sadovnick AD. The role of genetic factors in multiple sclerosis susceptibility. *J Neuroimmunol*. 1994 Oct;54(1-2):1-17.
43. Sadovnick AD, Ebers GC, Dyment DA, Risch NJ. Evidence for genetic basis of multiple sclerosis. The Canadian Collaborative Study Group. *Lancet*. 1996 Jun 22;347(9017):1728-30.

44. Jersild C, Svejgaard A, Fog T. HLA antigens and multiple sclerosis. *Lancet*. 1972 Jun 3;1(7762):1240–1.
45. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CCA, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*. 2011 Aug 11;476(7359):214–9.
46. Moutsianas L, Jostins L, Beecham AH, Dilthey AT, et al for the International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2015 Oct; 47(10): 1107–1113.
47. Field J, Browning SR, Johnson LJ, Danoy P, Varney MD, Tait BD, et al. A polymorphism in the HLA-DPB1 gene is associated with susceptibility to multiple sclerosis. *PLoS ONE*. 2010;5(10):e13454.
48. Patsopoulos NA, Bayer Pharma MS Genetics Working Group, Steering Committees of Studies Evaluating IFN β -1b and a CCR1-Antagonist, ANZgene Consortium, GeneMSA, International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, et al. Genome-wide metaanalysis identifies novel multiple sclerosis susceptibility loci. *Ann Neurol*. 2011 Dec;70(6):897–912.
49. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), Beecham AH, Patsopoulos NA, Xifara DK, Davis MF, Kempainen A, et al. Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1353–60.
50. Goris A, Pauwels I, Dubois B. Progress in Multiple Sclerosis Genetics. *Curr Genomics*. 2012 Dec;13(8):646–63.
51. Hernán MA, Olek MJ, Ascherio A. Geographic variation of MS incidence in two prospective studies of US women. *Neurology*. 1999 Nov 10;53(8):1711–8.
52. Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol*. 1995 Dec;47(4-5):425–48.
53. Hammond SR, English DR, McLeod JG. The age-range of risk of developing multiple sclerosis: evidence from a migrant population in Australia. *Brain*. 2000 May;123 (Pt 5):968–74.

54. Elian M, Nightingale S, Dean G. Multiple sclerosis among United Kingdom born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 1990 Oct;53(10):906–11.
55. Giovannoni G, Cutter GR, Lunemann J, Martin R, Münz C, Sriram S, et al. Infectious causes of multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006 Oct;5(10):887–94.
56. Gildden DH. Infectious causes of multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2005 Mar;4(3):195–202.
57. Christensen T. Human herpesviruses in MS. *Int MS J.* 2007 Jun;14(2):41–7.
58. Pierrot-Deseilligny C. Clinical implications of a possible role of vitamin D in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2009 Sep;256(9):1468–79.
59. Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2008 Mar;7(3):268–77.
60. Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis: geoepidemiology, genetics and the environment. *Autoimmun Rev.* 2010 Mar;9(5):A387–394.
61. Giovannoni G, Ebers G. Multiple sclerosis: the environment and causation. *Curr Opin Neurol.* 2007 Jun;20(3):261–8.
62. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA.* 2006 Dec 20;296(23):2832–8.
63. Villar-Quiles RN, Matías-Guiu JA, Ortega G, González-Suárez I, Oreja-Guevara C, Matías-Guiu J. Analysis of the Relationship between the Month of Birth and Risk of Multiple Sclerosis in a Spanish Population. *Eur Neurol.* 2016 Oct 8;76(5-6):202-209.
64. Hawkes CH. Are multiple sclerosis patients risk-takers? *QJM.* 2005 Dec;98(12):895–911.
65. Hedström AK, Hillert J, Olsson T, Alfredsson L. Smoking and multiple sclerosis susceptibility. *Eur J Epidemiol.* 2013 Nov;28(11):867-74.
66. Ramagopalan SV, Lee JD, Yee IM, Guimond C, Traboulsee AL, Ebers GC, et al. Association of smoking with risk of multiple sclerosis: a population-based study. *J Neurol.* 2013 Jul;260(7):1778–81.

- 67.** Wu C, Yosef N, Thalhamer T, Zhu C, Xiao S, Kishi Y, et al. Induction of pathogenic TH17 cells by inducible salt-sensing kinase SGK1. *Nature*. 2013 Apr 25;496(7446):513–7.
- 68.** Kleinewietfeld M, Manzel A, Titze J, Kvakana H, Yosef N, Linker RA, et al. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells. *Nature*. 2013 Apr 25;496(7446):518–22.
- 69.** Munger KL, Bentzen J, Laursen B, Stenager E, Koch-Henriksen N, Sørensen TIA, et al. Childhood body mass index and multiple sclerosis risk: a long-term cohort study. *Mult Scler*. 2013 Sep;19(10):1323–9.
- 70.** Langer-Gould A, Brara SM, Beaber BE, Koebnick C. Childhood obesity and risk of pediatric multiple sclerosis and clinically isolated syndrome. *Neurology*. 2013 Feb 5;80(6):548–52.
- 71.** Fragoso YD. Modifiable environmental factors in multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr*. 2014 Nov;72(11):889-94.
- 72.** Kavak K.S., Teter B.E., Hagemeyer J., Zakalik K., Weinstock-Guttman B. Higher weight in adolescence and young adulthood is associated with an earlier age at multiple sclerosis onset. *Mult Scler*. 2015 Jun;21(7):858-65.
- 73.** Liu Z1, Zhang TT, Yu J, Liu YL, Qi SF, Zhao JJ, et al. Excess Body Weight during Childhood and Adolescence Is Associated with the Risk of Multiple Sclerosis: A Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*. 2016 Oct 11;47(2):103-108.
- 74.** Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, von Glehn F, Yan R, et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun*. 2016 Jun 28;7:2015.
- 75.** Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novotna M, Soldan MM, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep*. 2016 Jun 27;6:28484.
- 76.** Budhram A, Parvathy S, Kremenutzky M, Silverman M. Breaking down the gut microbiome composition in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017 Apr;23(5):628-636.

77. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol*. 2007 Jun;61(6):504–13.
78. Hedström AK, Olsson T, Alfredsson L. High body mass index before age 20 is associated with increased risk for multiple sclerosis in both men and women. *Mult Scler*. 2012 Sep;18(9):1334–6.
79. Ascherio A, Munger KL, Lennette ET, Spiegelman D, Hernán MA, Olek MJ, et al. Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA*. 2001 Dec 26;286(24):3083–8.
80. DeLorenze GN, Munger KL, Lennette ET, Orentreich N, Vogelmann JH, Ascherio A. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: evidence of association from a prospective study with long-term follow-up. *Arch Neurol*. 2006 Jun;63(6):839–44.
81. Haahr S, Plesner AM, Vestergaard BF, Höllsberg P. A role of late Epstein-Barr virus infection in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2004 Apr;109(4):270–5.
82. Sundström P, Juto P, Wadell G, Hallmans G, Svenningsson A, Nyström L, et al. An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology*. 2004 Jun 22;62(12):2277–82.
83. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a metaanalysis. *Ann Neurol*. 2006 Mar;59(3):499–503.
84. Sundström P, Nyström M, Ruuth K, Lundgren E. Antibodies to specific EBNA-1 domains and HLA DRB1*1501 interact as risk factors for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2009 Oct 30;215(1-2):102-7.
85. Angelini DF, Serafini B, Piras E, Severa M, Coccia EM, Rosicarelli B, et al. Increased CD8+ T cell response to Epstein-Barr virus lytic antigens in the active phase of multiple sclerosis. *PLoS Pathog*. 2013;9(4):e1003220.
86. Holmøy T, Kvale EØ, Vartdal F. Cerebrospinal fluid CD4+ T cells from a multiple sclerosis patient cross-recognize Epstein-Barr virus and myelin basic protein. *J Neurovirol*. 2004 Oct;10(5):278–83.
87. Rand KH, Houck H, Denslow ND, Heilman KM. Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) associated oligoclonal bands in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2000 Feb 1;173(1):32–9.

- 88.** Cepok S, Zhou D, Srivastava R, Nessler S, Stei S, Büssow K, et al. Identification of Epstein-Barr virus proteins as putative targets of the immune response in multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 2005 May;115(5):1352–60.
- 89.** Okuno T, Takahashi K, Balachandra K, Shiraki K, Yamanishi K, Takahashi M, et al. Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults. *J Clin Microbiol.* 1989 Apr;27(4):651–3.
- 90.** Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet.* 1988 May 14;1(8594):1065–7.
- 91.** Yoshikawa T, Asano Y. Central nervous system complications in human herpesvirus-6 infection. *Brain Dev.* 2000 Aug;22(5):307–14.
- 92.** Kong H, Baerbig Q, Duncan L, Shepel N, Mayne M. Human herpesvirus type 6 indirectly enhances oligodendrocyte cell death. *J Neurovirol.* 2003 Oct;9(5):539–50.
- 93.** Dietrich J, Blumberg BM, Roshal M, Baker JV, Hurley SD, Mayer-Pröschel M, et al. Infection with an endemic human herpesvirus disrupts critical glial precursor cell properties. *J Neurosci.* 2004 May 19;24(20):4875–83.
- 94.** Cheng W, Ma Y, Gong F, Hu C, Qian L, Huang Q, et al. Cross-reactivity of autoreactive T cells with MBP and viral antigens in patients with MS. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;17:1648–58.
- 95.** Tejada-Simon MV, Zang YCQ, Hong J, Rivera VM, Zhang JZ. Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2003 Feb;53(2):189–97.
- 96.** Tait AR, Straus SK. Phosphorylation of U24 from Human Herpes Virus type 6 (HHV-6) and its potential role in mimicking myelin basic protein (MBP) in multiple sclerosis. *FEBS Lett.* 2008 Aug 6;582(18):2685–8.
- 97.** Kakimoto M, Hasegawa A, Fujita S, Yasukawa M. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection. *J Virol.* 2002 Oct;76(20):10338–45.

- 98.** Sanders VJ, Felisan S, Waddell A, Tourtellotte WW. Detection of herpesviridae in postmortem multiple sclerosis brain tissue and controls by polymerase chain reaction. *J Neurovirol.* 1996 Aug;2(4):249–58.
- 99.** Opsahl ML, Kennedy PGE. Early and late HHV-6 gene transcripts in multiple sclerosis lesions and normal appearing white matter. *Brain.* 2005 Mar;128(Pt 3):516–27.
- 100.** Cermelli C, Berti R, Soldan SS, Mayne M, D’ambrosia JM, Ludwin SK, et al. High frequency of human herpesvirus 6 DNA in multiple sclerosis plaques isolated by laser microdissection. *J Infect Dis.* 2003 May 1;187(9):1377–87.
- 101.** Goodman AD, Mock DJ, Powers JM, Baker JV, Blumberg BM. Human herpesvirus 6 genome and antigen in acute multiple sclerosis lesions. *J Infect Dis.* 2003 May 1;187(9):1365–76.
- 102.** Fotheringham J, Jacobson S. Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: potential mechanisms for virus induced disease. *Herpes.* 2005 Jun;12(1):4–9.
- 103.** Berti R, Brennan MB, Soldan SS, Ohayon JM, Casareto L, McFarland HF, et al. Increased detection of serum HHV-6 DNA sequences during multiple sclerosis (MS) exacerbations and correlation with parameters of MS disease progression. *J Neurovirol.* 2002 Jun;8(3):250–6.
- 104.** Akhyani N, Berti R, Brennan MB, Soldan SS, Eaton JM, McFarland HF, et al. Tissue distribution and variant characterization of human herpesvirus (HHV)-6: increased prevalence of HHV-6A in patients with multiple sclerosis. *J Infect Dis.* 2000 Nov;182(5):1321–5.
- 105.** Taus C, Pucci E, Cartechini E, Fié A, Giuliani G, Clementi M, et al. Absence of HHV-6 and HHV-7 in cerebrospinal fluid in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2000 Apr;101(4):224–8.
- 106.** Simpson S Jr, Taylor B, Dwyer DE, Taylor J, Blizzard L, Ponsonby A-L, et al. Anti-HHV-6 IgG titer significantly predicts subsequent relapse risk in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2012 Jun;18(6):799–806.
- 107.** Álvarez-Lafuente R, García-Montojo M, de las Heras V, Bartolomé M, Arroyo R. Clinical parameters and HHV-6 active replication in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J Clin Virol.* 2006 Dec;37 Suppl 1:S24–26.

- 108.** Álvarez-Lafuente R, de Las Heras V, Bartolomé M, García-Montojo M, Arroyo R. Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: a one-year follow-up study. *Brain Pathol.* 2006 Jan;16(1):20–7.
- 109.** Álvarez-Lafuente R, de las Heras V, Bartolomé M, Picazo JJ, Arroyo R. Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection. *Arch Neurol.* 2004 Oct;61(10):1523–7.
- 110.** Simpson S Jr, Taylor B, Burrows J, Burrows S, Dwyer DE, Taylor J, Ponsonby AL, Blizzard L, Dwyer T, Pittas F, van der Mei I. EBV & HHV6 reactivation is infrequent and not associated with MS clinical course. *Acta Neurol Scand.* 2014 Nov;130(5):328–37.
- 111.** Álvarez-Lafuente R, de Las Heras V, Bartolomé M, Picazo JJ, Arroyo R. Beta-interferon treatment reduces human herpesvirus-6 viral load in multiple sclerosis relapses but not in remission. *Eur Neurol.* 2004;52(2):87–91.
- 112.** García-Montojo M, de Las Heras V, Bartolomé M, Arroyo R, Álvarez-Lafuente R. Interferon beta treatment: bioavailability and antiviral activity in multiple sclerosis patients. *J Neurovirol.* 2007 Dec;13(6):504–12.
- 113.** García-Montojo M, de Las Heras V, Domínguez-Mozo M, Bartolomé M, García-Martínez MA, Arroyo R, et al. Human herpesvirus 6 and effectiveness of interferon β 1b in multiple sclerosis patients. *Eur J Neurol.* 2011 Aug;18(8):1027–35.
- 114.** Ortega-Madueño I, Garcia-Montojo M, Dominguez-Mozo MI, Garcia-Martinez A, Arias-Leal AM, Casanova I, et al. Anti-human herpesvirus 6A/B IgG correlates with relapses and progression in multiple sclerosis. *PLoS One.* 2014 Aug 11;9(8):e104836.
- 115.** García-Montojo M, Martínez A, de Las Heras V, Domínguez-Mozo MI, Cenit M del C, López-Cavanillas M, et al. Herpesvirus active replication in multiple sclerosis: a genetic control? *J Neurol Sci.* 2011 Dec 15;311(1-2):98–102.
- 116.** Domínguez-Mozo MI, García-Montojo M, de Las Heras V, García-Martínez A, Arias-Leal AM, Casanova I, et al. MHC2TA mRNA levels and human herpesvirus 6 in multiple sclerosis patients treated with interferon beta along two-year follow-up. *BMC Neurol.* 2012 Sep 25;12(1):107.

- 117.** Álvarez-Lafuente R, de las Heras V, García-Montojo M, Bartolomé M, Arroyo R. Human herpesvirus-6 and multiple sclerosis: relapsing-remitting versus secondary progressive. *Mult Scler.* 2007 Jun;13(5):578–83.
- 118.** Perron H, Geny C, Laurent A, Mouriquand C, Pellat J, Perret J, et al. Leptomeningeal cell line from multiple sclerosis with reverse transcriptase activity and viral particles. *Res Virol.* 1989 Dec;140(6):551–61.
- 119.** Perron H, Lalande B, Gratacap B, Laurent A, Genoulaz O, Geny C, et al. Isolation of retrovirus from patients with multiple sclerosis. *Lancet.* 1991 Apr 6;337(8745):862–3.
- 120.** Tai AK, O'Reilly EJ, Alroy KA, Simon KC, Munger KL, Huber BT, et al. Human endogenous retrovirus-K18 Env as a risk factor in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008 Nov;14(9):1175–80.
- 121.** Laska MJ, Brudek T, Nissen KK, Christensen T, Møller-Larsen A, Petersen T, et al. Expression of HERV-Fc1, a human endogenous retrovirus, is increased in patients with active multiple sclerosis. *J Virol.* 2012 Apr;86(7):3713–22.
- 122.** Mameli G, Astone V, Arru G, Marconi S, Lovato L, Serra C, et al. Brains and peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis (MS) patients hyperexpress MS-associated retrovirus/HERV-W endogenous retrovirus, but not Human herpesvirus 6. *J Gen Virol.* 2007 Jan;88(Pt 1):264–74.
- 123.** Perron H, Germi R, Bernard C, Garcia-Montojo M, Deluen C, Farinelli L, et al. Human endogenous retrovirus type W envelope expression in blood and brain cells provides new insights into multiple sclerosis disease. *Mult Scler.* 2012 Dec;18(12):1721–36.
- 124.** Antony JM, van Marle G, Opii W, Butterfield DA, Mallet F, Yong VW, et al. Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redox reactants causes oligodendrocyte death and demyelination. *Nat Neurosci.* 2004 Oct;7(10):1088–95.
- 125.** Perron H, Jouvin-Marche E, Michel M, Ounanian-Paraz A, Camelo S, Dumon A, et al. Multiple sclerosis retrovirus particles and recombinant envelope trigger an abnormal immune response in vitro, by inducing polyclonal Vbeta16 T-lymphocyte activation. *Virology.* 2001 Sep 1;287(2):321–32.

- 126.** Sotgiu S, Serra C, Mameli G, Pugliatti M, Rosati G, Arru G, et al. Multiple sclerosis-associated retrovirus and MS prognosis: an observational study. *Neurology*. 2002 Oct 8;59(7):1071–3.
- 127.** Sotgiu S, Arru G, Mameli G, Serra C, Pugliatti M, Rosati G, et al. Multiple sclerosis-associated retrovirus in early multiple sclerosis: a six-year follow-up of a Sardinian cohort. *Mult Scler*. 2006 Dec;12(6):698–703.
- 128.** Tai AK, Luka J, Ablashi D, Huber BT. HHV-6A infection induces expression of HERV-K18-encoded superantigen. *J Clin Virol*. 2009 Sep;46(1):47–8.
- 129.** Christensen T. Association of human endogenous retroviruses with multiple sclerosis and possible interactions with herpes viruses. *Rev Med Virol*. 2005 Jun;15(3):179–211.
- 130.** Mameli G, Poddighe L, Mei A, Uleri E, Sotgiu S, Serra C, et al. Expression and activation by epstein barr virus of human endogenous retroviruses-w in blood cells and astrocytes: inference for multiple sclerosis. *PLoS ONE*. 2012;7(9):e44991.
- 131.** Huynh JL, Casaccia P. Epigenetic mechanisms in multiple sclerosis: implications for pathogenesis and treatment. *Lancet Neurol* 2013; 12: 195-206.
- 132.** Adorini L. Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol*. 2002 Jun;2(7):1017–28.
- 133.** Correale J, Ysraelit MC, Gaitán MI. Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain*. 2009 May;132(Pt 5):1146–60.
- 134.** Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol*. 2007 Aug 1;179(3):1634–47.
- 135.** Pedersen LB, Nashold FE, Spach KM, Hayes CE. 1,25-dihydroxyvitamin D3 reverses experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting chemokine synthesis and monocyte trafficking. *J Neurosci Res*. 2007 Aug 15;85(11):2480–90.
- 136.** Mayne CG, Spanier JA, Relland LM, Williams CB, Hayes CE. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 acts directly on the T lymphocyte vitamin D receptor to inhibit experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. 2011 Mar;41(3):822–32.

- 137.** Mowry EM, Waubant E, McCulloch CE, Okuda DT, Evangelista AA, Lincoln RR, et al. Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imaging activity in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2012 Aug;72(2):234–40.
- 138.** Soilu-Hänninen M, Aivo J, Lindström B-M, Elovaara I, Sumelahti M-L, Färkkilä M, et al. A randomised, double blind, placebo controlled trial with vitamin D3 as an add on treatment to interferon β -1b in patients with mul-tiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2012 May;83(5):565–71.
- 139.** Darwish H, Haddad R, Osman S, Ghassan S, Yamout B, Khoury SJ. Effect of vitamin D replacement on cognition in multiple sclerosis patients. 31st ECTRIMS. Barcelona, Spain. 2015.
- 140.** James E, Dobson R, Kuhle J, Baker D, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The effect of vitamin D-related interventions on multiple sclerosis relapses: a metaanalysis. *Mult Scler.* 2013 Oct;19(12):1571-9.
- 141.** Løken-Amsrud KI, Holmøy T, Bakke SJ, Beiske AG, Bjerve KS, Bjørnara BT, et al. Vitamin D and disease activity in multiple sclerosis before and during interferon- β treatment. *Neurology.* 2012 Jul 17;79(3):267–73.
- 142.** Stein MS, Liu Y, Gray OM, Baker JE, Kolbe SC, Ditchfield MR, et al. A randomized trial of high-dose vitamin D2 in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology.* 2011 Oct 25;77(17):1611–8.
- 143.** Stewart N, Simpson S Jr, van der Mei I, Ponsonby A-L, Blizzard L, Dwyer T, et al. Interferon- β and serum 25-hydroxyvitamin D interact to modulate relapse risk in MS. *Neurology.* 2012 Jul 17;79(3):254–60.
- 144.** Lucas RM, Ponsonby A-L, Dear K, Valery PC, Pender MP, Taylor BV, et al. Sun exposure and vitamin D are independent risk factors for CNS demyelination. *Neurology.* 2011 Feb 8;76(6):540–8.
- 145.** Bäärnhielm M, Hedström AK, Kockum I, Sundqvist E, Gustafsson SA, Hillert J, et al. Sunlight is associated with decreased multiple sclerosis risk: no interaction with human leukocyte antigen-DRB1*15. *Eur J Neurol.* 2012 Jul;19(7):955–62.
- 146.** Hedström AK, Olsson T, Alfredsson L. Smoking is a major preventable risk factor for multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2016 Jul;22(8):1021-6.

- 147.** Farez MF, Fiol MP, Gaitán MI, Quintana FJ, Correale J. Sodium intake is associated with increased disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Jan;86(1):26-31.
- 148.** Bö L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mörk SJ. Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:723-732.
- 149.** Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000 Jun;47(6):707-17.
- 150.** Lassmann H1, Brück W, Lucchinetti CF. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol*. 2007 Apr;17(2):210-8.
- 151.** Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1998 Jan 29;338(5):278-85.
- 152.** Murray PD, McGavern DB, Sathornsumetee S, Rodriguez M. Spontaneous remyelination following extensive demyelination is associated with improved neurological function in a viral model of multiple sclerosis. *Brain*. 2001 Jul;124(Pt 7):1403-16.
- 153.** Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain*. 1989 Feb;112 (Pt 1):133–46.
- 154.** Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*. 1996 Apr;46(4):907–11.
- 155.** Vukusic S, Confavreux C. Natural history of multiple sclerosis: risk factors and prognostic indicators. *Curr Opin Neurol*. 2007 Jun;20(3):269–74.
- 156.** Koch M, Kingwell E, Rieckmann P, Tremlett H. (2009). The natural history of primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*. 2009 Dec 8;73(23):1996-2002.

- 157.** Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*. 2014 Jul 15;83(3):278-86.
- 158.** Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1993 Apr;43(4):655-61.
- 159.** Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol*. 1996 Mar;39(3):285-94.
- 160.** Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet*. 1998 Nov 7;352(9139):1498-504.
- 161.** Comi G, Filippi M, Wolinsky JS. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging-measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. *Ann Neurol*. 2001 Mar;49(3):290-7.
- 162.** Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1995 Jul;45(7):1268-76.
- 163.** Bornstein MB, Miller A, Slagle S, Weitzman M, Crystal H, Drexler E, et al. A pilot trial of Cop 1 in exacerbating-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1987 Aug 13;317(7):408-14.
- 164.** Johnson KP, Brooks BR, Ford CC, Goodman A, Guarnaccia J, Lisak RP, et al. Sustained clinical benefits of glatiramer acetate in relapsing multiple sclerosis patients observed for 6 years. Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Mult Scler*. 2000 Aug;6(4):255-66.

- 165.** Ford CC, Johnson KP, Lisak RP, Panitch HS, Shifronis G, Wolinsky JS. A prospective open-label study of glatiramer acetate: over a decade of continuous use in multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2006 Jun;12(3):309–20.
- 166.** Trojano M, Pellegrini F, Fuiani A, Paolicelli D, Zipoli V, Zimatore GB, et al. New natural history of interferon-beta-treated relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2007 Apr;61(4):300–6.
- 167.** Brown MG, Kirby S, Skedgel C, Fisk JD, Murray TJ, Bhan V, et al. How effective are disease-modifying drugs in delaying progression in relapsing-onset MS? *Neurology.* 2007 Oct 9;69(15):1498–507.
- 168.** Ford C, Goodman AD, Johnson K, Kachuck N, Lindsey JW, Lisak R, et al. Continuous long-term immunomodulatory therapy in relapsing multiple sclerosis: results from the 15-year analysis of the US prospective open-label study of glatiramer acetate. *Mult Scler.* 2010 Mar;16(3):342–50.
- 169.** Mikol DD, Barkhof F, Chang P, Coyle PK, Jeffery DR, Schwid SR, et al. Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the Rebif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial. *Lancet Neurol.* 2008 Oct;7(10):903–14.
- 170.** O'Connor P, Filippi M, Arnason B, Comi G, Cook S, Goodin D, et al. 250 microg or 500 microg interferon beta-1b versus 20 mg glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet Neurol.* 2009 Oct;8(10):889–97.
- 171.** Cadavid D, Wolansky LJ, Skurnick J, Lincoln J, Cheriyan J, Szczepanowski K, et al. Efficacy of treatment of MS with IFNbeta-1b or glatiramer acetate by monthly brain MRI in the BECOME study. *Neurology.* 2009 Jun 9;72(23):1976–83.
- 172.** Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownschidle CM, Murray TJ, et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. *N Engl J Med.* 2000 Sep 28;343(13):898–904.

- 173.** Comi G, Filippi M, Barkhof F, Durelli L, Edan G, Fernández O, et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet*. 2001 May 19;357(9268):1576–82.
- 174.** Kappos L, Polman CH, Freedman MS, Edan G, Hartung HP, Miller DH, et al. Treatment with interferon beta-1b delays conversion to clinically definite and McDonald MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology*. 2006 Oct 10;67(7):1242–9.
- 175.** Comi G, Martinelli V, Rodegher M, Moiola L, Bajenaru O, Carra A, et al. Effect of glatiramer acetate on conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndrome (PreCISe study): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009 Oct 31;374(9700):1503–11.
- 176.** Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. *Lancet*. 1998 Nov 7;352(9139):1491–7.
- 177.** Panitch H, Miller A, Paty D, Weinshenker B. Interferon beta-1b in secondary progressive MS: results from a 3-year controlled study. *Neurology*. 2004 Nov 23;63(10):1788–95.
- 178.** Kappos L, Weinshenker B, Pozzilli C, Thompson AJ, Dahlke F, Beckmann K, et al. Interferon beta-1b in secondary progressive MS: a combined analysis of the two trials. *Neurology*. 2004 Nov 23;63(10):1779–87.
- 179.** Secondary Progressive Efficacy Clinical Trial of Recombinant Interferon-Beta-1a in MS (SPECTRIMS) Study Group. Randomized controlled trial of interferon- beta-1a in secondary progressive MS: Clinical results. *Neurology*. 2001 Jun 12;56(11):1496–504.
- 180.** Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Kooijmans MF, et al. Benefit of interferon beta-1a on MSFC progression in secondary progressive MS. *Neurology*. 2002 Sep 10;59(5):679–87.
- 181.** Confavreux C, O'Connor P, Comi G, Freedman MS, Miller AE, Olsson TP, et al. Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014 Mar;13(3):247-56

- 182.** Miller AE, Wolinsky JS, Kappos L, Comi G, Freedman MS, Olsson TP et al; Oral teriflunomide for patients with a first clinical episode suggestive of multiple sclerosis (TOPIC): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2014 Oct;13(10):977-86.
- 183.** Vermersch P, Czlonkowska A, Grimaldi LM, Confavreux C, Comi G, Kappos L, et al. Teriflunomide versus subcutaneous interferon beta-1a in patients with relapsing multiple sclerosis: a randomised, controlled phase 3 trial. *Mult Scler.* 2014 May;20(6):705-16.
- 184.** Kappos L, Giovannoni G, Gold R, Phillips JT, Arnold DL, Hotermans C, et al; the DEFINE and CONFIRM study investigators. Time course of clinical and neuroradiological effects of delayed-release dimethyl fumarate in multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2015 Jan 2.
- 185.** Gold R, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K, et al. DEFINE Study Investigators. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2012 Sep 20;367(12):1098-107.
- 186.** Bar-Or A, Gold R, Kappos L, Arnold DL, Giovannoni G, Selmaj K, et al. Clinical efficacy of BG-12 (dimethyl fumarate) in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: subgroup analyses of the DEFINE study. *J Neurol.* 2013 Sep;260(9):2297-305.
- 187.** Hu X, Cui Y, White J, Zhu Y, Deykin A, Nestorov I, Hung S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of peginterferon beta-1a in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis in the randomized ADVANCE study. *Br J Clin Pharmacol.* 2015 Mar;79(3):514-22.
- 188.** Kieseier BC, Arnold DL, Balcer LJ, Boyko AA, Pelletier J, Calabresi PA, et al. Peginterferon beta-1a in multiple sclerosis: 2-year results from ADVANCE. *Mult Scler.* 2015 Jul;21(8):1025-35.
- 189.** Hartung H-P, Gonsette R, König N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, et al. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet.* 2002 Dec 21;360(9350):2018–25.
- 190.** Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2006 Mar 2;354(9):899–910.

- 191.** Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2006 Mar 2;354(9):911–23.
- 192.** Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010 Feb 4;362(5):387–401.
- 193.** Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung H-P, Khatri BO, Montalban X, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010 Feb 4;362(5):402–15.
- 194.** Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, et al; CARE-MS I investigators. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2012 Nov 24;380(9856):1819-28.
- 195.** Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, et al; CARE-MS II investigators. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2012 Nov 24;380(9856):1829-39.
- 196.** Wynn D, Kaufman M, Montalban X, Vollmer T, Simon J, Elkins J, et al. Daclizumab in active relapsing multiple sclerosis (CHOICE study): a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled, add-on trial with interferon beta. *Lancet Neurol.* 2010 Apr;9(4):381–90.
- 197.** Kappos L, Wiendl H, Selmaj K, Arnold DL, Havrdova E, Boyko A, Kaufman M, Rose J, Greenberg S, Sweetser M, Riestler K, O'Neill G, Elkins J. Daclizumab HYP versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 2015 Oct 8;373(15):1418-28.
- 198.** Marriott JJ, Miyasaki JM, Gronseth G, O'Connor PW. Evidence Report: The efficacy and safety of mitoxantrone (Novantrone) in the treatment of multiple sclerosis: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2010 May 4;74(18):1463–70.

- 199.** Kappos L, Bates D, Edan G, Eraksoy M, Garcia-Merino A, Grigoriadis N, et al. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring. *Lancet Neurol.* 2011 Aug;10(8):745–58.
- 200.** Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, Subramanyam M, Goelz S, Natarajan A, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med.* 2012 May 17;366(20):1870–80.
- 201.** Villar LM, Costa-Frossard L, Masterman T, Fernandez O, Montalban X, Casanova B, et al. Lipid-specific IgM bands in csf associated with a reduced risk of developing pml during treatment with natalizumab. *Ann Neurol.* 2015 Mar;77(3):447-57.
- 202.** Jain N, Bhatti MT. Fingolimod associated macular edema: incidence, detection, and management. *Neurology.* 2012 Feb 28;78(9):672-80.
- 203.** Willis M, Robertson NP. Drug safety evaluation of alemtuzumab for multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Saf.* 2014 Aug;13(8):1115-24.
- 204.** Havrdova E, Horakova D, Kovarova I. Alemtuzumab in the treatment of multiple sclerosis: key clinical trial results and considerations for use. *Ther Adv Neurol Disord.* 2015 Jan;8(1):31-45.
- 205.** Sorensen PS, Lisby S, Grove R, Derosier F, Shackelford S, Havrdova E, et al. Safety and efficacy of ofatumumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2 study. *Neurology.* 2014 Feb 18;82(7):573-81.
- 206.** Leist TP, Comi G, Cree BA, Coyle PK, Freedman MS, Hartung HP, et al. Effect of oral cladribine on time to conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with a first demyelinating event (ORACLE MS): a phase 3 randomised trial. *Lancet Neurol.* 2014 Mar;13(3):257-67.
- 207.** Cutter GR, Knappertz V, Sasson N, Ladkani D. Laquinimod efficacy in relapsing-remitting multiple sclerosis: how to understand why and if studies disagree. *BMC Neurol.* 2016 Sep 17;16:176.
- 208.** Montalban X, Hauser SL, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 2017 Jan 19;376(3):209-220.

- 209.** Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, Giovannoni G, Hartung HP, Hemmer B, et al. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 2017 Jan 19;376(3):221-234.
- 210.** Kappos L, Li DK, Stüve O, Hartung HP, Freedman MS, Hemmer B, et al. Safety and Efficacy of Siponimod (BAF312) in Patients With Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Dose-Blinded, Randomized Extension of the Phase 2 BOLD Study. *JAMA Neurol.* 2016 Sep 1;73(9):1089-98.
- 211.** Suzuki S, Li XK, Enosawa S, Shinomiya T. A new immunosuppressant: FTY720, induces bcl-2-associated apoptotic cell death in human lymphocytes. *Immunology.* 1996; 89:518-23.
- 212.** Payne SG, Oskeritzian CA, Griffiths R, Subramanian P, Barbour SE, Chalfant CE, et al. The immunosuppressant drug FTY720 inhibits cytosolic phospholipase A2 independently of sphingosine-1-phosphate receptors. *Blood.* 2007; 109:1077-85.
- 213.** Bandhuvula P, Tam YY, Oskouian B, Saba JD. The immune modulator FTY720 inhibits sphingosine-1-phosphate lyase activity. *J Biol Chem.* 2005; 280:33697-700.
- 214.** Albert R, Hinterding K, Brinkmann V, Guerini D, Müller-Hartwig C, Knecht H, et al. Novel immunomodulator FTY720 is phosphorylated in rats and humans to form a single stereoisomer. Identification: chemical proof, and biological characterization of the biologically active species and its enantiomer. *J Med Chem.* 2005; 48:5373-7.
- 215.** García-Merino JA, Sánchez AJ. Mecanismos básicos de acción del fingolimod en relación con la esclerosis múltiple. *Rev Neurol* 2012; 55: 31-7.
- 216.** Brinkmann V, Davis MD, Heise CE, Albert R, Cottens S, Hof R, et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *J Biol Chem.* 2002; 277:21453-7.
- 217.** Brinkmann V. Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology. *Pharmacol Ther.* 2007; 115:84-105.
- 218.** Mutoh T, Chun J. Lysophospholipid activation of G protein-coupled receptors. *Subcell Biochem.* 2008; 49:269-97.

- 219.** Allende ML, Dreier JL, Mandala S, Proia RL. Expression of the sphingosine 1-phosphate receptor: S1P1, on T-cells controls thymic emigration. *J Biol Chem.* 2004; 279:15396-401.
- 220.** Pham TH, Okada T, Matloubian M, Lo CG, Cyster JG. S1P1 receptor signaling overrides retention mediated by G alpha i-coupled receptors to promote T cell egress. *Immunity.* 2008; 28:122-33.
- 221.** Pham TH, Baluk P, Xu Y, Grigorova I, Bankovich AJ, Pappu R, et al. Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J Exp Med.* 2010; 207:17-27.
- 222.** Metzler B, Gfeller P, Wiczorek G, Li J, Nusslein-Hildesheim B, Katopodis A, et al. Modulation of T cell homeostasis and alloreactivity under continuous FTY720 exposure. *Int Immunol.* 2008; 20:633-44.
- 223.** Wehrli N, Legler DF, Finke D, Toellner KM, Loetscher P, Baggiolini M, et al. Changing responsiveness to chemokines allows medullary plasmablasts to leave lymph nodes. *Eur J Immunol.* 2001; 31:609-16.
- 224.** Thangada S, Khanna KM, Blaho VA, Oo ML, Im DS, Guo C, et al. Cell-surface residence of sphingosine 1-phosphate receptor 1 on lymphocytes determines lymphocyte egress kinetics. *J Exp Med.* 2010; 207:1475-83.
- 225.** Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22:745-63.
- 226.** Lanzavecchia A, Sallusto F. Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors, and memory cells. *Science.* 2000; 290:92-7.
- 227.** Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature.* 1999; 401:708-12.
- 228.** Balatoni B, Storch MK, Swoboda EM, Schönborn V, Koziel A, Lambrou GN, et al. FTY720 sustains and restores neuronal function in the DA rat model of MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res Bull.* 2007; 74:307-16.

- 229.** Webb M, Tham CS, Lin FF, Lariosa-Willingham K, Yu N, Hale J, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor agonists attenuate relapsing-remitting experimental autoimmune encephalitis in SJL mice. *J Neuroimmunol.* 2004; 153:108-21.
- 230.** Kataoka H, Sugahara K, Shimano K, Teshima K, Koyama M, Fukunari A, et al. FTY720: sphingosine 1-phosphate receptor modulator, ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibition of T cell infiltration. *Cell Mol Immunol.* 2005; 2:439-48.
- 231.** Colombo E, Di Dario M, Capitolo E, Chaabane L, Newcombe J, Farina C et al. Fingolimod may support neuroprotection via blockade of astrocyte nitric oxide. *Ann Neurol.* 2014 Sep;76(3):325-37.
- 232.** Río J, Castelló J, Rovira A, Tintoré M, Sastre-Garriga J, Horga A, et al. Measures in the first year of therapy predict the response to interferon beta in MS. *Mult Scler.* 2009 Jul;15(7):848–53.
- 233.** Río J, Nos C, Tintoré M, Téllez N, Galán I, Pelayo R, et al. Defining the response to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Ann Neurol.* 2006 Feb;59(2):344–52.
- 234.** Ahn J, Feng X, Patel N, Dhawan N, Reder AT. Abnormal levels of interferon-gamma receptors in active multiple sclerosis are normalized by IFN-beta therapy: implications for control of apoptosis. *Front Biosci.* 2004 May 1;9:1547–55.
- 235.** Cucci A, Barbero P, Clerico M, Ferrero B, Versino E, Contessa G, et al. Pro-inflammatory cytokine and chemokine mRNA blood level in multiple sclerosis is related to treatment response and interferon-beta dose. *J Neuroimmunol.* 2010 Sep 14;226(1-2):150–7.
- 236.** Schreiner B, Mitsdoerffer M, Kieseier BC, Chen L, Hartung H-P, Weller M, et al. Interferon-beta enhances monocyte and dendritic cell expression of B7-H1 (PD-L1), a strong inhibitor of autologous T-cell activation: relevance for the immune modulatory effect in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2004 Oct;155(1-2):172–82.
- 237.** Wandinger K-P, Lünemann JD, Wengert O, Bellmann-Strobl J, Aktas O, Weber A, et al. TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential response marker for interferon-beta treatment in multiple sclerosis. *Lancet.* 2003 Jun 14;361(9374):2036–43.

- 238.** Kurne A, Guc D, Canpinar H, Aydin OF, Sayat G, Yörübulut M, et al. Analysis of BAFF and TRAIL expression levels in multiple sclerosis patients: evaluation of expression under immunomodulatory therapy. *Acta Neurol Scand.* 2011 Jan;123(1):8–12.
- 239.** López-Gómez C, Pino-Ángeles A, Órpez-Zafra T, Pinto-Medel MJ, Oliver-Martos B, Ortega-Pinazo J, et al. Candidate gene study of TRAIL and TRAIL receptors: association with response to interferon beta therapy in multiple sclerosis patients. *PLoS ONE.* 2013;8(4):e62540.
- 240.** Graber J, Zhan M, Ford D, Kursch F, Francis G, Bever C, et al. Interferon-beta-1a induces increases in vascular cell adhesion molecule: implications for its mode of action in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2005 Apr;161(1-2):169–76.
- 241.** Soilu-Hänninen M, Laaksonen M, Hänninen A, Erälinna J-P, Panelius M. Down-regulation of VLA-4 on T cells as a marker of long term treatment response to interferon beta-1a in MS. *J Neuroimmunol.* 2005 Oct;167(1-2):175–82.
- 242.** Fainardi E, Rizzo R, Melchiorri L, Castellazzi M, Govoni V, Caniatti L, et al. Beneficial effect of interferon-beta 1b treatment in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is associated with an increase in serum levels of soluble HLA-I molecules during the first 3 months of therapy. *J Neuroimmunol.* 2004 Mar;148(1-2):206–11.
- 243.** Mitsdoerffer M, Schreiner B, Kieseier BC, Neuhaus O, Dichgans J, Hartung H-P, et al. Monocyte-derived HLA-G acts as a strong inhibitor of autologous CD4 T cell activation and is upregulated by interferon-beta in vitro and in vivo: rationale for the therapy of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2005 Feb;159(1-2):155–64.
- 244.** Minagar A, Adamashvili I, Kelley RE, Gonzalez-Toledo E, McLarty J, Smith SJ. Saliva soluble HLA as a potential marker of response to interferon-beta 1a in multiple sclerosis: a preliminary study. *J Neuroinflammation.* 2007;4:16.
- 245.** Wiesemann E, Deb M, Trebst C, Hemmer B, Stangel M, Windhagen A. Effects of interferon-beta on co-signaling molecules: upregulation of CD40, CD86 and PD-L2 on monocytes in relation to clinical response to interferon-beta treatment in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008 Mar;14(2):166–76.

- 246.** Marckmann S, Wieseemann E, Hilse R, Trebst C, Stangel M, Windhagen A. Interferon-beta up-regulates the expression of co-stimulatory molecules CD80, CD86 and CD40 on monocytes: significance for treatment of multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol.* 2004 Dec;138(3):499–506.
- 247.** Malhotra S, Río J, Urcelay E, Nurtdinov R, Bustamante MF, Comabella M, et al. NLRP3 inflammasome is associated with the response to IFN- β in patients with multiple sclerosis. *Brain.* 2015 Mar;138(Pt 3):644-52.
- 248.** Chadha K, Weinstock-Guttman B, Zivadinov R, Bhasi K, Muhitch J, Feichter J, et al. Interferon inhibitory activity in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2006 Nov;63(11):1579–84.
- 249.** Ozenci V, Kouwenhoven M, Huang YM, Kivisäkk P, Link H. Multiple sclerosis is associated with an imbalance between tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha)- and IL-10-secreting blood cells that is corrected by interferon-beta (IFN-beta) treatment. *Clin Exp Immunol.* 2000 Apr;120(1):147–53.
- 250.** Carrieri PB, Ladogana P, Di Spigna G, de Leva MF, Petracca M, Montella S, et al. Interleukin-10 and interleukin-12 modulation in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis on therapy with interferon-beta 1a: differences in responders and non responders. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2008;30(4):1–9.
- 251.** Wieseemann E, Deb M, Hemmer B, Radeke HH, Windhagen A. Early identification of interferon-beta responders by ex vivo testing in patients with multiple sclerosis. *Clin Immunol.* 2008 Sep;128(3):306–13.
- 252.** Kappos L, Clanet M, Sandberg-Wollheim M, Radue EW, Hartung HP, Hohlfeld R, et al. Neutralizing antibodies and efficacy of interferon beta-1a: a 4-year controlled study. *Neurology.* 2005 Jul 12;65(1):40–7.
- 253.** Pachner AR, Warth JD, Pace A, Goelz S, INSIGHT investigators. Effect of neutralizing antibodies on biomarker responses to interferon beta: the INSIGHT study. *Neurology.* 2009 Nov 3;73(18):1493–500.
- 254.** Axtell RC, de Jong BA, Boniface K, van der Voort LF, Bhat R, De Sarno P, et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-beta in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med.* 2010 Apr;16(4):406–12.

- 255.** Dhib-Jalbut S, Sumandeeep S, Valenzuela R, Ito K, Patel P, Rametta M. Immune response during interferon beta-1b treatment in patients with multiple sclerosis who experienced relapses and those who were relapse-free in the START study. *J Neuroimmunol.* 2013 Jan 15;254(1-2):131–40.
- 256.** Bosca I, Villar LM, Coret F, Magraner MJ, Simó-Castelló M, Alvarez-Cermeño JC, et al. Response to interferon in multiple sclerosis is related to lipid-specific oligoclonal IgM bands. *Mult Scler.* 2010 Jul;16(7):810–5.
- 257.** Vandebroek K, Comabella M. Single-nucleotide polymorphisms in response to interferon-beta therapy in multiple sclerosis. *J Interferon Cytokine Res.* 2010 Oct;30(10):727–32.
- 258.** Vandebroek K, Urcelay E, Comabella M. IFN-beta pharmacogenomics in multiple sclerosis. *Pharmacogenomics.* 2010 Aug;11(8):1137–48.
- 259.** Martínez A, de las Heras V, Mas Fontao A, Bartolomé M, de la Concha EG, Urcelay E, et al. An IFNG polymorphism is associated with interferon-beta response in Spanish MS patients. *J Neuroimmunol.* 2006 Apr;173(1-2):196–9.
- 260.** Byun E, Caillier SJ, Montalban X, Villoslada P, Fernández O, Brassat D, et al. Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2008 Mar;65(3):337–44.
- 261.** O’Doherty C, Favorov A, Heggarty S, Graham C, Favorova O, Ochs M, et al. Genetic polymorphisms, their allele combinations and IFN-beta treatment response in Irish multiple sclerosis patients. *Pharmacogenomics.* 2009 Jul;10(7):1177–86.
- 262.** Comabella M, Craig DW, Morcillo-Suárez C, Río J, Navarro A, Fernández M, et al. Genome-wide scan of 500,000 single-nucleotide polymorphisms among responders and nonresponders to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2009 Aug;66(8):972–8.
- 263.** Cénit MDC, Blanco-Kelly F, de las Heras V, Bartolomé M, de la Concha EG, Urcelay E, et al. Glypican 5 is an interferon-beta response gene: a replication study. *Mult Scler.* 2009 Aug;15(8):913–7.

- 264.** Vandebroek K, Alloza I, Swaminathan B, Antigüedad A, Otaegui D, Olascoaga J, et al. Validation of IRF5 as multiple sclerosis risk gene: putative role in interferon beta therapy and human herpes virus-6 infection. *Genes Immun.* 2011 Jan;12(1):40–5.
- 265.** Clarelli F, Liberatore G, Sorosina M, Osiceanu AM, Esposito F, Mascia E, et al. Pharmacogenetic study of long-term response to interferon- β treatment in multiple sclerosis. *Pharmacogenomics J.* 2017 Jan;17(1):84-91.
- 266.** Mahurkar S, Moldovan M, Suppiah V, Sorosina M, Clarelli F, Liberatore G, et al. Response to interferon-beta treatment in multiple sclerosis patients: a genome-wide association study. *Pharmacogenomics J.* 2017 Jul;17(4):312-318.
- 267.** Mazdeh M, Taheri M, Sayad A, Bahram S, Omrani MD, Movafagh A, et al. HLA genes as modifiers of response to IFN- β -1a therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Pharmacogenomics.* 2016 Apr;17(5):489-98.
- 268.** Villoslada P, Barcellos LF, Rio J, Begovich AB, Tintore M, Sastre-Garriga J, et al. The HLA locus and multiple sclerosis in Spain. Role in disease susceptibility, clinical course and response to interferon-beta. *J Neuroimmunol.* 2002 Sep;130(1-2):194–201.
- 269.** Fernández O, Fernández V, Mayorga C, Guerrero M, León A, Tamayo JA, et al. HLA class II and response to interferon-beta in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2005 Dec;112(6):391–4.
- 270.** Comabella M, Fernández-Arquero M, Río J, Guinea A, Fernández M, Cenit MC, et al. HLA class I and II alleles and response to treatment with interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2009 May 29;210(1-2):116–9.
- 271.** Wiesemann E, Klatt J, Wenzel C, Heidenreich F, Windhagen A. Correlation of serum IL-13 and IL-5 levels with clinical response to Glatiramer acetate in patients with multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol.* 2003 Sep;133(3):454–60.
- 272.** Mindur JE, Valenzuela RM, Yadav SK, Boppana S, Dhib-Jalbut S, Ito K. IL-27: a potential biomarker for responders to glatiramer acetate therapy. *J Neuroimmunol.* 2017 Mar 15;304:21-28.
- 273.** Sellebjerg F, Hedegaard CJ, Krakauer M, Hesse D, Lund H, Nielsen CH, et al. Glatiramer acetate antibodies, gene expression and disease activity in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2012 Mar;18(3):305–13.

- 274.** Blanco Y, Moral EA, Costa M, Gomez-Choco M, Torres- Peraza JF, Alonso-Magdalena L, et al. Effect of glatiramer acetate (Copaxone) on the immunophenotypic and cytokine profile and BDNF production in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Neurosci Lett* 2006; 406: 270-5.
- 275.** Gross R, Healy BC, Cepok S, Chitnis T, Khoury SJ, Hemmer B, et al. Population structure and HLA DRB1 1501 in the response of subjects with multiple sclerosis to first-line treatments. *J Neuroimmunol.* 2011 Apr;233(1-2):168–74.
- 276.** Dhib-Jalbut S, Valenzuela RM, Ito K, Kaufman M, Ann Picone M, Buyske S. HLA DR and DQ alleles and haplotypes associated with clinical response to glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2013 Oct;2(4):340-8.
- 277.** Rovituso DM, Duffy CE, Schroeter M, Kaiser CC, Kleinschnitz C, Bayas A, et al. The brain antigen-specific B cell response correlates with glatiramer acetate responsiveness in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Sci Rep.* 2015 Sep 21;5:14265.
- 278.** Vennegoor A, Rispens T, Strijbis EM, Seewann A, Uitdehaag BM, Balk LJ, et al. Clinical relevance of serum natalizumab concentration and anti-natalizumab antibodies in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2013 Apr;19(5):593-600.
- 279.** Laroni A, Gandoglia I, Solaro C, Ribizzi G, Tassinari T, Sormani MP, et al. Clinical baseline factors predict response to natalizumab: their usefulness in patient selection. *BMC Neurol.* 2014 May 12;14:103.
- 280.** Sargento-Freitas JI, Batista S, Macario C, Matias F, Sousa L. Clinical predictors of an optimal response to natalizumab in multiple sclerosis. *J Clin Neurosci.* 2013 May;20(5):659-62.
- 281.** Prosperini L, Gianni C, Barletta V, Mancinelli C, Fubelli F, Borriello G, Pozzilli C. Predictors of freedom from disease activity in natalizumab treated-patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2012 Dec 15;323(1-2):104-12.
- 282.** Teniente-Serra A, Hervás JV, Quirant-Sánchez B, Mansilla MJ, Grau-López L, Ramo-Tello C, Martínez-Cáceres EM. Baseline Differences in Minor Lymphocyte Subpopulations may Predict Response to Fingolimod in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients. *CNS Neurosci Ther.* 2016 Jul;22(7):584-92.

- 283.** Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol.* 2011 Feb;69(2):292–302.
- 284.** Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet.* 2000 May;25(1):25–9.
- 285.** Bloch DB, de la Monte SM, Guigaouri P, Filippov A, Bloch KD. Identification and characterization of a leukocyte-specific component of the nuclear body. *J Biol Chem.* 1996 Nov 15;271(46):29198–204.
- 286.** Ryan EJ, Marshall AJ, Magaletti D, Floyd H, Draves KE, Olson NE, et al. Dendritic cell-associated lectin-1: a novel dendritic cell-associated, C-type lectin-like molecule enhances T cell secretion of IL-4. *J Immunol.* 2002 Nov 15;169(10):5638–48.
- 287.** Pearce EL, Mullen AC, Martins GA, Krawczyk CM, Hutchins AS, Zediak VP, et al. Control of effector CD8⁺ T cell function by the transcription factor Eomesodermin. *Science.* 2003 Nov 7;302(5647):1041–3.
- 288.** Intlekofer AM, Banerjee A, Takemoto N, Gordon SM, Dejong CS, Shin H, et al. Anomalous type 17 response to viral infection by CD8⁺ T cells lacking T-bet and eomesodermin. *Science.* 2008 Jul 18;321(5887):408–11.
- 289.** Lefebvre C, Rajbhandari P, Alvarez MJ, Bandaru P, Lim WK, Sato M, et al. A human B-cell interactome identifies MYB and FOXM1 as master regulators of proliferation in germinal centers. *Mol Syst Biol.* 2010 Jun 8;6:377.
- 290.** Nakata Y, Brignier AC, Jin S, Shen Y, Rudnick SI, Sugita M, et al. c-Myb, Menin, GATA-3, and MLL form a dynamic transcription complex that plays a pivotal role in human T helper type 2 cell development. *Blood.* 2010 Aug 26;116(8):1280–90.
- 291.** Eldridge AG, Loktev AV, Hansen DV, Verschuren EW, Reimann JDR, Jackson PK. The *evi5* oncogene regulates cyclin accumulation by stabilizing the anaphase-promoting complex inhibitor *eml1*. *Cell.* 2006 Jan 27;124(2):367–80.
- 292.** Muto A, Tashiro S, Nakajima O, Hoshino H, Takahashi S, Sakoda E, et al. The transcriptional programme of antibody class switching involves the repressor Bach2. *Nature.* 2004 Jun 3;429(6991):566–71.

- 293.** Watanabe-Matsui M, Muto A, Matsui T, Itoh-Nakadai A, Nakajima O, Murayama K, et al. Heme regulates B-cell differentiation, antibody class switch, and heme oxygenase-1 expression in B cells as a ligand of Bach2. *Blood*. 2011 May 19;117(20):5438–48.
- 294.** Roychoudhuri R, Hirahara K, Mousavi K, Clever D, Klebanoff CA, Bonelli M, et al. BACH2 represses effector programs to stabilize T(reg)-mediated immune homeostasis. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):506–10.
- 295.** Reinthaler E, Machetanz G, Hotzy C, Reindl M, Fazekas F, Kristoferitsch W, et al. No evidence for a role of rare CYP27B1 variants in Austrian multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2014 Mar;20(3):391-2.
- 296.** Sharma M, Li X, Wang Y, Zarnegar M, Huang C-Y, Palvimo JJ, et al. hZimp10 is an androgen receptor co-activator and forms a complex with SUMO-1 at replication foci. *EMBO J*. 2003 Nov 17;22(22):6101–14.
- 297.** Weisz A, Marx P, Sharf R, Appella E, Driggers PH, Ozato K, et al. Human interferon consensus sequence binding protein is a negative regulator of enhancer elements common to interferon-inducible genes. *J Biol Chem*. 1992 Dec 15;267(35):25589–96.
- 298.** Tamura T, Ozato K. ICSBP/IRF-8: its regulatory roles in the development of myeloid cells. *J Interferon Cytokine Res*. 2002 Jan;22(1):145–52.
- 299.** Wyss DF, Choi JS, Li J, Knoppers MH, Willis KJ, Arulanandam AR, et al. Conformation and function of the N-linked glycan in the adhesion domain of human CD2. *Science*. 1995 Sep 1;269(5228):1273–8.
- 300.** Papadopoulou LC, Sue CM, Davidson MM, Tanji K, Nishino I, Sadlock JE, et al. Fatal infantile cardioencephalomyopathy with COX deficiency and mutations in SCO2, a COX assembly gene. *Nat Genet*. 1999 Nov;23(3):333–7.
- 301.** Goodwin RG, Lupton S, Schmierer A, Hjerrild KJ, Jerzy R, Clevenger W, et al. Human interleukin 7: molecular cloning and growth factor activity on human and murine B-lineage cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989 Jan;86(1):302–6.
- 302.** Xu W, Presnell SR, Parrish-Novak J, Kindsvogel W, Jaspers S, Chen Z, et al. A soluble class II cytokine receptor, IL-22RA2, is a naturally occurring IL-22 antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001 Aug 14;98(17):9511–6.

- 303.** Dumoutier L, Lejeune D, Colau D, Renauld JC. Cloning and characterization of IL-22 binding protein, a natural antagonist of IL-10-related T cell-derived inducible factor/IL-22. *J Immunol.* 2001 Jun 15;166(12):7090–5.
- 304.** Shimojima M, Takada A, Ebihara H, Neumann G, Fujioka K, Irimura T, et al. Tyro3 family-mediated cell entry of Ebola and Marburg viruses. *J Virol.* 2006 Oct;80(20):10109–16.
- 305.** Mao M, Biery MC, Kobayashi SV, Ward T, Schimmack G, Burchard J, et al. T lymphocyte activation gene identification by coregulated expression on DNA microarrays. *Genomics.* 2004 Jun;83(6):989–99.
- 306.** Graham M, Adams JM. Chromosome 8 breakpoint far 3' of the c-myc oncogene in a Burkitt's lymphoma 2;8 variant translocation is equivalent to the murine pvt-1 locus. *EMBO J.* 1986 Nov;5(11):2845–51.
- 307.** Carramusa L, Contino F, Ferro A, Minafra L, Perconti G, Giallongo A, et al. The PVT-1 oncogene is a Myc protein target that is overexpressed in transformed cells. *J Cell Physiol.* 2007 Nov;213(2):511–8.
- 308.** Luzi P, Rafi MA, Wenger DA. Structure and organization of the human galactocerebrosidase (GALC) gene. *Genomics.* 1995 Mar 20;26(2):407–9.
- 309.** Gubler U, Chua AO, Schoenhaut DS, Dwyer CM, McComas W, Motyka R, et al. Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991 May 15;88(10):4143–7.
- 310.** Chen KS, Prah J, DeLuca HF. Isolation and expression of human 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993 May 15;90(10):4543–7.
- 311.** Fischer AM, Katayama CD, Pagès G, Pouyssegur J, Hedrick SM. The role of erk1 and erk2 in multiple stages of T cell development. *Immunity.* 2005 Oct;23(4):431–43.
- 312.** Peach RJ, Bajorath J, Naemura J, Leytze G, Greene J, Aruffo A, et al. Both extracellular immunoglobulin-like domains of CD80 contain residues critical for binding T cell surface receptors CTLA-4 and CD28. *J Biol Chem.* 1995 Sep 8;270(36):21181–7.

- 313.** Betz BC, Jordan-Williams KL, Wang C, Kang SG, Liao J, Logan MR, et al. Batf coordinates multiple aspects of B and T cell function required for normal antibody responses. *J Exp Med*. 2010 May 10;207(5):933–42.
- 314.** Schraml BU, Hildner K, Ise W, Lee W-L, Smith WA-E, Solomon B, et al. The AP-1 transcription factor Batf controls T(H)17 differentiation. *Nature*. 2009 Jul 16;460(7253):405–9.
- 315.** Tussiwand R, Lee W-L, Murphy TL, Mashayekhi M, Wumesh KC, Albring JC, et al. Compensatory dendritic cell development mediated by BATF-IRF interactions. *Nature*. 2012 Oct 25;490(7421):502–7.
- 316.** Kuroda S, Yamazaki M, Abe M, Sakimura K, Takayanagi H, Iwai Y. Basic leucine zipper transcription factor, ATF-like (BATF) regulates epigenetically and energetically effector CD8 T-cell differentiation via Sirt1 expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 Sep 6;108(36):14885–9.
- 317.** Ise W, Kohyama M, Schraml BU, Zhang T, Schwer B, Basu U, et al. The transcription factor BATF controls the global regulators of class-switch recombination in both B cells and T cells. *Nat Immunol*. 2011 Jun;12(6):536–43.
- 318.** Virtaneva KI, Angelisová P, Baumruker T, Horejsí V, Nevanlinna H, Schröder J. The genes for CD37, CD53, and R2, all members of a novel gene family, are located on different chromosomes. *Immunogenetics*. 1993;37(6):461–5.
- 319.** Felsher DW, Zetterberg A, Zhu J, Tlsty T, Bishop JM. Overexpression of MYC causes p53-dependent G2 arrest of normal fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 Sep 12;97(19):10544–8.
- 320.** Regan JW. EP2 and EP4 prostanoid receptor signaling. *Life Sci*. 2003 Dec 5;74(2-3):143–53.
- 321.** Sugimoto Y, Narumiya S. Prostaglandin E receptors. *J Biol Chem*. 2007 Apr 20;282(16):11613–7.
- 322.** Ouimet T, Facchinetti P, Rose C, Bonhomme MC, Gros C, Schwartz JC, et al. Neprilysin II: A putative novel metalloprotease and its isoforms in CNS and testis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 May 19;271(3):565–70.

- 323.** Hodson DJ, Janas ML, Galloway A, Bell SE, Andrews S, Li CM, et al. Deletion of the RNA-binding proteins ZFP36L1 and ZFP36L2 leads to perturbed thymic development and T lymphoblastic leukemia. *Nat Immunol.* 2010 Aug;11(8):717–24.
- 324.** Nasir A, Norton JD, Baou M, Zekavati A, Bijlmakers M-J, Thompson S, et al. ZFP36L1 negatively regulates plasmacytoid differentiation of BCL1 cells by targeting BLIMP1 mRNA. *PLoS ONE.* 2012;7(12):e52187.
- 325.** Hoppenbrouwers IA, Aulchenko YS, Janssens AC, Ramagopalan SV, Broer L, Kayser M, et al. Replication of CD58 and CLEC16A as genome-wide significant risk genes for multiple sclerosis. *J Hum Genet.* 2009 Nov;54(11):676–80.
- 326.** Ruland J, Duncan GS, Wakeham A, Mak TW. Differential requirement for Malt1 in T and B cell antigen receptor signaling. *Immunity.* 2003 Nov;19(5):749–58.
- 327.** International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC). Comprehensive follow-up of the first genome-wide association study of multiple sclerosis identifies KIF21B and TMEM39A as susceptibility loci. *Hum Mol Genet.* 2010 Mar 1;19(5):953–62.
- 328.** Tyers M, Haslam RJ, Rachubinski RA, Harley CB. Molecular analysis of pleckstrin: the major protein kinase C substrate of platelets. *J Cell Bio-chem.* 1989 Jun;40(2):133–45.
- 329.** Roll RL, Bauman EM, Bennett JS, Abrams CS. Phosphorylated pleckstrin induces cell spreading via an integrin-dependent pathway. *J Cell Biol.* 2000 Sep 18;150(6):1461–6.
- 330.** Ma AD, Abrams CS. Pleckstrin induces cytoskeletal reorganization via a Rac-dependent pathway. *J Biol Chem.* 1999 Oct 1;274(40):28730–5.
- 331.** Abrams CS, Zhao W, Belmonte E, Brass LF. Protein kinase C regulates pleckstrin by phosphorylation of sites adjacent to the N-terminal pleckstrin homology domain. *J Biol Chem.* 1995 Oct 6;270(40):23317–21.
- 332.** Bogue CW, Zhang P-X, McGrath J, Jacobs HC, Fuleihan RL. Impaired B cell development and function in mice with a targeted disruption of the homeobox gene Hex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Jan 21;100(2):556–61.

- 333.** Lesourne R, Uehara S, Lee J, Song K-D, Li L, Pinkhasov J, et al. Themis, a T cell-specific protein important for late thymocyte development. *Nat Immunol.* 2009 Aug;10(8):840–7.
- 334.** Firmbach-Kraft I, Byers M, Shows T, Dalla-Favera R, Krolewski JJ. *tyk2*, prototype of a novel class of non-receptor tyrosine kinase genes. *Oncogene.* 1990 Sep;5(9):1329–36.
- 335.** Chen C, Gault A, Shen L, Nabavi N. Molecular cloning and expression of early T cell costimulatory molecule-1 and its characterization as B7-2 molecule. *J Immunol.* 1994 May 15;152(10):4929–36.
- 336.** Slavik JM, Hutchcroft JE, Bierer BE. CD80 and CD86 are not equivalent in their ability to induce the tyrosine phosphorylation of CD28. *J Biol Chem.* 1999 Jan 29;274(5):3116–24.
- 337.** Freeman GJ, Gribben JG, Boussiotis VA, Ng JW, Restivo VA Jr, Lombard LA, et al. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science.* 1993 Nov 5;262(5135):909–11.
- 338.** Sasahara K, Yamaoka T, Moritani M, Tanaka M, Iwahana H, Yoshimoto K, et al. Molecular cloning and expression analysis of a putative nuclear protein, SR-25. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Mar 16;269(2):444–50.
- 339.** Galán Sánchez-Seco V, Casanova-Peño I, Álvarez-Lafuente R, Sánchez-Jiménez M, García-Martínez Á, Domínguez-Mozo MI, et al. Fingolimod Use for the Treatment of Multiple Sclerosis in a Clinical Practice Setting in Madrid. *Clin Neuropharmacol.* 2017 Jan/Feb;40(1):29-33.
- 340.** Klitz W, Maiers M, Spellman S, Baxter-Lowe LA, Schmeckpeper B, Williams TM, et al. New HLA haplotype frequency reference standards: high-resolution and large sample typing of HLA DR-DQ haplotypes in a sample of European Americans. *Tissue Antigens.* 2003 Oct;62(4):296–307.
- 341.** Radue EW, O'Connor P, Polman CH, Hohlfeld R, Calabresi P, Selmaj K, et al.; FTY720 Research Evaluating Effects of Daily Oral Therapy in Multiple Sclerosis (FREEDOMS) Study Group. Impact of fingolimod therapy on magnetic resonance imaging outcomes in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2012 Oct;69(10):1259-69.

- 342.** Al-Hashel J, Ahmed SF, Behbehani R, et al. Real-world use of fingolimod in patients with relapsing remitting multiple sclerosis: a retrospective study using the national multiple sclerosis registry in Kuwait. *CNS Drugs* 2014; 28: 817–824.
- 343.** Hersh CM, Hara-Cleaver C, Rudick RA, Cohen JA, Bermel RA, Ontaneda D. Experience with fingolimod in clinical practice. *Int J Neurosci* 2015;125(9):678-85.
- 344.** Bianco A, Patanella AK, Nociti V, Marti A, Frisullo G, Plantone D, et al. Second-line therapy with fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis in clinical practice: the effect of previous exposure to natalizumab. *Eur Neurol* 2015; 73: 57–65.
- 345.** Laroni A, Brogi D, Brescia Morra V, Guidi L, Pozzilli C, Comi G, et al. Safety and tolerability of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: results of an open-label clinical trial in Italy. *Neurol Sci.* 2017 Jan; 38(1):53-59.
- 346.** Christopher KL, Elner VM, Demirci H. Conjunctival Lymphoma in a Patient on Fingolimod for Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2017 May/Jun;33(3):e73-e75.
- 347.** Samaraweera AP, Cohen SN, Akay EM, Evangelou N. Lymphomatoid papulosis: A cutaneous lymphoproliferative disorder in a patient on fingolimod for multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2016 Jan;22(1):122-4.
- 348.** Matoula T, Nikolau V, Marinos L, Katsavos S, Nasis G, Economidi A, et al. Lymphomatoid papulosis type D in a fingolimod-treated multiple sclerosis patient. *Mult Scler.* 2016 Oct;22(12):1630-1631.
- 349.** Saida T, Itoyama Y, Kikuchi S, Hao Q, Kurosawa T, Ueda K, et al. Long-term efficacy and safety of fingolimod in Japanese patients with relapsing multiple sclerosis: 3-year results of the phase 2 extension study. *BMC Neurol.* 2017 Jan 28;17(1):17.
- 350.** He A, Spelman T, Jokubaitis V, Havrdova E, Horakova D, Trojano M, et al. Comparison of Switch to Fingolimod or Interferon Beta/Glatiramer Acetate in Active Multiple Sclerosis. *JAMA Neurol* 2015; 72: 405.
- 351.** Directiva 2000/38/CE de la Comisión Europea, de 5 de junio, por la que se modifica el capítulo V bis, «Farmacovigilancia», de la Directiva 75/319/CEE. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, de 10 de junio.

- 352.** Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther.* 1981 Aug;30(2):239-45.
- 353.** Scalfari A, Neuhaus A, Degenhardt A, Rice GP, Muraro PA, Daumer M, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 10: relapses and long term disability. *Brain* 2010 Jul;133(Pt 7):1914-29.
- 354.** Alcalá-Vicente C, Pérez-Miralles FC, Gascón-Jiménez F, Boscá-Blasco I, Navrré-Gimeno A, Coret-Ferrer F, et al. Tratamiento de la esclerosis múltiple remitente recurrente con fingolimod en la práctica clínica habitual. *Rev Neurol* 2017;64:445-53.
- 355.** Flores J, Granados J, Alonso E, Rito Y, Ortega-Hernández E, Mena-Hernández L, et al. Presence of the HLADR13 allele among Mexican Mestizos suggests a protective factor against relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS). *Clin Neurol Neurosurg.* 2015 Nov;138:184-7.
- 356.** Perini P, Tagliaferri C, Belloni M, Biasi G, Gallo P. The HLA-DR13 haplotype is associated with "benign" multiple sclerosis in northeast Italy. *Neurology.* 2001 Jul 10;57(1):158-9

ANEXOS

Fingolimod Use for the Treatment of Multiple Sclerosis in a Clinical Practice Setting in Madrid

Victoria Galán Sánchez-Seco, MD,* Ignacio Casanova-Peño, MD,† Roberto Álvarez-Lafuente, PhD,‡
Mónica Sánchez-Jiménez, MSc,‡ Ángel García-Martínez, CLT,‡ María Inmaculada Domínguez-Mozo, PhD,‡
Ana María Arias-Leal, CLT,‡ Marta García-Montojo, PhD,‡ and Rafael Arroyo-González, MD§

Objective: To assess the effectiveness and safety of fingolimod use in a Spanish clinical practice setting.

Methods: Retrospective study with multiple sclerosis patients who received at least 1 fingolimod dose between January 2004 and January 2015. Effectiveness and safety data were collected during the entire treatment of each patient. Analysis was performed for the total population and stratified according to prior treatment, sex, and age at treatment initiation.

Results: A total of 167 patients were included, 50.9% had prior immunomodulator use, 33.5% natalizumab use, and 15.6% were naive patients. The annual relapse rate (ARR) decreased for the total population at month 12 (62%) and month 24 (84%) ($P < 0.0001$, in both cases); for naive patients ($P < 0.05$) and patients with prior immunomodulator use ($P < 0.0001$); for patients with prior natalizumab use, the ARR kept low after treatment initiation (0.23). After 24 months, the proportion of relapse-free patients was 70% or greater and disability progression-free patients was 80% or greater. No significant differences were observed when the results were compared by prior treatment, sex, or age. Thirty-two patients (19.2%) reported adverse drug reactions and 9.6% discontinued: 4.8% due to adverse drug reactions and 4.8% for lack of effectiveness.

Conclusions: The results support fingolimod use due to clinical effectiveness, tolerability, and ease of administration.

Key Words: Multiple sclerosis, fingolimod, clinical practice, annual relapse rate, disability progression, adverse event

(*Clin Neuropharm* 2017;40: 29-33)

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory and immune-mediated demyelinating disease with a complex aetiology and unknown cause. In Spain, the prevalence of MS in 2013 was 100 per 100,000 and the annual incidence was 4 for 100,000.¹ It predominantly affects young female adults (2 to 4 times more common in women than in men) with a disease onset in the third decade of life.^{2,3} Relapsing-remitting MS (RRMS) is the most common type of MS and affects about 85% to 90% of all MS patients.⁴

Although there is no cure for MS several disease-modifying therapies (DMTs) are available to help patients experience less frequent relapses and to hinder disease progression. Interferon $\beta 1$ (IFN- $\beta 1$) and glatiramer acetate are both effective treatments

for MS that reduce the frequency of relapses and brain lesions.^{5,6} Nevertheless, many patients are nonresponsive or require more efficacious treatments.^{7,8} In the last decade, new therapies, such as fingolimod, have become available.⁹

Fingolimod 0.5 mg/d was the first DMT to be orally administered. It acts by blocking the action of the sphingosine-1-phosphate receptor (S1P), which is expressed by cells in the central nervous system. Through the interaction with neuronal S1P receptors, fingolimod may have neuroprotective or reparative.^{10,11} Also, activation of T cells in presence of fingolimod show a less inflammatory phenotype with reduced production of IFN- γ and granzyme B by T cell factor 1.¹² Fingolimod efficacy was demonstrated in 2 large clinical trials, FREEDOMS and TRANSFORMS.^{9,13} The FREEDOMS trial compared fingolimod versus placebo, and demonstrated a 54% reduction (0.18 vs 0.4) in the annual relapse rate (ARR). In the TRANSFORMS trial, fingolimod was compared with IFN- β over 1 year. A lower ARR was observed in the patients receiving fingolimod (0.16) than in the IFN- β group (0.33).¹³ Based on these 2 trials, fingolimod was approved by the European Medicines Agency in January 2011 to treat highly active RRMS in adult patients who have failed to respond to a full and adequate course (at least 1 year of treatment) of at least 1 DMT, or patients with rapidly evolving severe RRMS.¹⁴ Hence, it is important to assess the benefits of fingolimod in these two populations in a clinical practice setting.

At present, there are few clinical practice studies that are eligible for comparison to fingolimod results obtained in clinical trials. The majority of these studies have been conducted in the United States and little has been reported in Europe.^{15,16} Therefore, the aim of the present study was to assess the effectiveness and safety of fingolimod in MS patients in a Spanish clinical practice setting.

PATIENTS AND METHODS

Patients

This was a retrospective, observational, and single-center study which included patients treated with fingolimod at the Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain. All patients were adults affected by MS, and who had received at least one dose of fingolimod 0.5 mg/d from January 2004 up to January 2015. Patient data were extracted from their medical record in February 2015. Patients who failed to follow-up were excluded. The study was approved by the Ethical Committee of Hospital Clínico San Carlos.

Patients who were treated with glatiramer acetate or IFN- $\beta 1$ (immunomodulators) suspended the treatment the day before to start fingolimod treatment, whereas patients who were treated with natalizumab required at least three months' suspension. The decision to suspend natalizumab and start fingolimod was exclusively based on safety reasons (detection of antibodies against John Cunningham Virus [JCV], 24 months or longer treatment duration with natalizumab, and a history of immunosuppression).

*Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Servicio de Neurología, Alcalá de Henares; †Hospital Universitario de Torrejón, Servicio de Neurología, Torrejón de Ardoz; ‡Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC); and §Hospital Universitario Quirón Madrid, Servicio de Neurología, Madrid, Spain.

Address correspondence and reprint requests to Victoria Galán Sánchez-Seco, Carretera Alcalá-Meco s/n. 28805 Alcalá de Henares, Madrid, Spain; E-mail: vickyg_s@hotmail.com

Conflicts of Interest and Source of Funding: Arroyo-González has received compensation for activities from Biogen Idec, Merck Serono, Novartis, Genzyme, Teva, Almirall and Roche as speaker and advisory. Galán Sánchez-Seco, Casanova-Peño, Álvarez-Lafuente, Sánchez-Jiménez M, García-Martínez A, Domínguez-Mozo MI, Arias-Leal AM, declare that they have no conflict of interest.

Copyright © 2016 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.
DOI: 10.1097/WNF.0000000000000196

ANEXO II. Resultados estadísticos de la relación de polimorfismos de nucleótido simple no pertenecientes al sistema de antígenos leucocitarios humanos e implicados en la patogenia de la esclerosis múltiple con la respuesta al fingolimod.

Pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
rs10201872						
CC	88,5 N=84	3,3	72,7 N=47	4,7	1	
CT	81,1 N=22	6,9	67,3 N=13	9,4	1,099 (0,513-2,356)	0,808
TT	80,0 N=4	17,9	60,0 N=2	21,9	1,894 (0,571-6,281)	0,296
rs10466829						
AA	77,5 N=27	6,6	68,0 N=20	7,8	1	
AG	76,3 N=44	5,5	63,9 N=28	6,6	1,183 (0,582-2,406)	0,643
GG	86,7 N=26	6,2	86,7 N=17	6,2	0,412 (0,133-1,279)	0,125
rs11129295						
CC	88,0 N=34	5,0	82,4 N=20	6,1	1	
CT	80,2 N=50	4,9	68,8 N=34	6,1	1,873 (0,792-4,429)	0,153
TT	63,7 N=10	11,9	54,6 N=4	13,2	2,898 (1,015-8,274)	0,047
rs11154801						
AA	86,4 N=18	7,3	80,2 N=12	9,0	1	
AC	75,5 N=47	5,3	64,3 N=28	6,2	2,163 (0,748-6,256)	0,155
CC	81,6 N=33	5,9	75,7 N=22	6,8	1,306 (0,409-4,165)	0,652
rs11810217						
CC	75,0 N=42	5,6	66,4 N=25	6,4	1	
CT	83,8 N=49	4,7	74,0 N=34	5,9	0,766 (0,393-1,490)	0,432
TT	77,8 N=6	13,9	77,8 N=3	13,9	0,710 (0,165-3,048)	0,645
rs12212193						
AA	83,2 N=32	5,8	80,2 N=20	6,3	1	
AG	73,1 N=42	5,8	67,0 N=29	6,3	1,541 (0,697-3,406)	0,285
GG	86,0 N=24	6,5	64,1 N=13	9,8	1,363 (0,541-3,424)	0,512

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismo de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
AA	79,9 N=35	6,0	68,9 N=21	7,3	1	
AG	79,6 N=52	4,9	72,7 N=36	5,6	0,924 (0,456-1,871)	0,826
GG	75,6 N=12	10,6	64,8 N=5	13,5	1,105 (0,393-3,106)	0,849
<i>rs12466022</i>						
AA	66,7 N=1	27,2	N=0		1	
AC	83,1 N=32	5,8	71,3 N=19	7,4	0,671 (0,087-5,177)	0,702
CC	78,0 N=64	4,5	70,7 N=44	5,1	0,666 (0,090-4,939)	0,691
<i>rs1250550</i>						
GG	76,5 N=50	5,1	69,8 N=34	5,7	1	
GT	82,1 N=43	5,1	69,4 N=24	6,8	0,882 (0,455-1,712)	0,711
TT	83,3 N=5	15,2	83,3 N=4	15,2	0,451 (0,061-3,358)	0,437
<i>rs13192841</i>						
AA	94,1 N=13	5,7	77,2 N=7	12,0	1	
AG	78,6 N=38	5,7	76,3 N=27	6,0	1,505 (0,429-5,283)	0,523
GG	75,7 N=45	5,5	63,4 N=27	6,5	2,093 (0,624-7,018)	0,232
<i>rs1333054</i>						
CC	75,7 N=61	4,7	69,4 N=38	5,3	1	
CT	84,2 N=34	5,5	73,4 N=24	7,0	0,872 (0,436-1,743)	0,698
TT	66,7 N=2	27,2	66,7 N=1	27,2	0,992 (0,134-7,340)	0,994
<i>rs1335532</i>						
CC	N=1		N=1		1	-
CT	86,1 N=18	7,5	74,5 N=9	10,0	-	-
TT	77,5 N=79	4,0	69,3 N=52	4,7	-	-

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs140522</i>						
AA	76,9 N=10	11,7	51,3 N=2	16,7	1	
AG	74,2 N=37	6,0	65,2 N=25	6,7	0,828 (0,307-2,234)	0,709
GG	84,3 N=51	4,6	78,5 N=35	5,4	0,506 (0,182-1,408)	0,192
<i>rs1520333</i>						
CC	59,3 N=8	12,9	59,3 N=3	12,9	1	
CT	79,7 N=41	5,5	69,5 N=23	6,8	0,592 (0,232-1,514)	0,274
TT	82,2 N=49	4,9	74,6 N=36	5,7	0,438 (0,169-1,130)	0,088
<i>rs17066096</i>						
AA	80,0 N=54	4,8	72,8 N=35	5,6	1	
AG	78,1 N=38	5,9	68,1 N=23	6,9	1,107 (0,562-2,180)	0,768
GG	80,0 N=6	12,6	66,7 N=4	16,1	1,138 (0,337-3,845)	0,836
<i>rs17174870</i>						
CC	81,6 N=68	4,2	70,6 N=46	5,1	1	
CT	72,9 N=25	7,3	72,9 N=16	7,3	1,051 (0,505-2,190)	0,894
TT	66,7 N=4	19,2	- N=0	-	1,347 (0,318-5,706)	0,686
<i>rs1738074</i>						
AA	76,5 N=11	10,3	76,5 N=10	10,3	1	
AG	83,5 N=48	4,8	66,9 N=25	6,6	1,336 (0,454-3,934)	0,599
GG	79,3 N=40	5,6	72,5 N=27	6,3	1,130 (0,372-3,435)	0,830
<i>rs2019960</i>						
CC	80,0 N=3	17,9	- N=0	-	1	
CT	71,7 N=29	6,9	69,1 N=21	7,1	0,693 (0,156-3,086)	0,630
TT	83,2 N=65	4,1	72,2 N=41	5,3	0,572 (0,134-2,446)	0,451

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
AC	90,5 N=17	6,4	82,9 N=11	9,3	1	
CC	77,3 N=81	4,0	68,4 N=52	4,6	1,662 (0,589-4,693)	0,337
<i>rs2243123</i>						
CC	42,9 N=3	18,7	42,9 N=1	18,7	1	
CT	75,2 N=35	6,2	75,2 N=28	6,2	0,350 (0,114-1,076)	0,067
TT	83,9 N=60	4,3	69,2 N=33	5,9	0,354 (0,121-1,036)	0,058
<i>rs2248359</i>						
CC	73,9 N=41	5,8	69,9 N=30	6,2	1	
CT	80,6 N=39	5,5	71,2 N=25	6,6	0,993 (0,496-1,989)	0,984
TT	90,5 N=18	6,4	69,3 N=7	11,8	0,801 (0,295-2,172)	0,663
<i>rs2283792</i>						
GG	75,0 N=35	6,3	65,4 N=26	7,1	1	
GT	75,4 N=43	5,5	67,1 N=24	6,3	1,032 (0,530-2,009)	0,926
TT	95,5 N=19	4,4	87,5 N=11	8,6	0,264 (0,061-1,146)	0,075
<i>rs2293370</i>						
CC	80,8 N=81	3,9	72,6 N=50	4,6	1	
CT	69,6 N=15	9,6	64,2 N=12	10,2	1,386 (0,632-3,042)	0,416
TT	50,0 N=1	35,4	- N=0	-	1,300 (0,177-9,557)	0,797
<i>rs2300603</i>						
CC	66,7 N=6	13,6	66,7 N=2	13,6	1	
CT	81,8 N=39	5,5	71,8 N=25	6,7	0,568 (0,185-1,748)	0,324
TT	79,8 N=52	4,8	71,0 N=35	5,7	0,621 (0,212-1,823)	0,386

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
GG	33,3 N=1	27,2	- N=0		1	
GT	87,4 N=46	4,4	85,4 N=37	4,8	0,132 (0,028-0,626)	0,011
TT	74,8 N=51	5,2	59,6 N=26	6,4	0,347 (0,081-1,484)	0,153
<i>rs2546890</i>						
AA	75,4 N=18	8,7	75,4 N=12	8,7	1	
AG	77,0 N=51	5,0	64,9 N=32	6,0	-	-
GG	86,2 N=28	5,7	78,7 N=18	7,3	-	-
<i>rs3118470</i>						
CC	85,7 N=5	13,2	64,3 N=1	21,0	1	
CT	77,4 N=39	5,8	70,5 N=26	6,5	0,907 (0,207-3,974)	0,897
TT	79,4 N=52	4,9	70,2 N=33	5,8	0,916 (0,214-3,924)	0,906
<i>rs4410871</i>						
CC	80,8 N=54	4,8	72,2 N=34	5,6	1	
CT	76,0 N=34	6,1	67,4 N=22	7,1	1,174 (0,596-2,311)	0,643
TT	84,6 N=10	10,0	76,2 N=6	12,1	0,879 (0,260-2,973)	0,836
<i>rs4613763</i>						
CC	100,0 N=3		50,0 N=9	35,4	1	
CT	70,0 N=13	10,2	65,0 N=	10,7	1,535 (0,189-12,491)	0,689
TT	80,0 N=81	3,9	71,8 N=53	4,6	1,120 (0,152-8,231)	0,911
<i>rs4648356</i>						
AA	83,3 N=9	10,8	42,3 N=4	15,7	1	
AC	72,9 N=35	6,2	68,0 N=21	6,7	0,633 (0,247-1,620)	0,340
CC	83,6 N=54	4,5	78,5 N=37	5,1	0,416 (0,161-1,072)	0,069

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
CC	71,4 N=25	7,6	62,0 N=19	8,3	1	
CT	83,9 N=53	4,5	76,3 N=30	5,4	0,570 (0,271-1,198)	0,138
TT	78,1 N=20	7,9	68,9 N=14	9,3	0,869 (0,372-2,035)	0,747
<i>rs669607</i>						
GG	81,1 N=30	6,4	74,5 N=19	7,4	1	
GT	82,9 N=44	4,9	74,3 N=29	6,0	1,094 (0,478-2,499)	0,832
TT	70,0 N=23	8,0	58,8 N=13	9,0	1,785 (0,762-4,178)	0,182
<i>rs7200786</i>						
AA	88,9 N=31	5,2	78,7 N=19	7,2	1	
AG	75,6 N=42	5,7	64,8 N=27	6,6	1,806 (0,759-4,299)	0,182
GG	75,1 N=25	7,2	71,8 N=16	7,6	1,714 (0,664-4,423)	0,266
<i>rs7238078</i>						
GG	25,0 N=1	21,7	N=0		1	
GT	85,9 N=36	5,3	80,1 N=22	6,4	0,220 (0,059-0,817)	0,024
TT	77,6 N=61	4,5	68,3 N=40	5,4	0,345 (0,104-1,144)	0,082
<i>rs7522462</i>						
AA	80,0 N=3	17,9	N=280,0	17,9	1	
AG	71,2 N=28	7,0	65,4 N=19	7,6	1,840 (0,243-13,934)	0,555
GG	83,2 N=65	4,1	72,5 N=41	5,2	1,226 (0,165-9,122)	0,842
<i>rs7595037</i>						
CC	70,0 N=13	10,2	70,0 N=8	10,2	1	
CT	79,8 N=45	5,2	67,4 N=28	6,4	0,769 (0,321-1,843)	0,556
TT	81,9 N=39	5,5	74,7 N=27	6,4	0,569 (0,224-1,445)	0,235

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs7923837</i>						
AA	91,7 N=11	8,0	83,3 N=7	10,8	1	
AG	84,4 N=40	5,1	77,0 N=24	6,2	1,580 (0,353-7,062)	0,550
GG	73,0 N=47	5,4	63,5 N=31	6,2	2,372 (0,559-10,071)	0,241
<i>rs802734</i>						
CC	91,7 N=10	8,0	81,5 N=6	19,9	1	
CT	80,5 N=38	5,5	66,8 N=26	6,9	1,336 (0,389-4,587)	0,645
TT	76,0 N=49	5,2	72,3 N=30	5,6	1,164 (0,343-3,953)	0,808
<i>rs8112449</i>						
AA	76,5 N=13	10,3	53,8 N=6	13,4	1	
AG	86,3 N=35	5,2	80,7 N=23	6,2	0,349 (0,131-0,930)	0,035
GG	75,4 N=50	5,2	68,4 N=33	5,8	0,620 (0,275-1,401)	0,250
<i>rs874628</i>						
CC	60,0 N=6	15,5	60,0 N=2	15,5	1	
CT	87,4 N=38	4,8	79,7 N=28	6,1	0,414 (0,129-1,321)	0,136
TT	76,6 N=53	5,0	66,1 N=31	5,9	0,670 (0,232-1,940)	0,461
<i>rs9282641</i>						
AA	- N=0	-	- N=0	-	1	
AG	66,7 N=14	10,3	61,5 N=10	10,7	0,138 (0,028-0,673)	0,014
GG	83,4 N=85	3,6	73,8 N=53	4,5	0,085 (0,019-0,371)	0,001
<i>rs949143</i>						
AA	75,6 N=46	5,5	66,4 N=31	6,2	1	
AG	82,2 N=41	5,1	79,5 N=26	5,6	0,624 (0,299-1,301)	0,208
GG	85,7 N=10	9,4	55,1 N=5	15,6	1,357 (0,544-3,381)	0,513

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs10201872</i>						
CC	85,6 N=74	3,7	79,0 N=48	4,4	1	
CT	96,4 N=27	3,5	87,1 N=17	7,1	0,520 (0,179-1,511)	0,230
TT	100,0 N=4	-	100,0 N=4	-	0,739 (0,099-0,516)	0,768
<i>rs10466829</i>						
AA	88,9 N=30	5,2	72,4 N=17	7,9	1	
AG	86,3 N=49	4,5	82,2 N=32	5,1	0,624 (0,280-1,394)	0,250
GG	93,0 N=26	4,8	93,0 N=18	4,8	0,295 (0,083-1,045)	0,058
<i>rs11129295</i>						
CC	85,2 N=33	5,6	82,4 N=18	6,1	1	
CT	90,4 N=55	3,7	80,1 N=40	5,3	1,153 (0,492-2,705)	0,743
TT	86,7 N=13	8,8	78,0 N=4	11,4	1,104 (0,290-4,211)	0,884
<i>rs11154801</i>						
AA	86,1 N=18	7,4	80,4 N=11	8,9	1	
AC	91,4 N=53	3,7	87,5 N=42	4,4	0,731 (0,249-2,147)	0,568
CC	86,2 N=33	5,2	77,8 N=22	6,6	1,326 (0,466-3,777)	0,597
<i>rs11810217</i>						
CC	87,5 N=46	4,4	80,9 N=29	5,4	1	
CT	89,9 N=52	3,9	83,8 N=38	5,0	0,980 (0,443-2,167)	0,960
TT	88,9 N=8	10,5	74,1 N=2	16,1	1,252 (0,278-5,632)	0,770
<i>rs12212193</i>						
AA	87,9 N=34	5,1	81,9 N=20	6,3	1	
AG	87,3 N=47	4,5	81,0 N=31	5,4	0,811 (0,350-1,880)	0,625
GG	92,8 N=25	4,8	83,7 N=17	7,6	0,760 (0,257-2,243)	0,619

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
AA	90,5 N=37	4,5	78,6 N=23	6,8	1	
AG	86,4 N=54	4,2	83,0 N=38	4,7	1,289 (0,554-2,999)	0,556
GG	93,8 N=15	6,1	84,4 N=8	10,4	0,738 (0,156-3,488)	0,701
<i>rs12466022</i>						
AA	100,0 N=2	-	- N=0	-	1	
AC	89,7 N=35	4,9	78,2 N=22	6,8	-	-
CC	87,9 N=68	3,6	83,2 N=48	4,3	-	-
<i>rs1250550</i>						
GG	92,2 N=58	3,4	88,6 N=41	4,1	1	
GT	83,2 N=42	5,1	73,0 N=24	6,6	2,996 (1,294-6,937)	0,010
TT	100,0 N=5	-	83,3 N=5	15,2	1,231 (0,153-9,881)	0,844
<i>rs13192841</i>						
AA	94,1 N=13	5,7	94,1 N=9	5,7	1	
AG	94,0 N=45	3,3	86,8 N=29	5,1	0,923 (0,186-4,587)	0,922
GG	82,7 N=46	5,0	74,1 N=30	6,1	2,369 (0,547-10,265)	0,249
<i>rs1333054</i>						
CC	84,8 N=65	4,1	79,8 N=41	4,7	1	
CT	95,5 N=37	3,1	84,2 N=26	6,0	0,561 (0,231-1,360)	0,201
TT	100,0 N=2	-	100,0 N=1	-	-	-
<i>rs1335532</i>						
CC	100,0 N=-2	35,4	50,0 N=1	35,4	1	
CT	86,5 N=18	7,2	86,5 N=11	7,2	0,415 (0,046-3,719)	0,432
TT	89,0 N=86	3,1	81,8 N=58	4,0	0,438 (0,059-3,270)	0,421

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs140522</i>						
AA	91,7 N=11	8,0	80,2 N=4	12,8	1	
AG	85,9 N=41	5,0	81,3 N=30	5,6	1,373 (0,308-6,115)	0,677
GG	90,5 N=54	3,7	82,4 N=35	5,2	0,929 (0,204-4,233)	0,924
<i>rs1520333</i>						
CC	100,0 N=10	-	88,9 N=5	10,4	1	
CT	86,6 N=44	4,7	73,9 N=24	6,7	3,222 (0,423-24,551)	0,259
TT	88,4 N=51	4,1	86,5 N=40	4,4	1,977 (0,254-15,363)	0,515
<i>rs17066096</i>						
AA	88,1 N=57	4,0	80,9 N=39	5,0	1	
AG	87,6 N=41	4,7	79,6 N=24	6,1	0,982 (0,444-2,169)	0,964
GG	100,0 N=8	17,9	80,0 N=4	17,9	0,488 (0,064-3,709)	0,488
<i>rs17174870</i>						
CC	87,0 N=71	3,7	78,8 N=51	4,6	1	
CT	94,2 N=31	4,0	90,4 N=18	5,3	0,725 (0,269-1,956)	0,526
TT	80,0 N=3	17,9	80,0 N=1	17,9	1,277 (0,170-9,598)	0,812
<i>rs1738074</i>						
AA	87,4 N=13	8,4	80,7 N=10	10,1	1	
AG	87,8 N=49	4,3	78,4 N=27	5,9	0,895 (0,334-2,397)	0,825
GG	90,2 N=44	4,2	85,6 N=32	5,1	0,431 (0,144-1,290)	0,132
<i>rs2019960</i>						
CC	60,0 N=2	21,9	60,0 N=1	21,9	1	
CT	89,4 N=33	5,0	86,4 N=23	5,6	0,168 (0,042-0,678)	0,012
TT	90,1 N=70	3,3	80,1 N=45	4,6	0,252 (0,073-0,869)	0,029

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
AC	90,5 N=17	6,4	82,3 N=10	9,8	1	
CC	88,4 N=88	3,2	81,6 N=60	4,0	0,916 (0,313-2,681)	0,872
<i>rs2243123</i>						
CC	71,4 N=5	17,1	71,4 N=4	17,1	1	
CT	86,6 N=38	5,1	82,0 N=27	5,8	0,554 (0,146-2,099)	0,385
TT	91,8 N=63	3,2	82,4 N=38	4,9	0,585 (0,165-2,071)	0,406
<i>rs2248359</i>						
CC	83,7 N=45	5,0	77,6 N=32	5,7	1	
CT	89,7 N=41	4,4	79,7 N=27	6,1	0,746 (0,334-1,667)	0,475
TT	100,0 N=18	8,7	90,9 N=10	8,7	0,321 (0,073-1,417)	0,134
<i>rs2283792</i>						
GG	84,8 N=38	5,3	77,5 N=29	6,3	1	
GT	89,3 N=48	4,1	80,8 N=10	5,5	0,773 (0,352-1,698)	0,522
TT	95,5 N=19	4,4	95,5 N=11	4,4	0,308 (0,069-1,370)	0,122
<i>rs2293370</i>						
CC	89,1 N=85	3,1	82,0 N=53	4,0	1	
CT	86,4 N=19	7,3	81,0 N=15	8,6	0,875 (0,299-2,561)	0,807
TT	100,0 N=1		100,0 N=1	-	-	-
<i>rs2300603</i>						
CC	90,9 N=8	8,7	90,9 N=3	8,7	1	
CT	86,9 N=38	5,0	76,7 N=26	6,5	0,940 (0,206-4,285)	0,936
TT	89,6 N=59	3,7	84,5 N=40	4,5	0,804 (0,181-3,568)	0,774

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA %(24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
GG	100,0 N=2	-	- N=0		1	
GT	88,7 N=46	4,4	86,6 N=33	4,7	-	-
TT	88,3 N=57	3,9	77,0 N=34	5,5	-	-
<i>rs2546890</i>						
AA	80,0 N=20	8,0	80,0 N=14	8,0	1	
AG	89,1 N=56	3,9	79,8 N=37	5,3	-	-
GG	94,4 N=29	3,8	87,2 N=18	6,1	-	-
<i>rs3118470</i>						
CC	100,0 N=5	-	66,7 N=1	27,2	1	
CT	94,1 N=45	3,3	89,4 N=31	4,5	0,521 (0,062- 4,394)	0,549
TT	83,2 N=53	4,6	75,9 N=35	5,5	1,505 (0,201- 11,294)	0,691
<i>rs4410871</i>						
CC	91,0 N=60	3,5	87,5 N=42	4,1	1	
CT	91,7 N=39	4,0	77,5 N=23	6,8	1,610 (0,696- 3,725)	0,266
TT	65,6 N=7	14,0	65,6 N=4	14,0	3,729 (1,267- 10,975)	0,017
<i>rs4613763</i>						
CC	100,0 N=4	-	100,0 N=4	-	1	
CT	80,0 N=14	8,9	68,6 N=9	10,7	1,194 (0,144- 9,940)	0,870
TT	89,9 N=87	3,0	83,8 N=59	3,9	0,594 (0,079- 4,473)	0,613
<i>rs4648356</i>						
AA	100,0 N=10	-	64,8 N=5	16,5	1	
AC	85,2 N=38	5,2	79,8 N=24	6,9	0,601 (0,188- 1,918)	0,390
CC	89,3 N=57	3,8	85,9 N=40	4,3	0,487 (0,150- 1,466)	0,193

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
CC	88,0 N=28	5,6	88,0 N=23	5,6	1	
CT	86,6 N=56	4,2	79,3 N=33	5,2	1,599 (0,625-4,092)	0,328
TT	95,7 N=22	4,3	79,5 N=13	9,3	0,902 (0,254-3,202)	0,873
<i>rs669607</i>						
GG	88,4 N=30	5,5	85,1 N=22	6,1	1	
GT	89,4 N=49	4,1	85,0 N=31	4,9	0,942 (0,335-2,646)	0,909
TT	87,5 N=25	5,8	71,8 N=15	8,7	1,845 (0,656-5,191)	0,246
<i>rs7200786</i>						
AA	91,7 N=31	4,6	84,9 N=20	6,3	1	
AG	83,1 N=42	5,2	71,3 N=28	6,6	1,667 (0,667-4,162)	0,274
GG	94,1 N=32	4,0	94,1 N=21	4,0	0,401 (0,113-1,426)	0,158
<i>rs7238078</i>						
GG	66,7 N=2	27,2	66,7 N=1	27,2	1	
GT	88,0 N=36	5,0	85,4 N=24	5,5	0,396 (0,048-3,257)	0,389
TT	90,0 N=68	3,3	80,3 N=44	4,8	0,658 (0,088-4,932)	0,684
<i>rs7522462</i>						
AA	100,0 N=4	-	75,0 N=1	21,7	1	
AG	84,3 N=31	5,9	81,3 N=22	6,4	0,805 (0,099-6,563)	0,840
GG	90,1 N=70	3,3	82,4 N=46	4,5	1,010 (0,134-7,578)	0,993
<i>rs7595037</i>						
CC	83,8 N=15	8,6	83,8 N=7	8,6	1	
CT	90,9 N=48	3,9	77,7 N=29	6,0	1,276 (0,363-4,481)	0,704
TT	88,1 N=43	4,5	85,8 N=33	5,0	0,836 (0,223-3,131)	0,790

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs7923837</i>						
AA	83,3 N=10	10,8	83,3 N=8	10,8	1	
AG	92,0 N=43	3,9	89,4 N=28	4,5	0,520 (0,131-2,060)	0,352
GG	87,3 N=53	4,2	75,8 N=33	5,7	1,090 (0,317-3,746)	0,890
<i>rs802734</i>						
CC	91,7 N=10	8,0	71,3 N=5	14,1	1	
CT	87,3 N=40	4,9	77,6 N=28	6,3	0,750 (0,244-2,311)	0,617
TT	89,2 N=55	3,9	87,2 N=36	4,2	0,419 (0,129-1,366)	0,150
<i>rs8112449</i>						
AA	94,1 N=15	5,7	78,7 N=9	11,2	1	
AG	85,4 N=33	5,5	76,3 N=18	7,0	1,568 (0,485-5,068)	0,453
GG	89,3 N=57	3,8	85,8 N=42	4,4	0,837 (0,269-2,604)	0,758
<i>rs874628</i>						
CC	85,7 N=6	13,2	85,7 N=2	13,2	1	
CT	93,4 N=42	3,7	77,8 N=26	6,6	1,431 (0,182-11,227)	0,733
TT	85,8 N=57	4,2	84,1 N=40	4,4	1,372 (0,180-10,455)	0,760
<i>rs9282641</i>						
AA	- N=0	-	- N=0	-	1	
AG	80,2 N=16	8,9	74,5 N=10	9,9	-	-
GG	90,4 N=89	2,9	83,2 N=59	3,9	-	-
<i>rs949143</i>						
AA	91,6 N=54	3,6	84,2 N=37	4,9	1	
AG	82,5 N=39	5,3	77,6 N=23	6,0	1,564 (0,707-3,464)	0,270
GG	100,0 N=12	-	90,0 N=9	9,5	0,889 (0,196-4,033)	0,879

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs10201872</i>						
CC	69,2 N=63	4,8	61,7 N=39	5,1	1	
CT	74,5 N=22	7,8	56,7 N=11	9,9	0,944 (0,493-1,808)	0,862
TT	100,0 N=4	-	60,0 N=2	21,9	1,190 (0,366-3,862)	0,773
<i>rs10466829</i>						
AA	67,3 N=25	7,5	49,8 N=15	8,3	1	
AG	69,6 N=40	6,0	56,9 N=21	6,8	0,888 (0,477-1,652)	0,708
GG	80,0 N=24	7,3	80,0 N=16	7,3	0,521 (0,214-1,268)	0,150
<i>rs11129295</i>						
CC	76,0 N=30	6,6	70,3 N=16	7,2	1	
CT	74,1 N=47	5,4	57,4 N=29	6,5	1,557 (0,797-3,043)	0,195
TT	57,4 N=9	12,3	49,2 N=3	13,0	1,912 (0,780-4,687)	0,156
<i>rs11154801</i>						
AA	72,7 N=16	9,5	61,0 N=9	11,0	1	
AC	72,3 N=45	5,6	61,2 N=27	6,3	1,073 (0,502-2,294)	0,856
CC	70,2 N=29	6,9	58,7 N=16	7,8	1,090 (0,489-2,431)	0,832
<i>rs11810217</i>						
CC	68,1 N=38	6,1	57,5 N=21	6,7	1	
CT	75,8 N=46	5,4	64,4 N=30	6,3	0,890 (0,508-1,561)	0,685
TT	66,7 N=6	15,7	50,0 N=1	18,6	1,203 (0,417-3,466)	0,733
<i>rs12212193</i>						
AA	73,5 N=29	6,9	67,5 N=16	7,5	1	
AG	66,3 N=38	6,2	56,2 N=24	6,7	1,159 (0,622-2,161)	0,642
GG	79,4 N=23	7,5	58,2 N=12	9,9	0,933 (0,432-2,012)	0,859

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
AA	73,2 N=32	6,6	59,2 N=17	7,8	1	
AG	69,3 N=46	5,6	59,5 N=30	6,1	1,150 (0,636-2,078)	0,643
GG	75,6 N=12	10,6	64,8 N=5	13,5	0,830 (0,306-2,252)	0,714
<i>rs12466022</i>						
AA	66,7 N=1	27,2	- N=0	-	1	
AC	75,6 N=30	6,7	55,0 N=14	8,3	1,037 (0,139-7,760)	0,972
CC	70,0 N=58	4,9	62,8 N=39	5,4	0,862 (0,117-6,324)	0,884
<i>rs1250550</i>						
GG	72,0 N=48	5,5	63,5 N=30	6,0	1	
GT	69,6 N=37	6,2	55,0 N=19	7,3	1,318 (0,760-2,286)	0,326
TT	83,3 N=5	15,2	66,7 N=3	19,2	0,734 (0,174-3,104)	0,675
<i>rs13192841</i>						
AA	88,2 N=12	7,8	70,8 N=6	12,9	1	
AG	78,7 N=38	5,7	71,7 N=25	6,5	1,240 (0,411-3,738)	0,703
GG	71,0 N=42	5,8	47,2 N=20	6,7	2,584 (0,916-7,291)	0,073
<i>rs1333054</i>						
CC	64,9 N=53	5,3	57,2 N=31	5,7	1	
CT	82,0 N=33	5,8	65,6 N=21	7,6	0,763 (0,422-1,379)	0,370
TT	100,0 N=2	-	66,7 N=1	27,2	0,641 (0,088-4,688)	0,661
<i>rs1335532</i>						
CC	100,0 N=2	-	50,0 N=1	35,4	1	
CT	68,6 N=15	9,8	58,0 N=7	10,9	0,998 (0,126-7,888)	0,998
TT	71,8 N=73	4,4	61,2 N=45	5,0	1,014 (0,139-7,378)	0,989

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs140522</i>						
AA	69,2 N=9	12,8	43,3 N=1	16,8	1	
AG	64,6 N=33	6,5	53,9 N=21	7,0	0,985 (0,404-2,401)	0,973
GG	78,2 N=48	5,2	68,5 N=30	6,1	0,593 (0,237-1,480)	0,263
<i>rs1520333</i>						
CC	59,3 N=8	12,9	59,3 N=3	12,9	1	
CT	70,5 N=37	6,2	55,9 N=19	7,3	0,923 (0,378-2,255)	0,861
TT	75,7 N=45	5,5	64,5 N=30	6,3	0,652 (0,264-1,610)	0,354
<i>rs17066096</i>						
AA	71,2 N=48	5,4	60,8 N=29	6,1	1	
AG	70,3 N=35	6,4	58,0 N=19	7,3	0,958 (0,543-1,687)	0,881
GG	80,0 N=6	12,6	66,7 N=4	16,1	0,700 (0,213-2,296)	0,556
<i>rs17174870</i>						
CC	72,4 N=61	4,8	59,2 N=39	5,5	1	
CT	70,2 N=24	7,5	66,5 N=14	8,0	1,061 (0,571-1,973)	0,852
TT	50,0 N=3	20,4	- N=0	-	1,720 (0,525-5,639)	0,370
<i>rs1738074</i>						
AA	58,2 N=9	12,1	51,8 N=7	12,4	1	
AG	75,1 N=44	5,6	59,6 N=21	6,9	0,671 (0,319-1,412)	0,293
GG	71,7 N=37	6,2	62,8 N=24	6,9	0,591 (0,274-1,273)	0,179
<i>rs2019960</i>						
CC	40,0 N=2	21,9	40,0 N=2	21,9	1	
CT	64,5 N=27	7,4	59,2 N=18	7,7	0,440 (0,148-1,310)	0,140
TT	75,9 N=60	4,7	62,0 N=34	5,7	0,379 (0,133-1,078)	0,069

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
AC	85,7 N=16	7,6	77,9 N=10	10,2	1	
CC	69,1 N=73	4,4	57,0 N=43	4,9	1,583 (0,676-3,709)	0,290
<i>rs2243123</i>						
CC	42,9 N=3	18,7	28,6 N=1	17,1	1	
CT	68,9 N=32	6,7	66,7 N=24	6,8	0,391 (0,145-1,056)	0,064
TT	75,8 N=55	5,0	57,8 N=27	6,3	0,424 (0,164-1,094)	0,076
<i>rs2248359</i>						
CC	63,4 N=35	6,4	57,4 N=24	6,7	1	
CT	72,8 N=36	6,2	59,2 N=21	7,2	0,883 (0,497-1,571)	0,673
TT	90,5 N=18	6,4	60,6 N=7	13,2	0,580 (0,238-1,413)	0,230
<i>rs2283792</i>						
GG	64,7 N=31	6,9	48,8 N=19	7,4	1	
GT	70,4 N=40	5,9	60,3 N=22	6,5	0,800 (0,457-1,402)	0,436
TT	90,9 N=18	6,1	90,9 N=11	6,5	0,966 (0,530-1,761)	0,910
<i>rs2293370</i>						
CC	72,2 N=73	4,4	60,7 N=41	5,0	1	
CT	65,2 N=15	9,9	59,8 N=11	10,5	1,011 (0,492-2,077)	0,977
TT	100,0 N=2	-	50,0 N=1	35,4	0,847 (0,116-6,159)	0,870
<i>rs2300603</i>						
CC	58,3 N=5	14,2	58,3 N=2	14,2	1	
CT	71,5 N=34	6,5	59,6 N=21	7,3	0,506 (0,201-1,273)	0,148
TT	74,2 N=50	5,3	62,0 N=30	6,1	0,513 (0,211-1,247)	0,141

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
GG	33,3 N=1	27,2	- N=0	-	1	
GT	76,6 N=42	5,7	72,6 N=31	6,0	0,251 (0,057-1,100)	0,067
TT	69,1 N=47	5,5	50,8 N=22	6,5	0,402 (0,095-1,698)	0,215
<i>rs2546890</i>						
AA	64,0 N=16	9,6	64,0 N=11	9,6	1	-
AG	69,7 N=47	5,5	54,3 N=26	6,3	-	-
GG	80,6 N=26	6,6	69,5 N=15	8,3	-	-
<i>rs3118470</i>						
CC	85,7 N=5	13,2	64,3 N=1	21,0	1	
CT	71,6 N=36	6,2	62,3 N=22	7,0	1,230 (0,287-5,272)	0,780
TT	69,2 N=46	5,6	56,9 N=27	6,3	1,416 (0,338-5,931)	0,634
<i>rs4410871</i>						
CC	76,3 N=51	5,2	66,0 N=31	6,0	1	
CT	70,1 N=32	6,5	56,2 N=18	7,6	1,229 (0,682-2,214)	0,492
TT	53,8 N=7	13,8	46,2 N=4	13,8	2,106 (0,947-4,686)	0,068
<i>rs4613763</i>						
CC	100,0 N=3	-	50,0 N=1	35,4	1	
CT	55,0 N=11	11,1	44,4 N=5	11,2	2,752 (0,355-21,343)	0,333
TT	73,3 N=75	4,3	63,0 N=47	4,9	1,544 (0,212-11,245)	0,668
<i>rs4648356</i>						
AA	83,3 N=9	10,8	31,7 N=3	14,9	1	
AC	62,9 N=30	6,8	55,6 N=17	7,2	0,824 (0,354-1,921)	0,654
CC	76,2 N=50	5,2	69,4 N=32	5,7	0,518 (0,221-1,214)	0,130

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
CC	65,7 N=23	8,0	59,1 N=17	8,5	1	
CT	72,0 N=46	5,5	60,8 N=23	6,3	1,042 (0,547-1,982)	0,901
TT	74,4 N=20	8,4	60,6 N=12	9,9	0,990 (0,449-2,182)	0,980
<i>rs669607</i>						
GG	73,0 N=27	7,3	63,7 N=17	8,1	1	
GT	74,2 N=41	5,8	61,2 N=23	6,8	1,184 (0,599-2,338)	0,627
TT	63,9 N=21	8,3	52,4 N=11	9,2	1,585 (0,762-3,296)	0,218
<i>rs7200786</i>						
AA	83,3 N=29	6,2	69,8 N=16	8,1	1	
AG	65,2 N=36	6,3	50,3 N=21	7,0	1,910 (0,927-3,935)	0,079
GG	69,5 N=24	7,7	66,4 N=15	8,0	1,466 (0,651-3,304)	0,356
<i>rs7238078</i>						
GG	50,0 N=2	25,0	25,0 N=1	21,7	1	
GT	78,8 N=33	6,3	70,6 N=19	7,2	0,309 (0,088-1,082)	0,066
TT	69,2 N=55	5,0	56,8 N=33	5,7	0,486 (0,149-1,581)	0,230
<i>rs7522462</i>						
AA	80,0 N=4	17,9	60,0 N=1	21,9	1	
AG	64,0 N=25	7,5	58,0 N=16	7,9	1,147 (0,265-4,960)	0,855
GG	74,7 N=60	4,8	61,3 N=35	5,6	0,996 (0,239-4,154)	0,995
<i>rs7595037</i>						
CC	60,0 N=12	11,0	60,0 N=6	11,0	1	
CT	73,0 N=42	5,8	56,7 N=23	6,8	0,809 (0,378-1,732)	0,586
TT	74,1 N=36	6,2	64,8 N=24	7,0	0,602 (0,270-1,344)	0,215

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del genotipo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs7923837</i>						
AA	83,3 N=10	10,8	75,0 N=7	12,5	1	
AG	78,6 N=37	5,7	68,5 N=20	6,9	1,158 (0,388-3,455)	0,792
GG	71,7 N=46	5,5	51,2 N=25	6,4	1,748 (0,617-4,952)	0,293
<i>rs802734</i>						
CC	83,3 N=9	10,8	60,8 N=5	15,8	1	
CT	72,4 N=35	6,3	54,3 N=21	7,3	1,183 (0,450-3,107)	0,733
TT	68,8 N=45	5,7	63,2 N=26	6,1	0,929 (0,354-2,436)	0,881
<i>rs8112449</i>						
AA	70,6 N=12	11,1	53,8 N=6	13,4	1	
AG	72,3 N=30	6,8	60,6 N=15	7,8	0,761 (0,337-1,716)	0,510
GG	69,8 N=47	5,5	61,4 N=31	6,0	0,742 (0,349-1,581)	0,440
<i>rs874628</i>						
CC	60,0 N=6	15,5	60,0 N=3	15,5	1	
CT	78,8 N=36	6,0	66,2 N=23	7,2	0,734 (0,247-2,184)	0,578
TT	68,4 N=47	5,5	56,2 N=26	6,2	0,952 (0,336-2,699)	0,927
<i>rs9282641</i>						
AA	- N=0	-	- N=0	-	1	
AG	57,1 N=12	10,8	51,9 N=8	11,0	0,164 (0,032-0,828)	0,029
GG	75,9 N=78	4,1	63,0 N=45	4,9	0,131 (0,029-0,589)	0,008
<i>rs949143</i>						
AA	74,0 N=45	5,6	61,2 N=28	6,4	1	
AG	67,3 N=34	6,4	62,1 N=19	6,9	1,089 (0,610-1,945)	0,773
GG	78,6 N=10	11,0	50,5 N=5	15,0	1,374 (0,590-3,200)	0,461

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs10201872</i>						
C	77,9	2,8	71,7	3,2	1	
	N=162		N=107			
T	82,0	6,2	61,5	8,6	1,178 (0,646-2,148)	0,592
	N=28		N=17			
<i>rs10466829</i>						
A	76,6	3,6	65,8	4,3	1	
	N=98		N=65			
G	81,1	3,6	74,9	4,2	0,754 (0,472-1,206)	0,239
	N=93		N=59			
<i>rs11129295</i>						
C	84,3	3,0	75,7	3,8	1	
	N=117		N=74			
T	74,7	4,4	64,1	5,1	1,601 (0,992-2,586)	0,054
	N=70		N=44			
<i>rs11154801</i>						
A	79,1	4,0	69,6	4,7	1	
	N=81		N=51			
C	79,0	3,3	70,7	3,9	0,985 (0,618-1,569)	0,948
	N=113		N=74			
<i>rs11810217</i>						
C	77,6	3,1	68,4	3,7	1	
	N=131		N=83			
T	82,2	4,3	74,3	5,2	0,829 (0,496-1,387)	0,475
	N=62		N=42			
<i>rs12212193</i>						
A	78,5	3,5	74,1	3,8	1	
	N=105		N=69			
G	79,4	3,8	65,5	4,7	1,201 (0,759-1,901)	0,434
	N=89		N=55			

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
A	79,4 N=119	3,2	70,0 N=76	3,9	1	
G	78,1 N=75	4,1	70,4 N=48	4,8	1,020 (0,638-1,630)	0,935
<i>rs12466022</i>						
A	80,3 N=34	5,9	68,9 N=17	7,3	1	
C	78,8 N=159	2,8	70,6 N=107	3,3	0,978 (0,537-1,781)	0,941
<i>rs1250550</i>						
G	77,6 N=140	3,1	69,1 N=90	3,5	1	
T	82,4 N=54	4,6	72,9 N=35	5,7	0,795 (0,462-1,369)	0,408
<i>rs13192841</i>						
A	84,2 N=63	4,0	76,3 N=41	5,0	1	
G	76,4 N=128	3,2	67,1 N=81	3,7	1,508 (0,886-2,568)	0,130
<i>rs13333054</i>						
C	77,1 N=153	2,9	69,7 N=98	3,4	1	
T	86,1 N=40	4,9	72,0 N=26	6,7	0,908 (0,507-1,627)	0,746
<i>rs1335532</i>						
C	87,8 N=21	6,6	78,0 N=12	8,8	1	
T	78,1 N=173	2,7	69,4 N=112	3,2	1,607 (0,648-3,985)	0,306

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p	
SNP							
<i>rs140522</i>							
A	74,7 N=57	4,9	61,1 N=30	5,9	1	0,090	
G	81,0 N=137		74,1 N=94				3,4
<i>rs1520333</i>							
C	71,2 N=53	5,1	64,1 N=29	5,7	1		0,086
T	82,6 N=141		73,1 N=96			3,5	
<i>rs17066096</i>							
A	79,0 N=142	3,0	71,0 N=91	3,5	1	0,766	
G	78,5 N=52		67,7 N=33				5,9
<i>rs17174870</i>							
C	79,7 N=158	2,8	70,2 N=106	3,3	1		0,743
T	75,5 N=35		70,9 N=18			6,6	
<i>rs1738074</i>							
A	77,9 N=66	4,4	69,7 N=45	5,0	1	0,995	
G	79,5 N=128		70,4 N=80				3,7
<i>rs2019960</i>							
C	74,7 N=37	6,1	68,2 N=23	6,6	1		0,562
T	80,3 N=154		71,0 N=101			3,4	

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
A	89,5 N=15	7,0	80,5 N=9	10,6	1	
C	78,2 N=178	2,7	69,4 N=116	3,1	1,905 (0,600-6,052)	0,274
<i>rs2243123</i>						
C	70,3 N=41	5,9	66,8 N=30	6,1	1	
T	81,6 N=153	2,8	71,0 N=94	3,5	0,769 (0,460-1,287)	0,318
<i>rs2248359</i>						
C	75,4 N=117	3,4	69,4 N=83	3,7	1	
T	84,9 N=76	3,7	70,5 N=41	5,2	0,907 (0,559-1,471)	0,692
<i>rs2283792</i>						
G	76,3 N=114	3,4	65,6 N=76	4,0	1	
T	83,3 N=80	3,7	78,2 N=48	4,3	0,663 (0,402-1,093)	0,107
<i>rs2293370</i>						
C	79,4 N=174	2,7	71,2 N=111	3,1	1	
T	75,2 N=19	8,1	62,0 N=14	9,7	1,316 (0,675-2,565)	0,420
<i>rs2300603</i>						
C	76,8 N=53	4,9	69,1 N=31	5,8	1	
T	79,9 N=141	3,0	70,7 N=94	3,5	0,900 (0,542-1,495)	0,685

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
G	81,1 N=49	4,9	75,4 N=36	5,6	1	
T	78,2 N=144	3,0	68,3 N=89	3,5	1,326 (0,752-2,340)	0,330
<i>rs2546890</i>						
A	75,5 N=84	4,0	68,2 N=56	4,5	1	
G	81,6 N=108	3,3	71,6 N=69	4,0	-	
<i>rs3118470</i>						
C	78,9 N=50	5,0	69,3 N=30	6,0	1	
T	78,5 N=140	3,0	69,7 N=90	3,5	0,975 (0,578-1,644)	0,923
<i>rs4410871</i>						
C	79,0 N=137	3,0	70,1 N=88	3,6	1	
T	79,0 N=56	4,7	70,4 N=36	5,6	1,014 (0,611-1,684)	0,956
<i>rs4613763</i>						
C	75,0 N=21	8,2	64,3 N=11	9,9	1	
T	78,8 N=172	2,7	70,7 N=113	3,2	0,847 (0,421-1,702)	0,641
<i>rs4648356</i>						
A	76,0 N=54	4,9	57,8 N=29	6,3	1	
C	80,3 N=140	2,9	75,2 N=95	3,3	0,617 (0,385-0,989)	0,045

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
C	77,0 N=100	3,6	68,1 N=66	4,2	1	
T	81,3 N=94	3,5	72,6 N=58	4,3	0,856 (0,539-1,360)	0,511
<i>rs669607</i>						
G	81,4 N=101	3,4	73,7 N=66	4,1	1	
T	76,0 N=91	3,8	66,0 N=56	4,5	1,383 (0,871-2,197)	0,169
<i>rs7200786</i>						
A	82,7 N=	3,4	72,0 N=65	4,2	1	
G	75,2 N=91	3,8	68,4 N=60	4,3	1,252 (0,789-1,985)	0,340
<i>rs7238078</i>						
G	79,4 N=38	5,8	69,7 N=22	6,9	1	
T	79,0 N=156	2,8	70,5 N=102	3,3	1,022 (0,571-1,831)	0,941
<i>rs7522462</i>						
A	71,4 N=33	6,5	66,5 N=23	6,9	1	
G	80,7 N=159	2,7	70,9 N=101	3,3	0,799 (0,459-1,392)	0,429
<i>rs7595037</i>						
C	75,2 N=70	4,4	67,0 N=42	5,0	1	
T	81,1 N=123	3,1	71,9 N=83	3,7	0,751 (0,472-1,195)	0,227

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de brotes en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs7923837</i>						
A	86,2 N=59	4,1	78,1 N=38	5,0	1	
G	76,0 N=134	3,2	67,0 N=86	3,7	1,597 (0,905-2,819)	0,106
<i>rs802734</i>						
C	83,7 N=58	4,3	70,8 N=39	5,6	1	
T	77,0 N=135	3,1	70,1 N=86	3,5	1,020 (0,614-1,694)	0,938
<i>rs8112449</i>						
A	81,8 N=60	4,4	68,4 N=35	5,7	1	
G	77,6 N=133	3,1	70,8 N=89	3,5	0,936 (0,571-1,534)	0,793
<i>rs874628</i>						
C	78,5 N=49	5,1	72,5 N=32	5,8	1	
T	79,1 N=144	2,9	69,3 N=92	3,5	1,102 (0,640-1,896)	0,726
<i>rs9282641</i>						
A	56,0 N=14	9,9	51,7 N=10	10,1	1	
G	81,6 N=180	2,5	72,2 N=114	3,1	0,464 (0,250-0,862)	0,015
<i>rs949143</i>						
A	77,2 N=131	3,2	69,8 N=88	3,6	1	
G	83,1 N=62	4,1	71,1 N=36	5,5	0,934 (0,566-1,539)	0,788

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs10201872</i>						
C	86,9 N=172	2,3	79,9 N=113	2,9	1	
T	97,2 N=35	2,7	90,5 N=25	5,3	0,640 (0,274-1,495)	0,302
<i>rs10466829</i>						
A	86,8 N=106	3,0	75,7 N=69	4,0	1	
G	90,2 N=99	2,8	88,1 N=69	3,1	0,503 (0,283-0,894)	0,019
<i>rs11129295</i>						
C	87,2 N=118	2,8	81,3 N=80	3,4	1	
T	89,2 N=81	3,2	79,7 N=50	4,5	1,043 (0,605-1,798)	0,878
<i>rs11154801</i>						
A	0,888 N=85	3,2	82,6 N=57	4,0	1	
C	88,4 N=123	2,7	80,9 N=82	3,4	1,221 (0,703-2,123)	0,479
<i>rs11810217</i>						
C	88,2 N=141	2,5	81,6 N=95	3,1	1	
T	89,5 N=67	3,5	81,5 N=44	4,7	1,029 (0,572-1,853)	0,924
<i>rs12212193</i>						
A	87,3 N=112	2,9	81,1 N=72	3,5	1	
G	90,0 N=96	2,9	82,2 N=66	3,9	0,848 (0,492-1,463)	0,553

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
A	88,4 N=125	2,6	80,1 N=82	3,5	1	
G	88,7 N=83	3,2	83,7 N=56	3,9	0,982 (0,568-1,697)	0,948
<i>rs12466022</i>						
A	90,7 N=39	4,4	79,7 N=20	6,5	1	
C	88,1 N=169	2,3	82,0 N=118	2,8	0,883 (0,442-1,762)	0,723
<i>rs1250550</i>						
G	89,3 N=153	2,3	83,8 N=104	2,9	1	
T	86,5 N=55	4,2	75,3 N=35	5,6	1,609 (0,925-2,796)	0,092
<i>rs13192841</i>						
A	93,8 N=70	2,7	89,2 N=47	3,6	1	
G	86,0 N=136	2,7	77,8 N=89	3,4	1,984 (0,995-3,954)	0,052
<i>rs13333054</i>						
C	86,7 N=164	2,4	80,4 N=107	3,0	1	
T	96,0 N=43	2,8	86,4 N=31	5,2	0,577 (0,270-1,233)	0,156
<i>rs1335532</i>						
C	88,1 N=21	6,5	77,7 N=12	8,9	1	
T	88,6 N=187	2,1	82,0 N=126	2,7	0,813 (0,346-1,908)	0,634

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p	
SNP							
<i>rs140522</i>							
A	87,6 N=62	3,9	81,0 N=39	4,8	1	0,551	
G	89,0 N=146		81,9 N=99				3,1
<i>rs1520333</i>							
C	91,8 N=63	3,2	78,9 N=34	5,3	1		0,898
T	87,2 N=145		82,4 N=105			3,0	
<i>rs17066096</i>							
A	87,7 N=151	2,5	80,2 N=100	3,1	1	0,562	
G	90,8 N=57		85,2 N=38				4,6
<i>rs17174870</i>							
C	87,9 N=169	2,3	80,3 N=118	2,9	1		0,687
T	91,1 N=39		88,0 N=20			5,1	
<i>rs1738074</i>							
A	87,2 N=72	3,6	78,8 N=47	4,6	1	0,066	
G	89,3 N=136		83,1 N=92				3,1
<i>rs2019960</i>							
C	85,4 N=39	5,1	82,9 N=27	5,5	1		0,803
T	89,7 N=167		81,5 N=111			2,9	

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
A	89,5 N=15	7,0	79,5 N=8	11,3	1	
C	88,5 N=192	2,1	81,6 N=131	2,7	0,816 (0,293-2,271)	0,696
<i>rs2243123</i>						
C	82,5 N=46	5,0	78,8 N=35	5,4	1	
T	90,4 N=162	2,2	82,3 N=103	3,0	0,832 (0,458-1,512)	0,546
<i>rs2248359</i>						
C	85,7 N=128	2,8	78,3 N=90	3,4	1	
T	94,4 N=80	2,4	88,3 N=49	3,7	0,594 (0,321-1,098)	0,097
<i>rs2283792</i>						
G	86,5 N=123	2,8	78,7 N=87	3,5	1	
T	91,8 N=85	2,8	86,4 N=51	3,7	0,626 (0,349-1,125)	0,117
<i>rs2293370</i>						
C	88,5 N=185	2,2	81,3 N=	2,8	1	
T	88,5 N=23	6,3	84,0 N=19	7,3	0,703 (0,253-1,958)	0,501
<i>rs2300603</i>						
C	88,1 N=56	3,9	80,0 N=34	5,3	1	
T	88,7 N=152	2,4	82,1 N=105	3,0	0,897 (0,494-1,629)	0,720

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
G	90,1 N=53	3,9	83,9 N=36	5,0	1	0,998
T	88,0 N=155	2,4	80,8 N=103	3,0	1,001 (0,522-1,919)	
<i>rs2546890</i>						
A	84,7 N=92	3,4	79,3 N=65	4,0	1	
G	91,7 N=115	2,4	83,3 N=74	3,5	-	
<i>rs3118470</i>						
C	95,2 N=56	2,7	86,9 N=35	4,7	1	0,072
T	86,0 N=148	2,6	79,2 N=99	3,2	1,934 (0,942-3,972)	
<i>rs4410871</i>						
C	90,8 N=154	2,2	84,6 N=105	2,9	1	0,027
T	83,1 N=53	4,5	73,7 N=33	5,6	1,861 (1,073-3,227)	
<i>rs4613763</i>						
C	85,7 N=22	6,6	76,2 N=13	8,7	1	0,154
T	88,8 N=185	2,2	82,1 N=125	2,7	0,576 (0,269-1,230)	
<i>rs4648356</i>						
A	89,9 N=59	3,6	74,5 N=34	5,8	1	0,203
C	88,0 N=149	2,5	84,1 N=104	2,8	0,695 (0,397-1,217)	

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
C	87,0 N=109	2,9	83,5 N=79	3,3	1	
T	90,3 N=99	2,8	79,1 N=59	4,1	0,985 (0,577-1,682)	0,955
<i>rs669607</i>						
G	88,5 N=105	2,9	84,6 N=74	3,4	1	
T	88,4 N=101	2,9	78,0 N=62	4,1	1,337 (0,781-2,287)	0,290
<i>rs7200786</i>						
A	87,8 N=103	3,0	78,7 N=68	3,9	1	
G	89,2 N=105	2,8	84,3 N=71	3,4	0,664 (0,381-1,157)	0,149
<i>rs7238078</i>						
G	84,6 N=38	5,4	82,3 N=26	5,7	1	
T	89,5 N=170	2,2	81,4 N=112	2,9	1,253 (0,612-2,568)	0,538
<i>rs7522462</i>						
A	86,4 N=36	5,2	78,8 N=24	6,3	1	
G	88,9 N=170	2,2	82,1 N=114	2,9	1,091 (0,546-2,177)	0,806
<i>rs7595037</i>						
C	87,7 N=75	3,5	79,1 N=43	4,6	1	
T	89,0 N=133	2,5	82,9 N=96	3,1	0,819 (0,473-1,419)	0,476

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de progresión de la discapacidad en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs7923837</i>						
A	88,5 N=60	3,8	86,8 N=44	4,1	1	
G	88,6 N=148	2,4	79,3 N=94	3,3	1,331 (0,713-2,486)	0,369
<i>rs802734</i>						
C	88,5 N=60	3,8	75,3 N=39	5,4	1	
T	88,5 N=148	2,4	84,2 N=100	2,9	0,627 (0,364-1,080)	0,092
<i>rs8112449</i>						
A	89,3 N=64	3,6	76,9 N=36	5,4	1	
G	88,2 N=144	2,5	83,4 N=102	2,9	0,780 (0,446-1,364)	0,384
<i>rs874628</i>						
C	91,4 N=52	3,7	78,2 N=30	5,9	1	
T	87,6 N=155	2,4	82,4 N=108	2,9	1,002 (0,542-1,855)	0,994
<i>rs9282641</i>						
A	82,0 N=18	8,2	76,9 N=13	9,1	1	
G	89,3 N=190	2,1	82,1 N=126	2,7	1,084 (0,431-2,726)	0,864
<i>rs949143</i>						
A	88,7 N=144	2,5	81,8 N=97	3,1	1	
G	88,4 N=64	3,7	81,1 N=41	4,9	1,144 (0,649-2,017)	0,642

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs10201872</i>						
C	69,6	3,1	60,6	3,4	1	
	N=145		N=89			
T	79,7	6,4	53,7	8,8	0,947 (0,556-1,613)	0,840
	N=30		N=15			
<i>rs10466829</i>						
A	67,0	4,0	51,4	4,5	1	
	N=87		N=50			
G	75,1	4,0	68,9	4,4	0,521 (0,214-1,268)	0,150
	N=86		N=54			
<i>rs11129295</i>						
C	74,6	3,6	63,6	4,2	1	
	N=104		N=61			
T	68,5	4,7	54,3	5,3	1,326 (0,893-1,969)	0,161
	N=65		N=37			
<i>rs11154801</i>						
A	71,4	4,4	59,8	5,0	1	
	N=73		N=44			
C	71,1	3,7	59,7	4,2	1,015 (0,688-1,498)	0,940
	N=103		N=61			
<i>rs11810217</i>						
C	70,3	3,4	59,1	3,9	1	
	N=119		N=71			
T	73,4	5,0	61,0	5,8	0,991 (0,654-1,503)	0,967
	N=57		N=34			
<i>rs12212193</i>						
A	69,8	3,9	61,9	4,3	1	
	N=93		N=56			
G	72,6	4,1	57,0	4,9	0,982 (0,669-1,443)	0,927
	N=83		N=48			

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs12368653</i>						
A	71,0 N=107	3,6	58,6 N=62	4,1	1	
G	71,1 N=69	4,5	61,2 N=42	5,1	0,984 (0,665-1,456)	0,934
<i>rs12466022</i>						
A	73,4 N=32	6,6	53,4 N=12	8,1	1	
C	70,8 N=144	3,1	61,0 N=92	3,5	0,870 (0,533-1,418)	0,576
<i>rs1250550</i>						
G	70,6 N=128	3,3	60,2 N=77	3,7	1	
T	72,4 N=48	5,4	57,8 N=28	6,3	1,048 (0,686-1,600)	0,830
<i>rs13192841</i>						
A	81,8 N=61	4,2	70,8 N=37	5,3	1	
G	66,0 N=112	3,6	54,1 N=65	4,0	1,905 (1,190-3,050)	0,007*
<i>rs13333054</i>						
C	67,9 N=136	3,3	58,2 N=81	3,6	1	
T	84,1 N=39	5,2	65,3 N=23	7,1	0,787 (0,478-1,296)	0,347
<i>rs1335532</i>						
C	72,4 N=18	8,9	53,5 N=8	10,5	1	
T	71,1 N=158	3,0	60,4 N=96	3,4	0,969 (0,518-1,811)	0,921

*No alcanzó la significación estadística en el análisis multivariado. A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs140522</i>						
A	65,6 N=50	5,4	50,7 N=24	6,1	1	
G	73,7 N=126	3,3	63,5 N=80	3,8	0,701 (0,470-1,047)	0,082
<i>rs1520333</i>						
C	66,1 N=50	5,3	55,8 N=25	6,0	1	
T	73,5 N=126	3,3	61,4 N=80	3,8	0,784 (0,522-1,176)	0,239
<i>rs17066096</i>						
A	70,4 N=127	3,4	59,2 N=75	3,8	1	
G	72,9 N=49	5,3	60,4 N=29	6,2	0,882 (0,566-1,373)	0,577
<i>rs17174870</i>						
C	71,5 N=143	3,1	59,4 N=90	3,6	1	
T	69,3 N=32	6,6	61,6 N=14	7,2	1,169 (0,717-1,906)	0,532
<i>rs1738074</i>						
A	68,0 N=59	4,9	55,9 N=35	5,5	1	
G	72,8 N=117	3,5	61,6 N=70	4,0	0,779 (0,528-1,150)	0,209
<i>rs2019960</i>						
C	64,8 N=33	6,7	56,3 N=	7,0	1	
T	72,9 N=141	3,1	60,5 N=84	3,6	0,772 (0,492-1,212)	0,261

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2119704</i>						
A	84,2 N=14	8,4	74,9 N=7	11,5	1	
C	70,2 N=161	3,0	58,5 N=97	3,3	1,623 (0,661-3,987)	0,291
<i>rs2243123</i>						
C	61,8 N=36	6,3	56,5 N=26	6,4	1	
T	73,9 N=140	3,1	60,2 N=78	3,7	0,829 (0,535-1,284)	0,400
<i>rs2248359</i>						
C	66,0 N=103	3,7	57,4 N=68	4,0	1	
T	80,6 N=73	4,1	63,6 N=37	5,5	0,777 (0,514-1,176)	0,232
<i>rs2283792</i>						
G	66,6 N=101	3,8	52,5 N=60	4,2	1	
T	78,3 N=75	4,1	72,0 N=44	4,7	0,283 (0,084-0,954)	0,042
<i>rs2293370</i>						
C	71,0 N=157	3,0	59,8 N=92	3,4	1	
T	71,5 N=19	8,6	58,1 N=13	9,9	0,966 (0,517-1,806)	0,915
<i>rs2300603</i>						
C	67,0 N=46	5,5	57,4 N=25	6,2	1	
T	72,9 N=130	3,3	60,6 N=80	3,8	0,830 (0,546-1,264)	0,385

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs2303759</i>						
G	71,7 N=45	5,7	64,1 N=30	6,2	1	
T	70,8 N=131	3,3	58,0 N=75	3,8	1,121 (0,710-1,770)	0,625
<i>rs2546890</i>						
A	66,1 N=75	4,4	57,0 N=48	4,8	1	
G	75,0 N=100	3,7	61,6 N=57	4,4	-	
<i>rs3118470</i>						
C	74,2 N=47	5,4	62,5 N=26	6,3	1	
T	69,3 N=125	3,4	57,6 N=74	3,8	1,142 (0,728-1,792)	0,564
<i>rs4410871</i>						
C	73,9 N=129	3,3	62,5 N=78	3,8	1	
T	64,5 N=46	5,5	52,6 N=26	6,1	1,399 (0,934-2,094)	0,103
<i>rs4613763</i>						
C	64,3 N=18	9,1	47,5 N=7	10,7	1	
T	71,2 N=157	3,0	60,7 N=97	3,4	0,763 (0,426-1,366)	0,363
<i>rs4648356</i>						
A	69,2 N=49	5,4	46,0 N=23	6,4	1	
C	72,1 N=127	3,3	65,1 N=81	3,6	0,668 (0,448-0,994)	0,047*

*No alcanzó la significación estadística en el análisis multivariado. A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLES	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	p
SNP						
<i>rs4902647</i>						
C	69,7 N=91	4,0	59,2 N=57	4,4	1	
T	72,9 N=85	4,0	60,2 N=47	4,7	0,962 (0,655-1,411)	0,841
<i>rs669607</i>						
G	72,7 N=91	3,9	61,6 N=56	4,5	1	
T	68,9 N=83	4,1	56,8 N=46	4,7	1,256 (0,856-1,844)	0,243
<i>rs7200786</i>						
A	74,8 N=93	3,9	60,3 N=53	4,6	1	
G	67,3 N=83	4,2	58,8 N=52	4,5	1,155 (0,784-1,701)	0,467
<i>rs7238078</i>						
G	73,2 N=35	6,4	61,4 N=19	7,2	1	
T	70,8 N=141	3,2	59,4 N=85	3,6	1,151 (0,700-1,893)	0,579
<i>rs7522462</i>						
A	65,2 N=30	6,8	55,5 N=18	7,4	1	
G	72,4 N=144	3,1	60,4 N=86	3,6	0,900 (0,557-1,452)	0,665
<i>rs7595037</i>						
C	66,8 N=63	4,8	56,0 N=33	5,4	1	
T	73,6 N=113	3,5	61,6 N=72	4,0	0,764 (0,517-1,127)	0,175

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.

Continuación pacientes libres de actividad clínica (ni brotes ni progresión de la discapacidad) en función del alelo.

VARIABLE S	PROBABILIDAD ACUMULADA % (12 meses)	ERROR ESTÁNDAR	PROBABILIDAD ACUMULADA % (24 meses)	ERROR ESTÁNDAR	HR (IC 95%)	P
SNP						
<i>rs7923837</i>						
A	79,2 N=55	4,8	69,5 N=34	5,6	1	
G	67,9 N=121	3,5	55,6 N=70	3,9	1,434 (0,909-2,262)	0,121
<i>rs802734</i>						
C	75,3 N=53	5,1	59,2 N=32	6,0	1	
T	69,4 N=123	3,4	59,9 N=73	3,8	0,906 (0,600-1,369)	0,640
<i>rs8112449</i>						
A	73,9 N=55	5,0	56,7 N=27	6,2	1	
G	69,8 N=121	3,4	60,6 N=77	3,8	0,890 (0,592-1,340)	0,578
<i>rs874628</i>						
C	72,4 N=46	5,5	62,5 N=27	6,3	1	
T	70,7 N=129	3,3	58,5 N=77	3,7	1,115 (0,711-1,749)	0,636
<i>rs9282641</i>						
A	48,0 N=12	10,0	43,6 N=8	10,0	1	
G	73,7 N=164	2,9	61,4 N=96	3,4	0,588 (0,334-1,033)	0,065
<i>rs949143</i>						
A	71,5 N=121	3,4	60,8 N=75	3,8	1	
G	70,7 N=55	5,0	57,3 N=29	6,0	1,115 (0,743-1,674)	0,599

A: adenina; C: citosina; G: guanina; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; SNP: polimorfismos de nucleótido simple; T: timina.