

Identifikation af biomarkører der kan forbedre diagnostik, prædiktere behandlingseffekt og bivirkninger samt prognosticere sygdomsforløb hos patienter med inflammatoriske gigtsygdomme i DANBIO databasen

REUM BIOMARKØRER

Protokollens navn: REUM BIOMARKØRER

Sagsnummer hos Videnskabsetisk Komite: H-2-2014-086 (godkendt 2014-11-11)

Sagsnummer hos Sundhedsstyrelsen: Ikke relevant, da der ikke er tale om et lægemiddelforsøg

Region Hovedstaden (Forskningsjura): RH-2015-297, I-Suite 04318

Protokolversion 1: 2014-09-11

Protokolversion 2: 2014-10-30

Protokolversion 3: 2023-02-14

Forsøgsansvarlig projektleder og sponsor

Professor, overlæge, dr. med., ph.d. Merete Lund Hetland

Københavns Center for Artritforskning

Videncenter for Reumatologi og Rygsygdomme VRR

Glostrup Hospital

Nordre Ringvej 57

2600 Glostrup

Telefon: 38633330, mobil: 40295050

E-mail: merete.hetland@dadlnet.dk

Øvrige i projektgruppen

- Professor, overlæge, dr. med. Julia S. Johansen, Medicinsk og Onkologisk afdeling, Herlev Hospital
- Seniorforsker, leder af Dansk CancerBiobank, dr. med. Estrid V. Høgdall, Patologiafdelingen, Herlev Hospital
- Klinisk projektleder, Bente Glintborg, Dansk Reuma Biobank, Glostrup Hospital
- Laboratorie projektleder, Tina Kringelbach, Dansk Reuma Biobank, Herlev Hospital.

Projektansvarlige på de deltagende reumatologiske afdelinger

På ansøgningstidspunktet har følgende givet tilsagn om deltagelse:

- Overlæge, ph.d. Lene Dreyer, Reumatologisk funktion, Medicinsk afdeling C, Gentofte Hospital
- Overlæge Johnny Ravn, Reumatologisk afsnit, Fredericia Sygehus
- Professor, overlæge, dr.med., ph.d. Mikkel Østergaard, Københavns Center for Artritforskning, Videnscenter for reumatologi og rygsygdomme, Glostrup Hospital
- Professor, overlæge, dr.med. Kim Hørslev-Petersen, Kong Christian X Gigthospital i Gråsten
- Professor, overlæge, dr.med. Henning Bliddal, Parker Institut, Frederiksberg Hospital
- Overlæge Claus Rasmussen, Reumatologisk afdeling, Hjørring Sygehus
- Professor, overlæge, ph.d. Torkell Ellingsen, Reumatologisk afdeling, Odense Universitetssygehus

- Professor, overlæge, dr.med. Søren Jacobsen, Reumatologisk afdeling, Rigshospitalet, København
- Overlæge Tove Lorenzen, Diagnostisk Center, Regionshospitalet Silkeborg
- Overlæge Inger Marie Jensen Hansen, Svendborg Sygehus
- Overlæge Annette Schlemmer, Reumatologisk afdeling, Ålborg Sygehus
- Professor, overlæge, dr.med. Kristian Stengaard-Pedersen, Reumatologisk afdeling, Århus Universitetshospital

Andre deltagere i projektet

- Overlæge Niklas Rye Jørgensen, Diagnostisk Enhed, Glostrup Hospital
- Formand for Dansk Reumatologisk Selskab
- Formand for Danske Reumatologers og Fysiurgers Organisation

Indholdsfortegnelse

1. Forkortelser	4
2. Forsøgets formål og hypotese	5
3. Baggrund og problemstilling	5
Inflammatoriske gigtsygdomme	5
DANBIO databasen	6
Medicinsk behandling	6
Nuværende monitorering af sygdomsaktivitet og -progression	6
Nuværende monitorering af komorbiditeter	7
Biomarkører til monitorering af gigtsygdomme	7
Potentielle biomarkører, der vil blive undersøgt i aktuelle forsøg	8
5. Forsøgets design, metode og styrkeberegning	9
6. Oprettelse af en forskningsbiobank	10
7. Statistiske overvejelser	12
8. Forsøgspersonerne, herunder in- og eksklusionskriterier	12
9. Bivirkninger, risici og ulemper for forsøgspersoner	12
10. Respekten for forsøgspersonernes fysiske og mentale integritet samt privatlivets fred	13
11. Økonomiske forhold	13
12. Hvervning af deltagere	13
13. Tilgængelighed af oplysninger for forsøgspersoner	14
14. Offentliggørelse af forsøgsresultater	14
15. Videnskabsetisk redegørelse	14
16. Deltagerinformation	16
17. Forsøgspersoners rettigheder i et biomedicinsk forskningsprojekt	16
18. Samtykkeerklæring	16
19. Blodprøvehåndtering	16
20. Vejledning til projektprøver	19
21. DANBIO spørgsmål til patienten samt kliniske og parakliniske variable, der indsamles rutinemæssigt	20
22. Referencer	20

1. Forkortelser

AS	Ankyloserende spondylitis (Mb. Bechterew, rygsøjlegigt)		
CNV	Copy number variation		
CTX	C-terminale telopeptid af kollagen		
DANBIO	Dansk Reumatologisk Database		
DKK-1	Dickkopf 1 protein		
DMARD	Disease-modifying anti-rheumatic drug (sygdomsmodificerende medicin)		
DNA	Deoxyribonucleic acid		
hs-CRP	High sensitive C-reaktivt protein		
IL	Interleukin		
JAK	Janus Kinase		
MikroRNA	Et lille, ikke-kodende stykke RNA		
MMP-3	Matrix metalloproteinase 3		
MR	Magnet resonans		
NGS	Next generation sequencing		
PM	Polymyositis		
PSA	Psoriasis arthritis (psoriasisgigt)		
RA	Reumatoid arthritis (kronisk leddegigt)		
RNA	Ribonucleic acid		
SLE	Systemisk lupus erythematosus		
SNP	Single nukleotid polymorfi		
TNF α	Tumour nekrose faktor alfa		
UL	Ultralyd		
VEGF	Vaskulær endothelial vækstfaktor		
VEK	Videnskabsetisk Komite		
VRR	Videncenter for Reumatologi og Rygsygdomme		
WGS	Whole genome sequencing/scanning		
YKL-40	et mammalian chitinase-like protein		

2. Forsøgets formål og hypotese

Formålet med dette observationelle, prospektive, translationelle biomarkørforsøg, som omfatter biologisk materiale fra blod, led og brusk- og knoglevæv fra patienter med inflammatoriske gigtsygdomme, der følges i klinisk praksis, er at identificere een, flere eller et panel af nedenstående biomarkører.

I forsøget udtages biologisk materiale til undersøgelse af følgende **hypoteser**:

1. At mikroRNA-ekspressionsprofiler kan *diagnosticere* sygdommen på et tidligt tidspunkt, *prædiktere* behandlingsrespons og bivirkninger samt *prognosticere* sygdommens forløb.
2. At gen- og SNPs-profiler kan *diagnosticere* sygdommen på et tidligt tidspunkt, *prædiktere* behandlingsrespons og bivirkninger samt *prognosticere* sygdommens forløb.
3. At protein-ekspressionsprofiler kan *diagnosticere* sygdommen på et tidligt tidspunkt, *prædiktere* behandlingsrespons og bivirkninger samt *prognosticere* sygdommens forløb.
4. At metabolit-ekspressionsprofiler kan *diagnosticere* sygdommen på et tidligt tidspunkt, *prædiktere* behandlingsrespons og bivirkninger samt *prognosticere* sygdommens forløb.

Med denne viden vil man herefter i fremtiden forhåbentligt kunne:

- Afklare (diagnosticere) tidligere i sygdomsforløbet, om en patient med gigtsymptomer har en inflammatorisk gigtsygdom samt udføre basalforskning vedr. sygdomsmekanismer.
- Identificere patienter med inflammatoriske gigtsygdomme, der har stor sandsynlighed for at respondere positivt på en eller flere medicinske behandlinger (og tilsvarende identificere de patienter, som har stor risiko for at en behandling ikke virker på dem).
- Identificere patienter med inflammatoriske gigtsygdomme, der har stor risiko for at udvikle alvorlige bivirkninger til en eller flere medicinske behandlinger.
- Identificere patienter med inflammatoriske gigtsygdomme, der har et meget aggressivt sygdomsforløb og derfor skal tilbydes speciel medicinsk behandling.

Projektet vil øge vores viden om inflammatoriske gigtsygdomme og skabe fundamentet for at forbedre sygdomsforløbet og behandlingen af de ramte patienter. Individuelle, målrettede behandlingsforløb ("Personalized medicine"), hvor patienterne behandles med virksom medicin uden bivirkninger vil være en terapeutisk gevinst. Hermed kan vi nå det overordnede mål:

at forbedre livskvaliteten og overlevelsen for patienter med inflammatoriske gigtsygdomme

3. Baggrund og problemstilling

Inflammatoriske gigtsygdomme

Mindst 75.000 danskere lider af kronisk leddegigt (RA), psoriasisgigt (PsA), eller Mb. Bechterew (AS, rygsøjlegigt). Hertil kommer et antal sjældnere bindevævssygdomme som fx systemisk lupus erythematosus (SLE), polymyositis (PM), sclerodermi og Sjögrens syndrom. Disse inflammatoriske gigtsygdomme er lidelser, som medfører smerter og ledødelæggelser, nedsat funktionsevne, følgesygdomme (fx osteoporose og hjertesygdomme), nedsat erhvervsevne og risiko for tidlig død. For at mindske såvel de personlige som de samfundsmæssige omkostninger ved disse kroniske sygdomme er der et stort behov for

yderligere viden om, hvordan de bedst kan behandles, således at sygdommen hos den enkelte patient bringes i ro, uden overbehandling og skadelige bivirkninger. Derved kan følgevirkningerne af sygdommen mindskes så meget, at patienterne kan leve et næsten normalt liv.

DANBIO databasen

DANBIO databasen, som blev etableret i år 2000, er landsdækkende og indeholder aktuelt mere end 25.000 patienter med inflammatoriske gigtsygdomme. DANBIO er godkendt af Sundhedsstyrelsen som kvalitetsdatabase og fungerer i praksis som en slags elektronisk patientjournal for denne gruppe patienter. Patienterne er tilknyttet reumatologiske hospitalsafdelinger eller praktiserende speciallæger i reumatologi. De følges i princippet livslangt i DANBIO. Som led i den rutinemæssige behandling og monitoring registreres prospektivt kliniske og parakliniske oplysninger om den enkelte patient, bl.a. diagnose, sygdommens forløb, de iværksatte behandlinger og deres effekt og bivirkninger, patientens egen vurdering af sin sygdom, resultater af billeddiagnostiske undersøgelser mm. Oplysningerne i DANBIO kan (efter tilladelse fra Videnskabsetisk Komite og Datatilsynet) kobles til andre nationale danske registre (fx Landspatientregistret, Cancerregistret, Receptregistret osv.). Herigennem kan den enkelte patients gigtsygdom og dens følgevirkninger for helbred, erhvervsevne, overlevelse og komorbiditeter følges nøje over mange år.

Medicinsk behandling

Den medicinske behandling af de inflammatoriske gigtsygdomme har undergået en dramatisk forbedring i de seneste ca. 15 år. Det skyldes dels en mere aggressiv behandling med de traditionelle gigtpreparater (kaldet DMARDs), bl.a. cellegiften methotrexate, men også udviklingen af såkaldte biologiske lægemidler som fx. tumor- nekrosis faktor alfa hæmmere (TNF α -hæmmere) har forbedret behandlingsmulighederne for de hårdest ramte patienter. Behandling med biologiske lægemidler er associeret med alvorlige bivirkninger (årligt hos op til 4 %) som f.eks. alvorlige infektioner (årligt hos op til 2 %, svarende til ca. 34 % øgning i risiko), allergiske reaktioner, ligesom der muligvis er en øget risiko for visse typer hudkræft. De biologiske lægemidler er meget kostbare – ca. 100.000 kr. om året for behandling af én patient. I 2012 var de samlede omkostninger til biologiske præparater i Danmark ca. 1 mia kr. For alle de biologiske behandlinger gælder, at de hæmmer immunologiske signalmolekyler som TNF α , interleukin-1, interleukin-6, CD20 overflademolekylet på B-celler og det kostimulatoriske signal CD80/CD86:CD28 mellem T-lymfocytter. Fremover forventer vi, at flere nye biologiske (og ikke-biologiske) lægemidler f.eks. JAK (Janus Kinase) hæmmere og kopipreparater af biologiske lægemidler ("biosimilars") vil blive markedsført.

Biologiske behandlinger anvendes til patienter med inflammatoriske gigtsygdomme, hvis f.eks. behandling med DMARDs har haft utilstrækkelig effekt eller har forårsaget uacceptable bivirkninger. De biologiske lægemidler har god eller moderat effekt hos op til 60 % af patienterne, men efter et til flere års behandling aftager effekten hos en undergruppe af patienter, der så må skifte behandling. På nuværende tidspunkt mangler lægerne redskaber til at prædikere, hvilke præparater der vil være mest egnede for den enkelte patient, både med hensyn til kort- og langsigtet effekt og bivirkninger.

Nuværende monitorering af sygdomsaktivitet og -progression

I daglig klinisk praksis vurderes i overensstemmelse med gældende kliniske retningslinier sygdomsprogression (forværring af ledskaede) hos patienter med inflammatoriske

gigtsygdomme rutinemæssigt med konventionel røntgenundersøgelse samt evt. ultralydsundersøgelse og magnetisk resonans (MR)-skanning.

Nuværende monitorering af komorbiditeter

I daglig praksis anbefales i overensstemmelse med gældende kliniske retningslinier årlig screening for osteoporose (knogleskørhed) med bla. dual-energy-x-ray-absorptionmetry (DXA)-scanning, hjertekarsygdomme (kolesteroltal, blodtryk, body mass index (BMI)), ekstraartikulære manifestationer samt tilstedeværelse af andre komorbiditeter (fx. lungesygdomme, hormonsygdomme, cancersygdomme, mavesår, depression), og resultaterne registreres i DANBIO.

Biomarkører til monitorering af gigtsygdomme

Hvor røntgenundersøgelse giver et billede af den akkumulerede sygdomsaktivitet over flere år, vil måling af egnede cirkulerende biomarkører for inflammation, brusk- og knogleomsætning kunne give et øjebliksbillede af sygdomsrelaterede biokemiske processer.

En biomarkør defineres som "en karakteregenskab, der kan måles objektivt og evalueres som en indikator for en normal biologisk proces, en patologisk proces eller et farmakologisk respons til en terapeutisk intervention". Biomarkørerne kan anvendes til klinisk påvisning af gigtsygdomme (tidlig diagnose) eller klinisk opfølgning (prognose, behandlingseffekt og monitorering med henblik på tidlige tegn på sygdomsprogression). Den ideelle diagnostiske biomarkør kan fastslå en diagnose med høj sensitivitet og specificitet. Prædiktive biomarkører kan forudsige effekt af eller bivirkninger til en given behandling. Prognostiske biomarkører kan derimod forudsige sygdomsforværring uafhængigt af behandling.

Biomarkører omfatter et spektrum af molekyler med forskellige karakteristika. En biomarkør kan fx være et begrænset antal gensekvenser, mikroRNA, DNA, SNP, proteiner eller metabolitter, der kan være relateret til både inflammationsprocesser og biologiske processer i relation til vævsnedbrydning eller medicinomsætning. Omfattende genetisk kortlægning har øget muligheden for udvikling af bedre genetiske biomarkører fx. i form af et panel af biomarkører. Mikroarray teknikker, der kan profilere ekspressionen af titusindvis af gener og hundredvis af mikroRNA samtidigt har revolutioneret dette forskningsfelt.

Identifikation af nye biomarkører i blod, ledvæske og væv fra patienter med inflammatoriske gigtsygdomme har derfor et stort potentiale til at hjælpe med at påvise blandt andet hvilke patienter, der vil have gavn af forskellige behandlinger. Det ville være godt for patienten og samfundsøkonomisk hensigtsmæssigt, hvis man kunne give den rigtige medicin til den rigtige patient på det rigtige tidspunkt og undgå unødvendige/virkningsløse behandlinger og mindske antallet af bivirkninger.

I de senere år har en rivende udvikling fundet sted med hensyn til kortlægning af den menneskelige arvemasse (det humane genom). Der forskes også intensivt i at identificere andre biomarkører (mikroRNA, proteiner og metabolitter), der kan måles i blodet og varierer med sygdomsaktivitet. Samtidigt har forskningen skabt håb om, at netop genetiske faktorer og andre biomarkører måske kan forudsige, hvilken behandling, som gavner den enkelte patient ("Personalized medicine"). Dette er et nyt og hurtigt voksende forskningsfelt. Der findes i dag kun få studier vedr. gen-, RNA-, mikroRNA- og protein-ekspressions samt metabolit-profiler i fuldblod, plasma, serum, ledvæske og væv fra patienter med inflammatoriske gigtsygdomme. Enkelte af disse biomarkører kan skelne mellem syge og raske. Ekspressionen af enkelte af disse biomarkører er associeret til prognosen, men ingen resultater er endnu validerede. Der findes kun små undersøgelser på få patienter af disse mulige nye biomarkører i relation til behandlingsrespons og risiko for bivirkninger, og ingen af fundene er blevet bekræftet.

Med de planlagte undersøgelser i blod, ledvæske og væv af en lang række biomarkører (mikroRNA, gener, SNPs, proteiner og metabolitter) hos patienter med inflammatoriske gigtsygdomme før, under og efter forskellige typer behandling håber vi at øge vores viden om hvilke patienter, der bør tilbydes en specifik og gavnlig behandling. Biomarkørprofilerne målt undervejs i et behandlingsforløb vil desuden kunne hjælpe med at identificere patienter, der skal ophøre med behandlingen pga. ineffektiv terapi, således at patienter ikke behandles unødvendigt.

Potentielle biomarkører, der vil blive undersøgt i aktuelle forsøg

Nedenfor følger et resume vedr. de markører, som vi ønsker at undersøge i aktuelle forsøg. Listen af biomarkører vil løbende blive revideret i takt med den seneste nationale og internationale forskning i feltet. Forskningsfeltet indenfor prædiktive og prognostiske biomarkører hos patienter i biologisk behandling er nyt, og der er endnu ikke identificeret klinisk anvendelige biomarkører til de nævnte formål. Pga. det store antal patienter, der inkluderes i projektet, vil det være muligt at foretage både "discovery-studier" og "trænings- og valideringsstudier".

- **Gen- og mikroRNA ekspressionsprofiler samt SNPs**

Gener, RNA og mikroRNA kan have betydning for farmakokinetiske egenskaber fx. lægemidlers optagelse, halveringstid og binding til receptorer. Det er derfor nærliggende at undersøge om variation i gener, RNA og mikroRNA kan forudsige behandlingseffekt. Genetisk variation dækker blandt andet over begreber som single nukleotid polymorfier (SNP) og copy number variation (CNV). SNP er en ændring af en enkelt base (A, T, C eller G) i et specifikt locus og repræsenterer den hyppigste form for genetisk variation i det humane genom. CNV defineres som en dublikation eller deletion af DNA-segmenter på 1000 basepar eller mere.

Siden opdagelsen af mikroRNA er der sket et paradigmeskift indenfor forståelsen af genregulering. MikroRNA er små ikke-kodende sekvenser på 19-25 nukleotider, som modulerer translationen af messenger-RNA (mRNA). Man kender i dag >2000 forskellige humane mikroRNA, som regulerer gener af betydning for fx inflammation, vævsnedbrydning, angiogenese, apoptose, og fibrose. MikroRNA kan bestemmes i fuldblod, serum, plasma, ledvæske, væv og urin. Cirkulerende mikroRNA er stabilt i blodet, og man forventer i fremtiden at kunne bruge cirkulerende mikroRNA som diagnostiske, prædiktive og prognostiske biomarkører ved en lang række sygdomme heriblandt inflammatoriske gigtsygdomme.

I forsøget vil blive benyttet Next Generation Sequencing (NGS), Whole Genome Sequencing, WGS samt total exom sekventering (Whole Exome Sequencing, WES) og total RNA-sekventering på udvalgte prøver.

- **Proteinmarkører for inflammation, brusk- og knogleomsætning samt "Vectra disease activity test"**

High sensitive C-reaktivt protein (hs-CRP), cytokiner (bl.a. Interleukin (IL)-6, IL-8), "TNF superfamily members" og deres ligander, kemokiner, vaskulær endotheliale growth factor (VEGF) og YKL-40 afspejler inflammation, C-terminal telopeptides of collagen type II (CTXII) og matrix metalloproteinase 3 (MMP-3) afspejler brusk metabolisme og osteocalcin, CTX-I, sclerostin og dickkopf 1 protein (DKK-1) afspejler knoglemetabolisme. "Vectra disease activity test" analyserer 12 biomarkører, relateret til inflammation, brusk og knogle metabolisme, i en test. Disse biomarkører er fundet forhøjet hos patienter med inflammatoriske gigtsygdomme. Deres værdi som

prædiktive og prognostiske biomarkører er ikke velundersøgt hos gigtpatienter i biologisk behandling. Tidligere resultater vil kunne valideres i aktuelle projekt.

- **Antistoffer mod biologisk medicin**

Flere studier har vist, at RA og AS patienter, der udvikler antistoffer mod biologisk behandling (anti-drug antibodies, ADA) har mindre effekt af og/eller øget risiko for bivirkninger til behandlingen. Der er desuden kasuistiske meddelelser om øget dannelse af antistoffer mod kopi-præparater af biologisk medicin (biosimilars). Det er vigtigt at få dette spørgsmål bedre belyst og afklaret.

- **Metabolitter**

Der findes mange tusinde metabolitter (molekyler med molekylær vægt <1.500 Da) i menneskekroppen. "Metabolomics" er studiet af metabolitter i biologiske væsker, væv og isolerede celler. "Metabolome" repræsenterer en dynamisk enhed, som er relateret til genomet af en bestemt organisme og reflekterer den vedvarende interaktion af metaboliske- og signalveje i relation til interaktion med omgivelserne, inkluderende diæt, medicin, patofysiologiske egenskaber m.v. Nuclear Magnetic Resonance (NMR)-spektroskopi er en avanceret metode, der bygger på atomkerners spin. NMR kan bruges til at undersøge molekylers struktur og deres rumlige og elektroniske opbygning. NMR spektra af biologiske prøver indeholder signaler af mange små molekyler, der er til stede i prøven. NMR spektra eller profiler af biologiske prøver er fundet informativt mht. diagnose og prognose af forskellige sygdomme, inklusiv inflammatoriske gigtsygdomme, og vil måske muliggøre inddeling af patienterne i forskellige kategorier (fx rask vs. syg, behandlingseffekt vs. ikke effekt af behandling).

5. Forsøgets design, metode og styrkeberegning

Registrering af patienter i DANBIO databasen sker i overensstemmelse med Sundhedsstyrelsens retningslinier for kliniske kvalitetsdatabaser. Lægemidlerne ordineres som normalt, og beslutningen om at ordinere lægemidlet er klart adskilt fra beslutningen om at inkludere en patient i DANBIO. Selve behandlingen sker ikke efter en forsøgsprotokol men følger almindelig praksis. Der er tale om et observationelt studie.

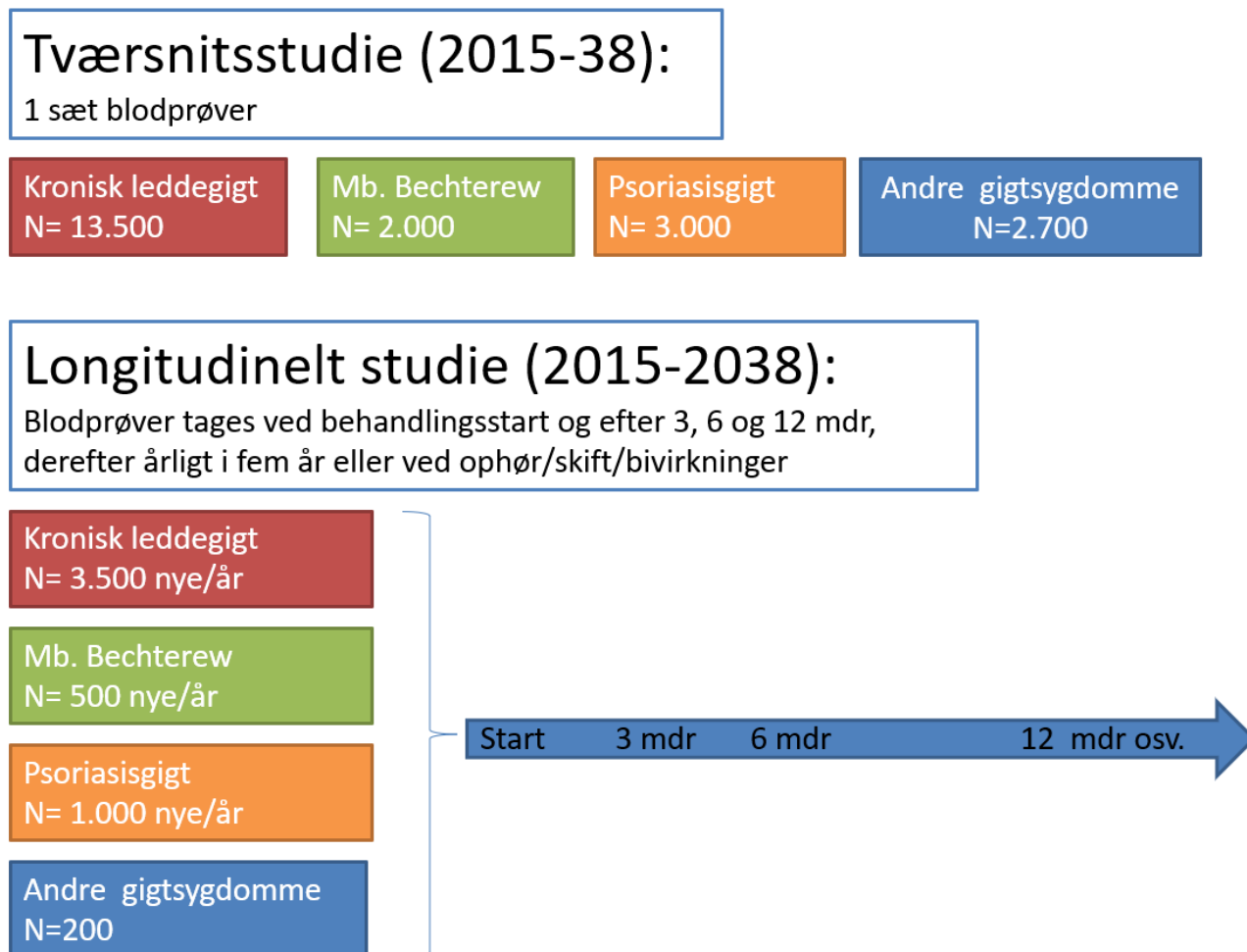
For at teste hypoteserne og nå de opstillede formål planlægges tre delforsøg:

1) Tværsnitsstudie. Alle patienter, som er inkluderet i DANBIO databasen (ialt ca. 20.000 patienter), vil blive adspurgt om at deltage, når de møder til klinisk kontrol for deres gigtsygdom (Figur 1). Disse patienter får udtaget blodprøver een gang og kliniske og parakliniske oplysninger indhentes fra DANBIO databasen og journalgennemgang.

2) Longitudinelt studie. Alle patienter, som er inkluderet i DANBIO databasen, vil blive adspurgt om at deltage i forbindelse med, at de påbegynder ny medicinsk behandling for deres gigtsygdom (ca. 3.000 patienter årligt, figur 1). Der udtages blodprøver før behandlingen påbegyndes, efter 3, 6 og 12 måneder, og derefter årligt i 5 år. Der udtages også blodprøver, hvis behandlingen ophører fx pga. manglende effekt eller bivirkninger. Hvis der skiftes til en anden behandling starter blodprøvetagningen forfra. Ved hver blodprøve indhentes kliniske og parakliniske oplysninger fra DANBIO databasen og journalgennemgang.

3) Indsamling af andet biologisk væv. Patienter, som er inkluderet i DANBIO databasen og får udtaget ledvæske, vævsprøver fra synovialis (ledhinder), brusk-, knogle- eller andet væv inkl. knoglemarv, vil blive adspurgt om at deltage. Repræsentative prøver af det udtagne væv vil blive gemt i forskningsbiobanken med henblik på analyse for de nævnte biomarkører. Det forventes årligt at andrage ca. 700 patienter (ledvæske), ca. 350 patienter (operationsvæv) og 350 patienter (knoglemarvsundersøgelse). Kliniske og parakliniske oplysninger indhentes fra DANBIO databasen og journalgennemgang.

Figur 1. Oversigt over patienter, som potentielt kan indgå i de forskellige studier:



For det longitudinelle studie gælder, at vi forventer at antallet af indsamlede prøver i løbet af forsøgets 10 årige indsamlingsperiode vil give tilstrækkelig statistisk styrke til at identificere såvel prognostiske som prædiktive markører, hvis disse er til stede hos 10 % af patienterne. Da forskningsområdet er jomfrueligt, er det ikke muligt på nuværende tidspunkt at foretage egentlig styrkeberegning.

Alle patienter, som har afgivet informeret samtykke og inkluderes i undersøgelsen, får udtaget 60 ml blod (Tværsnitsstudiet, Baselinebesøg i Longitudinelt studie samt Indsamling af andet væv), til øvrige besøg i Longitudinelt studie udtages 30 ml blod. Blodet fordeles i flere prøverør, som egner sig til de forskellige analyser (se figur 2).

6. Oprettelse af en forskningsbiobank

Vi forventer, at de planlagte forsøg kan forbedre diagnostik, prædiktions af behandlingseffekt, forebyggelse af bivirkninger og langtidsprognose hos patienter med inflammatoriske gigtsygdomme. Herved faciliteres translational forskning på internationalt niveau, som kan føre til identifikation af flere nye biomarkører og udvikling af tilhørende tests. Dette vil være et vigtigt supplement til billeddiagnostik (røntgen, MR, UL og CT scanninger, m.v.), invasiv diagnostik (biopsi, m.v.) og rutineblodprøver (hæmoglobin, leukocytter, differentieltælling, trombocytter, kreatinin, levertal, C-reaktivt protein, autoantistoffer (IgM-reumafaktor, anti-CCP, anti-nukleære antistoffer, anti-DNA), vævstype m.v.).

Alle 24 reumatologiske afdelinger i Danmark (Glostrup, Rigshospitalet, Gentofte, Hillerød, Rønne, Frederiksberg, Køge/Roskilde, Holbæk, Slagelse, Odense, Svendborg, Gråsten Gigthospital, Esbjerg, Fredericia, Horsens, Kolding, Vejle, Silkeborg, Århus, Holstebro, Viborg, Hjørring, Randers, Ålborg) vil i løbet af 2015 blive koblet på Dansk Reuma Biobank, som har til formål at muliggøre indsamling af blodprøver til denne type forskningsbiobanker. Alle reumatologiske afdelinger er derfor blevet inviteret til at deltage i projektet, og på nuværende tidspunkt (august 2014) har 12 afdelinger meldt tilbage, at de ønsker at deltage. For de deltagende afdelinger vil de indsamlede blodprøver blive håndteret i henhold til Dansk Reuma Biobanks laboratoriemmanual for forskningsbiobanker (punkt 18), og opbevaret på de tilhørende Klinisk Biokemiske afdelinger. Patienter, der følges hos praktiserende speciallæger, tilbydes også deltagelse efter nærmere aftale.

Alle projektprøver opbevares kodet. Forskningsbiobanken administreres fra Copenhagen Center for Arthritis Research på Glostrup Hospital i samarbejde med projektgruppen efter nærmere aftale.

DANBIO databasen indeholder de tilhørende kliniske og parakliniske patientdata. I takt med at der inkluderes patienter i forsøget vil disse data blive kontrolleret. Det er en forudsætning for at kunne identificere nye biomarkører på patient-niveau, at alle kliniske oplysninger (fx diagnose, sygdomsaktivitet, behandlinger og deres effekt og bivirkninger) er helt korrekte. I det omfang, at en (for forsøget uvedkommende) undersøgelse, som burde været foretaget som led i den rutinemæssige monitorering, ikke er udført, vil en læge eller en sygeplejerske på afdelingen foranledige at dette finder sted.

De indsamlede blod- og vævsprøver vil blive gemt i højst 15 år i forskningsbiobanken. Evt. overskydende restmateriale (blod- og vævsprøver) vil efter 15 år overgå til en biobank. Såfremt der planlægges nye undersøgelser på materialet vil VEK blive ansøgt om tilladelse hertil.

Hver biomarkør vil blive vurderet i henhold til REMARK anbefalingerne.

Man kender i dag ikke funktionen af alle menneskets gener, RNA, mikroRNA, SNPs, proteiner og metabolitter, der cirkulerer i blodbanen. Forskningsfeltet er i stor udvikling pga. bedre teknikker og der vil sandsynligvis i løbet af den nærmeste årrække blive identificeret en række nye biomarkører hos patienter med inflammatoriske gigtsygdomme.

I det omfang det skønnes formålstjenligt at udføre undersøgelser som ikke kunne forudses på nuværende tidspunkt vil disse kun finde sted efter tilladelse fra Videnskabsetisk Komite. I henhold til projektets formål vil der udover analyse af kendte potentielle biomarkører blive gemt blodprøver, ledvæske og væv til senere analyse af nye, aktuelt ukendte, potentielle biomarkører. Nogle analyser vil blive udført på laboratorier i udlandet. Mens det biologiske materiale befinder sig i udlandet er det omfattet af det pågældende lands lovgivning. Eventuelt

overskydende biologisk materiale efter analyser i udlandet sendes retur til Danmark. Der vil være danske forskere involveret i alle studierne.

7. Statistiske overvejelser

For det longitudinelle studie gælder, at vi forventer at antallet af indsamlede prøver i løbet af forsøgets 10 årige indsamlingsperiode vil give tilstrækkelig statistisk styrke til at identificere såvel prognostiske som prædiktive markører, hvis disse er til stede hos 10 % af patienterne. Da forskningsområdet er jomfrueligt, er det ikke muligt på nuværende tidspunkt at foretage egentlig styrkeberegning.

Der vil blive foretaget styrkeberegning før analyse af de enkelte biomarkører. Vi planlægger at benytte følgende statistikprogrammer til dataanalyserne:

- STATA version 12 eller senere (Stata Corp LP, College Station, Texas)
- Multiexperiment Viewer (MeV), version 4.4 eller senere
- The Significance Analysis of Microassays (SAM), version 3.0 eller senere
- The Prediction Analysis of Microarrays (PAM), version 2.1 eller senere
- R-software package (www.r-project.org)
- Plink software (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>)
- SAS version 9.1 eller senere (SAS Institute, Cary, NC, USA)

Følgende statistiske test vil blive anvendt (listen er ikke udtømmende): Student's t-test, Pearson's chi-square test, Mann-Whitney U-test, general linear models, logistic regression, Kaplan-Meier kurver, log-rank statistik samt Cox regressions analyse. Fagstatistikere vil blive inddraget i beregningerne efter behov.

8. Forsøgspersonerne, herunder in- og eksklusionskriterier

Inklusionskriterier:

- Patienter, der er registreret i DANBIO med de til DANBIO hørende diagnoser. Desuden patienter, der registreres i DANBIO på mistanke om en af DANBIO diagnoserne.
- Informeret samtykke fra habil, myndig person over 18 år gammel.

Eksklusionskriterier: Ingen.

9. Bivirkninger, risici og ulemper for forsøgspersoner

Den udtagne mængde blod ved forsøget andrager 30-60 ml blod per besøg. De ekstra blodprøver tages på tidspunkter, hvor patienten alligevel får taget rutineblodprøver i forbindelse med kontrol og behandling af sygdommen, idet den medicinske behandling kræver hyppig blodprøvekontrol for at opdage evt. bivirkninger. Blodprøvetagningen kan være forbundet med en kortvarig smerte (et stik) og man kan efterfølgende få et blåt mærke (blodudtrædning). Risikoen for infektion i forbindelse med blodprøvetagningen må anses for at være helt minimal.

Kliniske og parakliniske data hentes fra DANBIO, hvor de er registreret som led i rutinebehandlingen af patienterne og kontrol af behandlingskvalitet.

10. Respekten for forsøgspersonernes fysiske og mentale integritet samt privatlivets fred

Forskningsbiobanken skal godkendes af Datatilsynet.

Det er vores vurdering, at forsøget respekterer forsøgspersonernes fysiske og mentale integritet samt privatlivets fred.

11. Økonomiske forhold

Merete Lund Hetland, Julia Johansen, Estrid Høgdall har taget initiativ til forsøget. Gigtforeningen og Danske Regioner har bevilliget hhv. 3,5 mio.kr. og 14 mio.kr. til etablering og drift af Dansk Reuma Biobank, der har til formål at muliggøre gennemførelse af landsdækkende projekter som det aktuelle. Disse bevillinger forventes at blive brugt til at indsamle de planlagte projektpøver samt til at kvalitetssikre kliniske og parakliniske data i DANBIO databasen.

Dækning af udgifter til analyse af projektpøverne vil skulle ske for andre midler. Hertil vil vi ansøge private og offentlige fonde og virksomheder i Danmark og i udlandet. Når der opnås støtte, vil navn på og beløb fra støttegiver blive efteroplyst til VEK og til forsøgspersonerne.

Sponsorer har ingen rolle i studiets design, statistiske analyser, fortolkning af data, manuskriptudkast eller manuskriptrevision. Der er i forbindelse med forsøget ingen økonomisk gevinst for afdelingerne eller personalet.

12. Hvervning af deltagere

Til forsøget ønsker vi at rekruttere patienter, som allerede følges i DANBIO databasen.

Vi planlægger flere rekrutteringskanaler, idet patienterne er meget heterogene med hensyn til alder, IT-kompetencer m.m., og afdelingerne har varierende ressourcer til og erfaring med at håndtere projektpatienter, se separat bilag.

Uanset rekrutteringsmåde vil det af den skriftlige patientinformation tydeligt fremgå, at patienten ved behov tilbydes en uforstyrret samtale med mundtlig patientinformation samt at de har ret til en bisidder.

For patienter, som ønsker mundtlig information gælder følgende retningslinjer for afgivelse af den mundtlige information og indhentelse af samtykke

Den mundtlige information vedrørende projektet vil blive givet på de reumatologiske afdelinger og reumatologiske speciallægepraksis i Danmark i forbindelse med patientens ambulante besøg. Samtalerne vil blive varetaget af læger og sygeplejersker herfra. Samtalerne vil finde sted i overensstemmelse med gældende retningslinjer fra Den Videnskabetiske Komité.

Inden informationssamtalen

- træffes aftale om tid og sted for samtalen
- oplyses om, at der er tale om en forespørgsel om deltagelse i et videnskabeligt forsøg
- oplyses om retten til betænkningstid efter information og muligheden for at medbringe bisidder til samtalen

- har forsker overvejet deltagernes ret til at frasige sig viden om egne helbredsforhold

Informationssamtalen

- er nøje planlagt
- foregår i uforstyrrede rammer
- deltageren har på forhånd fået udleveret/tilsendt/downloadet skriftlig information
- deltageren gives tilstrækkelig tid til at læse den skriftlige information, lytte til den mundtlige information og stille spørgsmål
- informationen gives af den projektansvarlige læge eller af denne dertil bemyndigede person med tilknytning til forsøget

Betænkningstid

- gives af mindst ét døgn længde. Patienten kan vælge at afstå fra betænkningstid

Indhentelse af samtykke

- der vil være en klar sammenhæng mellem information og samtykke
- et samtykke til forsøgsdeltagelse skal som udgangspunkt afgives snarest efter afgivelsen af informationen, dog under hensyntagen til fornøden betænkningstid

13. Tilgængelighed af oplysninger for forsøgspersoner

Patienterne vil blive kontaktet og informeret om de samlede resultater såfremt de har valgt dette.

14. Offentliggørelse af forsøgsresultater

Resultaterne vil indgå i flere engelsksprogede artikler, hvor de videnskabelige projektdeltagere som opfylder medforfatterkriterierne i henhold til Vancouver-regelsættet vil blive medforfattere på artiklerne. Forfattersækkefølge bestemmes ligeledes i henhold til Vancouver-reglerne.

Artiklerne vil følge "REMARK" anbefalingerne for nye prognostiske biomarkører. Såvel positive, negative og inkonklusive resultater vil blive offentliggjort.

Det forventes, at der vil blive samarbejdet med udenlandske forskere, idet nogle biomarkør undersøgelser ikke vil kunne udføres i Danmark.

15. Videnskabsetisk redegørelse

Projektet vil ikke blive igangsat, før det er godkendt af Videnskabsetisk Komite. Forsøget anmeldes til via regionens fællesanmeldelse til Datatilsynet.

Vi forventer at resultaterne vil være valide på gruppeniveau, næppe på individniveau. De inflammatoriske gigtsygdomme opstår som følge af en række både miljømæssige og arvelige forhold, og sidstnævnte udgør kun en lille del af den samlede risiko. Til gengæld håber vi at kunne kortlægge, i hvilket omfang genetiske og biologiske forhold påvirker chancen for at en behandling virker og risikoen for at en behandling giver alvorlige bivirkninger. Resultaterne vurderes at være mindre følsomme for patienten, end hvis der var tale om analyse for kendte arvelige sygdomme. Da der er tale om omfattende genetisk kortlægning på subgrupper af

patienter har vi medtaget formuleringen: "Hvis der kommer nye væsentlige helbredsoplysninger frem om dig i forskningsprojektet vil du blive informeret. Vil du **frabede** dig information om nye væsentlige helbredsoplysninger, som kommer frem i forskningsprojektet, bedes du markere her: _____(sæt x)" i samtykkeerklæringen.

Tilbage melding til forsøgspersoner kan blive aktuel både efter fund af mutationer i kendte sygdomsgener, der specifikt undersøges, og hvis der forekommer tilfældighedsfund. Med mindre forsøgspersonen eksplicit frabeder sig det, vil forsøgspersonen altid få en tilbage melding om alvorlig genetisk betinget sygdom eller om tilfældighedsfund, hvis der er en rimelig grad af sandsynlighed for, at en genetisk disposition er til stede, hvis der foreligger en sikker dokumenteret sammenhæng mellem den genetiske disposition og sygdomsudviklingen, hvis de tests, som benyttes for at fastslå den genetiske disposition, er sikre, hvis sygdommen i væsentlig grad kan forebygges eller behandles og hvis sammenhængen har en væsentlig betydning for forsøgspersonen (Jf. retningslinier fra Den Nationale Videnskabsetiske Komite dok nr. 1293688 2. oktober 2013). Ved forekomst af tilfældighedsfund vil der blive oprettet en komite af uafhængige sagkyndige, der skal vurdere, om der skal ske tilbage melding, herunder processen herfor (fx henvisning til kvalificeret rådgivning). Hvorvidt der skal ske tilbage melding til eventuelle slægtninge, hvis forsøgspersonen har frabedt sig oplysninger, eller er død, vil blive afgjort ud fra et lægefagligt skøn af komiteen af uafhængige sagkyndige.

Den projektansvarlige læge på hver afdeling/klinik vil sørge for, at studiet bliver udført i overensstemmelse med den seneste revision af Helsinki-deklarationen.

Dansk lov om behandling af personoplysninger vil blive overholdt.

Alle patienter vil blive informeret skriftligt om formålet med studiet og efter evt. betænkningstid skal patienterne afgive skriftligt samtykke før inklusion. Hvis patienten ønsker det, kan han/hun få en samtale om projektet. Det understreges, at det er frivilligt at deltage i forsøget og at patienten på ethvert tidspunkt kan vælge at træde ud af forsøget. Dette vil ikke have indvirkning på patientens behandling eller forhold til afdelingen i øvrigt.

Patientens samtykkeerklæring vil blive opbevaret i en mappe, der er låst inde på et kontor med begrænset adgang på de involverede afdelinger/klinikker. Desuden får patienten en kopi af samtykket.

Der vil ikke blive foretaget nye undersøgelser af blod og vævsprøverne, som ikke er beskrevet i projektbeskrivelsen, uden at en tillægsprotokol er blevet godkendt af den Videnskabsetiske Komité.

I undersøgelsen inkluderes patienter, der er inkluderet i DANBIO databasen, med kendt eller mistænkt inflammatoriske gigtsygdomme. Formålet med projektet er at undersøge om en bestemmelse af en række nye potentielle biomarkører kan forbedre diagnose, behandlingsrespons samt prognose for patienter med inflammatoriske gigtsygdomme.

Patienterne vil få taget de ekstra blodprøver samtidigt med, at de alligevel får foretaget rutineblodprøver og skal således ikke stikkes oftere. Der vil således blive udtaget i alt 30-60 ml ekstra blod pr besøg, hvilket ikke udgør en risiko for patienten (højst 7 besøg per år = 240 ml årligt).

Vævsprøver vil blive udtaget i forbindelse med rutine ledpunktur (max. 20 ml ledvæske) eller operation (max 1-2 cm³ brusk- og knoglevæv).

Patientforsikringsordningen dækker som udgangspunkt skader, der måtte blive påført forsøgsdeltageren.

Patienter, som indgår i projektet, vil ikke blive informeret om svarene på projektblodprøverne, da prøverne ikke analyseres løbende og det ikke vil have behandlingsmæssige konsekvenser for patienterne. Patienterne vil dog have mulighed for at blive kontaktet med information om forsøgets endelige resultater, såfremt de ønsker dette.

Da funktionen af de fleste biomarkører ikke er velbeskrevet og da der ikke foreligger noget normalområde for de fleste af dem, vil patienterne ikke kunne bruge deres individuelle resultater til noget og vi vil heller ikke kunne tolke noget ud fra en enkelt patients måling. Vi vurderer derfor, at patienterne ikke vil få nogen gavn ud af at se disse resultater, og at det derfor er etisk forsvarligt ikke at informere dem om resultaterne af deres prøver.

Selve deltagelsen i forsøget vil ikke påvirke behandlingsforløbet for de patienter som vælger at deltage. Den viden vi får om diagnostiske prognostiske og prædiktive faktorer vil komme fremtidige patienter til nytte, fordi man bedre vil kunne vælge og fravælge behandling ud fra visse karakteristika hos den enkelte patient.

Da den gene som forsøget medfører for den enkelte deltager (ekstra blodprøver taget samtidigt med andre blodprøver), ikke kan kaldes en risiko som sådan, og da den potentielle gevinst for almenheden er betragtelig, skønnes det at den begrænsede gene rigeligt opvejes af den potentielle gevinst.

16. Deltagerinformation

Se separat bilag.

17. Forsøgspersoners rettigheder i et biomedicinsk forskningsprojekt

Se separat bilag.

18. Samtykkeerklæring

Se separat bilag.

19. Blodprøvehåndtering

Praktiske oplysninger vedr. håndtering af blodprøver til forskningsbiobanken

Tidspunkt for blodprøvetagning

På nedenstående tidspunkter tages følgende blodprøver til forskningsbiobanken. Prøverne tages samtidigt med rutineblodprøver (hæmatologi, levertal, elektrolytter, kreatinin og CRP):

Blodprøvetidspunkter

Tværsnitstudie og Indsamling af andet væv:

Blodprøverne tages en gang (T1)

*Longitudinelt studie- gælder for hver ny behandling**

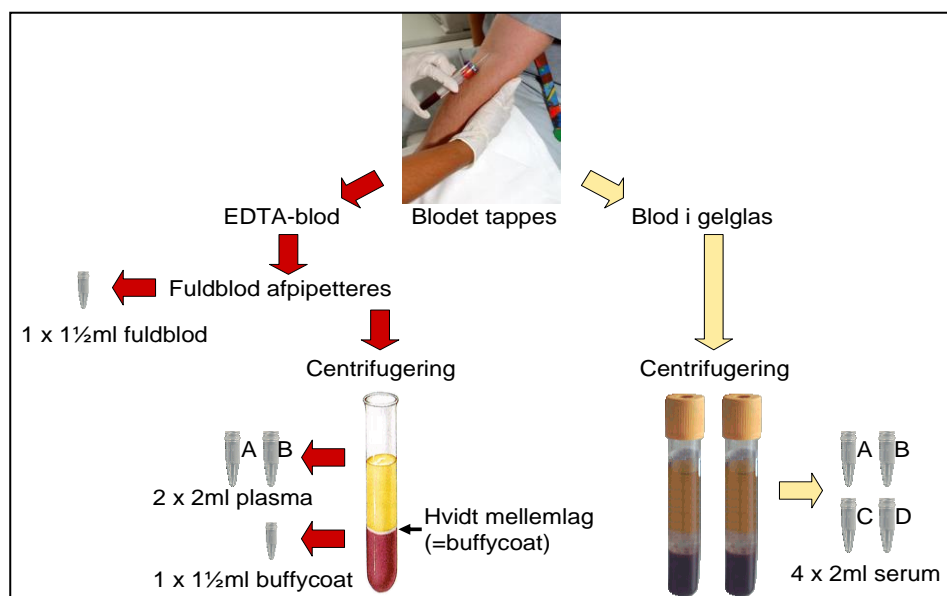
- 1) Før ny behandling (baseline) (L1)
- 2) Efter 3 måneders behandling (L2)
- 3) Efter 6 måneders behandling (L3)
- 4) Efter 12 måneders behandling (L4)
- 5) Efter 24 måneders behandling (L5)
- 6) Efter 36 måneders behandling (L6)
- 7) Efter 48 måneders behandling (L7)
- 8) Efter 60 måneders behandling (L8)
- 9) Ved alvorlige bivirkninger (L9)
- 10) Ved behandlingsophør (L10)

* Hvis patienten skifter til ny behandling starter ovennævnte blodprøveplan forfra.

Anvendelse af blodprøverne

Blodprøverne mærkes og opbevares i anonymiseret form i en fryser. Blodprøverne kan kun bruges efter aftale med lægerne i protokolstyregruppen samt godkendelse af Etisk komite.

Figur 2.



Blodprøver

Der henvises til "Skema vedr. blodprøvehåndteringen". Der tages:

- ❖ 2 x 8 ml blod i gel-glas til serum
- ❖ 1 x 9 ml blod i EDTA glas til EDTA-plasma, fuldblod og buffy-coat
- ❖ 2 x 2.5 ml blod i PAXgene Blood RNA rør (ikke vist på figuren)
- ❖ Ved Tværsnitsstudie, ved baselinebesøg i det longitudinale studie og ved indsamling af andet væv tages dobbelt volumen af ovenstående
- ❖ Til alle andre tider tages ovenstående.

Processering af blodprøverne til opbevaring.

Kontaktnavne vedrørende blodprøvehåndtering:

Teresa Rozenfeld, bioanalytiker
Videncenter for Reumatologi og Rygsygdomme, VRR
Glostrup Hospital, Ndr. Ringvej 57, 2600 Glostrup
Tlf. nr.: 386328 56
E-mail: teresa.rozenfeld.01@regionh.dk

Merete Lund Hetland, professor, overlæge, dr. med., ph.d.
Videncenter for Reumatologi og Rygsygdomme, VRR
Glostrup Hospital, Ndr. Ringvej 57, 2600 Glostrup
Tlf. nr.: 40295050
E-mail: merete.lund.hetland@regionh.dk

Estrid V. Høgdall, leder af Dansk CancerBiobank, ph.d.
Patologiafdelingen
Herlev Hospital, Herlev Ringvej 75, 2730 Herlev
Tlf. nr.: 38689132
E-mail: estrid.hoegdall@regionh.dk

Julia S. Johansen, professor, overlæge, dr. med.
Medicinsk afdeling O
Herlev Hospital, Herlev Ringvej 75, 2730 Herlev
Tlf. nr.: 38689241
E-mail: julia.sidenius.johansen@regionh.dk

20. Vejledning til projektprøver

GLAS	2 x 8 ml RØD/GULT GEL-GLAS	1 x 9 ml LILLA EDTA GLAS	2 x 2.5 ml PAXgene RNA-rør
P R Æ P A R E R I N G	<p>Henstår mindst 30 min.</p> <p>Centrifugeres ved 2330g 10 min 4° C</p> <p>Serum afpipetteres og gemmes i 4 fryserør</p>	<p>Fuldblod afpipetteres og gemmes i 1 fryserør</p> <p>Centrifugeres ved 2330g 10 min 4° C</p> <p>Plasma afpipetteres og gemmes i 2 fryserør</p> <p>Buffy-coat afpipetteres og gemmes i 1 fryserør</p>	<p>Skal vendes forsigtigt 8-10 gange, STRAKS efter blodprøve-tagning!</p> <p>Henstår i 2 - 48 timer ved stuetemperatur</p> <p>Vendes godt inden røret fryses</p>
FRYSER	-80° C fryser	-80° C fryser	<p>Fryses ved -20° C i 4-72 timer</p> <p>Derefter flyttes glasset til -80° C fryser</p>

21. DANBIO spørgsmål til patienten samt kliniske og parakliniske variable, der indsamles rutinemæssigt

Se separat bilag.

22. Referencer

Biologisk behandling til patienter med inflammatoriske gigtsygdomme

- Arnett FC, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
- Breedveld FC, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum* 2006;54:26-37
- Emery P, et al. Comparison of methotrexate monotherapy with a combination of methotrexate and etanercept in active, early, moderate to severe rheumatoid arthritis (COMET): a randomised, double-blind, parallel treatment trial. *Lancet* 2008;372:375-82.
- Emery P, et al. IL-6 receptor inhibition with tocilizumab improves treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumour necrosis factor biologicals: results from a 24-week multicentre randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1516-23.
- Hetland ML, et al. Direct comparison of treatment responses, remission rates, and drug adherence in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab, etanercept, or infliximab: Results from eight years of surveillance of clinical practice in the nationwide Danish DANBIO registry. *Arthritis Rheum* 2010;62:22-32.
- Gibbons LJ, et al. Biologic therapy for rheumatoid arthritis: clinical efficacy and predictors of response. *BioDrugs* 2009;23:111-24.
- Hetland ML. DANBIO-powerful research database and electronic patient record. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50:69-77.
- Klareskog L, et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004;363:675-81.
- Prevo ML, et al. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995;38:44-8.
- Smolen JS, et al. Predictors of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis treated with high-dose methotrexate with or without concomitant infliximab: results from the ASPIRE trial. *Arthritis Rheum* 2006;54:702-10.
- van Gestel AM, et al. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996;39:34-40.

Genes and Single Nucleotide Polymorphism (SNPs)

- Braun R, et al. Pathways of distinction analysis: a new technique for multi-SNP analysis of GWAS data. *PLoS Genet* 2011;7:e1002101.
- Bowes JD, et al. Investigation of genetic variants within candidate genes of the TNFRSF1B signalling pathway on the response to anti-TNF agents in a UK cohort of rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenet Genomics* 2009;19:319-23.
- Canete JD, et al. Influence of variants of Fcγ receptors IIA and IIIA on the ACR and EULAR responses to anti-TNFα therapy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1547-52.
- Chanock SJ, et al. Replicating genotype-phenotype associations. *Nature* 2007;447:655-60.
- Christensen K, et al. What genome-wide association studies can do for medicine. *N Engl J Med* 2007;356:1094-7
- Cui J, et al. Rheumatoid arthritis risk allele PTPRC is also associated with response to anti-tumor necrosis factor alpha therapy. *Arthritis Rheum* 2010;62:1849-61.
- Coulthard LR, et al. Genetic variants within the MAP kinase signalling network and anti-TNF treatment response in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2011;70:98-103.
- Dervieux T, et al. Patterns of interaction between genetic and nongenetic attributes and methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenet Genomics* 2012;22:1-9.
- Dervieux T, et al. Methotrexate polyglutamation in relation to infliximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2013; in press.

Frazer KA, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007;449:851-61.

Glinsky GV. Disease phenocode analysis identifies SNP-guided microRNA maps (MirMaps) associated with human "master" disease genes. *Cell Cycle* 2008;7:3680-94.

Hardy J, et al. Genomewide association studies and human Disease. *N Engl J Med* 2009;360:1759-68.

Isaacs JD. Therapeutic agents for patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to tumour necrosis factor-alpha antagonists. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9:1463-75.

Krintel SB, et al. CD6 and Syntaxin binding protein 6 variants and response to tumor necrosis factor alpha inhibitors in Danish patients with rheumatoid arthritis. *PlosOne* 2012;7:e38539.

Krintel SB, et al. Investigation of single nucleotide polymorphisms and biological pathways associated with response to TNF α inhibitors in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenet Genomics* 2012;22:577-89.

Liu C, et al. Genome-wide association scan identifies candidate polymorphisms associated with differential response to anti-TNF treatment in rheumatoid arthritis. *Mol Med* 2008;14:575-81.

Manolio TA, et al. A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest* 2008;118:1590-605.

O'Neill LA. Primer: Toll-like receptor signaling pathways--what do rheumatologists need to know? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4:319-27.

O'Rielly DD, et al. TNF-alpha-308 G/A polymorphism and responsiveness to TNF-alpha blockade therapy in moderate to severe rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics J* 2009;9:161-7.

Pavy S, et al. Tumour necrosis factor alpha -308G->A polymorphism is not associated with response to TNFalpha blockers in Caucasian patients with rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1022-8.

Pearson TA, et al. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008;19:1335-44.

Plant D, et al. Investigation of potential non-HLA rheumatoid arthritis susceptibility loci in a european cohort increases the evidence for 12 markers. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1548-53.

Plant D, et al. Genome-wide association study of genetic predictors of anti-tumor necrosis factor treatment efficacy in rheumatoid arthritis identifies associations with polymorphisms at seven loci. *Arthritis Rheum* 2011;63:645-53.

Plant D, et al. Replication of association of the PTPRC gene with response to anti-tumor necrosis factor therapy in a large UK cohort. *Arthritis Rheum* 2012;64:665-70.

Plant D, et al. Correlation of C-reactive protein haplotypes with serum C-reactive protein level and response to anti-tumor necrosis factor therapy in UK rheumatoid arthritis patients: results from the biologics in rheumatoid arthritis genetics and genomics study syndicate cohort. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R214. Epub ahead of print.

Potter C, et al. Polymorphisms spanning the TNFR2 and TACE genes do not contribute towards variable anti-TNF treatment response. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20:338-41.

Potter C, et al. Association between anti-tumour necrosis factor treatment response and genetic variants within the TLR and NF α B signalling pathways. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1315-20.

Prajapati R, et al. Genetic and genomic predictors of anti-TNF response. *Pharmacogenomics* 2011;12:1571-85.

Purcell S, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007;81:559-75.

Suarez-Gestal M, et al. Lack of replication of genetic predictors for the rheumatoid arthritis response to anti-TNF treatments: a prospective case-only study. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R72.

Subramanian A, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:15545-50.

Tan RJ, et al. Investigation of rheumatoid arthritis susceptibility genes identifies association of AFF3 and CD226 variants with response to anti-tumour necrosis factor treatment. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1029-35.

The International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005;437:1299-320.

Tsukahara S, et al. A polymorphism in the gene encoding the Fc γ IIIA receptor is a possible genetic marker to predict the primary response to infliximab in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1791-2.

Viatte S, et al. Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2013;Epub ahead of print.

Wang K, et al. Pathway-Based Approaches for Analysis of Genomewide Association Studies. *Am J Hum Genet* 2007;81: 1278-83.

Waller CJ, et al. METAL: fast and efficient meta-analysis of genomewide association scans. *Bioinformatics* 2010;26:2190-1.

Stahl EA, et al. Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet* 2010;42:508-14.

Yoshimura A, et al. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF-beta. *J Biochem* 2010;147:781-92.

MicroRNAs

- Abou-Zeid A, et al. MicroRNA 146a expression in rheumatoid arthritis: association with tumor necrosis factor- α and disease activity. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011;15:807-12.
- Ammari M, et al. Impact of microRNAs on the understanding and treatment of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2013;25:225-33.
- Baxter D, et al. Novel regulatory mechanisms in inflammatory arthritis: a role for microRNA. *Immunol Cell Biol* 2012;90:288-92.
- Ceribelli A, et al. MicroRNAs in rheumatoid arthritis. *FEBS Lett* 2011;585:3667-74.
- Chan EK, et al. microRNA-146a in autoimmunity and innate immune responses. *Ann Rheum Dis* 2012; in press.
- Chen X, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008;18:997-1006.
- Cortez MA, et al. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9:703-11.
- Cortez MA, et al. MicroRNAs in body fluids – the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol* 2011;8:467-77.
- Duroux-Richard I, et al. What do microRNAs mean for rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 2012;64:11-20.
- Filkova M, et al. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: potential role in diagnosis and therapy. *Biodrugs* 2012;26:131-41.
- Fulci V, et al. miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 2010;71:206-11.
- Furer V, et al. The role of microRNA in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Clin Immunol* 2010;136:1-15.
- Murata K, et al. Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R86.
- Nakasa T, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2008;58:1284-92.
- Nakasa T, et al. The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2011;63:1582-90.
- Nakamachi Y, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;60:1294-1304.
- Pandis I, et al. Identification of microRNA-221/222 and microRNA-323-3p association with rheumatoid arthritis via predictions using the human tumor necrosis factor transgenic mouse model. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1716-23.
- Pauley KM, et al. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R101.
- Quinn SR et al. A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *Int Immunol* 2011;23:421-5.
- Virtue A, et al. MicroRNAs and toll-like receptor/interleukin-1 receptor signalling. *J Hematol Oncol* 2012;5:66.
- Wittmann J, et al. microRNAs in rheumatoid arthritis: midget RNAs with a giant impact. *Ann Rheum Dis* 2011;70 Suppl 1:i92-i96.
- Yamasaki K, et al. Expression of microRNA-146a in osteoarthritis cartilage. *Arthritis Rheum* 2009;60:1035-41.

Proteiner

- Curtis JR, et al. Validation of a novel multi-biomarker test to assess rheumatoid arthritis disease activity. *Arthritis Care Res* 2012;64:1794-1803.
- Hirata S, et al. A multi-biomarker score measures rheumatoid arthritis disease activity in the Best Study. *Rheumatol* 2013;52:1202-7.
- Karlsdal MA. Biochemical markers of ongoing joint damage in rheumatoid arthritis – current and future applications, limitations and opportunities. *Arthritis Res Ther* 2011;13:215.
- Maksymowych WP, et al. Proposal for levels of evidence scheme for validation of a soluble biomarker reflecting damage endpoints in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis, and recommendations for study design. *J Rheumatol* 2009;26:1792-9.
- Maksymowych WP. Biomarkers in spondyloarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2010;12:318-24.
- Mease PJ. The potential roles for novel biomarkers in rheumatoid arthritis assessment. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:567-74.

Auto-antistoffer mod biologiske behandlinger

- Aarden L, Ruuls SR, Wolbink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement. *Curr Opin Immunol* 2008;20:431-5.

- Arends S, et al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-alpha blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28:661-8
- Bartelds GM, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:921-6.
- Bartelds GM, et al. Anti-adalimumab antibodies in rheumatoid arthritis patients are associated with interleukin-10 gene polymorphisms. *Arthritis Rheum* 2009;60:2541-2.
- Bartelds GM, et al. Surprising negative association between IgG1 allotype disparity and anti-adalimumab formation: cohort study. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R221.
- Bartelds GM, et al. Anti-infliximab and anti-adalimumab antibodies in relation to response to adalimumab in infliximab switchers and anti-TNF naive patients: a cohort study. *Ann Rheum Dis* 2009;69:817-20.
- Bartelds GM, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 2011;305:1460-8.
- Bender NK, et al. Immunogenicity, efficacy and adverse events of adalimumab in RA patients. *Rheumatol Int* 2007;27:269-74.
- Bendtsen K. Is there a need for immunopharmacologic guidance of anti-tumor necrosis factor therapies? *Arthritis Rheum* 2011;63:867-70.
- Bendtsen K, et al. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab. *Arthritis Rheum* 2006;54:3782-9.
- Du Pan SM, et al. Swiss Clinical Quality Management. Comparison of drug retention rates and causes of drug discontinuation between anti-tumor necrosis factor agents in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61:560-8.
- de Vries MK, et al. Decreased clinical response to infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with anti-infliximab formation. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1252-4.
- Krintel SB, et al. The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure. *In press*.
- Lecluse LL, et al. Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis. *Arch Dermatol* 2010;146:127-32.
- Radstake TR, et al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1739-45.
- Svenson M, et al. Monitoring patients treated with anti-TNF-alpha biopharmaceuticals: assessing serum infliximab and anti-infliximab antibodies. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:1828-34.
- van der Laken CJ, et al. Imaging and serum analysis of immune complex formation of radiolabelled infliximab and anti-infliximab in responders and non-responders to therapy for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:253-6.
- van Schouwenburg PA, et al. A novel method for the detection of antibodies to adalimumab in the presence of drug reveals "hidden" immunogenicity in rheumatoid arthritis patients. *J Immunol Methods* 2010;362:82-8.
- Wolbink GJ, et al. Development of anti-infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:711-5.

Metabolitter

- Assfalg M, et al. Evidence of different metabolic phenotypes in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:1420-4.
- Gao P, et al. Integrated GC-MS and LC-MS plasma metabolomics analysis of ankylosing spondylitis. *Analyst* 2008;133:1214-20.
- Lauridsen MB, et al. 1H NMR spectroscopy-based interventional metabolic phenotyping: a cohort study of rheumatoid arthritis patients. *J Proteome Res* 2010;9:4545-53.
- Madsen RK, et al. Diagnostic properties of metabolic perturbations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011;13(1):R19.
- Mamas M, Dunn WB, Neyses L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol* 2011; 85(1):5-17.
- Nicholson JK, et al. Pharmacometabolomics as an effector for personalized medicine. *Pharmacogenomics* 2011;12:103-11.
- Zhang GF, et al. Metabolomics, pathway regulation, and pathway discovery. *J Biol Chem* 2011;286:23631-5.