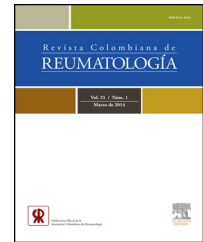




Revista Colombiana de REUMATOLOGÍA

www.elsevier.es/rcreu



Investigación original

Modelo computacional para la identificación de endofenotipos y clasificación de pacientes con artritis reumatoide a partir de datos genéticos, serológicos y clínicos, utilizando técnicas de inteligencia computacional



Luis Morales Muñoz^{a,*}, Gerardo Quintana^a y Luis Fernando Niño^b

^a Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

^b Departamento de Ingeniería de Sistemas e Industrial, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 14 de noviembre de 2013

Aceptado el 25 de mayo de 2015

On-line el 2 de julio de 2015

Palabras clave:

HLA antígeno leucocitario humano

Epítoto compartido

Inteligencia computacional

Artritis reumatoide

R E S U M E N

Objetivo: Utilizar modelos de inteligencia computacional para la clasificación e identificación de endofenotipos (relación entre fenotipo y marcadores genéticos) en pacientes con artritis reumatoide y controles sanos, a partir de información genética, principalmente el HLA DRB1 (antígeno leucocitario humano) y la teoría del epítoto compartido. Esto hace referencia a la asociación entre la artritis reumatoide y el HLA DRB1, principalmente los alelos que contienen un motivo común de aminoácidos de las secuencias QKRAA, QRRRA o RRRRAA en las posiciones 70 a 74 de la cadena del DRB1, los cuales confieren una susceptibilidad particular de la enfermedad a los individuos.

Métodos: Desarrollamos modelos computacionales para clasificación, utilizando técnicas de inteligencia computacional como son las redes neuronales, redes bayesianas y métodos como *k-means*. Como datos de entrada se utilizaron variables como: factor reumatoide, anticuerpos contra péptido citrulinado, proteína C reactiva, número de articulaciones inflamadas y dolorosas, rigidez matinal, edad, género, antecedentes de comorbilidades y la información del alelo HLA DRB1. Se utilizaron técnicas de bioinformática para la búsqueda de secuencias de aminoácidos relacionadas con la severidad de la enfermedad.

Resultados: Se obtuvieron resultados importantes para el diagnóstico de la enfermedad, así como también para su categorización y como potencial aplicación en la medicina personalizada de los individuos afectados por esta enfermedad. Se diseñaron modelos computacionales para clasificación, dentro de los cuales la red neuronal utilizando 5 variables obtuvo una sensibilidad del 92,3% con una especificidad del 86,66% y la red bayesiana logró una sensibilidad del 92,3% y una especificidad del 93,33%. La red neuronal utilizando 11 variables obtuvo una sensibilidad del 84,61% y una especificidad del 93,33% mientras que la red bayesiana consiguió una sensibilidad del 92,3% con una especificidad del 93,33%. Un método de agrupamiento tipo *k-means* fue utilizado para dividir en 2 grupos la totalidad de

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lamoralesmu@unal.edu.co (L. Morales Muñoz).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rcreu.2015.05.005>

0121-8123/© 2013 Asociación Colombiana de Reumatología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

pacientes y controles. Además, se logró separar 2 grupos entre los pacientes para definir su severidad. Finalmente, se consiguió obtener un árbol de distancia entre secuencias de aminoácidos de los distintos alelos HLA DRB1, lo cual permite visualizar grupos con cercanía genética y lograr determinar que posiblemente existen más grupos fuera de los propuestos en las distintas teorías.

Conclusión: Los métodos utilizados permiten una mejor estratificación de la enfermedad en relación con la predicción de fenotipos y posibles desenlaces de la enfermedad, así como para la potencial prevención primaria de la enfermedad.

© 2013 Asociación Colombiana de Reumatología. Publicado por Elsevier España, S.L.U.
Todos los derechos reservados.

Computational model for the identification of endophenotypes and classification of rheumatoid arthritis patients from genetic, serological, and clinical data using computational intelligence techniques

A B S T R A C T

Keywords:

HLA human leukocyte antigen
Epitope shared
Computational intelligence
Rheumatoid arthritis

Objective: To use computational intelligence models for the classification and identification of endophenotype (relationships between phenotype and genetic markers) in patients with rheumatoid arthritis and healthy controls from genetic information, primarily the DRB1 HLA (human leukocyte antigen) and the shared epitope theory. This refers to the association between rheumatoid arthritis and the HLA-DRB1 alleles mainly containing amino acid common motif sequences QKRAA, RRRAA, QRRAA or at positions 70 to 74 DRB1 chain, which have been associated to susceptibility of this disease.

Methods: Computational models were developed for classification using computational intelligence techniques, such as neural networks, Bayesian networks, and methods such as k-means. The input data consisted of variables such as: rheumatoid factor, anti-citrullinated protein antibody, C-reactive protein, number of swollen and tender joints, morning stiffness, age, gender, history of comorbidities, and the information on the HLA-DRB1. Bioinformatics techniques were used to search for amino acid sequences related to disease severity.

Results: Promising results for the diagnosis of the disease were obtained, as well as its categorisation as potential application in personalised medicine for individuals suffering from this disease. Computational models were designed for the classification, in which the neural network using 5 variables obtained a sensitivity of 92.3% with a specificity of 86.66%, and the Bayesian network obtained a sensitivity of 92.3% and a specificity of 93.33%. The neural network using 11 variables had a sensitivity of 84.61% and a specificity of 93.33%, while the Bayesian network obtained a sensitivity of 92.3% with a specificity of 93.33%. K-means clustering method type was used to divide all patients and controls into two groups of data. It also managed to obtain two patient groups to define severity. Finally, a tree distance was obtained between amino acid sequences of the different alleles HLA DRB1, which allows genetic proximity groups to be visualised and to determine and ensure that there are may be more groups outside the proposed different theories.

Conclusion: The proposed method can be used to provide better stratification of the disease in relation to the predicted phenotypes, and the potential for primary prevention of this disease.

© 2013 Asociación Colombiana de Reumatología. Published by Elsevier España, S.L.U.
All rights reserved.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune que afecta al 0,5-1% de la población humana. Existen algunos marcadores genéticos implicados en esta enfermedad¹. Está asociada con discapacidad progresiva, complicaciones

sistémicas, muerte temprana y altos costos socioeconómicos. La causa es desconocida y su pronóstico es reservado².

El más importante factor de riesgo genético para la AR se encuentra en el HLA. En particular los que contengan las secuencias de aminoácidos QKRAA, QRRAA o RRRAA en las posiciones 70-74 de la cadena DRB1. Esto es conocido como epítoto compartido (EC)^{1,2}.

El curso clínico de la enfermedad difiere de un individuo a otro y los factores genéticos ligados a HLA DR han surgido como potencial pronóstico de esta enfermedad. El EC ha sido asociado con la predisposición y progresión de la enfermedad^{3,4}.

Los criterios para el diagnóstico de AR están definidos por el Colegio Americano de Reumatología y el EULAR 2010⁵. Existe predominio en el género femenino con una relación mujer hombre de 3:1, la herencia de la AR es poligénica y no sigue un patrón mendeliano. La importancia de encontrar factores genéticos asociados con la AR radica en la contribución a la comprensión de los mecanismos patogénicos de la enfermedad y su posible aplicación clínica para la identificación de marcadores, diagnóstico y pronóstico.

Modelos computacionales, como las redes neuronales artificiales, son sistemas basados en la computación paralela masiva que permiten realizar tareas de control y de clasificación. Una red neural biológica puede ser modelada matemáticamente por un grafo dirigido con nodos (neuronas) interconectados. Los nodos artificiales son casi siempre funciones simples cuyos argumentos son las sumas de las entradas al nodo; algunos trabajos sobre redes neuronales utilizan funciones de nodo que manejan solo valores binarios^{6,7}.

Los enfoques bayesianos proporcionan una forma consistente para hacer inferencia, mediante la integración de la evidencia de los datos con conocimientos previos del problema. Una red bayesiana puede superar la principal dificultad de controlar la complejidad del modelo en la construcción de una red neuronal estándar. Un enfoque bayesiano ofrece herramientas eficaces para evitar el sobreajuste, incluso con modelos muy complejos y, además, facilita la estimación de los intervalos de confianza de los resultados⁸.

Los problemas de agrupamiento surgen en muchas aplicaciones diferentes, como la minería de datos y descubrimiento de conocimiento, compresión de datos, reconocimiento de patrones y clasificación de patrones. La noción de lo que constituye un buen grupo depende de la aplicación y hay muchos métodos para encontrar grupos como *k-means*⁹.

El coeficiente silueta es utilizado para representar las particiones obtenidas por diferentes técnicas; cada grupo es representado por un coeficiente llamado silueta, el cual se basa en la comparación de cercanía y separación entre los elementos de los grupos, lo cual muestra qué objetos se encuentran correctamente dentro de un grupo y cuáles están simplemente en algún lugar entre las agrupaciones. Esta combinación de los coeficientes silueta permite una apreciación de la calidad de los grupos y una visión general de la configuración de los datos. Esta información proporciona una evaluación de la agrupación y podría ser utilizada para seleccionar un número adecuado de agrupaciones^{10,11}. El coeficiente silueta es una medida de un enfoque que compara las distancias entre los distintos grupos formados¹².

Para el análisis de los datos se usó la herramienta de software WEKA, un software de código abierto. Este sistema fue desarrollado en la Universidad de Waikato en Nueva Zelanda. WEKA representa un entorno para análisis de datos y está escrito en el lenguaje orientado por objetos Java. WEKA proporciona implementaciones de avanzados algoritmos de minería de datos y algoritmos de aprendizaje de máquina. Además, contiene módulos de preprocesamiento

Tabla 1 – Datos del estudio

Número total de pacientes	Número de controles sanos	Número total
63	75	138

de datos, clasificación, agrupamiento y extracción de reglas de asociación¹³.

Metodología

En la selección del conjunto de datos utilizados por los modelos computacionales se obtuvo información de pacientes con AR y controles sanos, con previo consentimiento informado por parte de los pacientes. Al inicio del estudio se contaba con 135 pacientes y 140 controles sanos, para un total de 275 registros. Al realizar el preprocesamiento de los datos, varios de los registros fueron eliminados por presentar información faltante o inconsistente. Finalmente, se logró tener una muestra completa con 138 datos que correspondían a 63 pacientes y 75 controles sanos (tabla 1).

Los datos utilizados en este estudio corresponden a información clínica, serológica y genética de 138 personas, entre pacientes con AR y controles sanos. Su distribución se puede observar en la tabla 2.

Después del preprocesamiento de los datos se realizó el análisis estadístico de las variables cuyos resultados se presentan en la tabla 3.

La metodología general utilizada en el trabajo se representa en el esquema de la figura 1.

Se realizó la búsqueda y selección de la información clínica y genética, principalmente el HLA DRB1 de los pacientes y controles. De los 138 registros, que corresponden a 63 pacientes y 75 controles, se seleccionó el 80% de los datos para entrenamiento y el 20% de los datos para prueba de manera estratificada (tabla 3).

Para el proceso de búsqueda de las secuencias de aminoácidos para cada uno de los alelos correspondientes a los datos, se realizó la búsqueda de los aminoácidos correspondientes a cada alelo en bases de datos biológicas que contienen esta información. Se utilizó, principalmente, la base de datos IMGT/HLA (ImMunoGeneTics Project). Posteriormente, se realizó un alineamiento entre las secuencias obtenidas

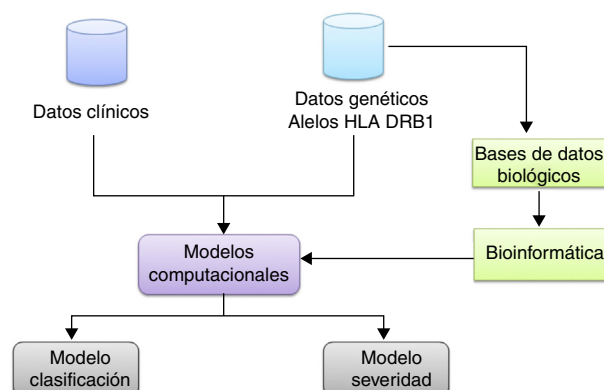


Figura 1 – Metodología.

Tabla 2 – Variables utilizadas dentro del estudio

Variables	Representación	Tipo información
Edad	Representa la edad de cada persona expresada con un número entero	Clínica
Género	El género se representa de la siguiente manera: hombre con 1 y mujer con 0	Clínica
Tabaquismo	El consumo de cigarrillo se representa de la siguiente manera 0 = nunca, 1 = 1-5 paquetes/año, 2 = 6-10 paquetes/año, 3 = más de 10 paquetes/año	Clínica
Antecedentes hipertensión	NO = 0, SÍ = 1	Clínica
Antecedente dislipidemia	NO = 0, SÍ = 1	Clínica
Número de articulaciones inflamadas	Representa el número de articulaciones comprometidas, un número entero	Clínica
Número de articulaciones dolorosas	Representa el número de articulaciones dolorosas, un número entero	Clínica
Rigidez matinal	Rigidez matinal > 1 h = 1, < 1 h = 2	Clínica
PCR	Proteína C reactiva, un número real	Serológica
FR	Factor reumatoide, un número real	Serológica
Anti-CCP	Anticuerpo contra péptido citrulinado, un número real	Serológica
HLA DRB1 uno	Representa el alelo uno del individuo. Cadena de caracteres	Genética
HLA DRB1 dos	Representa el alelo 2 del individuo. Cadena de caracteres	Genética

Tabla 3 – Análisis estadísticos de los datos

Variables	Promedio	Desviación estándar	Rango
Edad	64,26	16,3	20-91
HTA	NO = 110 instancias SÍ = 18 instancias		
Dislipidemia	NO = 119 SÍ = 19		
PCR	1,79	2,02	0-11,6
FR	31,33	44,19	0-349
Anti-CCP	55,6	71,8	0,1-257
Articulaciones inflamadas	10,32	12,27	0-28
Articulaciones dolorosas	10,61	12,41	0-28
Alelo 1	0403 = 25 más frecuente; 1401 = 1 menos frecuente		
Alelo 2	1501 = 17 más frecuente; 0401 = 1 menos frecuente		

utilizando una matriz tipo Blossum. Finalmente, se aplicaron métodos computacionales para la clasificación y técnicas de bioinformática, para la identificación de endofenotipos.

Para el modelamiento e implementación de los modelos computacionales basados en técnicas de inteligencia computacional, como redes neuronales tipo perceptrón, perceptrón multicapa, redes bayesianas y métodos de agrupamiento como *k-means*, se utilizaron herramientas computacionales como WEKA, Rapidminer y Jalview.

WEKA y Rapidminer se usaron para implementar las redes neuronales, las redes bayesianas y para realizar los procesos de agrupación. Por otro lado, se utilizó Jalview para analizar las secuencias de aminoácidos. Jalview permite realizar alineamientos múltiples, editar los alineamientos y realizar estudios de cercanía genética para efectuar estudios específicos.

Para la agrupación de los datos entre pacientes y controles se utilizó *k-means* y como criterio de selección del número de grupos se utilizó el coeficiente de silueta.

Resultados

Los resultados obtenidos se evaluaron usando las medidas de desempeño como: sensibilidad, especificidad, precisión y exactitud, que son definidas con base en verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), número de muestras positivas (P) y número

de muestras negativas (N). Las ecuaciones correspondientes se presentan a continuación:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{P}; \text{Especificidad} = \frac{VN}{N}$$

$$\text{Precisión} = \frac{VP}{VP + FP}; \text{Exactitud} = \frac{VP + VN}{P + N}$$

La matriz de confusión que se utilizó para presentar los resultados de las medidas de desempeño de cada modelo se presenta en la [tabla 4](#).

El primer escenario que se plantea es utilizar los criterios del Colegio Americano de Reumatología para clasificación de la AR, para lo cual se usaron las 5 variables implicadas en estos criterios: articulaciones inflamadas, articulaciones dolorosas,

Tabla 4 – Esquema general de la matriz de confusión para los resultados obtenidos

	AR real	No AR real	
Clase AR determinada por el modelo	VP	FP	Precisión
Clase no AR determinada por el modelo	FN	VN	
	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud

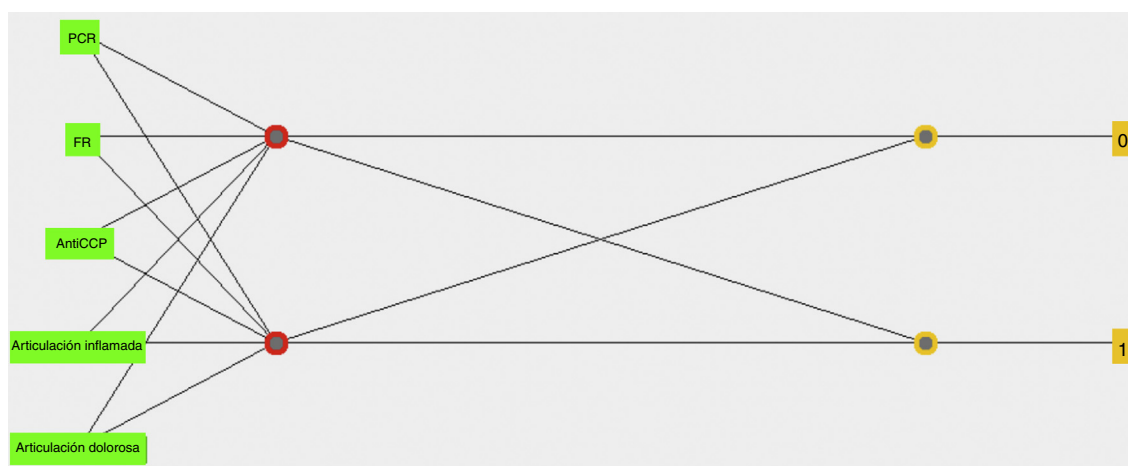


Figura 2 – Red neuronal perceptrón multicapa utilizando 5 variables.

Tabla 5 – Matriz de confusión y medidas de desempeño de la red neuronal utilizando 5 variables para clasificación

	AR real	No AR Real	
Clase AR predicha por RN perceptrón	12	2	85,71%
Clase no AR predicha por RN perceptrón	1	13	
	92,3%	86,66%	89,28%

factor reumatoide (FR), proteína C reactiva (PCR) y anticuerpos contra péptido citrulinado (anti-CCP), entre otras.

Como preprocesamiento de los datos se normalizaron todas las variables, se utilizó una red neuronal tipo perceptrón multicapa con una capa oculta que contiene 7 neuronas, se optimizaron parámetros, se utilizó el 80% de los datos para entrenamiento y el 20% para prueba. En la [figura 2](#) se puede observar la red neuronal que se obtuvo.

La matriz de confusión y las medidas de desempeño utilizando la red neuronal con 5 variables se presentan en la [tabla 5](#), la cual muestra que el modelo presenta una exactitud del 89,28%, una precisión del 85,71%, con una sensibilidad del 92,3% y una especificidad del 86,66%.

Tabla 6 – Matriz de confusión y medidas de desempeño de la red bayesiana utilizando 5 variables

	AR real	No AR real	
Clase AR predicha por red bayesiana	12	1	92,3%
Clase no AR predicha por red bayesiana	1	14	
	92,3%	93,33%	92,85%

Después se implementó una red bayesiana utilizando las 5 variables propuestas por el Colegio Americano de Reumatología, la red bayesiana fue desarrollada utilizando un estimador simple y un algoritmo de búsqueda TAN (*Tree Augmented Naive Bayes*), la red obtenida se muestra en la [figura 3](#).

El diseño de la red bayesiana muestra la relación de la variable PCR con las otras variables FR, anti-CCP, articulaciones dolorosas y articulaciones inflamadas. De esta manera, la probabilidad de determinar AR o no AR se da a partir de la tabla de probabilidad de PCR, la cual está directamente relacionada con las otras variables.

La matriz de confusión y los valores de las medidas de desempeño de la red bayesiana utilizando 5 variables se pueden observar en la [tabla 6](#).

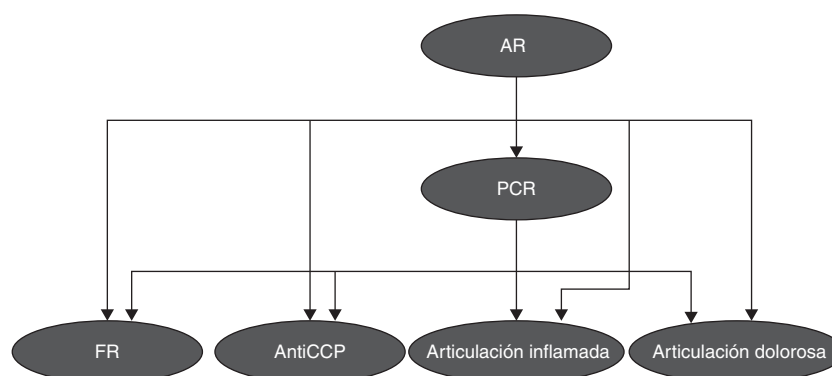


Figura 3 – Red bayesiana utilizando 5 variables.

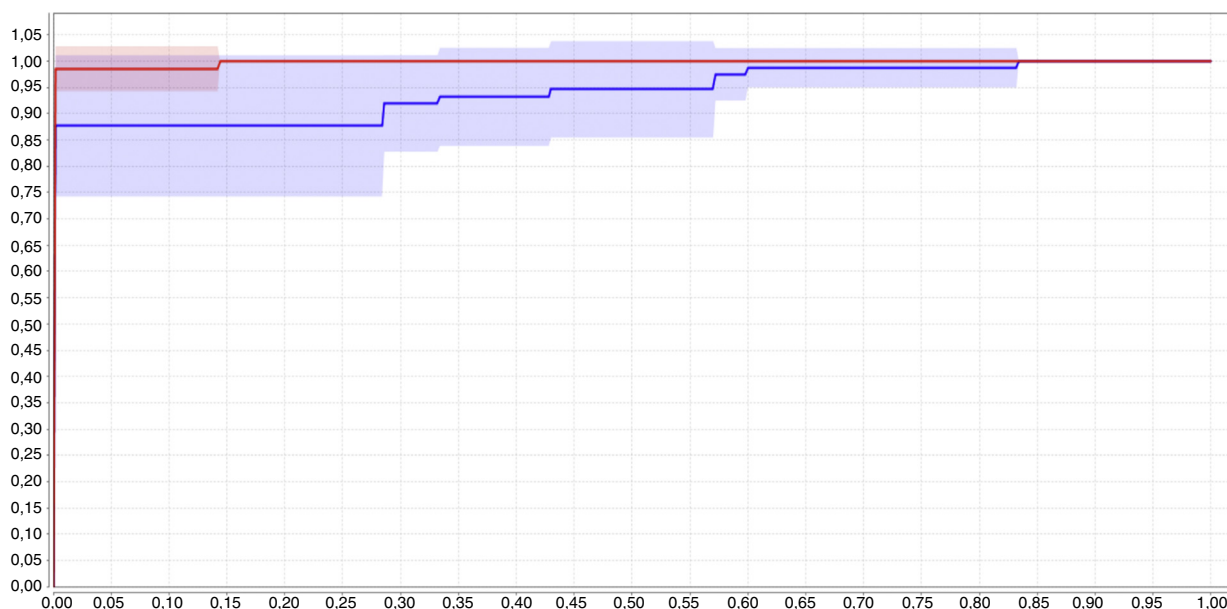


Figura 4 – Curvas ROC de los clasificadores. La curva roja red bayesiana y la curva azul red neuronal.

En la [figura 4](#) se muestran las curvas ROC para los 2 clasificadores de red neuronal y red bayesiana utilizando 2 variables, el color rojo corresponde a la red bayesiana tipo perceptrón multicapa y la curva azul corresponde a la red neuronal. En la [figura 4](#) se observa que, según la curva ROC, el clasificador bayesiano, representado en color rojo, tiene un mejor desempeño que el clasificador neuronal, representado en color azul.

También se utilizó *k-means* como método de agrupación para los datos, considerando 5 variables según los criterios del Colegio Americano de Reumatología: PCR, FR, anti CCP, número de articulaciones dolorosas y número de articulaciones inflamadas. Se utilizó el coeficiente silueta para determinar el mejor *k* utilizando una distancia euclidiana. En la [figura 5](#) se muestra la gráfica que presenta el coeficiente silueta con respecto a cada *k* posible, en la cual se comprueba que el mejor coeficiente se obtiene con un *k* igual a 2.

A partir de los 138 datos se realizó el agrupamiento utilizando *k-means* sobre las variables normalizadas. Los 2 grupos

se conformaron de la siguiente manera: el primer grupo con 56 instancias y el segundo con 82 instancias. El análisis estadístico de los 2 grupos obtenidos se puede observar en las [tablas 7 y 8](#).

En el grupo 1 se observa que el valor del promedio del FR es de 63,54, el cual es un valor positivo con respecto a los valores normales para dicho examen de laboratorio y, además, es mayor al obtenido en el grupo 2 que fue de 4,2. La desviación estándar del grupo 1 es de 76,05 con respecto a 40,28 del grupo 2, con lo cual se deduce que los grupos no son homogéneos como se esperaba.

Los promedios de articulaciones inflamadas y dolorosas del grupo 1 fueron de 23,71 y 25, respectivamente. En contraste, los promedios del grupo 2 fueron de 1,183 y 0,792. Lo anterior indica que los individuos del grupo 1 tienen un compromiso articular mayor con respecto al grupo 2.

En el grupo 2 el promedio de los datos para la variable PCR fue de 0,11, el cual corresponde a un valor cualitativo negativo para dicho examen de laboratorio, siendo el máximo de 2,4 en este grupo.

Por otro lado, en el grupo 1 el promedio fue de 2,34 con un valor máximo de 11,6.

Los valores promedio de anti-CCP varían considerablemente en los 2 grupos, siendo el promedio del grupo 1 de 109,11 y el del grupo 2 de 10,13. Lo que indica, según lo reportado en la literatura, una predisposición mayor a presentar la enfermedad. Al examinar estos resultados se puede afirmar que los individuos del grupo 1 presentan una actividad mayor de la enfermedad con respecto a los individuos del grupo 2.

Los estudios han demostrado que una característica de la AR es la presencia de autoanticuerpos. En la enfermedad el FR puede detectarse con una sensibilidad del 60-70% y una especificidad del 80-90%. Sin embargo, ensayos de detección de anticuerpos anti-CCP tienen una mayor especificidad (98%), con una sensibilidad del 68-80%. Estudios retrospectivos, realizados en diferentes países, han demostrado que

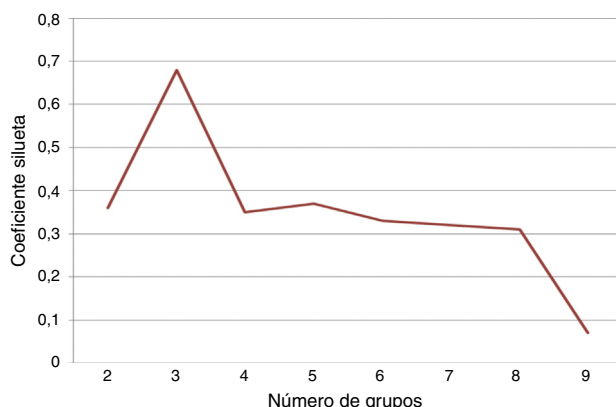


Figura 5 – Gráfica coeficiente silueta para agrupamiento de pacientes y controles utilizando 5 variables.

Tabla 7 – Análisis estadístico de los datos que conforman el grupo 1

Grupo 1	PCR	FR	Anti-CCP	Articulaciones inflamadas	Articulaciones dolorosas
Promedio	2,34	63,54	109,11	23,71	25
Máximo	11,60	349	257,60	28	28
Mínimo	0	19	3	4	14
Desviación estándar	2,93	52,47	76,05	6,23	4,31

Tabla 8 – Análisis estadístico de los datos que conforman el grupo 2

Grupo 2	PCR	FR	Anti-CCP	Articulaciones inflamadas	Articulaciones dolorosas
Promedio	0,11	4,2	10,13	1,183	0,792
Máximo	2,4	92	213,4	28	12
Mínimo	0	0	0	0	0
Desviación estándar	0,43	16,15	40,28	4,45	2,71

los autoanticuerpos, incluyendo anti-CCP, anticuerpos contra antígenos que contiene el aminoácido citrulina y FR, pueden ser detectados en pacientes varios años antes de que los síntomas clínicos de la AR se presenten y que están asociados directamente con la enfermedad, por lo tanto, la presencia de anticuerpos anti-CCP son un factor de riesgo para presentar AR¹⁴.

En la [figura 6](#) se grafican las variables FR y anti CCP representándose con color rojo el grupo 1 y con color azul el grupo 2. En el gráfico se puede observar que los individuos del grupo 1 tienen valores mayores en la variables anti-CCP con respecto a los de los individuos del grupo 2, lo cual confirma los resultados reportados previamente en la literatura.

También se diseñaron e implementaron modelos computacionales utilizando 11 variables: 2 variables genéticas correspondientes a los 2 alelos del HLA DRB1; las variables serológicas PCR, FR y anticuerpos anti-CCP y 6 variables clínicas: edad, antecedente de tabaquismo, antecedente de hipertensión arterial, antecedente de dislipidemia, número de articulaciones dolorosas y número de articulaciones inflamadas.

La red neuronal diseñada tuvo 7 neuronas para una capa oculta. Se aplicó filtro de nominal a binario para las variables de entrada, con una tasa de aprendizaje de 0,3 y momento 0,2. La red neuronal se entrenó a través del método de retropropagación. Por otro lado, para la red bayesiana se utilizó un estimador simple y el algoritmo de búsqueda tipo TAN. Finalmente, se realizó agrupación con *k-means* usando una distancia euclidiana y para calcular el mejor *k* se utilizó el coeficiente de silueta.

La red neuronal tipo perceptrón multicapa utilizando 11 variables obtuvo una exactitud de 89,28% que corresponde a 25 instancias correctamente clasificadas de 28 instancias de prueba. La correspondiente matriz de confusión y las medidas de desempeño se presentan en la [tabla 9](#).

En la [figura 7](#) se observa la red bayesiana implementada utilizando 11 variables para clasificación entre pacientes y controles, en la cual se aprecian las dependencias probabilísticas entre las variables utilizadas.

En la red bayesiana observamos las relaciones que se presentan entre las distintas variables genéticas, clínicas y serológicas, principalmente la dependencia que se ve entre la variable alelo 1 y las variables clínicas articulaciones inflamadas y articulaciones dolorosas; esto nos demuestra la relación

Tabla 9 – Matriz de confusión y medidas de desempeño de la red neuronal utilizando 11 variables para clasificación

	AR real	No AR real	
Clase AR predicha por RN perceptrón	11	1	91,6%
Clase no AR predicha por RN perceptrón	2	14	
	84,61%	93,33%	89,28%

Tabla 10 – Matriz de confusión y medidas de desempeño de la red bayesiana utilizando 11 variables para clasificación

	AR real	No AR real	
Clase AR predicha por red bayesiana	11	1	92,3%
Clase no AR predicha por red bayesiana	2	14	
	92,3%	93,33%	92,85%

existente entre la genética de la enfermedad y sus manifestaciones clínicas.

Con la red bayesiana se obtuvieron los siguientes resultados: de las 28 instancias de prueba se clasificaron adecuadamente 25, que corresponde al 92,85%, e incorrectamente 3 instancias, que corresponde al 7,15%, con una sensibilidad del 92,3% y una especificidad del 93,33%. La matriz de confusión y las medidas de desempeño se presentan en la [tabla 10](#).

Los nodos en la red bayesiana se relacionan mediante probabilidades de que un suceso ocurra.

También se realizó una agrupación con los datos de los 63 pacientes. Esto forma parte del estudio de clasificación de severidad de la enfermedad. Se utilizó el valor del coeficiente silueta para determinar el mejor número de grupos. La [figura 8](#) muestra los valores del coeficiente silueta para varios valores de *k*. El mejor valor del coeficiente silueta se obtiene para *k* = 2.

Para esto se utilizó *k-means* sobre las variables normalizadas para identificar entre los pacientes los aspectos relacionados con la severidad de la enfermedad. Se hizo una agrupación en 2 grupos, los cuales quedaron conformados de la siguiente manera: el primer grupo con 40 individuos y el

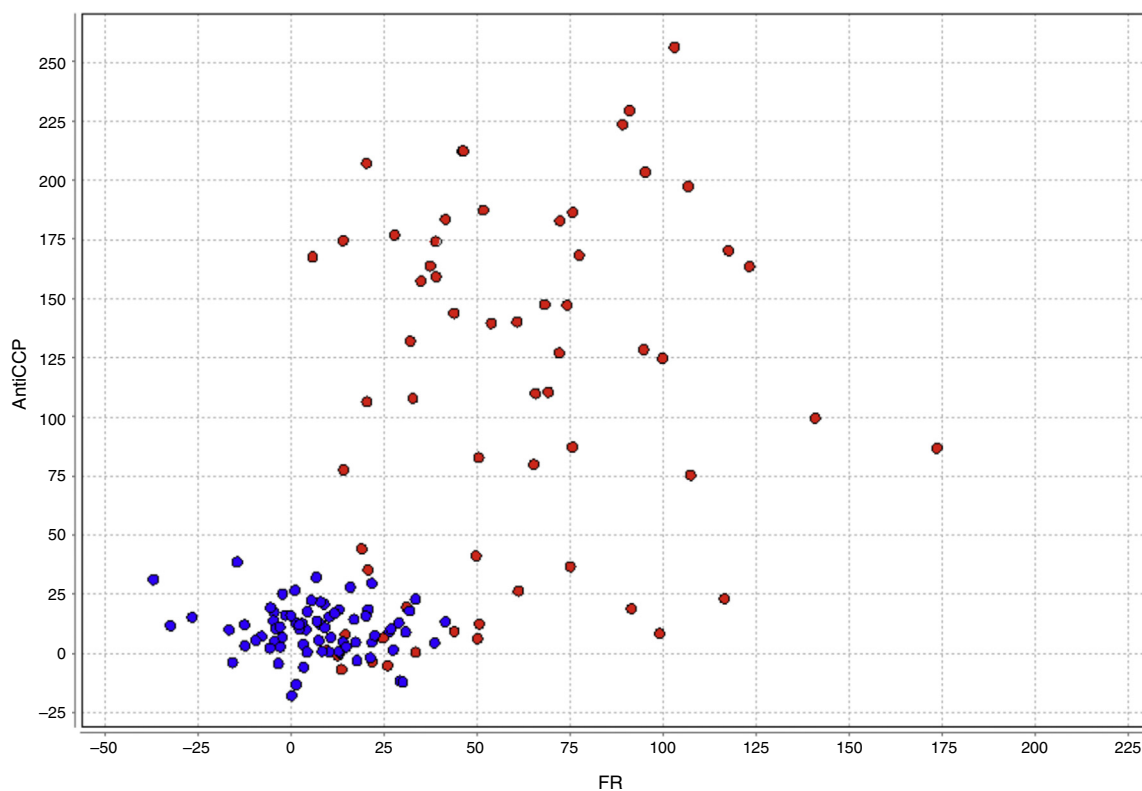


Figura 6 – Visualización de las variables FR y Anti CCP. El color rojo corresponde al grupo 1 y el color azul al grupo 2.

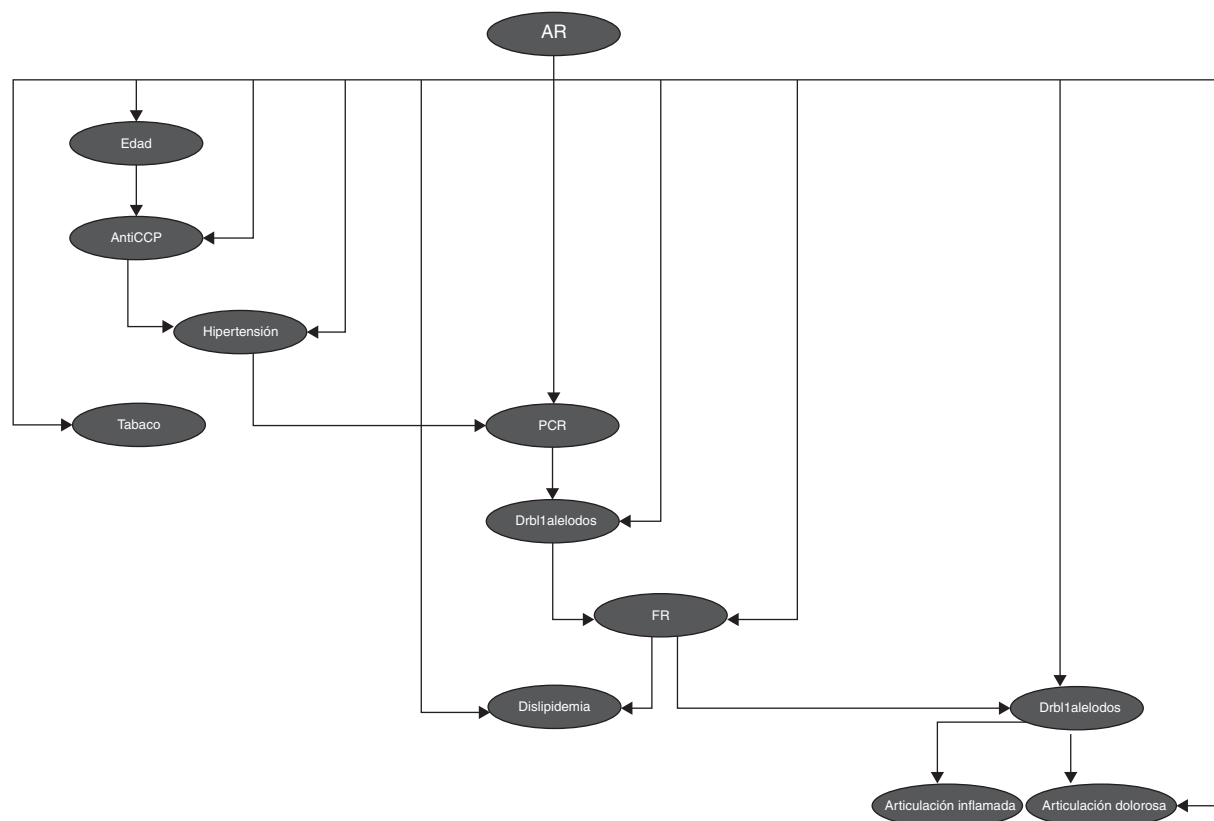


Figura 7 – Red bayesiana obtenida usando 11 variables.

Tabla 11 – Análisis estadístico de los datos que conforman el grupo 1 de pacientes teniendo en cuenta la severidad de la enfermedad

Grupo 1	PCR	FR	Anti-CCP	Articulaciones inflamadas	Articulaciones dolorosas
Promedio	1,82	66,53	32,13	23,26	24,08
Máximo	7,8	349	225,4	28	28
Mínimo	0	19	3	4	4
Desviación estándar	2,18	75,79	49,95	7,88	7,07

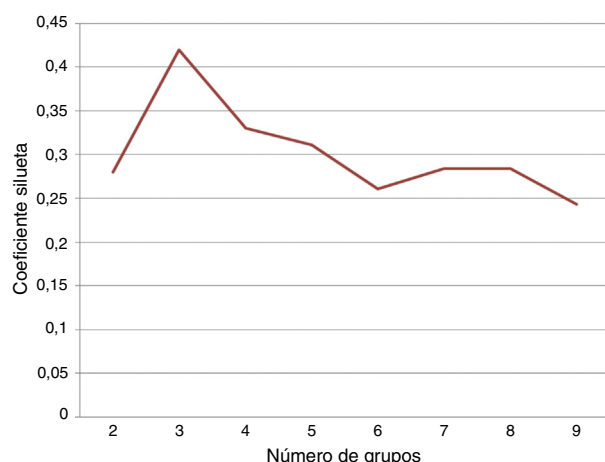
Tabla 12 – Análisis estadístico de los datos que conforman el grupo 2 de pacientes teniendo en cuenta la severidad de la enfermedad

Grupo 2	PCR	FR	Anti-CCP	Articulaciones inflamadas	Articulaciones dolorosas
Promedio	2,47	59,33	155,05	22,25	22,78
Máximo	11,6	123	257,6	28	28
Mínimo	0,1	19	68,3	4	9
Desviación estándar	3,08	28,25	46,49	6,66	6,15

segundo con 23. El análisis estadístico de los 2 grupos obtenidos se puede observar en las [tablas 11 y 12](#).

Al comparar los 2 grupos, se identificó que el promedio de articulaciones inflamadas y dolorosas entre estos fue similar, siendo en el grupo 1 de 23,26 y 24,08, respectivamente, y en el grupo 2 de 22,25 y 22,78, respectivamente, por lo cual estas 2 variables no son discriminantes. Por el contrario, el promedio de la variable anti-CCP del grupo 1 fue de 32,13 y del grupo 2 fue de 155,05, lo que puede indicar una enfermedad más activa en el grupo 2 con respecto al grupo 1. También, al analizar las desviaciones estándar del anti-CCP se puede inferir que esta variable puede llegar a ser discriminante.

Por otro lado, para la identificación de endofenotipos se realizó el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de los distintos alelos correspondientes a pacientes con un desenlace en común. Esto se hizo usando clustalw. Para este caso se seleccionaron los alelos de los pacientes con 28 articulaciones comprometidas como criterio de severidad y se realizó el alineamiento de las secuencias correspondientes. Como resultado se encontraron secuencias comunes, además de las secuencias de la teoría del EC.

**Figura 8 – Coeficiente silueta para agrupamiento de pacientes.**

Se realizó primero la identificación de la identidad entre las secuencias de aminoácidos que corresponden a pacientes con 28 articulaciones comprometidas; el resultado se muestra en la [figura 9](#).

En la [figura 10](#) se observa que las secuencias de aminoácidos QVKH y WQPKR son comunes en pacientes que tienen 28 articulaciones comprometidas, lo cual indica que están asociadas con este desenlace.

En el recuadro rojo se resalta el área correspondiente al EC. En este estudio se logró determinar que, además de las secuencias de aminoácidos comunes entre pacientes con AR, también existen otras secuencias de aminoácidos comunes entre pacientes, las cuales pueden ser candidatas para la posible identificación de desenlaces de la enfermedad.

Se realizó un análisis de los datos tipificados en el HLA DRB1 y la información clínica de los pacientes con AR y de los controles. Esto se realizó a partir de la hipótesis del EC, para lo cual se calculó la frecuencia de cada alelo entre los pacientes y los controles. En la [tabla 13](#) se muestran los resultados obtenidos. De las 138 personas que participaron en el estudio se identificaron 59 alelos diferentes para el HLA DRB1, de los cuales 8 son homocigotos y pertenecen a 4 pacientes (0101, 0103, 0441, 0701) y 4 controles (0701, 1101, 0802, 1303).

Los alelos más frecuentes en los pacientes se presentan en la [tabla 14](#).

Las secuencias QKRAA, QRRAA y RRRAA, que corresponden a los aminoácidos de los alelos del EC, se repitieron 98 veces en los datos analizados. Esto significa que estas secuencias hacen parte de las reportadas en la literatura como EC.

En varios estudios se ha demostrado que algunas variantes genéticas se asocian con aumento del riesgo de desarrollar AR. Como en este estudio, en el cual un análisis de la interacción de polimorfismos se utilizó para analizar los polimorfismos de nucleótido único (SNP) que contribuyen a la AR, los pares de SNP adquiridos se utilizaron para construir una red SNP-SNP. Se realizó el análisis de cada módulo de genes que pueden ser utilizados para investigar la función de genes agrupados, para una mejor comprensión de la patogénesis de la AR¹⁵.

A partir de esta información, para cada uno de los alelos en estudio se encontraron las secuencias que se muestran en la [tabla 15](#).



Figura 9 – Alineamiento de las secuencias de aminoácidos de pacientes con 28 articulaciones comprometidas.

Se realizó un alineamiento entre las distintas secuencias de aminoácidos de los alelos. El resultado de este alineamiento se muestra en la figura 11.

Con los datos utilizados en el presente estudio se confirma la hipótesis del EC en los pacientes colombianos con AR, esto a partir de que los alelos más frecuentes y que corresponden a las secuencias QKRAA, QRRAA y RRRRAA están presentes en los pacientes con AR, se logra identificar que el alelo 0101, implicado en la AR, es el más frecuente en pacientes con AR.

Finalmente, se creó un árbol de los alelos de los pacientes con AR por el método de distancia promedio (*average distance*) usando Blosum62 en el fin de buscar cercanía genética entre los alelos, para posteriormente mostrarlos en la literatura.

En la figura 12 se observan los grupos que se forman a partir de información de los pacientes. Allí se identifican algunos grupos que verifican lo que ha sido reportado en la literatura sobre criterios de severidad. Particularmente se forman grupos con riesgo alto que corresponden a los alelos 0401 y 1303; riesgo intermedio 0101, 0102, 0404, 0405, 0408, 1001, 1402; y riesgo bajo 0103, 0402, 03, 0403, 0407, 0411, 07, 08, 09, 1101, 1102, 1103, 1104, 12, 1301, 1302, 1323, 1401, 1404, 15, 16.

La clasificación propuesta en un estudio previo fue la siguiente. El HLA-DRB1 se dividió primero en 2 grupos de acuerdo con la presencia o ausencia de la secuencia RAA en

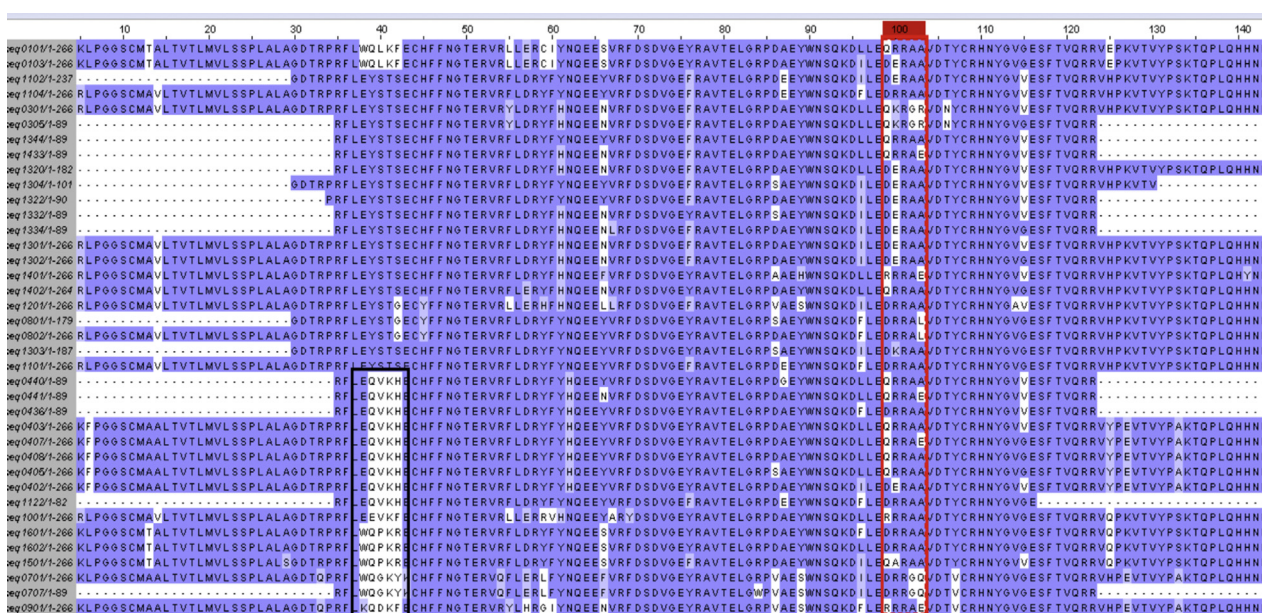


Figura 10 – Alineamiento de las secuencias de aminoácidos de pacientes con 28 articulaciones comprometidas; con el recuadro rojo se resalta el área correspondiente al epítipo compartido y con el recuadro negro las secuencias en común.

Tabla 13 – Resultados del análisis de alelos HLA DRB1 en pacientes y controles. Los alelos 0101, 0102, 0105, 0401, 0403, 0404, 0405, 0408, 0410, 0428, 0433, 0440, 0442, 1001, 1344, 1402 corresponden al epítipo compartido

Alelo	Frecuencia alelo en pacientes	Frecuencia alelo en controles	Alelo	Frecuencia alelo en pacientes	Frecuencia alelo en controles	Alelo	Frecuencia alelo en pacientes	Frecuencia alelo en controles
0101	13	7	0428	0	0	1102	1	2
0102	2	4	0431	0	0	1104	0	2
0103	1	1	0433	1	0	1122	1	0
0105	1	0	0436	0	0	1201	1	1
0301	5	6	0440	1	0	1202	0	1
0302	0	1	0441	3	0	1301	3	4
0305	1	0	0442	1	0	1302	2	5
0306	1	0	0448	1	0	1303	1	3
0312	0	0	0501	0	1	1304	1	0
0317	1	0	0701	11	19	1322	1	0
0320	0	0	0707	1	0	1332	0	0
0401	1	2	0801	2	3	1334	0	0
0402	1	2	0802	4	10	1344	2	0
0403	3	23	0803	0	1	1401	5	4
0404	5	6	0816	1	0	1402	4	5
0405	8	1	0825	1	0	1501	9	14
0407	8	1	0901	3	3	1502	1	0
0408	1	0	0902	1	0	1601	3	6
0410	1	0	1001	2	4	1602	3	0
0411	0	0	1101	2	8			

Los datos en cursiva y negrilla corresponden a alelos del epítipo compartido con su respectiva frecuencia en pacientes y controles.

Tabla 14 – Frecuencia de alelos en pacientes

Alelo	Frecuencia en pacientes	Porcentaje
0101	13	10,3
0701	11	8,7
1501	9	7,1
0405	8	6,3
0407	8	6,3

la posición 72-74, que se denota como S y alelos X, respectivamente. El grupo S incluye alelos que se clasifican como EX en la primera clasificación. Los alelos S se puede dividir posteriormente en 4 grupos de acuerdo con el aminoácido en la posición 71: una alanina (A), un ácido glutámico (E), una lisina (K), o una arginina (R). Cuatro diferentes alelos fueron definidos en la nueva clasificación, así: S1 para ARAA y ERAA, S2 para KRAA, S3 para RRAA y X para todos los motivos no RAA.

Por otra parte, el estudio indica que el aminoácido en la posición 70 puede influir en la susceptibilidad a la AR; de hecho, un ácido aspártico (D) se supone que es de protección en comparación con la presencia de una glutamina (Q) o una arginina (R). Por lo tanto, 2 alelos adicionales se definieron: S3D para DRRAA y S3P para QRRAA o RRRAA. Alelos S2 no podrían ser divididos debido a su pequeña frecuencia^{16,17}.

En la [tabla 16](#) se presentan los grupos obtenidos por cercanía genética a partir de la secuencia de aminoácidos correspondiente a cada alelo, los cuales son comparables con resultados previos obtenidos en otros estudios.

Discusión

Mediante técnicas computacionales, como las redes neuronales, utilizando 5 variables, se logró clasificar a pacientes con AR y controles sanos; utilizando los criterios del Colegio

Tabla 15 – Correspondencia entre alelos y secuencias de aminoácidos. Las secuencias de aminoácidos en QKRAA, QRRAA y RRRA corresponden al epítipo compartido

Secuencia de aminoácidos	Alelos	Pacientes	Controles sanos	Total
QKRAA	0401, 0433	2	2	4
QRRAA	0101, 0102, 0105, 0403, 0404, 0405, 0408, 0410, 0428, 0440, 0442, 1344, 1402	42	46	88
RRRAA	1001	2	4	6
DERAA	0103, 0402, 1102, 1301, 1302, 1304, 1322, 1332, 1334	10	14	24
DRRGQ	0701	11	19	30
QARAA	1501	9	14	23
DRRAL	0802	4	10	14
QKRGR	0301	5	6	11
QRRAE	0407	8	1	9
DRRAA	1101	2	8	10

```

seq0101  YNQEEVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0105  YNQEEVRFDSVREYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0102  YNQEEVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0103  YNQEEVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0410  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0411  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0401  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0433  YHQEEYVHFDSDVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0408  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0428  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0448  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0405  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0407  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0436  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq1122  YNQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0442  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0440  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0441  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0443  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0404  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0402  YHQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0312  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0320  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0305  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 86
seq0301  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0306  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 120
seq0302  HNQEENVRFDSVGEYRAVTELGRPD AEYWNSQKDLLEQRRAAVD TYCRHNYGVGESFTV 91

```

Figura 11 – Alineamiento de los distintos alelos HLA DRB1.

Americano de Reumatología se logró mejorar el desempeño de los modelos. En el caso de la red neuronal se consiguió clasificar adecuadamente el 89,28% de los datos. Con la red bayesiana con 5 variables se clasificó adecuadamente el 92,85% de los datos. Por otro lado, la red neuronal utilizando 11 variables clasificó adecuadamente el 89,28% y la red bayesiana clasificó adecuadamente el 92,85% de los datos.

Los resultados obtenidos con *k-means* con el grupo de 138 individuos permitieron determinar que el grupo 1 presentaba una susceptibilidad mayor a presentar AR dada por los resultados de las variables analizadas.

Posteriormente, se realizó un nuevo agrupamiento de pacientes para determinar la severidad de la enfermedad. Al utilizar el coeficiente silueta se determinó que el mejor agrupamiento se logra con 2 grupos. Al comparar los 2 grupos, se identificó que el promedio de articulaciones inflamadas y dolorosas fue similar, por lo cual, estas 2 variables no son discriminantes. En contraste, la variable anti-CCP resultó discriminante para la condición de severidad de la enfermedad. Por otro lado, los valores para la variable FR son cualitativamente positivos, lo cual solo indica que los individuos pertenecientes a estos grupos presentan una actividad de la

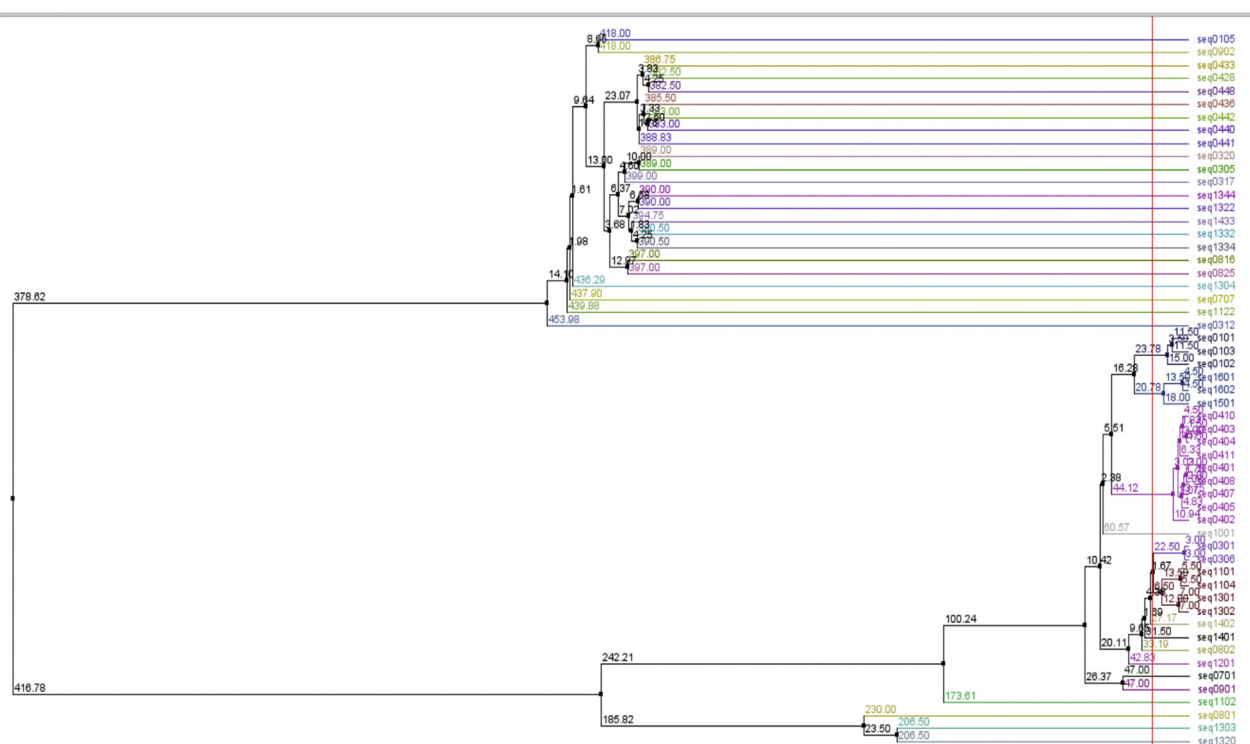


Figura 12 – Árbol de distancia entre secuencias de aminoácidos de los distintos alelos HLA DRB1.

Tabla 16 – Grupos de alelos obtenidos a partir del árbol de cercanía genética

Grupo	Alelos
1	0105
2	0902
3	0433, 0707
4	0428, 0442, 0305
5	0448, 0440, 0441
6	0436
7	0320
8	0317
9	1344
10	1320, 1322, 1334
11	1433
12	1303, 1304, 1332
13	0816
14	0825
15	0101, 0102, 0103,
16	1501, 1601, 1602

enfermedad. Algo similar se puede observar para las articulaciones inflamadas y dolorosas.

Adicionalmente, en la red bayesiana se identificaron relaciones significativas entre las variables, tales como la relación entre el número de articulaciones inflamadas y dolorosas con las variables serológicas y las variables genéticas. Este hallazgo está acorde con los resultados obtenidos en el estudio de Li et al.¹⁸, donde analizaron las relaciones existentes entre los fenotipos y biomarcadores en un estudio de AR. Por lo cual, en este estudio a través de los métodos computacionales mencionados se encontraron relaciones de dependencia entre estas variables, principalmente usando los modelos bayesianos. Las tablas de los valores de las probabilidades correspondientes indican la posibilidad de que una persona presente AR.

Según algunos estudios, las redes bayesianas proporcionan un marco conveniente para la sistematización de datos para deducir un orden de probabilidad y modelos de variables que interactúan en enfermedades como la AR. Estos estudios se han concentrado en la estimación de las relaciones estructurales en el sistema en estudio o en la identificación de las asociaciones de la enfermedad con los polimorfismos genéticos. Por eso las redes bayesianas se pueden utilizar para predecir el resultado de las intervenciones específicas en esta enfermedad¹⁹.

Conclusiones

En este trabajo se realizó el análisis de un conjunto de datos de pacientes con AR aplicando métodos de inteligencia computacional, con el fin de tratar de identificar endofenotipos para la enfermedad. Los datos incluían información genética, clínica y serológica. También se trataron de obtener marcadores para determinar la severidad de la enfermedad en los pacientes.

Se identificaron las relaciones de dependencia entre algunas de las variables a través de una red bayesiana. Específicamente se estableció que las variables anti-CCP y el FR están implicadas de manera significativa en la enfermedad. También, se identificaron endofenotipos relacionados con la severidad de la enfermedad en pacientes; particularmente

se identificaron secuencias de aminoácidos comunes entre pacientes con el mismo desenlace.

Se concluyó que utilizando técnicas de inteligencia computacional y bioinformática fue posible desarrollar modelos computacionales que, usando información genética y clínica, logran clasificar entre pacientes y controles sanos, así como también clasificar según criterios de severidad a los pacientes.

Trabajo futuro

Se propone trabajar en la búsqueda de más secuencias comunes entre los distintos pacientes con grados de severidad similares y para ello se podrán utilizar otras variables como son niveles elevados del FR, niveles elevados de anticuerpos anti-CCP, HAQ elevados y otras posibles variables que se pueden cuantificar.

Se recomienda en un trabajo futuro desarrollar una aplicación web que permita automatizar la metodología de análisis aplicada en esta investigación, así como realizar trabajos futuros con un número mayor de pacientes.

Finalmente, se recomienda implementar y validar otras técnicas de inteligencia computacional, tales como máquinas de soporte vectorial o técnicas como *boosting* y *bagging*, para clasificar y diferenciar entre pacientes y controles sanos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bax M, van Heemst J, Huizinga TWJ, Toes REM. Genetics of rheumatoid arthritis: What have we learned? *Immunogenetics*. 2011;63:459-66.
2. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New Engl J Med*. 2011;365:2205-19.
3. Massardo L, Gareca N, Cartes MA, Cervilla V, González A, Jacobelli S. The presence of the HLA-DRB1 shared epitope correlates with erosive disease in Chilean patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2002;41:153-6.

4. Matthey DL, Thomson W, Ollier WER, Batley M, Davies PG, Gough a K, et al. Association of DRB1 shared epitope genotypes with early mortality in rheumatoid arthritis: Results of eighteen years of followup from the early rheumatoid arthritis study. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1408-16.
5. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2569-81.
6. Schmidhuber J. Deep learning in neural networks: An overview. *Neural Networks.* 2015;61:85-117.
7. Meireles MRG, Almeida PEM, Member S, Simões MG, Member S. A comprehensive review for industrial applicability of artificial neural networks. *IEEE Transactions on Industrial Electronics.* 2003;50:585-601.
8. Fan C, Gao F, Sun S, Cui F. Bayesian neural networks and its application. 2008 Fourth International Conference on Natural Computation. IEEE; 2008 [2014];446-50 [consultado 23 Sep 2012]. Disponible en: <http://ieeexplore.ieee.org/xpl/login.jsp?tp=&arnumber=4667178&url=http%3A%2F%2Fieeexplore.ieee.org%2Fiel5%2F4666791%2F4667081%2F04667178.pdf%3Farnumber%3D4667178>
9. Kanungo T, Member S, Mount DM, Netanyahu NS, Piatko CD, Silverman R, et al. An efficient k-means clustering algorithm: Analysis and implementation. *IEEE Xplore Digital Library.* 2002;24:881-92.
10. Rousseeuw PJ. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *Journal of Computational and Applied Mathematics.* 1987;20:53-65.
11. Pollard KS, van der Laan M.J. A method to identify significant clusters in gene expression data. U.C. Berkeley Division of Biostatistics Working Paper Series, paper 107, 2002.
12. Kodinariya TM, Makwana PR. Review on determining number of cluster in k-means clustering. *International Journal of Advance Research in Computer Science and Management Studies.* 2013;1:90-5.
13. Holmes G, Donkin A, Witten IH. WEKA: a machine learning workbench. En: *Proc Second Australian and New Zealand Intelligent Information Systems Conference.* 1994. p. 357-61.
14. Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, Van Venrooij WJ, De Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: A prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 2015;50:709-15, 2004.
15. Hua L, Lin H, Li D, Li L, Liu Z. Mining functional gene modules linked with rheumatoid arthritis using a SNP-SNP network. *Genomics Proteomics Bioinformatics [Internet].* 2012;10:23-34.
16. Du Montcel ST, Michou L, Petit-Teixeira E, Osorio J, Lemaire I, Lasbleiz S, et al. New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum.* 2005;52:1063-8.
17. Gourraud P-A, Boyer J-F, Barnetche T, Abbal M, Cambon-Thomsen A, Cantagrel A, et al. A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for rheumatoid arthritis structural severity. *Arthritis Rheum.* 2006;54:593-9.
18. Li W, Wang M, Irigoyen P, Gregersen PK. Inferring causal relationships among intermediate phenotypes and biomarkers: a case study of rheumatoid arthritis. *Bioinformatics.* 2006;22:1503-7.
19. Xing H, McDonagh PD, Bienkowska J, Cashorali T, Runge K, Miller RE, et al. Causal modeling using network ensemble simulations of genetic and gene expression data predicts genes involved in rheumatoid arthritis. *PLoS Computational Biology.* 2011;7:e1001105.