

El análisis de agrupamientos no supervisados de perfiles moleculares circulantes en pacientes con artritis reumatoide define con precisión el riesgo CV. Efectos de TNFi, IL6Ri y JAKinibs



Chary Lopez-Pedrerá¹, Laura Muñoz-Barrera¹, Tomás Cerdó¹, María Luque-Tevar², Pilar Font¹, Montserrat Romero-Gomez¹, Desirée Ruiz-Vilchez¹, Sara Remuzgo-Martinez¹, Raquel Lopez Mejias⁵, María Carmen Ábalos-Aguilera¹, Rafaela Ortega-Castro¹, José Pérez-Venegas⁶, M^a Dolores Ruiz-Montesinos⁶, Carmen Dominguez⁷, Carlos Rodríguez-Escalera⁸, Carmen Romero-Barco⁷, Antonio Fernández-Nebro⁸, Natalia Mena Vazquez⁹, José Luis Marencó⁹, Julia Uceda Montañez⁹, Charo Santos¹⁰, Nuria Barbarroja¹, M^a Ángeles Aguirre¹, Alejandro Escudero-Contreras¹, Eduardo Collantes¹, Miguel Ángel González-Gay¹ and Carlos Pérez-Sánchez¹
¹IMIBIC/Universidad de Córdoba/Hospital Reina Sofía, Córdoba, España, ²IMIBIC, Córdoba, España, ³Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain, ⁴Grupo de Investigación sobre Epidemiología Genética y Aterosclerosis en Enfermedades Sistémicas y en Enfermedades Metabólicas Óseas del Sistema Musculoesquelético, IDIVAL, y Departamento de Reumatología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, España, ⁵IDIVAL, Santander, España, ⁶Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España, ⁷Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, España, ⁸Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, España, ⁹Hospital Universitario Virgen de Valme, Sevilla, España, ¹⁰Hospital Universitario Virgen de Valme, Málaga, Spain, ¹¹Departamento de Medicina y Psiquiatría, Universidad de Cantabria, Reumatología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla; Grupo de investigación sobre epidemiología genética y aterosclerosis en enfermedades sistémicas y en enfermedades metabólicas del sistema musculoesquelético., IDIVAL, Santander, España. Unidad de investigación en Fisiopatología y Genómica Cardiovascular, School of Physiology, Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa

ANTECEDENTES Y OBJETIVO

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica caracterizada por el daño articular y el desarrollo de numerosas comorbilidades, entre las que destaca la Enfermedad Cardiovascular (ECV). A pesar de la disponibilidad actual de potentes herramientas terapéuticas como los bDMARDs y los tsDMARDs, todavía existe un gran número de pacientes que no responden a ellos, así como altos porcentajes de pacientes con comorbilidades diagnosticadas en fases tardías, que perjudican la evolución de la enfermedad.

Partiendo de estas premisas, en este estudio se propuso 1) Analizar el perfil inflamatorio circulante de los pacientes con artritis reumatoide (AR), a fin de reconocer fenotipos clínicos distintivos asociados con el riesgo CV; 2) Evaluar los efectos moduladores de los inhibidores del TNF (TNFi), los inhibidores de JAK-STAT (Jakinibs) y los inhibidores de IL-6R (IL6Ri); 3) Caracterizar los mecanismos moleculares subyacentes implicados en la disfunción endotelial.

MÉTODOS

Tabla 1. Perfiles clínicos y moleculares de pacientes con AR y un segundo grupo de pacientes con eventos CVD previos.

Parámetros clínicos	Pacientes AR (n=208)	Pacientes AR con CVD (n=96)
Edad, años (media ± SD)	54,2 ± 11,8	70,19 ± 10,2
Evolución de la enfermedad, años (media ± SD)	10,1 ± 9,2	8,79 ± 9,7
NAD (media ± SD)	6,3 ± 6,6	4,05 ± 4,5
NAI (media ± SD)	4,1 ± 4,6	3,07 ± 3,7
DA328 (media ± SD)	4,1 ± 1,5	3,79 ± 1,6
CIMT patológica (n, %)	50 (24%)	27 (28%)
Puntuación riesgo CV (media ± SD)	3,4 ± 6,4	8,21 ± 6,6
Fumador (n, %)	67 (34%)	38 (39%)
Hipertensión arterial (n, %)	44 (22%)	50 (52%)
Diabetes (n, %)	10 (5%)	22 (22%)
Hipercolesterolemia (n, %)	102 (51%)	43 (44%)
Parámetros de laboratorio		
CRP, mg/mL (media ± SD)	13,8 ± 23,4	11,98 ± 19,8
ESR, mm/h (media ± SD)	20,8 ± 16,9	22,8 ± 22,8
Positividad ACPAs (n, %)	124 (60%)	34 (35%)
Positividad RF (n, %)	117 (64%)	47 (48%)
Tratamientos		
Corticosteroides	144 (74%)	62 (63%)
Metotrexato	103 (53%)	56 (57%)
Leflunomida	75 (38%)	15 (16%)
Salazopirina	13 (8%)	9 (9%)
Hidrocortisona	50 (26%)	37 (38%)

GRUPO DE ESTUDIO
208 pacientes con AR + 45 donantes sanos emparejados por edad/sexo

ANÁLISIS CLÍNICO
Características demográficas y parámetros de laboratorio. Índice de actividad de la enfermedad y puntuación de riesgo cardiovascular. CIMT (EcoDoppler).

ANÁLISIS MOLECULAR
Perfil inflamatorio serológico (panel BioPlex). Bioproductos NETosis. Estudios mecanísticos *in vitro* en células endoteliales, expresión de proteínas (Olink).

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO
Agrupación no supervisada (metabanoálisis). Caracterización de funciones biológicas.

1. El análisis de clustering no supervisado en pacientes con AR identificó tres subgrupos de pacientes en función de su perfil molecular circulante

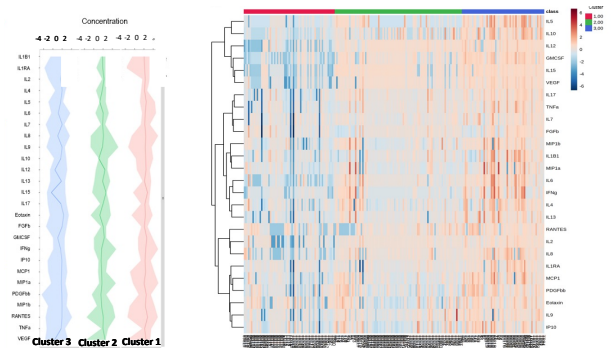
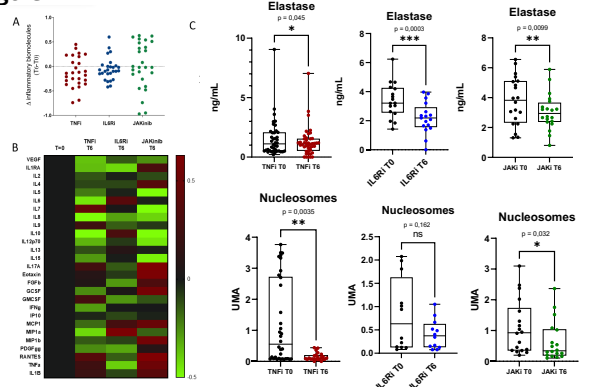


Table 2. Clinical and molecular profiles of RA-patients belonging to each cluster

Clinical parameters	Cluster 1 (n=63)	Cluster 2 (n=88)	Cluster 3 (n=57)	p
Gender (Female/Male)	49/14	67/21	45/12	
Age, years [mean ± SD]	51,28 ± 11,28	53,9 ± 1,66	57,60 ± 11,83	0,015
Disease Evolution, years (mean ± SD)	11,27 ± 9,97	10,30 ± 8,93	9,17 ± 9,46	0,495
DA328 (mean ± SD)	4,61 ± 1,39	4,26 ± 1,35	4,21 ± 1,31	0,236
Laboratory parameters				
CRP, mg/mL (mean ± SD)	13,41 ± 21,80	11,04 ± 12,29	9,39 ± 11,16	0,352
ESR, mm/h (mean ± SD)	20,75 ± 14,69	20,75 ± 19,19	20,46 ± 16,08	0,994
ACPs positivity (n, %)	46 (72,5%)	52 (58,4%)	37 (64,8%)	
RF positivity (n, %)	36 (57,1%)	59 (67,1%)	37 (65,5%)	
Treatments				
Corticosteroides (n, %)	51 (81,5%)	55 (63,1%)	49 (85,5%)	
MTX (n, %)	32 (51,9%)	53 (60,7%)	25 (44,4%)	
LFN (n, %)	30 (47,3%)	27 (30,6%)	24 (41,3%)	
SI2 (n, %)	3 (4,1%)	5 (5,3%)	9 (15,2%)	
HQ2 (n, %)	11 (17,0%)	27 (30,3%)	17 (28,6%)	

Los pacientes del grupo C3 se caracterizaban por niveles elevados de interleucinas, quimiocinas y factores de crecimiento, a diferencia de los pacientes del grupo C1, que mostraban el perfil inflamatorio menos acentuado, y de los pacientes del grupo C2, que presentaban un perfil intermedio (Figuras A-B).

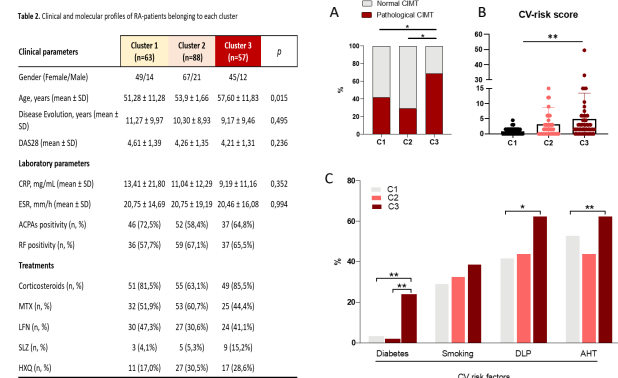
4. Los pacientes en tratamiento con b/ts-DMARDs muestran una disminución de los parámetros proinflamatorios y NETóticos asociados a la inducción del riesgo CV



La terapia promovió una mejoría clínica evaluada por una reducción del daño articular, de los reactantes de fase aguda y del Índice de Actividad de la Enfermedad (Tabla 4). También promovió una disminución de varias moléculas inflamatorias (Figuras A-B) y bioproductos de NETosis (Figura C), lo que refleja su capacidad para modular el perfil molecular asociado al riesgo CV junto con una mejora del estado clínico global.

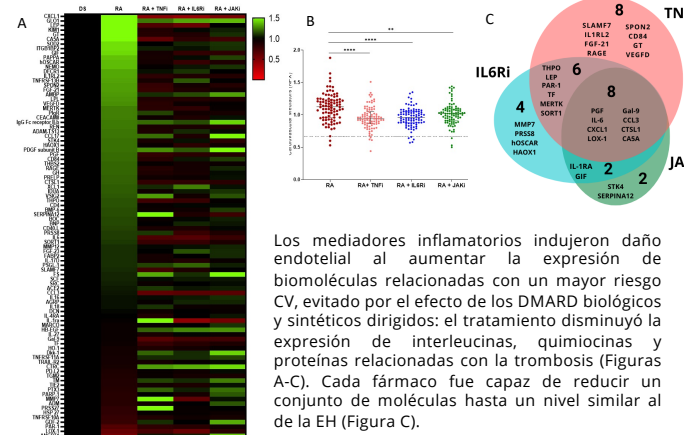
R E S U L T A D O S

2. La estratificación según el perfil molecular de los pacientes permite caracterizar clínicamente a los pacientes con un riesgo cardiovascular distintivo

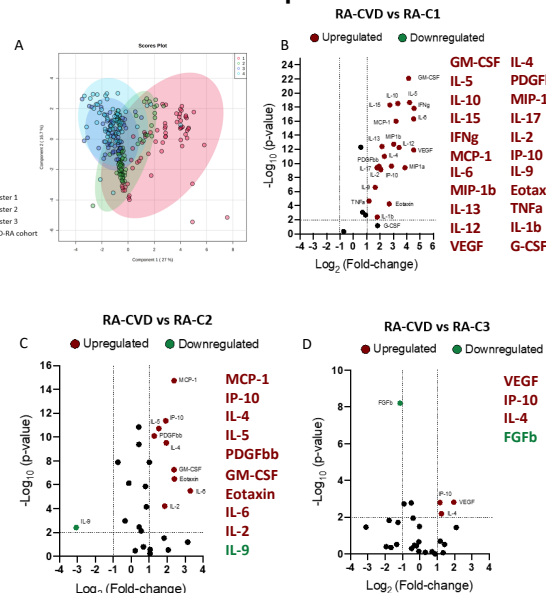


El cluster 3 presentó un mayor porcentaje de pacientes con CIMT patológica, y el SCORE de riesgo CV se mostró significativamente aumentado en estos pacientes en comparación con C1, mientras que los pacientes C2 tuvieron un SCORE intermedio (Figura A). La evaluación de los factores de riesgo tradicionales identificó un aumento significativo de todos ellos en los pacientes C3 en relación con C2 y C1 (Figura B).

5. In vitro, el suero de pacientes C1 aumentó la expresión de proteínas relacionadas con ECV en CE cultivadas, que se revirtió por preincubación con TNFi, JAKinibs e IL6Ri.



3. El perfil molecular de los pacientes del cluster asociado a mayor riesgo CV muestra una alta similitud con el perfil de pacientes con AR con eventos CV previos



Se realizó un estudio comparativo con un nuevo grupo de 96 pacientes que habían sufrido eventos CV como un infarto de miocardio, accidente cerebrovascular o enfermedad isquémica. El análisis de componentes principales (PCA) reveló que los pacientes del nuevo grupo se agrupaban con C3 (Figura A), con mayores niveles de numerosos mediadores inflamatorios en comparación con C1-2. La comparación con C3 reveló escasas diferencias en cuanto a los niveles de estos mediadores (Figuras B-D).

CONCLUSIONES

- El perfil inflamatorio de la AR identificó subgrupos de pacientes con mayor riesgo CV, no asociado a su estado de actividad de la enfermedad.
 - Los b-DMARDs y los ts-DMARDs restablecieron los niveles normales de biomoléculas inflamatorias circulantes, reduciendo el riesgo CV en la AR.
 - Los estudios *in vitro* revelaron que los mediadores inflamatorios del suero de la AR inducían directamente el daño endotelial, que podría prevenirse mediante el efecto del tratamiento con DMARD biológicos y sintéticos dirigidos.
- Así pues, el análisis del perfil molecular circulante de los pacientes con AR podría contribuir a mejorar la gestión clínica personalizada de estos pacientes y su riesgo CV.

