

Perfil de metilación del ADN en la sangre de pacientes con enfermedad pulmonar intersticial asociada a la artritis reumatoide.



A. González^{#*}, B. Kaczmarczyk^{*}, C. de la Calle-Fabregat^{*}, A. Catarina Duarte, N. Mena Vazquez, A. Fernández Nebro, A. Triguero-Martínez, S. Castañeda, R. Dos Santos Sobrin, A. Mera Varela, R. López Pedrera, A. Escudero Contreras, P. Vera Casasepere, M. Molina, J. Narvaez, M. Retuerto Guerrero, J.L. Pablos Álvarez, J.C. Sarmiento-Monroy, R. Sanmarti Sala, L. Gómez Carreras, G. Bonilla Hernán, S. Remuzgo Martínez, M.Á. González-Gay, V. Leiro Fernandez, N. Pérez Gómez, C. Vadillo Font, L. Abasolo, I. Casafont-Solé, L. Mateo, A.C. Castillo González, C. Marras Fernández-Cid, E. Pérez Pampín, E. Ballestar^{*}, en nombre de la red MARILD.

Introducción

La **enfermedad pulmonar intersticial asociada a la artritis reumatoide (EPI-AR)** es una manifestación extraarticular de la artritis reumatoide. Limita la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes. Su patogenia es conocida solo parcialmente, pero incluye elementos como la fibrosis, el acortamiento de los telómeros, el gen MUC5B, los anticuerpos típicos de la AR y el tabaquismo. **Un mejor conocimiento de la patogenia de la enfermedad llevará finalmente a unos mejores resultados para los pacientes.**

Objetivo

Nuestro objetivo es identificar **sitios CpG diferencialmente metilados en sangre** en los pacientes con EPI-AR. Los hallazgos indicarán **genes y rutas de relevancia específica** para la patogenia de la EPI-AR.

Métodos

Hemos comparado **dos grupos de 32 pacientes** con AR: pacientes con EPI diagnosticados menos de un año antes y pacientes sin EPI. Todos fueron evaluados mediante TAC de Alta Resolución (TACAR) y emparejados por sexo, edad, tabaquismo y estado de antiCCP. Todos proporcionaron su consentimiento informado y el estudio contó con la aprobación de los CEIC de todos los centros participantes. La metilación de **850000 CpG** se midió con Infinium Methylation Epic BeadChip (Illumina). Las **posiciones diferencialmente metiladas (DMP)** y las **regiones diferencialmente metiladas (DMR)** se identificaron usando la aplicación de R **ShinyÉPICO**. El análisis de **enriquecimiento en conjuntos de genes (GSEA)** se hizo con methylGSA.

Resultados

Se identificaron **6679 DMP** con una diferencia $\geq 2\%$ y un $FDR < 0.05$ en los cromosomas autosómicos (**Figura 1**). Además, se identificaron **119 DMR**: 72 en cuerpos génicos, 32 en promotores y 15 en islas de CpG. Algunos de estos DMP y DMR estaban asociados con genes de conocida relevancia (**Figura 2**): genes de **mucinas** (MUC6, MUC13), de **colágenos** (COL9A3, COL21A1), del mantenimiento de los **telómeros** (TERF, TERT, POT1) y relacionados con **procesos inmunes** (HLA-DRA, VCAM1, TGFBR1). El análisis **GSEA** mostró un enriquecimiento significativo de 62 términos en Gene Ontology (GO) y 49 rutas en Reactome que coincidieron en gran medida. Algunos de los conjuntos de genes más enriquecidos se relacionan con la **detección de estímulos químicos implicada en la percepción sensorial**. Otros corresponden a **cambios cromosómicos durante la mitosis**: duplicación de centrómeros, segregación de cromosomas y a otros procesos de la fase M de la mitosis y de **control del ciclo celular**. Otro grupo prominente incluye **modificaciones postraduccionales de proteínas**: incluyendo acetilación y desacetilación de histonas y ubiquitinación de proteínas. Finalmente, se encontraron otros conjuntos de genes enriquecidos significativamente como los de **procesos catabólicos del ARNm** transcrito en el núcleo y rutas del metabolismo del ARNm, el transporte de **vesículas intracelulares** y de **localización en la célula** tanto de proteínas, como de mitocondrias, ARN y cromosomas; la interacción del huésped con **infecciones víricas**, el **silenciamiento génico** por ARN pequeños, la **SUMOilación** y el **ciclo de RHO GTPasa**

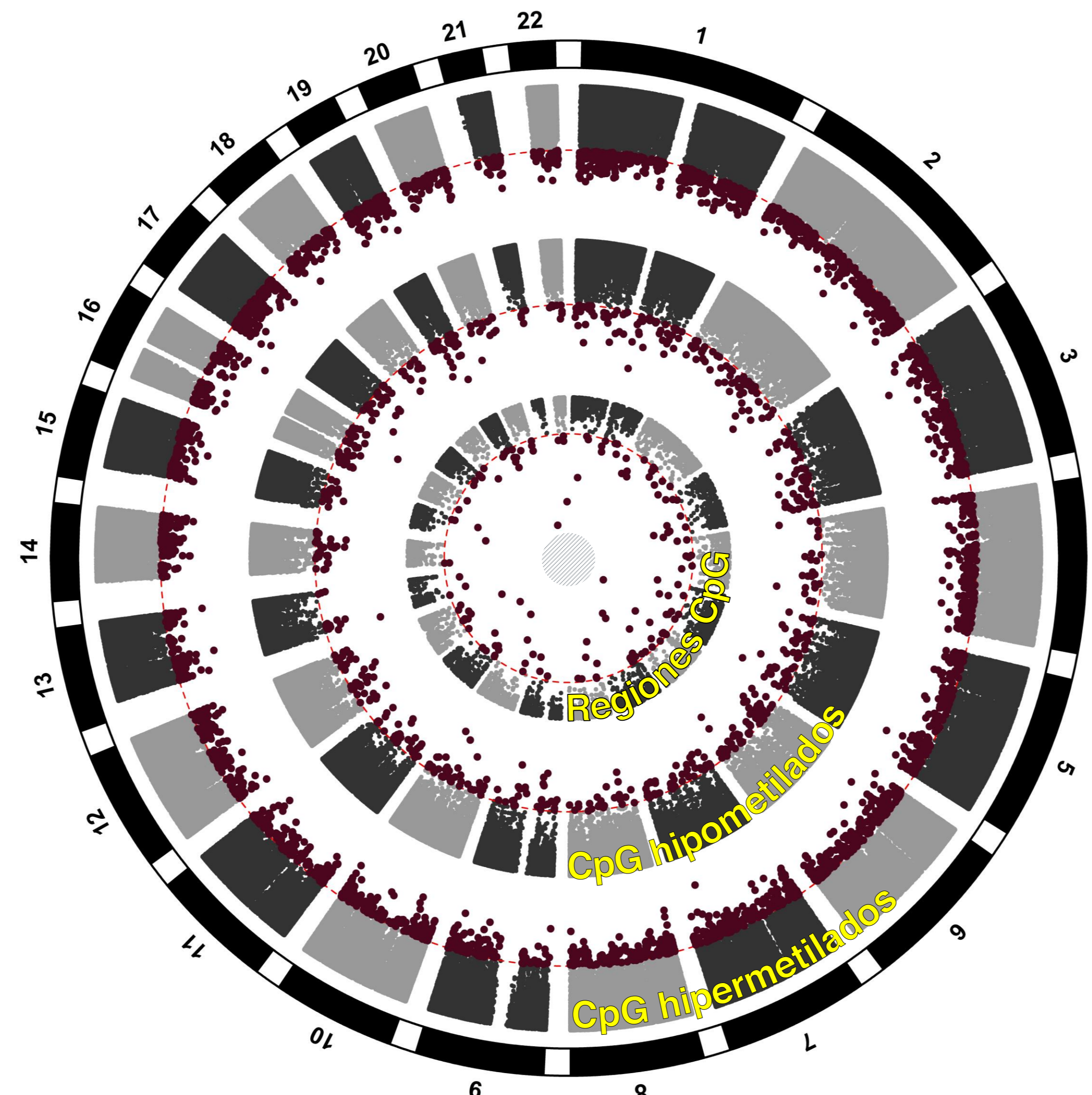


Figura 1. Circos plot con Manhattan plots de sitios CpG hipermetilados e hipometilados y regiones de CpG (de fuera a dentro). En el eje Y se representa $-\log_{10}(p \text{ valor})$

Conclusión

Hemos observado **diferencias significativas en la metilación del ADN** en sangre comparando muestras de sangre de pacientes con EPI-AR y AR sin EPI emparejados. Algunas de estas diferencias se **relacionan con genes potencialmente interesantes (mucinas, colágeno, telómeros)** así como con **procesos biológicos y rutas (detección de estímulos, modificación de proteínas, vesículas intracelulares...)** que nos ayudarán a entender la patogenia de la EPI-AR.

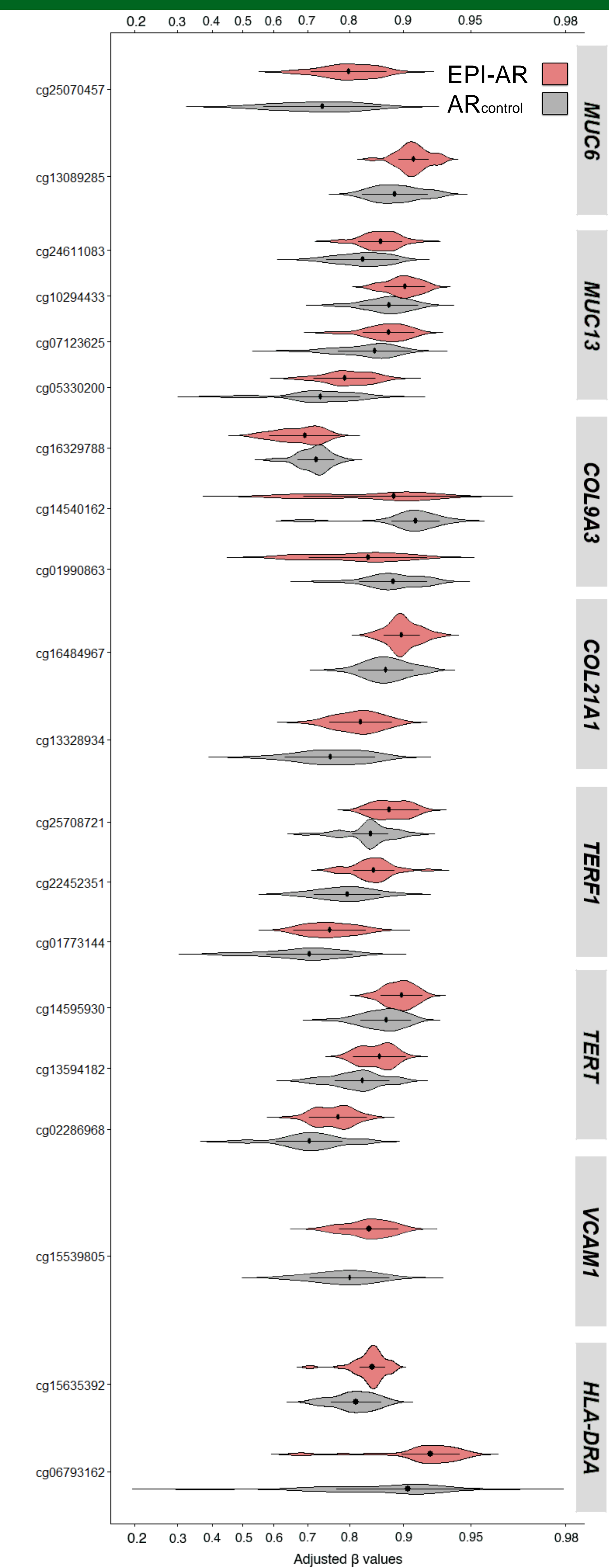


Figura 1. Diferencia en los valores de metilación del ADN de sitios CpG individuales en genes seleccionados. Se comparan los resultados en pacientes con EPI-AR y AR sin EPI. Se representan valores β con una escala logit del eje X.