

# Validación de DPP4 como biomarcador en artrosis de rodilla: influencia de género y comorbilidades



Valentina Calamia<sup>1</sup>; Patricia Quaranta<sup>1</sup>; Patricia Fernández-Puente<sup>1,2</sup>; Florencia Picchi<sup>1</sup>; Ruiz-Romero, Cristina<sup>1,3</sup>; Ignacio Rego<sup>4</sup>; Rocío Paz-González<sup>1</sup>; Lucía Lourido<sup>1</sup>; Pablo Domínguez-Guerrero<sup>1</sup>; Selva Riva<sup>1</sup>; M.Teresa Silva-Díaz<sup>1,5</sup>; Natividad Oreiro-Villar<sup>1,5</sup>; Mercedes Freire<sup>1,5</sup>; Marisa Crespo<sup>5</sup>; Jose Díaz<sup>2</sup>; Enrique Míguez Rey<sup>5</sup>; Alfonso Soto<sup>5</sup>; Carlos Vaamonde-García<sup>2</sup>; Francisco J Blanco<sup>1,2,5</sup>.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación de Reumatología (GIR), Unidad de Proteómica. INIBIC-Hospital Universitario A Coruña, SERGAS, A Coruña, Spain. <sup>2</sup>Grupo de Reumatología y Salud, Departamento de Fisioterapia y Medicina. Centro de investigaciones Avanzadas (CICA), Universidad de A Coruña, A Coruña, Spain. <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain. <sup>4</sup>Grupo de Investigación de Reumatología (GIR), Unidad de Genómica. INIBIC-Hospital Universitario A Coruña, SERGAS, A Coruña, Spain. <sup>5</sup>Hospital Universitario A Coruña, SERGAS, A Coruña, Spain.

contacto: valentina.calamia@sergas.es

## INTRODUCCIÓN

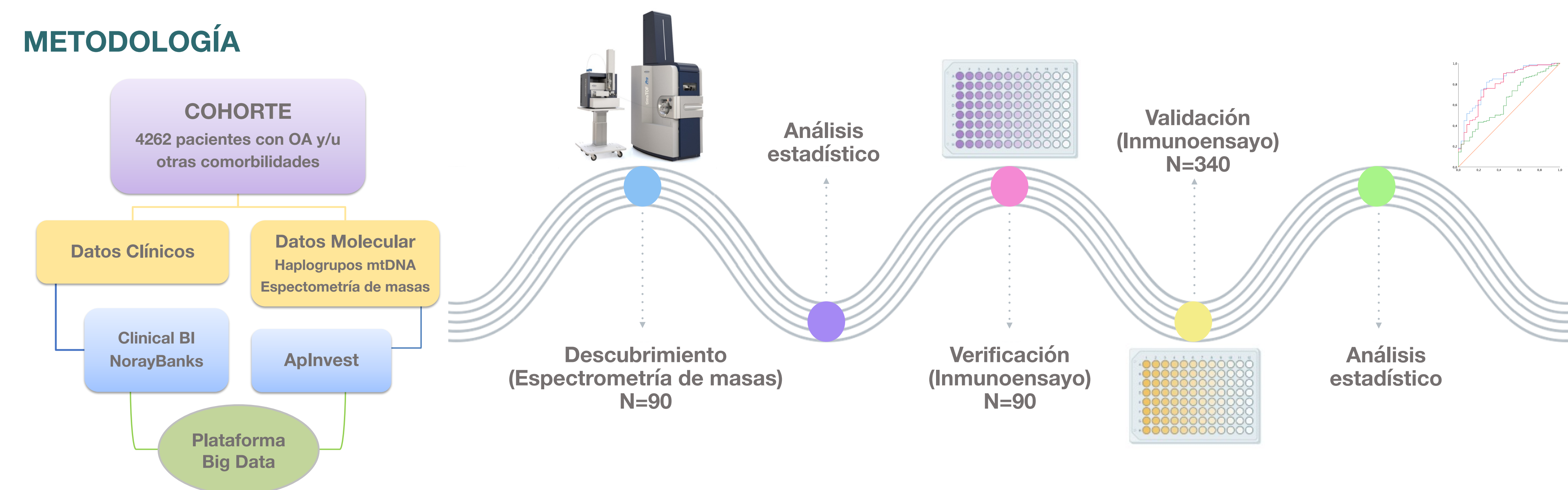
Dipeptidil peptidasa (DPP4), también conocida como CD26, es una serín proteasa que escinde una variedad de sustratos, incluidas citoquinas, factores de crecimiento e incretinas. Puede existir anclada a membrana o en forma soluble. Su principal función es la de regular los niveles de azúcar en sangre y, por ello, sus inhibidores se emplean actualmente como fármacos antidiabéticos eficaces y seguros (familia de las gliptinas). Un estudio proteómico reciente de nuestro grupo de investigación pone de manifiesto el papel de esta proteína como posible biomarcador de artrosis de rodilla (OAr).

## OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es validar la proteína DPP4 como biomarcador de diagnóstico y severidad en una cohorte de pacientes con OA de rodilla y comorbilidades metabólicas asociadas y estudiar también la influencia del género sobre sus niveles plasmáticos.



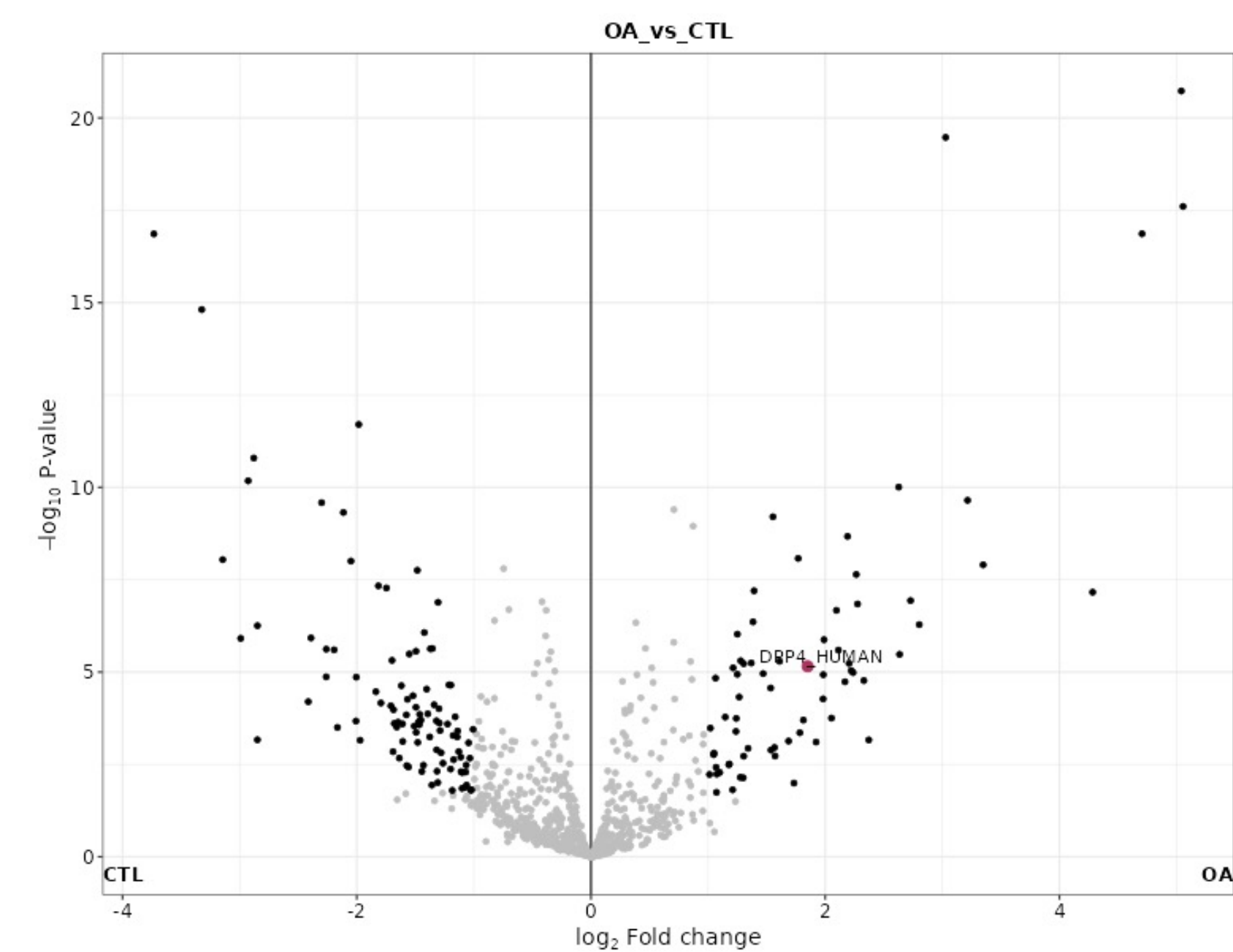
## METODOLOGÍA



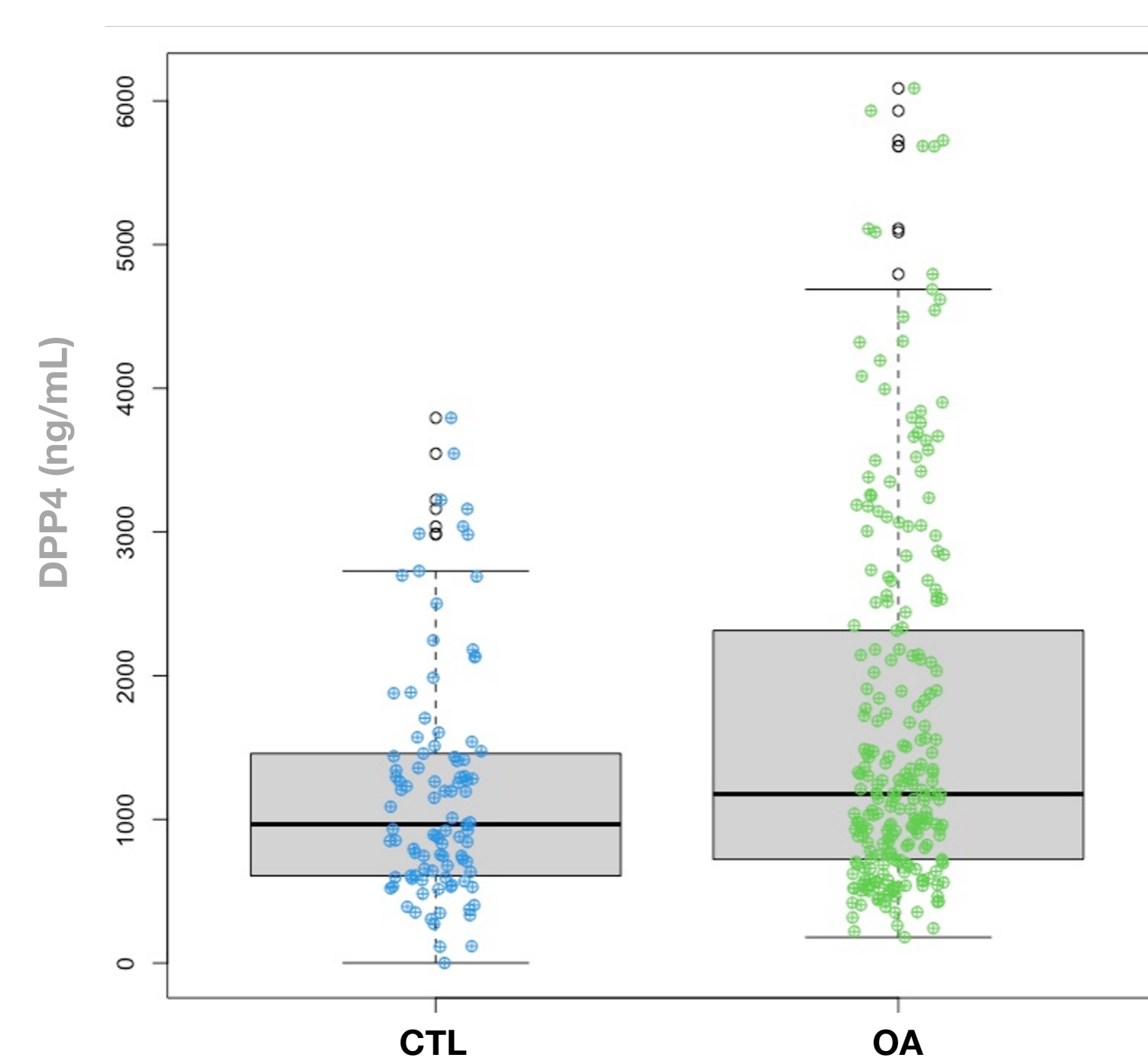
**Figura 1. Cohorte de estudio y flujo de trabajo.** Los datos y las muestras humanas objeto de estudio forman parte de distintas colecciones de Muestras y Datos para el desarrollo de las Líneas de Investigación en: Reumatología (C.0000424), Enfermedades infecciosas (C.0002530), Insuficiencia Cardíaca Avanzada y Trasplante Cardíaco (C.0000419) y Diabetes, obesidad y factores de riesgo cardiovascular (C.0003914). Todas ellas están registrada en el Registro Nacional de Biobancos, Sección de Colecciones y debidamente autorizada por el Comité de Ética de Investigación (CEI) de Galicia. El uso de las muestras y de los datos clínicos está autorizado por el responsable de cada colección y todos los participantes han firmado un documento de consentimiento informado evaluado favorablemente por el CEI de A Coruña-Ferrol (Código: 2020/507). Los datos clínicos se han extraído de las bases de datos de la institución sanitaria (HUAC). Se han desarrollado distintas fases del proceso de implementación de un nuevo biomarcador: desde la fase de descubrimiento a la de validación pasando por la fase de verificación.

## RESULTADOS

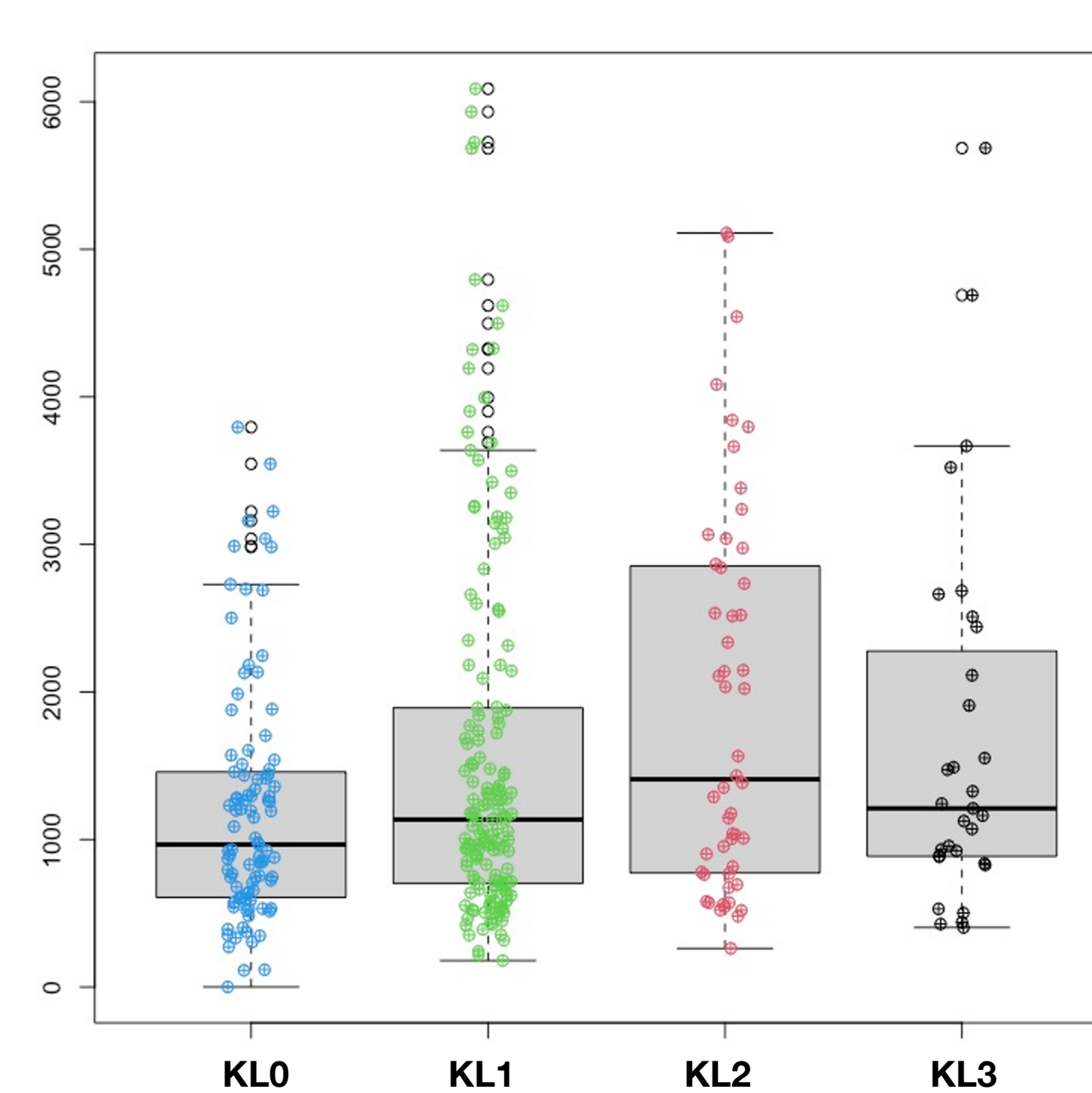
Se realizó un análisis proteómico al azar en 90 muestras de plasma deplecionadas. Se identificaron un total de 1075 proteínas con al menos un péptido, de las cuales se cuantificaron 821. El análisis por pares reveló 152 proteínas expresadas diferencialmente entre los dos grupos: 88 proteínas estaban aumentadas en el grupo CTL y 64 en el grupo OA de rodilla (Fig. 2). Entre las proteínas que se encontraron significativamente aumentadas en el grupo OA identificamos la proteína DPP4 (con un incremento de expresión en Log2 = 1,6 y un *p* valor ajustado = 0,0001). DPP4 se detectó en el 63,6% de muestras artrósicas y solamente en el 14,3% de muestras CTL (*p*<0,001). Para verificar y validar los resultados obtenidos en la fase de descubrimiento, realizamos inmunoensayos dirigidos para determinar la concentración plasmática de DPP4 en 340 muestras de la cohorte de estudio. Como se muestra en la figura 3, los niveles de DPP4 resultaron significativamente más elevados (*p*=0,016) en las muestras con OAr (1665,4 ng/mL) en comparación al grupo CTL (1224,5 ng/mL). El aumento de la concentración plasmática de DPP4 en función del grado KL fue progresivo, siendo máximo en las muestras con grado KL=2 (2029,1 ng/mL; *p*=0,009 vs KL=0) (Fig. 4). Cuando ajustamos por sexo, edad e IMC se perdió ligeramente la significancia estadística de DPP4 como biomarcador diagnóstico de OAr (*p*=0,056). Cuando analizamos la influencia del género sobre la concentración plasmática de esta proteína (independientemente del diagnóstico radiográfico), obtuvimos valores significativamente más elevados en mujeres ([mujeres] = 1739,3 ng/mL vs [hombres] = 1341,5 ng/mL; *p*=0,011) (Fig. 5). Al tener en cuenta también el diagnóstico radiográfico de OAr, el grupo que presentó los niveles más alto de proteína fue el de las mujeres con OAr (1885,7 ng/mL; *p*=0,004 vs M\_CTL) (Fig. 6). En este caso, al ajustar por edad e IMC, se mantuvo la significancia estadística del biomarcador (*p*=0,029). En el grupo de mujeres, el modelo clínico construido exclusivamente con datos demográficos y antropométricos (edad y IMC) mostró un AUC=0,79 (Fig. 7, línea rosa) para diagnóstico de OA de rodilla. La inclusión de DPP4 mejoró significativamente el rendimiento del modelo clínico (*p*=0,024), logrando un AUC=0,82 (Fig. 7, línea azul).



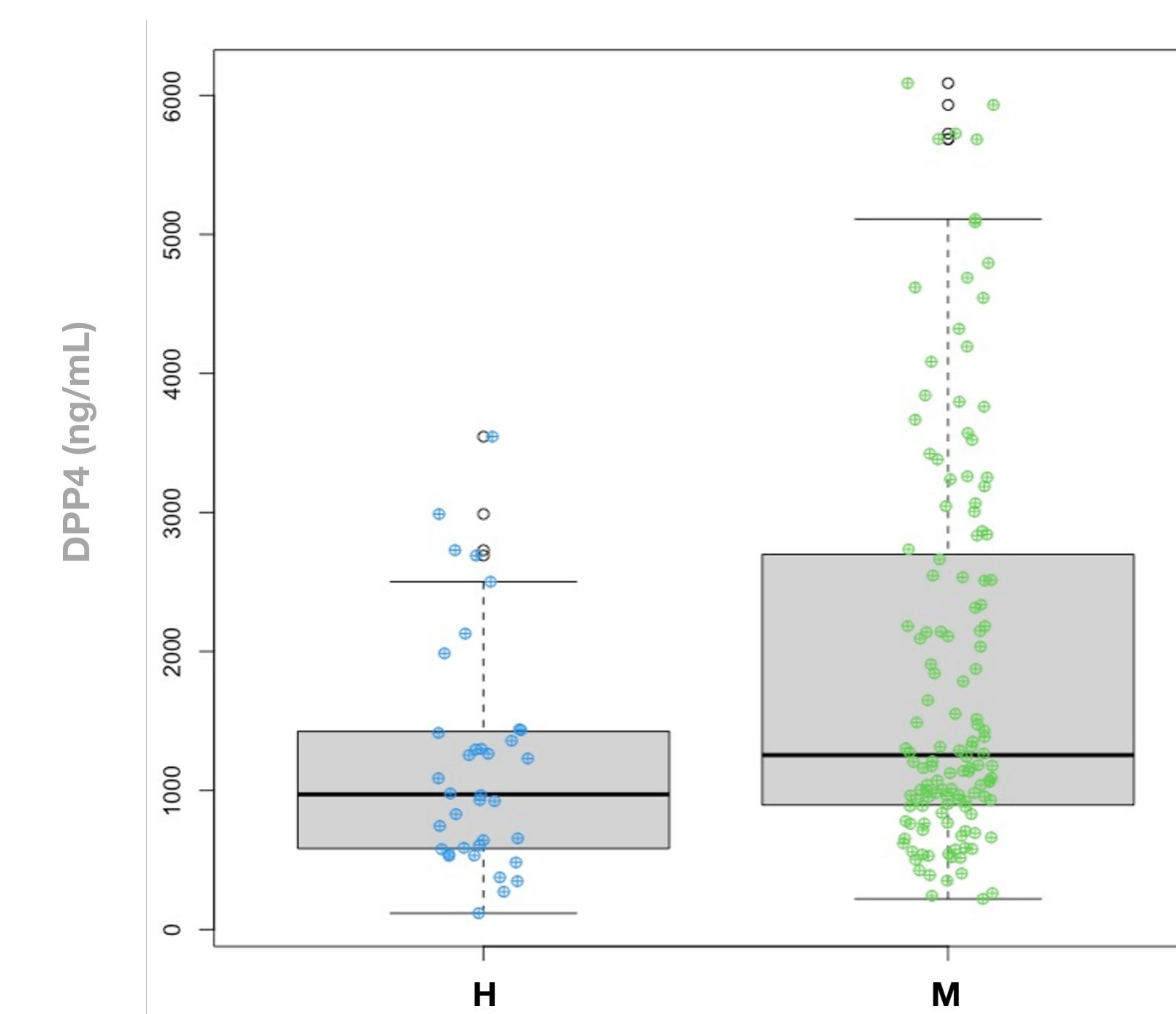
**Figura 2.** Volcano plot de las proteínas diferencialmente expresadas entre OA y CTL. Entre las 64 proteínas incrementadas en OA (panel de la derecha) se encuentra DPP4.



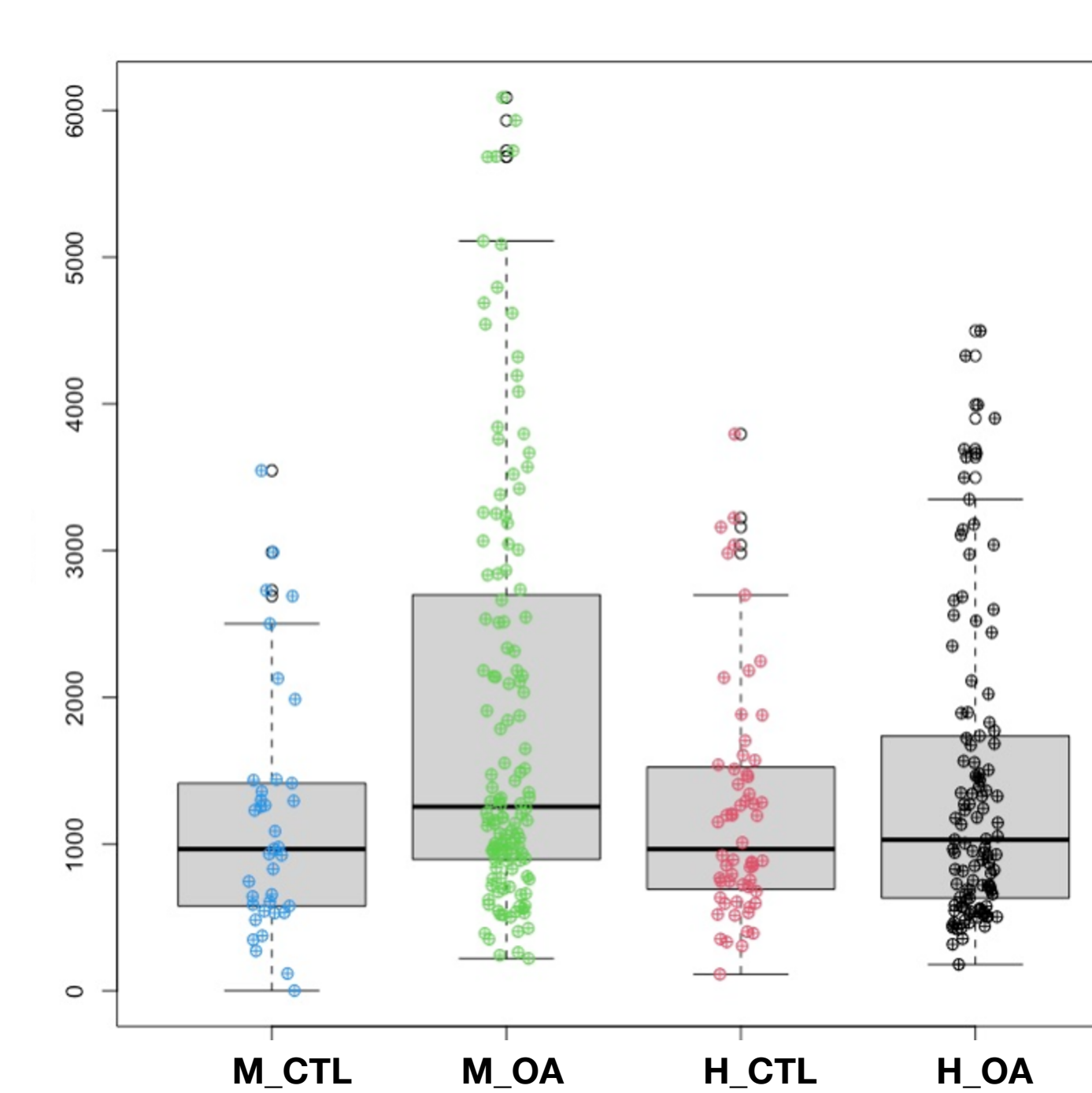
**Figura 3:** Los datos cuantitativos (ELISA) confirman el incremento de los niveles plasmáticos de DPP4 detectados mediante EM.



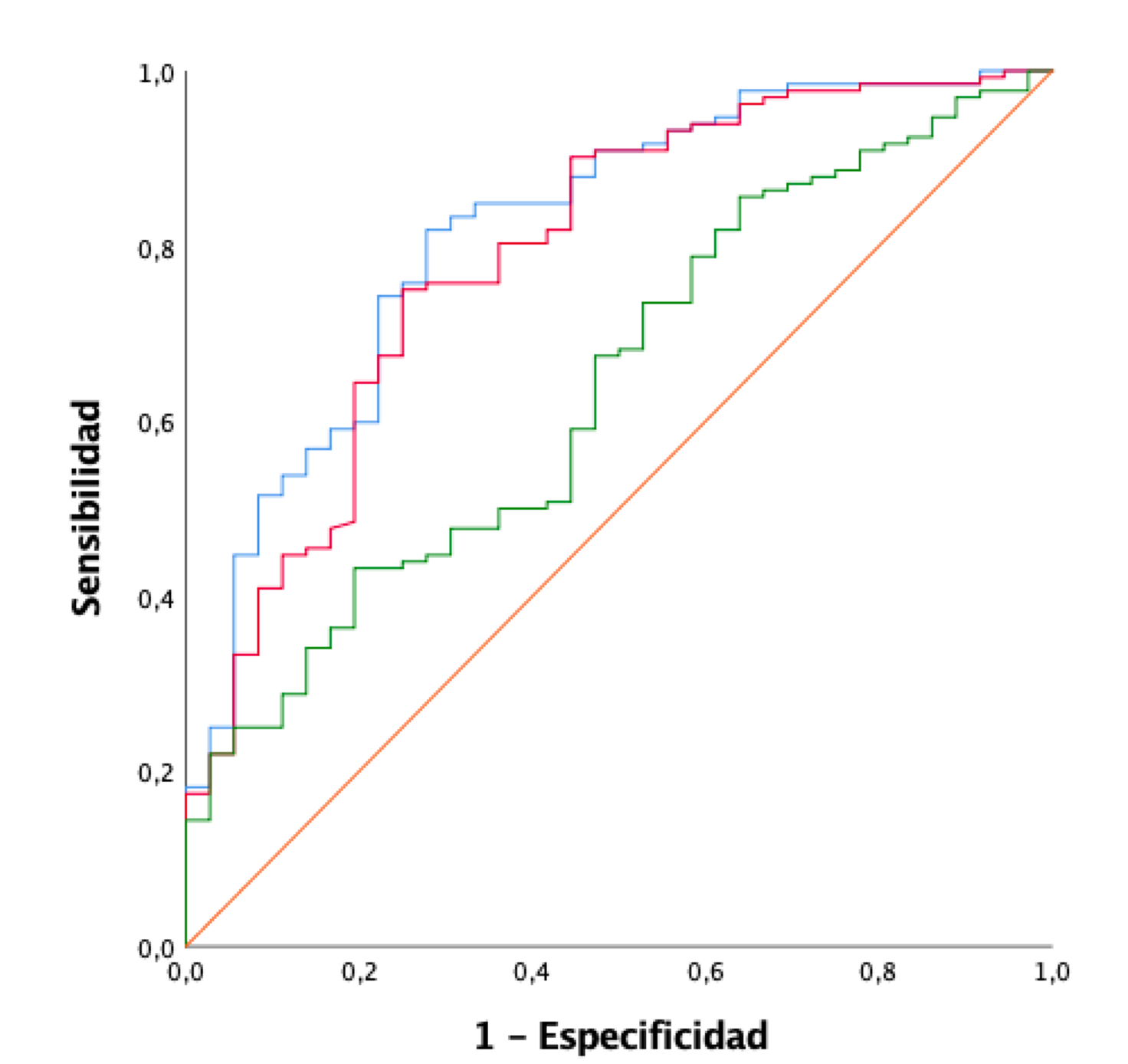
**Figura 4:** Incremento de los niveles plasmáticos de DPP4 en función del grado KL.



**Figura 5:** Incremento de los niveles plasmáticos de DPP4 en mujeres (M) vs hombres (H).



**Figura 6:** Incremento de los niveles plasmáticos de DPP4 en mujeres con OA de rodilla (M\_OA).



**Figura 7:** Curvas ROC: la inclusión de DPP4 (línea verde) mejora el modelo clínico (línea azul) que incluye solo edad e IMC (línea rosa).

## CONCLUSIÓN

La proteína DPP4 podría ser un biomarcador útil para el diagnóstico temprano de artrosis de rodilla en mujeres. En este subgrupo de pacientes cobra especial interés la posibilidad de encontrar un efecto “anti-OA” de los inhibidores de DPP4.

