

**Laura Cuesta-López<sup>1</sup>**, Iván Arias-de la Rosa<sup>1</sup>, Carlos Pérez-Sánchez<sup>1,2,3</sup>, Ariana Barbera-Betancour<sup>4</sup>, Miriam Ruiz-Ponce<sup>1</sup>, Antonio Manuel Barranco<sup>1</sup>, Pedro Ortiz<sup>1</sup>, María Lourdes Ladehesa-Pineda<sup>1</sup>, María Ángeles Puche-Larrubia<sup>1</sup>, Jesús Eduardo Martín-Salazar<sup>1</sup>, Elena Moreno-Caño<sup>1</sup>, María del Carmen Ábalos-Aguilera<sup>1</sup>, Chary López-Pedrerá<sup>1</sup>, Alejandro Escudero-Contreras<sup>1</sup>, Eduardo Collantes-Estévez<sup>1</sup>, Clementina López-Medina<sup>1</sup> y Nuria Barbarroja<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Reumatología, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/ Universidad de Córdoba/ Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España <sup>2</sup>Cobiomic Bioscience S.L, Córdoba, Spain <sup>3</sup>Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/ /Universidad de Córdoba/ Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España <sup>4</sup>Cambridge Institute of Therapeutic Immunology and Infectious Disease, Jeffrey Cheah Biomedical Centre, Cambridge Biomedical Campus, Cambridge, UK.

## INTRODUCCIÓN

La evaluación del daño radiográfico es fundamental para diagnosticar y monitorear la Espondiloartritis Axial (EspAax), ya que refleja la gravedad de la enfermedad y su impacto en el esqueleto axial. Los biomarcadores asociados con la progresión radiográfica tienen el potencial de mejorar la detección temprana y la estratificación del riesgo. A pesar de su relevancia clínica, los mecanismos moleculares que impulsan la progresión no se comprenden completamente.

## OBJETIVOS

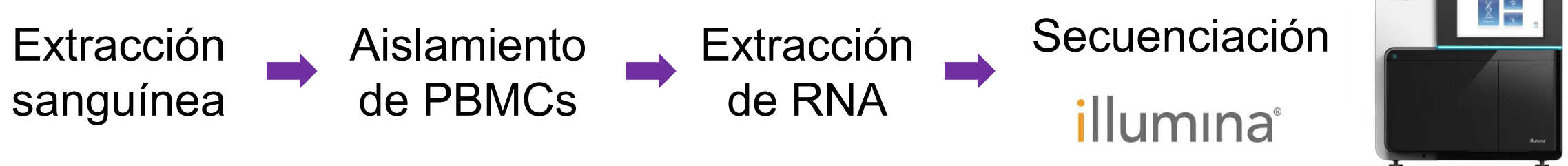
- 1) Identificar grupos de genes altamente correlacionados y vías moleculares específicas involucradas en la patogénesis del daño radiográfico en EspAax, utilizando análisis transcriptómico.
- 2) Descubrir biomarcadores predictivos de la progresión radiográfica integrando datos de secuenciación de ARN con características clínicas mediante machine learning, con el objetivo de desarrollar un modelo predictivo robusto.

## MÉTODOS

### Estudio transversal n=24 pacientes EspAax

> Datos clínicos y demográficos

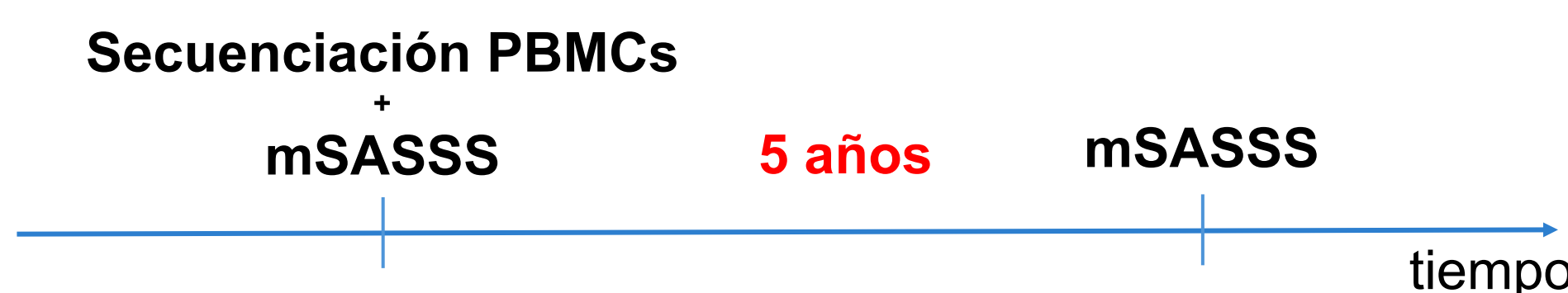
> Se aisló el ARN de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) para su **secuenciación**



> Se llevó a cabo un profundo **análisis bioinformático** para definir perfiles moleculares e identificar genes asociados al **daño estructural**.

### Estudio longitudinal n=24 pacientes EspAax

➤ Seguimiento de 5 años

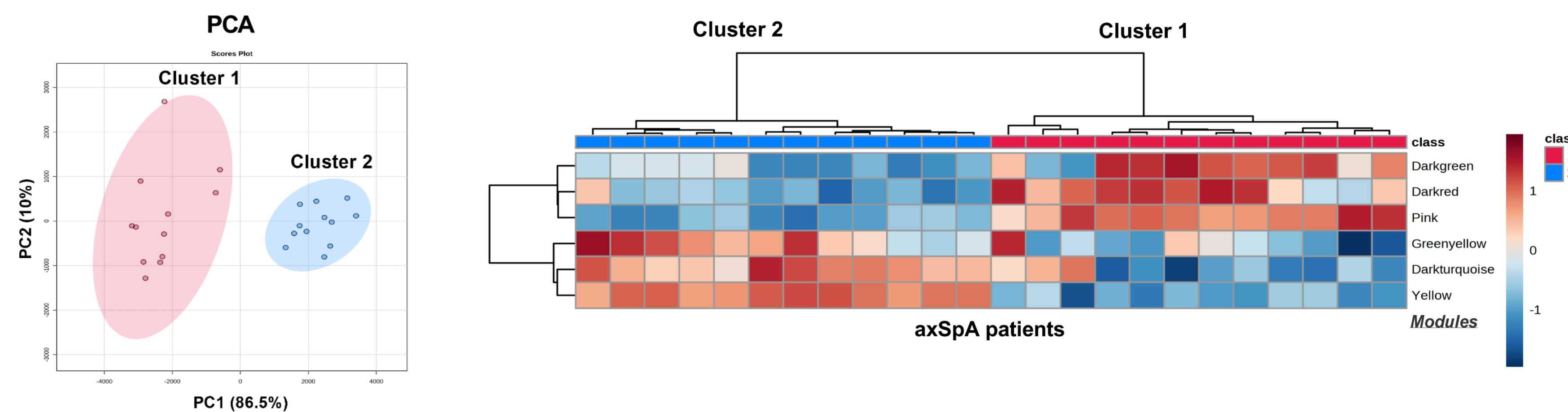


> Clasificación según progresión radiográfica ( $\Delta$ mSASSS)

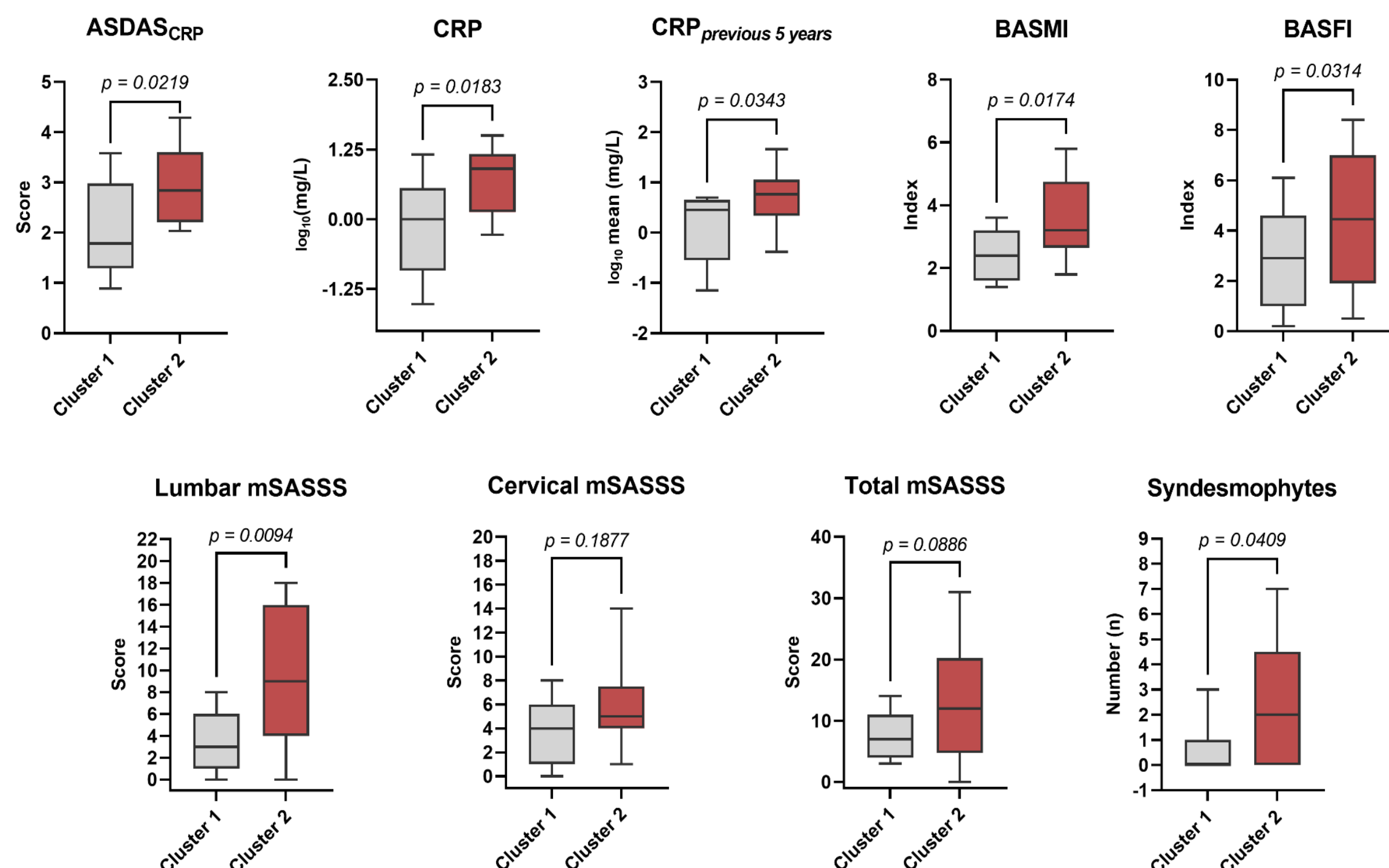
Tipo de progresión	Cambio mSASSS
Lenta	<1 mSASSS/año
Moderada/rápida	>1 mSASSS/año

>Mediante **machine learning** se identificaron **biomarcadores predictivos de progresión**

### 1. Análisis de la secuenciación del transcriptoma de PBMCs

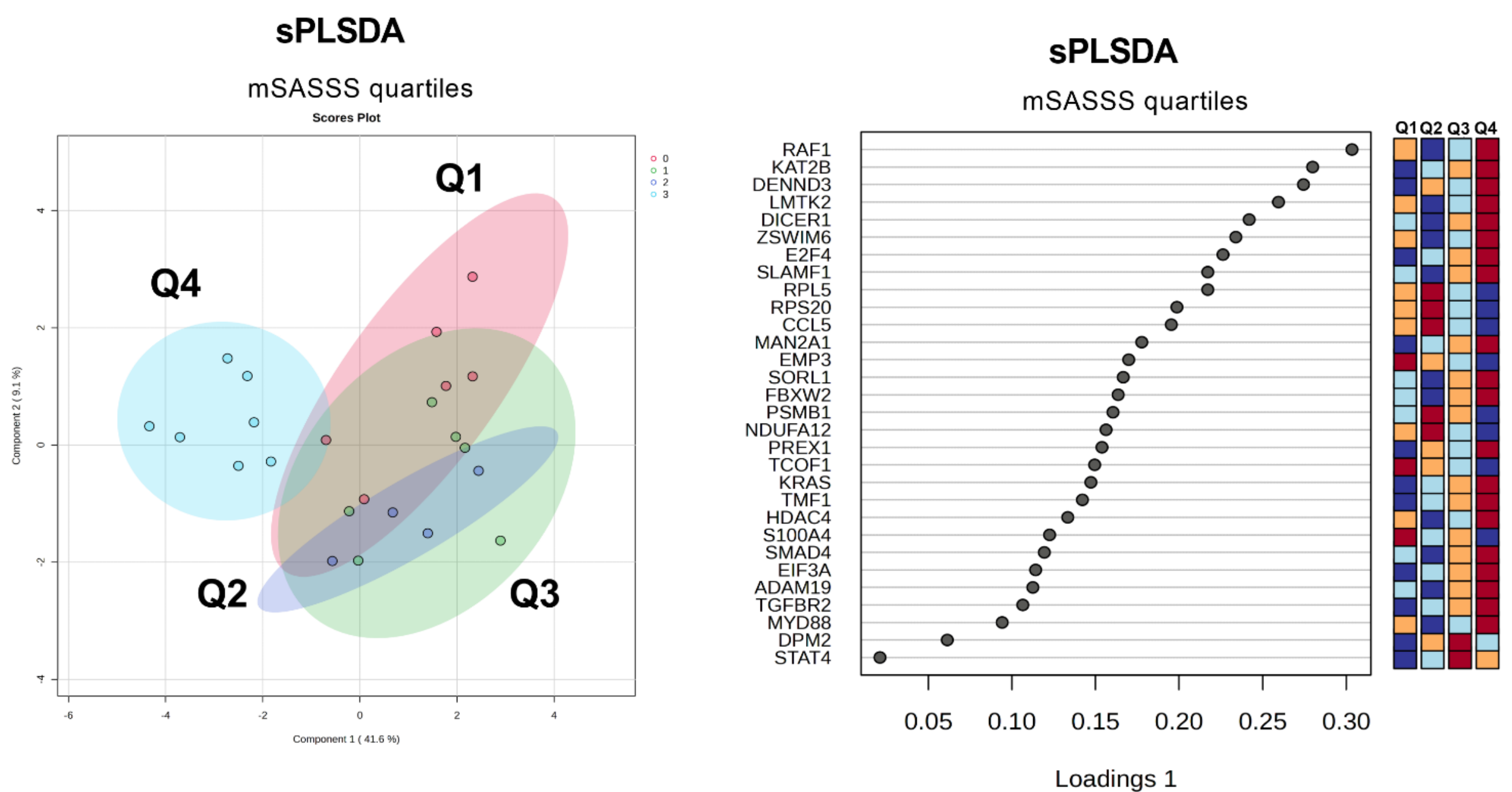


El análisis no supervisado del transcriptoma reveló dos grupos moleculares distintos de pacientes con EspAax. Se identificaron seis módulos genéticos con expresión diferencial entre los dos clusters.



### 2. Determinación de genes involucrados en el perfil de daño radiográfico

Se dividió la cohorte de pacientes en cuartiles según el mSASSS lumbar y se estudiaron qué genes del perfil molecular del RNAseq tenían un mayor peso en la separación.



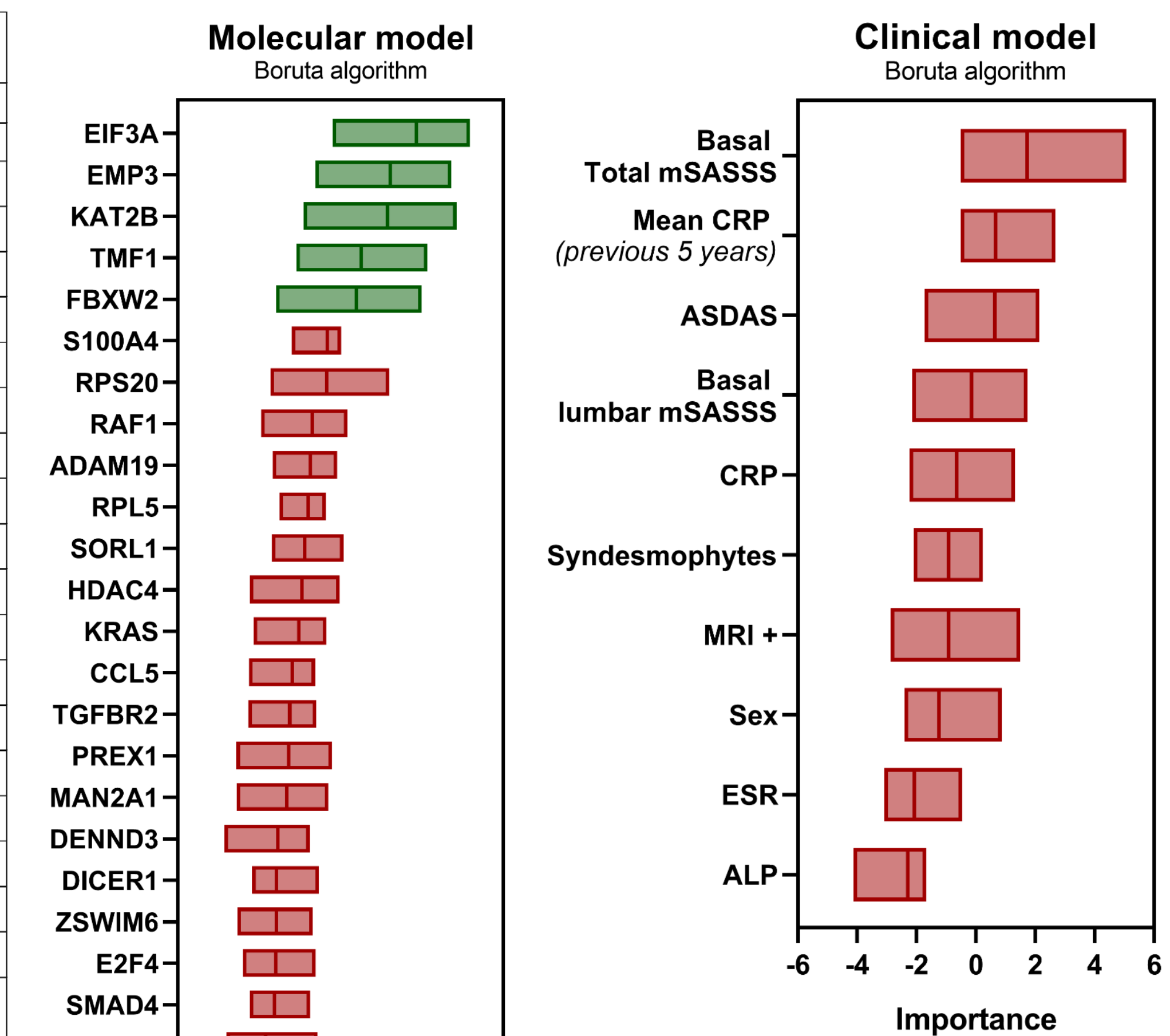
Del perfil génico asociado al daño estructural, 30 genes diferenciaron de manera efectiva a los pacientes según el grado de daño estructural.

## RESULTADOS

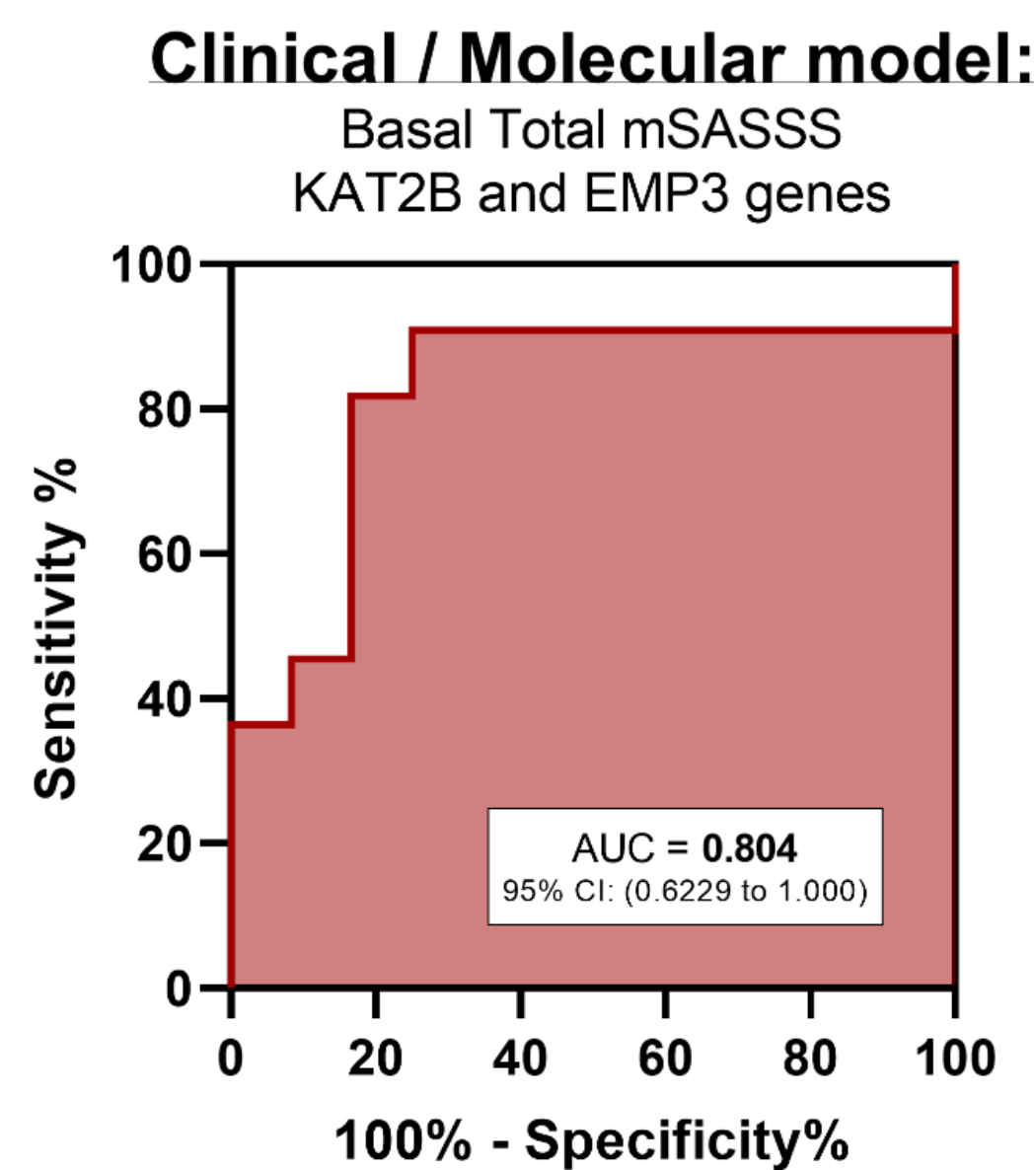
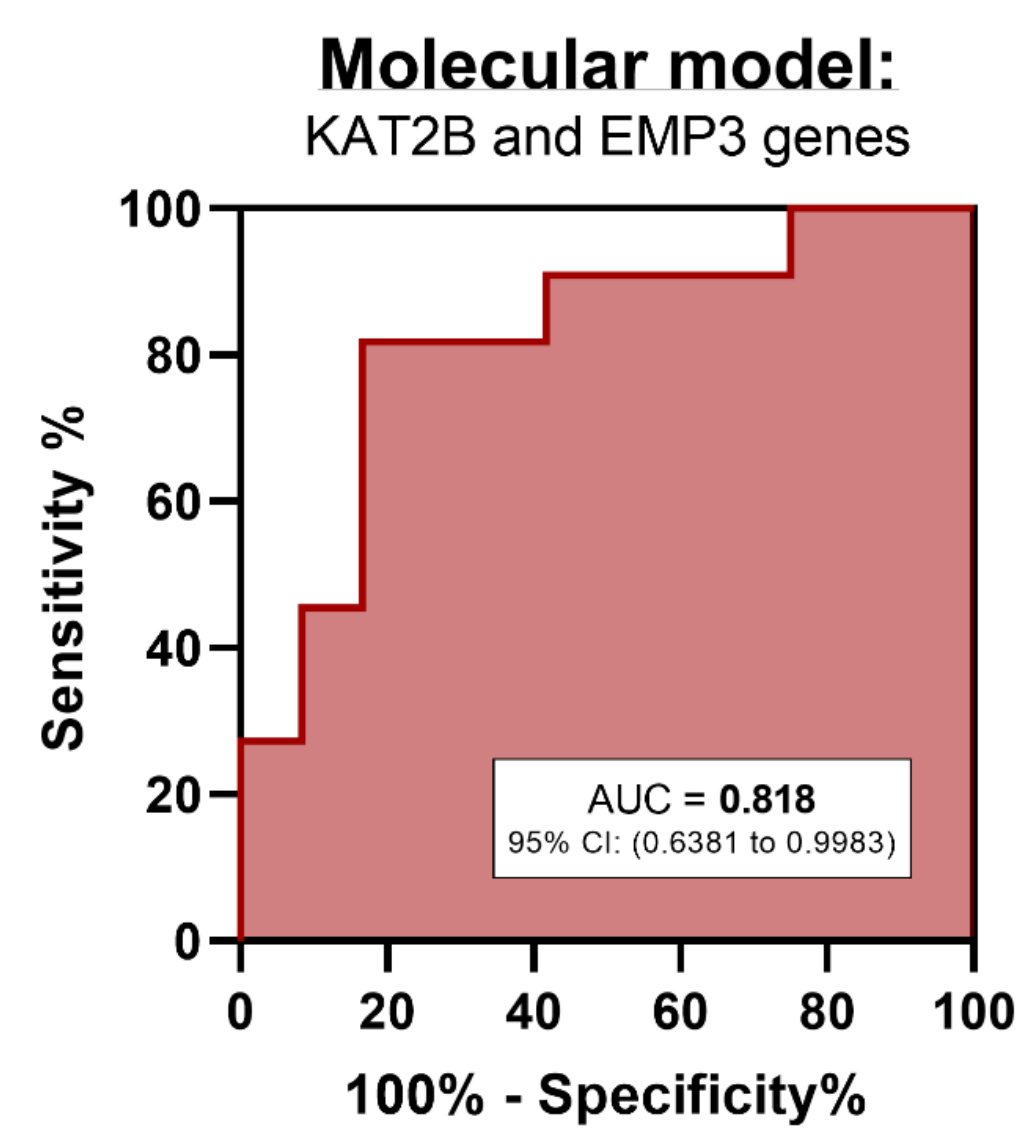
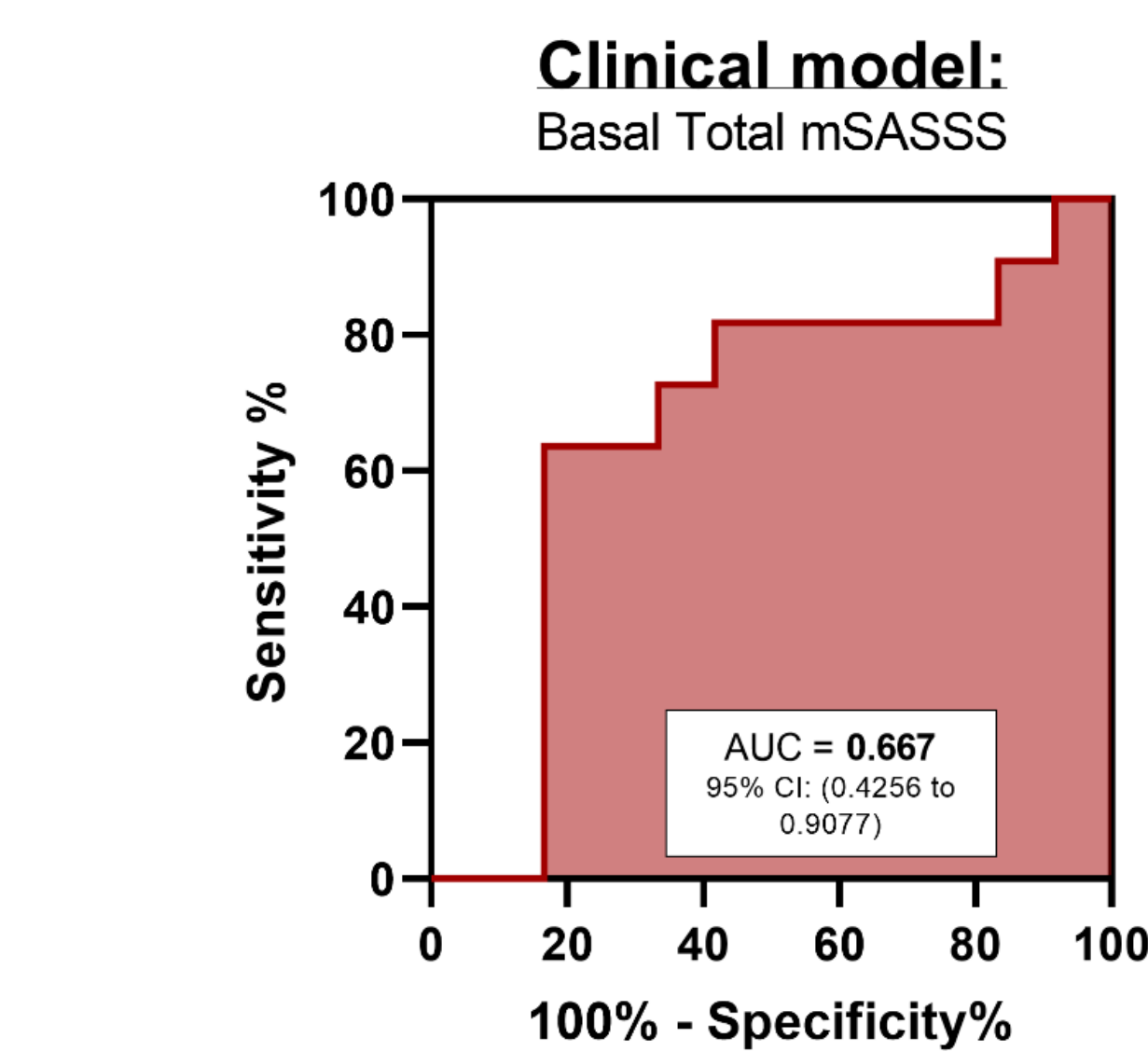
### 3. Identificación de predictores clínicos y moleculares de progression radiográfica

Axial Spondyloarthritis	Slow progression	Moderate/fast progression
Female/Male (n)	3/10 (13)	4/7 (11)
Age (years)	49.15 ± 8.62	49.54 ± 13.78
Disease duration (years)	12.42 ± 11.33	24.27 ± 17.72
Radiographic sacroiliitis (%)	61.5	90.9
New syndesmophytes (n)	0.92 ± 1.24	3.09 ± 3.24*
Disease activity and inflammatory markers		
ASDAS	2.32 ± 0.77	2.66 ± 1.22
BASDAI	3.89 ± 1.77	4.22 ± 2.62
CRP (mg/L)	3.03 ± 4.06	9.52 ± 10.05*
Mean CRP (mg/L) (previous 5 years)	3.35 ± 3.63	11.19 ± 15.26*
ESR (mm/1h)	16.77 ± 23.62	11.00 ± 10.36
Structural damage		
Total mSASSS	9.50 ± 5.27	12.91 ± 11.01*
Lumbar mSASSS	5.42 ± 3.99	7.45 ± 6.80
Cervical mSASSS	4.08 ± 2.35	6.27 ± 3.98
Treatments		
NSAIDs (n)	91.7	81.8
Corticosteroids (n)	0	0
Sulfasalazine (n)	23.1	18.2
Biologicals (n)	0	0

Data are represented by mean ± standard deviation. ASDAS, Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; CRP, c-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; mSASSS, modified Stoke Ankylosing Spinal Score; NSAIDs, nonsteroidal anti-inflammatory drugs. \* Significant differences, p<0.05



El análisis Boruta identificó factores clínicos, como el mSASSS y moleculares, como los genes EIF3A, EMP3, KAT2B, TMF1 y FBXW2, claves en la predicción de la progresión radiográfica.



El modelado predictivo mediante Random Forest mostró que el mSASSS basal total alcanzó un AUC de 0.667. En el modelo basado en expresión génica, entre los 30 genes analizados, KAT2B y EMP3 destacaron como una combinación robusta, con un AUC de 0.818. La incorporación de estos dos genes al modelo clínico basado en mSASSS basal mejoró significativamente la capacidad predictiva, superando la precisión obtenida con el marcador clínico por sí solo.

## CONCLUSIONES

- 1) El análisis transcriptómico distinguió subgrupos de pacientes con EspAax con un perfil clínico característico, especialmente en lo que respecta al daño estructural y la gravedad de la enfermedad.
- 2) Se identificaron posibles biomarcadores de progresión radiográfica, incluyendo una firma de dos genes con gran precisión predictiva para identificar pacientes con una progresión rápida/moderada. La combinación de estas variables moleculares con clínicas, como el mSASSS basal, mejoró significativamente el modelo predictivo clínico para la progresión radiográfica.

