

# Análisis de citoquinas en pacientes con artritis reumatoide de reciente comienzo tratados con metotrexato usando Olink® y *machine learning*

Raquel Dos-Santos Sobrín<sup>1</sup>, Yolanda López-Golán<sup>1</sup>, Antonio Mera Varela<sup>1</sup>, Eva Perez-Pampín<sup>1</sup>, Antonio Gonzalez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Sanitaria – Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Reumatología Experimental y Observacional y Servicio de Reumatología, Santiago de Compostela

## Introducción

El tratamiento de la artritis reumatoide (AR) ha mejorado notablemente, pero una fracción de los pacientes sigue sin alcanzar la remisión [1]. Se espera que la medicina personalizada, mediante nuevas herramientas como la cuantificación de citoquinas con Olink® [2] y machine learning (ML) para la identificación de predictores, podría ayudar a esos pacientes con una respuesta inadecuada (RI).

## Objetivos

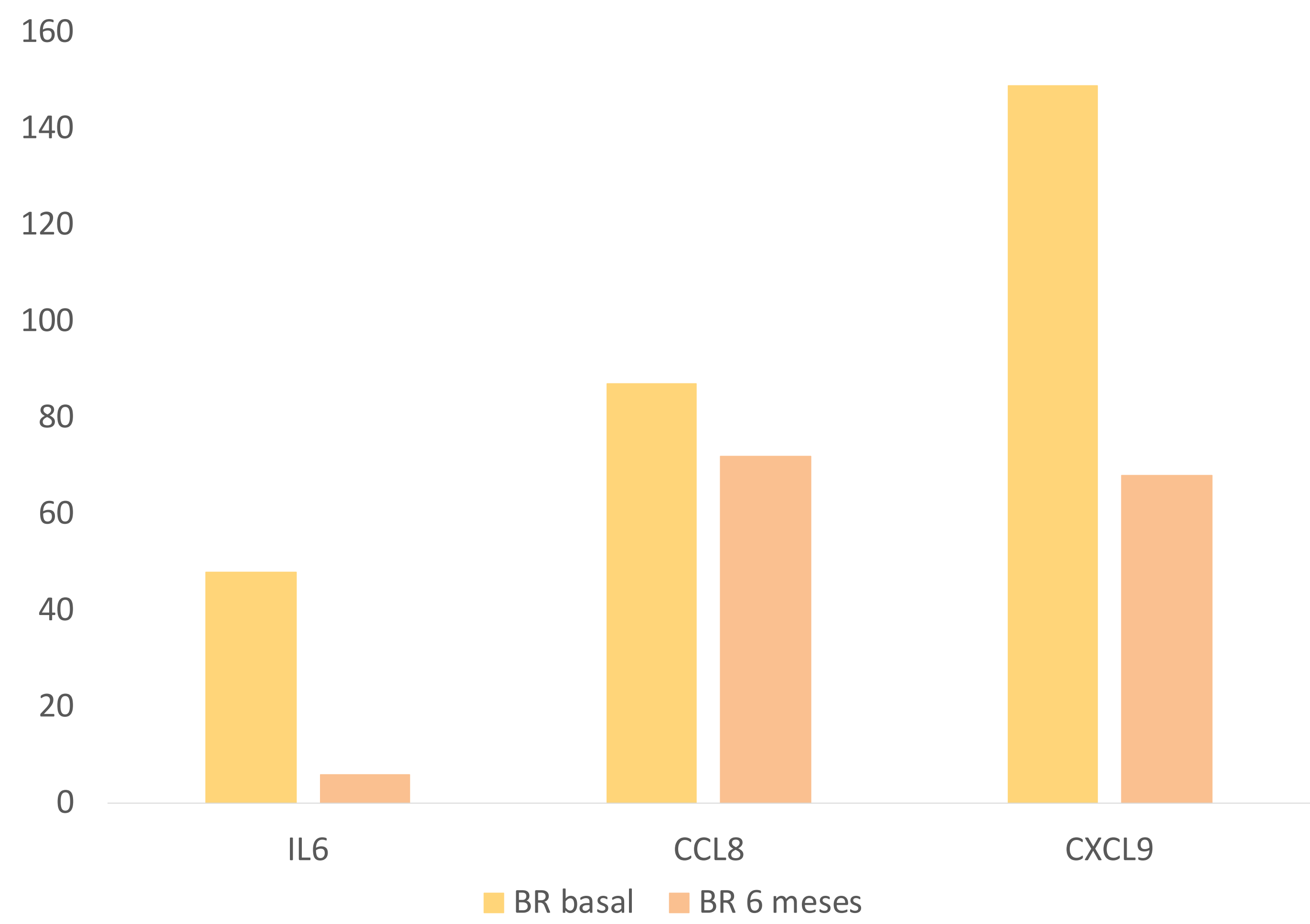
Nuestro objetivo es identificar citoquinas que predigan la remisión en pacientes con AR temprana tratados con metotrexato (MTX).

Variables clínicas y demográficas	BR n=40	RI n=40	valor p
Sexo femenino, n (%)	24 (60)	28 (70)	0,482
Edad (años), media (desviación estándar [DE])	61,4 (11,7)	61,9 (12,8)	0,847
Tiempo de diagnóstico (semanas), mediana (rango intercuartílico [RIC])	12,0 (8-24)	12,0 (8-17)	0,914
Fumador o exfumador, n (%)	18 (45)	15 (37,5)	0,643
Erosiones, n (%)	6 (15)	8 (20)	0,769
Factor reumatoide positivo, n (%)	31 (77,5)	28 (70)	0,611
Anti-CCP positivo, n (%)	26 (65)	27 (67,5)	1
DAS28, media (DE)	5,7 (1,1)	5,7 (1,1)	0,879
SDAI, media (DE)	35,0 (14,5)	33,2 (15,1)	0,586
CDAI, media (DE)	33,1 (13,6)	30,8 (14)	0,467
NAD, media (DE)	10,1 (5,3)	8,9 (6)	0,374
NAT, media (DE)	9,4 (5,4)	8,2 (5,5)	0,337
PCR (mg/dL), mediana (RIC)	1,4 (0,5-2,3)	1,3 (0,3-2,8)	0,415
VSG (mm), mediana (RIC)	28,0 (19-43,3)	29,0 (20,5-44)	0,368
EGP, media (DE)	63,4 (24,2)	69,5 (20,7)	0,228
EGM, media (DE)	71,5 (18,3)	67,8 (20,6)	0,392
HAQ, media (DE)	1,3 (0,8)	1,6 (0,7)	0,052
Dosis de MTX (mg/s), media (DE)	13,6 (2,3)	13,0 (2,5)	0,243
Dosis de prednisona (mg/d), media (DE)	5,4 (1,4)	5,6 (1,3)	0,680

**Tabla 1:** Los pacientes con BR y RI tenían características basales similares.

## Métodos

Desde 2013, se han reclutado pacientes con AR de reciente comienzo (criterios ACR/EULAR2010) naïve a FAME en los que se inició tratamiento con MTX ( $\pm$ corticoides). Se seleccionaron pacientes con un DAS28-VSG basal  $\geq$ 3,2 y que tras 6 meses habían alcanzado la remisión con criterios BooleanX, buenos respondedores (BR), o que mostraron una RI: DAS28-VSG  $\geq$ 3,2 + NAD  $\geq$ 1 + NAT  $\geq$ 1 o necesitaron otro FAME por falta de eficacia antes de los 6 meses. Se emparejaron BR y RI 1:1 por sexo, DAS28-VSG basal y PCR basal, y se seleccionaron aleatoriamente 40 parejas divididas en 2 grupos de 20 para descubrimiento y replicación, respectivamente. Se analizaron 48 citoquinas mediante un panel Olink® en muestras de suero basales y a los 6 meses. Se implementaron tres modelos ML de clasificación (regresión logística penalizada (RL), *random forests* (RF) y *supervised vector machines* (SVM)) utilizando 10 repeticiones de validaciones cruzadas en 10 divisiones para seleccionar el mejor modelo en el grupo de descubrimiento. Este modelo se aplicó al grupo de replicación. Por otra parte, se utilizaron pruebas no paramétricas para evaluar los cambios durante el seguimiento. Los análisis se realizaron con R utilizando p=0,05 como umbral de significancia.



**Figura 1:** concentración media (pg/mL) de los mediadores inflamatorios basales y a los 6 meses de las proteínas disminuidas en BR.

## Resultados

Los pacientes BR y RI eran similares en todas las variables clínicas antes de iniciar MTX (Tabla 1). Las citoquinas sí mostraron algunas diferencias entre BR y RI, pero estas diferencias no fueron consistentes entre descubrimiento y replicación. Los modelos ML de clasificación proporcionaron cierto grado de discriminación entre los pacientes BR y RI en el grupo de descubrimiento, mostrando una exactitud cercana a 0,7 y un CCM superior a 0,3. Estos hallazgos no se reprodujeron en el grupo de replicación (Tabla 2). Sin embargo, la ausencia de predictores reproducibles no se debió a la falta de cambios en las citoquinas. Por el contrario, se observaron cambios reproducibles en los grupos de descubrimiento y replicación. Algunos se observaron sólo en los pacientes BR: la disminución de IL6, CXCL8 y CXCL19 (Fig. 1), mientras que otros fueron comunes a los pacientes BR y RI: la disminución de CCL7, CCL13, CCL19, VEGFA y MMP1 (Fig. 2).

Modelos de predicción de machine learning		Descubrimiento		Replicación	
		Accuracy	CCM	Accuracy	CCM
Regresión logística penalizada	LASSO	0,65	0,31	0,38	-0,27
	Ridge	0,58	0,17	0,40	-0,20
	Elastic Net	0,66	0,33	0,40	-0,20
Random forest		0,51	0,10	0,40	-0,20
Support vector machine	Radial	0,63	0,23	0,43	-0,15
	Polinomial	0,69	0,15	0,40	-0,20

**Tabla 2:** Resultado de los modelos ML de clasificación evaluados como exactitud y CCM. CCM: coeficiente de correlación de Matthews.

## Conclusiones

Los pacientes con AR de reciente comienzo mostraron una sobreexpresión de muchas citoquinas que disminuyeron al tratar con MTX en patrones que requieren más investigación. A pesar de ello, ninguna citoquina o su combinación predijo reproduciblemente remisión.

### Referencias:

- Smolen JS *et al. Ann Rheum Dis* 2023, **82**(1):3-18
- Katz DH *et al. Sci Adv* 2022, **8**(33):eabm5164

**Financiación:** Este estudio ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III a través de los proyectos PI23/000841 y RD21/0002/0003, cofinanciados por la Unión Europea bajo el programa Next Generation/Mecanismo para la Recuperación y Resiliencia (MRR)/PRTR. RD-SS disfruta de un contrato Río Hortega (CM22/00117).



Plan de Recuperación,  
Transformación y Resiliencia

