

Sagrario Corrales Díaz-Flores¹, Carlos Pérez-Sánchez¹, Laura Muñoz-Barrera¹, Rafaela Ortega-Castro¹, Elena Moreno-Caño¹, Jerusalén Calvo¹, Concepción Aranda-Varela¹, Lourdes Ladehesa¹, Pilar Font¹, Ismael Sanchez-Pareja¹, Lydia Formanti¹, M Carmen Abalos-Aguilera¹, Desirée Ruiz-Vilchez¹, Christian Merlo¹, M^a Ángeles Aguirre¹, Tomas Cerdó¹, Nuria Barbarroja¹, Marta E. Alarcon-Riquelme^{2,3}, Alejandro Escudero- Contreras¹, Chary López-Pedrerá¹.

¹Hospital Universitario Reina Sofia de Córdoba/Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Universidad de Córdoba, España. ²Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO), Granada, España. ³Instituto de Medicina Ambiental, Korolinska Institutet, Stockholm, Sweden.



INTRODUCCIÓN

Los inhibidores de JAK (JAKi) son una alternativa prometedora para pacientes con Artritis Reumatoide (AR) que no responden a FAMES biológicos. Comprender los mecanismos moleculares modulados por JAKi es clave para identificar biomarcadores predictores de respuesta terapéutica, favoreciendo la implementación de una medicina personalizada.

OBJETIVOS

1. Caracterizar **cambios moleculares** inducidos por **JAKi** en células inmunes de pacientes AR.

2. Identificar subgrupos de pacientes que inicien tratamiento con JAKi en base a perfiles moleculares circulantes distintivos.

3. Determinar la **relevancia clínica** de la firma molecular identificada como predictor de respuesta clínica a JAKi y su **especificidad** frente a anti-TNF (TNFi).

MATERIALES Y MÉTODOS

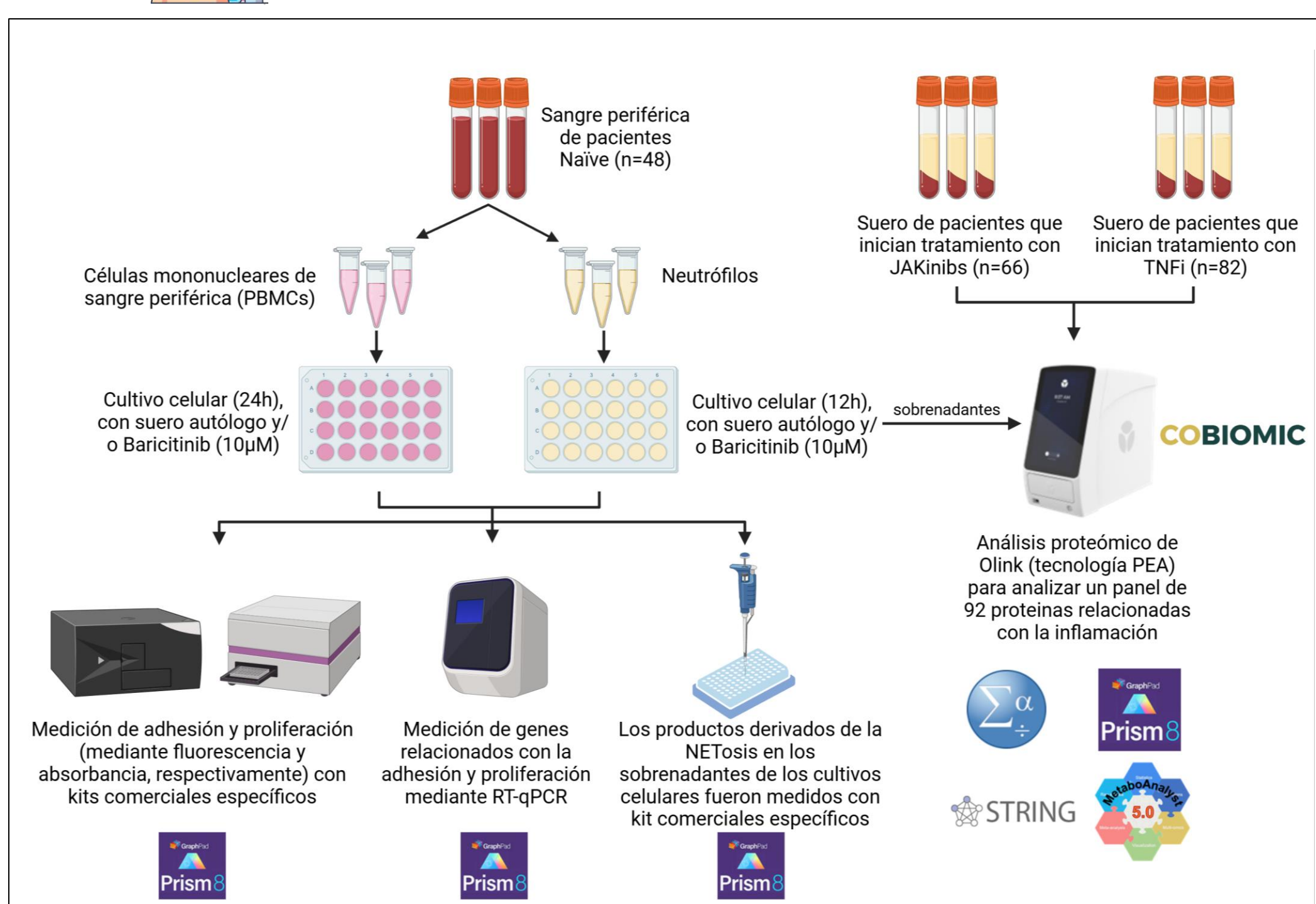


Figura 1. Esquema simplificado de la metodología experimental y análisis bioinformático seguido a lo largo del estudio.



CONCLUSIONES

1. El análisis *ex vivo* de los cambios inducidos por los JAKi ha permitido identificar, *in vivo*, una firma inmuno-proteica específica que permite estratificar pacientes AR en dos subgrupos con diferentes perfiles clínicos.

2. Dicha firma predice respuesta terapéutica a JAKi pero no a terapias TNFi, subrayando su relevancia para la implementación de una medicina personalizada en AR.

1. El tratamiento *in vitro* de PMBCs y neutrófilos de pacientes AR con JAKinibs reduce su capacidad de adhesión y proliferación y previenen la NETosis.

Tabla 1. Perfil clínico y analítico de la cohorte de pacientes AR naïve a tratamiento biológico incluidos en el estudio

Parámetros clínicos	Pacientes AR naïve (n=48)
Hombre/Mujer (n/n)	16/32
Edad, años (media ± DS)	58,63 ± 11,86
Evolución de la enfermedad (media ± DS)	7,32 ± 7,68
AD (media ± DS)	6,81 ± 5,80
AI (media ± DS)	3,65 ± 3,89
DAS28 (media ± DS)	4,48 ± 1,18
SDAI (media ± DS)	25,69 ± 11,98
CDAI (media ± DS)	24,29 ± 11,49
HAQ (media ± DS)	1,35 ± 0,67
Tabaquismo (n, %)	13 (27,08%)
Hipertensión (n, %)	19 (39,58%)
Parámetros de laboratorio	
PCR, mg/mL (media ± DS)	14,02 ± 23,97
VSG, mm/h (media ± DS)	16,49 ± 15,63
ACPA's positivo (n, %)	34 (70,83%)
FR positivo (n, %)	40 (83,33%)
Tratamientos	
Corticosteroides (n, %)	35 (72,92%)
Metotrexato (n, %)	23 (47,92%)
Leflunomida (n, %)	17 (35,42%)
Salsazopyrina (n, %)	2 (4,17%)
Hidroxicloroquina (n, %)	18 (37,50%)

AD (Articulaciones dolorosas); AI (Articulaciones inflamadas); DAS28 (Índice de Actividad de la Enfermedad); SDAI (Índice de Actividad de la Enfermedad Simplificado); CDAI (Índice de Actividad de la Enfermedad Clínica); HAQ (Cuestionario de Evaluación de la Salud); PCR (Proteína C reactiva); VSG (Velocidad de sedimentación globular)

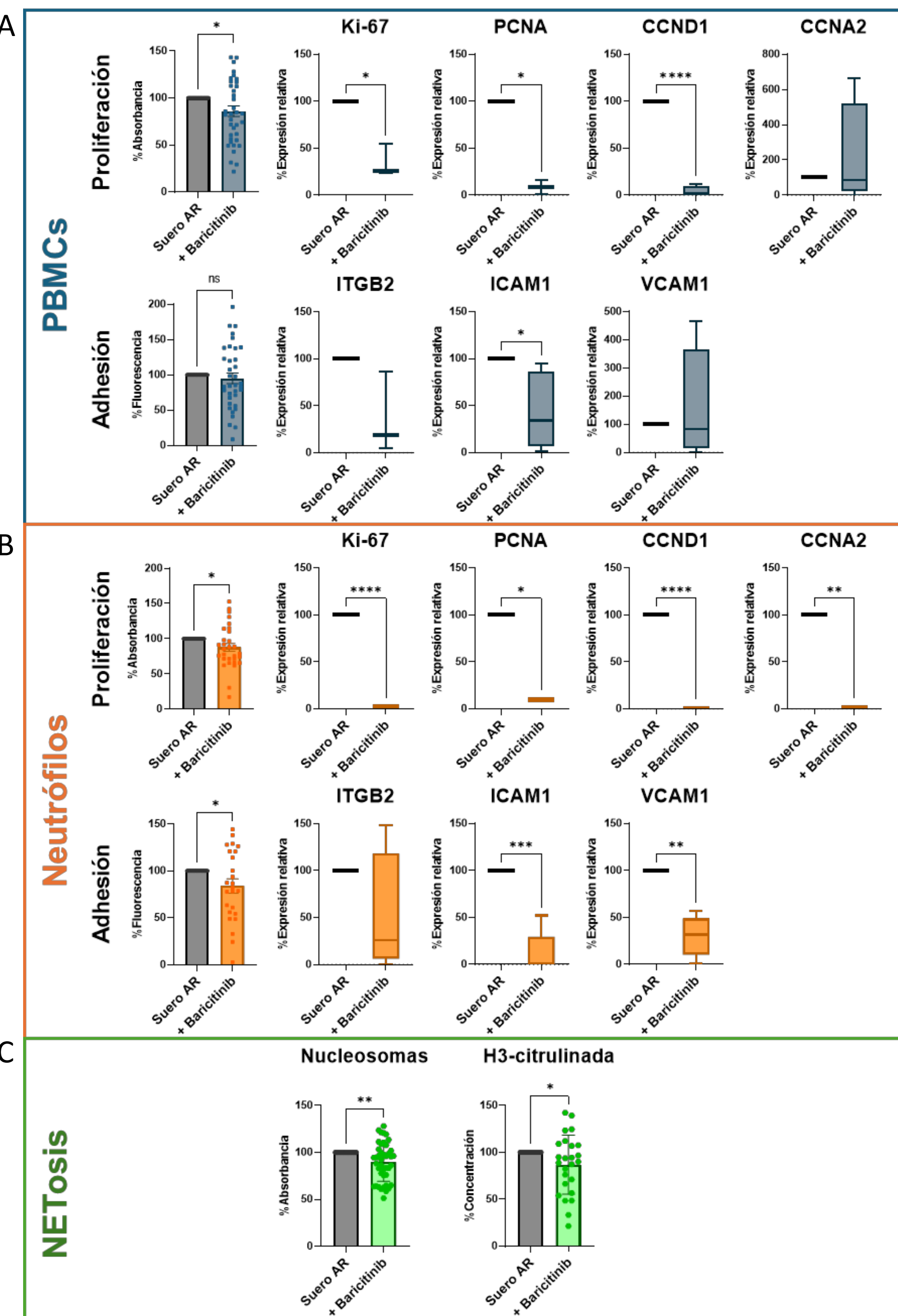
Los estudios de proliferación y adhesión mostraron que Baricitinib tuvo una mayor capacidad inhibitoria sobre los neutrófilos que sobre las PBMcs. Estos datos fueron confirmados por la expresión de genes específicos relacionados con estos procesos celulares (**Figura A y B**). Los neutrófilos de pacientes AR tratados con suero autólogo experimentaron NETosis, la cual fue prevenida por Baricitinib (**Figura C**).

3. Niveles basales elevados de la firma proteica regulada por JAKi se asocian a alta actividad de la enfermedad y respuesta clínica tras 3, 6 y 12 meses de tratamiento *in vivo* con JAKi, y muestra especificidad frente a TNFi.

Tabla 2. Perfil clínico y analítico de la cohorte multicéntrica de pacientes con AR que inician tratamiento con JAKi

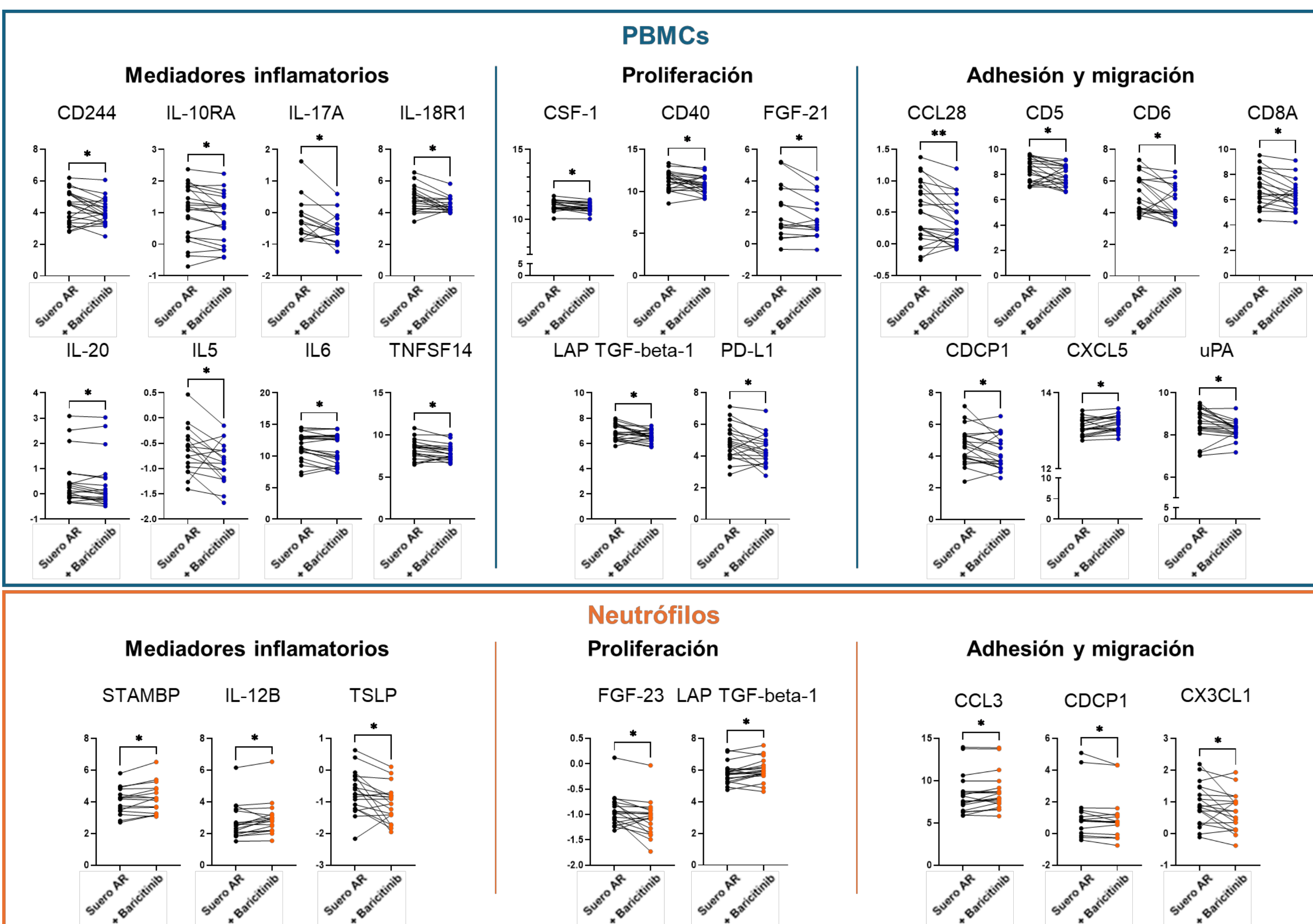
Parámetros clínicos	Pacientes AR que inician JAKi (n=66)
Hombre/Mujer (n/n)	16/50
Edad, años (media ± DS)	52,23 ± 10,15
Evolución de la enfermedad, años (media ± DS)	12,24 ± 9,71
AD (media ± DS)	6,74 ± 5,73
AI (media ± DS)	3,65 ± 3,67
DAS28 (media ± DS)	4,44 ± 1,02
SDAI (media ± DS)	25,94 ± 10,76
CDAI (media ± DS)	23,89 ± 10,44
HAQ (media ± DS)	1,22 ± 0,44
Tabaquismo (n, %)	20 (30,30%)
Hipertensión (n, %)	15 (22,73%)
Parámetros de laboratorio	
PCR, mg/dL (media ± DS)	11,47 ± 13,37
VSg, mm/h (media ± DS)	26,43 ± 24,19
ACPA's positivo (n, %)	48 (72,73%)
FR positivo (n, %)	52 (78,79%)
Tratamientos	
Corticosteroides (n, %)	50 (75,76%)
FAME convencionales (n, %)	57 (86,06%)
TNFi (n, %)	16 (24,24%)
IL6Ri (n, %)	10 (15,15%)
Anti-CD20 (n, %)	3 (4,55%)

JAKi

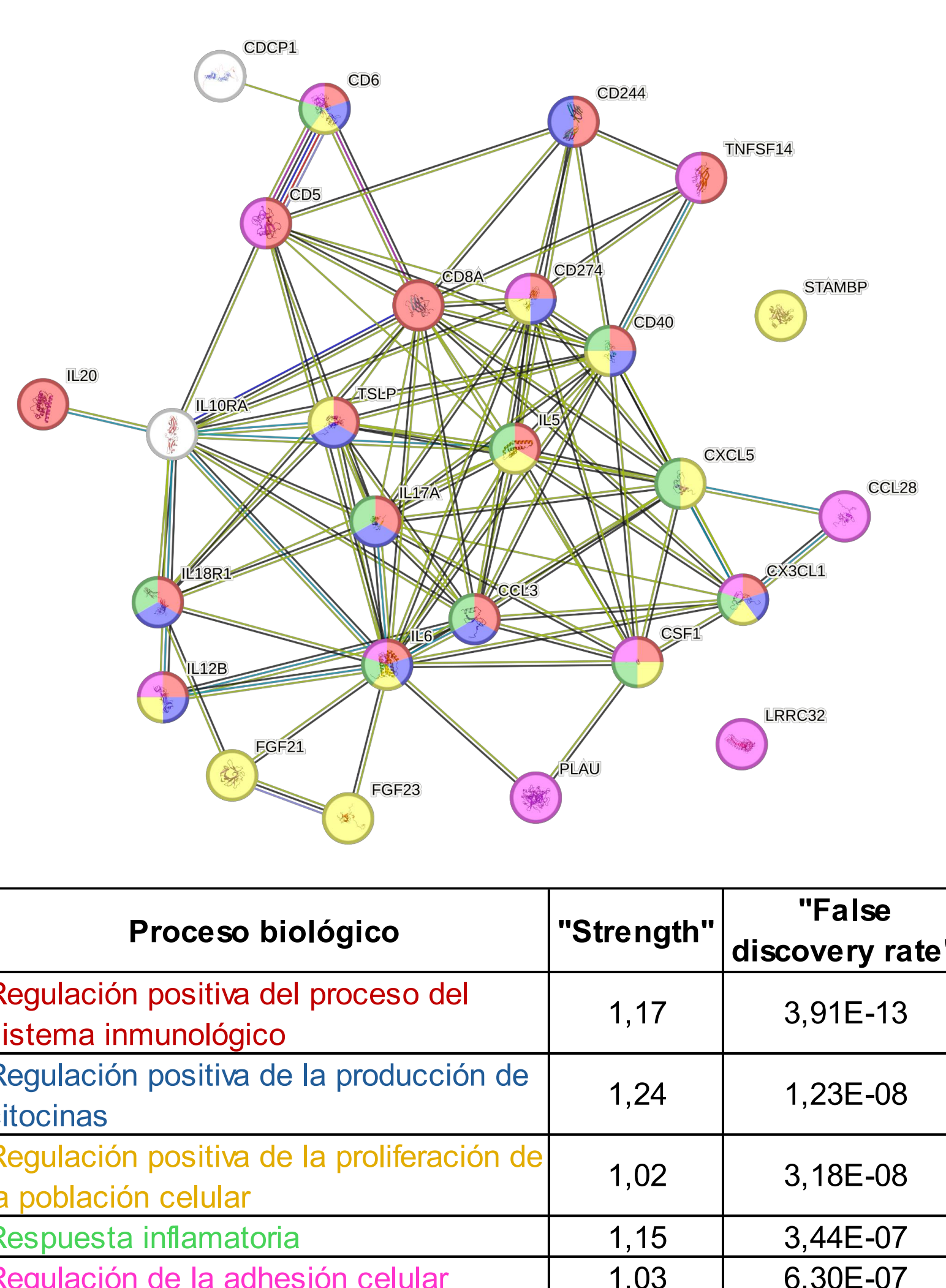


2. Los JAKinibs alteran los niveles de expresión de citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento secretados por PBMCs y neutrófilos de pacientes con AR.

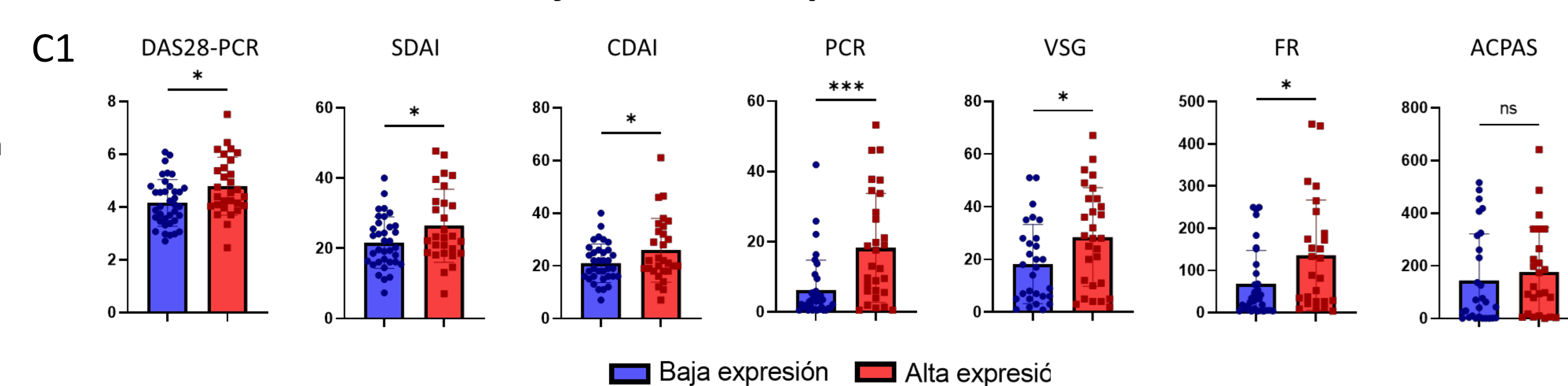
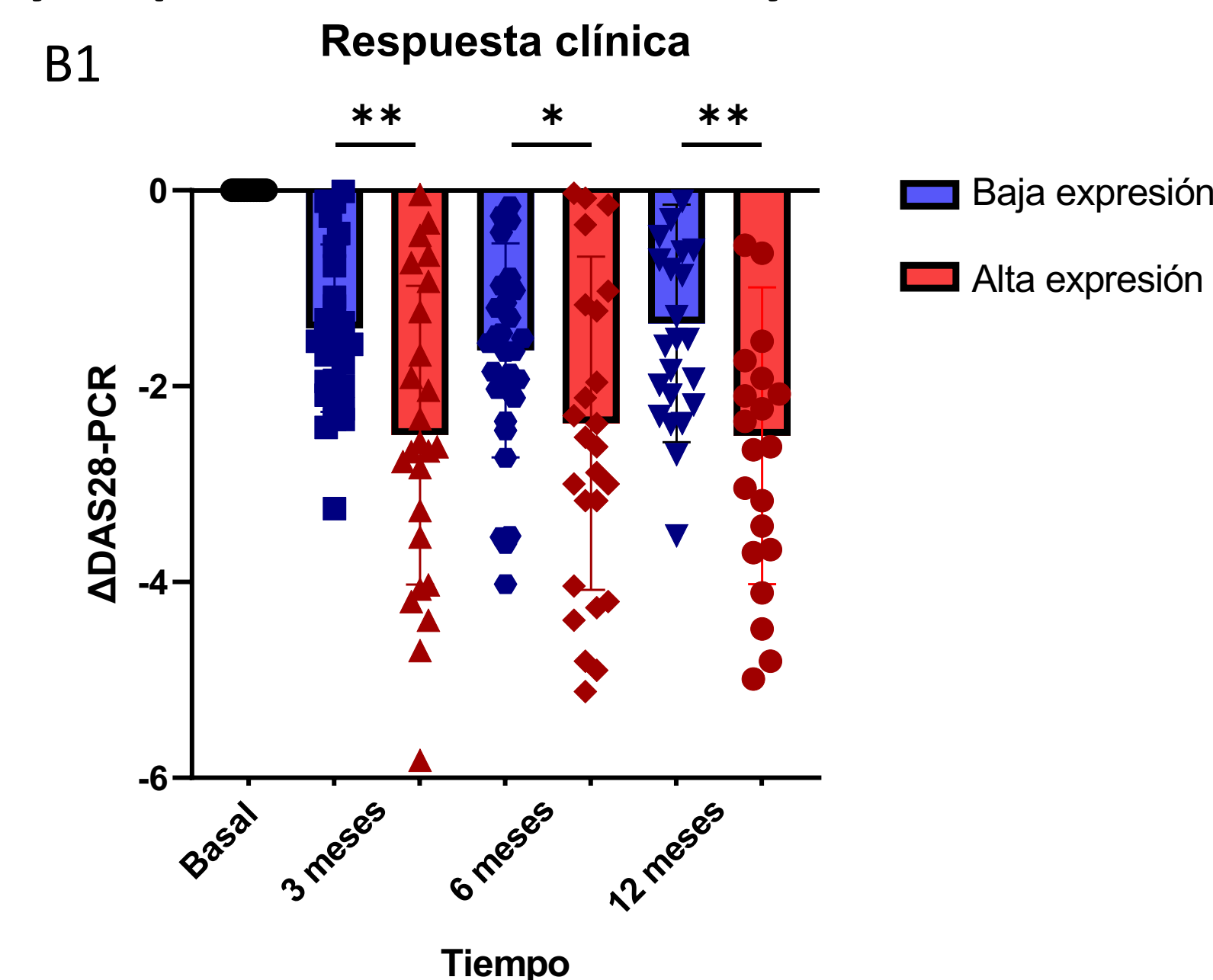
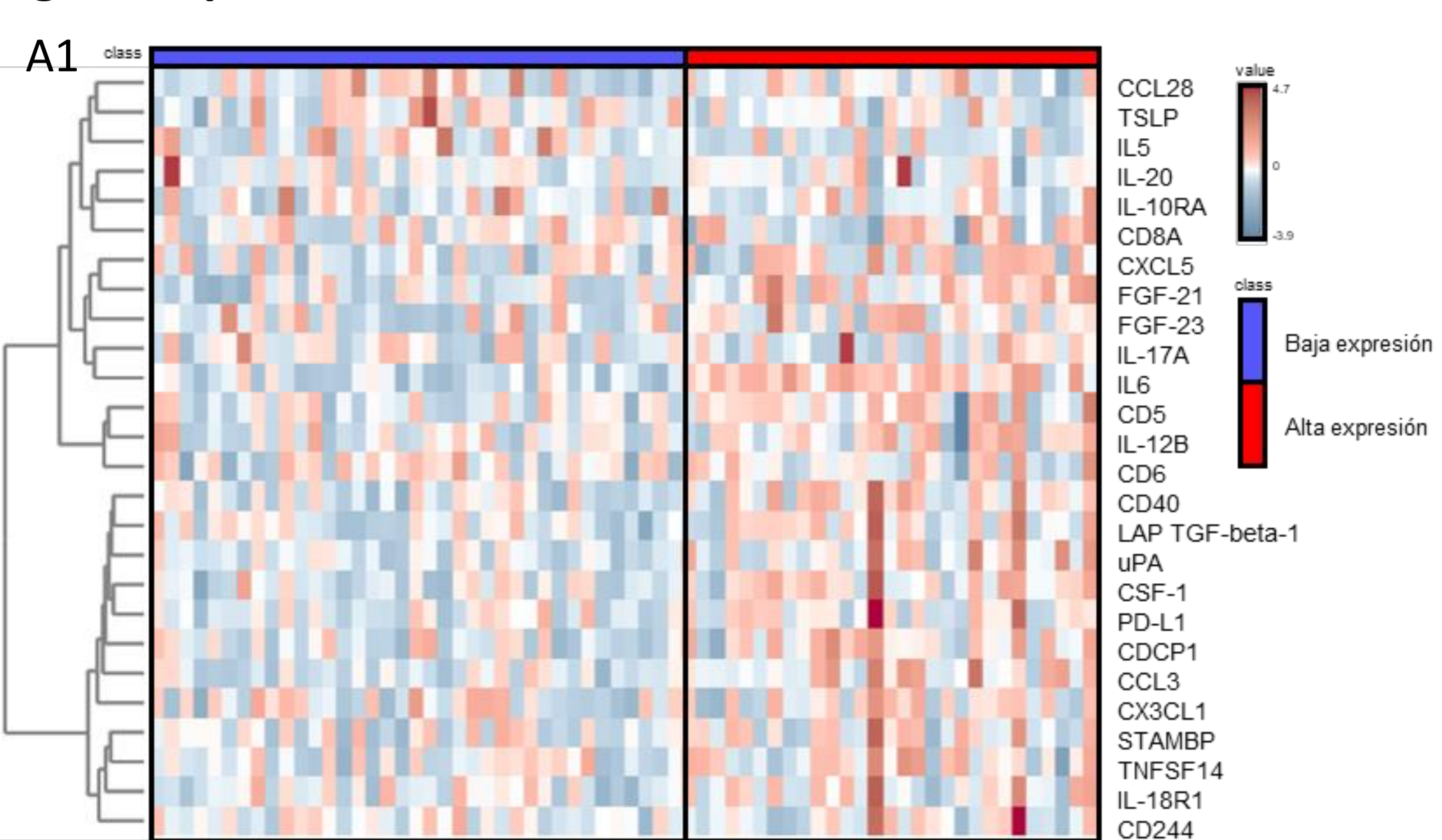
A



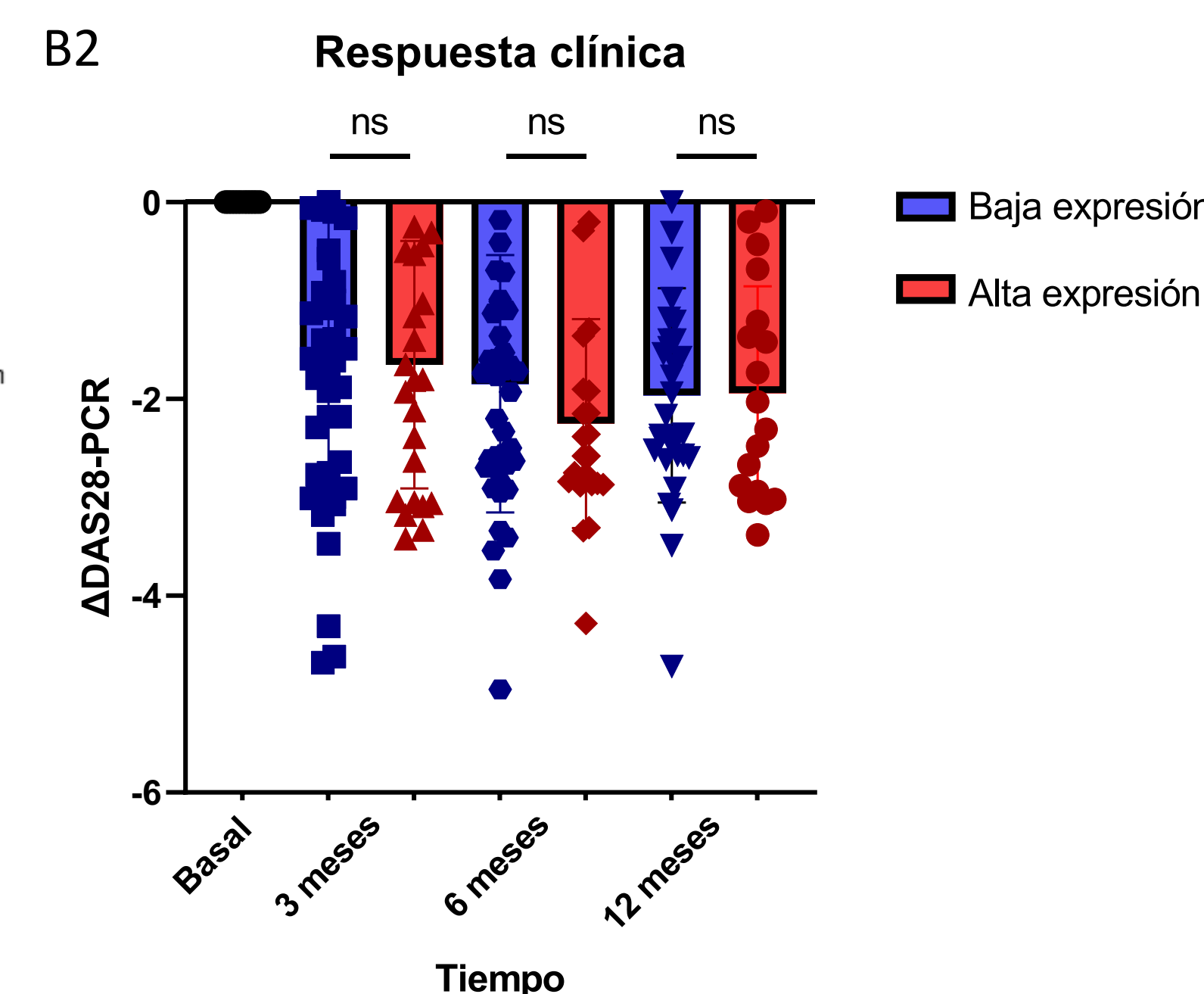
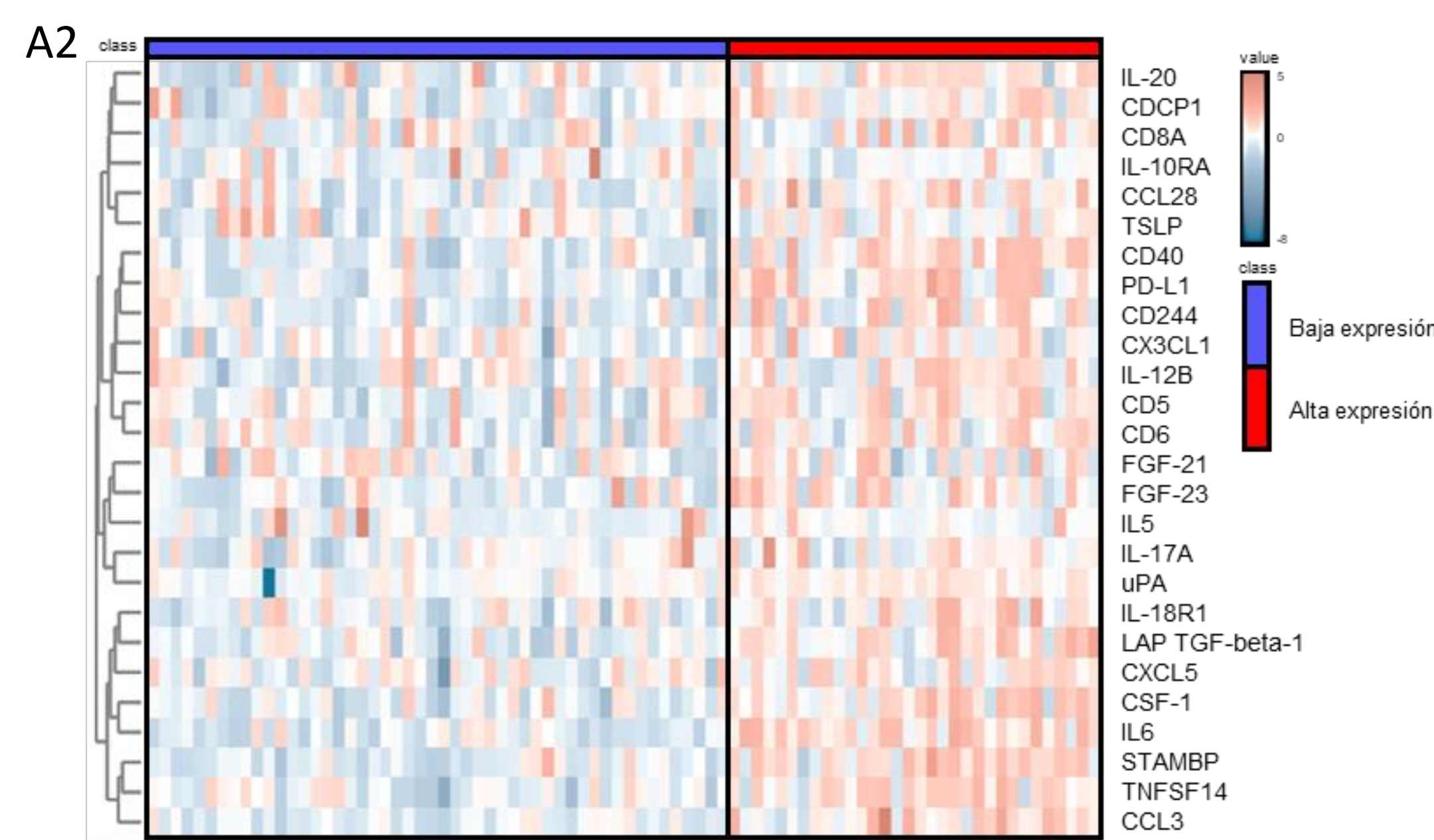
B



El suero autólogo potenció la secreción de proteínas inflamatorias por ambos tipos celulares, afectando a citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento, efecto que fue revertido por el tratamiento con Baricitinib (**Figura A**). El análisis de enriquecimiento funcional de esta firma reflejó su papel clave en procesos asociados a la fisiopatología de la AR, como la inflamación crónica, la proliferación celular y la adhesión (**Figura B**).



El análisis no supervisado del proteoma inflamatorio en el suero de una 2ª cohorte de pacientes AR que iniciaban JAKi (**Tabla 2**) identificó dos grupos según la expresión de la firma proteica regulada por JAKi (**Figura A1**). Los pacientes con alta expresión basal mostraron mayor severidad de la enfermedad y una reducción significativa en la actividad a los 3, 6 y 12 meses (**Figura B1 y C1**).



La especificidad de esta firma fue evaluada en una 3ª cohorte de pacientes AR que iniciaban TNFi (**Tabla 3**). Los pacientes con niveles basales elevados de dichas proteínas no mostraron cambios significativos en la actividad de la enfermedad (DAS28-PCR) (**Figura B2**).

Este resultado refuerza la especificidad de la firma molecular como ***predicador de respuesta a JAKi***.