

Subgrupos inmunofenotípicos de LES definidos por autoanticuerpos, expresión génica y citometría de flujo.

M. Aguilar Zamora^{1,2}, H. Lu³, D. Li³, Z. Betteridge³, K. Dutton⁴, M.Y. Md Yusof⁴, A. Psarras⁴, The MASTERPLANS Consortium, I.N. Bruce⁵, N. McHugh³ and E. Vital⁴

1. Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia, Spain. 2. Fundación Valenciana de Reumatología. 3. Bath University 4. Leeds Institute of Rheumatic and Musculoskeletal Medicine. Leeds University. 5. Manchester University

Introducción

- El lupus eritematoso sistémico (LES) puede estratificarse de acuerdo con diferentes exámenes inmunológicos aunque las relaciones entre estos no están bien definidas.
- “MASTERPLANS” es un consorcio que busca identificar subgrupos inmunofenotípicos de pacientes que puedan predecir la respuesta a los tratamientos.

Objetivos

- Identificar las relaciones entre las características clínicas de un grupo de pacientes bien fenotipados clínicamente utilizando un conjunto de evaluaciones inmunes.
- Establecer subgrupos de pacientes que puedan diferir en la respuesta al tratamiento.

Methods

- 143 pacientes con LES fueron estudiados mediante:
 - BILAG-2004 (índice compuesto para evaluar la actividad de la enfermedad)
 - Autoanticuerpos mediante radioinmunoprecipitación (IP, Universidad de Bath)
 - Dos puntuaciones de interferón (IFN-Score-A e IFN-Score-B)
 - Citometría de flujo para los principales subconjuntos de células inmunes circulantes
 - Examen específico para la respuesta de IFN mediante la expresión de proteína de superficie de CD317 (“tetherin”) en cada subconjunto celular
- Mediante una agrupación jerárquica no supervisada definimos subgrupos de autoanticuerpos. Los niveles de IFN se compararon entre los grupos utilizando análisis multivariante y otras variables se compararon mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

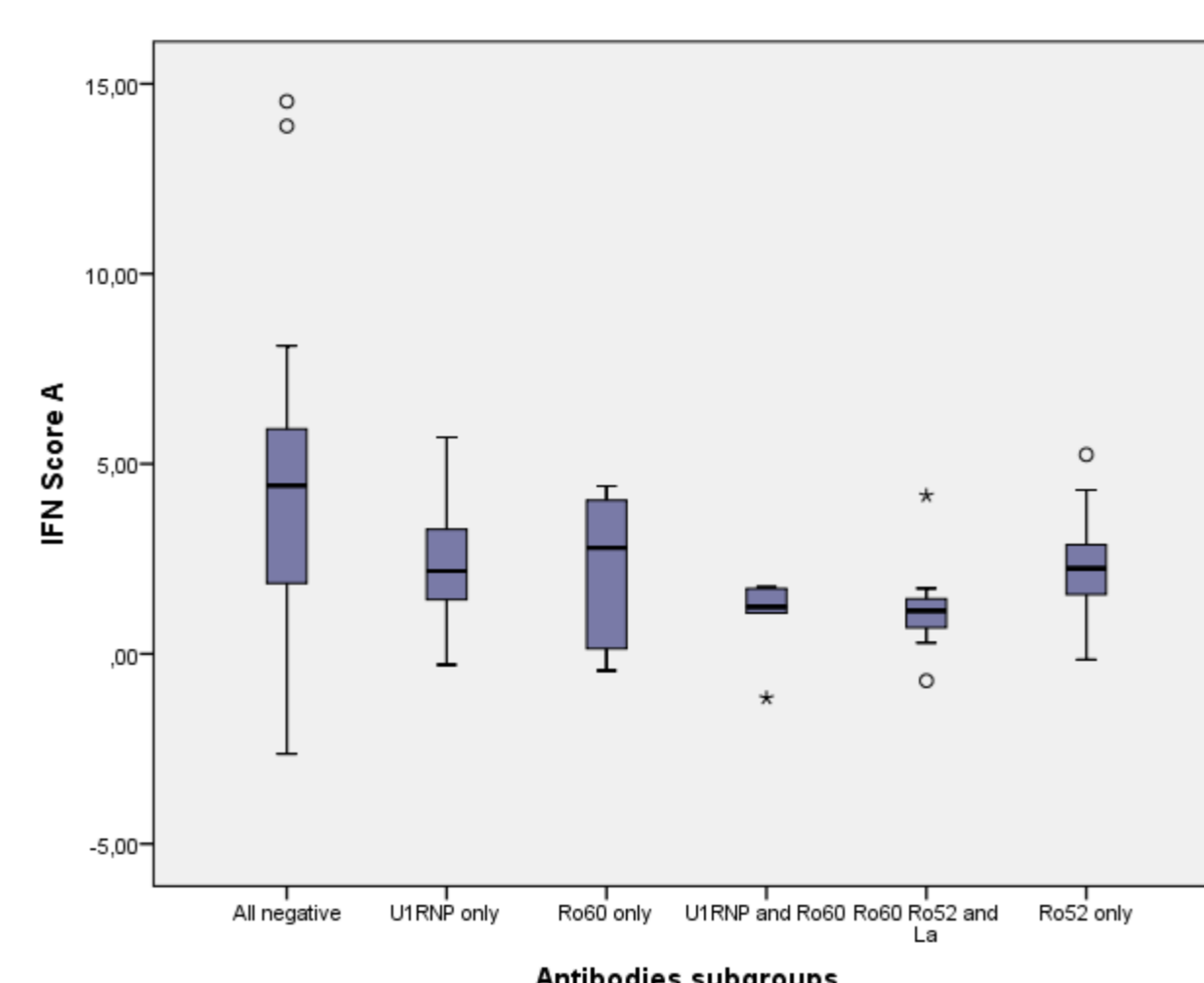
Subgrupos

- Usando IP 141 pacientes pudieron dividirse en 5 grupos:

U1RNP/Sm+	n=23
Ro60 +	n=8
U1RNP/Sm + y Ro60+	n=6
Ro60+, Ro52+ y La+	n=11
Ro52+	n=16
Otros ANA positivos	n=77

Resultados. Autoanticuerpos y nivel de IFN

- Los subgrupos de estos anticuerpos se asociaron fuertemente con el IFN-Score-A (F = 4.39, p = 0.001).
- La expresión fue más baja para el grupo con positividad para “otros ANA”, intermedia para aquellos pacientes con un solo anticuerpo positivo y más alta en aquellos con múltiples anticuerpos.



- La regresión lineal multivariante, en la que incluimos la interacción entre los diferentes tipos de anticuerpos, reveló que los autoanticuerpos Ro60 y U1RNP/Sm fueron los predictores independientes del nivel de IFN-Score-A (p = 0.051 y 0.009 respectivamente).
- No hubo asociación entre el tipo de autoanticuerpos y el IFN-Score-B (F = 0.973, p = 0.438).

Análisis multivariante entre los anticuerpos y el IFN-Score-A

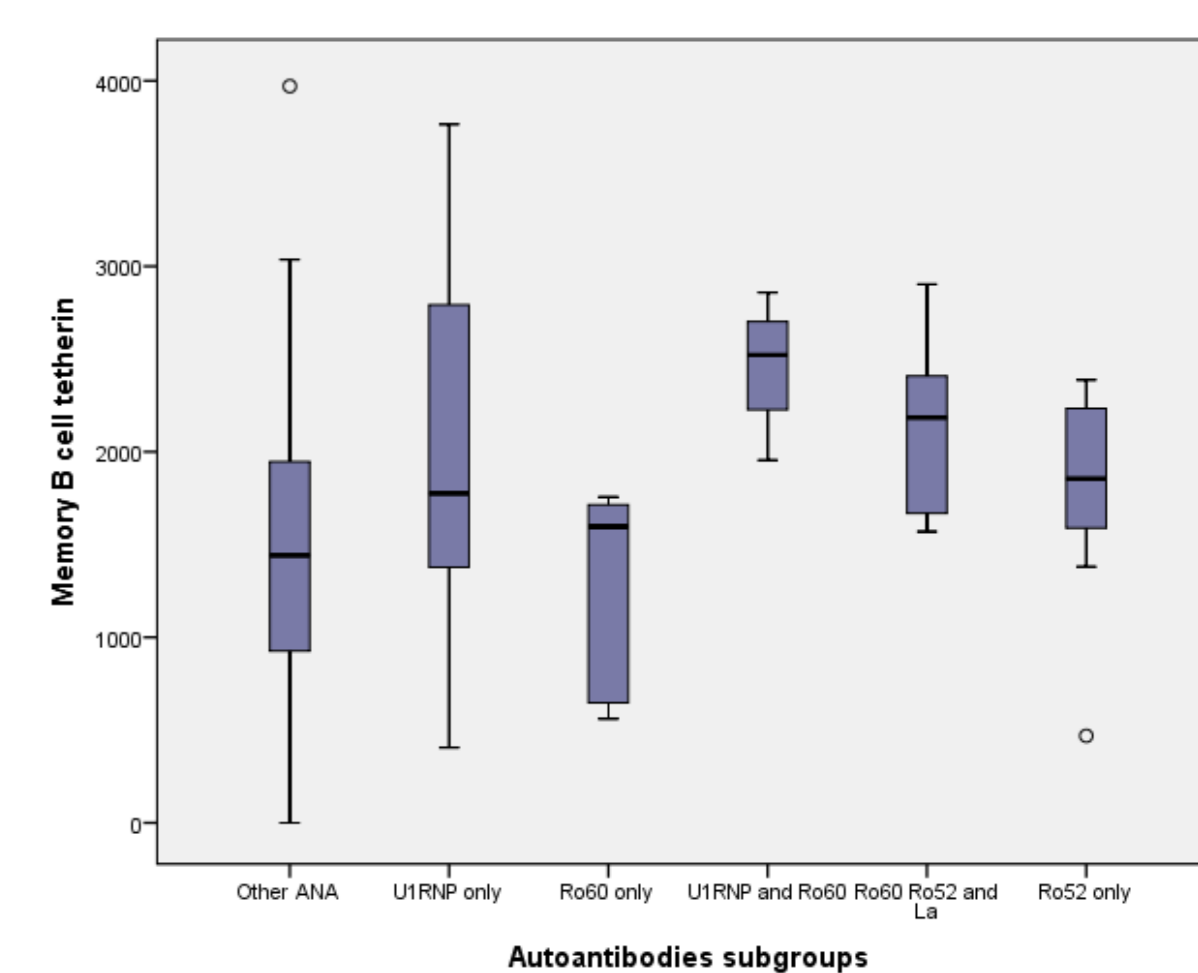
Predictor	Media (DE) IFN-Score-A en ACs negativos	Media (DE) IFN-Score-A en ACs positivos	OR univariante (95% CI)	P	OR multivariante (95% CI)	P
U1RNP/Sm	3.59 (2.89)	1.46 (1.53)	-2.4 (-2.7,-0.34)	0.012	-2.7 (-2.7, -0.4)	0.009
Ro60	3.75 (2.82)	1.83 (1.72)	-3.1 (-3.0,-0.83)	0.001	-2.0 (-2.7, 0.0)	0.051
La	3.39 (2.72)	1.51 (1.99)	-2.0 (-3.7,-0.4)	0.046	-0.35 (-2.7, 1.9)	0.73
Ro52	3.52 (2.80)	1.95 (1.53)	-2.1 (-2.9,-0.22)	0.023	-0.86 (-2.4, 0.9)	0.39
U1RNP*Ro60	N/A	N/A	N/A	N/A	0.05 (-2.1,3.21)	0.67
Ro60*Ro52	N/A	N/A	N/A	N/A	0.27 (-1.3,5.68)	0.21
Ro52*La	N/A	N/A	N/A	N/A	-0.41 (-10.5,1.26)	0.12

*Nota: estos valores no están transformados por lo que niveles numéricamente más altos representan menor expresión génica.

** ACs: anticuerpos

Resultados. Citometría de flujo

- En la citometría de flujo, el grupo U1RNP/Sm+ tenía un número significativamente menor de células T CD4 y células B de memoria.
- El nivel de estas células B de memoria fue menor en grupos con anticuerpos positivos en comparación con el grupo con “otros ANA”. La expresión de CD317 (“tetherin”) fue más alta en grupos con anticuerpos positivos siendo la expresión de CD317 en las células B de memoria significativamente mayor en los grupos con múltiples anticuerpos positivos.



Resultados. Clínica

- La positividad para U1RNP/Sm se asoció con afectación renal (p = 0.004) y el compromiso mucocutáneo fue mayor en el grupo Ro60+ Ro52+ y La+ (p = 0.037).

Conclusiones

Esta cohorte de pacientes reveló relaciones entre las diferentes características inmunes.

- El anticuerpo U1RNP/Sm destacó por la definición de un grupo de pacientes con un conjunto de alteraciones inmunes, incluida la mayor expresión de IFN, mayor número de anomalías en la citometría de flujo y la afectación renal clínica.
- Esto ocurrió independiente del nivel de IFN-Score-B el cual predice una mejor respuesta clínica al rituximab.

Los futuros trabajos por MASTERPLANS investigarán la importancia de estos subgrupos para la respuesta al tratamiento.

TÍTULO: SUBGRUPOS INMUNOFENOTÍPICOS DE LES DEFINIDOS POR AUTOANTICUERPOS, EXPRESIÓN GÉNICA Y CITOMETRÍA DE FLUJO.

Autores: M. Aguilar Zamora^{1,2}, H. Lu³, D. Li³, Z. Betteridge³, K. Dutton⁴, M.Y. Md Yusof⁴, A. Psarras⁴, The MASTERPLANS Consortium, I.N. Bruce⁵, N. McHugh³ y E. Vital⁴

1. Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia.
2. Fundación Valenciana de Reumatología.
3. Universidad de Bath
4. Universidad de Leeds
5. Universidad de Manchester

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) puede estratificarse de acuerdo con diferentes exámenes inmunológicos aunque las relaciones entre estos no están bien definidas. “MASTERPLANS” es un consorcio que busca identificar subgrupos inmunofenotípicos de pacientes que puedan predecir la respuesta a los tratamientos. Nuestro objetivo fue identificar las relaciones entre las características clínicas de un grupo de pacientes bien fenotipados clínicamente utilizando un conjunto de evaluaciones inmunes así como establecer subgrupos de pacientes que puedan diferir en la respuesta al tratamiento.

Métodos

Se estudiaron 143 pacientes con LES y se evaluó el BILAG-2004, autoanticuerpos mediante radioinmunoprecipitación (IP, Universidad de Bath), dos puntuaciones de interferón (IFN-Score-A e IFN-Score-B) y la citometría de flujo para los principales subconjuntos de células inmunes circulantes. También se utilizó un examen específico para la respuesta de IFN mediante la expresión de proteína de superficie de CD317 (“tetherin”) en cada subconjunto celular.

Mediante una agrupación jerárquica no supervisada definimos subgrupos de autoanticuerpos. Los niveles de IFN se compararon entre los grupos utilizando análisis multivariante y otras variables se compararon mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados

Usando IP, 141 pacientes podían dividirse en cinco subgrupos: U1RNP/Sm+ (n = 23), Ro60+ (n = 8), U1RNP/Sm+ y Ro60 + (n = 6), Ro60+ Ro52+ y La + (n = 11), Ro52+ (n = 16) y positividad para otros ANA (n = 77).

Los subgrupos de anticuerpos se asociaron fuertemente con el IFN-Score-A ($F = 4.39$, $p = 0.001$). La expresión fue más baja para el grupo con positividad para "otros ANA", intermedia para aquellos pacientes con un solo anticuerpo positivo y más alta en aquellos con múltiples anticuerpos. La regresión lineal multivariante, en la que incluimos la interacción entre los diferentes tipos de anticuerpos, reveló que los autoanticuerpos Ro60 y U1RNP/Sm fueron los predictores independientes del nivel de IFN-Score-A ($p = 0.051$ y 0.009 respectivamente). No hubo asociación entre el tipo de autoanticuerpos y el IFN-Score-B ($F = 0.973$, $p = 0.438$).

En la citometría de flujo, el grupo U1RNP/Sm+ tenía un número significativamente menor de células T CD4 y células B de memoria. El nivel de estas células B de memoria fue menor en grupos con anticuerpos positivos en comparación con el grupo con "otros ANA". La expresión de CD317 ("tetherin") fue más alta en grupos con anticuerpos positivos siendo la expresión de CD317 en las células B de memoria significativamente mayor en los grupos con múltiples anticuerpos positivos. La positividad para U1RNP/Sm se asoció con afectación renal ($p = 0.004$) y el compromiso mucocutáneo fue mayor en el grupo Ro60+ Ro52+ y La+ ($p = 0.037$).

Conclusiones

Esta cohorte de pacientes reveló relaciones entre las diferentes características inmunes. El anticuerpo U1RNP/Sm destacó por la definición de un grupo de pacientes con un conjunto de alteraciones inmunes, incluida la mayor expresión de IFN, mayor número de anomalías en la citometría de flujo y la afectación renal clínica. Esto ocurrió independiente del nivel de IFN-Score-B el cual predice una mejor respuesta clínica al rituximab. Los futuros trabajos por MASTERPLANS investigarán la importancia de estos subgrupos para la respuesta al tratamiento.

Tabla 1: Análisis multivariante del nivel de autoanticuerpos y el IFN-Score-A

Predictor	Media (DE) IFN-Score-A en anticuerpos negativos.	Media (DE) IFN-Score-A en anticuerpos positivos.	OR univariante (95% CI)	P	OR multivariante (95% CI)	P
U1RNP/Sm	3.59 (2.89)	1.46 (1.53)	-2.4 (-2.7,-0.34)	0.012	-2.7 (-2.7, -0.4)	0.009
Ro60	3.75 (2.82)	1.83 (1.72)	-3.1 (-3.0,-0.83)	0.001	-2.0 (-2.7, 0.0)	0.051
La	3.39 (2.72)	1.51 (1.99)	-2.0 (-3.7,-0.4)	0.046	-0.35 (-2.7, 1.9)	0.73
Ro52	3.52 (2.80)	1.95 (1.53)	-2.1 (-2.9,-0.22)	0.023	-0.86 (-2.4, 0.9)	0.39
U1RNP*Ro60	N/A	N/A	N/A	N/A	0.05 (-2.1,3.21)	0.67
Ro60*Ro52	N/A	N/A	N/A	N/A	0.27 (-1.3,5.68)	0.21
Ro52*La	N/A	N/A	N/A	N/A	-0.41 (-10.5,1.26)	0.12

*Nota: estos valores no están transformados por lo que niveles numéricamente más altos representan menor expresión genética.