XXIII Congreso SORCOM 2019

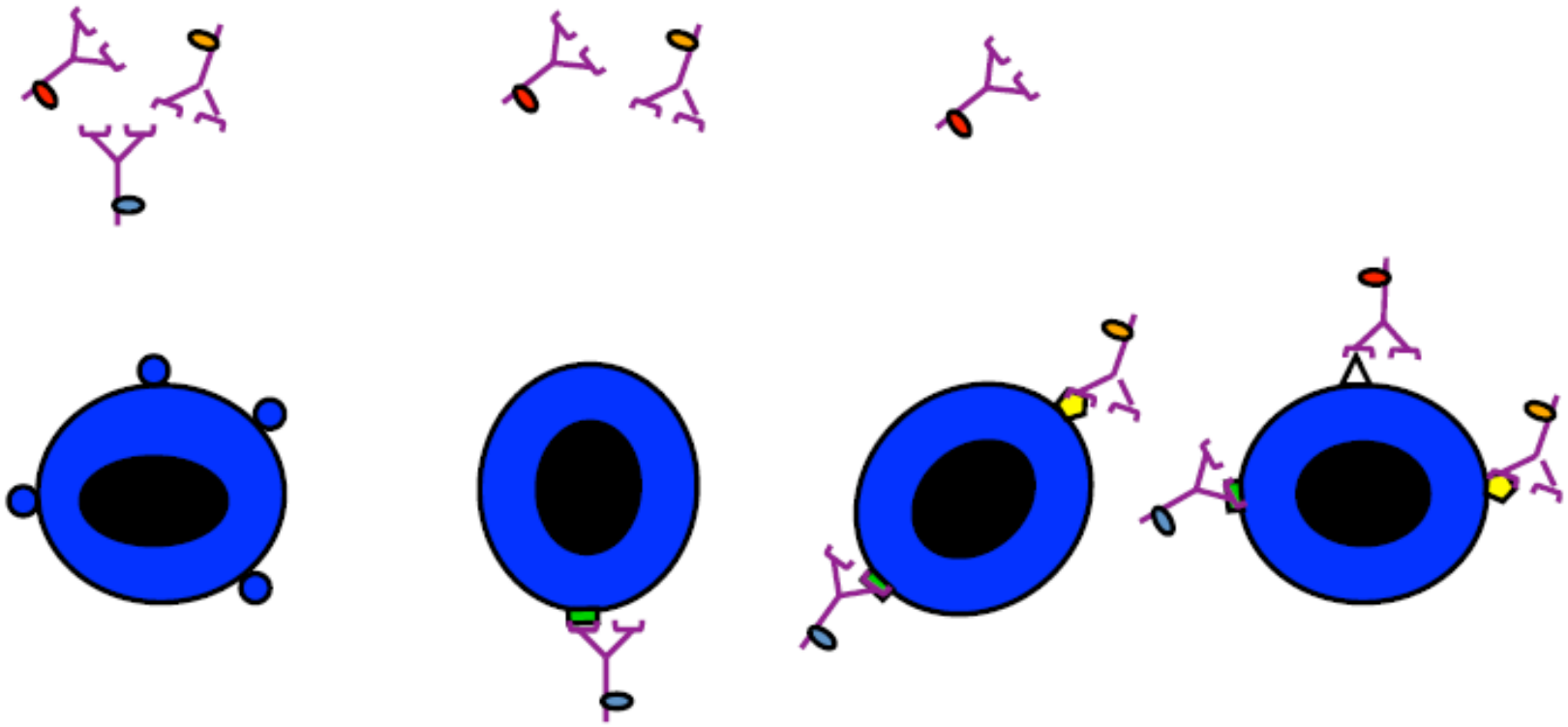
# Citometría de flujo aplicada a la Reumatología

**Luisa M. Villar**

**Servicio de Inmunología**

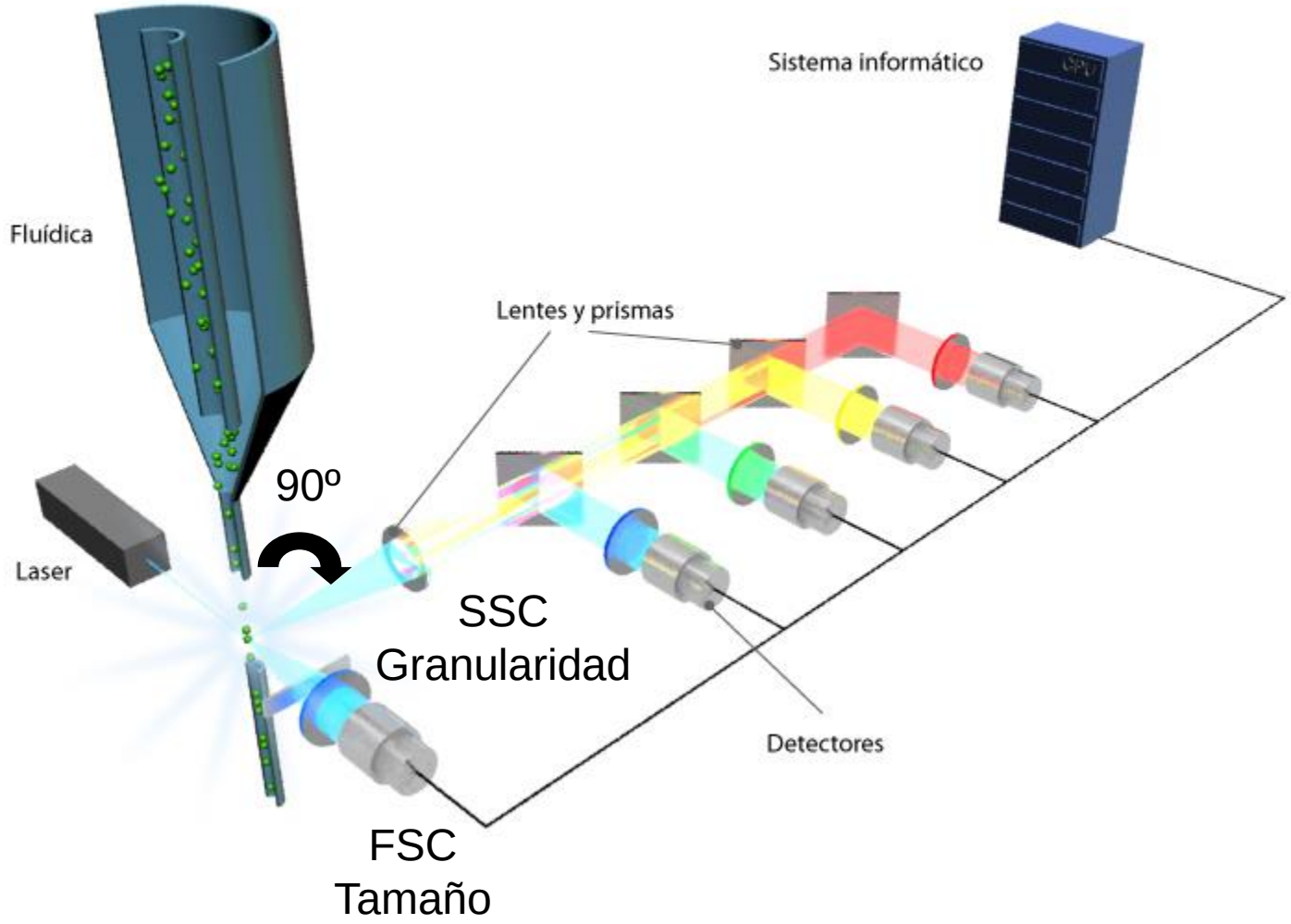
**H.U. Ramón y Cajal. Madrid**

# Fundamentos de la citometría de flujo

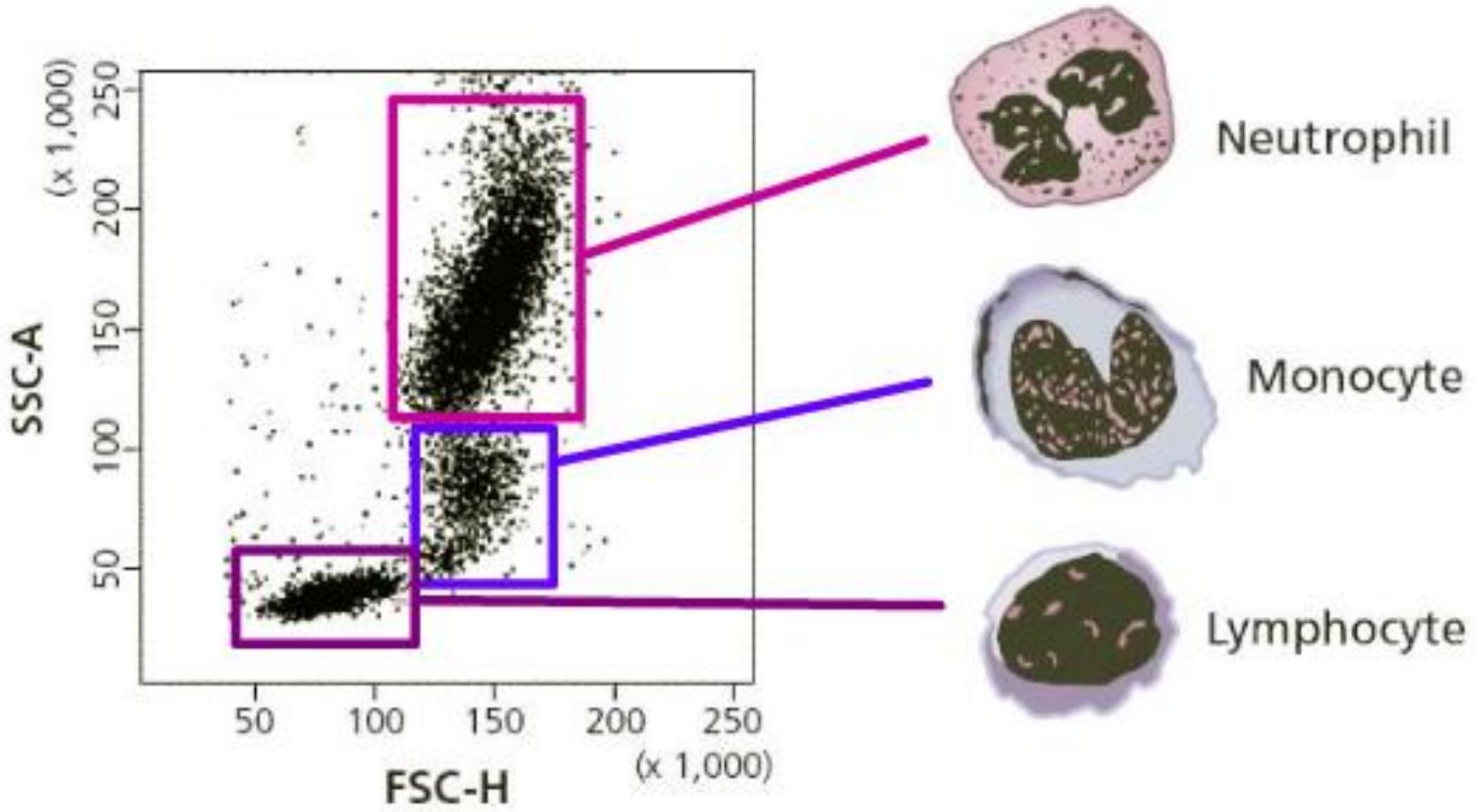


***Cito***: célula, ***metría***: medición

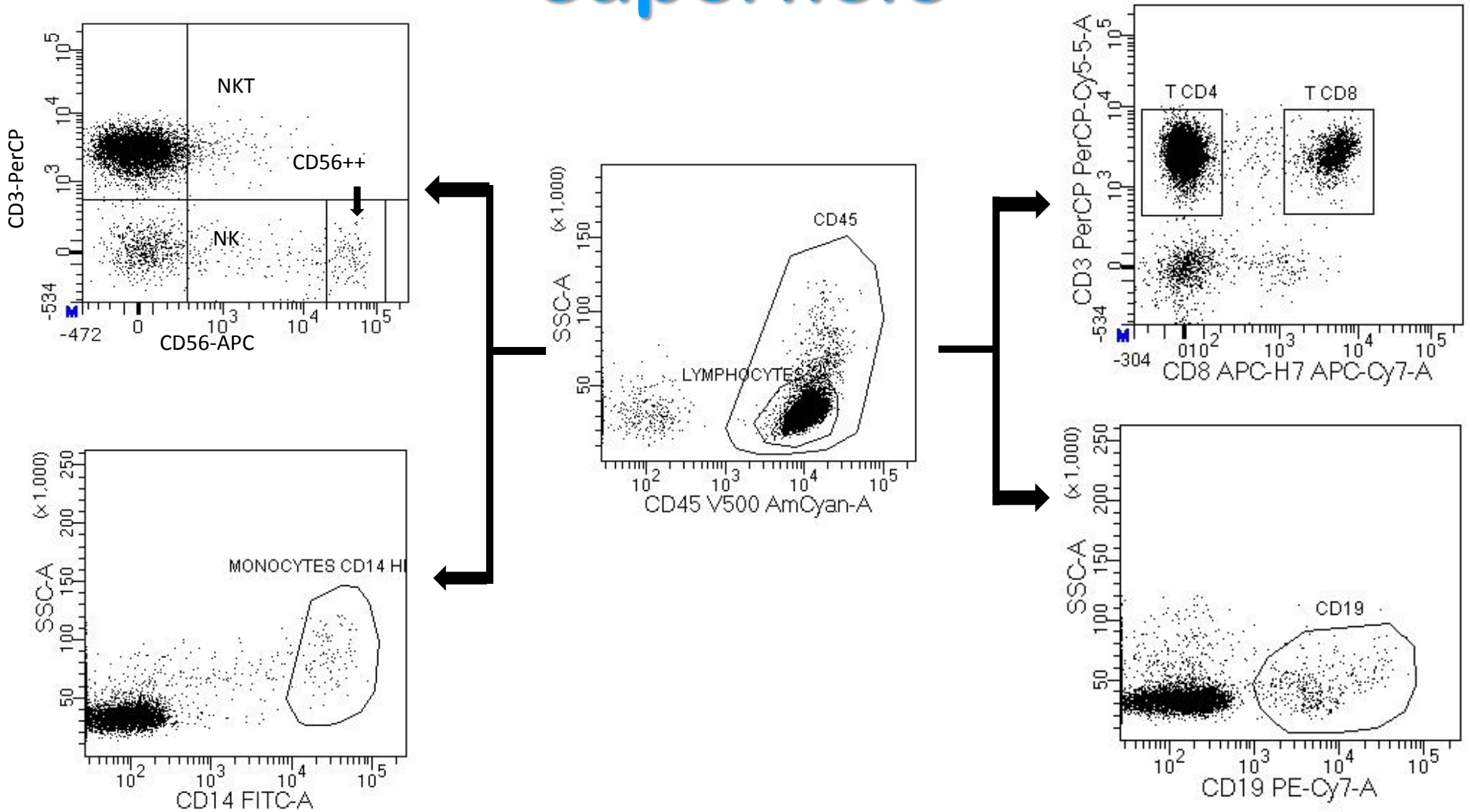
# Citómetro de flujo



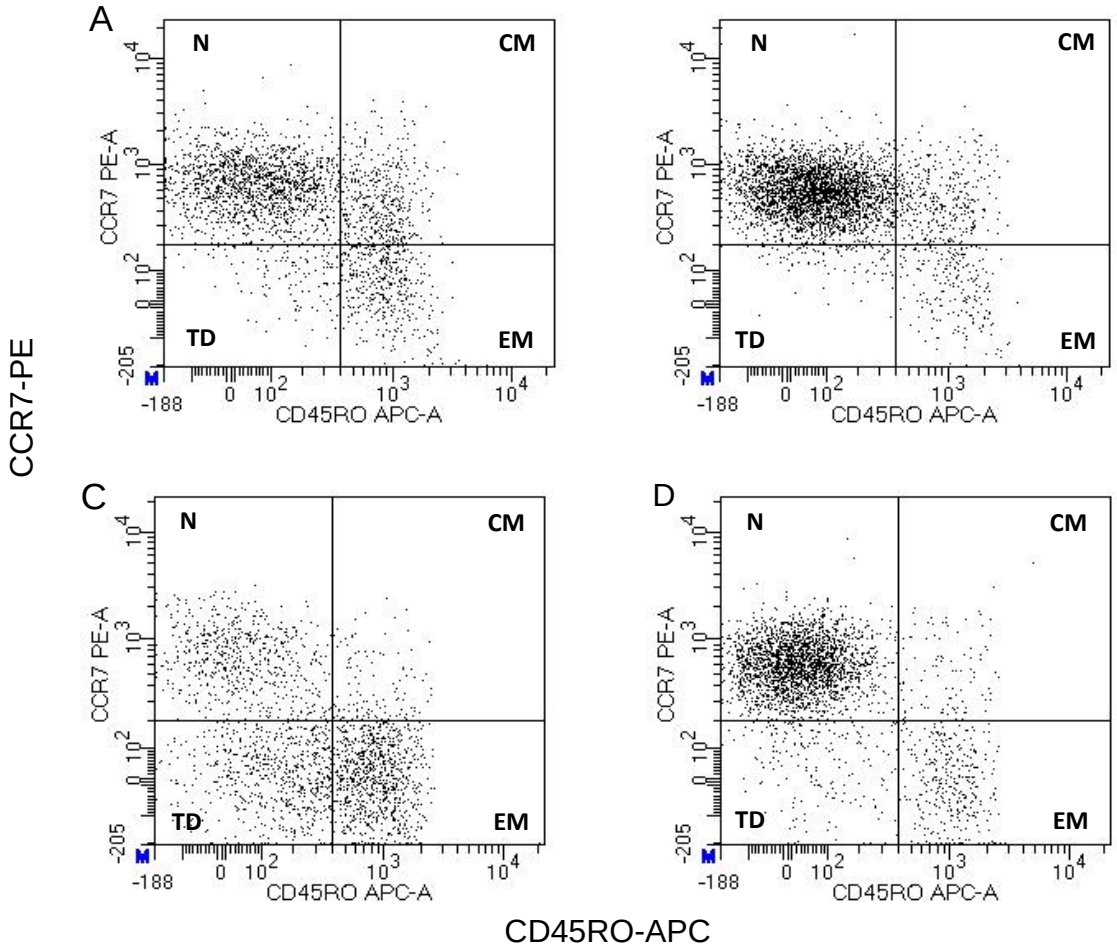
# Poblaciones leucocitarias hemáticas

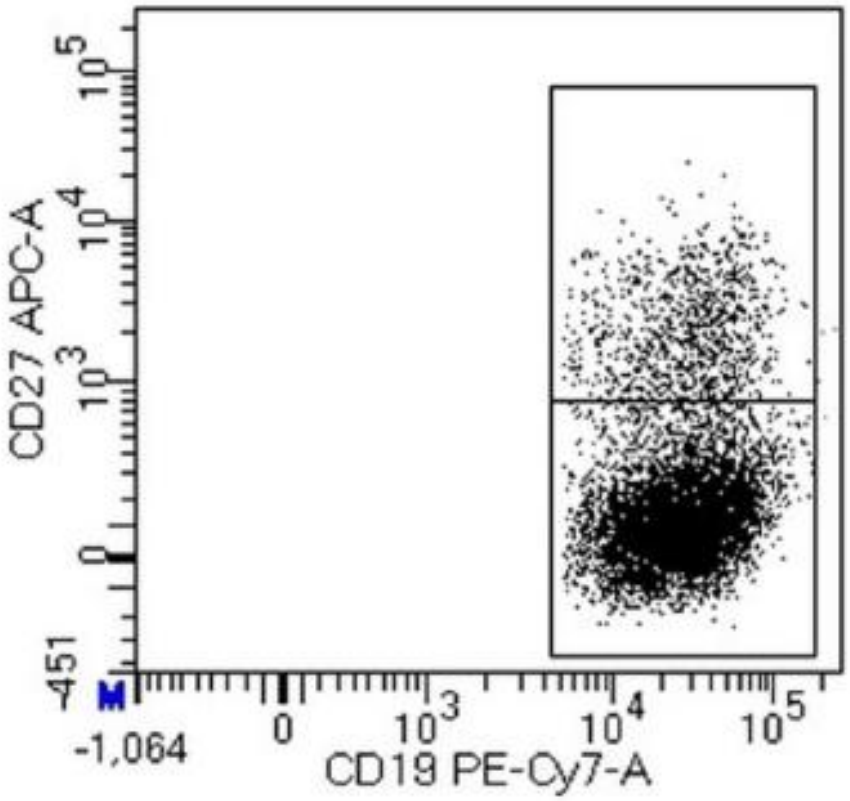


# Identificación con marcadores de superficie

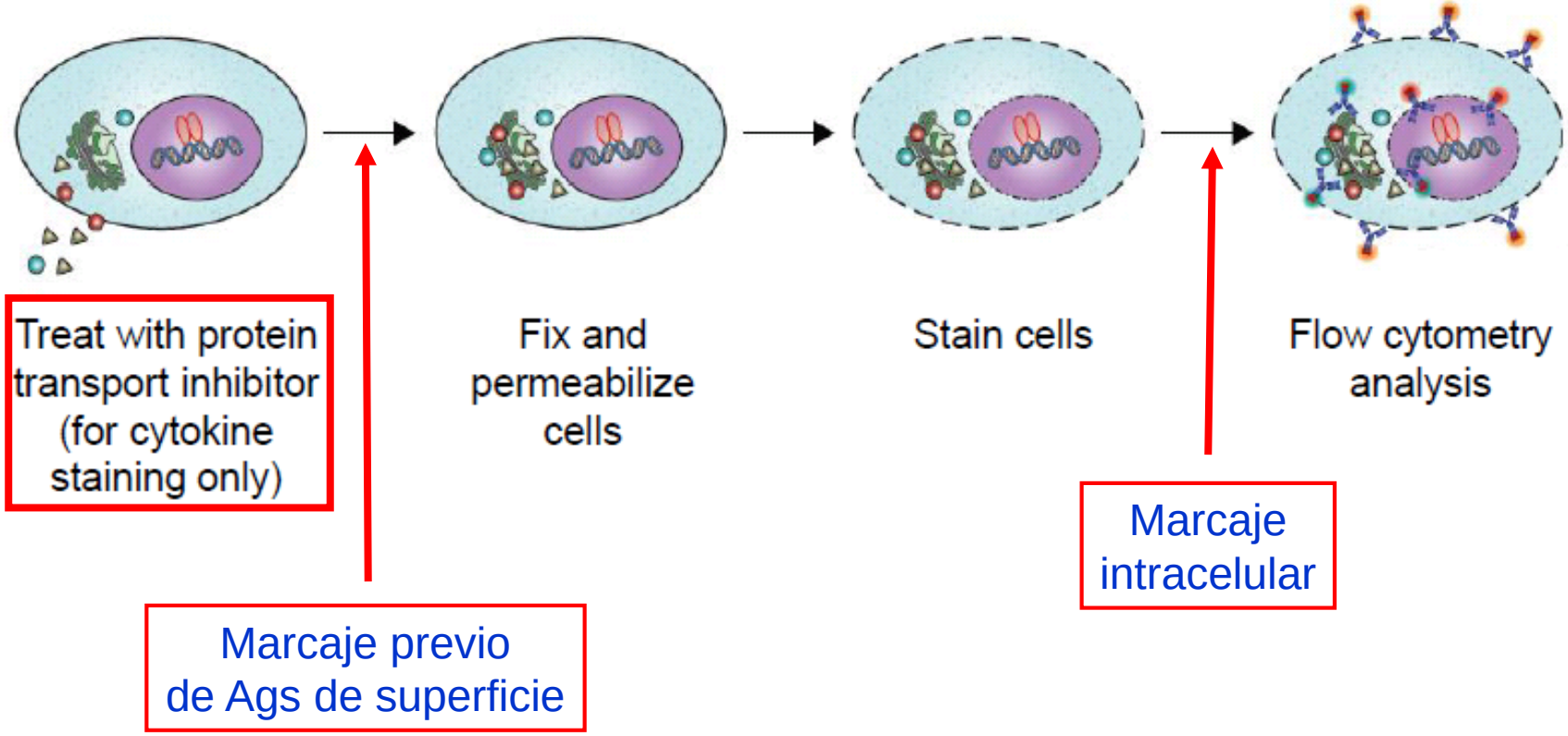


# Subpoblaciones de linfocitos T y B

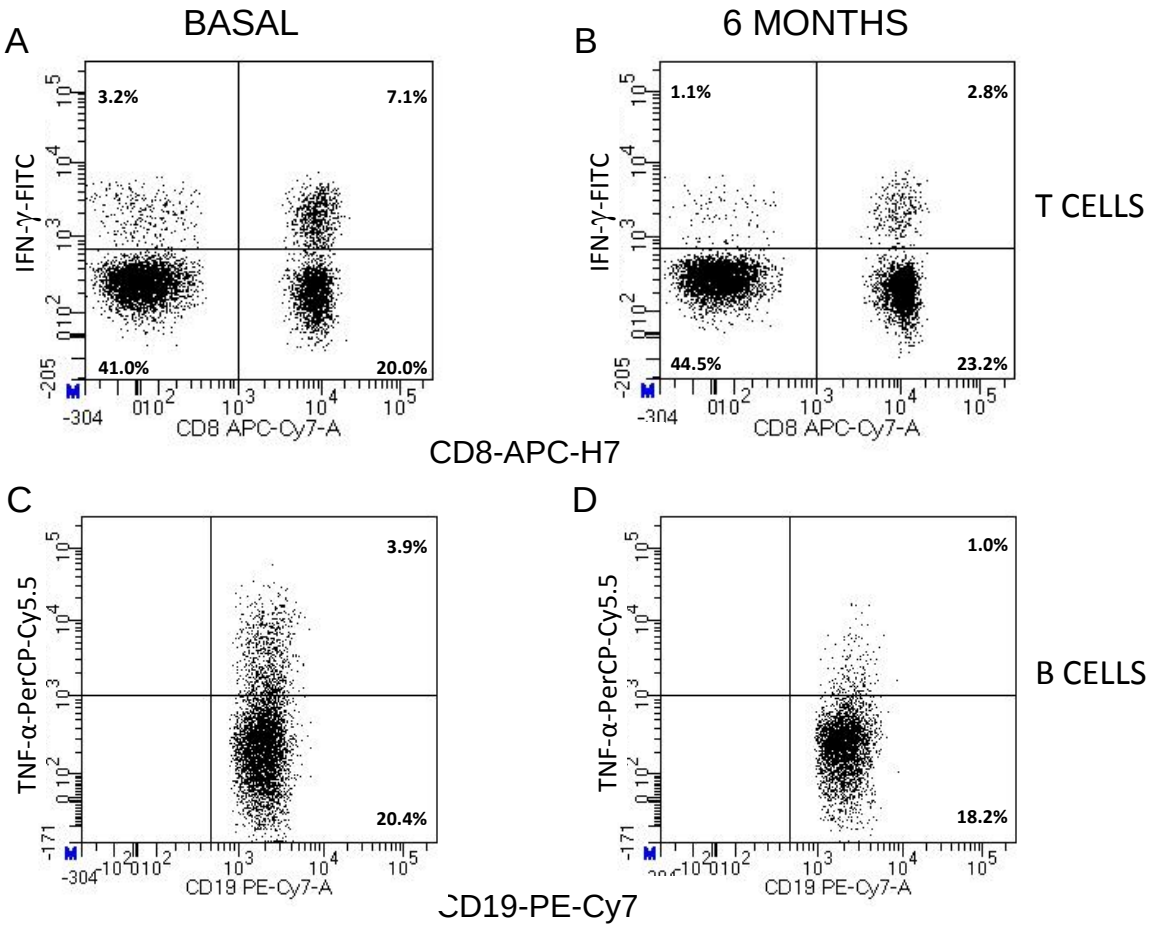


# Marcaje intraceluar



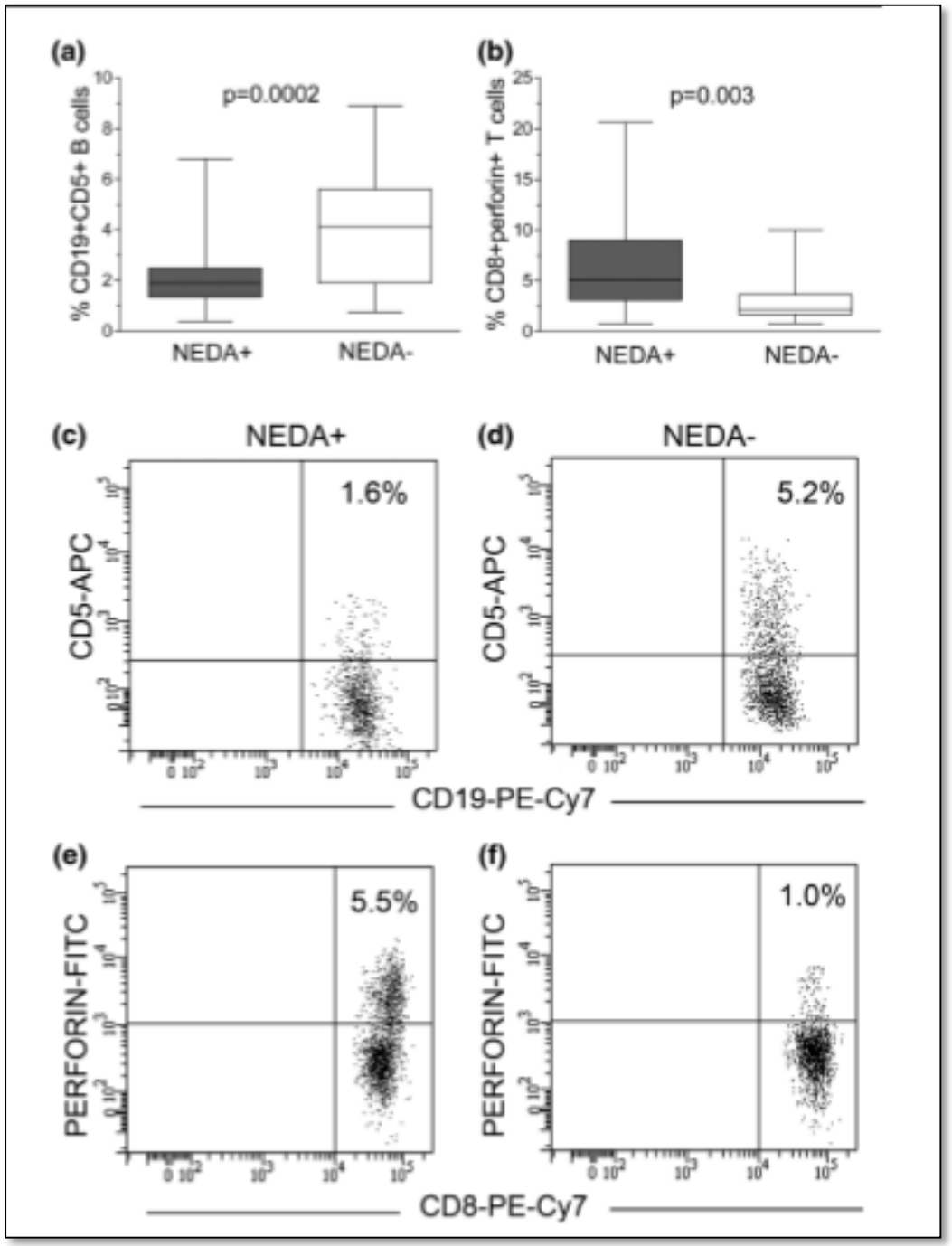
# Producción intracelular de citoquinas




Medina et al MSJ 2017

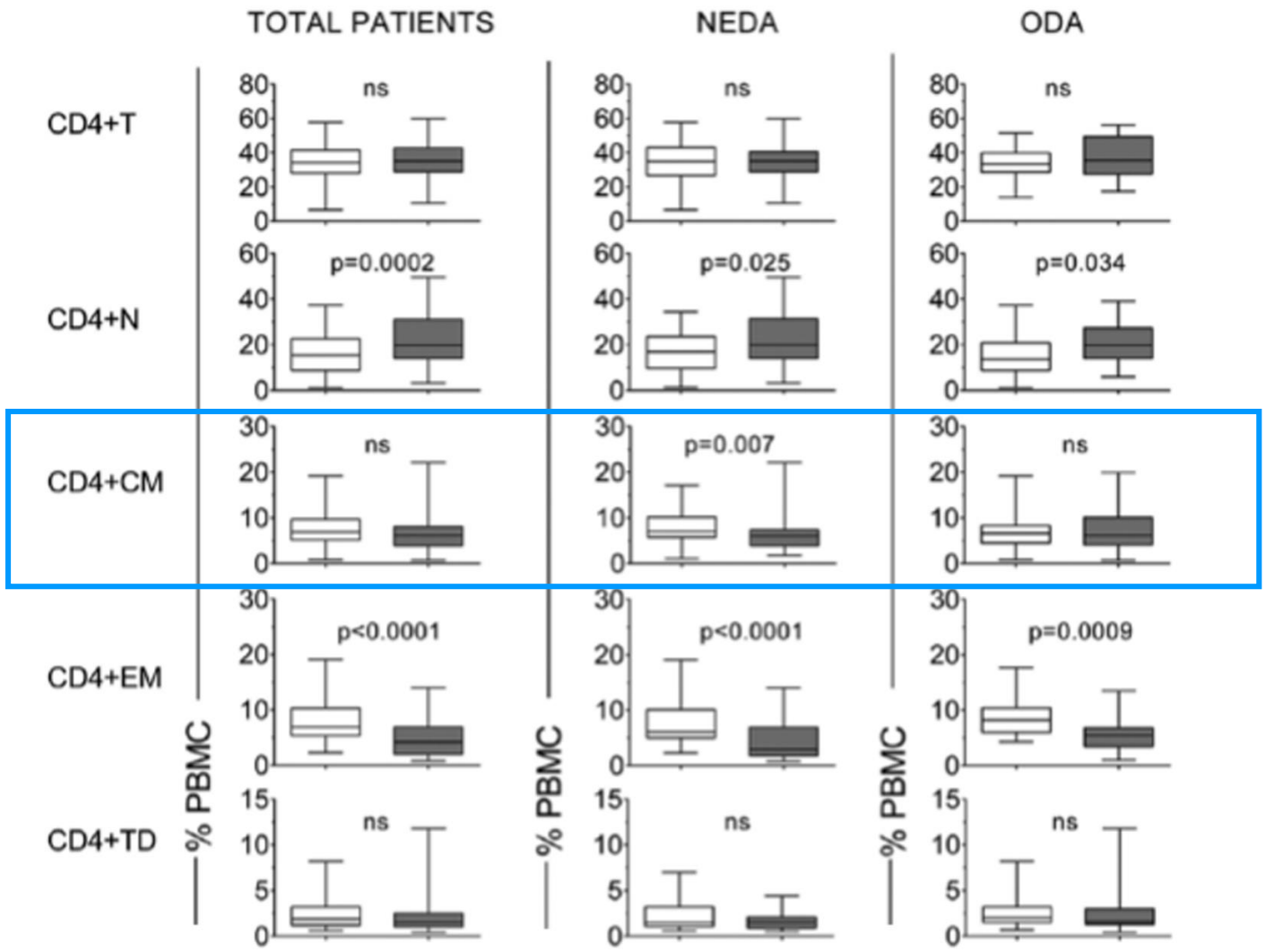
**Las subpoblaciones celulares medidas por citometría podrían ser biomarcadores útiles para predecir la respuesta a los tratamientos biológicos en enfermedades autoinmunes**

# Perfil asociado con la respuesta óptima a IFN-beta en EM




R Alenda et al.
J Neurol 2018

# Cambios asociados a la respuesta óptima a DMF




S Medina et al. Mult Scler J 2018

# Búsqueda de biomarcadores que predigan la respuesta a i-TNF en AR

**Objetivo principal:**

- Analizar si el perfil de células inmunológicas sanguíneas de los pacientes con AR que inician tratamiento con i-TNF podría ayudar a identificar qué pacientes no alcanzan la REM tras esta terapia biológica.

**Trabajo colaborativo:**

- Unidades de reumatología e inmunología de HURYC y HULP.

# Diseño del estudio

- Estudio observacional, prospectivo, longitudinal.
- **98 pacientes con AR** diagnosticada según criterios de ACR 1987 modificados, incluidos de manera consecutiva.
- **Monitorización de actividad clínica:** DAS28 basal y 6 meses tras iniciar la terapia con i-TNF.
- **Objetivo:** Identificar a los pacientes en remisión medida por DAS28 >2,6.

# Pacientes

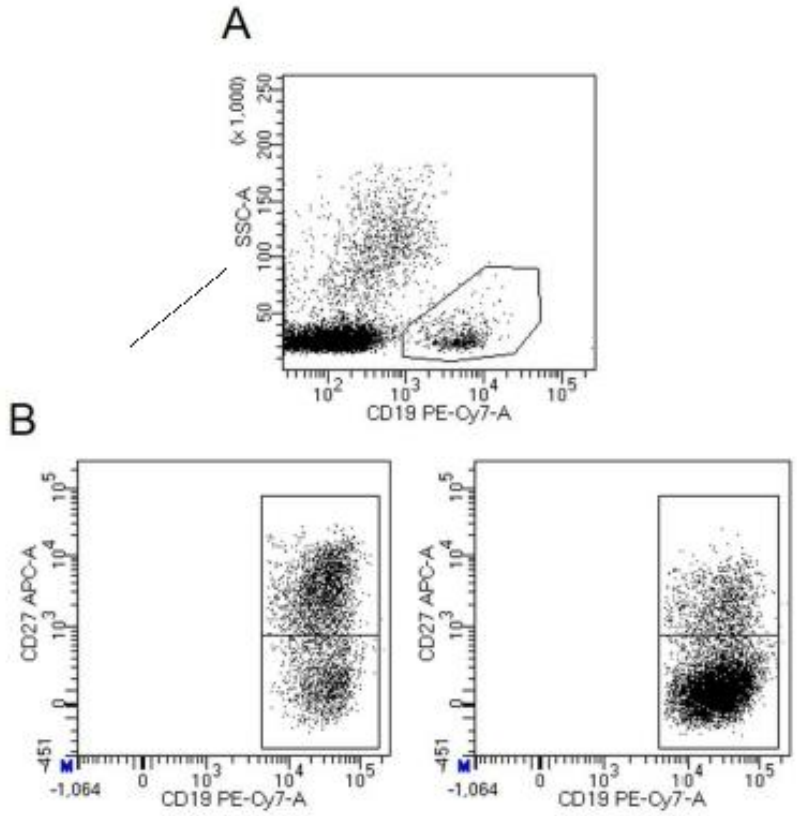
- **Criterios inclusión**:
  - Adultos >18 años.
  - Enfermedad activa: DAS28>3,2 a pesar de tto previo con FAMEs o i-TNF.

- **Criterios exclusión:**
  - Pacientes previamente tratados con biológicos con diferente mecanismo de acción: anti-CD20, análogo del CTLA4 o anti-IL6.

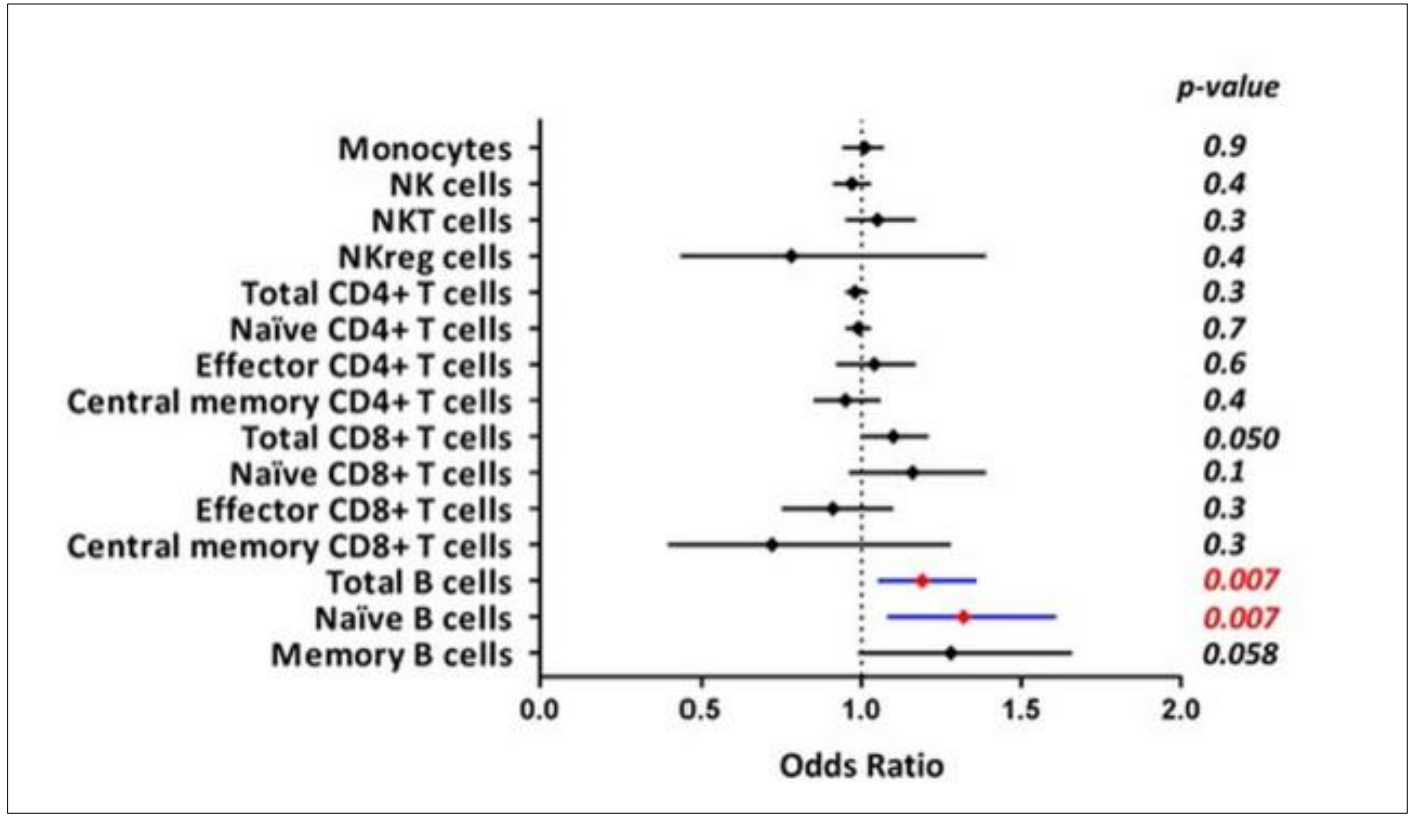
# Resultados de las subpoblaciones leucocitarias

| Effector and memory subsets | Percentages | | | Absolute numbers | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Non-REM n=38 Mdn(IQR) | REM n=60 Mdn(IQR) | p | Non-REM n=38 Mdn(IQR) | REM n=60 Mdn(IQR) | p |
| **CD4+T cells** | 46.3(35.9-56.5) | 43.5 (27.6-54.1) | 0.2 | 974 (686-1495) | 763 (514-1046) | *0.03* |
| Naïve | 22.6 (10.1-33.6) | 20.3 (7.6-30.7) | *0.4* | 434 (210-800) | 341 (131-617) | *0.2* |
| Central memory | 14.2 (11.8-18.7) | 14.1 (11.1-18.4) | *0.7* | 323 (233-421) | 293 (189-355) | *0.1* |
| Effector memory | 3.6 (1.1-7.5) | 5.1 (2.0-7.0) | *0.8* | 72 (19-190) | 98 (33-121) | *0.3* |
| Terminally differentiated | 2.1 (0.8-4.3) | 2.9 (0.6-5.3) | *0.9* | 55 (15-106) | 61 (10-107) | *0.9* |
| **CD8+T cells** | 12.5 (8.7-17.4) | 14.1 (10.5-18.0) | *0.3* | 274 (180-437) | 259 (175-392) | *0.8* |
| Naïve | 3.8 (6.4-2.5) | 2.6 (3.8-6.3) | *0.6* | 89 (49-173) | 67 (44-132) | *0.4* |
| Central memory | 1.2 (0.8-1.9) | 1.3 (0.8-1.8) | *0.7* | 25 (17-39) | 24 (12-38) | *0.3* |
| Effector memory | 2.4 (1.2-5.1) | 2.5 (1.3-4.2) | *0.9* | 85 (44-161) | 90 (51-122) | *0.6* |
| Terminally differentiated | 3.0 (1.9-5.4) | 3.0 (2.1-5.4) | *0.3* | 56 (36-144) | 65 (35-122) | *0.6* |
| **NKT cells** | 3.6 (2.0-6.2) | 4.4 (2.8-7.5) | *0.9* | 79 (50-126) | 73 (53-163) | *0.7* |
| **NK cells** | 11.9 (7.3-16.2) | 10.6 (6.0-16.8) | *0.5* | 236 (157-364) | 170 (116-365) | *0.2* |
| **NK regulatory cells** | 0.7 (0.3-1.1) | 0.6 (0.3-1.2) | *0.9* | 15 (8-26) | 13 (6-22) | *0.4* |
| **CD19+ B cells** | **4.0 (2.8-6.8)** | **5.8 (4.0-9.5)** | ***0.02*** | 84 (57-164) | 111 (80-186) | *0.1* |
| Naïve B cells | **3.4 (2.0-5.4)** | **4.4 (3.1-6.5)** | ***0.03*** | 67 (45-142) | 86 (53-149) | *0.1* |
| Memory B cells | 0.9 (0.6-1.3) | 1.1 (0.7-2.1) | *0.4* | 19 (11-37) | 17 (14-36) | *0.9* |
| **Monocytes** | 6.7 (3.8-10.6) | 8.3 (5.1-13.1) | *0.5* | 171 (77-265) | 145 (88-261) | *0.9* |

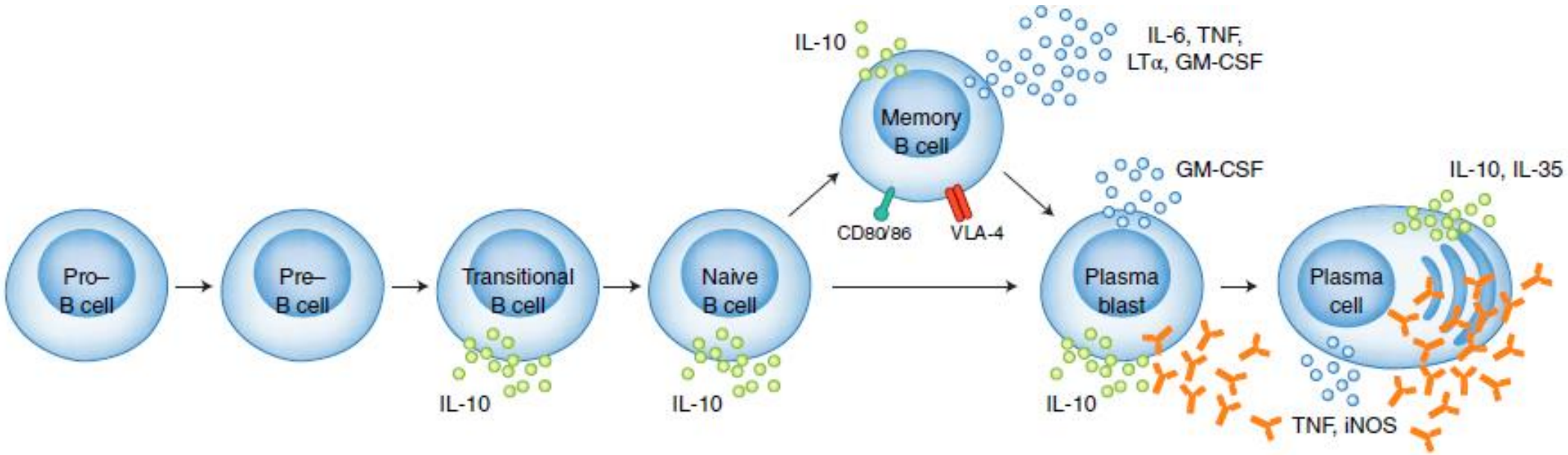
# Resultados




No REM REM

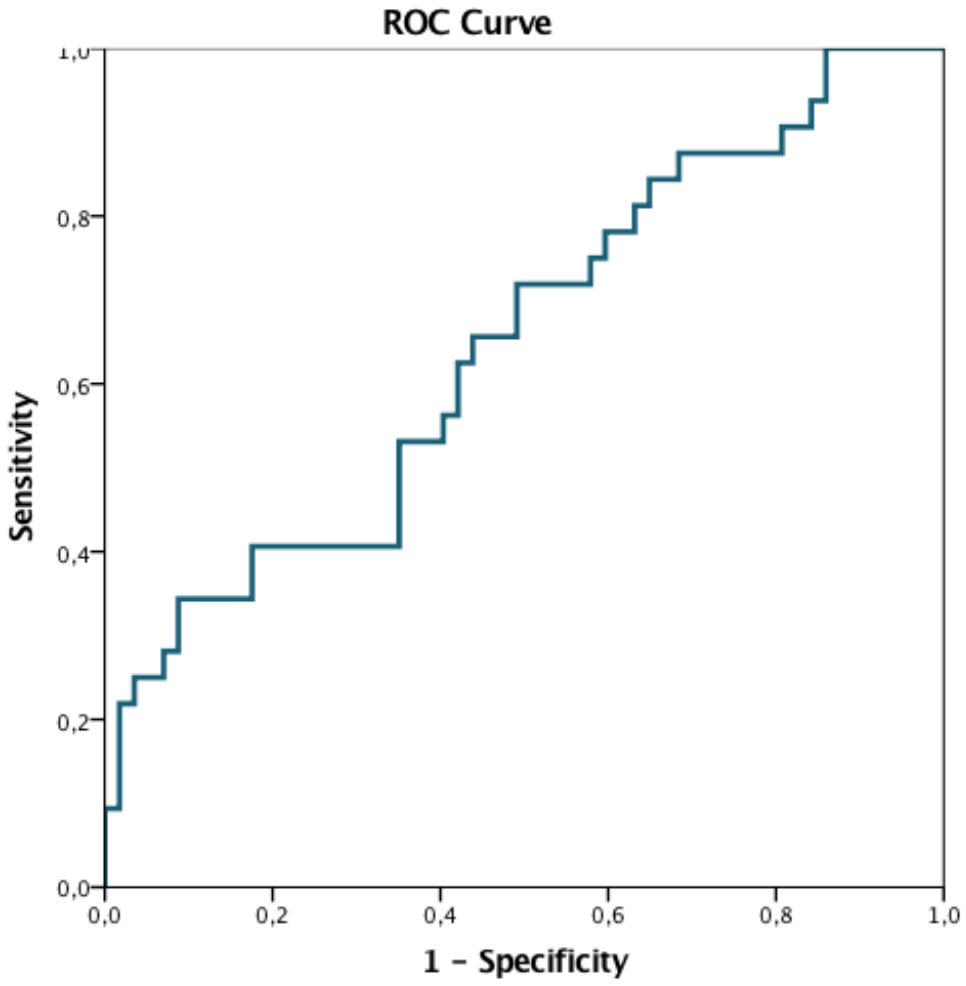


# Papel de las distintas subpoblaciones B




RM Filippi et al. N at Rev Dis Prim 2018

# La ratio B/CD4 predice la respuesta a i-TNF




**Área debajo de la curva (AUC):**

0.651

p=0.015

| Análisis multivariante | OR | 95% IC | p |
|---|---|---|---|
| **RF positive** | **7.1** | 1.1-47.9 | **0.044** |
| **ACPA positive** | 1.9 | 0.3-14.5 | 0.524 |
| **Baseline B/CD4+ ratio>0.2** | **7.4** | **1.7-32.1** | **0.007** |

# Conclusiones

Nuestros resultados sugieren que la probabilidad de una respuesta óptima a i-TNF se asocia con:

- Un mayor porcentaje de células B (totales y näive) basales
- Un menor número absoluto de células TCD4+ totales basales
- Una mayor ratio LB/CD4+ totales en el momento basal.

# Gracias por su atención