



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Factores de riesgo cardiovascular en una gran cohorte de pacientes con enfermedades inflamatorias mediadas por mecanismos inmunes en la población española

Pedro Pablo Perrotti

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

TESIS DOCTORAL

**FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN UNA
GRAN COHORTE DE PACIENTES CON ENFERMEDADES
INFLAMATORIAS MEDIADAS POR MECANISMOS
INMUNES EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA**

Tesis doctoral presentada por Pedro Pablo Perrotti,

Licenciado en Medicina y Cirugía, por la que opta al grado de Doctor en Medicina

Directores de la Tesis Doctoral

Prof. Sara Marsal Barril

Dr. Benjamín Fernández-Gutiérrez



Sara Marsal Barril, Profesora asociada del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona y Jefe de Sección de Reumatología del Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

Benjamín Fernández-Gutiérrez, Director de la Unidad de Gestión Clínica de Reumatología del Hospital Clínico San Carlos, Madrid

Juan de Dios Cañete Crespillo, Consultor Senior de la Unidad de Artritis del Servicio de Reumatología del Hospital Clínico de Barcelona

CERTIFICAN

Que el trabajo titulado “ Factores de riesgo cardiovascular en una gran cohorte de pacientes con enfermedades inflamatorias mediadas por mecanismos inmunes en la población española ” realizado por el licenciado en Medicina y Cirugía y especialista en Medicina Interna **Pedro Pablo Perrotti** y dirigida por los firmantes, reúne todos los requisitos científicos y formales para su lectura y defensa como tesis para acceder al grado de Doctor en Medicina.

Para que conste a todos los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Barcelona, a 17 de mayo del 2018

Sara Marsal Barril



Benjamín Fernández-Gutiérrez



Juan de Dios Cañete Crespillo



“...El futuro tiene muchos nombres, para los débiles es lo inalcanzable, para los temerosos lo desconocido, para los valientes es la oportunidad...”

Víctor Hugo

AGRADECIMIENTOS

A la hora de los agradecimientos, los antiguos griegos eran muy sabios y demasiado sobrios en saber interpretar su verdadera importancia, pues decían que, “el único exceso permitido al hombre, es el de ser agradecido...”

En esa línea, debo expresar y reconocer previo a todo, que la realización y concreción de la presente Tesis Doctoral, no hubiera sido posible sin el inestimable apoyo y la colaboración activa de un innumerable grupo de personas, las que de una u otra manera han contribuido a la culminación de este trabajo. A todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

A los directores de la tesis, en especial a la Profesora Sara Marsal, ya que sin su guía académico-científica, este trabajo no hubiera sido posible realizar. Gracias por su apoyo, consejos, motivación y paciencia durante estos duros años de trabajo, ha sido un generoso privilegio el haber trabajado bajo su tutela. Gracias profundas a usted y a su familia por hacerme sentir tan cómodo en su casa.

Al Dr. Benjamín Fernández por su orientación en este proyecto, lo que me ha permitido aprender a trabajar de forma colaborativa y multidisciplinar.

Agradezco la dedicación y enseñanzas de Toni Julià, así como de Adrià Aterido y su colaboración en la realización de los estudios genéticos, análisis estadísticos y en la redacción de los artículos. A Raül Tortosa, por su gran profesionalidad y experiencia en la coordinación del IMID-Biobank.

Mi gratitud a todo el *Grup de Recerca de Reumatologia del Institut de Recerca del Hospital Universitari Vall d'Hebron* y a todo el *Servei de Reumatologia del Hospital Universitari Vall d'Hebron* en particular a María López, a Elena Granell, a Isabel Acosta, a Gabriela Ávila y a Carolina Díaz. Gracias por el apoyo y cálido compañerismo durante todos estos años. Gracias a Ana García, a Salvador Campos y a Carlos Cazalla por su constante estímulo y las valiosas enseñanzas durante estos años.

A todos los pacientes que han participado de forma desinteresada en este estudio y en la creación del IMID-Biobank. Sin su participación y su confianza este proyecto de tesis doctoral no hubiera sido posible. Así como también a todo el equipo humano que participó en el

proyecto IMID-Kit, los investigadores reumatólogos colaboradores y a los residentes de reumatología de cada centro participante.

Agradezco de forma muy especial a todos aquellos amigo/as que desde aquel verano del 2009 esta grandiosa ciudad me ha sabido regalar y con aquellos con los que he podido compartir piso, viajes, aventuras...etc y que han sido parte de mi familia todos estos años. A los demás amigos que a pesar de las distancias y ausencias siempre han estado, gracias.

A Olga, mi compañera de vida, por su complicidad, su incondicional apoyo e infinita paciencia para acompañarme siempre y ayudarme a finalizar esta etapa. Sin ella, nada de esto hubiera sido posible. Gracias por el apoyo también de su familia.

A toda mi familia, en especial a mis padres que supieron estimularme para perseguir mis sueños, aunque eso haya significado tenerme lejos. A ellos, gracias por enseñarme los valores de la vida y por confiar en mí.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1. Enfermedades inflamatorias mediadas por inmunidad (IMID) | |
| 1.1. Concepto | 15 |
| 1.2. Epidemiología | 17 |
| 1.3. Etiología | 20 |
| 1.3.1 <i>Loci</i> de susceptibilidad en las <i>IMID</i> | 22 |
| 2. Enfermedad cardiovascular | |
| 2.1. Concepto | 26 |
| 2.2. Factores de riesgo cardiovascular (FRCV) | 29 |
| 2.2.1. Factores de riesgo cardiovascular no genéticos | 31 |
| 2.2.2. Factores de riesgo cardiovascular genéticos | 38 |
| 3. Enfermedad cardiovascular (ECV) en las <i>IMID</i> | |
| 3.1. Generalidades | 43 |
| 3.2. Factores de riesgo cardiovascular no genéticos | 48 |
| 3.3. Factores de riesgo cardiovascular genéticos | 51 |
| HIPÓTESIS | 55 |
| OBJETIVOS | 59 |
| 1. Objetivos primarios | 61 |
| 2. Objetivos secundarios | 61 |
| RESULTADOS | 63 |
| 1. Trabajo 1 | |
| 1.1. Resumen de la metodología | 65 |
| 1.2. Resumen de los resultados | 67 |
| 2. Trabajo 2 | |
| 2.1. Resumen de la metodología | 79 |
| 2.2. Resumen de los resultados | 82 |

| | |
|---|-----|
| DISCUSIÓN CONJUNTA | 101 |
| 1. Factores de riesgo cardiovascular no genéticos en las <i>IMID</i> | 104 |
| 2. Enfermedad cardiovascular en las <i>IMID</i> | 106 |
| 3. Factores de riesgo cardiovascular genéticos en las <i>IMID</i> | 108 |
| 4. Patrones genéticos de riesgo cardiovascular en las <i>IMID</i> | 110 |
| 5. Limitaciones del estudio | 112 |
| CONCLUSIONES | 113 |
| BIBLIOGRAFÍA | 117 |

Lista de abreviaturas

| | |
|---------------|--|
| IMID | Enfermedades Inflammatorias Mediadas por Inmunidad |
| FRCV | Factores de riesgo cardiovascular |
| ECV | Enfermedad cardiovascular |
| AR | Artritis reumatoide |
| LES | Lupus eritematoso sistémico |
| Ps | Psoriasis |
| APs | Artritis Psoriásica |
| EII | Enfermedad Inflamatoria Intestinal |
| CU | Colitis Ulcerosa |
| EC | Enfermedad de Crohn |
| TNF- α | <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> |
| IL | <i>Interleukin</i> |
| IFN- γ | <i>Interferon γ</i> |
| TGF- β | <i>Transforming Growth Factor β</i> |
| Th1 | Linfocitos T cooperadores |
| LB | Linfocitos B |
| FAMEs | Fármacos Modificadores de la Enfermedad |
| HLA | <i>Human Leukocyte Antigen</i> |
| CASPAR | <i>Classification Criteria for Psoriatic Arthritis</i> |
| GWAS | <i>Genome Wide-Association Study</i> |
| MCH | <i>Major Histocompatibility Complex</i> |
| IAM | Infarto Agudo de Miocardio |
| EAP | Enfermedad Arterial Periférica |
| ACV | Accidente Cerebrovascular |
| TIA | Trastorno Isquémico Agudo |

| | |
|----------|--|
| SLEDAI | <i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i> |
| EULAR | <i>European League Against Rheumatism</i> |
| HTA | Hipertensión Arterial |
| DM | Diabetes Mellitus |
| DL | Dislipemia |
| IMC | Índice de Masa Corporal |
| SCA | Síndromes Coronarios Agudos |
| SNP | <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> |
| CI | Cardiopatía Isquémica |
| GC | Glucocorticosteroides |
| VLDL | <i>Very Low-Density Lipoproteins</i> |
| LDL | <i>Low-Density Lipoproteins</i> |
| HDL | <i>High-Density Lipoproteins</i> |
| Anti-CCP | Anticuerpos anti-Péptido Cíclico Citrulinado |
| FR | Factor Reumatoide |
| AAF | Anticuerpos Antifosfolípidos |
| SAF | Síndrome Antifosfolípido |
| IRF8 | <i>Interferon Regulatory Factor 8</i> |
| EAC | Enfermedad Arterial Coronaria |
| ACR | <i>American College of Rheumatology</i> |

INTRODUCCIÓN

1.- Enfermedades inflamatorias mediadas por inmunidad

1.1.- Concepto

Las enfermedades inflamatorias mediadas por inmunidad (*Immune Mediated Inflammatory Diseases, IMIDs*) son un conjunto de enfermedades inflamatorias crónicas, de etiología desconocida que comparten una serie de características fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas. Afectan de forma preferente a la población laboralmente activa y sin un tratamiento adecuado en las fases más iniciales de la enfermedad producen una marcada discapacidad y un elevado gasto sanitario ¹.

El concepto *IMIDs* engloba a un número relativamente elevado de enfermedades (i.e. asma, enfermedades alérgicas, esclerosis múltiple,...etc.) pero en general el término hace referencia a un subgrupo más homogéneo en función de la clínica y el tratamiento inmunosupresor. Las enfermedades más representativas que comprenden este grupo de enfermedades *IMID* son: la artritis reumatoide (AR), el lupus eritematoso sistémico (LES), la psoriasis (Ps), la artritis psoriásica (APs), la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC).

Hace más de dos décadas que los investigadores descubrieron que la desregulación de determinadas citoquinas era fundamental en la patogénesis de las *IMIDs*. Si bien estas moléculas son conocidas por ser mediadores indispensables en la función normal del sistema inmune, un desequilibrio en su regulación puede conducir a un proceso inflamatorio crónico. Comúnmente las *IMIDs* se asocian a una relativa sobreexpresión de determinadas citoquinas pro-inflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor alpha, TNF- α*), la interleuquina 1 (*Interleukin 1, IL1*) o la interleuquina 6 (*IL6*), entre otras. Sin embargo, una baja expresión de citoquinas de acción anti-inflamatoria puede ser de igual importancia en la patogénesis de la enfermedad, por ejemplo, la interleuquina 10 (*IL10*) ^{1,2}.

Las citoquinas inmunomoduladoras son producidas por diversos tipos de células y a pesar del papel fundamental de los linfocitos es preciso la participación de otros tipos celulares como los monocitos, macrófagos y células dendríticas, entre otras. Los linfocitos T CD4+ se pueden diferenciar por el tipo de citoquinas que producen: los linfocitos T cooperadores 1 (*T helper cells, Th1*) que producen fundamentalmente interferón- γ , *TNF- α* e *IL2*; los *Th2* que colaboran en la activación de los linfocitos B y producen principalmente *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL10* e *IL13*; los *Th3* que sintetizan el factor de crecimiento transformante beta (*Transforming Growth Factor β* ,

TGF- β), *IL4* e *IL10* y los *Th17* que producen fundamentalmente *IL17*, *IL21* e *IL22*. Se ha demostrado recientemente que esta última subpoblación de linfocitos T denominada *Th17*, es altamente patogénica y contribuye al desarrollo de la inflamación crónica y a los fenómenos de autoinmunidad.

El papel de los linfocitos B (LB) no es menos importante en la patogenia de las *IMIDs*. Desde hace muchos años, la asociación se centraba en la capacidad de estas células para producir anticuerpos. Sin embargo ahora se conoce que los LB tienen también funciones mucho más amplias en el sistema inmune, incluyendo la activación de las células T, la síntesis de citoquinas, la regulación de la arquitectura linfoide y el mantenimiento de la tolerancia. Actualmente existen numerosas evidencias que indican que la disrupción de estos procesos en los que el LB tiene un papel importante también puede conducir al desarrollo de enfermedades de etiología autoinmune ¹⁻³.

El avance en el conocimiento de la fisiopatología de las *IMIDs* y el papel fundamental de determinadas citoquinas y receptores ha facilitado el desarrollo de nuevas terapias biológicas que bloquean estas citoquinas de forma directa o a través de sus receptores. Estas nuevas terapias han supuesto un gran avance en la estrategia terapéutica de estas enfermedades, de tal forma que el pronóstico a corto y largo plazo de estos pacientes ha mejorado de forma sustancial ^{1,4,5}.

Tradicionalmente, estos pacientes recibían una terapia con fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad, los denominados FAMES, como el metotrexato, la leflunomida, la salazopirina, las sales de oro, ...etc. La estrategia de tratamiento se basaba en el uso escalonado de los mismos y en la mayoría de ocasiones estos debían ser retirados por falta de eficacia o por la presencia de efectos adversos. El desarrollo de los agentes biológicos previamente mencionados ha cambiado esta estrategia de tratamiento de una forma radical y han conseguido mejorar el pronóstico y la calidad de vida de estos pacientes tanto en el ámbito personal, social y laboral ^{4,5}.

El grupo de terapias biológicas que se utiliza para el tratamiento de las enfermedades *IMID* pueden dividirse en: fármacos de acción anti-*TNF- α* (i.e. infliximab, etanercept, adalimumab, certolizumab y golimumab) y fármacos de acción no anti-*TNF- α* (i.e. rituximab, abatacept y tocilizumab, entre otros). Así mismo, existen otras terapias biológicas que son más específicas para cada una de las *IMIDs*, como por ejemplo el ustekinumab, anticuerpo monoclonal

aprobado por la Agencia de Alimentos y Medicamentos (*Food and Drug Administration*, FDA) en el año 2009 que inhibe la acción de las *IL12* e *IL23* y que está indicado para el tratamiento de la psoriasis moderada a grave y la artritis psoriásica ⁵⁻⁷. Recientemente ha sido también aprobado el secukinumab, anticuerpo monoclonal que se une selectivamente y neutraliza la *IL17*, para el tratamiento de la Ps, la APs y la espondilitis anquilosante.

Estos fármacos han demostrado tener un buen perfil de seguridad y tolerabilidad. Los principales efectos adversos son las reacciones asociadas a la perfusión o en la zona de inyección, y las infecciones. Son tratamientos muy eficaces aunque se describen respuestas iniciales inadecuadas en un determinado grupo de pacientes. En la AR por ejemplo, se ha descrito que hasta un 30-40% de los pacientes tienen una respuesta inicial inadecuada lo que obliga a retirar el tratamiento ⁸. Sin embargo, una de las limitaciones más importantes en el uso de estas terapias biológicas, es debida a su elevado coste económico lo que supone una dificultad para su acceso en países menos desarrollados, y sobre todo teniendo en cuenta que en estos pacientes se requiere el tratamiento de por vida ^{7,9,10}.

Tal y como se ha comentado previamente, las enfermedades *IMID* comparten unas determinadas estrategias de tratamiento que en parte es lo que las agrupa, como es el uso de fármacos inmunosupresores y también de terapias biológicas. Sin embargo, además del uso común de estos fármacos, todas ellas comparten un objetivo terapéutico común que consiste en alcanzar el control máximo de la actividad inflamatoria y en la medida de lo posible la remisión clínica. De esta forma se consigue prevenir el daño tisular irreversible y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

1.2.- Epidemiología

La prevalencia mundial de las enfermedades *IMID* no está bien definida, pero de forma aproximada se describe entre un 5 a 7% para las *IMIDs* de referencia del presente proyecto. Son enfermedades que afectan a todas las razas y de distribución altamente homogénea, excepto con algunas peculiaridades que después comentaremos ^{1,11}. Mientras que algunas *IMIDs*, tales como la psoriasis, tienen una prevalencia similar entre los varones y las mujeres, otras, como la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico, son mucho más prevalentes entre las mujeres. En relación a estas diferencias entre géneros, se postulan dos teorías. La

primera, incide en el papel que las hormonas sexuales femeninas pueden tener sobre la inflamación mediada inmunológicamente, y la segunda se basa en el fenómeno denominado “microquimerismo fetal” que hace referencia al intercambio de células entre madre e hijo con un posible rol etiopatogénico.

La **artritis reumatoide** (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica, sistémica y autoinmune, que se caracteriza por una poliartritis simétrica erosiva que afecta de forma preferente a las articulaciones diartrodiales y que puede presentar manifestaciones extraarticulares ¹². Predomina en el género femenino con una relación mujer/varón de 3/1 y tiene un pico de incidencia máximo entre los 40 y 50 años de edad, aunque en los varones se presenta en edades más avanzadas ¹³. Es la artropatía inflamatoria crónica más común en todo el mundo, con una prevalencia que se sitúa entre el 0,5-2% en los países industrializados según los estudios de epidemiología realizados tanto en los países de Europa como en los países de América del Norte. Tiene una prevalencia aproximada del 1% de la población adulta en España ¹⁴ y una incidencia de 20 a 50 casos por 100.000 habitantes al año y solamente en los Estados Unidos genera un gasto sanitario anual que supera los 30 billones de dólares ¹⁵.

El **lupus eritematoso sistémico** (LES) es un trastorno autoinmune sistémico que se asocia a depósitos de inmuno-complejos, producción de autoanticuerpos y que comparte muchas de las características de las *IMIDs*, pero su tratamiento difiere en cierta medida. Se caracteriza por un curso clínico con períodos de actividad y remisión. Afecta principalmente y de forma característica a mujeres en edad fértil con una relación mujer/varón de 10/1 ¹⁶. Existen variaciones raciales, de manera que se ha descrito un aumento de la prevalencia en las personas de origen africano, hispano o de ascendencia asiática, a la vez que también se ha descrito la presencia de formas más graves entre estas poblaciones ¹⁷. Los diversos estudios sobre la prevalencia e incidencia del LES expresan cifras muy variadas, aunque de forma general se acepta que la prevalencia estimada en la población europea se sitúa entre el 0,1 y el 0,6%. En la población española algunos estudios describen cifras de prevalencia del 0,2% con una incidencia de 1 a 25 casos por 100.000 habitantes al año ¹⁸, mientras que los resultados del estudio EPISER (Estudio de Prevalencia de las Enfermedades Reumáticas en la Población Española) estiman una prevalencia de 9 casos por 10.000 habitantes al año ¹⁹.

La **psoriasis** (Ps) es un trastorno inflamatorio cutáneo crónico que a pesar de haber sido considerada durante décadas una enfermedad banal, es preciso destacar que más de un tercio de

los pacientes tienen formas graves de la enfermedad y en muchos casos conlleva asociada una elevada morbilidad y un elevado impacto social ²⁰. Se presenta con una distribución muy homogénea, afectando de igual manera a ambos géneros y puede ocurrir a cualquier edad ²¹. No obstante se describen 2 picos de edad de mayor incidencia, entre los 15 y los 25 años y entre los 50 y los 60 años. Así, *Henseler y Christophers* describieron en su serie de 2.147 pacientes ambas formas de presentación y establecieron dos tipos bien definidos. La psoriasis de tipo I con un inicio antes de los 40 años, los pacientes suelen tener antecedentes familiares de psoriasis, y existe una mayor asociación con el alelo HLA-Cw6. En general se trata de una forma más grave y con un mayor impacto psicológico. Mientras que la psoriasis tipo II se presenta con mayor frecuencia después de los 40 años, suelen ser formas más leves, existe una menor agregación familiar y la asociación con el alelo HLA-Cw6 es menor ²². Afecta al 3-5% de la población mundial y se estima una prevalencia en nuestro país del 2,3% habiendo aumentado casi en 1% en los últimos 15 años ²³. La incidencia en España está menos estudiada pero se ha descrito una incidencia en Estados Unidos de 150.000 casos nuevos al año y en el Reino Unido, de 14 por 10.000 personas al año.

La **artritis psoriásica** (APs) es una enfermedad inflamatoria musculoesquelética crónica que se presenta en pacientes con Ps o con antecedentes familiares de Ps. Se puede presentar a cualquier edad aunque se han descrito dos picos de incidencia máxima, entre los 15-20 años y los 55-60 años. En relación a la distribución por géneros, existe un ligero predominio de varones en las formas axiales y de mujeres en las formas periféricas. La afectación articular viene precedida en un 85% de los casos por las lesiones cutáneas de Ps, mientras que el 5-10% de los pacientes desarrollan ambas condiciones de forma simultánea ²⁴. Tiene una prevalencia en la población general que varía del 0,3% al 1% ²⁵. Sin embargo en pacientes con psoriasis oscila entre un 7 a 40% según las diferentes series. Así, *Julia et al* describieron en su cohorte de pacientes con psoriasis vulgar que sólo el 12% de los casos tenían diagnóstico de APs, prevalencia similar a la estimada en las poblaciones del Reino Unido y de los Estados Unidos (13,8% y 11% respectivamente) ²⁶. Se estima una incidencia de 23 casos por 100.000 habitantes al año. Los estudios epidemiológicos sobre la APs se han visto obstaculizados por la ausencia de criterios de clasificación ampliamente aceptados. En este sentido, el reciente desarrollo de los nuevos criterios de clasificación para la APs (*Classification Criteria for Psoriatic Arthritis, CASPAR*), con una alta sensibilidad y especificidad, ha proporcionado un marco más sólido para la realización de estudios epidemiológicos en esta patología ²⁷.

Las **enfermedades inflamatorias intestinales** (EII) son un grupo heterogéneo de enfermedades inflamatorias crónicas que afectan el tracto gastrointestinal aunque con potencial desarrollo de manifestaciones sistémicas, así *Veloso et al* en su cohorte de 792 pacientes con EII observaron entre un 12% a 30% de manifestaciones extraintestinales durante un seguimiento de 20 años²⁸. Las EII más frecuentes son la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC). Afectan por igual a varones y mujeres aunque la mayoría de los estudios demuestran un ligero predominio del género masculino en los pacientes con CU (60%) mientras que la EC afecta un 20% a 30% mas frecuentemente en mujeres^{29,30}. Se pueden presentar a cualquier edad aunque en la mayoría de los casos se manifiestan entre la segunda y tercera décadas de la vida. Es más frecuente en la raza caucásica (especialmente entre los judíos) y predomina en países industrializados, latitudes nórdicas y áreas urbanas^{31,32}. La prevalencia global se sitúa alrededor de un 0,4% de la población general. Recientemente, el estudio EpiCom (*Epidemiological Committee*) describió, en países occidentales, una incidencia global para la CU de 8,2 por 100.000 habitantes al año y de 5,4 por 100.000 habitantes al año para la EC³³, mientras que las cifras de incidencia en los estudios realizados en España objetivan resultados variados siendo por ejemplo en la Comunidad de Galicia de 9 por 100.000 habitantes al año para la CU y de 10,2 por 100.000 habitantes al año para la EC³³.

Las enfermedades *IMID* son enfermedades inflamatorias crónicas, que afectan a un sector de la población laboralmente activo, produciendo un impacto negativo sobre la calidad de vida de los pacientes al limitar de forma importante las actividades de la vida diaria. Sin un tratamiento adecuado, todas ellas causan una gran discapacidad, con pérdida de la actividad laboral lo que genera graves consecuencias tanto para los propios pacientes y sus familiares, como para el sistema de salud.

1.3.- Etiología

La **AR** al igual que el resto de las *IMID* es una enfermedad compleja, de etiología desconocida, en la que intervienen múltiples factores ambientales y genéticos que confieren susceptibilidad en un determinado sujeto a desarrollar la enfermedad. La contribución de cualquiera de estos factores es necesaria pero no suficiente para la expresión de la enfermedad. Existen numerosos factores ambientales que se han asociado con un mayor riesgo para desarrollar una AR como el género femenino, el tabaco, la exposición al sílice, las infecciones, el consumo de alcohol, la

dieta y la periodontitis, entre otros ^{34,35}. En contrapartida, algunas publicaciones han descrito un efecto protector para el desarrollo de AR en algunos de ellos, tales como el consumo de alcohol o la ingesta de ciertos ácidos grasos ³⁶. El tabaquismo, en particular, es la asociación más robusta conocida en pacientes con AR. Así, se ha observado que la AR se inicia a edades más tempranas en sujetos fumadores que en sujetos no fumadores ³⁷. Desde hace una década que *Klareskog et al* han introducido nuevos conocimientos sobre la etiopatogenia de la AR. Así, observaron que la presencia del epítipo compartido (EC) en una molécula HLA de clase II (*Human Leukocyte Antigen, HLA*) confiere susceptibilidad de desarrollar AR solo en el subgrupo de los pacientes con anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP) positivos y que esta restricción también se aplica al hábito tabáquico ³⁸.

El **LES** es también una enfermedad compleja en la que intervienen múltiples factores genéticos y ambientales, en el que las hormonas sexuales tienen un importante papel debido a que es una enfermedad que afecta a mujeres en edad fértil lo que hace prever un rol de los estrógenos en su patogenia ³⁹. El hecho de que la enfermedad sea más prevalente en el género femenino, podría sugerir un papel del cromosoma X en su desarrollo ⁴⁰. No se ha podido identificar un factor ambiental tan fuertemente asociado al LES como el tabaco a la AR. De todas formas, se han descrito algunos factores ambientales como determinados agentes mutagénicos (luz ultravioleta), infecciones víricas (virus de *Epstein-Bar*), la dieta, el estilo de vida y medicamentos (>100 descritos en asociación con el lupus inducido por fármacos), entre otros ⁴¹. En relación a la luz del sol, es bien conocido su rol como factor que más claramente agrava el LES, a pesar de haberse descrito otros factores como la sílice cristalina y la exposición laboral al mercurio ⁴².

La **Ps** y la **APs** son dos enfermedades relacionadas entre sí que comparten un similar mecanismo patogénico y en las que el impacto psicosocial que generan y las comorbilidades asociadas suelen estar subestimadas ⁴³. Al igual que el resto de las *IMID*, la interacción de factores ambientales y traumáticos que actúan sobre individuos genéticamente predispuestos juegan un rol primordial en su desarrollo. Si bien no se conoce el factor ambiental causante del desencadenamiento de prácticamente ninguna enfermedad autoinmunitaria, en muchos casos los microorganismos se postulan como un posible factor causal. En este sentido, se ha observado en pacientes con Ps un aumento de linfocitos T específicos del *estreptococo β-hemolítico* y se ha propuesto que podría existir reactividad cruzada entre estos antígenos (Ag) y los presentes en la piel. Otros factores desencadenantes incluyen los traumatismos (fenómeno

de Koebner), los fármacos, la retirada rápida de drogas inmunosupresoras, entre otros ⁴⁴. En la APs se ha propuesto algún factor vírico ⁴⁵, aunque no se ha encontrado aún el factor ambiental causante del desarrollo de la enfermedad.

La etiología tanto de la **EC** como de la **CU** es desconocida, pero al igual que las *IMID* previas se acepta que son enfermedades complejas, en las que una serie de factores ambientales inciden en individuos genéticamente predispuestos ⁴⁶. La flora intestinal y el tabaco son los factores ambientales más frecuentemente asociados al desarrollo de EII ³⁰. La relación con el hábito tabáquico es controvertida, ya que se ha demostrado que es un factor protector en la colitis ulcerosa y en cambio favorece el desarrollo de la enfermedad de Crohn ^{47,48}. En relación a la flora intestinal, se ha implicado a distintos microorganismos en el desarrollo de la EII, como por ejemplo al *Mycobacterium avium paratuberculosis* y más recientemente a diferentes tipos de bacterias como las del género *Yersinia*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Chlamydia*, *Proteus*, *Pseudomona* y *Shigella*, y algunos virus como los *Cytomegalovirus*, los *Herpes simplex*, los *Paramixovirus*, entre otros, aunque los estudios publicados describen resultados contradictorios ⁴⁹⁻⁵¹.

1.3.1.- *Loci* de susceptibilidad en las *IMID*

Tal y como se ha comentado previamente las *IMID* son enfermedades complejas en donde existe una fuerte interacción entre el genoma y el medio ambiente. La investigación de las variaciones genéticas que determinan la susceptibilidad a desarrollar una enfermedad compleja está basada en varias estrategias como son el estudio de la concordancia (estudios en gemelos), el estudio de prevalencias (*lambda sibling*), el estudio de la heredabilidad y finalmente la estrategia del gen candidato y los estudios de asociación de genoma completo (*Genome Wide Association Study, GWAS*) ⁵².

Un gran número de la variación genética asociada con la susceptibilidad a las enfermedades autoinmunes implica genes asociados con la respuesta inmune innata y adaptativa. En particular, estos incluyen la variación en las vías de las citoquinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (*TNF- α*) y el interferón- γ (*IFN- γ*) ⁵³.

La identificación de numerosos *loci* que predisponen a distintas enfermedades a través de los GWAS ha aumentado en los últimos años. Una revisión de más de 30 estudios genéticos realizada por *Zhernakova et al* ha puesto de manifiesto que existen factores genéticos

compartidos entre las enfermedades *IMID* lo que sugiere posibles procesos comunes etiológicos⁵⁴. En la actualidad y debido al mayor conocimiento de las diferentes enfermedades, se han identificado más de 350 *loci* de riesgo que confieren susceptibilidad para desarrollar alguna de estas *IMIDs*⁵⁵⁻⁵⁹.

La **AR** tiene un fuerte componente genético. La heredabilidad estimada es del 40-65% en pacientes seropositivos y solamente del 20% en pacientes con AR seronegativa⁶⁰. Existe además evidencia de una agregación familiar con una prevalencia de hasta el 12% en familiares de primer grado de pacientes con AR. Hasta la fecha se han descrito más de 100 *loci* de riesgo que confieren susceptibilidad para desarrollar la enfermedad, muchos de ellos implicados en mecanismos inmunes, y algunos compartidos con otras enfermedades inflamatorias crónicas⁵⁶. La mayoría de los genes implicados en la predisposición al desarrollo de la AR, así como a otras *IMIDs*, se encuentran en la región genética denominada Complejo Mayor de Histocompatibilidad (*Major Histocompatibility Complex, MCH*) que contiene los genes *HLA*. Es bien conocido que los alelos de riesgo del gen *HLA-DRB1** explican más de la mitad del componente genético de la AR. En cuanto a los genes localizados fuera de la región HLA, se han identificado una larga lista de genes que se asocian a susceptibilidad de la enfermedad a través de diferentes mecanismos de acción. Uno de los más estudiados y con mayor asociación genética en la población europea es la proteína tirosina fosfatasa no receptor de tipo 22 (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22, PTPN22*). Otros polimorfismos que se han observado están situados en el gen transductor de señal y activador de la transcripción 4 (*signal transducer and activator of transcription 4, STAT4*)⁶¹, en el gen del antígeno asociado a proteína 4 de linfocitos T citotóxicos (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4*), en la región entre el factor 1 asociado al receptor de *TNF* (*TRAF1*) y el componente 5 (*C5*) (*TNF receptor associated factor 1, TRAF1/C5*), entre otros⁶².

Los pacientes con **LES** se caracterizan por presentar una fuerte asociación genética, con una heredabilidad estimada de aproximadamente 66% y el riesgo relativo de padecer la enfermedad entre hermanos es 20-40 veces mayor que el riesgo de la población general. Además, la concordancia entre gemelos que comparten el mismo ambiente es del 2-5% entre gemelos dicigotos y del 24-58% entre gemelos monocigotos^{63,64}. Al igual que en la AR, las variaciones genéticas mayormente asociadas al LES son determinados alelos de la región HLA. Hasta la fecha se han realizado nueve GWAS en pacientes con LES en poblaciones europeas y asiáticas y se han podido identificar más de 40 *loci* de riesgo que confieren susceptibilidad para

desarrollar la enfermedad ⁵⁷. Tales estudios además de identificar a genes o *loci* de susceptibilidad, han confirmado de forma sólida la asociación del LES con factores genéticos previamente conocidos, como son los alelos del HLA, tanto de clase I, II o III (*HLA-DRB1*0301*, *HLA-DRB1*0801*, *HLA-DQA1*0102*, entre los más asociados), el factor regulador de interferón (*interferon regulatory factor, IRF*), *PTPN22*, *STAT4*...etc. Otro dato a destacar en el componente genético de esta y todas las enfermedades *IMID*, es que dichas asociaciones no solo influyen en la susceptibilidad a padecerlas, sino también pueden influir en la variabilidad fenotípica de las mismas ⁶⁵. Por último, es conocido que existen factores de riesgo genético compartidos entre los pacientes con AR y los pacientes con LES tales como determinados polimorfismos de los genes *HLA-DR*, *PTPN22* y *STAT4* ⁵⁴.

La **Psoriasis** es una enfermedad multifactorial, en la cual también el modelo más aceptado es el de la herencia poligénica, en el que varios genes interactúan con factores medioambientales, tales como traumas, estrés, infecciones, medicamentos, etc, para desencadenar y/o agravar las manifestaciones clínicas ²⁰. Desde hace años se conoce que existe una predisposición genética para el desarrollo de la enfermedad. *Andressen et al*, analizaron 2.035 familias y calcularon la probabilidad de padecer psoriasis según el número de familiares afectados. De acuerdo con este estudio y otros realizados en grandes poblaciones de pacientes psoriásicos, se observó que si ambos padres padecen la enfermedad, el 41% de sus descendientes también la padecerá, el 14% si sólo uno está afectado, el 6% en el caso de un hermano afectado y cuando además de los progenitores existe un hermano con la enfermedad, la probabilidad será del 50% ⁶⁶. Así, los estudios realizados en gemelos monocigotos y dicigotos, con concordancias del 58 y 24%, respectivamente, aportan otra evidencia de la importancia de los factores genéticos en la psoriasis ⁶⁷. Un fenómeno interesante ocurre tanto en pacientes con Ps como con **APs** y es el de la impronta genética, mecanismo por el cual un gen se expresa o no dependiendo del género del progenitor que lo transmite ⁶⁸. Hasta la fecha, se han realizado más de quince GWAS utilizando grandes cohortes de pacientes con psoriasis tanto en poblaciones europeas como asiáticas y se han identificado colectivamente más de 50 *loci* de susceptibilidad para la psoriasis ^{58,69-71}, siendo 16 *loci* comunes para pacientes con Ps y APs y 3 de éstos específicos solamente para APs ^{58,59,72}. A pesar del avance genético en la etiología de la psoriasis, los *loci* fuera de la región HLA sólo explican menos del 25% de la heredabilidad estimada de la enfermedad ⁷³. El efecto genético más consistente y dominante de pacientes con Ps reside en el cromosoma 6p21.3 siendo el alelo *HLA-Cw*0602* de susceptibilidad más probable en el locus 1 para

pacientes con psoriasis (PSORS1), representando hasta un 50% de la heredabilidad de la enfermedad ²⁰, mientras que el alelo *HLA-B*27* es un reconocido marcador en pacientes con APs ⁷⁴. Por otro lado, existen genes que se asocian a diferentes enfermedades *IMID* como la proteína asociada a la subunidad reguladora CDK5 1 tipo 1 que codifica para el gen *CDKALI* (*CDK5 regulatory subunit associated protein 1 like 1*) que se asocia con psoriasis así como con la enfermedad de Crohn y con la diabetes mellitus tipo 2 ⁷⁵.

La mayor evidencia de que los factores genéticos contribuyen a la susceptibilidad para el desarrollo de una **enfermedad inflamatoria intestinal** proviene de los estudios de concordancia realizados en gemelos ^{76,77}. En la EC, si los gemelos son monocigotos la probabilidad de que el segundo gemelo esté afectado es del 37,3%, mientras que en la CU la probabilidad es tan solo del 10%. En los gemelos dicigotos, si bien el riesgo también está aumentado, es claramente menor y con una relación similar a la descrita previamente, 7% y 3% para la EC y CU, respectivamente ³¹. En ambas formas de EII, existe una agregación familiar. Según los datos publicados, una cuarta parte de los pacientes con EII tienen un miembro de la familia afectado. Se estima que el riesgo de padecer una EII cuando un padre está afectado de EC es del 9,2% y del 6,2% cuando lo está de CU. Cuando ambos padres tienen EII el riesgo aumenta al 30%. Por otro lado, *Yang et al* describieron un riesgo de desarrollar CU y EC en familiares de primer grado de pacientes con EII del 1,6% y 5,2%, respectivamente ⁷⁸. Estas primeras observaciones, en el año 2001, sentaron los primeros conocimientos genéticos en la EII, y culminaron con la identificación del dominio 2 de oligomerización que contiene el gen *NOD2* (*nucleotide binding oligomerization domain containing 2*) de riesgo para las EII ⁷⁹. Los últimos estudios publicados en la literatura describen más de 163 *loci* de susceptibilidad asociados a EII ^{55,80,81}. A pesar del gran progreso dentro de la genética molecular en los últimos años, la alta heredabilidad observada en las EII se entiende sólo en parte por lo que es necesario identificar nuevas variaciones genéticas de susceptibilidad a la vez que definir con mayor precisión la arquitectura genética de estas enfermedades ⁸².

2.- Enfermedad cardiovascular

2.1.- Concepto

En las últimas décadas la supervivencia de los pacientes con enfermedades *IMID* ha aumentado de forma progresiva debido principalmente al diagnóstico precoz y a los avances terapéuticos. El mejor control del proceso inflamatorio crónico ha permitido que una serie de manifestaciones clínicas propias de la enfermedad (i.e. amiloidosis, vasculitis) o en relación con determinadas comorbilidades (i.e. hemorragia digestiva alta, insuficiencia renal) asociadas sean mucho menos frecuentes. Sin embargo, este incremento en la esperanza de vida de los pacientes ha supuesto la emergencia de otras comorbilidades como las neoplasias y la enfermedad cardiovascular (ECV) que han adquirido un mayor interés y protagonismo ⁸³.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades cardiovasculares causan más de 17 millones de muertes en el mundo cada año y representan aproximadamente la mitad de todas las muertes en los Estados Unidos y otros países desarrollados. 7,6 millones de estas muertes son debidas a la cardiopatía coronaria y 5,7 millones a los accidentes cerebrovasculares.

La enfermedad cardiovascular está representada por un amplio espectro de subfenotipos: la hipertensión arterial; los síndromes coronarios que comprenden: la angina, la cardiopatía isquémica, el infarto agudo de miocardio (IAM), el síndrome coronario agudo y la enfermedad arterial coronaria; la insuficiencia cardíaca congestiva; la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo; la enfermedad arterial periférica (EAP); la enfermedad cerebrovascular (accidente cerebrovascular, ACV); los ataques isquémicos transitorios y las trombosis que comprenden a la trombosis venosa profunda y al embolismo pulmonar ⁸⁴. Si bien cada uno de estos eventos puede compartir vías patogénicas similares que convergen en un estado proaterogénico, en nuestro proyecto nos enfocaremos en cuatro de las más relevantes: la angina, el IAM, el ACV y la EAP.

La tasa de mortalidad por **cardiopatía isquémica** ha descendido en las últimas cuatro décadas en los países desarrollados, sin embargo sigue siendo la causa de un tercio de todas las muertes en personas mayores de 35 años y constituye la principal causa de muerte prematura en España.

Se trata de una entidad que genera una importante discapacidad y que en el año 2015 ha sido responsable del 6,7% del total de años de vida ajustados por discapacidad, siendo del 14,1%

para la ECV ⁸⁵. Se estima que en las próximas décadas la pérdida total de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) aumentará de 85 millones en 1990 a 150 millones en 2020 y, por tanto, continuará siendo la causa somática más importante de pérdida de productividad laboral ⁸⁶.

La estimación de la prevalencia real de enfermedad coronaria en la población es compleja y a menudo se realiza a partir de encuestas poblacionales. Recientemente la Asociación Americana del Corazón (*American Heart Association, AHA*) ha publicado en relación al infarto agudo de miocardio, una prevalencia estimada del 2,9% (un 4,2% para los varones y un 2,1% para las mujeres). Sin embargo se considera que estos datos pueden estar infravalorados dado que solamente un porcentaje de pacientes con enfermedad coronaria (incluyendo a la angina inestable, el infarto agudo de miocardio y la muerte súbita) alcanzan las unidades coronarias y son debidamente registrados ⁸⁶.

En nuestro país se han realizado únicamente dos estudios poblacionales que han estudiado la prevalencia de angina estable. El estudio PANES (Prevalencia de ANgina en ESpaña) ⁸⁷ que informó un 7,5% y el estudio REGICOR (*REGistre Gironí del COR*) ⁸⁸ un 3,5%, atribuyéndose estas diferencias en parte a diferentes metodologías de estudio. Actualmente se han publicado los resultados del estudio OFRECE (Observación de FibRilación y Enfermedad Coronaria en España) ⁸⁹ sobre prevalencia de angina estable en la población española mayor de 40 años siendo del 2,6%, la cual se incrementa con la edad, los FRCV y los antecedentes de ECV. En relación al IAM se puede realizar una aproximación indirecta a través de los datos de las encuestas realizadas. La incidencia de IAM en España para personas de 25 a 74 años oscila entre 135-210 casos por 100.000 varones al año y entre 29-61 casos por 100.000 mujeres al año. Esta incidencia se multiplica por 10 a partir de los 75 años e incluso por 20 en las mujeres ⁸⁶.

Los **accidentes cerebrovasculares** (ACVs) en España constituyen una causa frecuente de morbilidad y hospitalización siendo la primera causa de muerte en las mujeres ⁹⁰. La prevalencia del ACV en la población española mayor de 65 años se aproxima a un 7% en los varones y a un 6% en las mujeres. Según los datos de la Encuesta de Morbilidad Hospitalaria del Instituto Nacional de Estadística del año 2011 se registraron 116.017 casos de ACV y 14.933 de trastornos isquémicos agudos (TIA), lo que correspondería, respectivamente, a una incidencia de 252 y 32 casos por 100.000 habitantes al año ⁹¹. Estas tasas se multiplican por 10

en la población mayor de 75 años, siendo la incidencia acumulada hasta los 65 años del 3%, y aumentando hasta el 24% en los mayores de 85 años. En esta línea, *Medrano-Albero et al*, observaron que las tasas de incidencia difieren según el género de los pacientes, siendo de 364 para los varones y de 169 para las mujeres. Del mismo modo, y como se comentó previamente, estos autores concluyen en su trabajo que existe un incremento progresivo en las cifras de prevalencia, reflejo del aumento en la esperanza de vida de la población española, del mayor acceso a los servicios asistenciales y/o a cambios en el patrón asistencial ⁹². Así mismo, el registro EPICES, mayor registro español de base hospitalaria de pacientes con ACV, evaluó 6.280 pacientes con ACV, de los cuales el 87,6% fueron isquémicos, y el 12,4% hemorrágicos, el 57,2% eran varones con una edad media de 71 años y la hipertensión arterial fue el FRCV más prevalente para el desarrollo de ambos eventos cerebrovasculares ⁹³.

La OMS describe una incidencia promedio mundial de aproximadamente 200 casos por 100.000 habitantes al año, si bien existen marcadas diferencias entre los distintos países y según las diferentes edades. Así, en un metaanálisis de estudios de base poblacional publicado por *Feigin et al* ⁹⁴, la incidencia en personas con menos de 45 años fue de 10-30 casos por 100.000 habitantes al año, mientras que en los mayores de 55 años el rango era de 420-650 casos por 100.000 habitantes al año, y en el grupo de edad entre 75-84 años de 1.200-2.000 casos por 100.000 habitantes al año.

La **enfermedad arterial periférica** (EAP) es una patología de difícil diagnóstico por ser de presentación mayoritariamente asintomática, que precisa un alto grado de sospecha. En los últimos años ha adquirido gran interés pronóstico para la predicción de enfermedad aterosclerótica en otros territorios arteriales de órganos como el corazón o el cerebro ⁹⁵.

La prevalencia de esta enfermedad es muy variable dependiendo de la franja de edad estudiada, ya que la mayoría de los casos se concentran en la última etapa de la vida. Siguiendo esta línea, un estudio reciente en el que se ha analizado una cohorte aleatoria de 2.833 sujetos entre 25 y 79 años, se ha observado que la prevalencia de EAP se sitúa en el 3,7%, siendo del 5% en los varones y del 2,6% en las mujeres; con una prevalencia acumulada a partir de los 50, 60, 70 años del 6,2%, 9,1% y 13,1% respectivamente ⁹⁶. Cabe resaltar que la cifra objetivada en este trabajo (3,7%) es similar a la descrita en otros estudios realizados en nuestro país y en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición estadounidense (*National Health and Nutrition Examination Survey, NHNES*). En un estudio reciente de *Velescu et al* sobre una población

mediterránea, se informan cifras de incidencia de 377 casos por 100.000 habitantes al año, mientras que para la EAP sintomática la cifra disminuye a 102 casos por 100.000 habitantes al año ⁹⁷.

Dado que la mayoría de la población afectada está asintomática, se recomienda detectar las formas subclínicas ya que su presencia mejora la capacidad de predicción de las actuales funciones de riesgo cardiovascular y en estos casos la terapia preventiva disminuye el riesgo de muerte. En España se han llevado a cabo distintos estudios epidemiológicos y en todos ellos se ha observado que las formas sintomáticas son menos prevalentes (alrededor del 14%) y que la enfermedad en general claramente predomina en el género masculino ^{98,99}.

En relación a las manifestaciones clínicas, la claudicación intermitente de los miembros inferiores es la forma más frecuente de presentación con una prevalencia estimada en el grupo de 60-65 años del 35%. El principal factor de riesgo de la EAP es la edad, existiendo una asociación en aquellos pacientes mayores de 65 años con algunos FRCV, principalmente con la diabetes mellitus y con el tabaquismo ⁹⁷.

2.2.- Factores de riesgo cardiovascular

Un factor de riesgo es cualquier circunstancia (genética, ambiental o personal) que incrementa las probabilidades de que se desarrolle una determinada enfermedad. El riesgo cardiovascular total es la probabilidad absoluta de presentar una enfermedad cardiovascular (ECV) mortal o no mortal, generalmente en los próximos 10 años y depende de la presencia de factores de riesgo modificables y no modificables. La detección y control de los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) sigue siendo la estrategia fundamental para prevenir la ECV ¹⁰⁰.

Valorar el riesgo cardiovascular en los pacientes con enfermedades *IMID* es igualmente necesario e incluso más importante que en la población general y esto se debería tanto a una mayor prevalencia de los FRCV en estos pacientes como a la carga inflamatoria que generan estas enfermedades ¹⁰⁰. De hecho, algunos autores defienden el concepto que los pacientes con AR, tomada como ejemplo, deben considerarse como pacientes de elevado riesgo cardiovascular y está altamente recomendado realizar un análisis individual del riesgo cardiovascular durante todo el curso de la enfermedad ^{101,102}.

Actualmente, no existe ningún sistema específico validado en nuestro medio para valorar de forma global el riesgo cardiovascular en este tipo de pacientes y que se encuentre incluido en las guías de manejo de estos pacientes, pero eso no implica que no se deba valorar el riesgo. Una aproximación inicial sería mediante las tablas de estratificación de riesgo cardiovascular.

Se han propuesto diversos modelos de tablas, como son las tablas de Framingham¹⁰³, las tablas de Score¹⁰⁴, las tablas de REGICOR⁸⁸, etc. Sin embargo la utilización de alguna de ellas presenta ciertas limitaciones como el hecho de permitir una estimación del riesgo coronario, pero no del cardiovascular y la sobreestimación del riesgo coronario en poblaciones en donde el riesgo sea menor, como por ejemplo la población española¹⁰⁰.

Como se comentó previamente, algunos autores consideran que las enfermedades *IMID*, especialmente la AR y el LES, determinan por si mismas un riesgo cardiovascular elevado¹⁰⁵. Otros autores aconsejan multiplicar por 2 el riesgo calculado con las escalas habituales, lo cual supone aproximadamente aumentar una categoría de riesgo (de bajo a moderado, de moderado a alto y de alto a muy alto)¹⁰⁶. Hay otras propuestas que tienen en cuenta el tratamiento y el grado de actividad inflamatoria. Así en ese contexto, el Índice de Actividad del Lupus Eritematoso Sistémico-2K (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000, SLEDAI-2K*)¹⁰⁷ que determina la actividad inflamatoria en esta enfermedad, podría identificar a los pacientes de riesgo alto, al igual que la presencia de los 3 tipos de anticuerpos antifosfolípidos (anticoagulante lúpico, anti- B2GPI y anticardioplipina).

La Liga Europea Contra el Reumatismo (*European League Against Rheumatism, EULAR*), por ejemplo, propone en los pacientes con AR multiplicar por 1,5 el riesgo calculado con las escalas habituales si se cumplen 2 de los 3 criterios siguientes: duración de la enfermedad más de 10 años, positividad del factor reumatoide (FR) o de los anticuerpos anti-CCP o la presencia de manifestaciones extraarticulares¹⁰².

Tal y como se ha comentado, en la actualidad no existe ninguna tabla específica para el cálculo del riesgo cardiovascular para los pacientes con enfermedades *IMID*. Sin embargo es preciso comentar que existen dos iniciativas entre cuyos objetivos se incluye la obtención de una escala de riesgo cardiovascular en este tipo de pacientes, el consorcio *A TransAtlantic Cardiovascular risk Calculator for Rheumatoid Arthritis (ATACC-RA)* y el consorcio *Consortium Of Rheumatology Researchers Of North America (CORRONA)*^{108,109}.

2.2.1.- Factores de riesgo cardiovascular no genéticos

La prevalencia de la enfermedad cardiovascular aumenta en relación directa con la **edad**, ya sea por los propios cambios fisiológicos del miocardio asociados al proceso de envejecimiento, o por la presencia de uno o más factores de riesgo que se presentan fundamentalmente a lo largo de la vida y de forma preferente en edades avanzadas. El corazón, como todo el resto del organismo, experimenta modificaciones en el curso del envejecimiento. Lo cierto es que, a nivel funcional, todas estas modificaciones tienen una consecuencia esencial: reducen los mecanismos de reserva de nuestro organismo y nos convierten en más vulnerables, facilitando el enfermar y empeorando el pronóstico de cualquier enfermedad. La persona de edad avanzada será la diana principal de la mayor parte de las cardiopatías. Por ejemplo, la prevalencia y la incidencia de la insuficiencia cardiaca se duplican cada década a partir de los 40-45 años, y cabe hacer consideraciones similares sobre procesos tan frecuentes e importantes como las enfermedades coronarias o la hipertensión arterial, entre otras muchas ¹⁰⁰.

En relación al **género**, se ha demostrado que los varones tienen mayor riesgo de desarrollar una ECV que las mujeres pre-menopáusicas, y una vez alcanzada la menopausia, el riesgo en una mujer es similar al de un hombre ¹¹⁰. Así mismo, la historia reproductiva de una mujer sirve como predictor para el desarrollo de ECV, por ejemplo, las mujeres con antecedentes de preeclamsia tienen mayor riesgo de ECV en comparación con las mujeres con embarazos normales ^{111,112}. En su trabajo, *Mikkola et al* realizaron una comparación entre mortalidad por causa cardiovascular y no cardiovascular según el género y concluyen que el riesgo de muerte por ECV estandarizado por edad fue 80% mayor para los hombres que para las mujeres, que de los 45 a los 54 años la mortalidad por ECV como no cardiovascular fueron similares mientras que en las mujeres la mortalidad por ECV aumentó más rápidamente que la mortalidad no cardiovascular a partir de los 60 años ¹¹³.

La **hipertensión arterial** (HTA) se define como el incremento continuo de los valores de la presión arterial (PA) por encima de 140/90mmHg de presión arterial sistólica (PAS) y de presión arterial diastólica (PAD) respectivamente, según las guías del año 2013 sobre HTA de la Sociedad Europea de Hipertensión (*European Society of Hypertension, ESH*) y la Sociedad Europea de Cardiología (*European Society of Cardiology, ESC*) ¹¹⁴.

La prevalencia de la HTA en la población española se sitúa alrededor de un 30-40%, con un marcado aumento en edades más avanzadas ¹¹⁵. Sin embargo, datos de la Encuesta Europea de Salud en España (EESE) del año 2014 informan un 18,4% ¹¹⁶.

En el mundo desarrollado aproximadamente 330 millones de personas padecen HTA, cifra que se duplica en los países en vías de desarrollo. Según la OMS, la HTA es la principal causa de ECV en todo el mundo. A nivel mundial, casi 1.000 millones de personas tienen HTA y de éstos, dos tercios están en los países en desarrollo. Es una de las principales causas de muerte prematura en todo el mundo y el problema es cada vez mayor ya que se estima que para el año 2025 cerca de 1.560 millones de adultos la desarrollarán ¹¹⁷.

La elevación de la presión arterial es casi siempre asintomática. En este sentido, en las últimas décadas se ha puesto cada vez más de manifiesto que el riesgo de desarrollar una ECV (un accidente cerebrovascular, una cardiopatía isquémica, una insuficiencia renal, etc.), no se limita a un subconjunto poblacional cuyos valores de presión arterial son particularmente elevados, sino que también podría afectar a personas con valores de presión arterial media y/o inferior a la media.

Según las guías del año 2013 comentadas previamente, para evaluar el riesgo global del individuo, se deben de considerar los diferentes FRCV. La coexistencia de obesidad, de tabaquismo, de dislipemia, de consumo de alcohol y la existencia de historia familiar de HTA o de cardiopatía isquémica, son de trascendental importancia por cuanto el tratamiento debe encaminarse a la reducción de dicho riesgo. De igual manera, la presencia de lesión en órganos diana o la presencia de ECV establecida nos obligan a un control estricto, tanto de las cifras de presión arterial como de los FRCV.

Se estima en forma global que aproximadamente el 62% de las enfermedades cerebrovasculares y el 49% de las cardiopatías isquémicas son atribuibles a una presión arterial elevada (sistólica > 115 mmHg), con escasa influencia del género ¹¹⁷.

Existen múltiples evidencias que indican que un tratamiento efectivo de la HTA se relaciona claramente con una reducción en la incidencia de IAM en un 20-25% y de un ACV en un 35-40% en la población general. De forma paralela se acepta que la elevación de 20 mmHg en la PAS o de 10 mmHg en la PAD en personas sanas de entre 40 a 70 años duplica el riesgo de desarrollar una ECV ¹¹⁴.

La **diabetes mellitus** (DM) es una alteración metabólica de etiología múltiple caracterizada por hiperglucemia crónica como consecuencia de defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina. La DM tipo 1 se debe a la ausencia prácticamente completa de producción pancreática de insulina endógena, mientras que la DM tipo 2 se manifiesta a consecuencia de una utilización ineficaz de la insulina.

La prevalencia global de la DM está aumentando en proporciones epidémicas, debido al crecimiento demográfico, el envejecimiento, la urbanización y la creciente prevalencia de la obesidad y el sedentarismo. En 2012, la DM ha afectado a más de 371 millones de adultos en todo el mundo (prevalencia del 8,3%), con más del 90% de los casos de DM tipo 2. Este número se estima que aumentará a aproximadamente 552 millones de adultos en el año 2030 (prevalencia del 9,9%) ¹¹⁸.

En la actualidad, la prevalencia de la DM en España es del 10% y en los pacientes con DM tipo 2, este porcentaje se eleva con la edad tanto en varones como en mujeres ¹¹⁹.

El diagnóstico de DM se realiza al obtener un valor de glucemia en ayunas ≥ 126 mg/dL en dos ocasiones y es imprescindible un correcto control glucémico de forma constante para reducir al mínimo las complicaciones de la enfermedad. Por ejemplo, la Asociación Americana de Diabetes (*American Diabetes Association, ADA*) y la Asociación Europea del Estudio de la Diabetes (*European Association for the Study of Diabetes, EASD*) recomiendan mantener valores de hemoglobina glicosilada A_{1c} inferiores al 7% para evitar el desarrollo de ECV. Los pacientes diabéticos merecen especial atención en relación al desarrollo de enfermedad arterial coronaria ya que a menudo es silenciosa y hasta un 60% de los IAM pueden ser asintomáticos y solo ser diagnosticados por signos de isquemia miocárdica en un electrocardiograma de rutina ^{119,120}.

La mayoría de los estudios epidemiológicos destacan que la DM es un importante factor de riesgo para el desarrollo de accidente cerebrovascular isquémico. Según lo describe *Cantú-Brito et al* ¹²¹, en promedio, los pacientes diabéticos tienen 2,9 veces más probabilidades de tener un ACV en comparación con sujetos sin diabetes. Siguiendo esta línea, se observa que la edad también desempeña un factor relevante en su desarrollo. Así, en una cohorte de 14.432 pacientes con diabetes y con edades comprendidas entre los 40 y 97 años, con un seguimiento de cuatro años, el estudio DAI (*Diabetes and Informatics*) demostró que la edad es un factor relevante tanto para la incidencia como para la recurrencia de un ACV en los pacientes

diabéticos, de tal forma que por cada diez años de incremento en la edad, se duplica el riesgo de desarrollar un ACV en los diabéticos ¹²².

En el estudio *United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)* se demostró que la terapia intensiva con metformina o insulina y una sulfonilurea (SU) en el momento del diagnóstico de la DM, se asoció con un menor riesgo de desarrollo de un infarto de miocardio o muerte por cualquier causa en comparación con la terapia convencional. Con base en esta evidencia, la ADA y la EASD recomiendan mantener valores de hemoglobina glicosilada A_{1c} inferiores al 7% para evitar el desarrollo de ECV ^{118,123}.

La prevalencia de la **dislipemia** (DL) en la población española oscila entre el 30-51% ¹²⁴ siendo del 16,5% para la EESE del año 2014 ¹¹⁶. En la actualidad, la hipercolesterolemia provoca 4,3 millones de muertes al año en todo el mundo y 39 millones ajustados por discapacidad años de vida perdidos ¹²⁵.

A nivel mundial, un tercio de la cardiopatía isquémica es atribuible a cifras elevadas de colesterol. En general, se estima que las cifras elevadas de colesterol han causado hasta 2,6 millones de muertes (4,5% del total) y 29,7 millones de AVAD (2% del total) por lo que la reducción en las cifras del colesterol, reducirían el riesgo de desarrollar ECV. En el año 2008, la prevalencia global de colesterol total elevado entre los adultos fue de 39% (37% para los varones y 40% para las mujeres) para valores superiores de colesterol total de 6,2 mmol/l (240 mg/dl). La prevalencia en las cifras elevadas del colesterol total, aumentan notablemente en función del producto interior bruto (PIB) de cada país. Es decir, en países con bajo PIB en torno al 25% de los adultos presentan cifras de colesterol total elevadas, mientras que en países con ingresos superiores, hasta un 50% de la población adulta puede desarrollar hipercolesterolemia. En el estudio Carmela se demuestran amplias variaciones en el perfil lipídico en siete ciudades diferentes de América Latina, con valores que oscilan desde el 36% al 68% en la concentración de colesterol total, y donde valores bajos de HDL-C y elevados de los triglicéridos fueron las alteraciones más frecuentes ¹²⁵.

El objetivo principal del tratamiento en estos pacientes es la reducción de los valores del colesterol LDL y por tanto del riesgo cardiovascular. Los pacientes con antecedentes de haber presentado una manifestación cardiovascular o de tener un FRCV tienen al menos un 20% más de riesgo de desarrollar una ECV en los próximos 10 años. El tratamiento en estos pacientes

tiene por objetivo alcanzar unas concentraciones de colesterol-LDL aún más bajas que en la población general con menor riesgo ¹²⁶.

Las estatinas tienen efectos pleiotrópicos independientes de la reducción de los valores de colesterol. Este efecto pleiotrópico antiinflamatorio se ha comprobado en pacientes con AR y con LES. Aunque existen estudios en los que no se ha podido demostrar el efecto antiinflamatorio de las estatinas, sí que existen metaanálisis que lo confirman. En concreto, en un metaanálisis realizado a partir de 15 ensayos clínicos (992 pacientes) aleatorizados para recibir estatinas o placebo en pacientes con AR se demostró que en el grupo tratado con estatinas disminuyeron los parámetros biológicos de inflamación (VSG, PCR, *TNF- α* , *IL1* e *IL6*) y el número de articulaciones tumefactas. En este sentido, se puede concluir que las estatinas deben de utilizarse para reducir los valores de colesterol según los criterios de referencia, pero además pueden tener un beneficio añadido en el control de la enfermedad de base por sus efectos pleiotrópicos ^{127,128}.

El **tabaquismo** es uno de los FRCV tradicionales más importantes para el desarrollo de ECV y es el principal FRCV para la EAP. En la población española se estima una prevalencia del hábito tabáquico de aproximadamente el 23%. Según la Encuesta Europea de Salud en España (EESE) del año 2014, se ha observado desde 1993 a 2014 un continuo descenso en el porcentaje de población que consume tabaco, especialmente en el género femenino (27,6% en los varones y del 18,6% en las mujeres) ¹¹⁶.

Es la segunda causa de ECV después de la HTA. Estimaciones de la OMS indican que el consumo de tabaco causa 6 millones de muertes al año, de las que más de 5 millones son consumidores y más de 600.000 son no fumadores expuestos al humo de tabaco ajeno. Si no se toman medidas urgentes, la cifra anual de muertes podría ascender a 10 millones para el año 2030, 80% de las cuales ocurrirán en los países en desarrollo. Estas proyecciones se basan en la tendencia actual de aumento en el consumo de tabaco entre los adolescentes cuya edad de iniciación está en descenso.

En la actualidad, la tasa de fumadores ha disminuido en la mayoría de los países europeos en gran medida debido a la aprobación de una Ley anti tabáquica, sin embargo el consumo de tabaco continúa siendo aún muy común en muchas regiones y en determinados grupos de edad. Los programas de ayuda para facilitar el abandono del tabaco solo tienen éxito en el 20-30% de los casos y la prevención de las recaídas continúa siendo la piedra angular de la lucha contra la

adicción a la nicotina ¹¹⁴. Tal y como se comentó previamente, existe una fuerte asociación entre el hábito tabáquico y la EAP, y los pacientes fumadores no sólo tienen un mayor riesgo de EAP, sino que presentan las formas más graves de enfermedad. Existe una clara evidencia de que el abandono del tabaco se acompaña de una marcada reducción del riesgo de desarrollar una EAP y se ha comprobado que, aunque el riesgo de presentar una EAP en personas ex-fumadores es 7 veces mayor que en personas que nunca han fumado; en los fumadores activos es 16 veces más elevado, así como la tasa de amputaciones de miembros inferiores por isquemia crítica ⁹⁶.

La **obesidad** es un factor de riesgo para el desarrollo de ECV en la población general y se estima una prevalencia de alrededor del 30% en la población española según las distintas series (17% para la EESE 2014) ¹¹⁶, con una mayor prevalencia en las mujeres y en relación con la edad. Así, en un estudio poblacional de 5.103 participantes denominado Di@bet.es, publicado por *Valdés et al*, donde se compararon cifras de prevalencia de obesidad, de DM y de HTA en la región de Andalucía con las del resto de España, se observó que la prevalencia de obesidad, de DM y de HTA era del 37%, 16,3% y del 43,9% en Andalucía en comparación con el 26,6%, 12,5% y el 39,9% en el resto de España ¹²⁹.

A nivel mundial, la proporción de la población afectada alcanza cifras epidémicas, ya que más de 1.000 millones de adultos de todo el mundo presentan un peso excesivo, y al menos 300 millones son clínicamente obesos. Se estima que 2,8 millones de personas mueren cada año como consecuencia de tener sobrepeso u obesidad, y se estima que hasta 35,8 millones (2,3%) de los AVAD globales son causados tanto por la obesidad como por el sobrepeso. En el año 2008, el 9,8% de los varones y el 13,8% de las mujeres eran obesos con un índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 30kg/m², frente a un 4,8% y un 7,9% respectivamente del año 1980.

En las últimas décadas se ha observado una alarmante tendencia al desarrollo de obesidad, lo que puede estar en clara relación con cambios en los hábitos alimentarios y un aumento del sedentarismo. Además debe tenerse en cuenta que la obesidad con frecuencia se asocia a otros FRCV no genéticos tradicionales (i.e. la DM tipo 2, la HTA, la DL, la inactividad física) lo que potencia aun más su impacto negativo en la salud. La HTA y la obesidad son un ejemplo claro de esta fuerte asociación por lo que las guías internacionales recomiendan una pérdida de peso en pacientes hipertensos obesos o incluso con sobrepeso. Se recomienda el mantenimiento de

un peso corporal saludable con un IMC de 25 y una adecuada circunferencia de cintura (< 102 cm para los varones y < 88 cm para las mujeres) a los sujetos no hipertensos para prevenir el desarrollo de HTA y a los pacientes hipertensos para reducir las cifras de PA ¹³⁰.

El **sedentarismo** es también un importante FRCV. La actividad física aeróbica regular es beneficiosa para la reducción del riesgo cardiovascular y la mortalidad cardiovascular.

En algunos estudios realizados en España se ha observado que más del 45% de la población no realiza ningún ejercicio físico durante su tiempo libre ¹¹⁴, mientras que para la EESE del año 2014 la cifra es algo menor (36,7%) ¹¹⁶. El sedentarismo es mayor en las mujeres, en los niveles socioculturales inferiores, y se eleva conforme avanza la edad. Un metaanálisis demostró que el entrenamiento de resistencia aeróbica reduce la PAS y la PAD en reposo 3,0/2,4 mmHg en la población general y 6,9/4,9 mmHg respectivamente en participantes hipertensos por lo que las guías internacionales aconsejan la práctica de al menos 30 minutos de ejercicio físico aeróbico dinámico y de intensidad moderada (caminar, correr, montar en bicicleta o nadar) 5-7 días a la semana ¹³¹.

La actividad física insuficiente se puede definir como aquella actividad que se realiza menos de 5 veces a la semana y con una duración menor a 30 minutos de actividad moderada o bien menos de 3 veces a la semana y con una duración menor a 30 minutos de actividad vigorosa.

Según datos de la OMS, hacer más de 150 minutos (2 horas y 30 minutos) de actividad física moderada o una hora de actividad física vigorosa cada semana reduce el riesgo de ECV en un 30%. Un estudio demostró que caminar por lo menos dos horas a la semana redujo la incidencia de muerte prematura por ECV en un 50%.

Dicha relación se ha investigado mediante distintos tipos de estudios epidemiológicos realizándose los primeros en Inglaterra, a principios de la década de los años cincuenta. Un estudio clásico es el realizado por Morris que fue publicado por *Heady et al* ¹³² y en donde se reclutaron 31.000 trabajadores del transporte londinense y se analizó la presencia de cardiopatía coronaria en los choferes de autobuses y en los cobradores de pasajes de este tipo de vehículos de dos pisos. Esta investigación demostró que los choferes tenían una mayor mortalidad por infarto agudo de miocardio que sus ayudantes y tres veces más muertes súbitas al tener en cuenta el grupo de sujetos menores de 50 años.

Actualmente, existen muy pocas revisiones sistemáticas sobre la prevalencia de sedentarismo medido objetivamente o subjetivamente informado. En este sentido, *Harvey et al*, publicaron una revisión sistemática en donde recopilaron y analizaron la literatura publicada relativa a la prevalencia de este FRCV en adultos mayores de 60 años y concluyeron que la mayoría de los adultos son sedentarios. Así, el 60% informó haber estado sentado durante más de 4 horas al día, el 65% se sientan frente a una pantalla durante más de 3 horas diarias y más de un 55% reportaron ver más de 2 horas de televisión al día ¹³³.

Los FRCV no genéticos en general, y cada uno de ellos en particular, se asocian a un mayor desarrollo de ECV lo que genera un aumento de la mortalidad asociada. Existe un amplio consenso por parte de los profesionales de la salud y las autoridades sanitarias que es fundamental un control estricto de estos factores de riesgo y la estratificación de cada uno de ellos, desarrollando medidas preventivas y diagnósticas precoces, y una estrategia terapéutica adecuada en cada caso.

2.2.2.- Factores de riesgo cardiovascular genéticos

Como se comentó en el capítulo anterior, existen *loci* de susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades *IMID*, así como también se han descrito *loci* de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular en la población general. Dentro de los subfenotipos de ECV más estudiados se describen los síndromes coronarios agudos representados por la angina, la cardiopatía isquémica, el infarto agudo de miocardio y la enfermedad arterial coronaria, entre otros; y los accidentes cerebrovasculares tanto de origen isquémico como de origen hemorrágico.

Anteriormente, utilizando la estrategia del gen candidato se han podido realizar distintos estudios para determinar la asociación de algunos genes que intervienen en la regulación del sistema cardiovascular, obteniendo diferentes resultados. Así se han realizado estudios en genes que codifican para proteínas que participan en el metabolismo de los lípidos como las lipoproteínas, las apolipoproteínas y sus receptores...etc ¹³⁴. Otro grupo de genes que se han analizado también han sido aquellos genes que codifican para proteínas involucradas en la regulación de la hemostasia, de la coagulación y de la fibrinólisis. Así, un grupo español en una cohorte de más de 100 familias, analizó la variación genética en la secuencia de la

subunidad A (F13A1) del factor XIII de la coagulación y observaron que esta variación no solo se asociaba a la enfermedad aterotrombótica sino también a determinados cambios funcionales en las concentraciones y actividad de dicho factor aumentando el riesgo de desarrollar una ECV¹³⁵. Siguiendo esta línea, otro gran estudio realizado en una población europea por *Moral et al*¹³⁶, ha demostrado que la tasa de incidencia de la ECV varía en función de la región geográfica, siendo menor en la región mediterránea y mayor en otras zonas de Europa, y que esta variabilidad puede atribuirse a variaciones genéticas y/o ambientales. *Zanetti et al*, en un estudio más reciente, analizaron más de 350 SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) ubicados en cuatro regiones genómicas asociadas a enfermedad arterial coronaria en 19 poblaciones de Europa, Medio Oriente, África del Norte y Asia y observaron diferencias significativas en la estructura de la variación genética entre las diferentes poblaciones, identificando tres marcadores de riesgo de ECV situados en la región 9p21 (rs9632884, rs1537371 y rs1333042)¹³⁷.

Las primeras publicaciones basadas en los estudios de asociación de genoma completo, GWAS, se remontan al año 2005. Desde entonces, se han identificado nuevos *loci* de riesgo asociados a diferentes enfermedades, entre ellas la ECV.

Actualmente se han realizado más de 25 GWAS de ECV en la población general resultando en la identificación de más de 130 *loci* de riesgo cardiovascular¹³⁸⁻¹⁴². En relación a los síndromes coronarios, y en especial a la cardiopatía isquémica (CI), se ha observado un avance significativo en los últimos 10 años, tanto en el conocimiento de la arquitectura genética así como también en su presentación clínica. Además, varios estudios de cohortes han identificado que los antecedentes familiares de CI se asocian con un mayor riesgo de presentar la enfermedad¹⁴³. La heredabilidad estimada de la CI es del 35-55%¹⁴⁴. En el año 2015 se ha publicado un metaanálisis GWAS de 185.000 casos y controles con enfermedad arterial coronaria que ha permitido confirmar la mayoría de *loci* conocidos asociados a este subfenotipo así como identificar algunos de nuevos¹⁴⁵.

Una característica importante de los GWAS es la formación de grandes consorcios de investigación internacionales en relación a diferentes enfermedades. En lo que refiere a los subfenotipos de ECV analizados en este proyecto de tesis doctoral destacan los siguientes consorcios: *Coronary Artery Disease Genome-wide Replication and Meta-Analysis* (CARDIoGRAM)¹⁴⁶, *Welcome Trust Case Control Consortium* (WTCCC)¹⁴⁷, *Coronary*

*Artery Disease (C4D) Genetics Consortium*¹⁴⁸, *Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study*¹⁴⁹, *Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Consortium*¹⁵⁰, *BioBank Japan Project*¹³⁹, *Ottawa Heart Study*¹⁵¹, *International Stroke Genetics Consortium (ISGC)*¹⁵², entre otros.

El CARDIoGRAM es uno de los proyectos más amplios, enfocado al estudio genético de la enfermedad arterial coronaria (EAC)¹⁴⁶. Así *Shunkert et al*, analizaron un metaanálisis con 14 GWAS que comprendían 22.233 casos y 64.762 controles, y lograron identificar 13 nuevos *loci* de riesgo para el desarrollo de EAC. Además observaron que solo tres de los nuevos *loci* presentaban una asociación significativa con los FRCV tradicionales, mientras que la mayoría se encontraban en regiones de genes no implicados previamente en la patogénesis de la EAC. Finalmente, cinco de los nuevos *loci* de riesgo de EAC parecían tener efectos pleiotrópicos, evidenciando una sólida asociación con otras enfermedades¹⁵³.

El WTCCC¹⁴⁷ se formó también con el objeto de explorar la utilidad, el diseño y el análisis de los estudios GWAS y está formado por más de 50 grupos de investigación del Reino Unido. Una de las principales líneas de estudio ha sido la realización de un GWAS llevado a cabo en la población británica que incluía 16.179 individuos y las siguientes enfermedades: trastorno bipolar, enfermedad arterial coronaria (EAC), enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, hipertensión arterial, diabetes tipo 1 y tipo 2 y 3.000 controles. El hallazgo más notable en lo que respecta al fenotipo de EAC ha sido la sólida asociación con la región 9p21.3 evidenciando en esa región secuencias codificantes para dos inhibidores de cinasa dependientes de ciclina, el gen *CDKN2A* (*cyclin dependent kinase inhibitor 2A*) y el gen *CDKN2B* (*cyclin dependent kinase inhibitor 2B*). Además, esta última es inducida por el factor de crecimiento transformante beta (*transforming growth factor beta, TGF-β*), implicado en la patogénesis de la aterosclerosis¹⁵⁴. Otra asociación interesante ha sido con el SNP rs6922269 del gen *MTHFD1L* (*methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NAP+ dependent) 1 like*), la isoenzima mitocondrial de C1-tetrahydrofolato (THF) sintasa que actúa sobre la síntesis de purina y metionina¹⁵⁵ y finalmente una asociación modesta con el SNP (rs1994016) situada en el gen *ADAMTS17* (*desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*), una familia de genes implicada en la remodelación vascular y la aterosclerosis¹⁵⁶. Siguiendo esta línea, *Erdman et al*¹⁵⁷, realizaron un análisis de GWAS en tres etapas, donde estudiaron unas regiones cromosómicas específicas primeramente en 1.222 individuos alemanes con infarto agudo de miocardio y 1.298 controles, y luego replicaron estos datos sobre individuos de otros

países utilizando grandes consorcios como: el WTCCC ¹⁴⁷, el *German MI Family Study* (GerMIFS) ¹⁵⁸, el *Myocardial Infarction Genetics Consortium* (MIGC) ¹⁵⁹ y el *Italian Atherosclerosis, Thrombosis y Vascular Biology Working* (IATVB) ¹⁶⁰ identificando un nuevo locus de riesgo de EAC en el gen *MRAS* (*muscle RAS oncogene homolog*) de la region 3q22.3 y una sugerente asociación con un locus 12q24.31 cercano al gen de *HNF1A* (*hepatocyte nuclear factor 1 alpha*)-*C12orf43* (*chromosome 12 open reading frame 43*).

Los accidentes cerebrovasculares (ACV) han sido también muy estudiados desde el punto de vista genético y en particular los de origen isquémico que constituyen el 80% del total ¹⁶¹. Los estudios con gemelos han demostrado que la prevalencia de ACV es aproximadamente cinco veces mayor en gemelos monocigóticos que en gemelos dicigóticos ^{162,163}. La identificación de los *loci* de riesgo se ha enfocado en el estudio de genes de la hemostasia, genes que controlan el metabolismo de la homocisteína y de la enzima convertidora de angiotensina, entre otros ¹⁶².

El primer gran metaanálisis (METASTROKE) ¹⁴⁰ con 12.389 pacientes con ACV de origen isquémico y 62.004 controles de 15 cohortes europeas ha demostrado diferentes asociaciones genéticas entre los distintos subtipos de ACV isquémicos y sus mecanismos fisiopatológicos. Así, para los ACV de origen cardioembólico se han identificado asociaciones cercanas al gen *PITX2* (*paired-like homeodomain transcription factor 2*) y *ZFH3* (*zinc finger homeobox 3*). En cambio, en relación a los ACV de grandes vasos se han identificado como factores de riesgo variaciones situadas en el gen *HDAC9* (*histone deacetylase 9*) ubicado en la región 9p21. Siguiendo esta línea, *Ikram et al*, analizaron a través de GWAS cuatro cohortes del consorcio CHARGE donde incluyeron 19.602 individuos con un seguimiento de 11 años obteniendo 1.544 casos de ACV (1.164 de origen isquémico) y lograron identificar dos polimorfismos intergénicos de un solo nucleótido situados en el gen *NINJ2* (*ninjurin 2*) del cromosoma 12p13 asociados a ACV. A su vez, se demostró que rs12425791 se asociaba con un mayor riesgo de apoplejía total e isquémica ¹⁶⁴.

Malik et al, llevaron a cabo en un gran trabajo en el que participaron múltiples consorcios tales como *Atrial Fibrillation Consortium*, *CHARGE Consortium*, *International Genomics of Blood Pressure Consortium*, *INVENT Consortium*, *BioBank Japan Cooperative Hospital Group*, *COMPASS Consortium*, *EPIC-CVD Consortium*, *EPIC-InterAct Consortium*, *International Stroke Genetics Consortium*, *METASTROKE Consortium*, *Neurology Working Group of the CHARGE Consortium*, *NINDS Stroke Genetics Network* y *UK Young Lacunar DNA Study*.

Este estudio muy reciente es un metaanálisis de GWAS en el que se incluyen 521.612 individuos (67.162 casos y 454.450 controles) y donde se han identificado 22 nuevos *loci* de riesgo de ACV, de un total de 32. Además, se ha demostrado que varios de estos *loci* exhibían distintos patrones de asociación y pleiotropía para los distintos subtipos de ACV ¹⁶⁵.

En relación a la enfermedad arterial periférica (EAP), *Matsukura et al*, han llevado a cabo un GWAS con 785 casos y 3.383 controles en una población japonesa utilizando 431.666 SNP con el propósito de identificar *loci* de susceptibilidad para EAP. Así, han observado 3 nuevos *loci* de susceptibilidad para el desarrollo de EAP en la región genética *IPO5 (importin 5) / RAP2A (member of RAS oncogene family)*, en el gen *EDNRA (endothelin receptor type A)* y en el gen *HDAC9 (histone deacetylase 9)* y el mapeo del locus IPO5/RAP2A reveló que rs9584669 confería el mayor riesgo de desarrollo de EAP ¹³⁹.

A pesar del gran avance en la identificación de marcadores genéticos asociados al riesgo de desarrollar una ECV en la población sana, aún quedan muchos aspectos por resolver. El hecho de que sean enfermedades con una herencia poligénica y con un origen multifactorial implica que el conocimiento de sus causas sea de una gran complejidad. En un futuro se espera que estos descubrimientos sean de utilidad tanto en la prevención, en el tratamiento, como en el mayor conocimiento sobre el mecanismo etiopatogénico de la arteriosclerosis.

3.- Enfermedad cardiovascular en las enfermedades *IMID*

3.1.- Generalidades

La enfermedad cardiovascular (ECV) en las *IMIDs* ha sido reconocida como una importante causa de morbilidad y mortalidad, pero específicamente en la última década este tema ha suscitado gran interés debido al desarrollo de las terapias biológicas y a los recientes avances en el conocimiento de la inflamación crónica. Actualmente está ampliamente aceptado que el proceso inflamatorio contribuye de forma clara al desarrollo de la arteriosclerosis y que en determinadas condiciones patológicas la persistencia de la inflamación acentúa de forma independiente la formación de la placa de ateroma. En este sentido las enfermedades *IMID* constituyen un ejemplo claro de la relación existente entre inflamación crónica y aterosclerosis acelerada ^{166,167}.

La ECV puede producirse en pacientes con un diagnóstico ya establecido de *IMID* o ser la forma de presentación inicial en algunos pacientes sin un diagnóstico previo. Siguiendo esta línea, *Zoller et al* ¹⁶⁸ analizaron una gran cohorte de pacientes hospitalizados con 32 enfermedades *IMID* distintas y sin ECV previa y al realizar un seguimiento al año observaron que 27 y 12 de las 32 *IMIDs* analizadas se asociaban con mayor riesgo de eventos coronarios y de eventos cerebrovasculares, respectivamente.

Así mismo, la ECV puede ser asintomática o presentarse desde formas subclínicas leves a formas graves con elevado riesgo vital. La detección temprana es importante para instaurar con rapidez un tratamiento apropiado y reducir los factores de riesgo. Un control estricto de la inflamación sistémica crónica en estas enfermedades puede conducir a reducir el riesgo de ECV ⁸⁴.

Tradicionalmente se ha descrito que los pacientes con **artritis reumatoide** tienen un riesgo aumentado para el desarrollo de ECV entre 2 a 3 veces más que la población general ¹⁶⁹. La prevalencia global estimada de desarrollar ECV se sitúa alrededor del 12% ¹⁷⁰, aunque esta cifra puede variar en función de las distintas series, por ejemplo en un metaanálisis realizado en América Latina se objetivó una prevalencia de hasta el 35,3% según el país estudiado ¹⁷¹. En una cohorte europea, *De María et al* ¹⁷², comparando pacientes con AR y controles sanos observaron una mayor prevalencia en el grupo de pacientes con angina (18% vs 8%), con IAM (7% vs 5%) y con ACV (5% vs 1%), respectivamente. Mientras que *Balsa et al* en una cohorte

española de 200 pacientes con AR establecida y avanzada describieron una prevalencia del 5% de pacientes con historia de IAM y del 1% de pacientes con ACV ¹⁷³. Desde hace más de 2 décadas se ha demostrado que los pacientes con AR presentan una mayor mortalidad cardiovascular que la población de la misma edad y género. Existen evidencias que la sitúan entre el 30-60% siendo la angina y el IAM las causas más frecuentes de muerte en estos pacientes ^{174,175}. En un gran metaanálisis de 24 estudios de cohortes observaron que la mortalidad por ECV fue mayor al 50% en pacientes con AR en comparación con la población sana y describieron un aumento relativo en el riesgo de IAM y ACV del 68% y 41%, respectivamente ¹⁷⁶. En relación a los ACV, *Behrouz et al* ¹⁷⁷ en su estudio danés reciente con 18.247 pacientes con AR, seguidos durante una media de 4,8 años, concluyen que los pacientes con AR tienen un 30% más de riesgo de desarrollar un ACV de causa isquémica en comparación con aquellos que no tienen la AR.

Como se comentó previamente, valorar el riesgo cardiovascular en estos pacientes es sumamente necesario, y en especial para pacientes con AR. Por tal motivo, la Liga Europea contra el Reumatismo (*EULAR*) continúa realizando varios intentos para mejorar la predicción del riesgo de ECV en estos pacientes y ha publicado tablas de estratificación de riesgo cardiovascular así como recomendaciones de riesgo de ECV, pero con limitaciones significativas hasta el momento ¹⁷⁸. Es bien conocido que el tratamiento de la enfermedad disminuye el riesgo de mortalidad CV. Sin embargo, los estudios publicados en relación al uso de los glucocorticosteroides (GC) demuestran resultados contradictorios en cuanto a su impacto en el riesgo de ECV. Existen numerosos estudios que demuestran considerables efectos perjudiciales de los GC sobre la presión arterial, la resistencia a la insulina, el peso corporal y la distribución de la grasa ¹⁷⁹. Además, el uso de dosis acumulativas altas de GC se ha asociado con un aumento de la mortalidad por ECV sobre todo por IAM e insuficiencia cardíaca ¹⁸⁰⁻¹⁸².

Determinados estudios poblacionales recientes han demostrado que el empleo de tratamientos biológicos en pacientes con AR reduce la mortalidad global y, en particular, la mortalidad CV. Datos recientes del Consorcio de Investigadores de Reumatología de Norteamérica (*CORRONA Registry*), describieron que el riesgo de desarrollar un IAM, un ataque isquémico transitorio o un ACV era aproximadamente 60% menor en los pacientes con AR tratados con un fármaco anti-*TNF-α* en comparación con los pacientes que recibieron terapia no biológica ^{183,184}.

La supervivencia global de los pacientes con **lupus eritematoso sistémico** ha mejorado de manera considerable en las últimas décadas, sin embargo, el riesgo de ECV sigue siendo elevado a pesar de los avances terapéuticos y el diagnóstico precoz. Existe una fuerte evidencia epidemiológica de que el riesgo para el desarrollo de ECV en estos pacientes en comparación con la población general es superior a 2 ¹⁸⁵. Las mujeres con LES tienen entre 5-6 veces más riesgo de sufrir un IAM que las mujeres no lúpicas de edad similar y en particular entre los 35 y 44 años de edad ¹⁸⁶. La edad media del primer episodio coronario en estos pacientes es de aproximadamente 50 años, en contraposición a los 65 años de la población general ¹⁸⁷. La prevalencia global de ECV no se conoce con exactitud, aunque oscila entre un 6 y un 20% según las distintas series, siendo claramente superior que en la población general ^{83,188,189}. La prevalencia de ACV en pacientes con LES oscila entre el 2% y el 15%. En un reciente estudio sueco observaron que los pacientes con LES tienen el doble de riesgo de desarrollo de ACV isquémico en comparación a la población sana, en especial las mujeres e individuos menores de 50 años ¹⁹⁰. El registro nacional de pacientes con LES de la Sociedad Española de Reumatología (RELESSER) recientemente ha publicado cifras de prevalencia de ECV del 7,4%, siendo del 5,7% para el ACV, 3,8% para la enfermedad isquémica cardíaca (IAM y angor) y del 2,2% para los pacientes con EAP ¹⁹¹.

Hace más de 30 años, *Urowitz et al*, observaron que la mortalidad en el LES seguía un patrón bimodal en el que aproximadamente la mitad de las muertes se producían durante el primer año de la enfermedad, en relación con la actividad del lupus y con la presencia de infecciones, y la otra mitad, tras una media de 8 años de evolución, sobre todo por un IAM ¹⁹². Desde entonces, muchos estudios han demostrado un aumento significativo de la morbilidad y de la mortalidad por ECV en el LES. Sin embargo, este patrón bimodal clásico podría haber cambiado en los últimos años. El aumento del riesgo de desarrollar un IAM o una angina de pecho entre los pacientes con LES ha sido estudiado en distintos estudios ¹⁹³. En su estudio sueco llevado a cabo por *Bengtsson et al*, se observó que el riesgo de desarrollar un IAM o un ACV en pacientes con LES era 1,27 veces más elevado que en la población general, mientras que entre las mujeres de 40 a 49 años el riesgo fue 8 veces mayor, en un período de seguimiento de 7 años. En esa misma línea, *Skaggs et al* demostraron que los pacientes con LES presentan un riesgo de desarrollar un IAM 10 veces superior a la población general, siendo este mucho más frecuente en mujeres lúpicas de entre 35 a 44 años de edad ¹⁹⁴.

En los últimos años se ha observado que los pacientes con **psoriasis**, en especial los jóvenes, con formas más graves y/o **artritis psoriásica**, presentan un mayor riesgo para el desarrollo de ECV ¹⁹⁵⁻¹⁹⁷. Así, en una cohorte del Reino Unido, con más de 130.000 pacientes con Ps y 557.000 controles, se ha observado que la Ps es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de IAM ¹⁹⁸. En un registro de Israel, efectuado a más de 46.000 pacientes, se ha descrito la importante asociación de la Ps con el desarrollo de ECV ¹⁹⁹. Utilizando una metodología similar, *Kimball et al* analizaron a 1.591 pacientes con Ps moderada o grave y estimaron un mayor riesgo de desarrollar ECV para aquellos pacientes psoriásicos en comparación con la población sana, obteniendo cifras del 28% para el IAM y del 11,8% para el ACV a los 10 años de evolución ²⁰⁰, mientras que *Ahlehoff et al* en su cohorte danesa de más de 34.000 pacientes con Ps y con APs, concluyeron que ambas enfermedades se asocian a mayor riesgo de ECV en comparación con población sana ²⁰¹. En relación al ACV, *Gelfand et al* en su cohorte de 3.603 pacientes con Ps grave, demuestran que estos pacientes tienen un riesgo mayor al 44% de desarrollar un ACV que la población sana ²⁰². La asociación entre EAP y estas *IMIDs* ha sido menos estudiada. Hasta hace pocos años, cuatro estudios han valorado el riesgo de EAP en pacientes psoriásicos. Una asociación significativa se ha observado en 3 de ellos ²⁰³. La prevalencia de desarrollar ECV en pacientes con APs es de alrededor del 10% según las mayores series ^{170,204}. Así, *Han et al* estudiaron 3.066 pacientes con APs y 12.264 controles y observaron una mayor prevalencia de desarrollar ECV en los pacientes con APs en comparación con el grupo control, siendo del 7,3% vs 5,5% para el IAM, del 2,9% vs 1,9% para la EAP y del 3,1% vs 2,3% para el ACV respectivamente ²⁰⁵. En esa línea, *Gladman et al* en su cohorte de 648 pacientes con APs observan las siguientes cifras de comorbilidades: 50 presentaron IAM, 33 angina, 12 insuficiencia cardíaca congestiva y 8 ACV, y concluyen que existe un mayor riesgo de ECV en comparación con la población sana, siendo la Ps grave un importante predictor del mismo ²⁰⁶.

En un estudio reciente, *Boehncke et al*, han demostrado que los tratamiento sistémicos (terapia antiinflamatoria continua, la ciclosporina, el metotrexato, la acitretina y agentes biológicos) para los pacientes con Ps y con APs presentan un potencial efecto beneficioso cardioprotector ya que actuarían disminuyendo la aterosclerosis que se ve influenciada por la inflamación crónica de estas enfermedades ²⁰. De forma similar *Wu et al* en su gran cohorte de pacientes con Ps y con APs observaron que aquellos pacientes tratados con fármacos anti-*TNF-α*

presentaron una reducción del 44% en el desarrollo de IAM en comparación con los pacientes que reciben tratamientos tópicos ²⁰⁷.

Las **enfermedades inflamatorias intestinales**, tanto la enfermedad de Crohn como la colitis ulcerosa, al igual que las *IMIDs* comentadas previamente, presentan un mayor riesgo de desarrollar una ECV. A pesar de ello, existen pocos estudios que hayan investigado el riesgo de ECV en los pacientes con EII y los resultados son contradictorios, con un ligero predominio de los estudios que sugieren un aumento del riesgo de ECV en los pacientes con EII en comparación con los individuos sin la enfermedad ^{51,208-211}. *Singh et al*, en su metaanálisis de más de 123.900 pacientes con EII observaron un incremento en el riesgo de desarrollar enfermedad cardíaca isquémica del 19% así como un modesto aumento de riesgo de ACV en especial en mujeres jóvenes tanto para pacientes con EC como para pacientes con CU ²¹². En relación al ACV, algunas series estiman que entre el 1,3% al 6,4% de los adultos que presentan una EII desarrollaran en algún momento del curso de su enfermedad esta complicación. Así, *Katsanos et al* ²¹³ observan en su trabajo que la prevalencia de EII fue mayor en pacientes con CU y ACV isquémico (88,2%) que en pacientes con EC y ACV isquémico (43,3%). *Yuan et al*, en su reciente metaanálisis de ocho cohortes estudiadas, confirman la asociación modesta pero estadísticamente significativa entre pacientes con EII y el riesgo de desarrollar un ACV ²¹⁴. En un estudio francés reciente en donde se incluyeron más de 200.000 pacientes jóvenes con EII, han observado prevalencias del 57,2% para el desarrollo de cardiopatía isquémica, del 30,9% para ACV y del 11,9% para EAP ²¹⁵. Contrariamente a lo que se ha sugerido en la literatura existente, *Sridhar et al* en su estudio concluyen que los pacientes hospitalizados con EII podrían tener en realidad un menor riesgo de IAM y de ACV en comparación con los pacientes hospitalizados sin EII ²¹⁶.

Filimon et al concluyen en su revisión que los pacientes con EII tienen un incremento en el riesgo de desarrollar IAM, ACV y mortalidad por ECV, en especial durante los períodos de actividad de la enfermedad ²¹⁷. Así, *Kristensen et al* en su gran cohorte danesa, obtienen similares resultados al estudiar pacientes con EII activa y el incremento de riesgo para desarrollar ECV y mortalidad por esta causa ²¹⁸. Contrariamente a lo publicado, *Dorn et al* en su metaanálisis de once estudios, en donde incluían más de 14.000 pacientes con EII, no observaron un incremento en la mortalidad por ECV ²¹⁹.

3.2.- Factores de riesgo cardiovascular no genéticos en las *IMID*

Tal y como se ha comentado previamente, los FRCV no genéticos se asocian a las enfermedades *IMID*, entre los que destacan: la edad, el género, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, la dislipemia, el tabaquismo, la obesidad y el sedentarismo.

El tabaquismo es uno de los FRCV más prevalentes en la **artritis reumatoide** y tiene una especial importancia porque existen cada vez más evidencias que permiten afirmar que es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de esta enfermedad ²²⁰. *Solomon et al* estudiaron la prevalencia de algunos FRCV en un grupo de mujeres con AR y lo compararon con un grupo control, y objetivaron la presencia de HTA (33,7% vs 29,5%), de tabaquismo (27% vs 29,6%), de DM (4,7% vs 4,9%) y de DL (34% vs 33%) respectivamente, con un leve predominio en el grupo de pacientes con AR pero sin diferencias estadísticamente significativas ²²¹. Sin embargo, *Boyer et al* en un metaanálisis que incluyó a 2.956 pacientes y 3.713 controles, demostraron que la DM, el tabaquismo y la DL, eran los FRCV más prevalentes en los pacientes con AR y estas diferencias alcanzaron la significación estadística ²²². *Balsa et al* describen la prevalencia de FRCV en pacientes españoles con AR y objetivaron HTA en el 41%, DL en el 46% y tabaquismo en el 25% de los casos ¹⁷³. Los pacientes con AR son por lo general físicamente menos activos si los comparamos con la población general y esto es debido a factores como la edad, el género, la presencia de dolor, las deformidades y la limitación funcional. Existen pocos estudios que analicen la actividad física en los pacientes con AR y su asociación a ECV. *Fenton et al* en su estudio investigaron la relación entre el sedentarismo evaluado a través de la actividad física ligera y el riesgo a 10 años de desarrollar ECV y concluyen que existe un descenso en el riesgo de ECV al realizar mayor actividad física ligera ²²³.

La mayoría de los estudios epidemiológicos han demostrado una mayor prevalencia de los FRCV tradicionales en pacientes con **lupus eritematoso sistémico** respecto a la población general. En un estudio transversal, *Bruce et al* ²²⁴ compararon la prevalencia de FRCV en 250 mujeres lúpicas sin antecedentes de una ECV con 250 mujeres sanas, y observaron que la HTA y la DM fueron los FRCV más frecuentes en las pacientes lúpicas de forma significativa. Unos resultados similares fueron publicados por *Petri et al* ²²⁵ al estudiar la prevalencia de los FRCV tradicionales en la cohorte Johns Hopkins de enfermos lúpicos, y objetivaron que el 53% de los pacientes presentaban tres o más FRCV tradicionales, y que los más frecuentes eran el

sedentarismo (70%), la obesidad (56%), la hipercolesterolemia (56%) y el tabaquismo (56%). Los pacientes lúpicos presentan un perfil lipídico proaterogénico consistente en valores elevados de triglicéridos, colesterol VLDL (*very low-density lipoproteins*) y LDL (*low-density lipoproteins*) y bajos valores de colesterol HDL (*high-density lipoproteins*)²²⁶. El sedentarismo en los pacientes con LES es también frecuente, y se ha descrito en hasta en 70% de los casos. Principalmente, se vincula a una disminución de la capacidad aeróbica, a una disminución de la capacidad de ejercicio y a la presencia de fatiga persistente²²⁴. *Fernández Nebro et al*, en su cohorte de 3.658 pacientes con LES describen que FRCV como la DM, la HTA, el tabaquismo y la DL se asociaron de forma independiente con ECV, teniendo en cuenta que la DL duplica el riesgo de desarrollo de ECV en estos pacientes¹⁹¹.

Los pacientes con **psoriasis** pueden tener una mayor predisposición al desarrollo de DM y de HTA. Así lo demuestra un estudio poblacional efectuado en el Reino Unido con más de 130.000 pacientes con Ps en donde se ha observado una mayor prevalencia de DM, de HTA, de DL, de obesidad y de tabaquismo en los pacientes con Ps leve y de DM, de obesidad y de tabaquismo en los pacientes con psoriasis graves²²⁷. Un estudio de 200 pacientes psoriásicos en Italia reportó que 41,5% tenían DM comparados con sólo 24,3% de los controles²²⁸. Así mismo, en un estudio prospectivo que utilizó una base de datos de más de 40.000 pacientes dermatológicos, se ha demostrado que los pacientes con Ps se asociaban a un riesgo mayor de 1,47 veces de presentar DM en comparación con los pacientes con otras dermatopatías. Numerosos estudios han demostrado mayor prevalencia de tabaquismo en pacientes psoriásicos. *Fortes et al*²²⁹ reportaron correlación entre la gravedad de la enfermedad y el número de cigarrillos consumidos por día, resultados que han sido respaldados por otros autores. En este estudio, además, los pacientes que fumaban más de 10 cigarrillos al día tenían psoriasis más graves que sus controles. Un tema de creciente interés y objeto de varias revisiones es la asociación entre la obesidad y la Ps. Primeramente, se describió en un estudio sueco que incluía a 159.200 individuos seguidos durante un período de 10 años. Posteriormente, numerosas publicaciones han confirmado esta asociación^{195,230-232}. En un estudio de casos-contróles con 560 pacientes italianos con Ps, se ha comprobado que la probabilidad de desarrollar la enfermedad en una población con un índice de masa corporal entre 26 y 29 o mayor de 30 fue superior que en los controles no obesos²³³. De forma similar sucede en los pacientes con **artritis psoriásica** en los cuales se observa una mayor asociación con la HTA y la DL²³⁴. *Jamnitski et al* realizaron una extensa revisión de veintiocho trabajos y

objetivaron que los FRCV tradicionales más prevalentes en pacientes con APs eran la HTA, la obesidad, la DM y el hábito tabáquico ²³⁵. *Han et al* en un estudio donde se valoró la prevalencia de ECV y FRCV en 3.066 pacientes con APs y 12.264 controles sanos, confirmaron lo expuesto por *Jamnistski et al*, al demostrar una mayor prevalencia de HTA (28,5% vs 22,3%), de DM (11,3% vs 7,3%) y de DL (27,8% vs 23,7%) en los pacientes con APs en comparación con la población general ²⁰⁵.

En relación a los pacientes con **enfermedades inflamatorias intestinales**, es conocido que presentan un mayor riesgo de desarrollar una ECV aunque hay revisiones con resultados contradictorios ²³⁶. Así, en una gran cohorte de pacientes con EII, *Sridhar et al* analizaron la prevalencia de los FRCV entre pacientes con EC y CU, y se ha demostrado que la prevalencia de HTA fue de 18% vs 18,2%, la de DM fue de 7,6% vs 8,6%, y la de DL fue de 4,4% vs 5,7%, respectivamente, sin objetivarse diferencias significativas. Lo contrario ocurría al comparar población sana con pacientes con EII en donde se observó predominio significativo de los FRCV en la población sana ²¹⁶. De igual manera, *Yarur et al*, al comparar un grupo de pacientes con EII con un grupo control de la población general, observaron que los pacientes con EII tenían un menor riesgo de desarrollar HTA (20% vs 39%), DM (6% vs 15%), DL (36 vs 37%) y obesidad (15% vs 30%) que la población general ²⁰⁹. Al igual que en la artritis reumatoide, el hábito tabáquico es un FRCV directamente relacionado con el desarrollo de EII y se asocia a un aumento del riesgo de desarrollar una ECV pero esta asociación está claramente diferenciada en relación a la CU y a la EC. La CU es una enfermedad que afecta en general a los pacientes no fumadores y está ampliamente demostrado que el hábito tabáquico tiene una influencia beneficiosa sobre su evolución mientras que sobre los pacientes con EC presenta una influencia negativa (de riesgo). En este sentido, la prevalencia del tabaquismo en los pacientes con EC ha sido muy variable según los diferentes estudios. En un estudio reciente del Reino Unido, la prevalencia de tabaquismo en pacientes con EC fue del 20% y fue inferior a la de la población general del Reino Unido del 22% ²³⁷.

Además de los FRCV mencionados, en algunas enfermedades *IMID* se ha descrito la presencia de **FRCV específicos** que de forma aislada o en combinación con los anteriores, incrementan la probabilidad de desarrollar una ECV y esta probabilidad esta en estrecha relación con la actividad de la enfermedad a lo largo del seguimiento. Así, en la artritis reumatoide por ejemplo, se ha descrito que la presencia de anticuerpos antipeptidos cíclicos citrulinados, del factor reumatoide o la presencia de los alelos *HLA-DRB1*0401* y *HLA-DRB1*0404* son

factores determinantes para el desarrollo de ECV y así lo determina *Ramírez et al* en su población estudiada con 119 pacientes con AR en donde observan una prevalencia del 79,8% de positividad tanto para FR como para anticuerpos anti-CCP²³⁸. De forma similar, aunque con algunas controversias, ocurre en los pacientes con LES con positividad para los anticuerpos antifosfolípidos (AAF) que favorecen el desarrollo de aterosclerosis acelerada y en consecuencia de una ECV. Varios estudios han demostrado una asociación entre la existencia de AAF y una mayor prevalencia de IAM y ACV. Sin embargo, este hecho podría deberse más a su efecto protrombótico que a su capacidad proaterogénica.²³⁹⁻²⁴¹ En un estudio publicado por *Gustaffson et al*²⁴², se observó que la presencia de los anticuerpos AAF se asociaba a 4 veces más riesgo de desarrollar un IAM, un ACV o una EAP que en los pacientes sin estos anticuerpos. En relación a la psoriasis y la artritis psoriásica, existen varios estudios que evidencian que la gravedad de la afectación cutánea en pacientes con psoriasis y la gravedad de la afectación articular en pacientes con artritis psoriásica son factores predictores de desarrollo de ECV^{197,200,201,243}. En relación a los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, *Kristensen et al* en su gran cohorte de más de 20.000 pacientes con EII, examinaron la prevalencia de IAM y de ACV por ECV, y observaron que durante los periodos de actividad de la enfermedad estos eventos estaban incrementados de forma significativa en comparación con los controles sanos y que en los periodos de remisión su riesgo de presentación se reducía²¹⁸.

En resumen, los pacientes con enfermedades *IMID* tienen un elevado riesgo cardiovascular, determinado por la presencia de los FRCV. Por este motivo, en el momento del diagnóstico, es imprescindible estratificar al paciente en función del riesgo cardiovascular e incorporar este riesgo al decidir la estrategia terapéutica.

3.3.- Factores de riesgo cardiovascular genéticos en las *IMID*

Tal y como se ha comentado previamente, la identificación de *loci* que predisponen a distintas enfermedades a través de los GWAS ha aumentado en los últimos años. Así, se han identificado más de 350 *loci* de susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades *IMID*⁵⁵⁻⁵⁹ y al mismo tiempo, se han realizado más de 25 GWAS¹³⁸⁻¹⁴² de ECV en la población general resultando en la identificación de más de 130 *loci* de riesgo cardiovascular para los subfenotipos más estudiados tales como los SCA representados por la angina, la cardiopatía isquémica, el IAM y la enfermedad arterial coronaria, entre otros; y los ACV de origen

isquémico como de origen hemorrágico. Sin embargo, a pesar de este gran avance sobre la identificación de variaciones genéticas para el desarrollo de estas enfermedades así como para el desarrollo de ECV en la población general, aún se sabe poco sobre la variación genética que contribuye a los distintos subfenotipos clínicos relevantes dentro de cada enfermedad *IMID*. Es conocido, además, que la inflamación y la respuesta inmune del huésped son factores importantes para el riesgo de ECV en la población sana, por lo que los *loci* de susceptibilidad para las *IMIDs* también podrían contribuir al aumento del riesgo de ECV.

La susceptibilidad genética es un factor de riesgo importante para las *IMIDs*, y diferentes genes de riesgo están asociados a ECV. Hasta el momento, los estudios de los FRCV genéticos en estas enfermedades se ha realizado en forma separada y en diferentes enfermedades, siendo dos de las más estudiadas la AR y el LES, no existiendo evidencia publicada de un estudio que analice estas diferentes *IMIDs* y sus FRCV genéticos en forma global.

La **AR** ha sido la enfermedad mayormente estudiada en relación a sus FRCV genéticos. Como se comentó previamente, es una enfermedad inflamatoria crónica asociada a una elevada morbimortalidad y a un marcado deterioro funcional progresivo por lo que la detección de marcadores genéticos tiene una relevancia potencial para identificar a las personas con mayor riesgo de contraer formas más graves de la enfermedad ²⁴⁴. Además de la fuerte asociación entre los alelos de riesgo del gen *HLA-DRB1*04* y la ECV, se han estudiado otros genes implicados en otros procesos tales como la inflamación, el metabolismo, la respuesta inmune...etc que tienen relación con el desarrollo de ECV en estos pacientes. Algunos de estos genes son: el *TNF-α* (rs1800629) ²⁴⁵, el gen *MTHFR* (rs1801131) ²⁴⁶ y el *CCR5* (rs333) ²⁴⁷, la *IL6* (rs1800795) ²⁴⁸, el *TGFBI* (rs1800470) ²⁴⁹, el *NFKBI* (rs28362491) ²⁵⁰, entre otros. Si bien la lista es larga, es necesario resaltar que las asociaciones observadas para la mayoría de estos polimorfismos no se han podido replicar por lo que es necesario llevar a cabo nuevos estudios para poder definir con precisión la contribución de estas variantes de ECV en los pacientes con AR. *López-Mejías et al* han demostrado que los polimorfismos genéticos asociados a aterosclerosis en la población general no siempre están involucrados en el desarrollo de ECV en pacientes con AR. Así analizaron la posible asociación de polimorfismos con ECV en 2.609 pacientes con AR en el sur de España y concluyeron que no hubo diferencias estadísticamente significativas al analizar cada polimorfismo según presencia o ausencia de ECV y aterosclerosis subclínica ²⁵¹.

En los pacientes con **LES** por ejemplo, se ha demostrado que el factor regulador del interferón 8 (*Interferon Regulatory Factor 8, IRF8*)²⁵² está asociada con el desarrollo de cardiopatía isquémica y que un SNP (rs10181656) del transductor de señal y el activador de la transcripción 4 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 4, STAT4*) se asocia con anticuerpos antifosfolípidos y ACV isquémico²⁵³. Otros genes de riesgo que se han asociado a ECV en estos pacientes incluyen el gen de la lectina de unión a la manosa (*mannose-binding lectin, MBL*), el gen que codifica para la proteína C reactiva y el alelo *HLA-DRB1*04/*13*^{254,255}.

Un estudio muy reciente de *Leonard et al* en donde se analizó las variaciones genéticas de ECV en pacientes con LES y con AR, identificó dos nuevos *loci* de riesgo, la interleuquina 19 (*Interleukin 19, IL19*) y la *SRP54-AS1* (*Signal Recognition Particle 54-Anti-Sense 1*). El locus de riesgo de *IL19* se encuentra en un grupo de genes que codifican varias interleuquinas, incluidas *IL19* e *IL10*. Así tres SNP del gen de *IL19* (rs74148801, rs17581834 y rs11119598) presentaron una asociación con el riesgo de desarrollo de ACV e IAM en pacientes con LES y con AR. Previamente varios SNP en esta región también fueron asociados tanto al riesgo de desarrollar un LES como una ECV en la población general. Sin embargo ningún estudio previo había identificado esta asociación entre LES y ECV. El *SRP54-AS1* se ha asociado con el desarrollo de ACV en pacientes con LES no así en pacientes con AR²⁵⁶.

Los pacientes con **Ps** también se asocian con una mayor incidencia de comorbilidades cardiovasculares, que incluyen a la enfermedad arterial coronaria y otros FRCV²⁵⁷. Esto se debe a la probable existencia de FRCV genéticos compartidos entre la ECV y esta enfermedad. Así *Lu et al*²⁵⁸ analizaron variaciones genéticas de riesgo de ECV y de enfermedad metabólica en cuatro cohortes de GWAS de pacientes con Ps: la cohorte GAIN que incluía 1.368 casos de psoriasis y 1.348 controles²⁵⁹, una cohorte sueca de psoriasis no publicada que incluía 725 casos y 438 controles, una cohorte de la Universidad de Washington y de la Universidad de California que incluía 211 casos de psoriasis y 502 controles²⁶⁰ y la cohorte del WTCCC que incluía 2.178 casos de psoriasis y 5.175 controles²⁶¹. Tras extensos análisis de asociación génica, los autores concluyen que la variante genética rs3184504 se asocia a un mayor riesgo de EAC en pacientes con Ps. Así mismo los datos presentados sugieren que en los pacientes con Ps determinadas variantes genéticas comunes situadas en los genes *HLA-Cw*0602* (rs805303), *FUT2* (*fucosyltransferase 2*) (rs492602), *UBE2L3* (*ubiquitin conjugating enzyme*

E2 L3) (rs181362), *SH2B3* (*SH2B adaptor protein 3*) (rs3184504) predisponen a un mayor riesgo de DL, de HTA y de EAC ²⁵⁸.

Hasta la fecha de presentación del presente proyecto, no existen en la evidencia científica publicaciones con grandes cohortes de pacientes que analicen la asociación de los FRCV genéticos en los pacientes con **EII**.

HIPÓTESIS

La **hipótesis de trabajo** del presente proyecto de tesis doctoral se sustenta en que los efectos de los factores de riesgo cardiovascular no genéticos y genéticos en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular en población sana son similares a los efectos en la población de pacientes con enfermedades inflamatorias inmune mediadas (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa).

Analizar la prevalencia de estos FRCV y de la propia ECV en una gran cohorte de pacientes con estas enfermedades inflamatorias inmune mediadas, así como identificar factores genéticos asociados a la enfermedad cardiovascular en este grupo de pacientes, permitirá determinar el efecto de estos factores en el desarrollo de la propia enfermedad cardiovascular.

OBJETIVOS

1.- Objetivos primarios

1.- Analizar en varias enfermedades inflamatorias inmune mediadas (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) la influencia de las variables demográficas y clínicas en la prevalencia de la enfermedad cardiovascular

2.- Investigar la base genética del riesgo de enfermedad cardiovascular en varias enfermedades inflamatorias inmune mediadas (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa)

2.- Objetivos secundarios

1.- Analizar en varias enfermedades inflamatorias inmune mediadas la influencia de las variables demográficas en la prevalencia de la enfermedad cardiovascular

2.- Analizar en varias enfermedades inflamatorias inmune mediadas la influencia de las variables clínicas en la prevalencia de la enfermedad cardiovascular

3.- Analizar en varias enfermedades inflamatorias inmune mediadas la influencia de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales en la prevalencia de la enfermedad cardiovascular

4.- Comparar las prevalencias estandarizadas de enfermedad cardiovascular entre las distintas enfermedades inflamatorias inmune mediadas

5.- Analizar la asociación genética de los *loci* de riesgo cardiovascular establecidos en cada una de las enfermedades inflamatorias inmune mediadas

6.- Analizar la asociación genética de los *loci* de riesgo establecidos para las enfermedades inflamatorias inmune mediadas con la enfermedad cardiovascular

7.- Identificar patrones genéticos asociados al riesgo de enfermedad cardiovascular en las enfermedades inflamatorias inmune mediadas

RESULTADOS

1.- Trabajo 1

Cardiovascular disease in immune-mediated inflammatory diseases: A cross-sectional analysis of 6 cohorts. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(26)e7308.

1.1.- Resumen de la metodología

Estudio transversal y multicéntrico de una gran cohorte de pacientes con enfermedades inflamatorias mediadas por inmunidad (*IMID*): artritis reumatoide (AR), artritis psoriásica (APs), psoriasis (Ps), lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad de Crohn (EC) y colitis ulcerosa (CU). Los datos de los pacientes incluidos en el estudio se recogieron entre junio de 2007 y diciembre de 2010, todos procedentes del Consorcio *IMID* (*IMIDC*), constituido por una red española de investigadores clínicos cuyo objetivo es caracterizar la base genética de las enfermedades *IMID* más prevalentes. Todos los pacientes fueron recogidos de las consultas externas de más de 80 departamentos de reumatología, dermatología y gastroenterología, de 51 hospitales universitarios españoles pertenecientes al *IMIDC*. Debido a que el objetivo del *IMIDC* es investigar sobre los determinantes genómicos comunes entre las distintas enfermedades *IMID*, se incluyeron enfermedades con una superposición genética conocida o sospechada. Además, se seleccionaron las condiciones con una mayor carga asociada, en términos de prevalencia, discapacidad y mortalidad. Todos los sujetos firmaron el consentimiento informado previo a su inclusión al estudio. Todos los pacientes con AR cumplieron los criterios diagnósticos del *American College of Rheumatology* (ACR) de 1987, así como los pacientes con APs cumplieron los criterios CASPAR, todos los pacientes con Ps cumplieron los criterios clínicos de psoriasis en placa, todos los pacientes con LES cumplieron con los criterios de ACR de 1997 y todos los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal cumplieron los criterios diagnósticos de Lennard-Jones. En el momento de la inclusión, se recopilaron y registraron los datos demográficos y clínicos siguiendo un protocolo estándar de cuestionarios, completado después de una entrevista clínica con preguntas cerradas y una revisión de registros médicos. Algunos ítems de los cuestionarios eran comunes a todas las enfermedades (datos demográficos, factores de riesgo cardiovascular y eventos cardiovasculares), mientras que otros ítems eran específicos para cada *IMID*. Los protocolos y los cuestionarios fueron revisados y aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del *Institut de Recerca Vall d'Hebron*. Finalmente, el estudio se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki.

La variable dependiente en nuestro análisis fue la presencia de enfermedad cardiovascular. Clínicamente, la ECV fue definida como la presencia o ausencia de al menos una de las siguientes manifestaciones cardiovasculares desarrollada posterior al diagnóstico de la enfermedad *IMID*: 1) Cardiopatía isquémica: comprende a los pacientes con infarto agudo de miocardio, angina de pecho estable y angina de pecho inestable; 2) Accidente cerebrovascular: engloba a los casos de ACV de etiología isquémica, de etiología hemorrágica y a los accidentes isquémicos transitorios y 3) Enfermedad arterial periférica de causa isquémica o de causa ocliterante.

Los sujetos diagnosticados con ECV antes del diagnóstico de la enfermedad *IMID* fueron excluidos del análisis. Además, se analizaron la presencia o ausencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales como la hipertensión arterial, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad, la dislipemia y el tabaquismo, en todas las cohortes (a excepción de la presencia de la hipertensión arterial en pacientes con APs ya que por un error informático no se disponía de esa información cuando se registró en nuestros cuestionarios basados en la web). Otras variables comunes a todas las cohortes fueron: el género; la edad en la inclusión en el estudio; el tiempo transcurrido desde el diagnóstico de enfermedad *IMID* hasta la inclusión en el estudio (en años); el número de fármacos modificadores de la enfermedad utilizados tales como el metotrexato, los antipalúdicos, la leflunomida, la sulfasalazina, la ciclofosfamida, la ciclosporina y la acitretina; y el uso de terapias biológicas como los fármacos anti-*TNF- α* , el rituximab, el abatacept, el efalizumab y el ustekinumab. En cada cohorte *IMID*, también se analizaron variables relacionadas con la enfermedad. En pacientes con AR por ejemplo la presencia de factor reumatoide, o la presencia de anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados y las manifestaciones extraarticulares. En la cohorte de pacientes con APs se analizaron la presencia de afectación axial y/o periférica y la gravedad de la enfermedad cutánea (utilizando el índice de gravedad del área de Ps). Este último también se analizó en pacientes con Ps, al igual que la presencia de artritis asociada. En pacientes con LES, se anotaron variables relacionadas con la enfermedad, como la presencia de manifestaciones graves del sistema nervioso central, de serositis, de artritis, de síndrome antifosfolípido o de anticuerpos antifosfolípidos. En la cohorte de pacientes con EC y con CU también se analizaron la presencia de manifestaciones extraintestinales.

Las variables continuas se describieron utilizando la mediana y el rango intercuartílico. Las variables categóricas fueron descritas usando proporciones. La comparación entre las variables

demográficas y aquellas relacionadas con la ECV entre las distintas enfermedades *IMID* se realizó mediante un análisis de varianza o prueba χ^2 , respectivamente. Las comparaciones *post hoc* se ajustaron usando la corrección de Bonferroni. Primeramente se analizó en cada enfermedad *IMID* la asociación entre las variables demográficas y relacionadas con la clínica y la ECV usando modelos de regresión logística bivariados y multivariados. La selección del modelo se realizó utilizando el criterio de información Bayesiano. Seguidamente, para evaluar la asociación entre las variables demográficas y clínicas comunes y la ECV en las *IMID* en forma global, se realizaron modelos de regresión logística bivariados y multivariados de efectos mixtos. Finalmente, para comparar la prevalencia de la ECV entre las diferentes enfermedades *IMID* se realizaron modelos de regresión logística ajustados por enfermedad, factores demográficos, FRCV tradicionales y variables comunes relacionadas con la enfermedad.

1.2.- Resumen de los resultados

Se incluyeron en el análisis un total de 9.951 pacientes. Los pacientes con EC fueron los más jóvenes (mediana de la edad de 39 años), mientras que los pacientes con AR fueron los más mayores (mediana de la edad de 61 años). Del mismo modo, los pacientes con EC tuvieron una educación secundaria o superior (62,8%) mientras que los pacientes con AR tuvieron la menor (33,7%). El LES y la AR involucraron la mayor proporción de mujeres (93,2% y 77,7%, respectivamente). Las cohortes de pacientes con Ps y con APs presentaron la mayor prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 (8,1% y 8,0%, respectivamente) y de obesidad (25,8% y 24,6%, respectivamente). Los pacientes con AR y con LES registraron la mayor prevalencia de hipertensión arterial (29,7% y 23,4%, respectivamente). Las cohortes de AR, de LES y de Ps registraron la mayor prevalencia de dislipemia (20,1%, 16,5% y 17,5%, respectivamente). Así el tabaquismo se detectó en pacientes con EC, con Ps, con CU y con LES (74,6%, 69,7%, 62,1% y 62,0%, respectivamente). Finalmente, los pacientes con AR fueron tratados con el mayor número de medicamentos modificadores de la enfermedad (número de la mediana de 2) y habían recibido terapias biológicas en un 42,5%. La prevalencia no ajustada de ECV en la artritis reumatoide, en la artritis psoriásica, en la psoriasis, en el lupus eritematoso sistémico, en la enfermedad de Crohn y en la colitis ulcerosa ha sido del 4,2%, 2,1%, 3,8%, 3,2%, 0,7% y 1,5%, respectivamente.

El análisis de asociación entre las variables demográficas, los FRCV tradicionales y las variables clínicas específicas de cada enfermedad y la ECV en cada *IMID* se realizaron también a través de modelos de regresión logística bivariados y multivariados. Así, la mayor edad en el momento de la inclusión en el estudio se asoció con un mayor riesgo de desarrollar ECV en todas las cohortes, excepto en los pacientes con APs y con AR. El género femenino se asoció a un menor riesgo de ECV en todas las enfermedades, excepto en los pacientes con EC. Además, un mayor tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad hasta la inclusión en el estudio se asoció a un mayor riesgo de desarrollar ECV a excepción de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). En relación a los FRCV tradicionales, la dislipemia se asoció con un mayor riesgo de ECV en pacientes con APs, con Ps y con CU, la hipertensión arterial en pacientes con EII, con AR y con Ps. La diabetes mellitus tipo 2 se asoció a mayor riesgo de ECV en pacientes con APs y Ps mientras que el tabaquismo se asoció a un mayor riesgo de ECV en los pacientes con AR.

Con respecto a las variables específicas de cada enfermedad, en pacientes con APs la afectación axial se asoció con un menor riesgo de ECV; en pacientes con AR la presencia de fibrosis pulmonar, de pericarditis y de concentraciones elevadas de anticuerpos anti-CCP se asociaron con un mayor riesgo de ECV; en pacientes lúpicos los antecedentes familiares de tiroiditis autoinmune, la presencia de síndrome antifosfolípido, de anticuerpos anti-Sm, de serositis, de vitíligo y de convulsiones se asociaron con un mayor riesgo de ECV, y en pacientes con Ps la presencia de artritis también se asoció con un mayor riesgo de ECV. Finalmente, en relación al tratamiento, ni la utilización de un mayor número de fármacos modificadores de la enfermedad ni el uso de terapias biológicas se asociaron con mayor riesgo de desarrollar ECV.

Posteriormente se analizaron el riesgo cardiovascular de las variables recogidas en todas las cohortes en todo el *IMIDC*. Así, el género masculino, una edad mayor en el momento de inclusión en el estudio, el tiempo transcurrido desde el diagnóstico *IMID* hasta la inclusión en el estudio, y la presencia de FRCV tradicionales se asociaron independientemente con un mayor riesgo de ECV. Aunque en el análisis bivariado, la educación superior y el tabaquismo se asociaron significativamente con un riesgo cada vez más bajo de ECV, respectivamente, en el análisis multivariado, no se observó una asociación significativa.

Finalmente, se compararon el riesgo de desarrollar la ECV entre las diferentes enfermedades *IMID*, ajustando las variables clínicas comunes y demográficas. Así, se observó que antes del ajuste y el uso de la AR como enfermedad *IMID* de referencia para comparar, los pacientes con Ps y con LES presentaron un riesgo menor, aunque no significativo, de ECV, mientras que los pacientes con EII y con APs tenían un riesgo significativamente menor. Tras el ajuste de las variables demográficas, los pacientes psoriásicos continuaron presentando un riesgo menor pero no significativo de ECV, mientras que los lúpicos demostraron un riesgo significativamente mayor de ECV. Tanto los pacientes con EII como con APs presentaron un riesgo significativamente menor. Unos resultados similares se observaron después de ajustar las variables demográficas, los FRCV tradicionales y el grado de educación; a excepción de los pacientes con EC, que presentaron un riesgo no significativo de ECV. Cuando se utilizó a los pacientes con LES como enfermedad *IMID* de referencia para comparar, todas las enfermedades *IMID* demostraron un riesgo significativamente menor de ECV. La prevalencia estandarizada y el intervalo de confianza del 95% en el LES, en la AR, en la Ps, en la EC, en APs y en la CU ha sido 4,5 (IC 95%: 2,2, 6,8), 1,3 (IC 95%: 0,8, 1,8), 0,9 (IC 95%: 0,5, 1,2), 0,8 (IC 95%: 0,2, 1,3), 0,6 (IC 95%: 0,2, 1,0), y 0,5 (IC 95%: 0,1, 0,8), respectivamente.

Cardiovascular disease in immune-mediated inflammatory diseases

A cross-sectional analysis of 6 cohorts

Benjamín Fernández-Gutiérrez, MD, PhD^{a,*}, Pedro P. Perrotti, MD^{b,c}, Javier P. Gisbert, MD, PhD^{d,e}, Eugeni Domènech, MD, PhD^{e,f}, Antonio Fernández-Nebro, MD, PhD^g, Juan D. Cañete, MD, PhD^h, Carlos Ferrándiz, MD, PhD^{i,j}, Jesús Tornero, MD, PhD^k, Valle García-Sánchez, MD^l, Julián Panés, MD, PhD^{m,e}, Eduardo Fonseca, MD, PhDⁿ, Francisco Blanco, MD, PhD^o, Jesús Rodríguez-Moreno^p, Patricia Carreira, MD^q, Antonio Julià, PhD^b, Sara Marsal, MD, PhD^{b,*}, Luis Rodríguez-Rodríguez, MD, PhD^{a,*}, on behalf of the IMID Consortium

Abstract

To analyze in several immune-mediated inflammatory diseases (IMIDs) the influence of demographic and clinical-related variables on the prevalence of cardiovascular disease (CVD), and compare their standardized prevalences.

Cross-sectional study, including consecutive patients diagnosed with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, Crohn disease, or ulcerative colitis, from rheumatology, gastroenterology, and dermatology tertiary care outpatient clinics located throughout Spain, between 2007 and 2010. Our main outcome was defined as previous diagnosis of angina, myocardial infarction, peripheral vascular disease, and/or stroke. Bivariate and multivariate logistic and mixed-effects logistic regression models were performed for each condition and the overall cohort, respectively. Standardized prevalences (in subjects per 100 patients, with 95% confidence intervals) were calculated using marginal analysis.

We included 9951 patients. For each IMID, traditional cardiovascular risk factors had a different contribution to CVD. Overall, older age, longer disease duration, presence of traditional cardiovascular risk factors, and male sex were independently associated with a higher CVD prevalence. After adjusting for demographic and traditional cardiovascular risk factors, systemic lupus erythematosus exhibited the highest CVD standardized prevalence, followed by rheumatoid arthritis, psoriasis, Crohn disease, psoriatic arthritis, and ulcerative colitis (4.5 [95% confidence interval (CI): 2.2, 6.8], 1.3 [95% CI: 0.8, 1.8], 0.9 [95% CI: 0.5, 1.2], 0.8 [95% CI: 0.2, 1.3], 0.6 [95% CI: 0.2, 1.0], and 0.5 [95% CI: 0.1, 0.8], respectively).

Systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and psoriasis are associated with higher prevalence of CVD compared with other IMIDs. Specific prevention programs should be established in subjects affected with these conditions to prevent CVD.

Editor: Tomi Akinyemiju.

B.F.G., S.M., and L.R.R. share senior authorship on this work.

PSE-010000-2006-6: "Development of a diagnostic kit for immune-mediated inflammatory diseases" (Ministry of Science and Technology, Spain).

F.B. reported receiving consultancy fees from Gebro Pharma, and grant support from Bioiberica, MSD, Glaxo, UCB, Roche, Pfizer, Celltrion, Celgene, Amgen, Grunenthal, Sanofi, and Takeda-Meiji. J.P.G. reported receiving speaker's, consultancy or grant support from MSD, Abbvie, Hospira, Kern Pharma, Takeda, Janssen, Pfizer, Ferring, Faes Farma, Shire Pharmaceuticals, Dr. Falk Pharma, Chiesi, Casen Fleet, Gebro Pharma, Otsuka Pharmaceutical, and Vifor Pharma; and the remaining authors have no conflicts of interest to disclose.

Supplemental digital content is available for this article.

^aRheumatology Department and Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Hospital Clínico San Carlos, Madrid, ^bRheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, ^cDepartment of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, ^dGastroenterology Department, Hospital Universitario de la Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-IP), Madrid, ^eCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), ^fGastroenterology and Hepatology Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, ^gUGC Reumatología, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga, Hospital Regional Universitario de Málaga, Universidad de Málaga, Málaga, ^hRheumatology Department, Hospital Clinic and IDIBAPS, ⁱDermatology Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, ^jUniversidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, ^kRheumatology Department, Hospital General Universitario de Guadalajara, Guadalajara, ^lHospital Universitario Reina Sofía, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Universidad de Córdoba, Córdoba, ^mHospital Clinic de Barcelona and IDIBAPS, Barcelona, ⁿDermatology Department, ^oRheumatology Department, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, INIBIC, A Coruña, ^pRheumatology Department, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, ^qRheumatology Department, Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Spain.

*Correspondence: Luis Rodríguez-Rodríguez, Benjamín Fernández-Gutiérrez, Rheumatology Department, Hospital Clínico San Carlos, IdISSC, c/ Profesor Martín Lagos s/n, 28040 Madrid, Spain (e-mails: lrodriguez@salud.madrid.org, benjamin.fernandez@salud.madrid.org); Sara Marsal, Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, Parc Científic de Barcelona, Torre I, 5 Planta, c/ Baldri i Reixac, no 4, 08028 Barcelona, Spain (e-mail: sara.marsal@vhir.org).

Copyright © 2017 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

Medicine (2017) 96:26(e7308)

Received: 9 March 2017 / Received in final form: 29 May 2017 / Accepted: 1 June 2017

<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000007308>

Abbreviations: CI = confidence interval, CVD = cardiovascular disease, IMIDC = immune-mediated inflammatory disease consortium, IMID = immune-mediated inflammatory disease, VIF = variance inflation factor.

Keywords: cardiovascular disease, epidemiology, immune-mediated inflammatory diseases

1. Introduction

Cardiovascular diseases (CVDs) include numerous conditions associated with a high and growing worldwide global burden, representing the most common cause of death.^[1] Atherosclerosis is the most common cause of CVD, and several factors, both nonmodifiable (such as genetic factors) and modifiable (including traditional and nontraditional cardiovascular risk factors), are involved in its development. Moreover, atherosclerosis is considered an immune system-mediated process^[2]; the accumulation and interplay in the subendothelial region of the arterial wall of several blood-borne inflammatory and immune cells (including autoreactive lymphocytes), as well as resident cells, such as endothelial, smooth muscle and dendritic cells, and other components of the immune system, such as cytokines, chemokines, and antibodies, results in the formation of atherosclerotic plaques, leading to a narrowing of the arterial lumen and, following plaque rupture, to thrombosis.

Considering the underlying mechanisms of this process, it is not surprising that immune-mediated and inflammatory diseases (IMIDs), such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, psoriasis, psoriatic arthritis, and inflammatory bowel disease, are associated with higher rates of cardiovascular morbidity and mortality, primarily due to accelerated atherosclerosis.^[3] Although IMIDs can be associated with a higher prevalence of well-known cardiovascular risk factors, such as metabolic syndrome, smoking, type 2 diabetes, and obesity, these factors do not fully account for the greater prevalence and incidence of CVDs observed in patients with IMIDs when compared to that of the general population.^[4] Therefore, IMID-associated factors, such as chronic systemic inflammation,^[5] a predisposing genetic background, or the treatment used in these conditions, must contribute to the higher cardiovascular risk.

The objective of this study was to analyze the contribution of different demographic and disease-related variables and traditional cardiovascular risk factors in the prevalence of CVD in subjects affected with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, or inflammatory bowel disease. Furthermore, we compared the prevalence of CVD among these conditions while adjusting for demographic and traditional cardiovascular risk factors.

2. Patients and methods

2.1. Setting and subjects

The data on patients included in this study were collected between June 2007 and December 2010 as part of the immune-mediated inflammatory disease consortium (IMIDC), a network of Spanish researchers working on the genomic basis of IMIDs^[6] that includes patients diagnosed with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, Crohn disease, and ulcerative colitis. Because the aim of IMIDC is to uncover the common genomic background of IMIDs, we included diseases with a known or suspected genetic overlap.^[7] In addition, we selected conditions with a mayor associated burden, in terms of prevalence, disability, and mortality.^[8–10] Subjects were enrolled after giving informed consent, from rheumatology,

gastroenterology, and dermatology outpatient clinics belonging to tertiary centers and located in several cities throughout Spain (Fig. S1, <http://links.lww.com/MD/B771>).

All of the patients with rheumatoid arthritis fulfilled the 1987 American College of Rheumatology (ACR) diagnosis criteria,^[11] all psoriatic arthritis patients fulfilled the CASPAR criteria,^[12] all psoriasis patients fulfilled clinical criteria of plaque psoriasis, all systemic lupus erythematosus patients fulfilled the 1997 ACR criteria,^[13] and all ulcerative colitis and Crohn disease patients fulfilled the standard Lennard-Jones diagnostic criteria.^[14]

At the time of inclusion, demographic and clinical data were collected and recorded following a standard protocol of questionnaires, completed after a clinical interview with closed questions and a review of medical records. Some items on the questionnaires were common to all diseases (including those regarding demographic data, traditional cardiovascular risk factors, and cardiovascular events), whereas other items were specific for each IMID. In addition, informed consent was obtained from all participants, and a blood sample was withdrawn for genomic, proteomic, and metabolomic studies.

Protocols and questionnaires were reviewed and approved by the local institutional review boards. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

2.2. Variables

The dependent variable in our analysis was the presence of CVD, which was defined as a previous diagnosis (given by any physician), of at least one of the following: angina, myocardial infarction, peripheral vascular disease, and/or stroke. To be classified as a case, all cardiovascular events had to have occurred after the diagnosis of the IMID, except for psoriasis, in which we considered as cases those diagnosed with CVD after disease onset. Subjects diagnosed with CVD before the diagnosis of the IMID were excluded from the analysis.

The presence or absence of traditional cardiovascular risk factors (arterial hypertension, type 2 diabetes, obesity, dyslipidemia, and history of smoking) was assessed in all the cohorts (except for the presence of arterial hypertension in psoriatic arthritis patients; due to an informatics error, that information was lost when recorded in our Web-based questionnaires). Other variables common to all cohorts were sex; age at inclusion in the study; elapsed time from IMID diagnosis (disease onset in the case of psoriasis) to inclusion in the study (in years); number of disease-modifying drugs used (categorized in tertiles), such as methotrexate, antimalarials, leflunomide, sulfasalazine, cyclophosphamide, cyclosporine, and acitretin; and use of biological therapy (such as anti-Tumor Necrosis Factors, rituximab, abatacept, efalizumab, and ustekinumab).

In each IMID cohort, several disease-related variables were also analyzed: in the rheumatoid arthritis patients, the presence of rheumatoid factor, the presence and levels of anti-citrullinated peptide antibodies, and previous diagnoses of extra-articular manifestations (such as subcutaneous nodules, pulmonary fibrosis [defined as any interstitial lung disease diagnosed between the diagnosis of the rheumatoid arthritis and the inclusion in the study], and serositis) were included in the study.

Table 1
Demographic characteristics and prevalence of cardiovascular disease and traditional cardiovascular risk factors of the patients included in this study.

| | Rheumatoid arthritis (n = 2152) | Psoriatic arthritis (n = 1147) | Psoriasis (n = 2497) | Systemic lupus erythematosus (n = 760) | Crohn disease (n = 1938) | Ulcerous colitis (n = 1457) |
|--|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------|--|--------------------------|-----------------------------|
| Age at inclusion in the study, (n) median (IQR) | (1996) 61 (52–70) | (1113) 52 (41–63) | (2430) 47 (36–59) | (702) 44 (35–55) | (1913) 39 (32–49) | (1436) 47 (37–58.12) |
| Women, n (%) | 1567 (77.7) | 522 (47.3) | 1057 (43.5) | 671 (93.2) | 956 (49.8) | 663 (46.0) |
| Calendar year at IMID diagnosis, (n) median (IQR) | (2144) 1998 (1991–2004) | (1137) 2003 (1996–2007) | (2482) 1992 (1980–2001) | (678) 1999 (1993–2004) | (1314) 1998 (1993–2002) | (975) 1998 (1993–2002) |
| Elapsed time from IMID diagnosis to inclusion, ^a in years, (n) median (IQR) | (2132) 10 (5–17) | (1076) 7 (3–13) | (2480) 17 (8–29) | (675) 10 (6–17) | (1313) 10 (6–15) | (975) 10 (7–16) |
| Secondary or higher education, n (%) | 655 (33.7) | 449 (44.5) | 1278 (54.2) | 378 (54.0) | 1187 (62.8) | 785 (55.5) |
| Cardiovascular disease, n (%) | 91 (4.2) | 24 (2.1) | 94 (3.8) | 24 (3.2) | 14 (0.7) | 22 (1.5) |
| Current/past smoker, n (%) | 828 (49.5) | 533 (59.6) | 1,411 (69.7) | 369 (62.0) | 1,282 (74.6) | 727 (62.1) |
| Arterial hypertension, n (%) | 638 (29.7) | – | 476 (19.1) | 178 (23.4) | 123 (6.4) | 148 (10.2) |
| Dyslipidemia, n (%) | 433 (20.1) | 157 (13.7) | 436 (17.5) | 125 (16.5) | 68 (3.5) | 127 (8.7) |
| Type 2 diabetes, n (%) | 172 (8.0) | 92 (8.0) | 203 (8.1) | 24 (3.2) | 28 (1.4) | 55 (3.8) |
| Obesity, n (%) | 366 (19.0) | 250 (24.6) | 612 (25.8) | 102 (15.4) | 184 (10.0) | 198 (14.3) |
| Number of disease-modifying drugs, median (IQR) | 2 (1–3) | 1 (0–2) | 0 (0–0) | 2 (1–2) | 1 (0–1) | 0 (0–1) |
| Patients with biological drugs, n (%) | 914 (42.5) | 299 (26.1) | 493 (19.7) | 47 (6.2) | 282 (14.3) | 70 (4.8) |

IMID = immune-mediated inflammatory disease, IQR = interquartile range.
^aIn psoriasis patients, elapsed time from symptoms onset, in years.

In the psoriatic arthritis cohort, the presence of axial/peripheral involvement and the severity of the skin disease were included (using the Psoriasis Area Severity Index). The latter was also analyzed in the psoriasis patients, as was the presence of associated arthritis. In systemic lupus erythematosus patients, the presence of vitiligo, family history of other IMIDs, and different disease-related variables, such as the presence of severe central nervous system manifestations, serositis, arthritis, antiphospholipids syndrome, or antiphospholipids antibodies, were included. In the Crohn disease and ulcerative colitis cohorts, the presence of extraintestinal manifestations was also assessed.

2.3. Statistical analysis

Continuous variables were described using the median and interquartile range. Categorical variables were described using proportions.

Comparison of continuous and categorical demographic and CVD-related variables among IMIDs was performed using analysis of variance or χ^2 test, respectively. Post-hoc comparisons were adjusted using the Bonferroni correction.

First, we analyzed separately in each IMID cohort the association between the demographic and clinical-related variables and CVD using bivariate and multivariate logistic regression models. Model selection was performed using the Bayesian information criterion.^{11,51} Multicollinearity was assessed by calculating the variance inflation factors (VIFs) of the dependent variables included in the final multivariate regression models.

Second, to assess the association between common demographic and clinical-related variables and CVD in the overall IMIDC, we performed bivariate and multivariate mixed-effects logistic regression models nested by IMID, due to the structure of our sample, integrated by independent cohorts of patients affected by different conditions.

Finally, to compare the prevalence of CVD among the different IMIDs, we performed logistic regression models adjusted for disease, demographic, traditional cardiovascular risk factors, and common disease-related variables. From those models, the

standardized prevalence of each IMID was calculated using marginal analysis. Analyses were performed using STATA 12 statistical software (STATA Corp, College Station, TX).

3. Results

We included 9951 patients in the analysis. The demographic characteristics and the prevalence of CVD and traditional cardiovascular risk factors are shown in Table 1. Patients with Crohn disease were the youngest (median age 47), whereas patients with rheumatoid arthritis were the oldest (median age 61). Similarly, Crohn disease had the highest prevalence of secondary or higher education (55.5%) and rheumatoid arthritis had the lowest (33.7%). Systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis involved the highest proportion of women (93.2% and 77.7%, respectively). The psoriasis and psoriatic arthritis cohorts had the highest prevalence of type 2 diabetes (8.1% and 8.0%, respectively) and obesity (25.8% and 24.6%, respectively). The rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus cohorts had the highest prevalence of arterial hypertension (29.7% and 23.4%, respectively). Rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and psoriasis had the highest prevalence of dyslipidemia (20.1%, 16.5%, and 17.5%, respectively). Crohn disease, psoriasis, ulcerous colitis, and systemic lupus erythematosus had the highest prevalence of current/past smoking (74.6%, 69.7%, 62.1%, and 62.0%, respectively). Finally, rheumatoid arthritis patients were treated with the highest number of disease-modifying drugs (median number 2) and biological therapy (42.5%). The unadjusted prevalence of CVD for rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, Crohn disease, and ulcerative colitis were 4.2%, 2.1%, 3.8%, 3.2%, 0.7%, and 1.5%, respectively.

Table 2 shows the results from the comparisons among IMIDs regarding demographic and CVD-related variables. The disease-specific clinical data from each IMID are shown in S1 Table (<http://links.lww.com/MD/B771>).

Table 2
Comparison of demographic and cardiovascular disease-related variables among the immune-mediated inflammatory diseases included in this study.

| | Age at inclusion in the study | Women | Year at IMID diagnosis | Elapsed time from IMID diagnosis to inclusion | Secondary or higher education | Current/past smoker | Cardiovascular disease | Arterial hypertension | Dyslipidaemia | Type 2 diabetes | Obesity | Number of disease-modifying drugs | Patients with biological drugs |
|------------|-------------------------------|--------|------------------------|---|-------------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|---------------|-----------------|---------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Overall | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| RA vs Ps | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.42 | <0.001 | 0.20 | 0.86 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| RA vs SLE | <0.001 | <0.001 | 0.010 | 1.00 | <0.001 | <0.001 | 0.19 | 0.001 | 0.027 | <0.001 | 0.035 | <0.001 | <0.001 |
| RA vs PsA | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.001 | - | <0.001 | 0.98 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| RA vs UC | <0.001 | <0.001 | 1.00 | 1.00 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| RA vs CD | <0.001 | <0.001 | 1.00 | 0.089 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Ps vs SLE | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.93 | <0.001 | 0.43 | 0.009 | 0.54 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Ps vs PsA | <0.001 | 0.034 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.08 | - | 0.004 | 0.91 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Ps vs UC | 1.00 | 0.12 | <0.001 | <0.001 | 0.45 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 1.00 | <0.001 |
| Ps vs CD | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| SLE vs PsA | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.34 | 0.15 | - | 0.097 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| SLE vs UC | <0.001 | <0.001 | 0.060 | 1.00 | 0.52 | 0.98 | 0.10 | <0.001 | <0.001 | 0.46 | 0.51 | <0.001 | 0.17 |
| SLE vs CD | <0.001 | <0.001 | 0.88 | 1.00 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.04 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| PsA vs UC | <0.001 | 0.52 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.24 | 0.26 | - | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| PsA vs CD | <0.001 | 0.18 | <0.001 | 0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.001 | - | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| UC vs CD | <0.001 | 0.028 | 1.00 | 0.075 | <0.001 | <0.001 | 0.027 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

CD = Crohn disease, IMID = immune-mediated inflammatory disease, Ps = psoriasis, PsA = psoriatic arthritis, RA = rheumatoid arthritis, SLE = systemic lupus erythematosus, UC = ulcerative colitis.
 * In psoriasis patients, elapsed time from symptoms onset, in years.

3.1. Influence of demographic and clinical variables in CVD in each IMID

Bivariate (S2 to S6 Tables, <http://links.lww.com/MD/B771>) and multivariate (Table 3) logistic regression models were used to analyze the association between demographic, traditional cardiovascular risk factors, and disease-specific clinical variables and CVD in each IMID.

In the best fitting multivariate models, older age at inclusion in the study was associated with a higher risk of CVD in all cohorts except for psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. Women were associated with a lower risk in all conditions except for Crohn disease. In addition, a longer elapsed time from IMID diagnosis to inclusion in the study was associated with a higher cardiovascular risk except for inflammatory bowel disease. Regarding traditional risk factors, dyslipidemia was associated with a higher risk of CVD in psoriatic arthritis, psoriasis, and ulcerative colitis; arterial hypertension in inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, and psoriasis; type 2 diabetes in psoriatic arthritis and psoriasis; and current/past smoking in rheumatoid arthritis. With regard to the disease-specific variables, in psoriatic arthritis, axial involvement was associated with lower cardiovascular risk; in rheumatoid arthritis, the presence of pulmonary fibrosis, pericarditis, and high anticitrullinated peptide antibodies levels were associated with higher risk; in systemic lupus erythematosus, family history of autoimmune thyroiditis and the presence of antiphospholipid syndrome, anti-Sm antibodies, serositis, vitiligo, and seizures were associated with higher risk; and in psoriasis, the presence of arthritis was also associated with higher risk of CVD. With regard to treatment, neither the use of a greater number of disease-modifying drugs nor the use of biological therapies was associated with CVD in any cohort. No significant multicollinearity was observed among the variables introduced in the final models (mean VIFs 1.15, 1.07, 1.17, 1.04, 1.12, and 1.10, for rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, Crohn disease, and ulcerative colitis, respectively).

3.2. Influence of the demographic and clinical-related variables in CVD risk on the overall IMIDC, and standardized prevalence of CVD

Next, we studied the cardiovascular risk of the variables collected in all the cohorts in the entire IMIDC (S7 Table, <http://links.lww.com/MD/B771>). We observed that male sex, older age at inclusion in the study, longer elapsed time from IMID diagnosis to the inclusion in the study, and the presence of traditional cardiovascular risk factors were independently associated with a higher risk of CVD. Although in the bivariate analysis, higher education and current/past smoking were significantly associated with lower and higher risk of CVD, respectively, in the multivariate analysis, no significant association was observed.

Finally, we compared the risk of CVD among the different IMIDs, adjusting for the demographic and common clinical variables (Table 4). We observed that before adjustment and using rheumatoid arthritis as the reference IMID for comparison, psoriasis and systemic lupus erythematosus had a lower, although not significantly lower risk of CVD, whereas inflammatory bowel disease and psoriatic arthritis had a significantly lower risk. After adjustment for demographic variables, psoriasis continued to have a lower although not significant risk of CVD, whereas systemic lupus erythematosus exhibited a significantly higher risk of CVD. Inflammatory bowel

Table 3
Multivariate logistic regression models to analyze the association between demographic and clinical characteristics and cardiovascular disease in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, psoriasis patients, systemic lupus erythematosus, Crohn disease, and ulcerative colitis patients.

| | Rheumatoid arthritis | | Psoriatic arthritis | | Psoriasis | | Systemic lupus erythematosus | | Crohn disease | | Ulcerous colitis | |
|--|--------------------------|----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|----------------|------------------------------|----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|----------------|
| | OR (95% CI) ^a | P ^b | OR (95% CI) ^a | P ^b | OR (95% CI) ^a | P ^b | OR (95% CI) ^a | P ^b | OR (95% CI) ^a | P ^b | OR (95% CI) ^a | P ^b |
| Women | 0.48 (0.24–0.99) | .047 | 0.04 (0.005–0.30) | .002 | 0.20 (0.11–0.37) | <.001 | 0.08 (0.02–0.30) | <.001 | — | — | 0.14 (0.03–0.62) | .009 |
| Age at inclusion in the study | 1.03 (1.00–1.06) | .070 | 1.04 (1.00–1.09) | .059 | 1.07 (1.05–1.10) | <.001 | 1.08 (1.03–1.12) | <.001 | 1.07 (1.03–1.12) | <.001 | 1.05 (1.01–1.09) | .010 |
| Elapsed time from IMD diagnosis to inclusion | 1.05 (1.02–1.08) | <.001 | 1.06 (1.01–1.12) | .016 | 1.02 (1.00–1.03) | .030 | 1.10 (1.02–1.17) | .009 | — | — | — | — |
| Arterial hypertension | 4.51 (2.40–8.48) | <.001 | — | — | 2.62 (1.61–4.28) | <.001 | — | — | 7.95 (2.51–25.22) | <.001 | 2.90 (1.05–7.95) | .039 |
| Dyslipidemia | — | — | 4.35 (1.56–12.19) | .005 | 4.25 (2.63–6.87) | <.001 | — | — | — | — | 3.22 (1.20–8.66) | .020 |
| Type 2 diabetes | — | — | 5.25 (1.82–15.23) | .002 | 2.02 (1.19–3.43) | .009 | — | — | — | — | — | — |
| Current/past smoker | 3.18 (1.42–7.13) | .005 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| ≥350 vs <350 UJ/mL of anticitrullinated peptide antibodies | 1.88 (1.01–3.51) | .047 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pulmonary fibrosis | 4.48 (1.32–15.23) | .016 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pericarditis | 10.72 (1.97–58.36) | .006 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Biological therapy | 0.57 (0.30–1.11) | .097 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Axial involvement | — | — | 0.20 (0.04–0.90) | .037 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Presence of associated arthritis | — | — | — | — | 2.21 (1.24–3.95) | .007 | — | — | — | — | — | — |
| Vitiligo | — | — | — | — | — | — | 29.00 (1.63–514.79) | .022 | — | — | — | — |
| Family history of autoimmune thyroiditis | — | — | — | — | — | — | 15.92 (1.96–127.85) | .009 | — | — | — | — |
| Seizures | — | — | — | — | — | — | 7.58 (1.58–36.33) | .011 | — | — | — | — |
| Serocitis | — | — | — | — | — | — | 3.68 (1.14–11.87) | .029 | — | — | — | — |
| Anti-Sm antibodies | — | — | — | — | — | — | 4.34 (1.25–15.03) | .020 | — | — | — | — |
| Antiphospholipid syndrome | — | — | — | — | — | — | 11.81 (3.28–42.56) | <.001 | — | — | — | — |

CI = confidence interval; IMD = immune-mediated inflammatory disease; OR = odds ratio.
^a Adjusted for age at inclusion in the study, sex, elapsed time from immune-mediated inflammatory disease (IMD) diagnosis to inclusion, history of smoking, presence of arterial hypertension, pulmonary fibrosis, pericarditis, anticitrullinated peptide antibodies levels, and treatment with biological therapy.
^b Adjusted for age at inclusion in the study, sex, elapsed time from IMD diagnosis to inclusion, presence of dyslipidemia, type 2 diabetes, and axial involvement.
^c Adjusted for age at inclusion in the study, sex, elapsed time from IMD diagnosis to inclusion, presence of arterial hypertension, dyslipidemia, type 2 diabetes, and associated arthritis.
^d Analysis adjusted for age at inclusion in the study, sex, elapsed time from IMD diagnosis to inclusion, family history of autoimmune thyroiditis, presence of antiphospholipid syndrome, anti-smith antibodies, serocitis, vitiligo, and seizures.
^e Adjusted for age at inclusion in the study, sex, presence of arterial hypertension, and dyslipidemia.
^f Adjusted for age at inclusion in the study and presence of arterial hypertension.

Table 4

Bivariate and multivariate logistic regression models to compare the risk of cardiovascular disease among the different immune-mediated inflammatory diseases.

| Variables | OR (95% CI) | P | OR (95% CI) [†] | P [†] | OR (95% CI) [‡] | P [‡] |
|--|-------------------|-------|--------------------------|----------------|--------------------------|----------------|
| Psoriasis vs rheumatoid arthritis | 0.89 (0.66–1.19) | .42 | 0.78 (0.54–1.13) | .19 | 0.67 (0.42–1.05) | .078 |
| Systemic lupus erythematosus vs rheumatoid arthritis | 0.74 (0.47–1.17) | .19 | 2.99 (1.79–4.99) | <.001 | 3.64 (1.93–6.85) | <.001 |
| Psoriatic arthritis vs rheumatoid arthritis | 0.48 (0.31–0.76) | .002 | 0.50 (0.30–0.84) | .009 | 0.46 (0.23–0.92) | .028 |
| Ulcerative colitis vs rheumatoid arthritis | 0.35 (0.22–0.56) | <.001 | 0.43 (0.25–0.76) | .004 | 0.35 (0.16–0.75) | .007 |
| Crohn disease vs rheumatoid arthritis | 0.16 (0.09–0.29) | <.001 | 0.45 (0.24–0.83) | .011 | 0.50 (0.23–1.09) | .083 |
| Women | 0.38 (0.29–0.49) | <.001 | 0.25 (0.19–0.35) | <.001 | 0.30 (0.20–0.45) | <.001 |
| Age at inclusion in the study | 1.07 (1.06–1.08) | <.001 | 1.07 (1.06–1.08) | <.001 | 1.07 (1.05–1.08) | <.001 |
| Elapsed time from IMID diagnosis to inclusion | 1.04 (1.03–1.05) | <.001 | 1.03 (1.02–1.04) | <.001 | 1.03 (1.02–1.04) | <.001 |
| Current/past smoker | 1.34 (1.004–1.79) | .047 | – | – | 1.47 (0.99–2.19) | .059 |
| Dyslipidemia | 6.02 (4.70–7.71) | <.001 | – | – | 3.35 (2.43–4.61) | <.001 |
| Type 2 diabetes | 5.61 (4.18–7.53) | <.001 | – | – | 2.20 (1.50–3.23) | <.001 |
| Obesity | 1.94 (1.47–2.57) | <.001 | – | – | 1.58 (1.13–2.22) | .008 |
| Secondary or higher vs primary/none education | 0.37 (0.28–0.49) | – | – | – | 0.83 (0.58–1.18) | .302 |
| 7)Number of disease-modifying drugs (tertiles) | | | | | | |
| 2nd vs 1st | 1.00 (0.68–1.45) | .98 | – | – | 0.80 (0.47–1.37) | .41 |
| 3rd vs 1st | 0.84 (0.63–1.11) | .21 | – | – | 1.17 (0.79–1.72) | .43 |
| Biological therapy | 1.07 (0.80–1.44) | .64 | – | – | 1.13 (0.76–1.69) | .54 |

CI = confidence interval, IMID = immune-mediated inflammatory disease, OR = odds ratio.

[†] Model adjusted for demographic variables.

[‡] Model adjusted for demographic variables, traditional cardiovascular (CV) risk factors and educational level.

disease and psoriatic arthritis both had a significantly lower risk. Similar results were observed after adjusting for demographic variables, traditional cardiovascular risk factors, and educational level, except for Crohn disease, which showed a nonsignificantly lower risk of CVD. When systemic lupus erythematosus was used as the reference comparison, all IMIDs showed a significantly lower CVD risk. The standardized prevalence and 95% confidence interval (95% CI) for systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, psoriasis, Crohn disease, psoriatic arthritis, and ulcerative colitis were 4.5 (95% CI: 2.2, 6.8), 1.3 (95% CI: 0.8, 1.8), 0.9 (95% CI: 0.5, 1.2), 0.8 (95% CI: 0.2, 1.3), 0.6 (95% CI: 0.2, 1.0), and 0.5 (95% CI: 0.1, 0.8), respectively (Fig. 1).

4. Discussion

In this study, we have analyzed, in 6 different IMIDs including almost 10,000 patients, the association of several demographic and clinical-related variables in the CVD risk. To our knowledge, this is the first time such an analysis has been conducted in patients affected by rheumatoid arthritis, psoriasis, psoriatic arthritis, systemic lupus erythematosus, ulcerative colitis, or Crohn disease, recruited in the same time frame, with similar follow-up times, using the same inclusion/exclusion criteria, with data collected using the same protocols and questionnaires. This particular setting allowed us to compare the CVD risk among different conditions and to perform a pooled analysis to identify common risk factors.

4.1. Risk factors of CVD in IMIDs

The analysis of CVD risk factors in different IMIDs was conducted in several previous studies (S Discussion and References, <http://links.lww.com/MD/B771>). With regard to rheumatoid arthritis,^[16–19] psoriatic arthritis,^[20–22] psoriasis,^[20,23] systemic lupus erythematosus,^[24–26] and inflammatory bowel disease^[27,28] similar findings were observed in our cohort. However, some differences have also been observed: in psoriasis and psoriatic arthritis, the severity of the skin disease was previously associated with CVD,^[21,23] but no significant

association was observed in our cohorts. Different definitions of severity were used, which may explain the different findings. In addition, in our psoriasis cohort, no association between younger age at disease onset and CVD was observed.^[2,3]

In systemic lupus erythematosus, we described for the first time 2 new independent associations of CVD with vitiligo (which in turn has been associated with a lower prevalence of abdominal obesity and dyslipidemia)^[29] and with a family history of autoimmune thyroiditis (which in turn has been associated with a higher risk of stroke).^[30] In addition, comparing with a Spanish systemic lupus erythematosus registry,^[31] we observed a lower prevalence of CVD and a lack of influence of traditional cardiovascular risk factors. However, surrogate markers of disease severity were independent risk factors in both studies. The fact that our patients came from systemic lupus erythematosus specialized units with a tighter management of both disease and CVD risk factors might explain these differences.

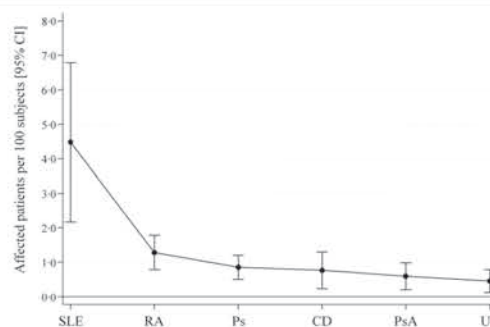


Figure 1. Adjusted prevalence of cardiovascular disease, with 95% confidence intervals, for each immune-mediated inflammatory disease. CD = Crohn disease, CI = confidence interval, Ps = psoriasis, PsA = psoriatic arthritis, RA = rheumatoid arthritis, SLE = systemic lupus erythematosus, UC = ulcerous colitis.

Finally, regarding inflammatory bowel disease, shorter disease duration was previously described as a risk factor for CVD in Crohn disease patients.^[32] However, in our cohort, this influence was not observed.

4.2. Comparison of CVD risk among IMIDs

Several studies have compared the risk of CVD among different IMIDs, although none of them included the 6 we analyzed. Zöller et al.^[30] studied the risk of ischemic and hemorrhagic stroke in 32 different IMIDs (including psoriasis, rheumatoid arthritis, ulcerative colitis, Crohn disease, and systemic lupus erythematosus) using data from the entire Swedish population. An overall higher risk was observed for these 5 conditions compared with the general population, and although no direct comparisons were performed, systemic lupus erythematosus exhibited a higher standardized incidence rate, followed by rheumatoid arthritis and Crohn disease or psoriasis. Ulcerative colitis patients had the lowest risk for both ischemic and hemorrhagic stroke. In our study, although our dependent variable included all cardiovascular events, similar results were observed.

Regarding psoriasis and psoriatic arthritis, the latter was associated with a higher cardiovascular risk, regardless of whether the psoriatic arthritis patients were selected among those with psoriasis^[20] or the psoriatic arthritis and psoriasis patients were selected separately in population-based studies.^[23] When considering only our psoriasis cohort, similar results were observed: the presence of arthritis was independently associated with a higher risk of CVD. However, when we compared the psoriasis and the psoriatic arthritis cohorts, we observed the opposite result: a lower risk of CVD, albeit not significant, among the psoriatic arthritis cohort. To address this discrepancy, we compared the subjects from the psoriasis cohort with psoriatic arthritis, without psoriatic arthritis, and the patients from the psoriatic arthritis cohort (S8 and S9 Tables, <http://links.lww.com/MD/B771>). In general, patients from the psoriasis cohort had a higher prevalence of traditional cardiovascular risk factors and higher skin disease severity, which could explain their higher prevalence of CVD. Taking into account that the patients from the psoriasis cohort were recruited from tertiary care outpatient clinics, it is likely that we selected patients with a more severe disease.

Few studies compared the risk of CVD between rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis, observing a lower, although not significant, cardiovascular risk among the latter, regardless of whether the patients from both conditions were enrolled from different^[22] or similar^[33] settings. In our study, psoriatic arthritis patients had a significantly lower cardiovascular risk before and after adjusting for demographic and traditional risk factors. This observation may be related to the characteristics of the psoriatic arthritis cohort. A recent population-based study performed by Ogdie et al.^[34] showed that rheumatoid arthritis and psoriasis had similar standardized CVD hazard ratios, which were higher than that of psoriatic arthritis (although no direct comparison was performed).

Rheumatoid arthritis has also been compared with systemic lupus erythematosus. The latter was associated with a higher rate (compared with the general population) of first-time acute myocardial infarction than rheumatoid arthritis (although no direct comparison was performed).^[35] In our sample, although rheumatoid arthritis showed a higher CVD prevalence in the bivariate analysis, after adjusting for age and sex, systemic lupus erythematosus showed a higher risk of CVD.

Regarding inflammatory bowel disease, similar normalized rates of ischemic heart disease and higher normalized rates of stroke were described in Crohn disease compared with ulcerative colitis, although no direct comparisons were performed.^[27] In our sample, considering all CVDs, no significant differences were observed, although Crohn disease was associated with a higher standardized prevalence of CVD.

4.3. Limitations

There are several limitations to our study. First, because the study is cross-sectional, the directionality of the associations could not be determined. In addition, the presence of CVD, traditional cardiovascular risk factors, and disease-related variables was based either on the previous existence of a diagnosis of such conditions or manifestations, or on the indication by the patient of their existence during the clinical interview. We did not perform any complementary tests; therefore, the prevalence may be underestimated, especially for arterial hypertension, dyslipidemia, and type 2 diabetes.

Patients were recruited from rheumatology (rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and psoriatic arthritis), dermatology (psoriasis), and gastroenterology (ulcerative colitis and Crohn disease) tertiary care outpatient clinics. Therefore, for some IMIDs, especially psoriasis, the generalization of our results to the whole population must be undertaken with caution because it is likely that only patients with a more severe disease were included. Moreover, patients were consecutively recruited, favoring the inclusion of subjects with a more severe disease, who tend to seek care more frequently. Because patients were recruited from practices throughout the country, these cohorts may be representative of the subpopulation of patients affected with severe disease in Spain.

No replication cohorts were included in this study, and therefore the newly described risk factors (such as vitiligo or a familiar history of autoimmune thyroiditis) need to be assessed in other cohorts.

This analysis was also limited by the inclusion of living patients, that is to say, subjects who survived long enough to be included in this study. Therefore, our sample may be biased toward patients with milder CVD and IMID. Moreover, the variables identified as associated with CVD may be predictors of survival following a CVD event rather than its occurrence. These conditions are important to consider when generalizing our results.

No direct disease activity measure, either at diagnosis or encompassing the whole disease duration, was available. However, treatment with disease-modifying drugs and biological therapy was used as a surrogate marker. Unfortunately, we lacked data regarding corticosteroid use throughout the disease.

Finally, there has been a delay between the inclusion of patients in this study and the presentation of the data used in this article. It is important to consider that due to the large amount of patients and centers that participated, it is expected logistic difficulties in the collection, ensemble, and quality control of the data that defer its use and dissemination.

5. Conclusions

We reported a direct comparison of CVD and cardiovascular risk factors prevalence among 6 IMIDs. We observed that different sets of demographic and clinical-related variables contribute to the risk of CVD in the different conditions studied. Furthermore,

we compared the standardized CVD prevalence among those diseases, observing that systemic lupus erythematosus exhibited the highest prevalence, followed by rheumatoid arthritis and psoriasis. Our evidence provides a compelling argument to prioritize the institution of specific prevention programs in subjects affected with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and psoriasis to reduce the burden of CVD associated with these conditions.

Acknowledgments

The authors would like to thank all the physicians and health professionals who participated in the IMID Consortium: Pilar Nos (Hospital Universitari La Fe, Valencia, and CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain), Lluís Puig (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, and Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain), Isidoro González-Álvoro (Hospital Universitario de la Princesa and IIS-IP, Madrid, Spain), José A. Pinto-Tasende (Rheumatology Department, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, INIBIC, A Coruña, Spain), Ricardo Blanco (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla and Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, Santander, Spain), Ana Gutiérrez Casbas (Gastroenterology Department, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante, and CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain), Emilia Fernández (Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain), Raimon Sanmartí (Hospital Clínic de Barcelona and IDIBAPS, Barcelona, Spain), Jordi Gratacós (Hospital Parc Taulí, Sabadell, Spain), Víctor Martínez Taboada (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla and Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, Santander, Spain), Fernando Gomollón (Hospital Clínico Universitario, Zaragoza, and CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain), Esteban Daudén (Hospital Universitario de la Princesa and IIS-IP, Madrid, Spain), Joan Maymó (Hospital del Mar, Barcelona, Spain), Rubén Queiró (Hospital Universitario Central de Asturias, Asturias, Spain), Francisco Javier Lopez Longo (Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain), Esther García-Planella (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain), Jose Luis Sánchez Carazo (Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Spain), Mercedes Alperi-López (Hospital Universitario Central de Asturias, Asturias, Spain), Carlos Montilla (Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain), José Javier Pérez-Venegas (Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz, Spain), Juan L. Mendoza (Gastroenterology Department, Hospital Clínico San Carlos, IDISSC, Madrid, Spain), José Luis López Estebanz (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain), Àlex Olivé (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain), Juan Carlos Torre-Alonso (Hospital Monte Naranco, Oviedo, Spain), Manuel Barreiro-de Acosta (Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela, Spain), David Moreno Ramírez (Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla, Spain), Héctor Coromines (Hospital Moisès Broggi, Barcelona, Spain), Santiago Muñoz-Fernández (Hospital Universitario Infanta Sofía, Madrid, Spain), José Luis Andreu (Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain), Fernando Muñoz (Complejo Hospitalario de León, León, Spain), Pablo de la Cueva (Department of Dermatology, Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, Spain), Alba Erra (Hospital Sant Rafael, Barcelona, Spain), Carlos M González (Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain), María Ángeles Aguirre-Zamorano (Hospital Universitario Reina Sofía, Instituto Maimónides de

Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain), Maribel Vera (Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain), Francisco Vanaclocha (Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Spain), Daniel Roig (Hospital Moisès Broggi, Barcelona, Spain), Paloma Vela (Rheumatology Department, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante, Spain), Cristina Saro (Hospital de Cabueñes, Gijón, Spain), Enrique Herrera (Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, Spain), Pedro Zarco (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain), Joan M. Nolla (Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, Spain), Maria Esteve (Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona, and CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain), José Luis Marengo de la Fuente (Hospital del Valme, Sevilla, Spain), M. Jesus García Villanueva (Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain), José María Pego-Reigosa (Hospital do Meixoeiro, Vigo, and Grupo IRIDIS, IBI Instituto de Investigación Biomédica de Vigo, Pontevedra y Orense, Spain), Laia Codó (LifeSciences, Barcelona Supercomputing Centre, National Institute of Bioinformatics, Barcelona, Spain), Josep Lluís Gelpí (LifeSciences, Barcelona Supercomputing Centre, National Institute of Bioinformatics, Barcelona, Spain), Andrés C. García-Montero (Banco Nacional de ADN Carlos III, University of Salamanca, Salamanca, Spain), Adrià Aterido (Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, Barcelona, Spain), María López-Lasanta (Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, Barcelona, Spain), Arnald Alonso (Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, Barcelona, Spain), Raül Tortosa (Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Hospital Research Institute, Barcelona, Spain).

References

- Moran AE, Forouzanfar MH, Roth GA, et al. The global burden of ischemic heart disease in 1990 and 2010: the Global Burden of Disease 2010 study. *Circulation* 2014;129:1493–501.
- Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 2011;12:204–12.
- Sherer Y, Shoenfeld Y. Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:99–106.
- Sattar N, McCarey DW, Capell H, et al. Explaining how “high-grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;108:2957–63.
- Prodanovich S, Shelling ML, Federman DG, et al. Cytokine milieu in psoriasis and cardiovascular disease may explain the epidemiological findings relating these 2 diseases. *Arch Dermatol* 2008;144:1518–9.
- Julià A, Doménech E, Chaparro M, et al. A genome-wide association study identifies a novel locus at 6q22.1 associated with ulcerative colitis. *Hum Mol Genet* 2014;23:6927–34.
- Richard-Miceli C, Criswell LA. Emerging patterns of genetic overlap across autoimmune disorders. *Genome Med* 2012;4:1–9.
- Burisch J, Jess T, Martinato M, et al. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis* 2013;7:322–37.
- Rosman Z, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Biologic therapy for autoimmune diseases: an update. *BMC Med* 2013;11:88.
- Shapira Y, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Geoepidemiology of autoimmune rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:468–76.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315–24.
- Taylor W, Gladman D, Helliwell P, et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum* 2006;54:2665–73.
- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.
- Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1989;170:2–6. discussion 16–19.

- [15] Burnham K, Anderson D. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information—Theoretic Approach*. 2nd ed. New York: Springer; 2002.
- [16] Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R30.
- [17] Amaya-Amaya J, Sarmiento-Monroy JC, Mantilla R-D, et al. Novel risk factors for cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Immunol Res* 2013;56:267–86.
- [18] Turesson C, McClelland RL, Christianson TJH, et al. Severe extra-articular disease manifestations are associated with an increased risk of first ever cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:70–5.
- [19] Ajeganova S, Andersson MLE, Frostegård J, et al. Disease factors in early rheumatoid arthritis are associated with differential risks for cardiovascular events and mortality depending on age at onset: a 10-year observational cohort study. *J Rheumatol* 2013;40:1958–66.
- [20] Li W-Q, Han J-L, Manson JE, et al. Psoriasis and risk of nonfatal cardiovascular disease in U.S. women: a cohort study. *Br J Dermatol* 2012;166:811–8.
- [21] Gladman DD, Ang M, Su L, et al. Cardiovascular morbidity in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1131–5.
- [22] Jannitski A, Visman IM, Peters MJL, et al. Prevalence of cardiovascular diseases in psoriatic arthritis resembles that of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011;70:875–6.
- [23] Ahlehoff O, Gislason GH, Charlot M, et al. Psoriasis is associated with clinically significant cardiovascular risk: a Danish nationwide cohort study. *J Intern Med* 2011;270:147–57.
- [24] Bertoli AM, Vilá LM, Alarcón GS, et al. Factors associated with arterial vascular events in PROFILE: a Multiethnic Lupus Cohort. *Lupus* 2009;18:958–65.
- [25] Toloza SMA, Uribe AG, McGwin G, et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA). XXIII. Baseline predictors of vascular events. *Arthritis Rheum* 2004;50:3947–57.
- [26] Pons-Estel GJ, González LA, Zhang J, et al. Predictors of cardiovascular damage in patients with systemic lupus erythematosus: data from LUMINA (LXVIII), a multiethnic US cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48:817–22.
- [27] Bernstein CN, Wajda A, Blanchard JF. The incidence of arterial thromboembolic diseases in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:41–5.
- [28] Kristensen SL, Ahlehoff O, Lindhardsen J, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease is associated with increased risk of myocardial infarction, stroke and cardiovascular death—a Danish nationwide cohort study. *PLoS One* 2013;8:1–9.
- [29] Rodríguez-Martín M, de Paz NM, Mehtani P, et al. Patients with vitiligo present fewer cardiovascular risk factors: results from a case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:124–5.
- [30] Zöller B, Li X, Sundquist J, et al. Risk of subsequent ischemic and hemorrhagic stroke in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *BMC Neurol* 2012;12:41.
- [31] Fernández-Nebro A, Rúa-Figueroa Í, López-Longo FJ, et al. Cardiovascular events in systemic lupus erythematosus: a nationwide study in Spain from the RELESSER registry. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e1183.
- [32] Osterman MT, Yang Y-X, Brensinger C, et al. No increased risk of myocardial infarction among patients with ulcerative colitis or Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:875–80.
- [33] Han C, Robinson DW, Hackett MV, et al. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2006;33:2167–72.
- [34] Ogdie A, Yu Y, Haynes K, et al. Risk of major cardiovascular events in patients with psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Ann Rheum Dis* 2014;74:326–32.
- [35] Fischer LM, Schlienger RG, Matter C, et al. Effect of rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus on the risk of first-time acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;93:198–200.

2.- Trabajo 2

Cardiovascular genetic variation associated with cardiovascular risk in autoimmune diseases. PLoS ONE. 2017;12(10): October 5.

2.1.- Resumen de la metodología

Un total de 6.485 pacientes fueron reclutados en el Consorcio *IMID (IMIDC)* entre junio de 2007 y diciembre de 2010. La cohorte de pacientes utilizada para el estudio incluyó: (i) 1.281 pacientes con AR, (ii) 1.123 pacientes con Ps (iii) 989 pacientes de APs, (iv) 907 pacientes con LES y (v) 2.185 pacientes con EII, incluyendo 1.358 con EC y 827 pacientes con CU. Los criterios diagnósticos utilizados para cada enfermedad fueron los mismos que los aplicados en el Trabajo 1. Todos los pacientes presentaban origen europeo occidental y con los cuatro abuelos nacidos en España. Todos los procedimientos se siguieron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. El estudio y el procedimiento de consentimiento fueron revisados y aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del *Institut de Recerca Vall d'Hebron*.

Los pacientes con ECV se definieron con al menos uno de los siguientes fenotipos clínicos: enfermedad coronaria (EC), accidente cerebrovascular (ACV) y enfermedad arterial periférica (EAP). El historial médico de la ECV se obtuvo después de un interrogatorio detallado y exhaustivo utilizando cuestionarios médicos estandarizados. El fenotipo de EC se definió como antecedentes de angina, infarto agudo de miocardio o cardiopatías isquémicas. La historia de la angina se evaluó con la evidencia de síntomas de eventos agudos que incluyeron dolor en la mandíbula, el brazo o el pecho, así como otros síntomas de isquemia cardíaca relacionados clínicamente. La historia del infarto agudo de miocardio se examinó con la evidencia de necrosis de miocardio que concuerda con una isquemia de miocardio. Esto fue detectado por una elevación o descenso significativo de los niveles de los principales biomarcadores cardíacos, junto con cambios característicos en el electrocardiograma del paciente. La historia de la cardiopatía isquémica se confirmó si el paciente cumplía alguna de las siguientes condiciones: (i) 1 arteria coronaria epicárdica mayor con más del 70% de obstrucción; (ii) antecedentes de infarto agudo de miocardio asociado con anomalía de movimiento de la pared; o (iii) diagnóstico de enfermedad arterial coronaria. El fenotipo ACV se definió en aquellos pacientes que presentaron un ataque isquémico transitorio o un accidente

cerebrovascular isquémico y/o hemorrágico. La aparición de un ataque isquémico transitorio se definió como una breve disfunción neurológica del cerebro (es decir, menos de 24 horas de duración) causada por una isquemia cerebral sin infarto agudo. La historia de un accidente cerebrovascular isquémico y/o hemorrágico se definió como un episodio agudo de disfunción focal, cerebral, espinal o retiniana causada por infarto y/o hemorragia del tejido del sistema nervioso central. Finalmente la EAP se definió como el estrechamiento de las arterias periféricas causado por la presencia de placas ateroscleróticas. Los síntomas de claudicación son uno de los subtipos de EAP más importantes que se utilizaron para caracterizar el fenotipo de ECV de pacientes con *IMIDs*. Aquellos pacientes que presentaron ECV previo al diagnóstico de la enfermedad *IMID* se excluyeron del estudio.

Para evaluar el componente genético asociado a la ECV en las *IMID* se llevó a cabo un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) en las cinco cohortes de pacientes con *IMIDs*. Se seleccionaron los 582.539 SNP para cada paciente, para el análisis de control de calidad (QC). En este análisis, se excluyeron los SNP que tenían una frecuencia del alelo menor (*minor allele frequency, MAF*) $<0,05$ y $>5\%$ de los datos faltantes (5,6% de SNP). Con el fin de identificar los marcadores que se desvían del equilibrio de Hardy-Weinberg, utilizamos una cohorte adicional de 1.558 controles sanos de la misma población. Se eliminaron un total de 1.649 SNP. Para evaluar la presencia de estratificación potencial de la población en las cohortes de pacientes con *IMID*, se utilizó el análisis de componentes principales (*Principal Component Analysis, PCA*) implementado en el software EIGENSOFT (v4.2). Después del control de calidad, se dispuso de un conjunto final de datos de 506.919 SNP y 5.317 pacientes para el análisis de asociación.

Las variantes genéticas previamente asociadas con los fenotipos de riesgo de ECV en la población general se obtuvieron a través de una búsqueda exhaustiva de datos electrónicos utilizando *PubMed* y solo los *loci* de riesgo de ECV establecidos ($P < 5E-8$) se seleccionaron para el presente estudio. Se identificaron un total de 115 variantes significativas de todo el genoma y, posteriormente, se comprobó su asociación con la ECV en cada una de las seis enfermedades *IMID*.

A partir de los GWAS publicados recientemente se obtuvieron las variantes genéticas asociadas con la susceptibilidad a cada enfermedad *IMID*. Un total de 341 variantes fueron identificadas y aprobadas para el estudio de asociación con el riesgo de ECV.

La imputación del genotipo se realizó utilizando los datos de genotipificación de la cohorte caucásica europea (N= 379 muestras) generados por el Proyecto 1000 Genomas. Solo aquellos SNP con índices de alta calidad (definidos como que tienen una métrica de calidad de información >0.8) fueron seleccionados para el análisis. Un total de 73 SNP de riesgo de ECV y 218 SNP de riesgo de enfermedad *IMID* pasaron el control de calidad. Posterior a este paso, se dispuso de un número final de 103 SNP de riesgo de ECV y de 315 SNP de riesgo de enfermedad *IMID* para el análisis de asociación de candidatos.

Es conocido que los FRCV tradicionales contribuyen al riesgo de ECV tanto en la población general como en pacientes con *IMIDs*. Por lo tanto, si no se controlan adecuadamente, estos factores de riesgo clínicos y epidemiológicos podrían confundir los resultados de los estudios de asociación genética de ECV. Con el fin de evitar el efecto de estos factores de confusión, se incluyeron los factores de riesgo de ECV establecidos como covariables en el análisis de asociación estadística. En consecuencia, la edad, el género la dislipemia, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus tipo 2, el índice de masa corporal, la inactividad física y el tabaquismo se incluyeron como covariables en el modelo de regresión logística. Con el fin de comparar el efecto genético de los SNP asociados a las enfermedades *IMID*, utilizamos la prueba de Breslow-Day para la homogeneidad de la odds ratio. Con la finalidad de poder identificar los patrones genéticos asociados con el riesgo de ECV en enfermedades *IMID*, realizamos un metaanálisis de fenotipo cruzado de genoma completo (*cross-phenotype meta-analysis approach, CPMA*), el cual es un enfoque novedoso que permite la identificación de variantes genéticas asociadas con múltiples fenotipos mediante la integración de estadísticas de GWAS.

Tras identificar los SNP independientes que demuestran una mayor evidencia de pleiotropía, se analizaron la presencia de patrones genéticos asociados con el riesgo de ECV en las enfermedades *IMID*. Siguiendo el enfoque descrito anteriormente, se calcularon las distancias SNP-SNP y fueron clasificadas en cuatro categorías de asociación estadística (es decir, $1 > P > 0.05$, $0.05 > P > 0.02$, $0.02 > P > 0.005$, $P < 0.005$). La matriz categórica definida por estas cuatro categorías (es decir, cada fila representa un SNP asociado a ECV y cada columna una enfermedad *IMID* en particular) se utilizó para calcular la distancia euclidiana entre cada par de SNP usando el método de Gower para datos discretos. La matriz resultante de las distancias euclidianas SNP-SNP finalmente se utilizó para realizar el análisis de agrupamiento jerárquico

utilizando el método de Ward. Todos los pasos del análisis de fenotipo cruzado se realizaron usando el *software* estadístico R.

Para cada patrón de riesgo genético, se ha calculado la significación estadística de la asociación con el riesgo de ECV mediante el método de Fisher. Para caracterizar funcionalmente cada patrón genético, se ha realizado un análisis de enriquecimiento funcional. Para este objetivo, se ha utilizado la base de datos "Conjuntos de genes Hallmark", una colección de conjuntos de genes seleccionados que muestran una fuerte expresión coordinada de los genes y que representan genes específicos bien definidos de procesos biológicos. El análisis de enriquecimiento estadístico para cada conjunto de genes funcionales se ha calculado utilizando la prueba hipergeométrica. El método de *False Discovery Rate* (FDR) se utilizó para corregir las múltiples pruebas.

2.2.- Resumen de los resultados

En las cohortes de enfermedades *IMID* del presente estudio se ha observado un total de 140 pacientes con enfermedades *IMID* que han desarrollado ECV mientras que 5.317 pacientes con enfermedades *IMID* no desarrollaron ECV.

Se ha replicado con éxito la asociación entre 17 variantes genéticas y el riesgo de desarrollar ECV en las diferentes enfermedades *IMID* ($P < 0,05$, mismo alelo de riesgo). De relevancia, ninguno de los SNP asociados se superponen entre las diferentes enfermedades autoinmunes. La asociación más significativa se observó entre el gen *HHLPL1* (SNP intronic rs2895811) y el riesgo de ECV en EC ($P = 5.62E-4$). De las 17 variantes genéticas que se asociaron significativamente con el riesgo de ECV, solamente 4 SNP mostraron una heterogeneidad significativa de los efectos genéticos a través de las seis enfermedades *IMID* (PBreslow-Day < 0.05). Tres de estas variantes que mostraron una asociación heterogénea significativa con el riesgo de ECV se asociaron con EII: SNP rs17465637 (gen *MIA3*; $P = 0,03$; OR = 6,76; IC del 95%: 1,20-37,96) y SNP rs2895811 (gen *HHLPL1*; $P = 0,001$; OR = 8.51; IC del 95%: 1.80-80.02) se asociaron con EC, y el SNP rs6789378 (locus *OTOL1-TOMM22P6*; $P = 0.004$; OR = 7.52; IC 95%: 2.11-40.78) con CU. Comparando el efecto genético sobre el riesgo de ECV entre las enfermedades *IMID* más semejantes clínicamente, hemos detectado efectos significativamente diferentes en 5 de los 17 SNP de riesgo de ECV (PBreslow-Day < 0.05).

También se encontró que un total de 6 SNP asociados con el riesgo de enfermedad *IMID* se asociaron significativamente con el riesgo de ECV ($P < 0.05$). Cuatro de estas variantes fueron SNP de riesgo de EII y dos fueron marcadores asociados con la susceptibilidad de la AR.

Un total de 406 SNP pleiotrópicos independientes se utilizaron para realizar un intercambio global de asociaciones genéticas con el riesgo de ECV a través de las seis enfermedades *IMID*. Utilizando el enfoque de agrupamiento en las 406 variantes pleiotrópicas, se identificaron 10 grupos genéticos diferentes (GC) asociados con el riesgo de ECV en enfermedades *IMID*. De los 10 GCs identificados, encontramos que 3 GCs fueron significativamente enriquecidos en 7 conjuntos de genes funcionalmente relacionados. Tras la corrección por múltiples pruebas, se observaron que 4 GC y 7 GC estaban significativamente enriquecidos en genes que están implicados en vías relacionadas con el sistema inmune fuertemente asociadas con la etiopatogénesis de la autoinmunidad como el gen que codifica el *TNF- α* (PFDR = 0.02) o el gen que codifica el *IFN- γ* (PFDR = 0.02), respectivamente.

RESEARCH ARTICLE

Genetic variation associated with cardiovascular risk in autoimmune diseases

Pedro P. Perrotti^{1,2}, Adrià Aterido^{1,3}, Antonio Fernández-Nebro⁴, Juan D. Cañete⁵, Carlos Ferrándiz⁶, Jesús Tornero⁷, Javier P. Gisbert^{8,9}, Eugeni Domènech^{6,8}, Benjamin Fernández-Gutiérrez¹⁰, Fernando Gomollón^{8,11}, Esther García-Planella¹², Emilia Fernández⁵, Raimon Sanmartí⁵, Jordi Gratacós¹³, Víctor Manuel Martínez-Taboada¹⁴, Luis Rodríguez-Rodríguez¹⁰, Núria Palau¹, Raül Tortosa¹, Mireia L. Corbeto¹, María L. Lasanta¹, Sara Marsal^{1*}, Antonio Julià^{1*}, on behalf of the IMID Consortium[¶]

1 Rheumatology Research Group, Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain, **2** Department of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain, **3** Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, **4** UGC Reumatología, Instituto de Investigación Biomédica (IBIMA), Hospital Regional Universitario de Málaga, Universidad de Málaga, Málaga, Spain, **5** Hospital Clínic de Barcelona and IDIBAPS, Barcelona, Spain, **6** Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain, **7** Hospital Universitario Guadalajara, Guadalajara, Spain, **8** CIBERehd, Madrid, Spain, **9** Hospital Universitario de la Princesa and IIS-IP, Madrid, Spain, **10** Hospital Clínico San Carlos, IDISSC, Madrid, Spain, **11** Hospital Clínico Universitario, Zaragoza, Spain, **12** Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain, **13** Hospital Parc Taulí, Sabadell, Spain, **14** Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Spain



OPEN ACCESS

Citation: Perrotti PP, Aterido A, Fernández-Nebro A, Cañete JD, Ferrándiz C, Tornero J, et al. (2017) Genetic variation associated with cardiovascular risk in autoimmune diseases. PLoS ONE 12(10): e0185889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889>

Editor: Xu-jie Zhou, Peking University First Hospital, CHINA

Received: December 23, 2016

Accepted: September 21, 2017

Published: October 5, 2017

Copyright: © 2017 Perrotti et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data derived from the six independent genome-wide association studies on cardiovascular risk in autoimmune diseases are available at the Rheumatology Research Group website (www.urrcat.com).

Funding: This study was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (grant numbers: PSE-010000-2006-6 and IPT-010000-2010-36) and by the "Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca" (AGAUR, Generalitat de Catalunya).

¶ Membership of the IMID Consortium is provided in the Acknowledgments.
* toni.julia@vhir.org (AJ); sara.marsal@vhir.org (SM)

Abstract

Autoimmune diseases have a higher prevalence of cardiovascular events compared to the general population. The objective of this study was to investigate the genetic basis of cardiovascular disease (CVD) risk in autoimmunity. We analyzed genome-wide genotyping data from 6,485 patients from six autoimmune diseases that are associated with a high socio-economic impact. First, for each disease, we tested the association of established CVD risk loci. Second, we analyzed the association of autoimmune disease susceptibility loci with CVD. Finally, to identify genetic patterns associated with CVD risk, we applied the cross-phenotype meta-analysis approach (CPMA) on the genome-wide data. A total of 17 established CVD risk loci were significantly associated with CVD in the autoimmune patient cohorts. From these, four loci were found to have significantly different genetic effects across autoimmune diseases. Six autoimmune susceptibility loci were also found to be associated with CVD risk. Genome-wide CPMA analysis identified 10 genetic clusters strongly associated with CVD risk across all autoimmune diseases. Two of these clusters are highly enriched in pathways previously associated with autoimmune disease etiology (TNF α and IFN γ cytokine pathways). The results of this study support the presence of specific genetic variation associated with the increase of CVD risk observed in autoimmunity.

Catalunya, FI-DGR 2016, grant number: 00587). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Introduction

Autoimmune diseases are a group of highly disabling chronic disorders characterized by the activation of multiple immune and inflammatory pathways against the self [1]. Overall, the estimated prevalence of autoimmunity is 5–7% in the general population [2]. Among these, the six autoimmune diseases that are associated with a high socio-economic impact are psoriasis (PS), rheumatoid arthritis (RA), psoriatic arthritis (PA), systemic lupus erythematosus (SLE) and inflammatory bowel diseases (IBDs), including Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). Importantly, patients with autoimmune diseases have shown to have a higher risk to develop cardiovascular diseases (CVD) compared to the general population [3]. Understanding the genetic and biological mechanisms underlying CVD risk in autoimmunity could therefore be fundamental to develop more efficient preventive and therapeutic strategies.

Autoimmune diseases are genetically complex diseases [4]. In the last years, genome-wide association studies (GWAS) have proven highly successful for identifying a large number of disease susceptibility loci [5]. In IBDs, for example, there are now more than 160 risk loci known to be associated to these autoimmune diseases of the gut [6]. Importantly, GWAS have enabled the identification of a shared genetic risk across autoimmune diseases [7]. However, little is known yet about the genetic variation that contributes to clinically relevant phenotypes within each autoimmune disease.

From a clinical perspective, one of the most important phenotypes in autoimmune diseases is the development of CVD. The marked reduction of the life expectancy observed in autoimmune patients has been clearly associated with an increased risk of CVD [8]. To date, multiple epidemiological and clinical factors have been associated with CVD risk both in autoimmune diseases and in the general population. These include age, dyslipidemia, arterial hypertension and obesity. However, there is increasing evidence that the elevated risk of CVD observed in autoimmune diseases is only partially explained by these classical risk factors [9]. In turn, GWAS in case-control cohorts from the general population have demonstrated the existence of a genetic risk background for CVD [10]. To date, more than 25 GWAS for CVD have been performed, resulting in the identification of more than 100 genetic risk variants [11–13]. So far, however, little is known on the impact of these established genetic variants in the risk of a cardiovascular event in autoimmune diseases.

A large number of the genetic variation associated with the susceptibility to autoimmune diseases involves genes associated with the innate and adaptive immune responses [14]. In particular, these include variation at pathways from pro-inflammatory cytokines like Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α) and interferon gamma (IFN γ) [15]. There is increasing evidence that inflammation and immune response activity are also important factors to CVD risk in the general population, both at the genetic and at the functional level [16, 17]. Consequently, genetic variants associated with autoimmune disease susceptibility could also contribute to the increase in CVD risk observed in this group of diseases. To date, however, no comprehensive study of the association between autoimmune susceptibility variants with CVD risk has been performed.

GWAS have revealed that many autoimmune risk loci are associated with multiple autoimmune diseases but not necessarily in the same direction (i.e. a risk allele for a particular autoimmune disease can act as a protective allele for other autoimmune diseases) [7]. These complex cross-phenotype associations underscore the importance of pleiotropy in the genetic epidemiology of autoimmunity. Pleiotropy occurs when a gene or genetic variant affects more than one phenotypic trait. Accordingly, the use of GWAS methods embracing this prevalent property should increase the power to identify relevant genetic variation in autoimmune diseases.

In the present study, we have used a large cohort of patients to investigate the genetics of CVD in six of the most clinically relevant autoimmune diseases. For this objective we have tested, for the first time, the association between established CVD risk loci and the development of CVD in autoimmunity. Conversely, we have also analyzed the association between autoimmune-disease loci and CVD risk. Finally, in order to identify new genetic variation associated with CVD risk across autoimmune diseases, we have performed a genome-wide cross-phenotype analysis. Together, the results of this study provide novel insights into the genetic basis of CVD in autoimmune diseases.

Materials and methods

Study population

A total of 6,485 patients were recruited by the Immune-Mediated Inflammatory Disease Consortium (IMIDC) between June 2007 and December 2010 [18]. The IMIDC is a Spanish network of clinical researchers aimed at characterizing the genetic basis of autoimmune diseases. All patients were collected from the outpatient's clinics of more than 80 departments of rheumatology, dermatology and gastroenterology from 51 Spanish University Hospitals belonging to the IMIDC. The cohort of patients used for the present study included: (i) 1,281 RA patients that fulfilled the American College of Rheumatology (ACR) diagnostic criteria; (ii) 1,123 PS patients that were diagnosed based on the dermatologist clinical criteria; (iii) 989 PA patients that fulfilled the Classification Criteria for Psoriatic Arthritis (CASPAR); (iv) 907 SLE patients that fulfilled four or more of the 1982 revised ACR criteria for SLE classification; and (v) 2,185 IBD patients, including 1,358 and 827 patients that were diagnosed using the Lennard-Jones criteria as having CD and UC, respectively (S1 File). All patients were of Western European descent and with all four grandparents born in Spain. The main features of the different patient cohorts are summarized in S1 Table.

All the procedures were followed in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki and informed written consent was obtained from all participants. The study and the consent procedure were reviewed and approved by the Ethics Committee of Clinical Research from Vall d'Hebron Hospital Research Institute.

Cardiovascular disease phenotype

CVD is a heterogeneous phenotype that includes diverse clinical endpoints. In the present study, CVD patients were defined as having ≥ 1 out of the 3 most frequent cardiovascular phenotypes: coronary heart disease (CHD), cerebrovascular accident (CVA) and peripheral arterial disease (PAD). The medical history of CVD was obtained after a detailed and exhaustive interrogation using standardized medical questionnaires provided. These medical questionnaires were filled by medical specialists from all Spanish Hospitals involved in the IMID Consortium according to the CVD definitions described below.

The CHD phenotype was defined as history of angina, acute myocardial infarction or ischemic heart diseases. The history of angina was assessed as evidence of acute-event symptoms including jaw, arm or chest pain as well as other clinically-related cardiac ischemia symptoms. The history of acute myocardial infarction was examined as the evidence of myocardial necrosis that is consistent with a myocardial ischemia. This was detected by a significant increase/decrease of the levels of the main cardiac biomarkers, together with a characteristic change in the electrocardiogram of the patient. The history of ischemic heart disease was confirmed if the patient fulfilled any of the following conditions: (i) ≥ 1 major epicardial coronary arteries having more than 70% of obstruction; (ii) history of acute myocardial infarction associated with wall motion abnormality; or (iii) diagnosis of coronary artery disease.

The CVA phenotype was used to characterize those autoimmune disease patients that had a transient ischemic attack or an ischemic/hemorrhagic stroke. The appearance of a transient ischemic attack was defined as a brief neurological dysfunction of the brain (i.e. lasting < 24 hours) caused by a cerebral ischemia without acute infarction. The history of an ischemic/hemorrhagic stroke was defined as an acute episode of focal, cerebral, spinal, or retinal dysfunction caused by infarction/hemorrhage of the central nervous system tissue.

The PAD phenotype was defined as the narrowing of the peripheral arteries that is caused by the presence of atherosclerotic plaques. Claudication symptoms are one of the most important PAD subphenotypes that were used to characterize the CVD phenotype of autoimmune disease patients. Clinical data from surgical and non-surgical interventions like coronary revascularization or percutaneous stenting were not collected in the IMID medical questionnaires and, consequently, these clinical subphenotypes were not evaluated in the present study.

Importantly, to identify genetic variation specifically associated with CVD risk in autoimmunity, all patients that had a cardiovascular event before the date of autoimmune disease diagnosis were excluded from the study (N = 127 patients).

GWAS genotyping and quality control

Genome-wide genotyping data from RA, PS, PA, CD and UC patients were obtained from the five cohorts of autoimmune patients that we previously genotyped [18–22]. For the SLE cohort, whole blood samples (5 mL) were collected from 907 SLE patients. From each sample, genomic DNA was isolated using the Chemagic Magnetic Separation Module I (PerkinElmer, Waltham, MA). Whole genome genotyping in the SLE patient cohort was performed using the same array platform (Illumina Quad610 BeadChip). Genotype calling was performed using the GenomeStudio software (v2011.1, Illumina, San Diego, California, USA).

From the 598,258 SNPs genotyped for each patient, we selected all 582,539 autosomal SNPs for the quality control (QC) analysis. In this analysis, we excluded those SNPs that had a minor allele frequency (MAF) < 0.05 and > 5% of missing data (5.6% SNPs). In order to identify markers deviating from Hardy-Weinberg equilibrium, we used an additional cohort of 1,558 healthy controls from the same population and genotyped with the same array [19]. A total of 1,649 SNPs that deviated significantly from Weinberg equilibrium in this cohort were subsequently removed (0.03% SNPs, $P < 1e-4$). To evaluate the presence of potential population stratification in the autoimmune patient cohorts, we used the principal component analysis (PCA) implemented in EIGENSOFT (v4.2) software (v4.2) [23]. Using the first 10 PCs of variation over 10 iterations we identified and discarded 201 patients showing an outlier genetic background ($N_{RA} = 32$, $N_{PS} = 50$, $N_{PA} = 20$, $N_{SLE} = 18$, $N_{CD} = 64$, $N_{UC} = 17$, S1 Fig). After the quality control, a final data set of 506,919 SNPs and 5,317 patients was available for association analysis.

Selection of candidate markers for CVD risk

Genetic variants associated with CVD risk in the general population. Genetic variants previously associated with CVD risk phenotypes (including IHD, CVA or PAD) in the general population (S2 Table) were obtained through a comprehensive electronic data search using PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed, 4th February 2016). Only established CVD risk loci (i.e. genetic variants that were significant at the genome-wide scale, $P < 5E-8$), were selected for the present study. A total of 115 genome-wide significant variants were identified and subsequently tested for association with CVD in each for the six autoimmune diseases.

Genetic variants associated with autoimmune disease susceptibility. Genetic variants associated with disease susceptibility were obtained from recently published GWASs [6, 24–

27]. A total of 341 genome-wide significant autoimmune disease variants were identified and tested for association with CVD risk (S3 Table).

Genotype imputation

The CVD and autoimmune risk SNPs that were not directly genotyped in the GWAS array ($N = 85$ CVD risk SNPs and $N = 244$ autoimmune risk SNPs) were imputed using the data from the six patient cohorts. After pre-phasing the haplotypes of each genomic region using SHAPEIT V2-644 software (Oxford, UK), imputation was carried out using IMPUTE V2 software (Oxford, UK) [28]. Genotype imputation was performed using the dense genotyping data from the Caucasian European cohort ($N = 379$ samples) generated by the 1000 Genomes Project (phase 1, version 3) [29]. Only those SNPs with high quality scores (defined as having an info quality metric > 0.8) were selected for downstream analysis. A total of 73 CVD risk SNPs and 218 autoimmune risk SNPs passed imputation quality control. After the imputation step, a final set of 103 CVD risk SNPs and 315 autoimmune risk SNPs was available for the candidate association analysis.

Statistical association analysis

Using the final data set of QC-filtered SNPs, the statistical association analysis between each variant and CVD risk was performed using the logistic regression model based on the expected genotype counts and implemented in SNPTEST v2 software (Oxford, UK) [30]. In this method, the allele dosage is defined as follows:

$$\text{Allele Dosage}_i = \sum_{g=0}^2 \text{Pr}(G = g) * g$$

Where g represents each genotype of a particular genetic variant i , and $\text{Pr}(G = i)$ is the marginal posterior probability obtained by imputation. The allele dosage therefore can take values between 0 and 2.

Traditional CVD risk factors are known to contribute to CVD risk both in the general population and in patients with autoimmune diseases [3]. Therefore, if inadequately controlled, these clinical and epidemiological risk factors could confound the results from CVD genetic association studies. In order to avoid the effect of these confounding factors, we included the established CVD risk factors as covariates in the statistical association analysis. Accordingly, age, sex, dyslipidemia, arterial hypertension, diabetes mellitus type 2, body mass index, physical inactivity and smoking were included as covariates in the logistic regression model (S1 File). Also, in order to control for genetic ancestry the 2 first PCs of variation were included as covariates in the logistic regression model. The summary statistics of the traditional CVD risk factors for each autoimmune disease are shown in S1 Table.

In order to compare the genetic effect of the associated SNPs across autoimmune diseases, we used the Breslow-Day test for homogeneity of the odds ratio. This method was applied to compare the genetic effect across all autoimmune diseases and also across the two most closely related autoimmune diseases at the clinical level: (i) PS and PA; (ii) CD and UC; and (iii) RA and SLE.

Genome-wide cross-phenotype analysis of CVD risk

In order to identify genetic patterns associated with CVD risk in autoimmune diseases, we performed a genome-wide cross-phenotype meta-analysis (CPMA) as described previously [7]. Briefly, CPMA is a novel approach that allows the identification of genetic variants associated

with multiple phenotypes by integrating statistics from GWAS. First, genome-wide significance P -values for CVD risk were calculated for each autoimmune disease using a total of 507,051 SNPs. The SNPs that were found to be nominally associated with CVD risk were then selected ($P < 0.05$, $N = 10,163$ SNPs, here) and used to calculate the CPMA statistic. The CPMA statistic efficiently integrates the evidence from multiple phenotypes and tests for the presence of pleiotropic associations. After selecting the SNPs with significant evidence of pleiotropy ($P_{CPMA} < 0.01$), we filtered those variants that were in moderate to high linkage disequilibrium ($r^2 > 0.2$) in order to avoid the inclusion of redundant signals from neighboring markers.

After identifying the independent SNPs showing higher evidence of pleiotropy, we next analyzed the presence of genetic patterns associated with CVD risk in autoimmune diseases. Following the previously described approach, we computed the SNP-SNP distances and we classified them into four categories of statistical association (i.e. $1 > P > 0.05$, $0.05 > P > 0.02$, $0.02 > P > 0.005$, $P < 0.005$) [7]. The categorical matrix defined by these four categories (i.e. each row represents a SNP associated with CVD and each column a particular autoimmune disease) was used to compute the Euclidean distance between each SNP pair using the Gower's method for discrete data. The resulting matrix of SNP-SNP Euclidean distances was finally used to perform the hierarchical clustering analysis using Ward's method. All the steps from the cross-phenotype analysis were performed using the R statistical software.

For each genetic risk pattern, we computed the statistical significance of the association with CVD risk by combining the association statistics using Fisher's method. According to the number of genetic patterns and autoimmune diseases tested for association with CVD risk, the statistical significance was then corrected for multiple testing using the Bonferroni method [31]. In order to functionally characterize each genetic pattern, we performed a functional enrichment analysis. For this objective, we used the "Hallmark Gene Sets" database (Molecular Signatures Database, Boston, www.broadinstitute.org/gsea/msigdb), a collection of curated sets of genes that show strong coordinated gene expression and represent specific well-defined biological processes. The statistical enrichment analysis for each functional gene set was calculated using the hypergeometric test. The False Discovery Rate (FDR) method was used to account for multiple testing [32].

Results

CVD characterization in autoimmune disease cohorts

A total of 140 autoimmune patients with CVD and 5,317 event-free autoimmune patients were identified in the autoimmune disease cohorts of the present study. The epidemiological and clinical characteristics of the present cohort are shown in S1 Table.

Identification of established CVD risk variants associated also with CVD in autoimmune diseases

We successfully replicated the association between 17 genetic variants and CVD risk in the different autoimmune diseases ($P < 0.05$, same risk allele, Table 1). Of relevance, none of the associated SNPs overlapped between the different autoimmune diseases. The most significant association was observed between *HHIPL1* gene (intronic SNP rs2895811) and CVD risk in CD ($P = 5.62E-4$).

Identification of heterogeneous effects on CVD risk across autoimmune diseases

From the 17 genetic variants that were significantly associated with CVD risk, we found that 4 SNPs showed significant heterogeneity of genetic effects across the six autoimmune diseases

Table 1. Established CVD risk variants associated with CVD risk in the six autoimmune diseases.

| Gene | SNP | Chr | Position | IQM | RA | AID | P | OR (95% CI) | AID _{BR} | P _{BD} |
|-----------------------------|------------|-----|-----------|------|----|-----|---------|---------------------|-------------------|-----------------|
| <i>BSND, PCSK9</i> | rs11206510 | 1 | 55030366 | DG | T | UC | 0.041 | 6.56 (1.07–40.09) | CD | 0.303 |
| <i>MIA3</i> | rs17465637 | 1 | 222650187 | 1.00 | C | CD | 0.029 | 6.76 (1.20–37.96) | UC | 0.058 |
| <i>SORT1, CELSR2, PSRC1</i> | rs602633 | 1 | 109278889 | 0.96 | T | PA | 0.027 | 2.57 (1.11–5.90) | PS | 0.108 |
| <i>OTOL1, TOMM22P6*</i> | rs6789378 | 3 | 162449608 | 1.00 | G | UC | 0.004 | 5.54 (1.72–17.8) | CD | 0.014 |
| <i>OTOL1, TOMM22P6</i> | rs11924705 | 3 | 162443828 | 1.00 | T | PA | 0.009 | 2.90 (1.30–6.50) | PS | 0.085 |
| <i>STK32B</i> | rs7673097 | 4 | 5366497 | 0.99 | G | UC | 0.039 | 1.79 (1.01–12.50) | CD | 0.935 |
| <i>MTND1P22, GUCY1A3</i> | rs1842896 | 4 | 155590307 | DG | T | SLE | 0.046 | 1.96 (1.01–3.80) | RA | 0.210 |
| <i>LPA</i> | rs10755578 | 6 | 160548706 | 0.99 | C | UC | 0.027 | 4.16 (1.17–14.74) | CD | 0.632 |
| <i>ZPR1</i> | rs964184 | 11 | 116778201 | DG | G | CD | 0.037 | 1.10 (1.01–4.98) | UC | 0.917 |
| <i>PTCSC3</i> | rs1952706 | 14 | 36205321 | 0.98 | C | SLE | 0.036 | 2.11 (1.05–4.23) | RA | 0.053 |
| <i>HHIPL1*</i> | rs2895811 | 14 | 99667605 | DG | C | CD | 5.62E-4 | 34.11 (4.58–254.06) | UC | 0.025 |
| <i>ADAMTS7*</i> | rs3825807 | 15 | 78796769 | 1.00 | A | SLE | 0.049 | 1.93 (1.03–3.74) | RA | 0.020 |
| <i>ZFH3</i> | rs879324 | 16 | 73034779 | 0.98 | A | UC | 0.016 | 4.75 (1.34–16.78) | CD | 0.358 |
| <i>UBE2Z*</i> | rs46522 | 17 | 48911235 | 1.00 | T | PA | 0.012 | 2.67 (1.24–5.77) | PS | 0.027 |
| <i>SMARCA4*</i> | rs1122608 | 19 | 11052925 | 0.98 | T | RA | 0.039 | 1.69 (1.03–2.78) | SLE | 0.013 |
| <i>AP3D1, SF3A2, DOT1L</i> | rs3803915 | 19 | 2160530 | DG | C | PA | 0.029 | 3.09 (1.21–126.53) | PS | 0.286 |
| <i>APOE</i> | rs2075650 | 19 | 44892362 | DG | G | PA | 0.024 | 3.50 (1.17–10.41) | PS | 0.122 |

Gene: closest mapping gene/s to the associated SNP; SNP: Single Nucleotide Polymorphism; Chr: chromosome; IQM: Information quality metric obtained in the imputation step for the indicated genetic variant (DG indicates that a particular genetic was directly genotyped); RA: allele associated with CVD risk in the original publication; AID: autoimmune disease where the CVD risk variant was replicated; P: P-value of association of variant with CVD risk in the autoimmune diseases; OR (95% CI): odds ratio and 95% confidence interval of the association between the SNP and CVD risk; AID_{BR}: most closely related autoimmune disease; P_{BD}: significance of Breslow-Day test for heterogeneity of effect of the CVD risk SNP between the two most closely related autoimmune diseases.

* Genes showing a significantly different genetic effect on CVD risk between the two most closely related autoimmune diseases (P_{BD}<0.05).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889.t001>

($P_{\text{Breslow-Day}} < 0.05$, Fig 1). Three of these variants displaying significant heterogeneous association with CVD risk were associated with IBDs: SNP rs17465637 (*MIA3* gene; $P = 0.03$; OR = 6.76; 95% CI, 1.21–37.96) and SNP rs2895811 (*HHIPL1* gene; $P = 0.001$; OR = 8.51; 95% CI, 1.80–80.02) were associated with CD, and SNP rs6789378 (*OTOL1-TOMM22P6* locus; $P = 0.004$; OR = 7.52; 95% CI, 2.11–40.78) with UC. Comparing the genetic effect on CVD risk between the most clinically similar autoimmune diseases, we detected significantly different effects in 5 out of the 17 CVD risk SNPs ($P_{\text{Breslow-Day}} < 0.05$, Table 1).

Identification of autoimmune disease risk variants associated with CVD risk

A total of 6 SNPs associated with autoimmune disease risk were also found to be significantly associated with CVD risk ($P < 0.05$, Table 2). Four of these variants were IBD risk SNPs and two were markers associated with RA susceptibility.

Genetic patterns associated with CVD risk in autoimmune diseases

A total of 765 SNPs were found to have a significant multi-phenotype association ($P_{\text{CPMA}} < 0.01$, $P_{\text{Binomial}} < 5.74E-28$). After removing the markers in linkage disequilibrium ($r^2 > 0.2$), a final set of 406 independent pleiotropic SNPs was used for downstream analysis (S4 Table). The global sharing of genetic associations with CVD risk across the six autoimmune diseases is represented in S2 Fig.

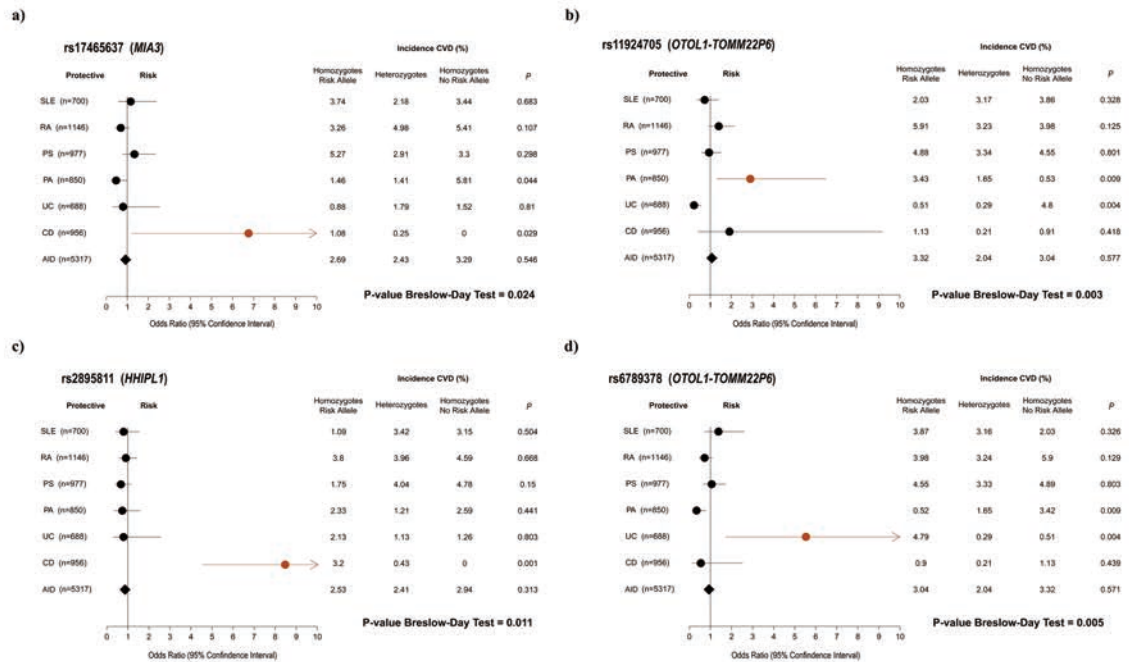


Fig 1. Genetic variants showing heterogeneous genetic effects on CVD risk across autoimmune diseases. For each associated SNP (A: rs17465637. B: rs11924705. C: rs2895811. D: rs6789378) the Odds Ratio (OR, black dots) and 95% confidence intervals (horizontal lines) are shown for each of the 6 autoimmune diseases and the combined autoimmune cohort (AID). The SNPs showing a significant association with CVD risk in an autoimmune disease are highlighted in red. For each of the three genotypes of each SNP (risk allele homozygous, heterozygous, non-risk allele homozygous), the incidence of CVD is described in the accompanying table.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889.g001>

Using the clustering approach on the 406 pleiotropic variants, we identified 10 different genetic clusters (GC) associated with CVD risk in autoimmune diseases (Fig 2A and S5 Table). For each autoimmune disease, the statistical association between each GC and CVD risk is shown in Fig 2B. From the 10 GCs identified, we found that 3 GCs were significantly enriched

Table 2. Established autoimmune susceptibility variants also associated with CVD risk.

| Autoimmune disease | SNP | Chr | Position | IQM | Gene | RA | P | OR (95% CI) |
|----------------------|-----------|-----|-----------|------|--------------|----|-------|-------------------|
| Rheumatoid arthritis | rs6732565 | 2 | 110850255 | 1.00 | ACOXL | A | 0.021 | 1.74 (1.09–2.79) |
| Rheumatoid arthritis | rs6715284 | 2 | 201289674 | 0.99 | CFLAR-CASP8 | G | 0.028 | 2.35 (1.09–5.04) |
| Crohn's disease | rs7702331 | 5 | 73255307 | DG | LOC105379031 | A | 0.029 | 5.52 (1.19–25.71) |
| Crohn's disease | rs212388 | 6 | 159069404 | DG | TAGAP | C | 0.044 | 5.51 (1.04–29.11) |
| Crohn's disease | rs3897478 | 1 | 119908567 | 1.00 | ADAM30 | T | 0.038 | 1.83 (1.01–78.24) |
| Ulcerative colitis | rs4728142 | 7 | 128933913 | DG | IRF5 | A | 0.011 | 4.68 (1.43–15.30) |

SNP: Single Nucleotide Polymorphism; Chr: chromosome; IQM: Information quality metric obtained in the imputation step for the indicated genetic variant (DG indicates that a particular genetic was directly genotyped); Gene: closest mapping gene/s to susceptibility variant; RA: allele associated with autoimmune disease risk; P: significance of association between the indicated genetic variant and CVD risk; OR (95%CI): Odds ratio and 95% confidence interval for the observed association.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889.t002>

in 7 sets of functionally-related genes (Table 3 and S6 Table). Importantly, after multiple testing correction, GC4 and GC7 were found to be significantly enriched in genes that are involved in immune-related pathways strongly associated with the autoimmunity etiopathogenesis like the TNF α ($P_{FDR} = 0.02$) and INF γ cytokine pathways ($P_{FDR} = 0.02$), respectively.

Discussion

CVD represents one of the most clinically relevant phenotypes in autoimmune diseases. In this work, we have used a large multicenter cohort of six autoimmune diseases to characterize the genetic risk for CVD in this group of diseases. First, we have replicated the association of established CVD risk loci with CVD in autoimmune diseases. Second, we have found that multiple autoimmune susceptibility loci are also associated with CVD risk. Finally, using a cross-phenotype genome-wide analysis we have identified genetic patterns significantly associated with CVD risk in autoimmune diseases. Taken together, these findings support the existence of a differential genetic component for CVD risk in autoimmunity.

We have successfully validated the association of 17 established CVD risk SNPs in autoimmune diseases. This result confirms that genetic variation associated with the development of cardiovascular events in the general population can also be associated with CVD risk in this group of chronic inflammatory diseases. Several of these associated genes have relevant functional implications that could link both disease etiopathogenesis. For example, *ADAMTS7* (rs3825807) encodes a metalloproteinase that has been associated with arthritis and also with the thickening of the neointima occurring in cardiovascular events [33, 34]. The association between CVD risk and *SMARCA4* (rs1122608) in RA patients is also consistent with the disease pathogenesis. RA is characterized by the predominant infiltration of CD4+ T lymphocytes in the synovial joints. *SMARCA4* (also known as BRG1) has been shown to be essential for the differentiation of Th1 CD4+ T cells [35], which is the predominant T cell subset in RA synovial joints. Conversely, variation at *SMARCA4* gene has been recently associated to low-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B levels [36], thereby providing a direct etiological contribution to CVD risk.

One of the most important findings of the present study is the identification of differential effects in established CVD risk genes across autoimmune diseases. This result suggests that the proinflammatory state that characterizes each autoimmune disease modulates specifically the CVD risk conferred by the known CVD genetic risk factors. For example, the genetic risk variant rs2895811 at *HHIPL1* gene showed a significantly stronger association with CVD risk in CD than in the other five autoimmune diseases. The protein encoded by this gene participates in the Hedgehog (HH) signaling pathway, a biological process known to be involved in the pathogenesis of IBDs [37]. Very recently, this signaling pathway has been shown to play also a cardio-protective role in cardiomyocytes [38]. This result therefore suggests that the pathologic role of the HH signaling pathway in CVD is enhanced by the specific autoimmune processes activated in CD and, therefore, that CD patients carrying the risk allele for the *HHIPL* locus have a higher probability to develop a cardiovascular event than patients with the non-risk allele. To our knowledge, it is the first time that genetic risk factors for CVD have been shown to be modulated by the presence of an autoimmune disease.

The use of GWAS to identify new genetic risk loci for autoimmune diseases has greatly improved our understanding of the genetic basis of autoimmunity risk [39]. Together with the characterization of the missing heritability, the challenge ahead is to investigate whether these autoimmune disease risk loci are also associated to the most clinically relevant disease phenotypes. CVD is clearly one of the most relevant phenotypes since it has a direct impact in the patient's life expectancy. In the present study we have analyzed the association between known

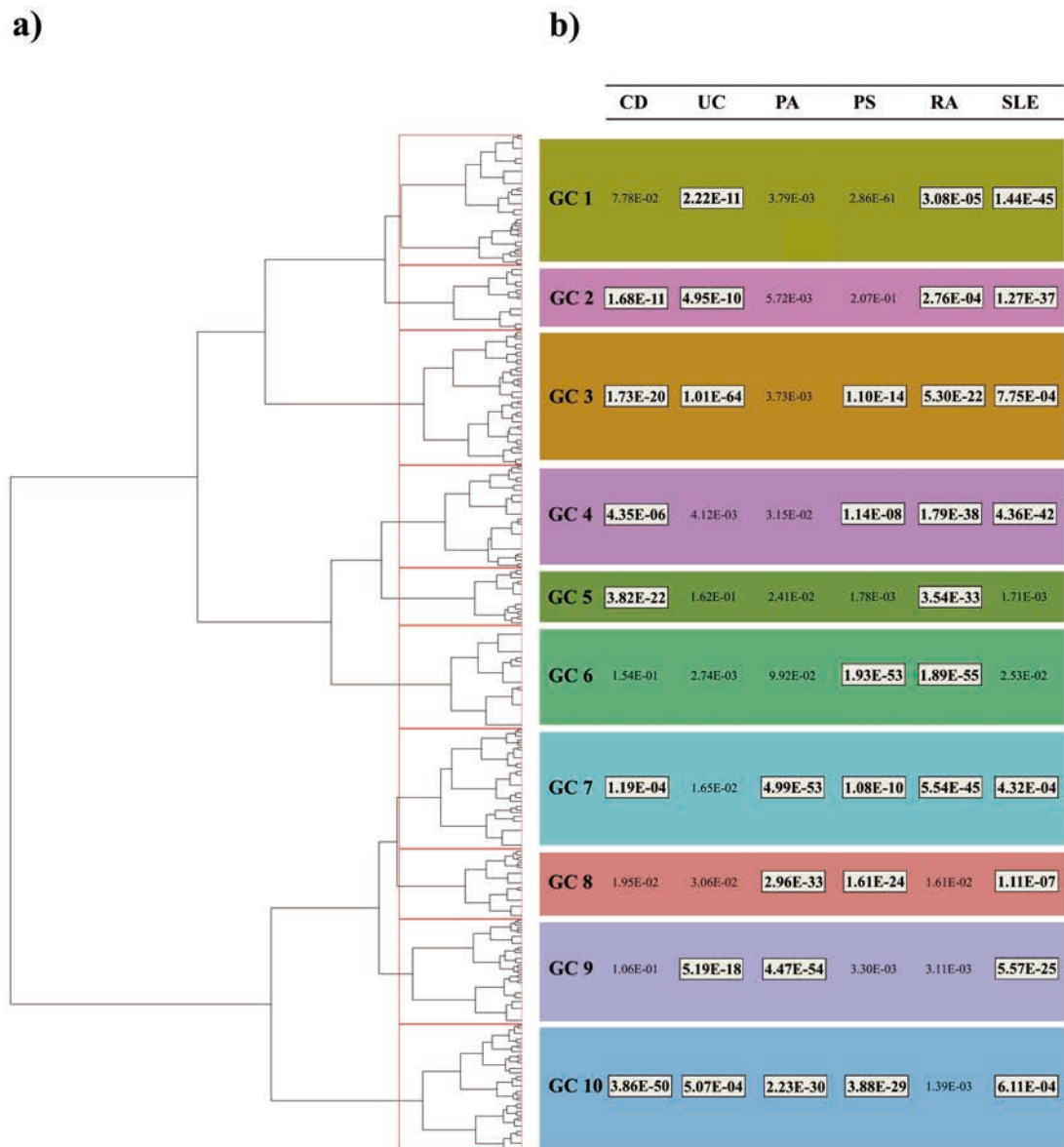


Fig 2. Identification of the genetic clusters associated with CVD risk across autoimmune diseases. **A:** Hierarchical clustering dendrogram showing the similarity between SNPs with significant evidence of pleiotropy with CVD risk. **B:** Statistical significance of the association between each genetic cluster and CVD risk for the six autoimmune diseases. Significant associations after multiple test correction are highlighted in white boxes. Abbreviations: GC: genetic cluster.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889.g002>

Table 3. Functional characterization of the genetic clusters associated with CVD risk across autoimmune diseases.

| GC | Gene Set | Description | Gene# | P_{HYPER} | P_{FDR} |
|------|---------------------------------|---|-------|-------------|-----------|
| GC 4 | Apical surface | Genes encoding proteins over-represented on the apical surface of epithelial cells. | 44 | 7,17E-4 | 0.019 |
| GC 4 | TNF α signaling via NFKB | Genes regulated by NFKB in response to TNF. | 200 | 7,66E-4 | 0.019 |
| GC 6 | Estrogen response early | Genes defining early response to estrogen. | 200 | 5,21E-4 | 0.013 |
| GC 6 | Estrogen response late | Genes defining late response to estrogen. | 200 | 5,21E-4 | 0.013 |
| GC 7 | Adipogenesis | Genes up-regulated during adipocyte differentiation. | 200 | 1,01E-3 | 0.017 |
| GC 7 | Complement | Genes encoding components of the complement system. | 200 | 1,01E-3 | 0.017 |
| GC 7 | Interferon Gamma response | Genes up-regulated in response to IFN γ . | 200 | 1,01E-3 | 0.017 |

GC: genetic cluster; Gene Set: Hallmark gene set associated with CVD risk; Gene#: number of genes in the indicated gene set; P_{HYPER} : significance of association between the indicated GC and biological process using the hypergeometric test; P_{FDR} : significance of the functional association after correcting for multiple testing using the False Discovery Rate method.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185889.t003>

susceptibility variants for autoimmune diseases and CVD risk. For most of these loci it is the first time that this association has been tested. Despite immune activation is now considered a necessary biological process for CVD development [40], to date, very few established CVD risk genes are known to be associated with immunity. Our findings support the existence of a genetic risk component for CVD that is functionally associated with the immune response.

In the association analysis between candidate loci and CVD risk, we were able to identify a significant association for 6 out of 315 autoimmune-associated SNPs and 17 out of 103 CVD-associated SNPs. Although GWAS are a very powerful approach to identify new disease risk genes, this methodology is not always able to identify the exact causal variant [41]. The genetic variation analyzed in the present study (i.e. reference SNPs for both CVD and autoimmunity risk) could be in linkage disequilibrium with the exact causal SNP rather than being the precise causal variant itself. Also, different genetic variation at the same gene has been associated with multiple autoimmune diseases [42]. This suggests that causative SNPs for CVD could differ between diseases, which is consistent with the differences observed across the six autoimmune diseases analyzed. Future studies using independent cohorts of CVD-characterized autoimmune disease patients will provide deeper insights into the disease-specific genetic basis for CVD risk in autoimmunity.

In the present study we have also identified the existence of genetic patterns associated with CVD risk across autoimmune diseases. Based on the existence of pleiotropic effects among genetic variation associated with autoimmune disease risk, we have been able to combine the results across six autoimmune diseases and identify 10 genetic patterns associated with CVD risk. Of relevance, two of these genetic patterns are significantly enriched in genes from immune response pathways that are crucial for this group of autoimmune diseases: TNF α and IFN γ cytokine pathways. The GC enriched in TNF α pathway genes was found to be very strongly associated with CVD risk in RA and SLE ($P = 1.8E-38$ and $P = 4.36E-42$, respectively). TNF α is one of the main mediators of multiple cardiovascular pathological mechanisms underlying CVD [15]. In addition, TNF α is one of the most abundant cytokines produced by the inflamed synovium in RA. Blocking TNF α systemically has proven to be a highly efficacious approach to treat RA, and is currently the predominant biologic therapy after failure of conventional disease-modifying anti-rheumatic drugs. Consequently, genetic variation influencing this shared pathway could contribute to increase the risk of a cardiovascular event in RA patients. Evidence from national registers suggesting that patients treated with anti-TNF agents have a lower probability to develop CVD supports this possibility [43]. In order to identify the therapeutic potential of these results, further studies evaluating the role of TNF α in the

development of CVD in RA and SLE patients as well as the role of IFN γ in PA and RA patients are needed.

The functional enrichment analysis of the genetic clusters associated with CVD risk in autoimmune diseases also showed a genetic cluster (GC6) significantly enriched in genes that participate in the estrogen response. For decades, it has been known that there is a higher prevalence of CVD in males compared to females. This observation has contributed to the hypothesis that sex-related hormones like estrogens, which are also potent stimulators of autoimmunity, contribute to the risk of developing CVD [44, 45]. The finding that estrogen response genes (GC6) are associated with CVD in PS and RA suggests that, within these two autoimmune diseases, the role of sex hormones in increasing CVD risk is partially mediated by genetic variation at genes participating in the estrogen response.

This study represents the first comprehensive analysis of genetic variation associated with CVD risk in autoimmune diseases. Our findings provide new insights into the molecular mechanisms that contribute to increase the risk of a cardiovascular event in autoimmune diseases. Nevertheless, this study has limitations. Despite that the sample size used in each of the six autoimmune diseases is large, the number of patients with CVD events is relatively low. The main reason is the low prevalence of this severe phenotype within each disease cohort but also the exclusion of patients that had a CVD event before the autoimmune disease initiation. This former selection criteria, although reduced the total number of CVD patients available for analysis, was essential to identify the genetic variation that is relevant for CVD in autoimmunity. Another limiting factor in this study is the heterogeneity in the CVD phenotype. Similar to previous studies, we included patients with different forms of CVD, and this could have prevented the identification of additional genetic associations. It is likely that stratified analyses for each of the different CVD subphenotypes will help to reveal new risk variation, although this would require much larger patient cohorts than the ones used in the present study. Future studies integrating data from different multicenter cohorts like the present one will be necessary.

In the present study we have performed a comprehensive analysis of genetic variation associated with CVD risk in autoimmune diseases. Using large cohorts of six autoimmune diseases that are associated with a high socio-economic impact, we have replicated the association of established CVD risk loci. Importantly, we have found that several of these loci are differentially associated across autoimmune diseases. This result supports the hypothesis that the disease-specific inflammatory component contributes differentially to increase CVD risk in autoimmunity. In addition, we have identified genetic variation previously associated with autoimmune diseases susceptibility that is also associated with CVD risk. This result could contribute to explain the increased prevalence of CVD observed in autoimmune diseases. Replication in additional independent cohorts will be needed to confirm this finding. Finally, we have identified the major genetic patterns associated with CVD risk in autoimmune diseases. These results suggest novel biological mechanisms underlying the development of CVD in autoimmunity.

Supporting information

S1 File. The supplementary information is available in the “*Supporting Information*” file. (PDF)

S1 Fig. Principal component analysis of the autoimmune disease cohorts. (PDF)

S2 Fig. Global sharing of genetic variants associated with CVD risk across autoimmune diseases. (PDF)

S1 Table. Main epidemiological and clinical features of the autoimmune cohorts included in the present study.

(ODS)

S2 Table. Reference publications of GWAS on CVD risk.

(ODS)

S3 Table. Genetic variants associated with autoimmune disease risk.

(ODS)

S4 Table. Independent genetic loci nominally associated with CVD risk in multiple autoimmune diseases.

(ODS)

S5 Table. Genetic content of the 10 genetic clusters associated with CVD risk across autoimmune diseases.

(ODS)

S6 Table. Functional characterization of the 10 genetic clusters associated with CVD risk across autoimmune diseases.

(ODS)

Acknowledgments

The authors thank the staff and participants in the IMID Consortium.

Members of the IMID Consortium

Esteban Daudén (Hospital Universitario de la Princesa and IIS-IP, Madrid, Spain), Joan Maymó (Hospital del Mar, Barcelona, Spain), Rubén Queiró (Hospital Universitario Central de Asturias, Asturias, Spain), Francisco Javier Lopez Longo (Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain), José Luis Sánchez Carazo (Hospital General Universitario, Valencia, Spain), Mercedes Alperi-López (Hospital Universitario Central de Asturias, Asturias, Spain), Carlos Montilla (Hospital Clínic de Barcelona and IDIBAPS, Barcelona, Spain), José Javier Pérez Venegas (Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz, Spain), Juan L. Mendoza (Hospital Clínico San Carlos, IDISSC, Madrid, Spain), José Luis López Esteban (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain), Àlex Olivé (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain), Juan Carlos Torre-Alonso (Hospital Monte Naranco, Oviedo, Spain), Manuel Barreiro de Acosta (Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela, Spain), David Moreno Ramírez (Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla, Spain), Héctor Corominas (Hospital Moisès Broggi, Barcelona, Spain), Santiago Muñoz Fernández (Hospital Universitario Infanta Sofía, Madrid, Spain), José Luis Andreu (Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain), Fernando Muñoz (Complejo Hospitalario de León, León, Spain), Pablo de la Cueva (Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, Spain), Alba Erra (Hospital Sant Rafael, Barcelona, Spain), Carlos M. González (Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain), María Ángeles Aguirre Zamorano (Hospital Universitario Reina Sofía, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba, Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain), Maribel Vera (Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain), Francisco Vanaclocha (Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Spain), Daniel Roig (Hospital Moisès Broggi, Barcelona, Spain), Paloma Vela (Hospital General de Alicante, Alicante, Spain), Cristina Saro (Hospital de Cabueñes, Gijón, Spain), Enrique Herrera (Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, Spain), Pedro Zarco (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain),

Joan M. Nolla (Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, Spain), Maria Esteve (Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona, Spain), José Luis Marengo de la Fuente (Hospital del Valme, Sevilla, Spain), José María Pego-Reigosa (Hospital do Meixoeiro, Vigo, Spain), Valle García Sánchez (Hospital Universitario Reina Sofía, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain), Julián Panés (CIBERehd, Madrid, Spain), Eduardo Fonseca (Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, A Coruña, Spain), Francisco Blanco (Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, A Coruña, Spain), Jesús Rodríguez Moreno (Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, Spain), Patricia Carreira (Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Spain), Julio Ramírez (Hospital Clínic de Barcelona and IDIBAPS, Barcelona, Spain), Pilar Nos (Hospital la Fe, Valencia, Spain; CIBERehd, Madrid, Spain), Ana Gutiérrez Casbas (Hospital General de Alicante, Alicante, Spain; CIBERehd, Madrid, Spain), Lluís Puig (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain), Isidoro González Álvaro (Hospital Universitario de la Princesa and IIS-IP, Madrid, Spain), José A. Pinto Tasende (Complejo Hospitalario Juan Canalejo, A Coruña, Spain), Ricardo Blanco (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Spain).

Author Contributions

Conceptualization: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Fernández-Nebro, Sara Marsal, Antonio Julià.

Data curation: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Sara Marsal, Antonio Julià.

Formal analysis: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Sara Marsal, Antonio Julià.

Funding acquisition: Sara Marsal, Antonio Julià.

Investigation: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Fernández-Nebro, Sara Marsal, Antonio Julià.

Methodology: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Fernández-Nebro, Juan D. Cañete, Carlos Ferrándiz, Jesús Tornero, Javier P. Gisbert, Eugeni Domènech, Benjamín Fernández-Gutiérrez, Fernando Gomollón, Esther García-Planella, Emilia Fernández, Raimon Sanmartí, Jordi Gratacós, Víctor Manuel Martínez-Taboada, Luís Rodríguez-Rodríguez, Núria Palau, Raül Tortosa, Mireia L. Corbeto, María L. Lasanta, Sara Marsal, Antonio Julià.

Project administration: Antonio Fernández-Nebro, Sara Marsal, Antonio Julià.

Resources: Antonio Fernández-Nebro, Juan D. Cañete, Carlos Ferrándiz, Jesús Tornero, Javier P. Gisbert, Eugeni Domènech, Benjamín Fernández-Gutiérrez, Fernando Gomollón, Esther García-Planella, Emilia Fernández, Raimon Sanmartí, Jordi Gratacós, Víctor Manuel Martínez-Taboada, Luís Rodríguez-Rodríguez, Núria Palau, Raül Tortosa, Mireia L. Corbeto, María L. Lasanta, Sara Marsal, Antonio Julià.

Software: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Julià.

Supervision: Antonio Fernández-Nebro, Sara Marsal, Antonio Julià.

Validation: Antonio Fernández-Nebro, Juan D. Cañete, Carlos Ferrándiz, Jesús Tornero, Eugeni Domènech, Benjamín Fernández-Gutiérrez, Fernando Gomollón, Esther García-Planella, Emilia Fernández, Raimon Sanmartí, Jordi Gratacós, Víctor Manuel Martínez-Taboada, Luís Rodríguez-Rodríguez, Núria Palau, Raül Tortosa, Mireia L. Corbeto, María L. Lasanta, Sara Marsal, Antonio Julià.

Visualization: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Javier P. Gisbert, Sara Marsal, Antonio Julià.

Writing – original draft: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Julià.

Writing – review & editing: Pedro P. Perrotti, Adrià Aterido, Antonio Fernández-Nebro, Juan D. Cañete, Carlos Ferrándiz, Jesús Tornero, Javier P. Gisbert, Eugeni Domènech, Benjamín Fernández-Gutiérrez, Fernando Gomollón, Esther García-Planella, Emilia Fernández, Raimon Sanmartí, Jordi Gratacós, Víctor Manuel Martínez-Taboada, Luís Rodríguez-Rodríguez, Núria Palau, Raül Tortosa, Mireia L. Corbeto, María L. Lasanta, Sara Marsal, Antonio Julià.

References

1. El-Gabalawy H, Guenther LC, Bernstein CN. Epidemiology of immune-mediated inflammatory diseases: incidence, prevalence, natural history, and comorbidities. *The Journal of rheumatology Supplement*. 2010; 85:2–10. Epub 2011/02/02. <https://doi.org/10.3899/jrheum.091461> PMID: 20436161.
2. Kuek A, Hazleman BL, Ostor AJ. Immune-mediated inflammatory diseases (IMIDs) and biologic therapy: a medical revolution. *Postgraduate medical journal*. 2007; 83(978):251–60. Epub 2007/04/04. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.052688> PMID: 17403952; PubMed Central PMCID: PMCPMC2600039.
3. Nurmohamed MT, Heslinga M, Kitas GD. Cardiovascular comorbidity in rheumatic diseases. *Nature reviews Rheumatology*. 2015; 11(12):693–704. Epub 2015/08/19. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.112> PMID: 26282082.
4. Parkes M, Cortes A, van Heel DA, Brown MA. Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases. *Nat Rev Genet*. 2013; 14(9):661–73. Epub 2013/08/07. <https://doi.org/10.1038/nrg3502> PMID: 23917628.
5. Marson A, Housley WJ, Hafler DA. Genetic basis of autoimmunity. *The Journal of clinical investigation*. 2015; 125(6):2234–41. Epub 2015/06/02. <https://doi.org/10.1172/JCI78086> PMID: 26030227; PubMed Central PMCID: PMCPMC4497748.
6. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012; 491(7422):119–24. Epub 2012/11/07. <https://doi.org/10.1038/nature11582> PMID: 23128233; PubMed Central PMCID: PMCPMC3491803.
7. Cotsapas C, Voight BF, Rossin E, Lage K, Neale BM, Wallace C, et al. Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. *PLoS Genet*. 2011; 7(8):e1002254. Epub 2011/08/20. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002254> PMID: 21852963; PubMed Central PMCID: PMCPMC3154137.
8. Mason JC, Libby P. Cardiovascular disease in patients with chronic inflammation: mechanisms underlying premature cardiovascular events in rheumatologic conditions. *European heart journal*. 2015; 36(8):482–9c. Epub 2014/11/30. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu403> PMID: 25433021; PubMed Central PMCID: PMCPMC4340364.
9. Mankad R. Atherosclerotic vascular disease in the autoimmune rheumatologic patient. *Current atherosclerosis reports*. 2015; 17(4):497. Epub 2015/02/28. <https://doi.org/10.1007/s11883-015-0497-6> PMID: 25721102.
10. Lara-Pezzi E, Dopazo A, Manzanares M. Understanding cardiovascular disease: a journey through the genome (and what we found there). *Disease models & mechanisms*. 2012; 5(4):434–43. Epub 2012/06/26. <https://doi.org/10.1242/dmm.009787> PMID: 22730474; PubMed Central PMCID: PMCPMC3380707.
11. Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, Farrall M, Assimes TL, Thompson JR, et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013; 45(1):25–33. Epub 2012/12/04. <https://doi.org/10.1038/ng.2480> PMID: 23202125; PubMed Central PMCID: PMCPMC3679547.
12. Matsukura M, Ozaki K, Takahashi A, Onouchi Y, Morizono T, Komai H, et al. Genome-Wide Association Study of Peripheral Arterial Disease in a Japanese Population. *PloS one*. 2015; 10(10):e0139262. Epub 2015/10/22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139262> PMID: 26488411; PubMed Central PMCID: PMCPMC4619060.
13. Traylor M, Farrall M, Holliday EG, Sudlow C, Hopewell JC, Cheng YC, et al. Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE collaboration): a meta-analysis of genome-wide association studies. *The Lancet Neurology*. 2012; 11(11):951–62. Epub 2012/10/09. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70234-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70234-X) PMID: 23041239; PubMed Central PMCID: PMCPMC3490334.

14. Gutierrez-Arcelus M, Rich SS, Raychaudhuri S. Autoimmune diseases—connecting risk alleles with molecular traits of the immune system. *Nat Rev Genet.* 2016; 17(3):160–74. Epub 2016/02/26. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.33> PMID: 26907721; PubMed Central PMCID: PMC4896831.
15. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Mechanisms of premature atherosclerosis in rheumatoid arthritis and lupus. *Annual review of medicine.* 2013; 64:249–63. Epub 2012/10/02. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-060911-090007> PMID: 23020882; PubMed Central PMCID: PMC4198172.
16. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, Gorman DN, et al. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet (London, England).* 2012; 379(9822):1205–13. Epub 2012/03/17. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61931-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61931-4) PMID: 22421339; PubMed Central PMCID: PMC3316940.
17. Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *European heart journal.* 2014; 35(9):578–89. Epub 2013/09/13. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehj367> PMID: 24026779; PubMed Central PMCID: PMC3938862.
18. Julia A, Domenech E, Chaparro M, Garcia-Sanchez V, Gomollon F, Panes J, et al. A genome-wide association study identifies a novel locus at 6q22.1 associated with ulcerative colitis. *Hum Mol Genet.* 2014; 23(25):6927–34. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu398> Epub 2014 Jul 31. PMID: 25082827
19. Aterido A, Julia A, Ferrandiz C, Puig L, Fonseca E, Fernandez-Lopez E, et al. Genome-Wide Pathway Analysis Identifies Genetic Pathways Associated with Psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2016; 136(3):593–602. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2015.11.026> Epub Dec 29. PMID: 26743605
20. Julia A, Blanco F, Fernandez-Gutierrez B, Gonzalez A, Canete JD, Maymo J, et al. Identification of IRX1 as a Risk Locus for Rheumatoid Factor Positivity in Rheumatoid Arthritis in a Genome-Wide Association Study. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68(6):1384–91. <https://doi.org/10.1002/art.39591> PMID: 26815016
21. Julia A, Domenech E, Ricart E, Tortosa R, Garcia-Sanchez V, Gisbert JP, et al. A genome-wide association study on a southern European population identifies a new Crohn's disease susceptibility locus at RBX1-EP300. *Gut.* 2013; 62(10):1440–5. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302865> Epub 2012 Aug 30. PMID: 22936669
22. Julia A, Pinto JA, Gratacos J, Queiro R, Ferrandiz C, Fonseca E, et al. A deletion at ADAMTS9-MAG11 locus is associated with psoriatic arthritis risk. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74(10):1875–81. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-207190> Epub 2015 May 19. PMID: 25990289
23. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2006; 38(8):904–9. Epub 2006/07/25. <https://doi.org/10.1038/ng1847> PMID: 16862161.
24. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature.* 2014; 506(7488):376–81. Epub 2014/01/07. <https://doi.org/10.1038/nature12873> PMID: 24390342; PubMed Central PMCID: PMC3944098.
25. Bowes J, Budu-Aggrey A, Huffmeier U, Uebe S, Steel K, Hebert HL, et al. Dense genotyping of immune-related susceptibility loci reveals new insights into the genetics of psoriatic arthritis. *Nature communications.* 2015; 6:6046. Epub 2015/02/06. <https://doi.org/10.1038/ncomms7046> PMID: 25651891; PubMed Central PMCID: PMC4327416.
26. Huffmeier U, Uebe S, Ekici AB, Bowes J, Giardina E, Korendowych E, et al. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. *Nat Genet.* 2010; 42(11):996–9. Epub 2010/10/19. <https://doi.org/10.1038/ng.688> PMID: 20953186; PubMed Central PMCID: PMC2981079.
27. Bentham J, Morris DL, Cunninghame Graham DS, Pinder CL, Tomblason P, Behrens TW, et al. Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2015; 47(12):1457–64. Epub 2015/10/27. <https://doi.org/10.1038/ng.3434> PMID: 26502338; PubMed Central PMCID: PMC4668589.
28. Howie B, Marchini J, Stephens M. Genotype imputation with thousands of genomes. *G3 (Bethesda, Md).* 2011; 1(6):457–70. Epub 2012/03/03. <https://doi.org/10.1534/g3.111.001198> PMID: 22384356; PubMed Central PMCID: PMC3276165.
29. Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature.* 2012; 491(7422):56–65. Epub 2012/11/07. <https://doi.org/10.1038/nature11632> PMID: 23128226; PubMed Central PMCID: PMC3498066.
30. Marchini J, Howie B, Myers S, McVean G, Donnelly P. A new multipoint method for genome-wide association studies by imputation of genotypes. *Nat Genet.* 2007; 39(7):906–13. Epub 2007/06/19. <https://doi.org/10.1038/ng2088> PMID: 17572673.
31. Bland JM, Altman DG. Multiple significance tests: the Bonferroni method. *Brmj.* 1995; 310(6973):170. PMID: 7833759

32. Hochberg Y, Benjamini Y. More powerful procedures for multiple significance testing. *Stat Med.* 1990; 9(7):811–8. PMID: 2218183
33. Lin EA, Liu CJ. The role of ADAMTSs in arthritis. *Protein Cell.* 2010; 1(1):33–47. <https://doi.org/10.1007/s13238-010-0002-5> Epub 2010 Feb 7. PMID: 21203996
34. Reilly MP, Li M, He J, Ferguson JF, Stylianou IM, Mehta NN, et al. Identification of ADAMTS7 as a novel locus for coronary atherosclerosis and association of ABO with myocardial infarction in the presence of coronary atherosclerosis: two genome-wide association studies. *Lancet.* 2011; 377(9763):383–92. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61996-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61996-4) Epub 2011 Jan 14. PMID: 21239051
35. Kanno Y, Vahedi G, Hirahara K, Singleton K, O'Shea JJ. Transcriptional and epigenetic control of T helper cell specification: molecular mechanisms underlying commitment and plasticity. *Annual review of immunology.* 2012; 30:707–31. Epub 2012/01/10. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075058> PMID: 22224760; PubMed Central PMCID: PMC3314163.
36. Talmud PJ, Drenos F, Shah S, Shah T, Palmieri J, Verzilli C, et al. Gene-centric association signals for lipids and apolipoproteins identified via the HumanCVD BeadChip. *American journal of human genetics.* 2009; 85(5):628–42. Epub 2009/11/17. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.10.014> PMID: 19913121; PubMed Central PMCID: PMC2775832.
37. Nielsen CM, Williams J, van den Brink GR, Lauwers GY, Roberts DJ. Hh pathway expression in human gut tissues and in inflammatory gut diseases. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology.* 2004; 84(12):1631–42. Epub 2004/10/27. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700197> PMID: 15502857.
38. Paulis L, Fauconnier J, Cazorla O, Thireau J, Soletti R, Vidal B, et al. Activation of Sonic hedgehog signaling in ventricular cardiomyocytes exerts cardioprotection against ischemia reperfusion injuries. *Scientific reports.* 2015; 5:7983. Epub 2015/01/24. <https://doi.org/10.1038/srep07983> PMID: 25613906; PubMed Central PMCID: PMC4303926.
39. Kochi Y. Genetics of autoimmune diseases: perspectives from genome-wide association studies. *Int Immunol.* 2016; 28(4):155–61. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxw002> Epub 2016 Feb 8. PMID: 26857735
40. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature immunology.* 2011; 12(3):204–12. Epub 2011/02/16. <https://doi.org/10.1038/ni.2001> PMID: 21321594.
41. Cooper GM, Shendure J. Needles in stacks of needles: finding disease-causal variants in a wealth of genomic data. *Nat Rev Genet.* 2011; 12(9):628–40. <https://doi.org/10.1038/nrg3046> PMID: 21850043
42. Ramos PS, Criswell LA, Moser KL, Comeau ME, Williams AH, Pajewski NM, et al. A comprehensive analysis of shared loci between systemic lupus erythematosus (SLE) and sixteen autoimmune diseases reveals limited genetic overlap. *PLoS Genet.* 2011; 7(12):e1002406. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002406> Epub 2011 Dec 8. PMID: 22174698
43. Jacobsson LT, Turesson C, Gulfe A, Kapetanovic MC, Petersson IF, Saxne T, et al. Treatment with tumor necrosis factor blockers is associated with a lower incidence of first cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology.* 2005; 32(7):1213–8. Epub 2005/07/05. PMID: 15996054.
44. Cutolo M, Sulli A, Serio B. Estrogens, autoimmunity and the heart. *Lupus.* 2005; 14(9):675–8. Epub 2005/10/13. <https://doi.org/10.1191/0961203305lu2198oa> PMID: 16218465.
45. Ortona E, Pierdominici M, Maselli A, Veroni C, Aloisi F, Shoenfeld Y. Sex-based differences in autoimmune diseases. *Annali dell'Istituto superiore di sanita.* 2016; 52(2):205–12. Epub 2016/07/02. https://doi.org/10.4415/ANN_16_02_12 PMID: 27364395.

DISCUSIÓN CONJUNTA

Durante los últimos 20 años, se han publicado importantes estudios en los que se analiza el rol de las enfermedades inflamatorias mediadas por mecanismos inmunes en la prevalencia e incidencia de la enfermedad cardiovascular y de los factores de riesgo cardiovascular. Como se ha comentado en apartados previos, es conocida la relación que existe entre las enfermedades *IMID* y el riesgo de desarrollar una ECV. Así, es importante resaltar que en los pacientes con enfermedades *IMID* se ha demostrado que existe un mayor riesgo de desarrollar ECV en comparación con la población general y que comprender los mecanismos genéticos y biológicos subyacentes al riesgo de ECV en la autoinmunidad podría ser fundamental para desarrollar estrategias preventivas y terapéuticas más eficientes.

Las cohortes estudiadas en ambos trabajos incluyen a pacientes con diagnóstico de 6 diferentes enfermedades *IMID*: artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, y se analizaron variables demográficas, clínicas y genéticas, así como el riesgo de desarrollar una ECV. El análisis se realizó en forma conjunta y posteriormente cada enfermedad en forma individual, tanto en el Trabajo 1 como en el Trabajo 2.

Es importante resaltar que en el momento de la escritura del presente proyecto, no hemos identificado en la literatura estudios en donde se hayan realizado análisis similares en estas seis enfermedades por separado y en forma global. En este sentido, nuestros resultados proporcionan información nueva y de gran valor para el control y prevención a largo plazo del riesgo de desarrollar ECV en estos pacientes.

1.- Factores de riesgo cardiovascular no genéticos en las *IMID*

Al considerar el análisis entre la asociación de variables demográficas y clínicas con los factores de riesgo cardiovascular no genéticos (entre ellos la hipertensión arterial, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad, la dislipemia y el tabaquismo) y el desarrollo de enfermedad cardiovascular en las diferentes enfermedades *IMID*, hemos observado en algunos casos una cierta variabilidad en nuestros resultados comparados con los datos reportados en los diferentes estudios.

En relación a los pacientes con **artritis reumatoide**, se ha observado que el género, la edad avanzada, el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad, la presencia de HTA, de DM2, de DL y el antecedente de tabaquismo influyeron significativamente sobre el riesgo de desarrollar una ECV. Estos datos coinciden con la literatura revisada ²⁶²⁻²⁶⁴, donde se encontró, además, una asociación entre el desarrollo de ECV y la presencia de obesidad, dato que si bien ha sido registrado en nuestra cohorte, no obtuvimos una asociación significativa.

De forma similar a lo descrito para los pacientes con AR, tanto en los pacientes con **artritis psoriásica** como en los pacientes con **psoriasis** se ha observado que el género, la edad al momento de la inclusión en el estudio, el mayor tiempo desde el diagnóstico, la presencia de DL y de DM2 se asocian a una mayor probabilidad de desarrollar una ECV, al igual que se observa en los datos de la literatura ^{206,265,266}. En el grupo de pacientes con Ps se obtuvo, además, que el grado de educación, la HTA y la obesidad también influyen significativamente sobre la probabilidad de presentar una ECV. En ninguna de las dos cohortes se objetivó una asociación significativa con el tabaquismo. Es reconocido que la gravedad de la enfermedad cutánea se asocia a un mayor riesgo de ECV ^{201,206,235} en los pacientes con Ps y APs. El hecho de no observar dicha asociación de forma significativa en nuestro estudio puede ser debido a que se han utilizado diferentes definiciones de gravedad ²⁰¹.

Siguiendo esta línea y como se comentó previamente, también es bien conocido el rol de la afectación cutánea sobre el desarrollo de ECV en los pacientes con Ps y con APs. Esta última se asoció con un mayor riesgo de ECV, independientemente de si los pacientes con APs fueron seleccionados entre aquellos con psoriasis ²⁶⁶ o por separado en estudios poblacionales ²⁰¹. Al considerar nuestra cohorte de pacientes con Ps, se observaron resultados similares: la presencia de artritis se asoció de forma independiente con un mayor riesgo de ECV. Sin embargo, cuando comparamos las cohortes de psoriasis y artritis psoriásica, observamos el resultado opuesto: un

menor riesgo de ECV en la cohorte de artritis psoriásica. En general, los pacientes de la cohorte de psoriasis tenían una mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular y una mayor gravedad de la enfermedad de la piel, lo que podría explicar su mayor prevalencia de ECV. Teniendo en cuenta que los pacientes de la cohorte de psoriasis fueron reclutados en clínicas de atención terciaria para pacientes ambulatorios, es probable que se hayan seleccionados pacientes con una enfermedad más grave.

Con respecto a la cohorte de pacientes con **lupus eritematoso sistémico**, se ha observado que el género, la edad avanzada, el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad, la presencia de HTA y de DL han influido en forma significativa en un mayor riesgo de desarrollar una ECV, al igual que los datos registrados en la literatura ^{185,267,268}, mientras que la asociación con la DM2, la obesidad y el antecedente de tabaquismo no demostraron significancia estadística. En este presente proyecto, se ha descrito por primera vez 2 nuevas asociaciones independientes de ECV con el vitíligo (que a su vez se ha asociado con una menor prevalencia de obesidad abdominal y de DL) ²⁶⁹ y con los antecedentes familiares de tiroiditis autoinmune, aunque esta última sin significancia estadística. Además, al comparar con un registro español de pacientes con LES ¹⁹¹, observamos una menor prevalencia de ECV y una falta de influencia de los FRCV tradicionales. El hecho de que nuestros pacientes provengan de unidades especializadas en LES con un manejo más estricto tanto de la enfermedad como de los FRCV podría explicar estas diferencias encontradas.

Finalmente, en relación a los pacientes con **enfermedad inflamatoria intestinal**, también se ha observado una influencia significativamente mayor para el desarrollo de ECV del género, la edad avanzada, el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad, la presencia de HTA, de DM2, de DL, tal y como se describe en la literatura revisada ^{210,218}, a excepción de la obesidad y el antecedente de tabaquismo en donde la asociación no ha sido de forma significativa. Similares resultados se han observado en relación con el género masculino en la enfermedad de Crohn (EC) así como con la duración de la enfermedad en los pacientes con colitis ulcerosa (CU) en donde la asociación no alcanzó significación estadística, datos que no coinciden con la literatura revisada ²¹⁰.

2.- Enfermedad cardiovascular en las *IMID*

Como se comentó previamente, varios estudios publicados han comparado el riesgo de desarrollar una ECV entre las diferentes enfermedades *IMID*, aunque ninguno incluía las 6 cohortes estudiadas de forma conjunta en este proyecto doctoral. Por ejemplo, *Zoller et al* analizaron en su población sueca, el riesgo de desarrollar un accidente cerebrovascular en 32 diferentes enfermedades *IMID* en donde se habían incluido a pacientes con AR, con Ps, con LES, con EII y con otras enfermedades *IMID*, observando un mayor riesgo global de accidente cerebrovascular para estas enfermedades *IMID* en comparación con la población general, siendo algo menor para los pacientes con colitis ulcerosa ²⁷⁰. Unos resultados similares se han observado en nuestro trabajo cuando realizamos los análisis de riesgo de ECV global.

Existen pocos estudios en la literatura que hayan comparado el riesgo de desarrollar ECV entre pacientes con algunas de estas enfermedades *IMID* entre sí. Al utilizar de referencia los pacientes con AR y compararlos con las demás enfermedades *IMID* se registraron datos muy interesantes. Al comparar los pacientes con AR y con APs, se ha observado un menor riesgo de desarrollar ECV en los últimos, así también se ha observado similares resultados al comparar pacientes con AR y pacientes con EII ^{205,235}. El hecho de que los pacientes con APs de nuestro estudio hayan presentado un riesgo cardiovascular menor antes y después de ajustarlo por los FRCV así como con las variables demográficas puede deberse a las características de nuestros pacientes de la cohorte de APs. Un reciente estudio poblacional realizado por *Ogdie et al* demostró que la AR y la Ps tenían tasas de riesgo de ECV estandarizadas similares, aunque siempre eran más altas que las de la APs ¹⁹⁶.

Finalmente, al comparar los pacientes con AR y con LES, en el análisis bivariado se evidenció una mayor prevalencia de ECV para la AR, aunque tras el ajuste por edad y género, los pacientes con LES demostraron mayor desarrollo de ECV. Así lo demuestra *Fischer et al* analizando pacientes con LES y AR y evidenciando que los primeros se asociaron a un mayor desarrollo de IAM al comparar con los pacientes con AR así como con la población sana ²⁷¹.

En resumen, en nuestra gran serie de pacientes con enfermedades *IMID* se ha podido observar que los pacientes con AR presentan una mayor probabilidad de desarrollar ECV respecto a los pacientes con APs y con EII, mientras que no se han observado diferencias estadísticamente significativas en la probabilidad de desarrollar ECV entre la cohorte de pacientes con Ps comparando con la cohorte de AR y entre la cohorte de pacientes con LES comparando con la

cohorte de pacientes con AR. Así mismo, hemos demostrado que las variables demográficas y aquellas relacionadas con la clínica de la enfermedad contribuyen al riesgo de desarrollar la ECV en las diferentes condiciones estudiadas. Además, al comparar la prevalencia estandarizada de la ECV entre esas enfermedades, se observó que el LES registró la mayor prevalencia, seguida de la AR y de la Ps.

Nuestra evidencia proporciona un argumento convincente para priorizar la elaboración de programas de prevención específicos en sujetos que padecen estas enfermedades y así poder reducir la carga de la ECV asociada con estas afecciones.

En el momento de la escritura de la memoria del presente proyecto de tesis doctoral, no existen estudios que analicen de forma conjunta el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular entre estas diferentes enfermedades. En este sentido, nuestros resultados podrían proporcionar información nueva y de gran valor para el control y prevención a largo plazo del riesgo de desarrollar ECV en estos pacientes.

3.- Factores de riesgo cardiovascular genéticos en las *IMID*

El uso de GWAS para identificar nuevos *loci* de riesgo genético para enfermedades autoinmunes ha mejorado enormemente nuestra comprensión de la base genética del riesgo de autoinmunidad ²⁷². El desafío actual es poder determinar si estos *loci* de susceptibilidad de enfermedad autoinmune también están asociados a los fenotipos de ECV clínicamente más relevantes. En el presente estudio, hemos analizado la asociación entre estas variantes de susceptibilidad para enfermedades autoinmunes y aquellas de riesgo de ECV. Es necesario remarcar que para la mayoría de estos *loci*, es la primera vez que se realiza este análisis de asociación. Actualmente, es poco el conocimiento sobre que genes de riesgo de ECV están asociados con la inmunidad.

En relación a la asociación de *loci* de riesgo de ECV establecidos en las diferentes enfermedades estudiadas, hemos validado con éxito la asociación de 17 SNP de riesgo. Estos hallazgos confirman que las variaciones genéticas asociadas con el desarrollo de ECV en la población general también pueden estar asociada con el riesgo de desarrollar ECV en este grupo de enfermedades inflamatorias crónicas. Es necesario añadir que estos genes, en su gran mayoría, desempeñan funciones relevantes dentro de la etiopatogenia de cada una de estas enfermedades. Tal es el caso por ejemplo del gen *ADAMTS7* (*A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs*) (rs3825807) que codifica una metaloproteinasa que se ha asociado con la artritis y también con el engrosamiento de la neoíntima que ocurre en eventos cardiovasculares ^{273,274}. Así mismo, la asociación entre el riesgo de ECV y *SMARCA4* (*SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 4*) (rs1122608) en pacientes con AR también influye con la patogénesis de la enfermedad. De manera similar, la variación en el gen *SMARCA4* se ha asociado recientemente a los niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad y apolipoproteína B ²⁷⁵, lo que proporciona una contribución etiológica directa al riesgo de ECV.

Uno de los hallazgos más importantes del presente estudio es la identificación de los efectos diferenciales en los genes de riesgo de ECV establecidos entre las enfermedades autoinmunes. Esto sugiere que el estado proinflamatorio que caracteriza a cada enfermedad autoinmune modula específicamente el riesgo de desarrollar ECV determinado por los FRCV genéticos conocidos. Por ejemplo, la variable de riesgo genético rs2895811 en el gen *HHIPL1* (*Hedgehog Interacting Protein-Like 1*) demostró una asociación significativamente más robusta con el

riesgo de ECV en la EC que en las otras cinco enfermedades autoinmunes. La proteína codificada por este gen participa en la vía de señalización Hedgehog (HH), un proceso biológico conocido por su participación en la patogénesis de las EII ²⁷⁶. Muy recientemente, se ha demostrado que esta vía de señalización desempeña también un papel cardioprotector en los cardiomiocitos ²⁷⁷. Por lo tanto, este resultado sugiere que el papel patológico de la vía de señalización HH en la ECV se potencia por los procesos autoinmunes específicos activados en la EC y, por lo tanto, los pacientes con EC que portan el alelo de riesgo para el locus *HHIPL* tienen mayor probabilidad de desarrollar un ECV que aquellos pacientes con el alelo sin riesgo. Es la primera vez que se ha demostrado que los factores de riesgo genéticos para la ECV se modulan por la presencia de una enfermedad autoinmune.

En el análisis de asociación entre los *loci* candidatos y el riesgo de ECV, hemos identificado una asociación significativa para 6 SNP de 315 de susceptibilidad de enfermedades autoinmunes asociados a ECV y como se comentó previamente hemos replicado 17 SNP de 103 de riesgo de ECV asociados entre estas enfermedades autoinmunes siendo la variable de riesgo genético rs2895811 en el gen *HHIPL1* la de asociación más robusta con el riesgo de ECV en la EC.

Estos resultados respaldan la hipótesis de que el componente inflamatorio específico de la enfermedad contribuye diferencialmente a aumentar el riesgo de ECV en la autoinmunidad. Además, hemos identificado la variación genética previamente asociada con la susceptibilidad a enfermedades autoinmunes que también está asociada con el riesgo de ECV. Este resultado podría contribuir a explicar la mayor prevalencia de ECV observada en las enfermedades autoinmunes. La replicación en cohortes independientes adicionales será necesaria para confirmar este hallazgo.

4.- Patrones genéticos de riesgo cardiovascular en las *IMID*

En base a la existencia de efectos pleiotrópicos entre la variación genética asociada con el riesgo de enfermedad autoinmune, hemos podido combinar los resultados en seis enfermedades autoinmunes en identificar 10 patrones o clusters genéticos (*GC*) asociados con riesgo de ECV. De relevancia, dos de estos patrones genéticos están significativamente enriquecidos en genes que actúan en vías de respuesta inmune y que son cruciales para este grupo de enfermedades autoinmunes: *TNF- α* y rutas de citocinas *IFN- γ* . El *GC* enriquecido con los genes de la vía del *TNF- α* se asoció muy robustamente con el riesgo de ECV en la AR y el LES. El *TNF- α* es uno de los principales mediadores de múltiples mecanismos patológicos cardiovasculares subyacentes a la ECV ²⁷⁸. Además, el *TNF- α* es una de las citoquinas más importantes que se encuentra en la membrana sinovial inflamada en la AR. El bloqueo sistémico de dicha citoquina ha demostrado ser un enfoque altamente eficaz para el tratamiento de pacientes con AR, y actualmente es la terapia biológica de elección tras el fracaso de los FAMEs. Por lo tanto, la influencia genética sobre esta vía podría influir en el desarrollo de ECV en pacientes con AR. La evidencia de registros nacionales que sugiere que los pacientes tratados con agentes anti-*TNF- α* tienen una menor probabilidad de desarrollar ECV respalda esta posibilidad ²⁷⁹. De todas maneras, son necesarios más estudios que evalúan el papel del *TNF- α* en el desarrollo de ECV en pacientes con AR y con LES, así como el papel del *IFN- γ* en pacientes con APs y con AR.

Otro de los patrones genéticos asociados a ECV, han sido aquellos enriquecidos con genes que participan en la respuesta estrogénica. Durante décadas, se ha sabido que hay una mayor prevalencia de ECV en los hombres en comparación con las mujeres y esta observación ha contribuido a la hipótesis de que las hormonas relacionadas con el género como los estrógenos, que también son potentes estimuladores de la autoinmunidad, contribuyen al riesgo de desarrollar ECV ^{280,281}. El hallazgo, en el presente estudio, de que los genes de respuesta estrogénica están asociados con ECV en pacientes con Ps y con AR sugiere que, dentro de estas dos enfermedades autoinmunes, el rol de las hormonas sexuales en el aumento del riesgo de ECV está parcialmente mediado por la variación genética en los genes que participan en la respuesta estrogénica. Esto sugiere nuevos mecanismos biológicos subyacentes al desarrollo de ECV en la autoinmunidad.

Estos hallazgos contribuyen a explicar la mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular observada en pacientes con enfermedades *IMID* en comparación con la población general, así como representan un paso importante hacia la caracterización de la base genética de la ECV en enfermedades *IMID*.

5.- Limitaciones del estudio

Los estudios presentados en esta tesis doctoral no están libres de limitaciones. A pesar de que el tamaño de muestra utilizado en cada una de las seis enfermedades autoinmunes es grande, el número de pacientes con ECV es relativamente bajo. La razón principal es la baja prevalencia de este fenotipo severo dentro de cada cohorte de enfermedad, pero también la exclusión de pacientes que tuvieron ECV antes del inicio de la enfermedad autoinmune. Este criterio de selección, si bien redujo el número total de pacientes con ECV disponibles para el análisis, fue esencial para identificar la variación genética que es relevante para la ECV en la autoinmunidad. Otro factor limitante en este estudio es la heterogeneidad en el fenotipo de ECV. Al igual que en estudios previos, incluimos pacientes con diferentes subfenotipos de ECV y esto podría haber evitado la identificación de asociaciones genéticas adicionales. Es probable que los análisis estratificados para cada uno de los diferentes subfenotipos de ECV ayuden a revelar nuevas variaciones de riesgo, aunque esto requeriría cohortes de pacientes mucho más grandes que las utilizadas en el presente estudio. Serán necesarios futuros estudios que integren datos de diferentes cohortes multicéntricas como el presente.

CONCLUSIONES

1.- En nuestra cohorte de pacientes con enfermedades inflamatorias inmune mediadas (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), una mayor edad, una mayor duración de la enfermedad inflamatoria y el género masculino fueron los factores de riesgo cardiovascular asociados de forma independiente a todas las enfermedades inflamatorias inmune mediadas.

2.- La presencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales se asoció de forma independiente al riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular. Los distintos factores de riesgo cardiovascular tradicionales tienen una diferente contribución al riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular en cada una de las enfermedades inflamatorias inmune mediadas.

3.- El lupus eritematoso sistémico y la colitis ulcerosa son las enfermedades inflamatorias inmune mediadas que presentan una mayor y menor prevalencia estandarizada de enfermedad cardiovascular, respectivamente. La prevalencia estandarizada de enfermedad cardiovascular tras ajustar por los factores de riesgo cardiovascular ha sido para el lupus eritematoso sistémico 4.5, la artritis reumatoide 1.3, la psoriasis 0.9, la enfermedad de Crohn 0.8, la artritis psoriásica 0.6 y la colitis ulcerosa 0.5.

4.- En un primer análisis de asociación de genoma completo, 17 *loci* de riesgo cardiovascular establecidos se han asociado de forma significativa con la presencia de enfermedad cardiovascular en nuestra cohorte de pacientes con enfermedades inflamatorias inmune mediadas. 4 de estos *loci* presentaron un efecto genético diferente entre las distintas enfermedades.

Estos hallazgos confirman que las variaciones genéticas asociadas con el desarrollo de enfermedad cardiovascular en la población general también están asociadas con el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular en este grupo de pacientes. Se ha demostrado por primera vez, que los factores de riesgo genéticos para la enfermedad cardiovascular se modulan por la presencia de una enfermedad inflamatoria inmune mediada.

5.- En un segundo análisis de asociación de genoma completo, 6 *loci* de riesgo establecidos para el desarrollo de enfermedades inflamatorias inmune mediadas se han asociado de forma significativa con el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular. Cuatro de estas variantes fueron polimorfismos de un único nucleótido de riesgo de enfermedad inflamatoria intestinal y dos fueron marcadores asociados con la susceptibilidad a la artritis reumatoide.

6.- En un metaanálisis de fenotipo cruzado de genoma completo se han identificado 10 clústers genéticos fuertemente asociados al riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular en todas las enfermedades inflamatorias inmune mediadas. Dos de estos clústers están altamente enriquecidos con vías génicas previamente asociadas con la etiología de estas enfermedades, en concreto la vía del TNF- α y la vía del IFN- γ .

BIBLIOGRAFÍA

1. Kuek A, Hazleman BL, Ostor AJ. Immune-mediated inflammatory diseases (IMIDs) and biologic therapy: a medical revolution. *Postgraduate medical journal*. 2007;83(978):251-260.
2. Davidson A, Diamond B. Autoimmune Diseases. *The New England Journal of Medicine*. 2001;345(5):340-350.
3. Goldblatt F, O'Neill SG. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet (London, England)*. 2013;382(9894):797-808.
4. Kourbeti IS, Boumpas DT. Biological therapies of autoimmune diseases. *Current drug targets. Inflammation and allergy*. 2005;4(1):41-46.
5. Rosman Z, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Biologic therapy for autoimmune diseases: an update. *BMC medicine*. 2013;11:88.
6. McKeage K. Ustekinumab: a review of its use in psoriatic arthritis. *Drugs*. 2014;74(9):1029-1039.
7. Lin J, Ziring D, Desai S, et al. TNFalpha blockade in human diseases: an overview of efficacy and safety. *Clinical immunology*. 2008;126(1):13-30.
8. Rubbert-Roth A, Finckh A. Treatment options in patients with rheumatoid arthritis failing initial TNF inhibitor therapy: a critical review. *Arthritis research & therapy*. 2009;11 Suppl 1:S1.
9. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England)*. 2007;370(9602):1861-1874.
10. Puig L, Carrascosa JM, Dauden E, et al. [Spanish evidence-based guidelines on the treatment of moderate-to-severe psoriasis with biologic agents]. *Actas dermo-sifiliograficas*. 2009;100(5):386-413.
11. El-Gabalawy H, Guenther LC, Bernstein CN. Epidemiology of immune-mediated inflammatory diseases: incidence, prevalence, natural history, and comorbidities. *The Journal of rheumatology*. 2010;85:2-10.
12. Carmona L, Cross M, Williams B, Lassere M, March L. Rheumatoid arthritis. *Best practice & research. Clinical rheumatology*. 2010;24(6):733-745.
13. Kvien TK, Uhlig T, Odegard S, Heiberg MS. Epidemiological aspects of rheumatoid arthritis: the sex ratio. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1069:212-222.

14. Carmona L, Villaverde V, Hernandez-Garcia C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatology*. 2002;41(1):88-95.
15. Deane KD. Can rheumatoid arthritis be prevented? *Best practice & research. Clinical rheumatology*. 2013;27(4):467-485.
16. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet (London, England)*. 2014;384:1878-1888.
17. Pons-Estel GJ, Alarcon GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2010;39(4):257-268.
18. O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best practice & research. Clinical rheumatology*. 2010;24(6):841-855.
19. Rúa-Figueroa I, Lopez-Longo FJ, Calvo-Alen J, et al. National registry of patients with systemic lupus erythematosus of the Spanish Society of Rheumatology: objectives and methodology. *Reumatología clínica*. 2014;10(1):17-24.
20. Boehncke WH, Schon MP. Psoriasis. *Lancet (London, England)*. 2015;386:983-994.
21. Parisi R, Symmons DP, Griffiths CE, Ashcroft DM. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. *The Journal of investigative dermatology*. 2013;133(2):377-385.
22. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1985;13(3):450-456.
23. Ferrándiz C, Carrascosa J, Toro M. Prevalencia de la psoriasis en España en la era de los agentes biológicos. *Actas Dermosifiliográficas* 2014:1-6.
24. Villanova F, Di Meglio P, Nestle FO. Biomarkers in psoriasis and psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72:104-110.
25. Catanoso M, Pipitone N, Salvarani C. Epidemiology of psoriatic arthritis. *Reumatismo*. 2012;64(2):66-70.
26. Julia A, Tortosa R, Hernanz JM, et al. Risk variants for psoriasis vulgaris in a large case-control collection and association with clinical subphenotypes. *Human molecular genetics*. 2012;21(20):4549-4557.

27. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis & Rheumatology*. 2006;54(8):2665-2673.
28. Veloso FT. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease: do they influence treatment and outcome? *World journal of gastroenterology*. 2011;17(22):2702-2707.
29. Loftus EV, Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126(6):1504-1517.
30. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1785-1794.
31. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet (London, England)*. 2007;369(9573):1627-1640.
32. Karlinger K, Gyorke T, Mako E, Mester A, Tarjan Z. The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *European journal of radiology*. 2000;35(3):154-167.
33. Burisch J, Pedersen N, Cukovic-Cavka S, et al. East-West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort. *Gut*. 2014;63(4):588-597.
34. Mikuls TR, Payne JB, Yu F, et al. Periodontitis and Porphyromonas gingivalis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)*. 2014;66(5):1090-1100.
35. Scott IC, Steer S, Lewis CM, Cope AP. Precipitating and perpetuating factors of rheumatoid arthritis immunopathology: linking the triad of genetic predisposition, environmental risk factors and autoimmunity to disease pathogenesis. *Best practice & research. Clinical rheumatology*. 2011;25(4):447-468.
36. Maxwell JR, Gowers IR, Moore DJ, Wilson AG. Alcohol consumption is inversely associated with risk and severity of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2010;49(11):2140-2146.
37. Ruiz-Esquide V, Gomez-Puerta JA, Canete JD, et al. Effects of smoking on disease activity and radiographic progression in early rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(12):2536-2539.

38. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis & Rheumatology*. 2006;54(1):38-46.
39. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine*. 2011;365(22):2110-2121.
40. Crispin JC, Liossis SN, Kis-Toth K, et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends in molecular medicine*. 2010;16(2):47-57.
41. Gualtierotti R, Biggioggero M, Penatti AE, Meroni PL. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity reviews*. 2010;10(1):3-7.
42. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine*. 2008;358(9):929-939.
43. Berth-Jones J. Psoriasis. *Medicine*. 41(6):334-340.
44. Nograles KE, Brasington RD, Bowcock AM. New insights into the pathogenesis and genetics of psoriatic arthritis. *Nature clinical practice. Rheumatology*. 2009;5(2):83-91.
45. Palazzi C, Olivieri I, D'Amico E, et al. Hepatitis C virus infection in psoriatic arthritis. *Arthritis & Rheumatology*. 2005;53(2):223-225.
46. Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):298-306.
47. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy is followed by increased risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2003;124(1):40-46.
48. Radford-Smith GL, Edwards JE, Purdie DM, et al. Protective role of appendicectomy on onset and severity of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*. 2002;51(6):808-813.
49. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH, et al. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2013;62(4):630-649.
50. Mann EA, Saeed SA. Gastrointestinal infection as a trigger for inflammatory bowel disease. *Current opinion in gastroenterology*. 2012;28(1):24-29.
51. Bernstein CN, Rawsthorne P, Blanchard JF. Population-based case-control study of measles, mumps, and rubella and inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2007;13(6):759-762.

52. Parkes M, Cortes A, van Heel DA, Brown MA. Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases. *Nat Rev Genet.* 2013;14(9):661-673.
53. Gutierrez-Arcelus M, Rich SS, Raychaudhuri S. Autoimmune diseases - connecting risk alleles with molecular traits of the immune system. *Nat Rev Genet.* 2016;17(3):160-174.
54. Zhernakova A, van Diemen CC, Wijmenga C. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases. *Nat Rev Genet.* 2009;10(1):43-55.
55. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature.* 2012;491:119-124.
56. Okada Y, Wu D, Trynka G, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature.* 2014;506(7488):376-381.
57. Bentham J, Morris DL, Cunninghame Graham DS, et al. Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2015;47(12):1457-1464.
58. Bowes J, Budu-Aggrey A, Huffmeier U, et al. Dense genotyping of immune-related susceptibility loci reveals new insights into the genetics of psoriatic arthritis. *Nature communications.* 2015;6:6046.
59. Huffmeier U, Uebe S, Ekici AB, et al. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. *Nat Genet.* 2010;42(11):996-999.
60. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England).* 2016;388: 2023-2038.
61. Elshazli R, Settin A. Association of PTPN22 rs2476601 and STAT4 rs7574865 polymorphisms with rheumatoid arthritis: A meta-analysis update. *Immunobiology.* 2015;220(8):1012-1024.
62. Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L, et al. TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis--a genomewide study. *The New England Journal of Medicine.* 2007;357(12):1199-1209.
63. Harley JB, Alarcon-Riquelme ME, Criswell LA, et al. Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PXX, KIAA1542 and other loci. *Nat Genet.* 2008;40(2):204-210.

64. Aterido A, Julia A, Carreira P, et al. Genome-wide pathway analysis identifies VEGF pathway association with oral ulceration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis research & therapy*. 2017;19(1):138.
65. Olson JM, Song Y, Dudek DM, et al. A genome screen of systemic lupus erythematosus using affected-relative-pair linkage analysis with covariates demonstrates genetic heterogeneity. *Genes and Immunity*. 2002;3:5-12.
66. Andressen C HT. Inheritance of psoriasis. Analysis of 2035 family histories. *Der Hautarzt*. 1982;33(4):214-217.
67. Farber EM, Nail ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica*. 1974;148(1):1-18.
68. Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis: epidemiology. *Clinics in dermatology*. 2007;25(6):535-546.
69. Tsoi LC, Spain SL, Ellinghaus E, et al. Enhanced meta-analysis and replication studies identify five new psoriasis susceptibility loci. *Nature Communications*. 2015;6:(7001):1-17.
70. Yin X, Low HQ, Wang L, et al. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel associations and ethnic heterogeneity of psoriasis susceptibility. *Nature Communications*. 2015;6(6916):1-11.
71. Zuo X, Sun L, Yin X, et al. Whole-exome SNP array identifies 15 new susceptibility loci for psoriasis. *Nature Communications*. 2015;6(6793):1-7.
72. Julia A, Pinto JA, Gratacos J, et al. A deletion at ADAMTS9-MAGI1 locus is associated with psoriatic arthritis risk. *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(10):1875-1881.
73. Aterido A, Julia A, Ferrandiz C, et al. Genome-Wide Pathway Analysis Identifies Genetic Pathways Associated with Psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. 2016;136(3):593-602.
74. Queiro R, Morante I, Cabezas I, Acasuso B. HLA-B27 and psoriatic disease: a modern view of an old relationship. *Rheumatology*. 2016;55(2):221-229.
75. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *The New England Journal of Medicine*. 2009;361(5):496-509.
76. Orholm M, Binder V, Sorensen TI, Rasmussen LP, Kyvik KO. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2000;35(10):1075-1081.

77. Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*. 2003;124(7):1767-1773.
78. Yang H, McElree C, Roth MP, Shanahan F, Targan SR, Rotter JI. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut*. 1993;34(4):517-524.
79. Ek WE, D'Amato M, Halfvarson J. The history of genetics in inflammatory bowel disease. *Annals of gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2014;27(4):294-303.
80. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):307-317.
81. Julia A, Domenech E, Ricart E, et al. A genome-wide association study on a southern European population identifies a new Crohn's disease susceptibility locus at RBX1-EP300. *Gut*. 2013;62(10):1440-1445.
82. Julia A, Domenech E, Chaparro M, et al. A genome-wide association study identifies a novel locus at 6q22.1 associated with ulcerative colitis. *Human molecular genetics*. 2014;23(25):6927-6934.
83. Sabio JM, Micó ML, E. de Ramón. Riesgo cardiovascular en el lupus eritematoso sistémico. *Cervera R, Jiménez-Alonso A. Avances en el lupus eritematoso*. 2011;7:147-171.
84. Amaya Amaya J S-MJ, Rojas-Villarraga A. . Cardiovascular involment in autoimmune diseases. *Autoimmunity: from bench to bedside*. 2013:653-682.
85. Murray CJ, Barber RM, Foreman KJ, et al. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990-2013: quantifying the epidemiological transition. *Lancet (London, England)*. 2015;386:2145-2191.
86. Ferreira-González I. Epidemiología de la enfermedad coronaria. *Revista española de cardiología*. 2014;67(02):139-144.
87. López-Bescós L, Cosín J, Elosua R, et al. Prevalencia de angina y factores de riesgo cardiovascular en las diferentes comunidades autónomas de España: estudio PANES. *Revista española de cardiología*. 1999;52(12).

88. Marrugat J, Vila J, Baena-Diez JM, et al. [Relative validity of the 10-year cardiovascular risk estimate in a population cohort of the REGICOR study]. *Revista española de cardiología*. 2011;64(5):385-394.
89. Alonso JJ, Muniz J, Gomez-Doblas JJ, et al. Prevalence of Stable Angina in Spain. Results of the OFRECE Study. *Revista española de cardiología*. 2015;68(8):691-699.
90. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte 2011
Disponible en: <http://www.ine.es>.
91. Brea A, Laclaustra M, Martorell E, Pedragosa A. [Epidemiology of cerebrovascular disease in Spain]. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis*. 2013;25(5):211-217.
92. Medrano Albero MJ, Boix Martínez R, Cerrato Crespán E, Ramírez Santa-Pau M. Incidencia y prevalencia de cardiopatía isquémica y enfermedad cerebrovascular en España: revisión sistemática de la literatura. *Revista Española de Salud Pública*. 2006;80:05-15.
93. S. Arias-Rivas JV, J. Castillo, en nombre de los investigadores del registro EPICES Epidemiología de los subtipos de ictus en pacientes hospitalizados atendidos por neurólogos: resultados del registro EPICES (I). *Rev. Neurol*. 2012;Apr 1;54 (7):385-393.
94. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *The Lancet. Neurology*. 2009;8(4):355-369.
95. Alzamora MT, Fores R, Pera G, et al. Incidence of peripheral arterial disease in the ARTPER population cohort after 5 years of follow-up. *BMC cardiovascular disorders*. 2016;16:8.
96. Felix-Redondo FJ, Fernandez-Berges D, Grau M, Baena-Diez JM, Mostaza JM, Vila J. Prevalence and clinical characteristics of peripheral arterial disease in the study population Hermex. *Revista española de cardiología*. 2012;65(8):726-733.
97. Velescu A, Clara A, Penafiel J, et al. Peripheral Arterial Disease Incidence and Associated Risk Factors in a Mediterranean Population-based Cohort. The REGICOR Study. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2016;51(5):696-705.
98. Ramos R, Quesada M, Solanas P, et al. Prevalence of Symptomatic and Asymptomatic Peripheral Arterial Disease and the Value of the Ankle-brachial Index

- to Stratify Cardiovascular Risk. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*.38(3):305-311.
99. Blanes JL CM, Marrugat J, ESTIME. Prevalence of peripheral artery disease and its associated risk factors in Spain: The ESTIME Study. *Int Angiol*. 2009;28(1):20-25.
 100. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European journal of preventive cardiology*. 2016;(37):2315-2381.
 101. Flores-Mateo G, Grau M, O'Flaherty M, et al. Análisis de la disminución de la mortalidad por enfermedad coronaria en una población mediterránea: España 1988-2005. *Revista española de cardiología*. 2011;64(11):988-996.
 102. Peters MJL, Symmons DPM, McCarey D, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(2):325-331.
 103. Artigao-Rodenas LM, Carbayo-Herencia JA, Divison-Garrote JA, et al. Framingham risk score for prediction of cardiovascular diseases: a population-based study from southern Europe. *PloS one*. 2013;8(9):e73529.
 104. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *European heart journal*. 2003;24(11):987-1003.
 105. Mason JC, Libby P. Cardiovascular disease in patients with chronic inflammation: mechanisms underlying premature cardiovascular events in rheumatologic conditions. *European heart journal*. 2015;36(8):482-489.
 106. Charles-Schoeman C. Cardiovascular disease and rheumatoid arthritis: an update. *Current rheumatology reports*. 2012;14(5):455-462.
 107. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *The Journal of rheumatology*. 2002;29(2):288-291.
 108. ATACC-RA. A TransAtlantic Cardiovascular risk Calculator for Rheumatoid Arthritis Consortium. 2013. <http://www.atacc-ra.com>.

109. Solomon DH, Greenberg J, Curtis JR, et al. Derivation and internal validation of an expanded cardiovascular risk prediction score for rheumatoid arthritis: a Consortium of Rheumatology Researchers of North America Registry Study. *Arthritis & Rheumatology*. 2015;67(8):1995-2003.
110. Mosca L, Barrett-Connor E, Wenger NK. Sex/gender differences in cardiovascular disease prevention: what a difference a decade makes. *Circulation*. 2011;124(19):2145-2154.
111. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2007;335(7627):1-12.
112. Ventura-Clapier R, Dworatzek E, Seeland U, et al. Sex in basic research: concepts in the cardiovascular field. *Cardiovascular research*. 2017;113(7):711-724.
113. Mikkola TS, Gissler M, Merikukka M, Tuomikoski P, Ylikorkala O. Sex differences in age-related cardiovascular mortality. *PloS one*. 2013;8(5):e63347.
114. Giuseppe Mancia RF, Krzysztof Narkiewicz, Josep Redon, et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *Revista española de cardiología*. 2013;66(11):842-847.
115. Banegas JR, Graciani A, de la Cruz-Troca JJ, et al. Achievement of cardiometabolic goals in aware hypertensive patients in Spain: a nationwide population-based study. *Hypertension*. 2012;60(4):898-905.
116. Encuesta Europea de Salud en España 2014. Instituto Nacional de Estadística: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. <http://www.msssi.gob.es>. 2014.
117. World Health Organization. 2013. A global brief on Hypertension. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/en/.
118. Pratley RE. The early treatment of type 2 diabetes. *The American journal of medicine*. 2013;126:1-9.
119. Alvarez-Guisasola F. Glycaemic control and implementation of the ADA/EASD-2006 consensus algorithm in type 2 diabetes mellitus patients in primary care in Spain. *International journal of clinical practice*. 2014;68(1):28-39.
120. Ryden L, Grant PJ, Anker SD, et al. ESC guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Diabetes & vascular disease research*. 2014;11(3):133-173.

121. Cantu-Brito C, Mimenza-Alvarado A, Sanchez-Hernandez JJ. [Diabetes mellitus and aging as a risk factor for cerebral vascular disease: epidemiology, pathophysiology and prevention]. *Revista de investigación clínica*. 2010;62(4):333-342.
122. Giorda CB, Avogaro A, Maggini M, et al. Incidence and risk factors for stroke in type 2 diabetic patients: the DAI study. *Stroke*. 2007;38(4):1154-1160.
123. Schnell O, Ryden L, Standl E, Ceriello A. Current perspectives on cardiovascular outcome trials in diabetes. *Cardiovascular diabetology*. 2016;15(1):139.
124. Cordero A, Fácila L. Situación actual de la dislipemia en España: la visión del cardiólogo. *Revista española de cardiología*. 2015;15:2-7.
125. Vinueza R, Boissonnet CP, Acevedo M, et al. Dyslipidemia in seven Latin American cities: CARMELA study. *Preventive medicine*. 2010;50(3):106-111.
126. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *European heart journal*. 2012;33(13):1635-1701.
127. Lv S, Liu Y, Zou Z, et al. The impact of statins therapy on disease activity and inflammatory factor in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2015;33(1):69-76.
128. Fatemi A, Moosavi M, Sayedbonakdar Z, Farajzadegan Z, Kazemi M, Smiley A. Atorvastatin effect on systemic lupus erythematosus disease activity: a double-blind randomized clinical trial. *Clinical rheumatology*. 2014;33(9):1273-1278.
129. Valdés S, García-Torres F, Maldonado-Araque C, et al. Prevalencia de obesidad, diabetes mellitus y otros factores de riesgo cardiovascular en Andalucía. Comparación con datos de prevalencia nacionales. Estudio Di@bet.es. *Revista española de cardiología*. 2014;67(6):442-448.
130. Ndumele CE, Matsushita K, Lazo M, et al. Obesity and Subtypes of Incident Cardiovascular Disease. *Journal of the American Heart Association*. 2016;5(8):1-11.
131. Appel LJ, Champagne CM, Harsha DW, et al. Effects of comprehensive lifestyle modification on blood pressure control: main results of the PREMIER clinical trial. *Jama*. 2003;289(16):2083-2093.
132. Heady JA, Morris JN, Raffle PA. Physique of London busmen; epidemiology of uniforms. *Lancet (London, England)*. 1956;271(6942):569-570.

133. Harvey JA, Chastin SF, Skelton DA. Prevalence of sedentary behavior in older adults: a systematic review. *International journal of environmental research and public health*. 2013;10(12):6645-6661.
134. Gaya-Vidal M, Athanasiadis G, Carreras-Torres R, et al. Apolipoprotein E/C1/C4/C2 gene cluster diversity in two native Andean populations: Aymaras and Quechuas. *Annals of human genetics*. 2012;76(4):283-295.
135. Carreras-Torres R, Athanasiadis G, Via M, et al. Allele-allele interaction within the F13A1 gene: a risk factor for ischaemic heart disease in Spanish population. *Thrombosis research*. 2010;126(3):241-245.
136. Moral P, Valveny N, Lopez-Alomar A, et al. Molecular variation at functional genes and the history of human populations--data on candidate genes for cardiovascular risk in the Mediterranean. *Collegium antropologicum*. 2003;27(2):523-536.
137. Zanetti D, Carreras-Torres R, Esteban E, Via M, Moral P. Potential Signals of Natural Selection in the Top Risk Loci for Coronary Artery Disease: 9p21 and 10q11. *PloS one*. 2015;10(8):e0134840.
138. Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013;45(1):25-33.
139. Matsukura M, Ozaki K, Takahashi A, et al. Genome-Wide Association Study of Peripheral Arterial Disease in a Japanese Population. *PloS one*. 2015;10(10):e0139262.
140. Traylor M, Farrall M, Holliday EG, et al. Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE collaboration): a meta-analysis of genome-wide association studies. *The Lancet. Neurology*. 2012;11(11):951-962.
141. Welter D, MacArthur J, Morales J, et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic acids research*. 2014;42:1001-1006.
142. Chauhan G, Arnold CR, Chu AY, et al. Identification of additional risk loci for stroke and small vessel disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *The Lancet. Neurology*. 2016;15(7):695-707.
143. Lloyd-Jones DM, Nam BH, D'Agostino RB, Sr., et al. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. *Jama*. 2004;291(18):2204-2211.

144. Elosua R, Sayols-Baixeras S. The Genetics of Ischemic Heart Disease: From Current Knowledge to Clinical Implications. *Revista española de cardiología*. 2017;70(9):754-762.
145. Nikpay M, Goel A, Won HH, et al. A comprehensive 1,000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease. *Nat Genet*. 2015;47(10):1121-1130.
146. Preuss M, König IR, Thompson JR, et al. Design of the Coronary ARtery DIsease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Study: A Genome-wide association meta-analysis involving more than 22 000 cases and 60 000 controls. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2010;3(5):475-483.
147. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, et al. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447(7145):661-678.
148. Peden JF, Hopewell JC, Saleheen D, et al. A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2011;43(4):339-344.
149. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105(3):310-315.
150. Psaty BM, O'Donnell CJ, Gudnason V, et al. Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Consortium: Design of prospective meta-analyses of genome-wide association studies from 5 cohorts. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2009;2(1):73-80.
151. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science*. 2007;316(5830):1488-1491.
152. Bellenguez C, Bevan S, Gschwendtner A, et al. Genome-wide association study identifies a variant in HDAC9 associated with large vessel ischemic stroke. *Nat Genet*. 2012;44(3):328-333.
153. Schunkert H, König IR, Kathiresan S, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2011;43(4):333-338.
154. Kalinina N, Agrotis A, Antropova Y, et al. Smad expression in human atherosclerotic lesions: evidence for impaired TGF-beta/Smad signaling in smooth

- muscle cells of fibrofatty lesions. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004;24(8):1391-1396.
155. Walkup AS, Appling DR. Enzymatic characterization of human mitochondrial C1-tetrahydrofolate synthase. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2005;442(2):196-205.
156. Jonsson-Rylander AC, Nilsson T, Fritsche-Danielson R, et al. Role of ADAMTS-1 in atherosclerosis: remodeling of carotid artery, immunohistochemistry, and proteolysis of versican. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(1):180-185.
157. Erdmann J, Grosshennig A, Braund PS, et al. New susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nat Genet*. 2009;41(3):280-282.
158. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*. 2007;357(5):443-453.
159. Kathiresan S. A PCSK9 missense variant associated with a reduced risk of early-onset myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*. 2008;358(21):2299-2300.
160. Atherosclerosis T, and Vascular Biology Italian Study Group. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation*. 2003;107(8):1117-1122.
161. Lindgren A. Stroke genetics: a review and update. *Journal of stroke*. 2014;16(3):114-123.
162. Tonk M, Haan J. A review of genetic causes of ischemic and hemorrhagic stroke. *Journal of the neurological sciences*. 2007;257(1-2):273-279.
163. Baird AE. Genetics and genomics of stroke: novel approaches. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;56(4):245-253.
164. Ikram MA, Seshadri S, Bis JC, et al. Genomewide association studies of stroke. *The New England Journal of Medicine*. 2009;360(17):1718-1728.
165. Malik R, Chauhan G, Traylor M, et al. Multiancestry genome-wide association study of 520,000 subjects identifies 32 loci associated with stroke and stroke subtypes. *Nat Genet*. 2018;50(4):524-537.
166. Andersen NN, Jess T. Risk of cardiovascular disease in inflammatory bowel disease. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*. 2014;5(3):359-365.

167. Gasparyan AY. Cardiovascular risk and inflammation in rheumatic diseases. *Rheumatology international*. 2017;37(1):1-2.
168. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of subsequent coronary heart disease in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *PloS one*. 2012;7(3):e33442.
169. Soubrier M, Barber Chamoux N, Tatar Z, Couderc M, Dubost JJ, Mathieu S. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2014;81(4):298-302.
170. Jamnitski A, Visman IM, Peters MJ, Boers M, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Prevalence of cardiovascular diseases in psoriatic arthritis resembles that of rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(5):875-876.
171. Sarmiento-Monroy JC, Amaya-Amaya J, Espinosa-Serna JS, Herrera-Diaz C, Anaya JM, Rojas-Villarraga A. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: a systematic literature review in latin america. *Arthritis*. 2012;371909:1-17.
172. DeMaria AN. Relative risk of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *The American journal of cardiology*. 2002;89(6a):33d-38d.
173. Balsa A, Lojo-Oliveira L, Alperi-Lopez M, et al. Prevalence of Comorbidities in Rheumatoid Arthritis and Evaluation of Their Monitoring in Clinical Practice: The Spanish Cohort of the COMORA Study. *Reumatología clínica*. 2017;17:1-17.
174. Avina-Zubieta JA, Thomas J, Sadatsafavi M, Lehman AJ, Lacaille D. Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(9):1524-1529.
175. Boyer JF, Bongard V, Cantagrel A, et al. Link between traditional cardiovascular risk factors and inflammation in patients with early arthritis: results from a French multicenter cohort. *Arthritis care & research*. 2012;64(6):872-880.
176. Giles JT. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: Current perspectives on assessing and mitigating risk in clinical practice. *Best practice & research. Clinical rheumatology*. 2015;29(4-5):597-613.
177. Behrouz R. The risk of ischemic stroke in major rheumatic disorders. *Journal of neuroimmunology*. 2014;277(1-2):1-5.
178. Agca R, Heslinga SC, Rollefstad S, et al. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;76(1):17-28.

179. Curtis JR, Westfall AO, Allison J, et al. Population-based assessment of adverse events associated with long-term glucocorticoid use. *Arthritis & Rheumatology*. 2006;55(3):420-426.
180. Kavanaugh A, Wells AF. Benefits and risks of low-dose glucocorticoid treatment in the patient with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2014;53(10):1742-1751.
181. Gaujoux-Viala C, Gossec L. When and for how long should glucocorticoids be used in rheumatoid arthritis? International guidelines and recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2014;1318:32-40.
182. Del Rincon I, Battafarano DF, Restrepo JF, Erikson JM, Escalante A. Glucocorticoid dose thresholds associated with all-cause and cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatology*. 2014;66(2):264-272.
183. Lim DT, Cannella AC, Michaud KD, Mikuls TR. Cardiovascular risk and the use of biologic agents in rheumatoid arthritis. *Current rheumatology reports*. 2014;16(11):459.
184. Roubille C, Martel-Pelletier J, Haraoui B, Tardif JC, Pelletier JP. Biologics and the cardiovascular system: a double-edged sword. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*. 2013;12(1):68-82.
185. Schoenfeld SR, Kasturi S, Costenbader KH. The epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease among patients with SLE: a systematic review. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2013;43(1):77-95.
186. Benvenuti F, Gatto M, Larosa M, Iaccarino L, Punzi L, Doria A. Cardiovascular risk factors, burden of disease and preventive strategies in patients with systemic lupus erythematosus: a literature review. *Expert opinion on drug safety*. 2015;14(9):1373-1385.
187. Giannelou M, Mavragani CP. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus: A comprehensive update. *Journal of autoimmunity*. 2017;82:1-12.
188. Escarcega RO, Garcia-Carrasco M, Jara LJ, Cervera R. Accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: perspectives towards decreasing cardiovascular morbidity and mortality. *Lupus*. 2009;18(5):383-386.
189. Gustafsson JT, Svenungsson E. Definitions of and contributions to cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2014;47(2):67-76.

190. Arkema EV, Svenungsson E, Von Euler M, Sjowall C, Simard JF. Stroke in systemic lupus erythematosus: a Swedish population-based cohort study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;4:1-7.
191. Fernandez-Nebro A, Rua-Figueroa I, Lopez-Longo FJ, et al. Cardiovascular Events in Systemic Lupus Erythematosus: A Nationwide Study in Spain From the RELESSER Registry. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(29):1-9.
192. Urowitz MB BA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *The American journal of medicine*. 1976;60(2):221-225.
193. Urowitz MB, Gladman DD, Anderson NM, et al. Cardiovascular events prior to or early after diagnosis of systemic lupus erythematosus in the systemic lupus international collaborating clinics cohort. *Lupus science & medicine*. 2016;3(1):1-6.
194. Skaggs BJ, Hahn BH, McMahon M. Accelerated atherosclerosis in patients with SLE--mechanisms and management. *Nature reviews. Rheumatology*. 2012;8(4):214-223.
195. Bonanad C, Gonzalez-Parra E, Rivera R, et al. Clinical, Diagnostic, and Therapeutic Implications in Psoriasis Associated With Cardiovascular Disease. *Actas dermo-sifiliograficas*. 2017;108(9):1-9.
196. Ogdie A, Yu Y, Haynes K, et al. Risk of major cardiovascular events in patients with psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(2):326-332.
197. Abuabara K, Azfar RS, Shin DB, Neimann AL, Troxel AB, Gelfand JM. Cause-specific mortality in patients with severe psoriasis: a population-based cohort study in the U.K. *The British journal of dermatology*. 2010;163(3):586-592.
198. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *Jama*. 2006;296(14):1735-1741.
199. Shapiro J, Cohen AD, David M, et al. The association between psoriasis, diabetes mellitus, and atherosclerosis in Israel: a case-control study. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2007;56(4):629-634.
200. Kimball AB, Guerin A, Latremouille-Viau D, et al. Coronary heart disease and stroke risk in patients with psoriasis: retrospective analysis. *The American journal of medicine*. 2010;123(4):350-357.

201. Ahlehoff O, Gislason GH, Charlott M, et al. Psoriasis is associated with clinically significant cardiovascular risk: a Danish nationwide cohort study. *Journal of internal medicine*. 2011;270(2):147-157.
202. Gelfand JM, Dommasch ED, Shin DB, et al. The risk of stroke in patients with psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. 2009;129(10):2411-2418.
203. Horreau C, Pouplard C, Brenaut E, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic literature review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(3):12-29.
204. Ernste FC, Sanchez-Menendez M, Wilton KM, Crowson CS, Matteson EL, Maradit Kremers H. Cardiovascular risk profile at the onset of psoriatic arthritis: a population-based cohort study. *Arthritis care & research*. 2015;67(7):1015-1021.
205. Han C, Robinson DW, Jr., Hackett MV, Paramore LC, Fraeman KH, Bala MV. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology*. 2006;33(11):2167-2172.
206. Gladman DD, Ang M, Su L, Tom BD, Schentag CT, Farewell VT. Cardiovascular morbidity in psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2009;68(7):1131-1135.
207. Wu JJ, Poon KY, Channual JC, Shen AY. Association between tumor necrosis factor inhibitor therapy and myocardial infarction risk in patients with psoriasis. *Archives of dermatology*. 2012;148(11):1244-1250.
208. Singh S, Kullo IJ, Pardi DS, Loftus EV, Jr. Epidemiology, risk factors and management of cardiovascular diseases in IBD. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. 2015;12(1):26-35.
209. Yarur AJ, Deshpande AR, Pechman DM, Tamariz L, Abreu MT, Sussman DA. Inflammatory bowel disease is associated with an increased incidence of cardiovascular events. *The American journal of gastroenterology*. 2011;106(4):741-747.
210. Osterman MT, Yang YX, Brensinger C, Forde KA, Lichtenstein GR, Lewis JD. No increased risk of myocardial infarction among patients with ulcerative colitis or Crohn's disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2011;9(10):875-880.

211. Ha C, Magowan S, Accortt NA, Chen J, Stone CD. Risk of arterial thrombotic events in inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology*. 2009;104(6):1445-1451.
212. Singh S, Singh H, Loftus EV, Jr., Pardi DS. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2014;12(3):382-393.
213. Katsanos AH, Kosmidou M, Giannopoulos S, et al. Cerebral arterial infarction in inflammatory bowel diseases. *European journal of internal medicine*. 2014;25(1):37-44.
214. Yuan M, Zhou HY, Xiao XL, Wang ZQ, Yao Z, Yin XP. Inflammatory bowel disease and risk of stroke: A meta-analysis of cohort studies. *International journal of cardiology*. 2016;202:106-109.
215. Kirchgessner J, Beaugerie L, Carrat F, Andersen NN, Jess T, Schwarzingner M. Increased risk of acute arterial events in young patients and severely active IBD: a nationwide French cohort study. *Gut*. 2017;6:1-9.
216. Sridhar AR, Parasa S, Navaneethan U, Crowell MD, Olden K. Comprehensive study of cardiovascular morbidity in hospitalized inflammatory bowel disease patients. *Journal of Crohn's & colitis*. 2011;5(4):287-294.
217. Filimon AM, Negreanu L, Doca M, Ciobanu A, Preda CM, Vinereanu D. Cardiovascular involvement in inflammatory bowel disease: Dangerous liaisons. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(33):9688-9692.
218. Kristensen SL, Ahlehoff O, Lindhardsen J, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease is associated with increased risk of myocardial infarction, stroke and cardiovascular death--a Danish nationwide cohort study. *PloS one*. 2013;8(2):e56944.
219. Dorn SD, Sandler RS. Inflammatory bowel disease is not a risk factor for cardiovascular disease mortality: results from a systematic review and meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*. 2007;102(3):662-667.
220. Barbhaiya M, Solomon DH. Rheumatoid arthritis and cardiovascular disease: an update on treatment issues. *Current opinion in rheumatology*. 2013;25(3):317-324.
221. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2003;107(9):1303-1307.

222. Boyer JF, Gourraud PA, Cantagrel A, Davignon JL, Constantin A. Traditional cardiovascular risk factors in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Joint Bone Spine*. 2011;78(2):179-183.
223. Fenton SAM, Veldhuijzen van Zanten J, Kitas GD, et al. Sedentary behaviour is associated with increased long-term cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis independently of moderate-to-vigorous physical activity. *BMC musculoskeletal disorders*. 2017;18(1):131.
224. Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibanez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus: the Toronto Risk Factor Study. *Arthritis & Rheumatology*. 2003;48(11):3159-3167.
225. Petri M, Spence D, Bone LR, Hochberg MC. Coronary artery disease risk factors in the Johns Hopkins Lupus Cohort: prevalence, recognition by patients, and preventive practices. *Medicine (Baltimore)*. 1992;71(5):291-302.
226. Leong KH1 KE, Feng PH, Boey ML Lipid profiles in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 1994;12(7):1264-1267.
227. Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB, Gelfand JM. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;55(5):829-835.
228. Binazzi M, Calandra P, Lisi P. Statistical association between psoriasis and diabetes: further results. *Archives for dermatological research*. 1975;254(1):43-48.
229. Fortes C, Mastroeni S, Leffondre K, et al. Relationship between smoking and the clinical severity of psoriasis. *Archives of dermatology*. 2005;141(12):1580-1584.
230. Gisondi P, Fostini AC, Fossa I, Girolomoni G, Targher G. Psoriasis and the metabolic syndrome. *Clinics in dermatology*. 2018;36(1):21-28.
231. Jensen P, Skov L. Psoriasis and Obesity. *Dermatology*. 2016;232(6):633-639.
232. Eder L, Abji F, Rosen CF, Chandran V, Gladman DD. The Association Between Obesity and Clinical Features of Psoriatic Arthritis: A Case-control Study. *The Journal of rheumatology*. 2017;44(4):437-443.
233. Naldi L, Chatenoud L, Linder D, et al. Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study. *The Journal of investigative dermatology*. 2005;125(1):61-67.

234. Khraishi M, Aslanov R, Rampakakis E, Pollock C, Sampalis JS. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriatic arthritis. *Clinical rheumatology*. 2014;33(10):1495-1500.
235. Jamnitski A, Symmons D, Peters MJ, Sattar N, McInnes I, Nurmohamed MT. Cardiovascular comorbidities in patients with psoriatic arthritis: a systematic review. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72(2):211-216.
236. Feng W, Chen G, Cai D, Zhao S, Cheng J, Shen H. Inflammatory Bowel Disease and Risk of Ischemic Heart Disease: An Updated Meta-Analysis of Cohort Studies. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(8):1-10.
237. Wahed M, Goodhand JR, West O, McDermott A, Hajek P, Rampton DS. Tobacco dependence and awareness of health risks of smoking in patients with inflammatory bowel disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2011;23(1):90-94.
238. Ramirez Huaranga MA, Minguez Sanchez MD, Zarca Diaz de la Espina MA, Espinoza Pardos PJ, Romero Aguilera G. What role does rheumatoid arthritis disease activity have in cardiovascular risk. *Reumatología clínica*. 2017;3:1-7.
239. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine*. 2003;349(25):2399-2406.
240. Petri M. The lupus anticoagulant is a risk factor for myocardial infarction (but not atherosclerosis): Hopkins Lupus Cohort. *Thrombosis research*. 2004;114(5-6):593-595.
241. Farzaneh-Far A, Roman MJ, Lockshin MD, et al. Relationship of antiphospholipid antibodies to cardiovascular manifestations of systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*. 2006;54(12):3918-3925.
242. Gustafsson JT, Simard JF, Gunnarsson I, et al. Risk factors for cardiovascular mortality in patients with systemic lupus erythematosus, a prospective cohort study. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(2):1-11.
243. Puig-Sanz L. [Psoriasis, a systemic disease?]. *Actas dermo-sifiliograficas*. 2007;98(6):396-402.
244. Rodriguez-Rodriguez L, Lopez-Mejias R, Fernandez-Gutierrez B, Balsa A, Gonzalez-Gay MA, Martin J. Rheumatoid arthritis: genetic variants as biomarkers of cardiovascular disease. *Current pharmaceutical design*. 2015;21(2):182-201.

245. Rodriguez-Rodriguez L, Gonzalez-Juanatey C, Palomino-Morales R, et al. TNFA -308 (rs1800629) polymorphism is associated with a higher risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2011;216(1):125-130.
246. Palomino-Morales R, Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, et al. A1298C polymorphism in the MTHFR gene predisposes to cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 2010;12(2):1-8.
247. Rodriguez-Rodriguez L, Gonzalez-Juanatey C, Garcia-Bermudez M, et al. CCR5Delta32 variant and cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a cohort study. *Arthritis research & therapy*. 2011;13(4):1-6.
248. Panoulas VF, Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, et al. Association of interleukin-6 (IL-6)-174G/C gene polymorphism with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: the role of obesity and smoking. *Atherosclerosis*. 2009;204(1):178-183.
249. Chen Y, Dawes PT, Packham JC, Matthey DL. Interaction between smoking and functional polymorphism in the TGFB1 gene is associated with ischaemic heart disease and myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(2):1-11.
250. Lopez-Mejias R, Garcia-Bermudez M, Gonzalez-Juanatey C, et al. NFKB1-94ATTG ins/del polymorphism (rs28362491) is associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2012;224(2):426-429.
251. Lopez-Mejias R, Corrales A, Vicente E, et al. Influence of coronary artery disease and subclinical atherosclerosis related polymorphisms on the risk of atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Nature*. 2017;7:1-6.
252. Leonard D, Svenungsson E, Sandling JK, et al. Coronary heart disease in systemic lupus erythematosus is associated with interferon regulatory factor-8 gene variants. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2013;6(3):255-263.
253. Svenungsson E, Gustafsson J, Leonard D, et al. A STAT4 risk allele is associated with ischaemic cerebrovascular events and anti-phospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(5):834-840.
254. Calvo-Alen J, Alarcon GS, Tew MB, et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort: XXXIV. Deficient mannose-binding lectin exon 1 polymorphisms are associated with cerebrovascular but not with other arterial thrombotic events. *Arthritis & Rheumatology*. 2006;54(6):1940-1945.

255. Lundstrom E, Gustafsson JT, Jonsen A, et al. HLA-DRB1*04/*13 alleles are associated with vascular disease and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72(6):1018-1025.
256. Leonard D, Svenungsson E, Dahlqvist J, et al. Novel gene variants associated with cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2018;2:1-8.
257. Davidovici BB, Sattar N, Prinz J, et al. Psoriasis and systemic inflammatory diseases: potential mechanistic links between skin disease and co-morbid conditions. *The Journal of investigative dermatology*. 2010;130(7):1785-1796.
258. Lu Y, Chen H, Nikamo P, et al. Association of cardiovascular and metabolic disease genes with psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. 2013;133(3):836-839.
259. Nair RP, Duffin KC, Helms C, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet*. 2009;41(2):199-204.
260. Liu Y, Helms C, Liao W, et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet*. 2008;4(3):e1000041.
261. Strange A, Capon F, Spencer CC, et al. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet*. 2010;42(11):985-990.
262. Arts EE, Fransen J, den Broeder AA, Popa CD, van Riel PL. The effect of disease duration and disease activity on the risk of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(6):998-1003.
263. Innala L, Moller B, Ljung L, et al. Cardiovascular events in early RA are a result of inflammatory burden and traditional risk factors: a five year prospective study. *Arthritis research & therapy*. 2011;13(4):1-10.
264. Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis research & therapy*. 2008;10(2):1-10.
265. Armstrong AW, Schupp C, Bebo B. Psoriasis comorbidities: results from the National Psoriasis Foundation surveys 2003 to 2011. *Dermatology*. 2012;225(2):121-126.

266. Li WQ, Han JL, Manson JE, et al. Psoriasis and risk of nonfatal cardiovascular disease in U.S. women: a cohort study. *The British journal of dermatology*. 2012;166(4):811-818.
267. Pons-Estel GJ, Gonzalez LA, Zhang J, et al. Predictors of cardiovascular damage in patients with systemic lupus erythematosus: data from LUMINA (LXVIII), a multiethnic US cohort. *Rheumatology*. 2009;48(7):817-822.
268. Bengtsson C, Ohman ML, Nived O, Rantapaa Dahlqvist S. Cardiovascular event in systemic lupus erythematosus in northern Sweden: incidence and predictors in a 7-year follow-up study. *Lupus*. 2012;21(4):452-459.
269. Rodriguez-Martin M, de Paz NM, Mehtani P, et al. Patients with vitiligo present fewer cardiovascular risk factors: results from a case-control study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(1):124-125.
270. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of subsequent ischemic and hemorrhagic stroke in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *BMC neurology*. 2012;12(41):1-9.
271. Fischer LM, Schlienger RG, Matter C, Jick H, Meier CR. Effect of rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus on the risk of first-time acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 2004;93(2):198-200.
272. Kochi Y. Genetics of autoimmune diseases: perspectives from genome-wide association studies. *International immunology*. 2016;28(4):155-161.
273. Lin EA, Liu CJ. The role of ADAMTSs in arthritis. *Protein & cell*. 2010;1(1):33-47.
274. Reilly MP, Li M, He J, et al. Identification of ADAMTS7 as a novel locus for coronary atherosclerosis and association of ABO with myocardial infarction in the presence of coronary atherosclerosis: two genome-wide association studies. *Lancet (London, England)*. 2011;377(9763):383-392.
275. Talmud PJ, Drenos F, Shah S, et al. Gene-centric association signals for lipids and apolipoproteins identified via the HumanCVD BeadChip. *American journal of human genetics*. 2009;85(5):628-642.
276. Nielsen CM, Williams J, van den Brink GR, Lauwers GY, Roberts DJ. Hh pathway expression in human gut tissues and in inflammatory gut diseases. *Laboratory investigation*. 2004;84(12):1631-1642.

277. Paulis L, Fauconnier J, Cazorla O, et al. Activation of Sonic hedgehog signaling in ventricular cardiomyocytes exerts cardioprotection against ischemia reperfusion injuries. *Nature*. 2015;5:1-10.
278. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Mechanisms of premature atherosclerosis in rheumatoid arthritis and lupus. *Annual review of medicine*. 2013;64:249-263.
279. Jacobsson LT, Turesson C, Gulfe A, et al. Treatment with tumor necrosis factor blockers is associated with a lower incidence of first cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2005;32(7):1213-1218.
280. Cutolo M, Sulli A, Seriola B. Estrogens, autoimmunity and the heart. *Lupus*. 2005;14(9):675-678.
281. Ortona E, Pierdominici M, Maselli A, Veroni C, Aloisi F, Shoenfeld Y. Sex-based differences in autoimmune diseases. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*. 2016;52(2):205-212.