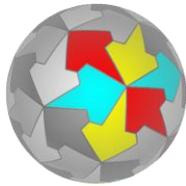


Impacto del trasplante renal en el sistema inmunitario de sujetos con enfermedad renal crónica avanzada

Gemma Valera Arévalo, Julia Carracedo Añón, Noemí Ceprián Costoso,
Enrique Morales Ruiz



Universidad
de Alcalá



INTRODUCCIÓN



La enfermedad renal crónica (ERC) es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en países desarrollados, afectando aproximadamente al 9% de la población mundial. Consiste en la pérdida progresiva de la función renal y puede responder a diferentes etiologías, como son la nefropatía diabética, la glomerulonefritis, o enfermedades con componente genético como la poliquistosis renal, entre otras.

Dentro de la ERC encontramos diferentes estadios en función de la tasa de filtrado glomerular (TFG) o de las terapias de sustitución renal a las que está sometido el paciente. Por último, tenemos el trasplante renal (KT), que está considerada como la terapia de resolución de la ERC.

ERC (ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA)					DIÁLISIS		TRASPLANTE
ESTADIO I	ESTADIO II	ESTADIO III	ESTADIO IV	ESTADIO V	HEMODIÁLISIS	DIÁLISIS PERITONEAL	
TFG > 90 ml/min	TFG = 60-89 ml/min	TFG = 30-59 ml/min	TFG = 15-29 ml/min	TFG < 15 ml/min			

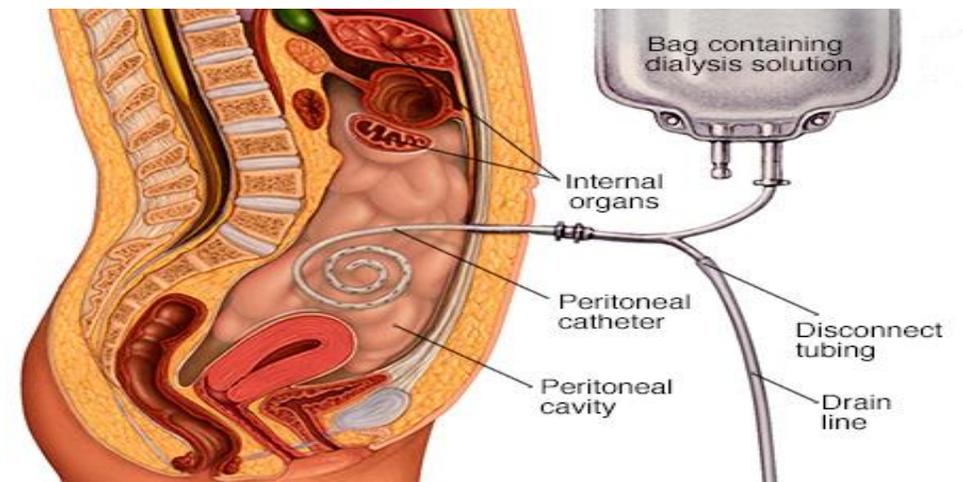
Terapias sustitutivas renales

Cuando la ERC se encuentra en sus estadios más avanzados (ACKD, advanced chronic kidney disease) es necesario el uso de terapias sustitutivas de la función renal para evitar la acumulación de sustancias tóxicas en el organismo. Para ello se somete al paciente a diálisis, pudiendo diferenciar entre dos técnicas: hemodiálisis y diálisis peritoneal.



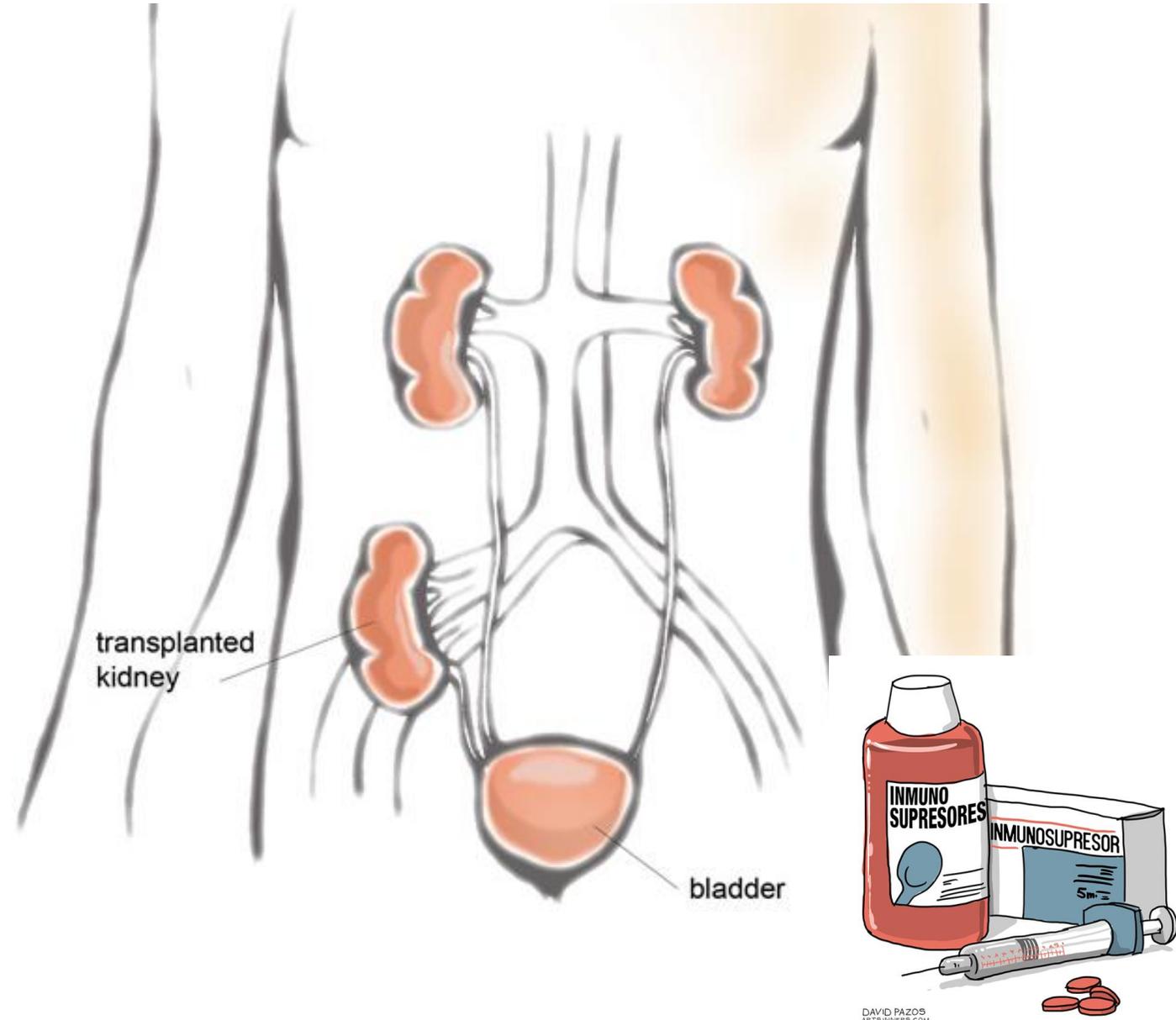
La **hemodiálisis** consiste en la filtración extracorpórea de la sangre mediante el uso de un dializador que cuenta con una membrana de filtración, para el posterior retorno al organismo de la sangre dializada.

La **diálisis peritoneal**, por su parte, utiliza la membrana del peritoneo del paciente como membrana de filtración, siendo considerada una técnica más biocompatible.



TRASPLANTE

Finalmente, si se dan las condiciones necesarias se somete al paciente a un trasplante renal (KT). Sin embargo, el trasplante no elimina la causa de la enfermedad renal, ni tampoco muchas de las comorbilidades asociadas. Así mismo, para evitar el rechazo del órgano, se somete al paciente a un tratamiento inmunosupresor.

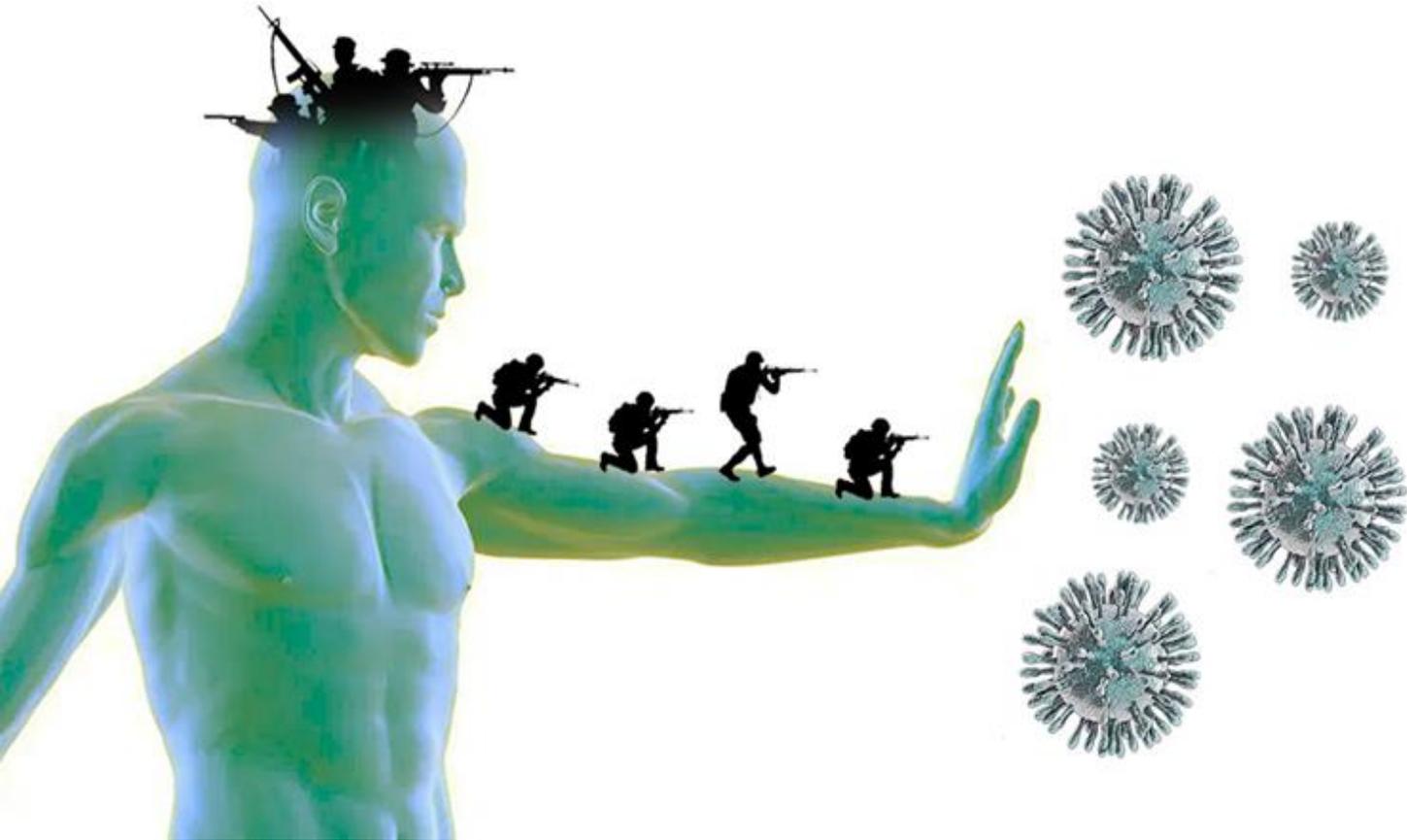




COMORBILIDADES ASOCIADAS A LA ERC

La ERC tiene asociadas una serie de comorbilidades, destacando el aumento de la prevalencia de enfermedades cardiovasculares con respecto a la población sana, habiéndose observado, así mismo, un incremento de la expresión de moléculas de adhesión endotelial, como CD31 (PECAM-1), CD54 (ICAM-1) y CD106 (VCAM-1).

También se ha visto que la ERC se relaciona con la adquisición de un fenotipo senescente por parte de las células del Sistema inmune y un estado de inflamación crónica, destacando el papel de los cambios en las subpoblaciones de monocitos, que adquieren un fenotipo proinflamatorio.



En los últimos años, también se ha observado una mayor incidencia de cáncer en pacientes con ERC. Esta realidad se ve acentuada en los pacientes trasplantados (hasta un 50% de los pacientes trasplantados desarrollará una neoplasia en los 20 años posteriores al trasplante), siendo habituales neoplasias cutáneas, neoplasias del órgano trasplantado y linfomas. Se ha observado que los pacientes trasplantados tienen una mayor predisposición a infecciones, especialmente aquellas producidas por Citomegalovirus, Parvovirus, Hepatitis B y C.

Tanto en el incremento de la incidencia de neoplasias, como en la peor respuesta a infecciones, puede ser importante el papel de los fármacos inmunosupresores que evitan el rechazo del injerto. En este contexto, es interesante estudiar el estado del sistema inmune tras el trasplante, y, por tanto, bajo dicho tratamiento.

OBJETIVOS

- El **objetivo principal** del estudio es evaluar el estado inmunológico en los pacientes a lo largo del curso de la enfermedad y el trasplante renal
- Los **objetivos parciales** son:
 - › Caracterizar las subpoblaciones de linfocitos en ACKD y KT
 - › Caracterizar las subpoblaciones de monocitos en ACKD y KT
 - › Analizar la expresión de CD86 (B7.2) (coestimulador de linfocitos T) y CD54 (ICAM-1) (molécula de adhesión endotelial) en las diferentes subpoblaciones de monocitos

MATERIAL Y MÉTODOS



El estudio está incluido en un proyecto de carácter prospectivo financiado por el Instituto de Salud Carlos III de Madrid (ISCIII) (PI17/01029 y PI20/01321), en colaboración con el **Servicio de Nefrología del Hospital 12 de Octubre de Madrid**, el cual llevó a cabo el reclutamiento de los sujetos incluidos en el estudio, así como la recogida de muestras, previo consentimiento informado.

Se han seguido los protocolos establecidos por el Hospital 12 de Octubre de Madrid para acceder a los datos de las historias clínicas, a fin de poder realizar este proyecto con finalidad de investigación/divulgación para la comunidad científica. Se analizaron muestras de 80 sujetos con ERC (40 ACKD Y 40 KT) y 18 sujetos sanos (HS), para establecer los parámetros de normalidad de las variables. La distribución de los sujetos, edades y género se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Características de pacientes y sujetos control

	HS	ACKD	KT
TAMAÑO MUESTRAL	18	40	40
EDAD (AÑOS)±DT	51±16	61±17	54±12
HOMBRES, N (%)	9 (50%)	26 (65%)	27 (68%)

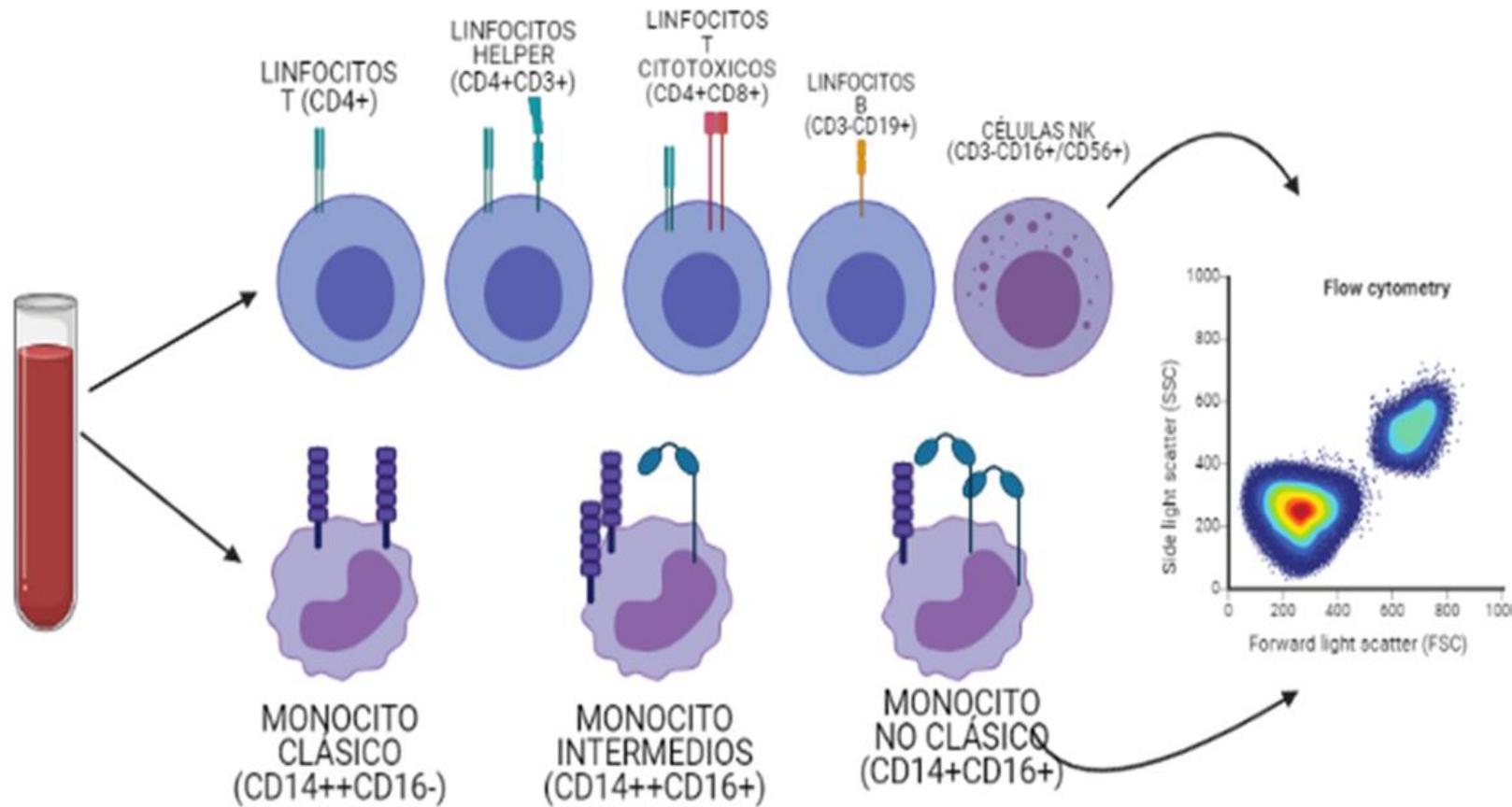


Figura 1: Protocolo de caracterización de subpoblaciones de linfocitos y monocitos

Las determinaciones se llevaron a cabo a partir de muestras de sangre periférica de los sujetos estudiados.

Se caracterizaron linfocitos totales, linfocitos T (Helper y citotóxicos), linfocitos B y células NK. Esta caracterización se llevó a cabo por citometría de flujo (FACSCanto II) mediante el uso del reactivo BD Multitest 6-color TBNK.

Por otro lado, se analizaron las subpoblaciones de monocitos (clásicos (CD14++CD16-), intermedios (CD14++CD16+) y no clásicos (CD14+CD16+)), así como la expresión de CD86 (B7.2) y CD54 (ICAM-1) en las distintas subpoblaciones de monocitos. La caracterización se llevó a cabo por la técnica de citometría de flujo (FACSCalibur) y mediante inmunofluorescencia directa.

Análisis estadístico

- El programa estadístico utilizado fue el SPSS 21.0 (Chicago USA)
- La normalidad de la distribución de las variables se analizó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov
- La homogeneidad de las varianzas se analizó con el test de Levene
- Las variables con distribución normal se analizaron mediante un ANOVA de una vía, realizando como test post-hoc el test de Turkey para varianzas homogéneas y el test de Games-Howell para varianzas heterogéneas
- Para las variables que no seguían una distribución normal se realizó el test de Mann-Whitney

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE MONOCITOS

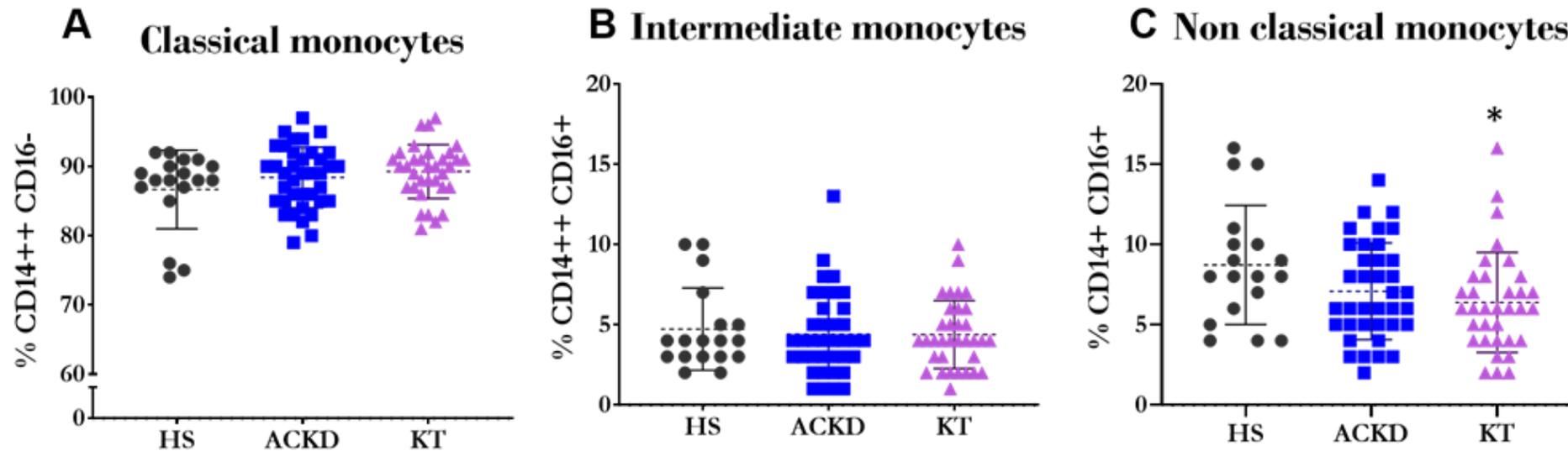


Figura 2: Descripción de las subpoblaciones de monocitos. Se muestra el porcentaje de monocitos clásicos (A, CD14 ++ CD16-; U de Mann-Whitney), intermedios (B, CD14 ++ CD16 +; Anova-Turkey) y no clásicos (C, CD14+CD16+; Anova-Turkey) en sujetos sanos (HS), enfermedad renal crónica avanzada (ACKD) y trasplante de riñón (KT). * $p \leq 0.05$ vs HS.

CARACTERIZACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS

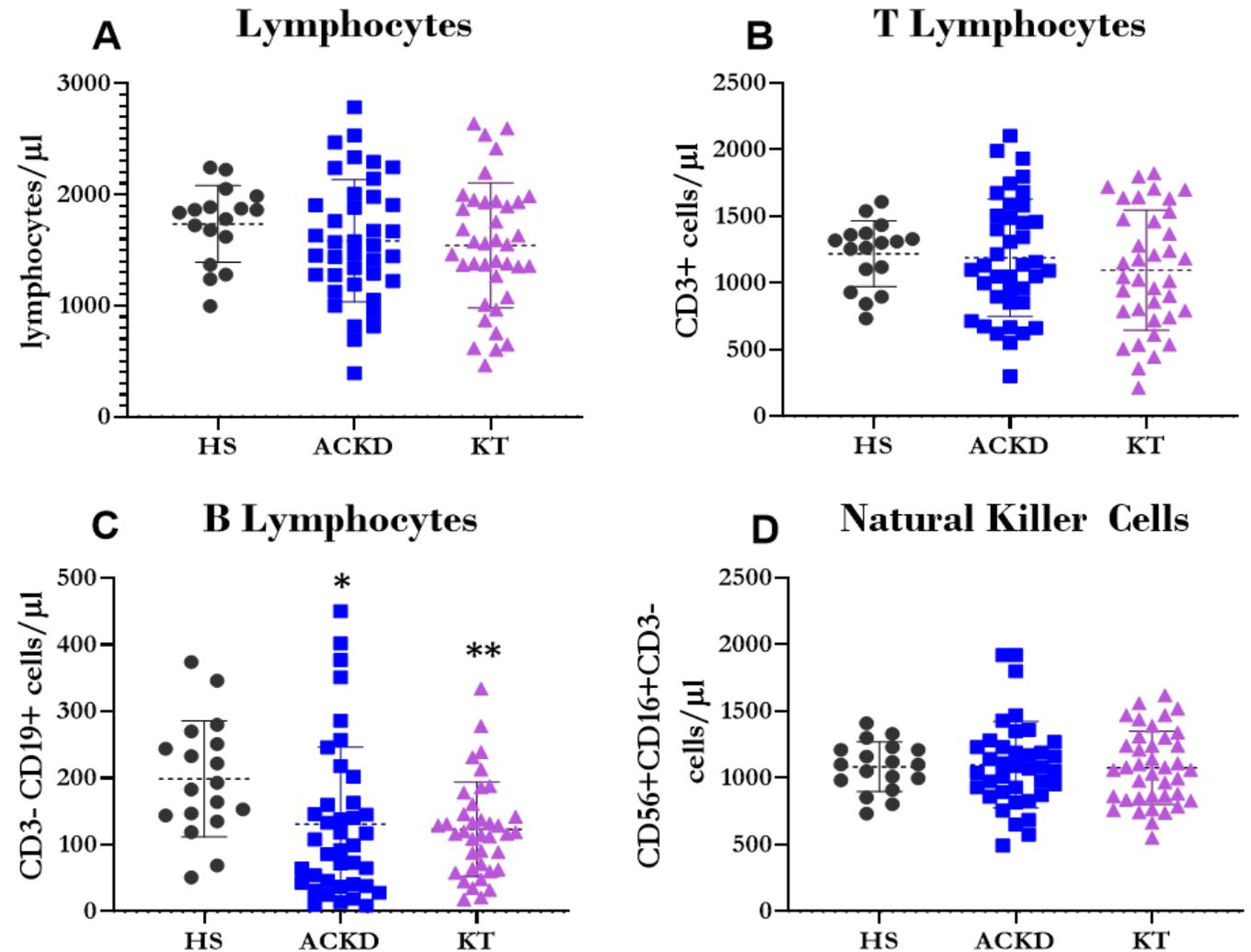
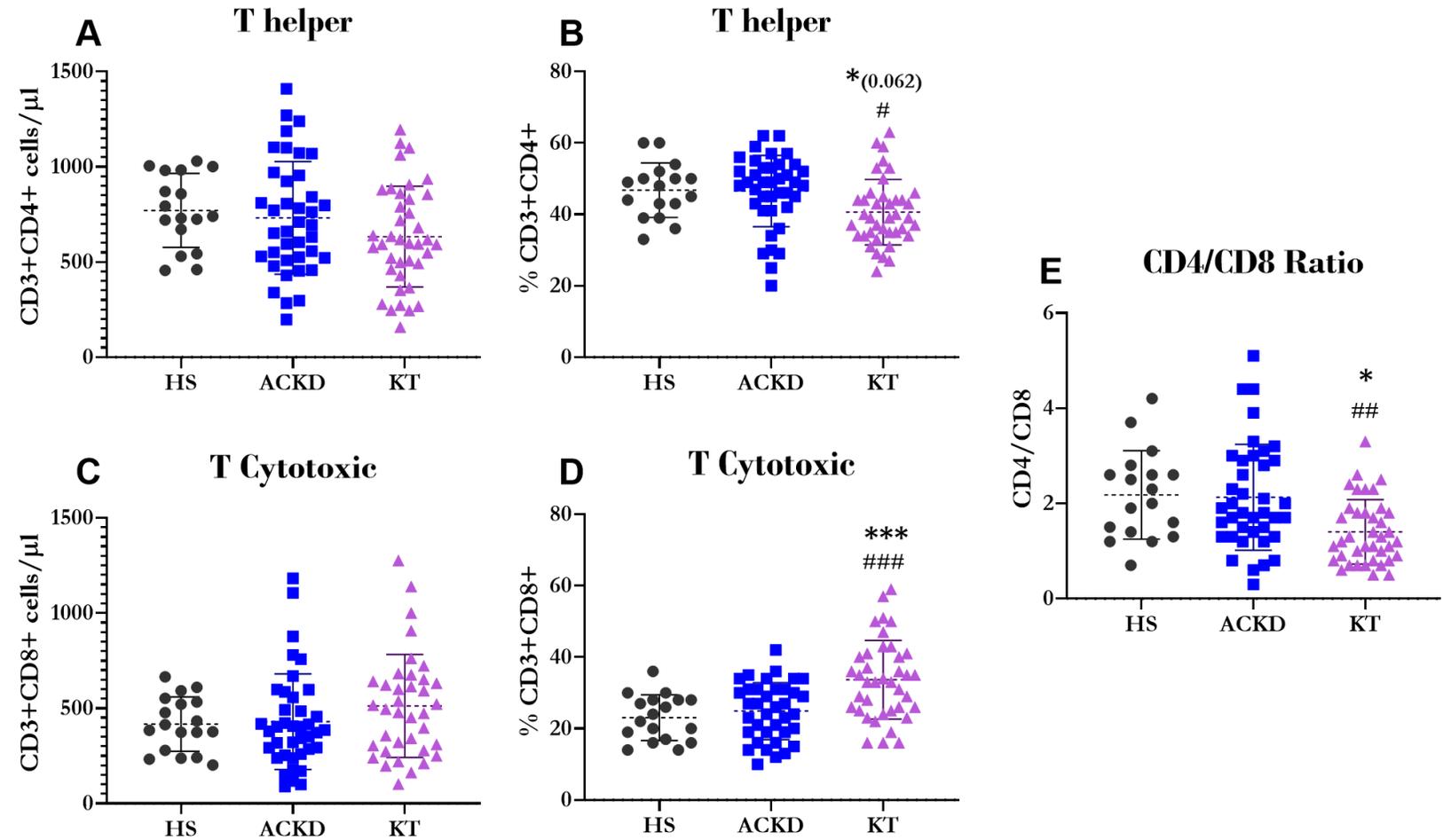


Figura 3: Descripción de las subpoblaciones de linfocitos. Se muestra el número total de linfocitos (A; Anova-Turkey), linfocitos T (B, CD3 +; Anova-Games-Howell), linfocitos B (C, CD3-CD19 +; Anova-Games-Howell) y células NK (D, CD56 + CD16 + CD3-; Anova-Turkey) en sujetos sanos (HS), enfermedad renal crónica avanzada (ACKD) y trasplante de riñón (KT). * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ vs HS.

Figura 4: Descripción de la subpoblaciones de linfocitos T. Se muestra el número (A; Anova-Turkey) y el porcentaje (B; Anova-Turkey) de linfocitos T helper (CD3 + CD4 +), el número (C; Anova-Turkey) y el porcentaje (D; Anova-Turquía) de linfocitos T citotóxicos (CD3 + CD8 +) y la relación entre linfocitos T helper y citotóxicos (E, cociente CD4 / CD8; Anova-Games-Howell) en sujetos sanos (HS), enfermedad renal crónica avanzada (ACKD) y trasplante de riñón (KT). * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$ vs HS; # $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.01$, ### $p \leq 0.001$ vs ACKD.



EXPRESIÓN DE CD86 Y CD54

Figura 5: Expresión de CD86 / B7.2 en las diferentes subpoblaciones de monocitos. Se muestra el porcentaje de monocitos clásicos (A, CD14 ++ CD16-; U de Mann-Whitney), intermedios (B, CD14 ++ CD16 +; Anova-Games-Howell) y no clásicos (C, CD14 + CD16 +; Anova-Turkey) que expresan CD86 y la intensidad de fluorescencia media de CD86 en monocitos clásicos (D, CD14 ++ CD16-; Anova-Games-Howell), intermedios (E, CD14 ++ CD16 +; Anova-Games-Howell) y no clásicos (F, S CD14+CD16+; Anova-Games-Howell) en sujetos sanos (HS), enfermedad renal crónica avanzada (ACKD) y trasplante de riñón (KT). ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ vs HS; # $p \leq 0.05$ vs ACKD.

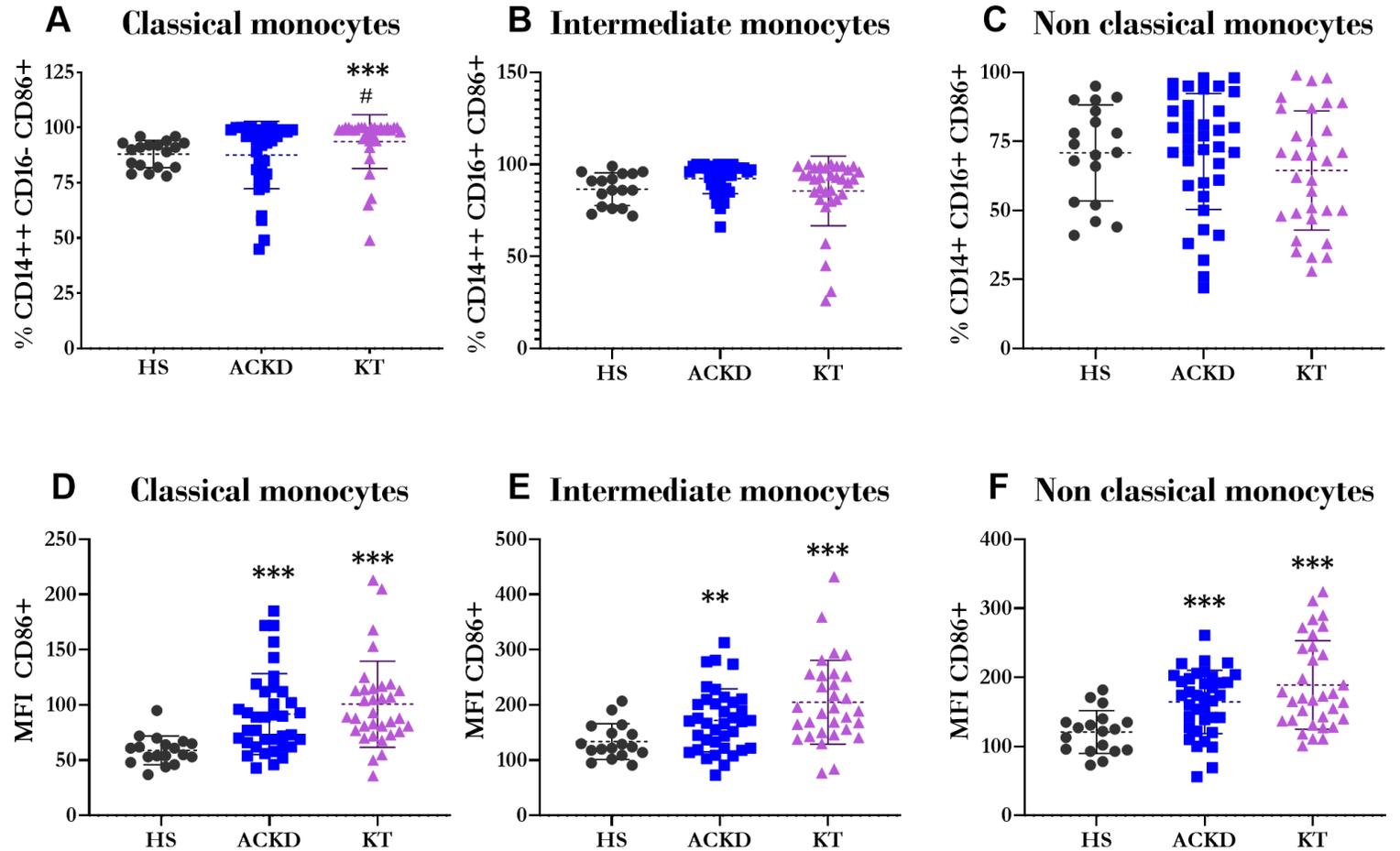
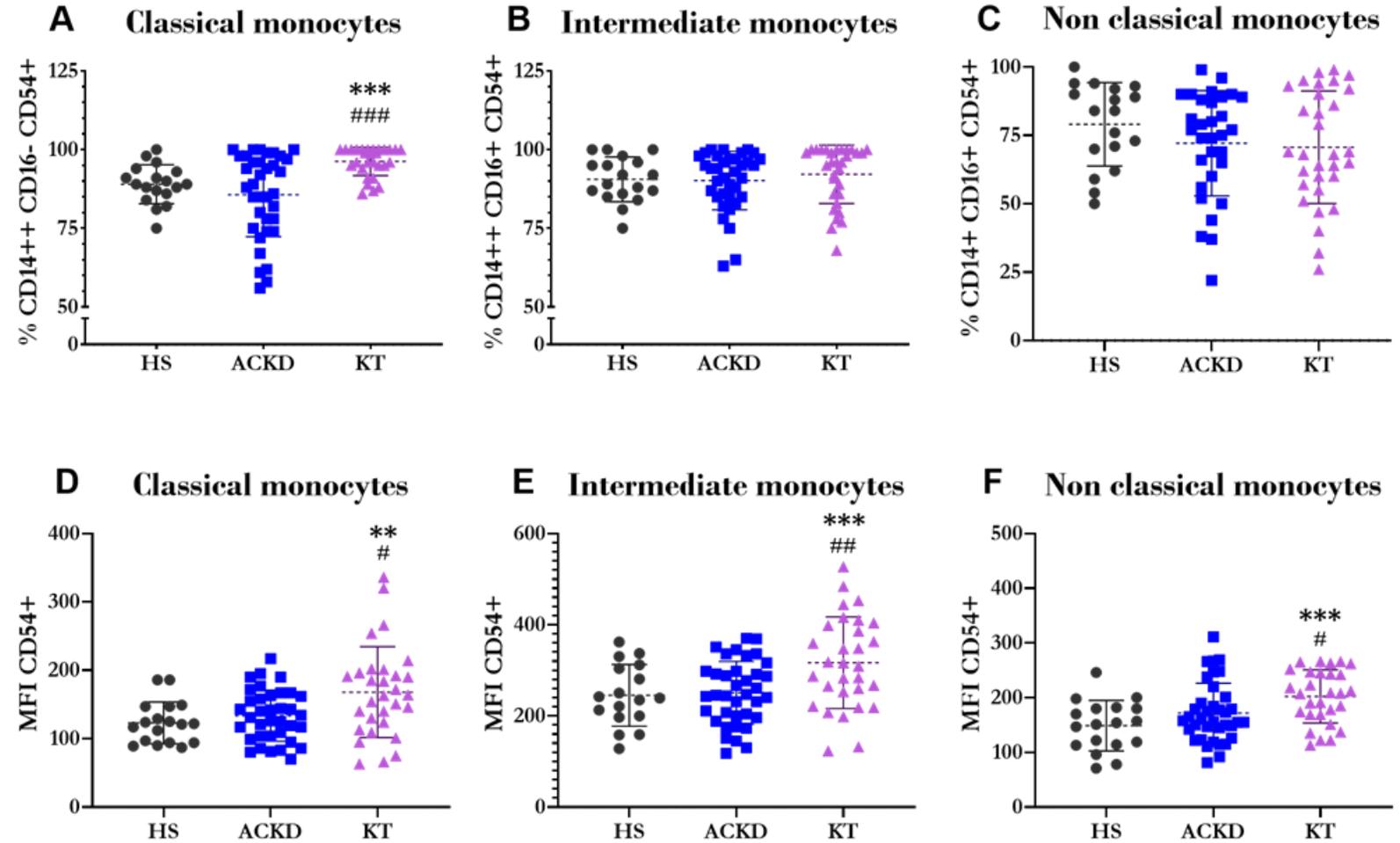


Figura 6: Expresión de CD54 / ICAM-1 en las diferentes subpoblaciones de monocitos. Se muestra el porcentaje de monocitos clásicos (A, CD14 ++ CD16-; Anova-Games-Howell), intermedios (B, CD14 ++ CD16 +; Anova-Turkey) y no clásicos (C, CD14 + CD16 +; Anova-Turquía) que expresa CD54 y la intensidad de fluorescencia media de CD54 en monocitos clásicos (D, CD14 ++ CD16-; Anova-Games-Howell), intermedios (E, CD14 ++ CD16 +; Anova-Turkey) y no clásicos (F, CD14 + CD16 +; Anova-Turkey) en sujetos sanos (HS), enfermedad renal crónica avanzada (ACKD) y trasplante de riñón (TR). ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ vs HS; # $p \leq 0.05$, ### $p \leq 0.001$ vs ACKD





CONCLUSIONES

- Los pacientes en KT tienen una menor cantidad de linfocitos B y T helper, así como una mayor cantidad de linfocitos T citotóxicos, con respecto a HS y ACKD.
- Los pacientes en KT y ACKD tienen una mayor expresión de CD86 (factor co-estimulador).
- Además, los pacientes con KT mostraron mayor expresión de la molécula de adhesión CD54 que el resto de grupos.



i+12

Instituto de Investigación
Hospital 12 de Octubre



SaludMadrid

Hospital Universitario
12 de Octubre

Enrique Morales
Eduardo Gutiérrez
Claudia Yuste
Jara Caro
Ignacio González



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Julia Carracedo
Noemí Ceprián
Carlos Oliva
Nadia Serroukh



Instituto de Salud Carlos III

Proyectos PI17/01029 y PI20/01321

UCM



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

AGRADECIMIENTOS



**GRACIAS POR SU
ATENCIÓN**