



29º CONGRESO

**SETH A Coruña**

15-17 noviembre 2023

Palexco



## Utilización de vesículas extracelulares y su cargo de miRNAs detectados en solución de preservación tras isquemia fría como biomarcadores para la evolución temprana del trasplante hepático

**ALBERTO BAROJA MAZO**



Fundación para la Formación  
e Investigación Sanitarias  
de la Región de Murcia



# INTRODUCCIÓN

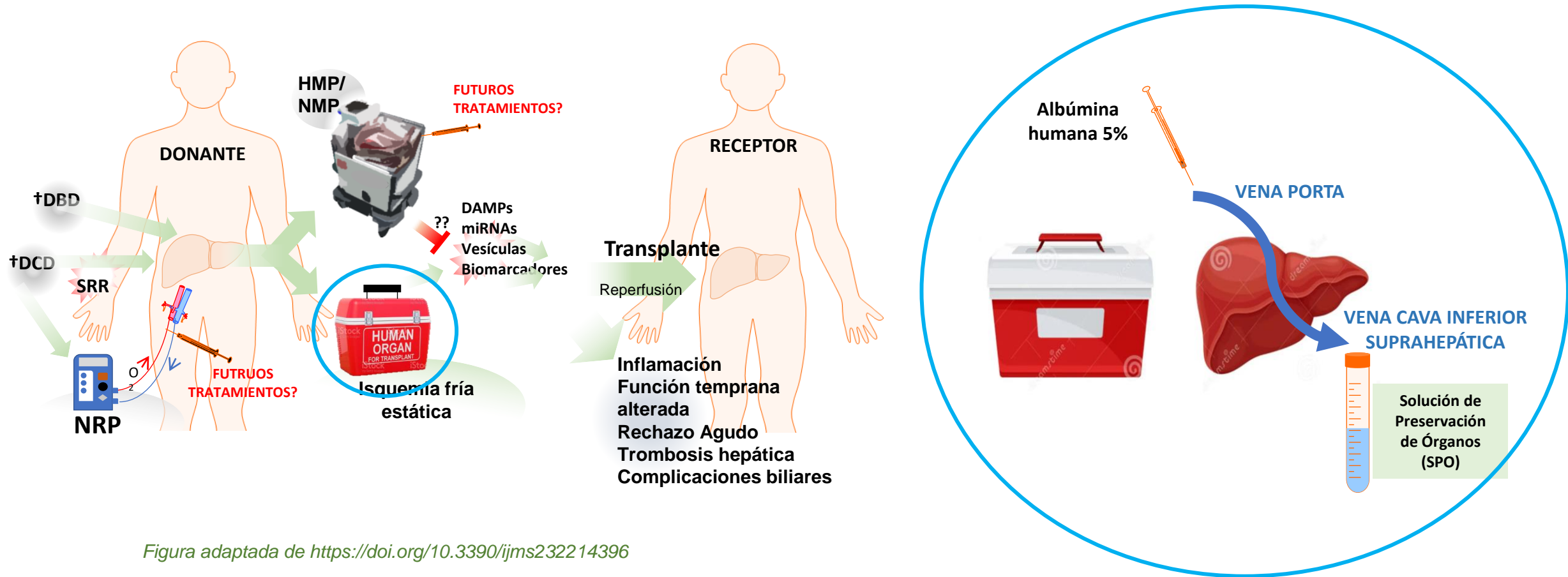
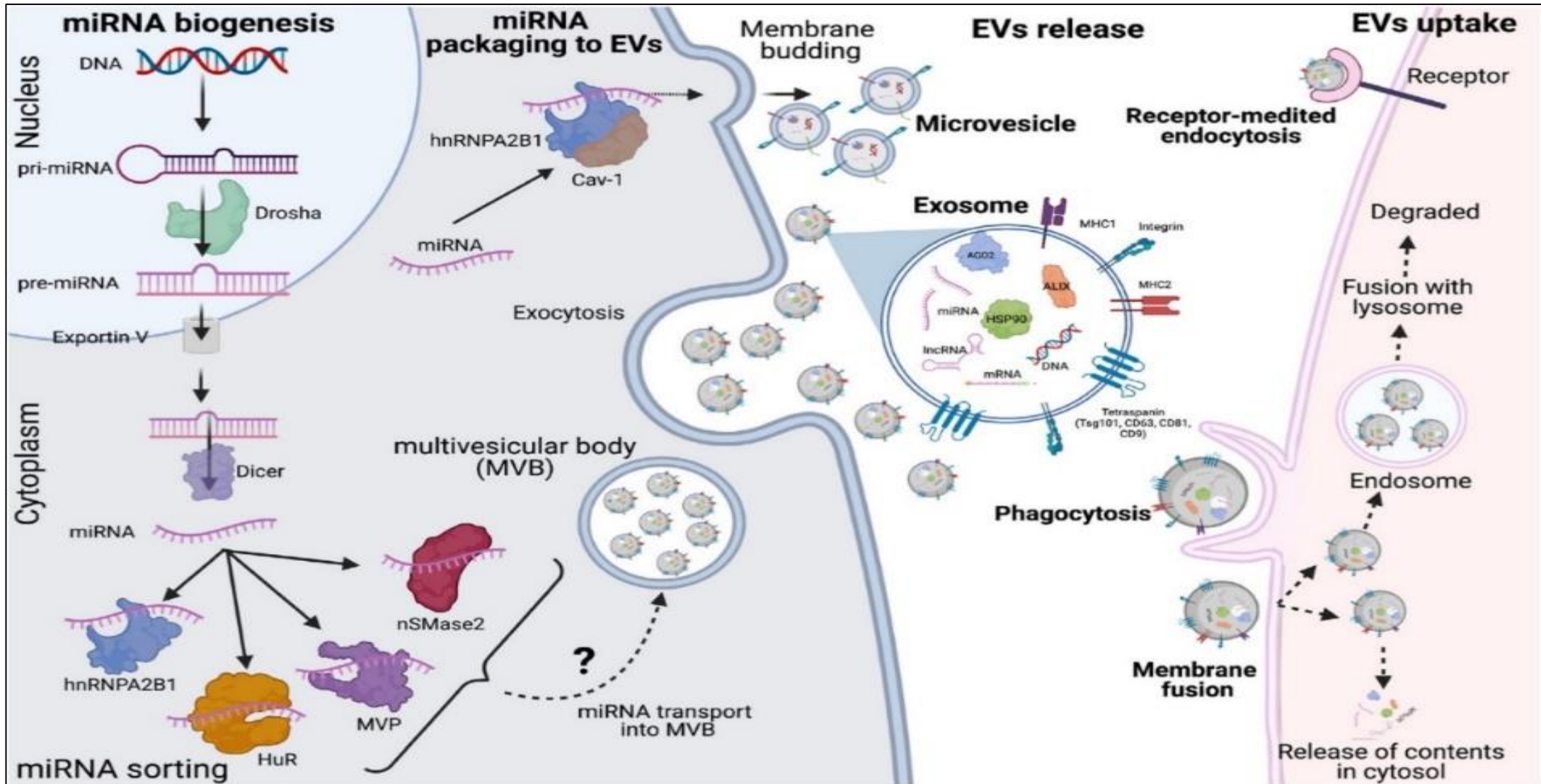


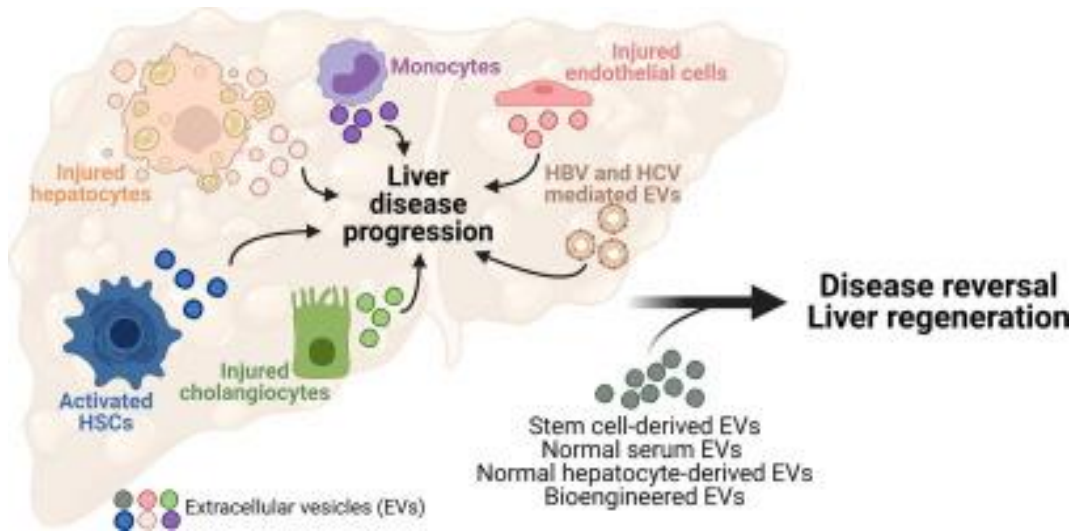
Figura adaptada de <https://doi.org/10.3390/ijms232214396>

# INTRODUCCIÓN



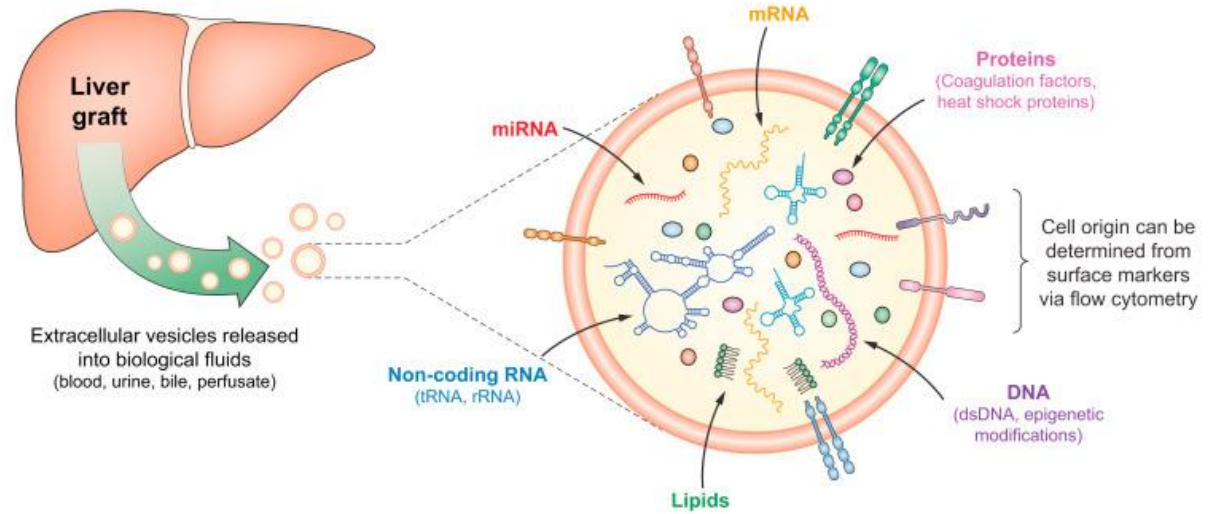
# INTRODUCCIÓN

## Diverso origen celular



*Kostallari, E. et al., 2021*

## Seguimiento post-trasplante



*Bardhi, E. et al., 2022*

# OBJETIVO

- Explorar el papel de las **vesículas extracelulares** encontradas en SPO tras isquemia fría y su cargo de **miRNAs** en el **trasplante hepático**, incluido su potencial como herramienta diagnóstica post-trasplante.

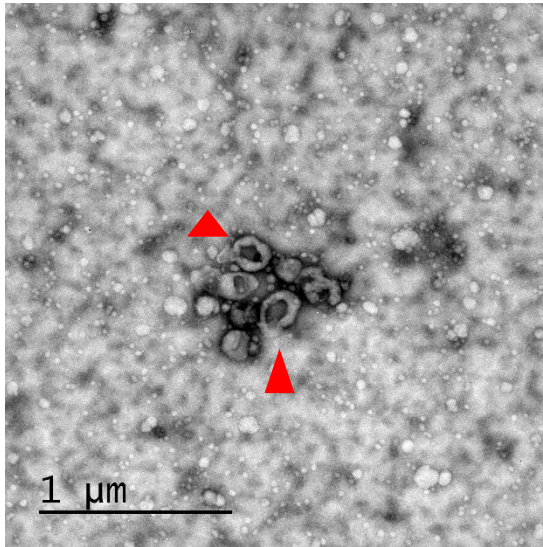
# METODOLOGÍA

Variables	Donors (n = 79)	Recipients (n = 79)	p
Age	60.6 ± 14.2; 65 (22-87)	57.0 ± 9.6; 58.5 (24-72)	0.126
Sex			
Male	42 (53.2)	44 (64.7)	0.181
Female	37 (46.8)	24 (35.3)	
Body mass index	25.6±3.9; 25.2 (16.7-36.2)	26.8 ± 4.2; 26.7 (18.7-36.8)	0.056
Cold Ischemia (min)	331.8 ± 151.4; 300 (90-960)		
Donation			
DBD	49 (62)		
DCD	30 (38)		
NRP			
Yes	8 (27.6)		
No	22 (73.4)		
Functional warm ischemia (min)	16.3 ± 6.7;15.0 (5-30)		
Diseases			
Alcoholic cirrhosis		37 (46.8)	
HCV		8 (10.1)	
Arterial thrombosis		6 (7.6)	
Primary biliary cirrhosis		5 (6.3)	
Cryptogenic liver Cirrhosis		4 (5.1)	
NASH		4 (5.1)	
HBV		3 (3.8)	
Polycystic disease		3 (3.8)	
Autoimmune hepatitis		3 (3.8)	
Other		6 (7.6)	
Re-transplant patients		11 (13.9)	
Exitus at surgery		2 (2.5)	

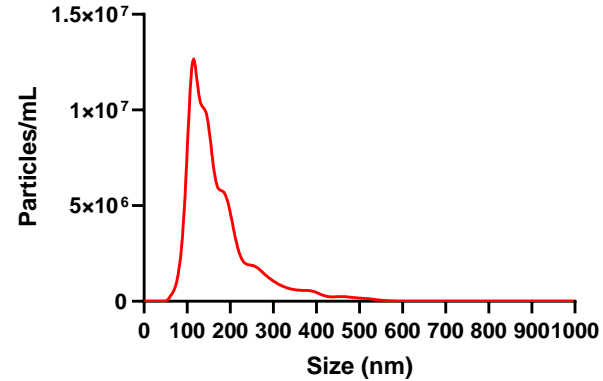
- Detección y cuantificación de VEs en OPS
  - NTA
  - Microscopio electrónico
  - Citometría de flujo
  
- Identificación de miRNAs derivados de VEs por qRT-PCR
  
- Identificación de genes diana y análisis de enriquecimiento funcional
  
- Análisis de la influencia en la evolución del trasplante

# Detección de EVs en base al origen y tamaño en SPO

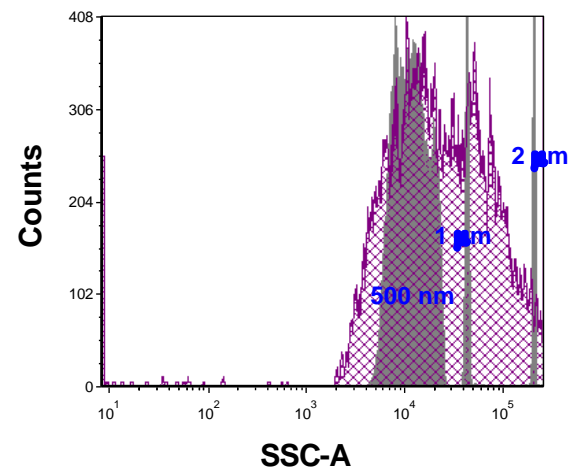
## Microscopia electrónica de transmisión



## NTA (nanosight tracking analysis)

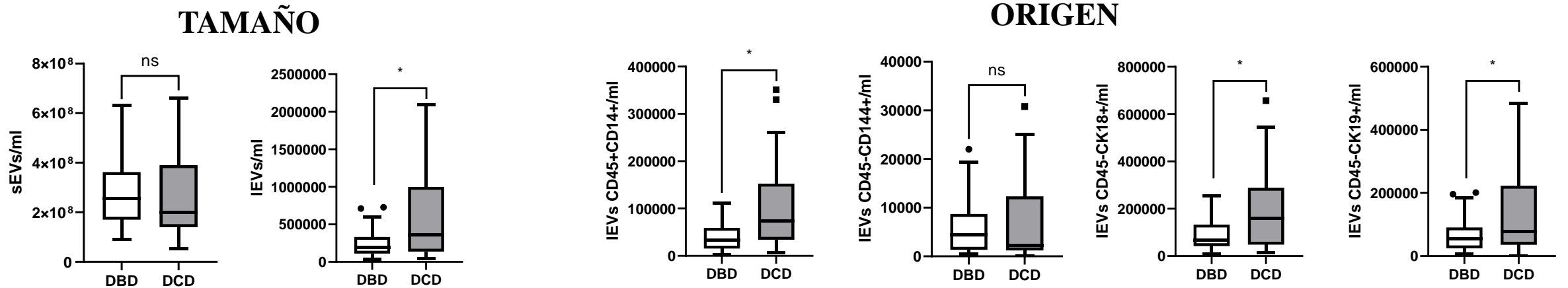


## Citometría de flujo



Tipo de vesículas extracelular	Concentración (partículas/mL)*
Small EVs (sEVs)	$2.6 \times 10^8$ ( $5.40 \times 10^7$ - $1.55 \times 10^9$ )
Total large EVs (IEVs)	$2.68 \times 10^5$ ( $3.33 \times 10^4$ - $4.78 \times 10^6$ )
IEVs CD45+CD14+	$5.42 \times 10^4$ ( $3.29 \times 10^3$ - $6.03 \times 10^5$ )
IEVs CD45-CD144+	$6.27 \times 10^3$ ( $116$ - $6.34 \times 10^5$ )
IEVs CD45-CK18+	$9.59 \times 10^4$ ( $9.46 \times 10^3$ - $2.11 \times 10^6$ )
IEVs CD45-CK19+	$6.83 \times 10^4$ ( $950$ - $1.72 \times 10^6$ )

# La composición de EVs difiere según el tipo de donación y es alterada por el tiempo de isquemia fría



	Spearman's rho	sEVs	IEVs	IEVs CD45+CD144+	IEVs CD45-CD144+	IEVs CD45-CK18+	IEVs CD45-CK19+
Tiempo de isquemia fría	Correlation coefficient	0.195	0.362	0.424	0.008	0.286	0.337
	Sig. (2-tailed)	<b>0.086</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>	0.946	<b>0.011</b>	<b>0.003</b>
	N	79	77	78	77	77	77



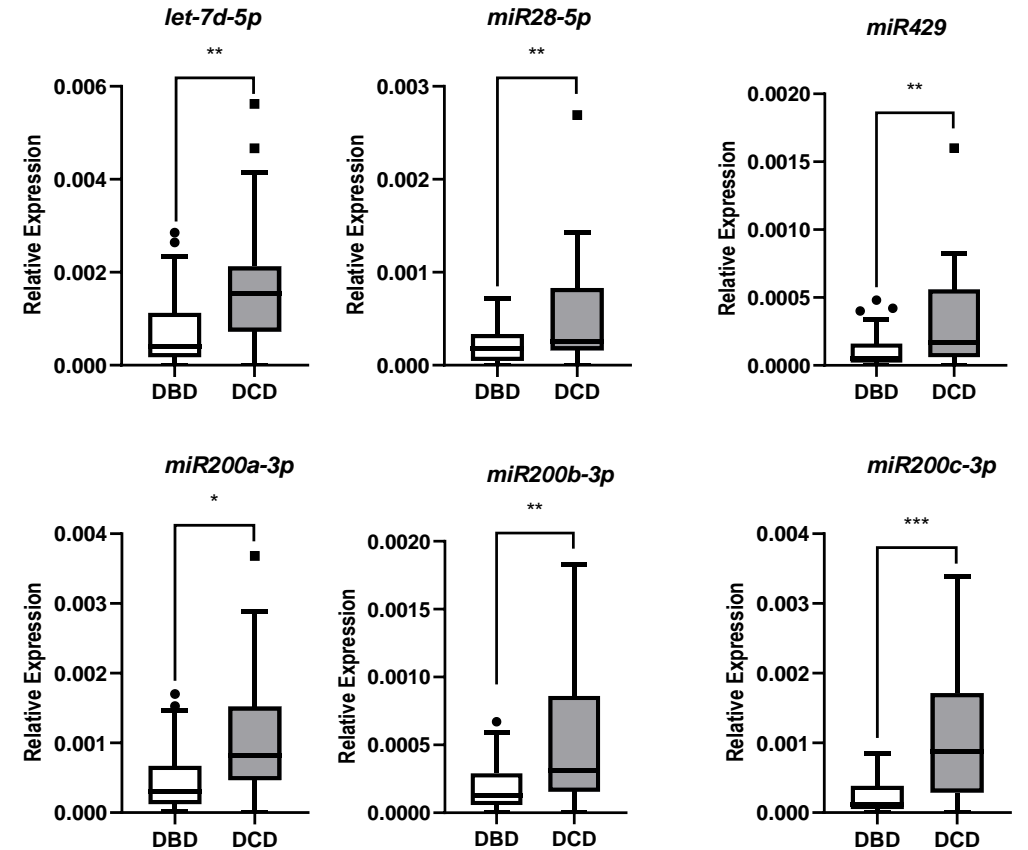
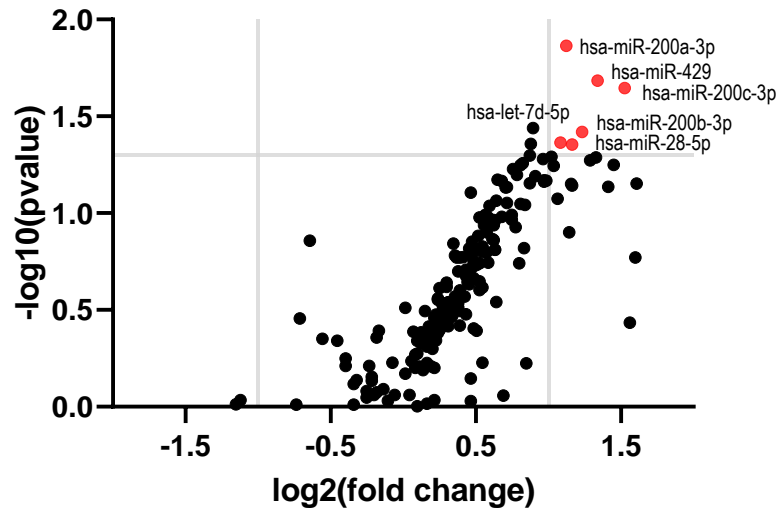
# La expresión de los miRNAs empaquetados en EVs varía según el tipo de donación

Aislamiento de EVs

372 miRNAs presentes en hígado

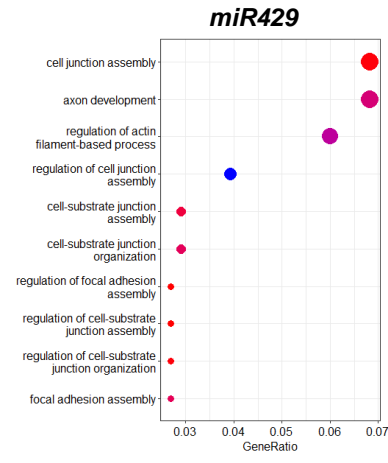
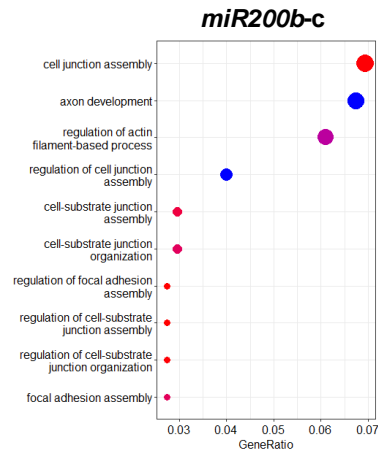
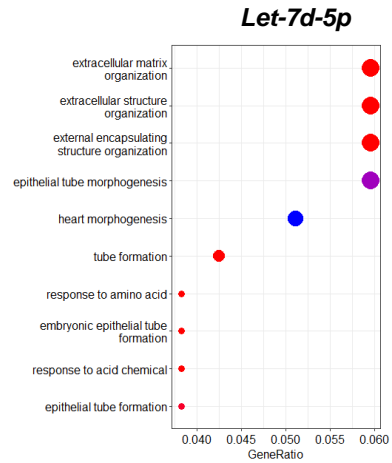
187 detectados en SPO

6 expresados diferencialmente según el tipo de donación

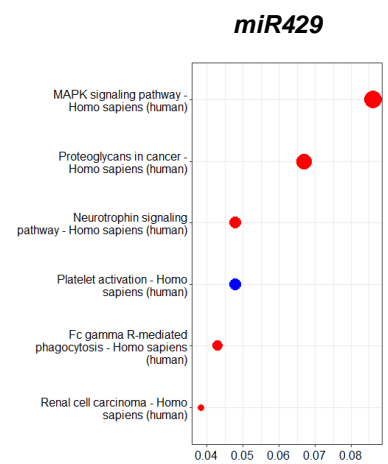
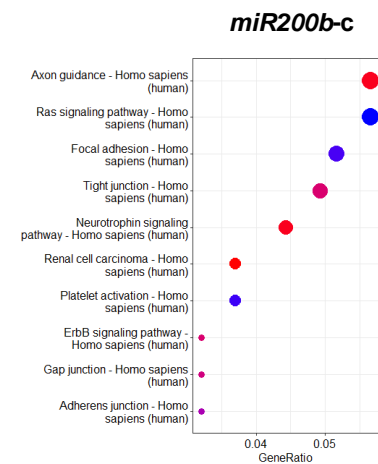
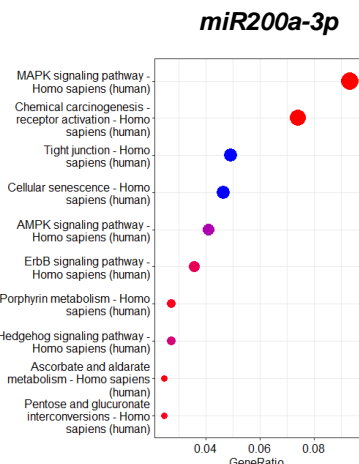
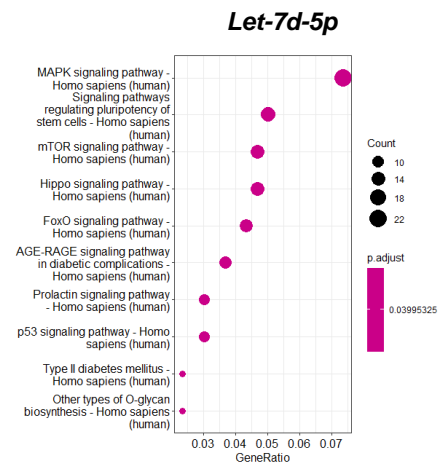


	Rho de Spearman	let-7d-5p	miR28-5p	miR429	miR200a-3p	miR200b-3p	miR200c-3p
Tiempo de isquemia fría	Coefficiente de correlación	0.327	0.249	0.220	0.322	0.381	0.301
	Significancia	<b>0.010</b>	<b>0.051</b>	0.083	<b>0.010</b>	<b>0.002</b>	<b>0.015</b>
	N	79	79	79	79	79	79

# Análisis de enriquecimiento funcional para miRNAs sobreexpresados en DCDs

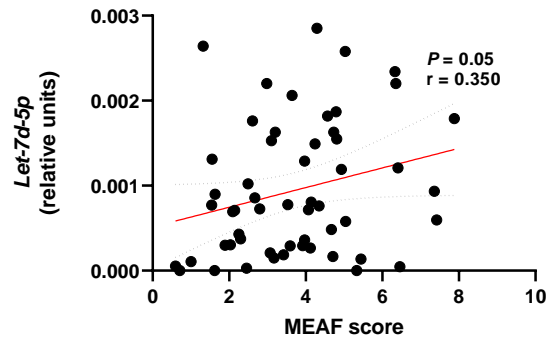


Rutas relacionadas con la proliferación y supervivencia celular, así como la interacción con la matriz extracelular.

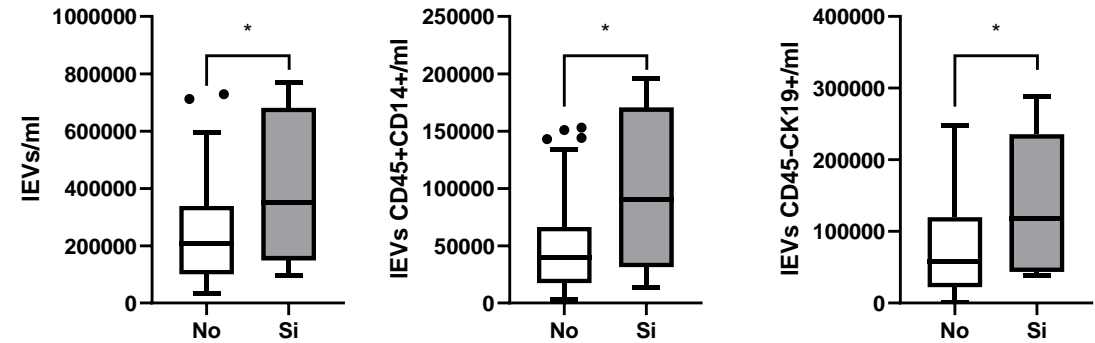


# Las EVs de mayor tamaño y los miRNAs empaquetados, afectan a corto plazo al resultado del trasplante hepático

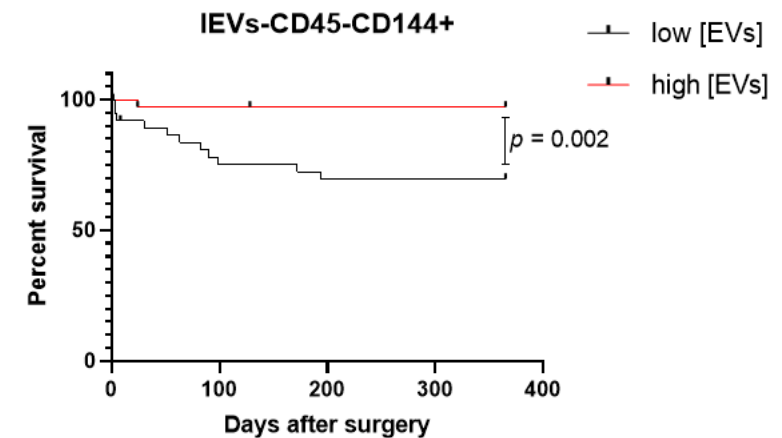
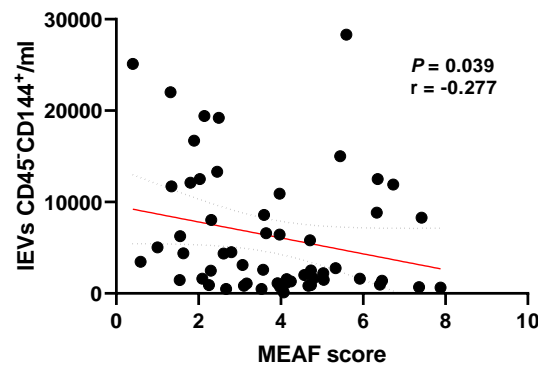
## FUNCIÓN TEMPRANA DEL INJERTO



## COMPLICACIONES BILIARES



## SUPERVIVENCIA



# CONCLUSIONES

Estos hallazgos proporcionan nuevas perspectivas sobre el uso de **EVs** y **miRNAs** como **biomarcadores** y su influencia en los resultados posteriores al **trasplante**, lo que podría contribuir a mejorar el enfoque **diagnóstico** y las estrategias de **tratamiento personalizado**.

### INFLAMMATION, LIVER TRANSPLANTATION AND TOLERANCE RESEARCH GROUP



**Colaboradores:**

- Fernando Lucas-Ruiz - UMU
- Pablo Ramírez – HCUVA
- Laura Martínez - HCUVA
- Marta Jover - HCUVA
- Antonio Ríos – HCUVA
- Felipe Alconchel – HCUVA
- Víctor López – HCUVA
- Pedro Cascales –HCUVA
- José Antonio Pons – HCUVA

- Héctor Peinado – CNIO
- Sara Sánchez – CNIO
- Vanesa Santos - CNIO

