

***Los pacientes tolerantes al trasplante hepático presentan una  
expresión intrainjerto diferencial de miR-4282, miR-4286 y miR-7977  
en comparación con los pacientes no tolerantes***

Gloria López Díaz

HCU Virgen Arrixaca  
IMIB-Pascual Parrilla



### TÉCNICAS QUIRÚRGICAS

### INMUNOSUPRESIÓN

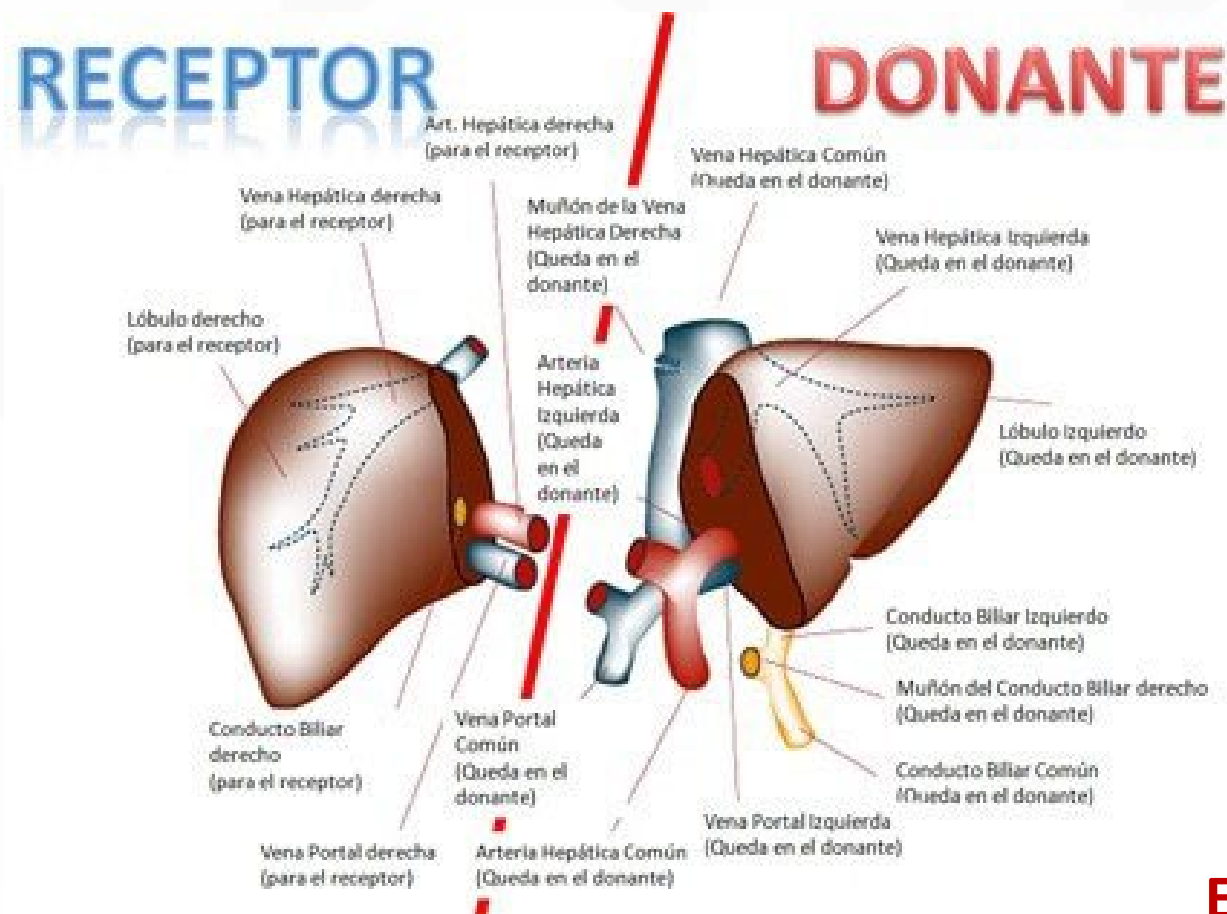
### INFECCIONES

### NEOPLASIAS

### NEFROTOXICIDAD

### ENFERMEDAD METABÓLICA

### ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR



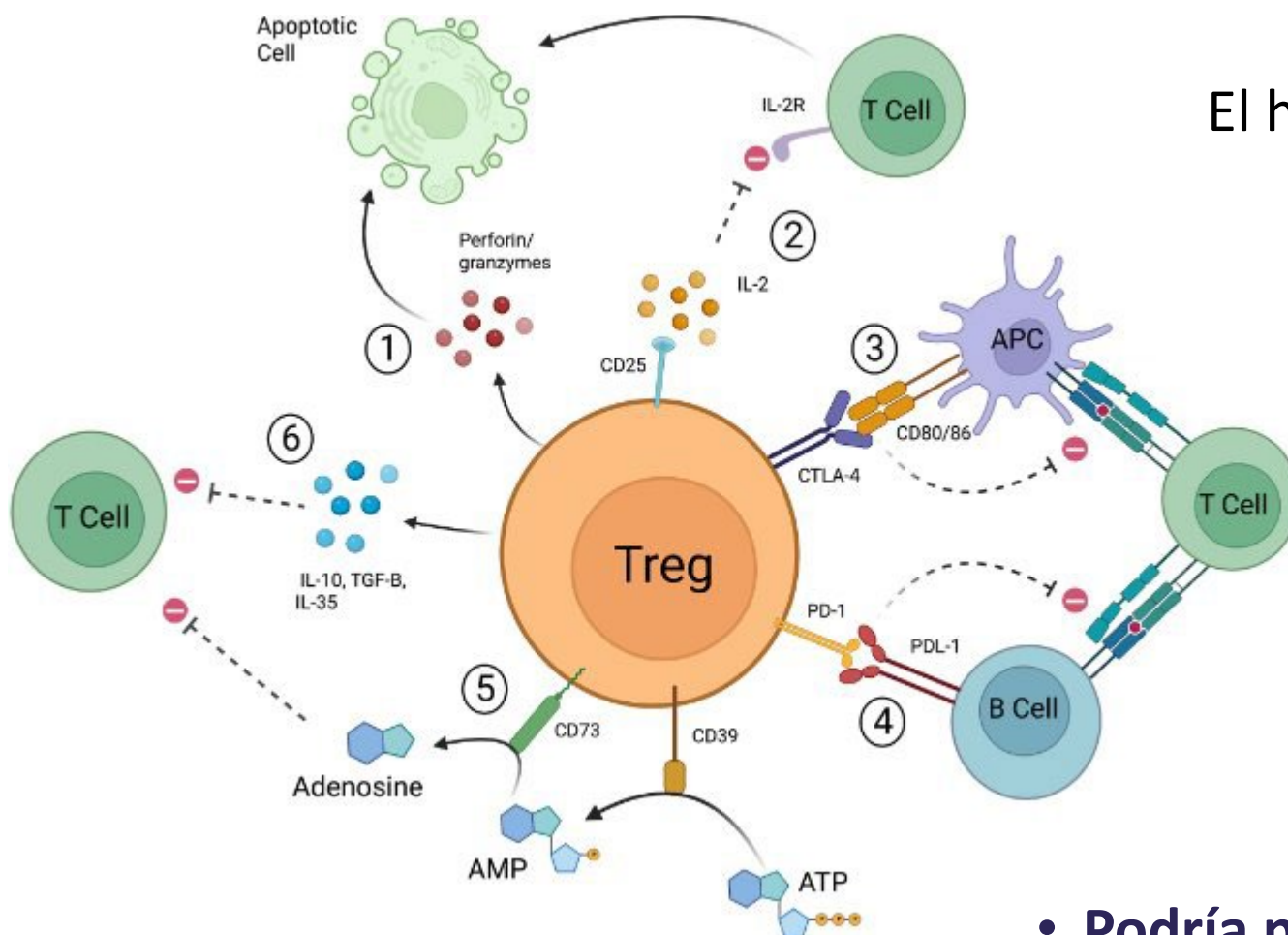


FIGURA 1 Mecanismos por los cuales los Tregs funcionan para suprimir las respuestas proinflamatorias.

El hígado es un órgano inmuno-privilegiado

**TOLERANCIA  
OPERACIONAL EN TH**



Falta de respuesta inmune contra el injerto en ausencia de medicación inmunosupresora al menos durante **12 meses.**

- Podría prevenir las consecuencias de la IS
- Ahorrar costes del SNS

30% DE LOS PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO PUEDEN  
ALCANZAR LA TOLERANCIA OPERACIONAL

**¿Podemos identificar pacientes  
que puedan desarrollar TO?**



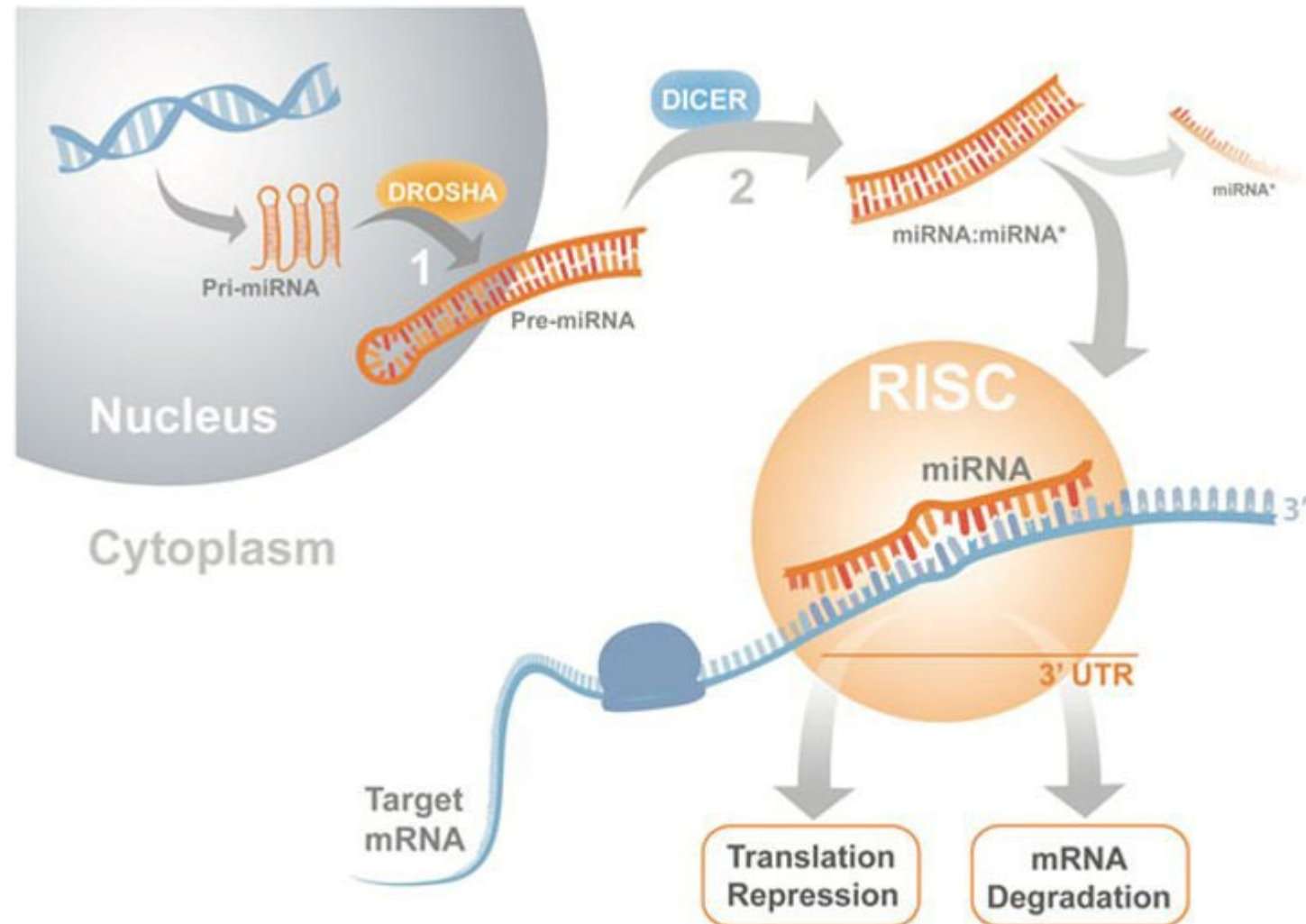
**BIOMARCADORES**

# miRNA

22 nucleótidos de longitud

Modulan la expresión génica

- inhibiendo su traducción o
- induciendo su degradación





Analizar la expresión intrainjerto de miRNA en pacientes con y sin tolerancia operacional tras trasplante hepático, para identificar posibles biomarcadores tisulares de tolerancia.



Examinar los genes y rutas funcionales reguladas por los miRNA para determinar de su implicación los mecanismos de tolerancia operacional.

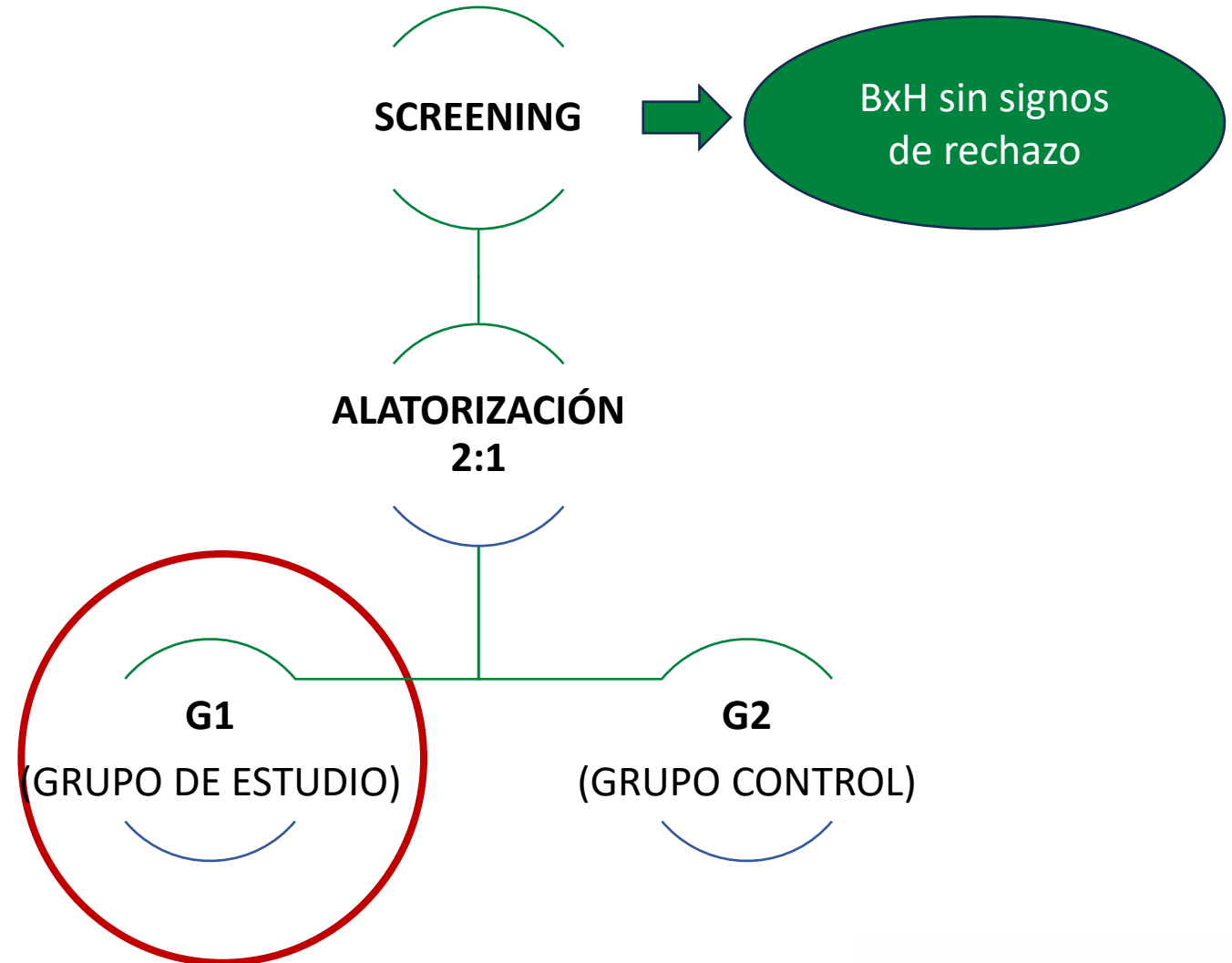
**Ensayo Clínico Multicéntrico, Aleatorizado, Controlado, Prospectivo** para definir la eficacia clínica y los mecanismos de tolerancia tras la retirada de la inmunosupresión en trasplante hepático

**7 Centros Hospitalarios Españoles**

**Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca**  
**Clínica Universidad de Navarra**  
Hospital Universitario Central de Asturias  
Complejo Hospitalario A Coruña  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón  
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa  
Hospital Universitario Río Ortega

## CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- > 18 Años
- TX H >3 Años
- Tratamiento IS
- Transaminasas y FA normal <1 año
- No enfermedad autoinmune
- Biopsia hepática normal
- No rechazo
- No virus C ni B





Introducción

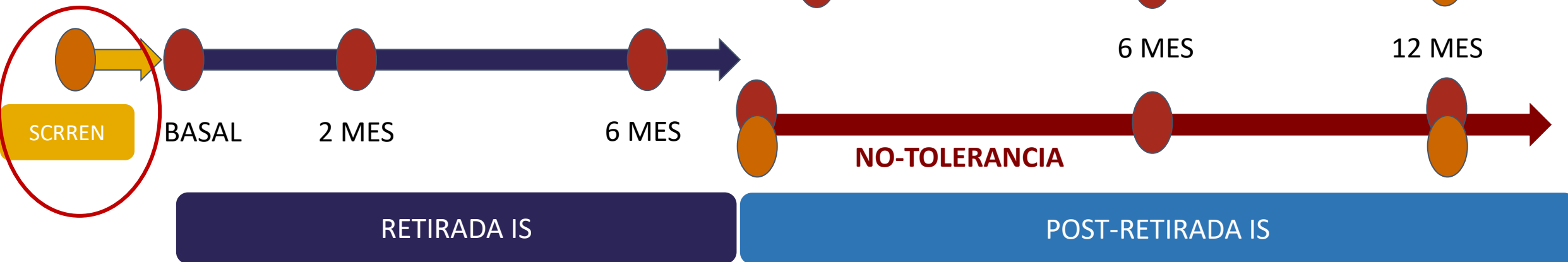
Objetivo

Métodos

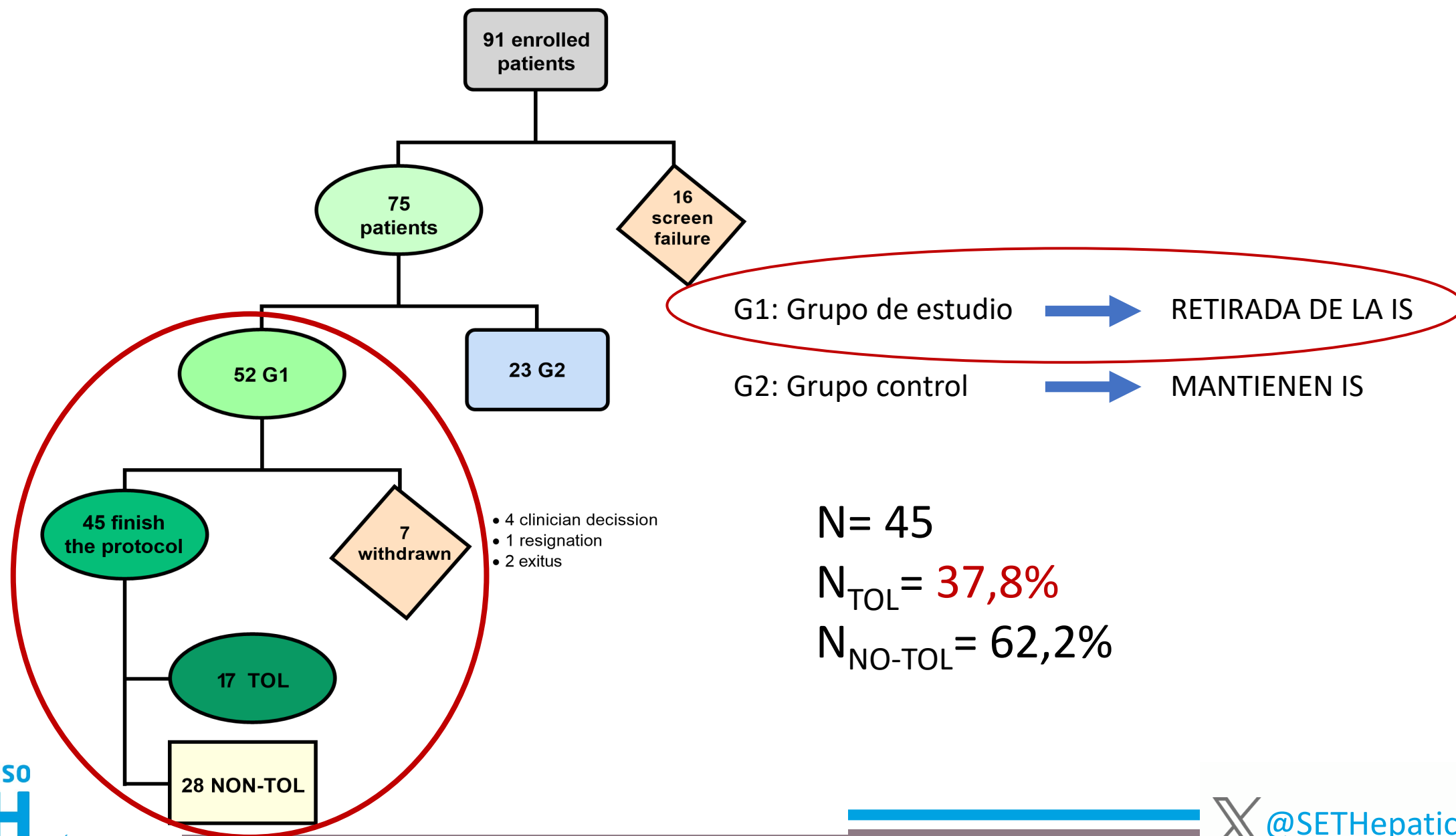
Resultados

Conclusiones

 SANGRE PERIFÉRICA  TEJIDO



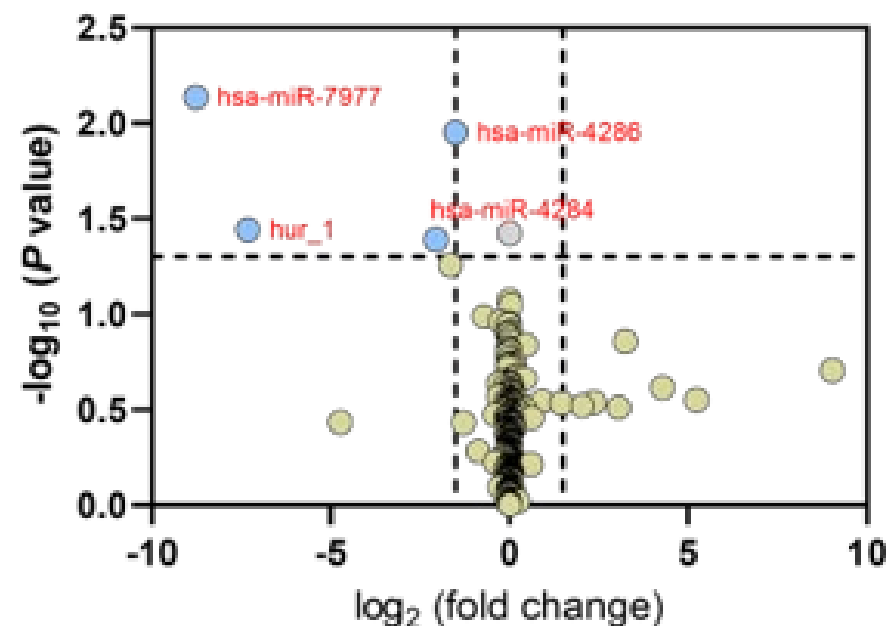
| Introducción                                | Objetivo | Métodos                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Resultados | Conclusiones |
|---------------------------------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------------|
| BIÓPSIAS DE TEJIDO HEPÁTICO                 | ➔        | Fijaron en contenedores de tejido PaxGene. El ARN total se extrajo de 5 cortes de bloques de tejido hepático incluidos en parafina utilizando el kit miRNeasy FFPE                                                                                                                          |            |              |
| ANÁLISIS DE MICROARRAY                      | ➔        | MicroarrayAgilent SurePrint G3 Human miRNA Release 21.0, v3 8x60K<br>Validado por qPCR                                                                                                                                                                                                      |            |              |
| GENES DIANA                                 | ➔        | software miRDB ( <a href="http://mirdb.org/miRDB">http://mirdb.org/miRDB</a> ) y Target Scan Human ( <a href="https://www.targetscan.org">https://www.targetscan.org</a> ).                                                                                                                 |            |              |
| ENRIQUECIMIENTO                             | ➔        | Análisis de <b>Gen Ontology (GO)</b> y los análisis de enriquecimiento de rutas de la <b>Enciclopedia de Kyoto de Genes y Genomas (KEGG)</b> se realizaron mediante el paquete clusterProfiler en el software RStudio                                                                       |            |              |
| ANÁLISIS ESTADÍSTICO<br>GRUPOS TOL Y NO.TOL | ➔        | <div> <b>DESCRIPTIVA</b><br/>           MEDIA ± DS //MEDIANA (rango)<br/>           T-tes o U de Mann-Whitney         </div> <div> <b>ANÁLISIS</b><br/>           ANOVA unidireccional (p &lt; 0,05)<br/>           Análisis post hoc de Tukey HSD<br/>           Corrección         </div> |            |              |



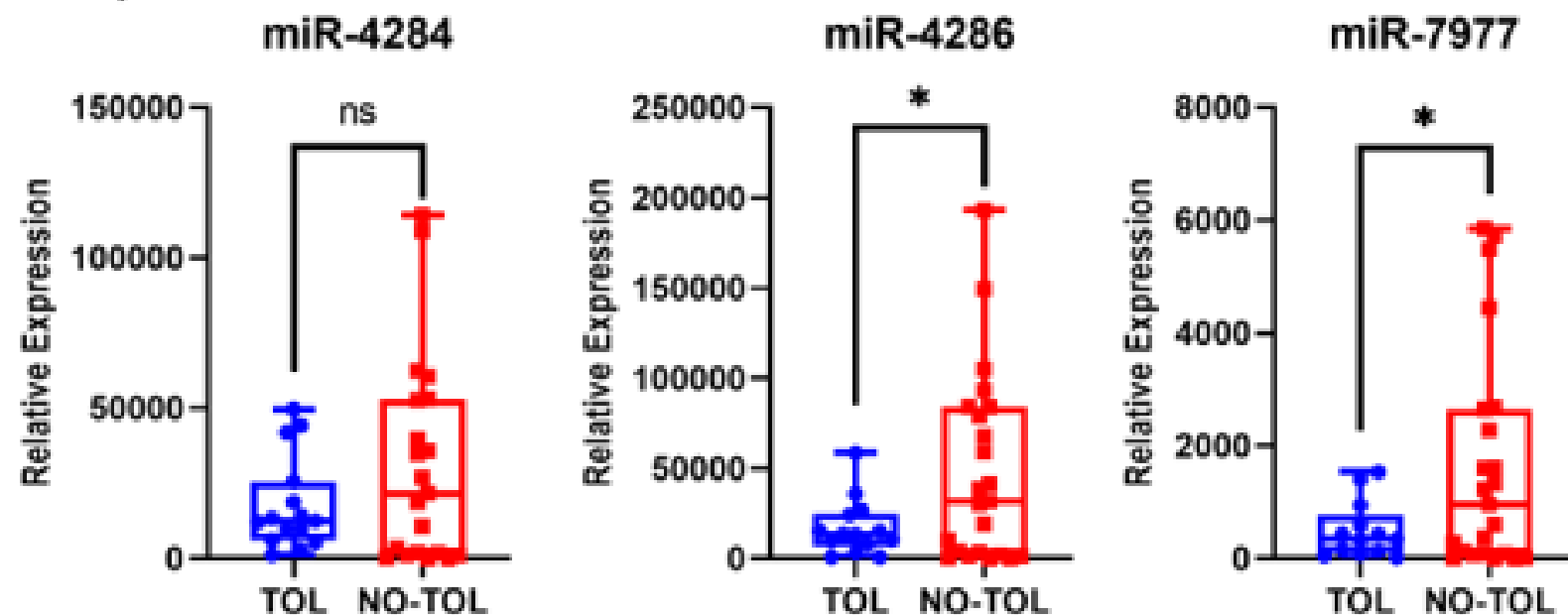
| Introducción | Objetivo | Métodos | Resultados | Conclusiones |
|--------------|----------|---------|------------|--------------|
|--------------|----------|---------|------------|--------------|

| Characteristic                                           | Tolerant (n = 17) | Non-Tolerant (n = 28) | P-value |
|----------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------|---------|
| Age [median (range)]                                     | 65 (47-75)        | 61.5 (42-73)          | 0.161a  |
| Age at transplantation [median (range)]                  | 55 (41-69)        | 52.5 (22-69)          | 0.754a  |
| Months from transplant to weaning start [median (range)] | 128 (38-233)      | 81.5 (37-260)         | 0.094a  |
| <b>**Gender (n; %) **</b>                                |                   |                       | 0.809b  |
| Male                                                     | 15 (88%)          | 24 (86%)              |         |
| Female                                                   | 2 (12%)           | 4 (14%)               |         |
| <b>**Co-morbid medical problems (n; %) **</b>            |                   |                       |         |
| Diabetes                                                 | 7 (41%)           | 15 (54%)              | 0.420b  |
| Hypertension                                             | 13 (76%)          | 23 (82%)              | 0.645b  |
| Cardiovascular pathology                                 | 1 (6%)            | 8 (29%)               | 0.065b  |
| Renal dysfunction                                        | 6 (35%)           | 9 (32%)               | 0.718b  |
| <b>**Diseases (n; %) **</b>                              |                   |                       |         |
| Alcoholic cirrhosis                                      | 6 (35%)           | 11 (39%)              | 0.789b  |
| Alcoholic cirrhosis + HCC                                | 1 (6%)            | 4 (14%)               | 0.384b  |
| HCV cirrhosis                                            | 4 (24%)           | 6 (21%)               | 0.786b  |
| HCV cirrhosis + HCC                                      | 5 (29%)           | 2 (7%)                | 0.086b  |
| Other                                                    | 1 (6%)            | 5 (17%)               | 0.252b  |
| Basal LFTs [median (range)]                              |                   |                       |         |
| ALT (U/L)                                                | 19 (12-25)        | 17 (5-46)             | 0.532a  |
| ALP (U/L)                                                | 68 (35-98)        | 66 (45-125)           | 0.757a  |
| Total Bilirubin (mg/dL)                                  | 0.5 (0.2-2.66)    | 0.57 (0.19-1.89)      | 0.836a  |
| INR                                                      | 1.01 (0.9-1.2)    | 1.01 (0.95-1.3)       | 0.592a  |
| <b>**Main IS-drug (n; %) **</b>                          |                   |                       |         |
| Cyclosporine A                                           | 1 (6%)            | 0                     | 0.194b  |
| Tacrolimus                                               | 6 (35%)           | 9 (32%)               | 0.848b  |
| Tacrolimus + MMF                                         | 8 (47%)           | 18 (64%)              | 0.257b  |
| MMF                                                      | 3 (18%)           | 1 (4%)                | 0.108b  |
| Basal Tacrolimus concentration (ng/ml) [median (range)]  |                   |                       |         |
| Tacrolimus                                               | 2.4 (1-4.5)       | 4.5 (2-6.5)           | 0.033a  |
| Tacrolimus + MMF                                         | 2.4 (1.3-6.8)     | 3.4 (0.6-6)           | 0.453a  |

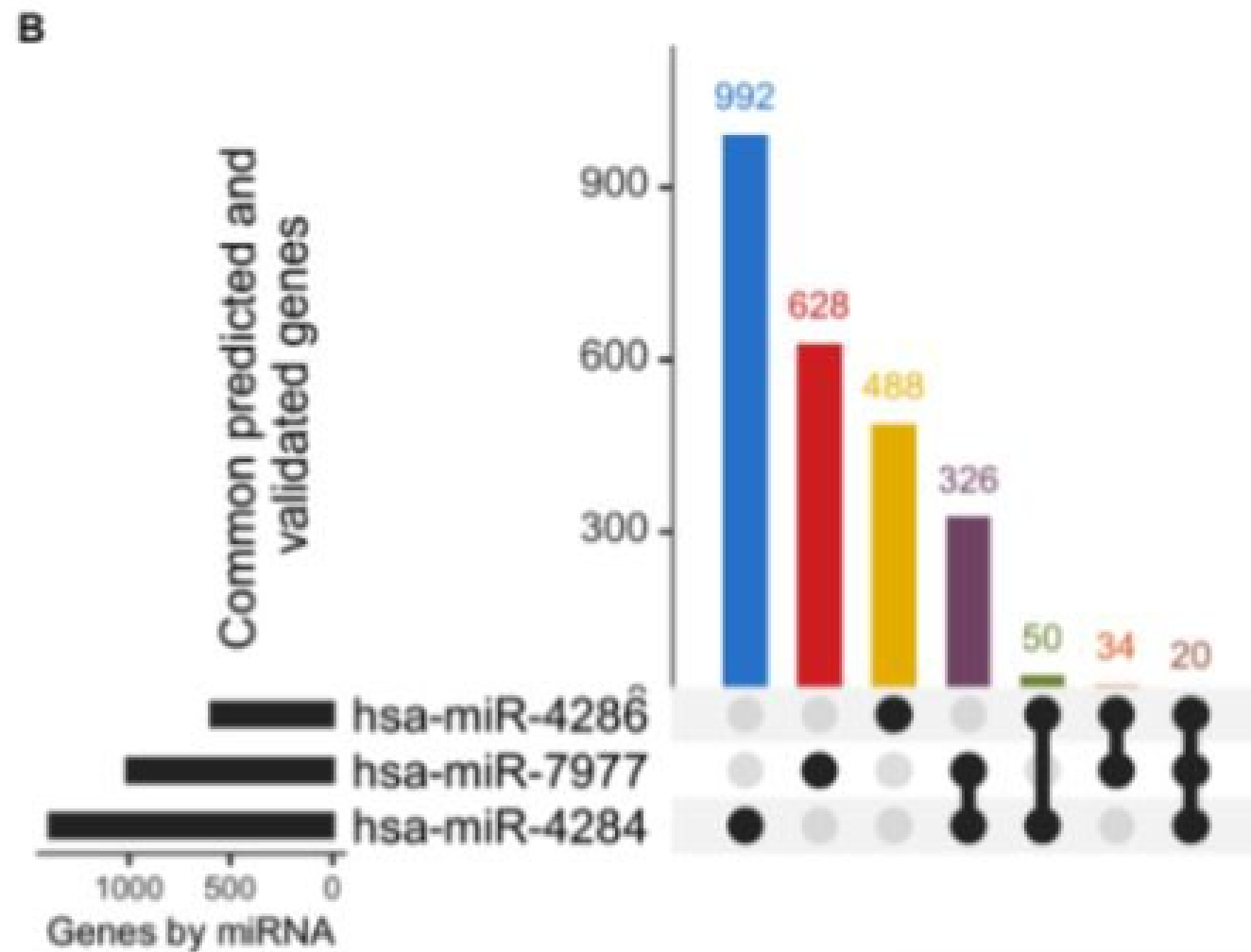
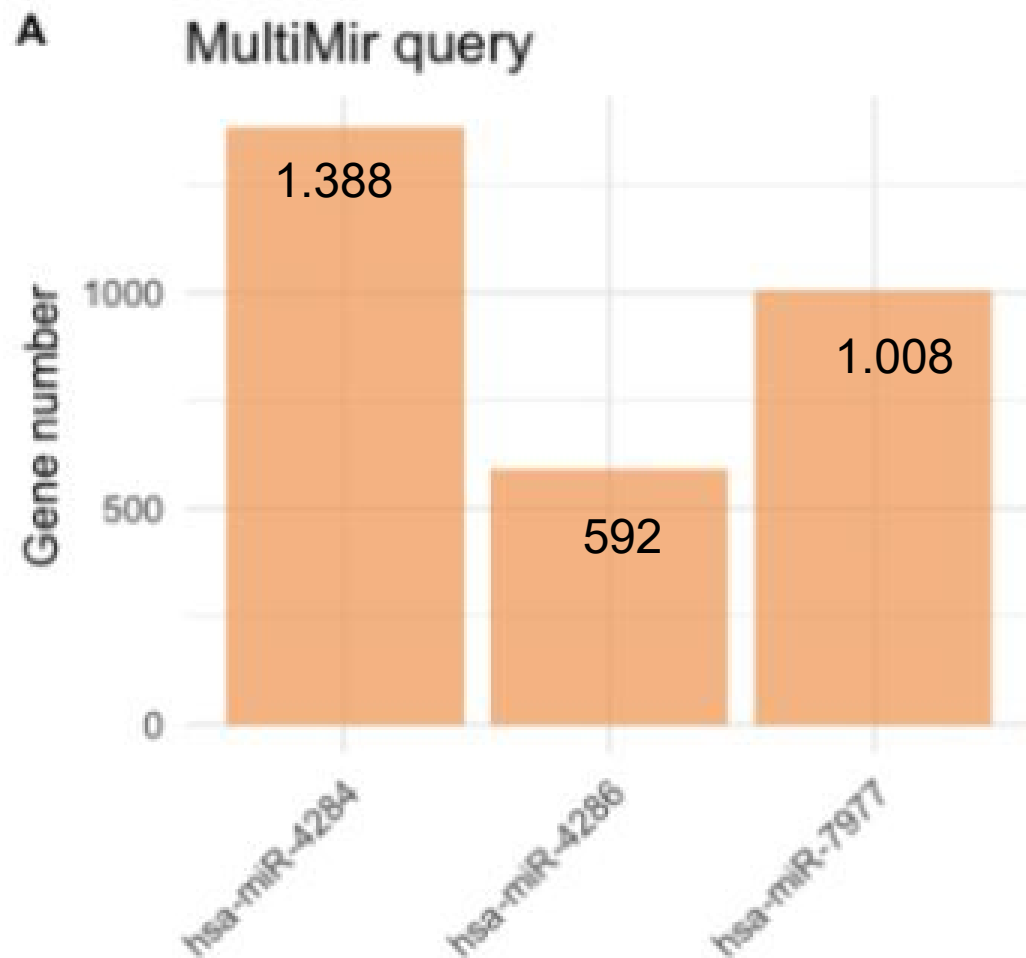
a) Intrahepatic miRNAs



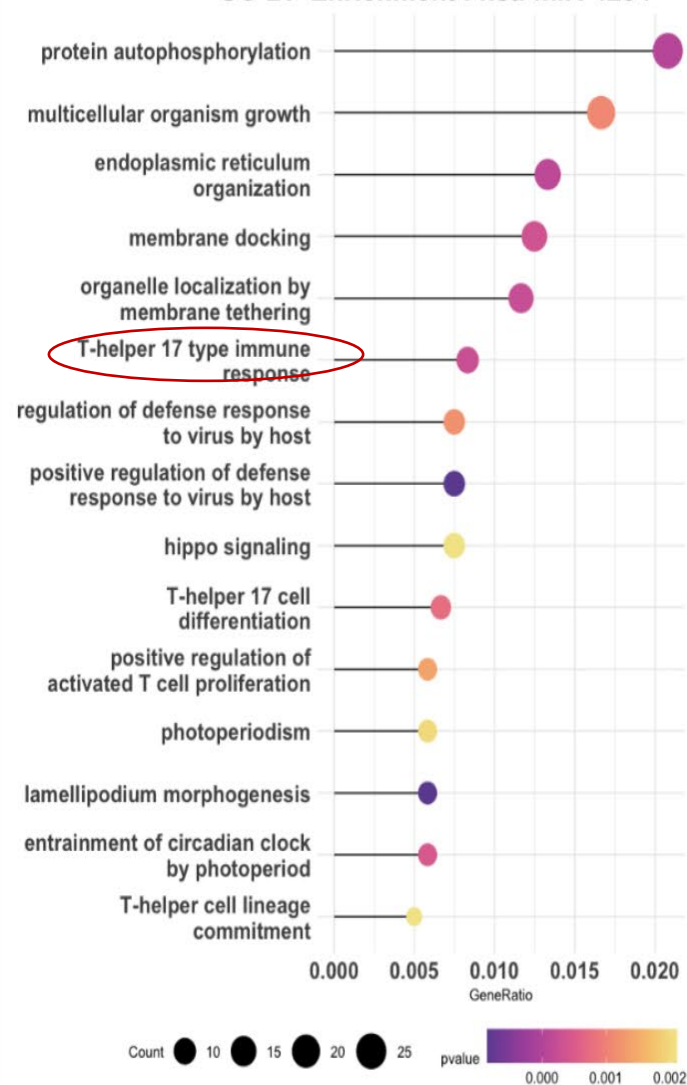
b)



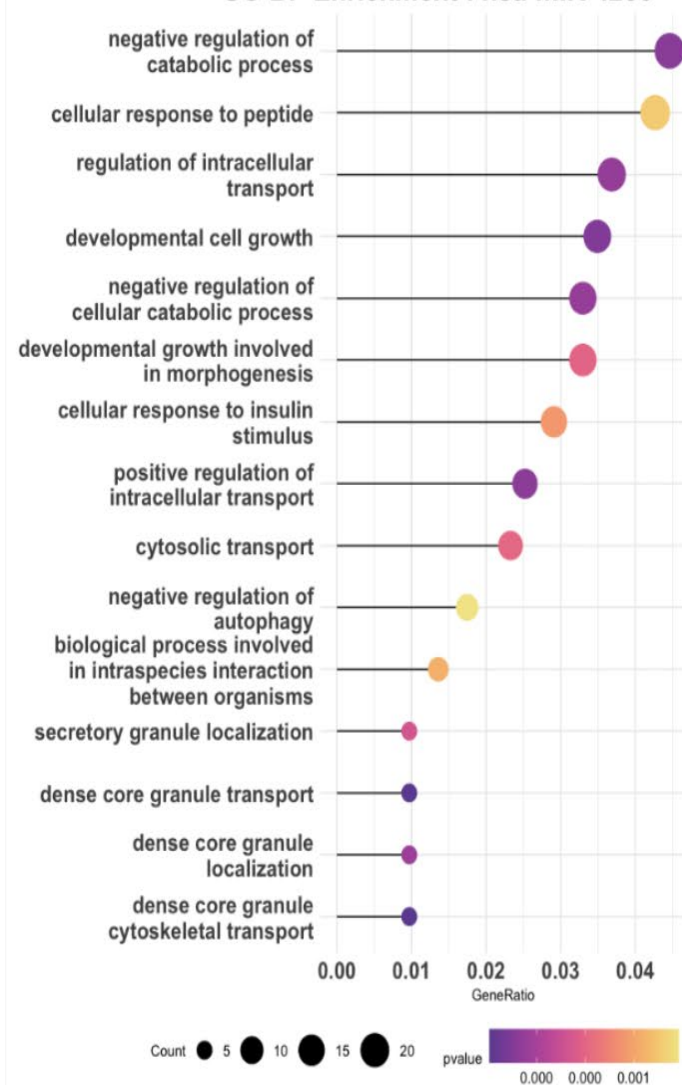
| miRNA        | Log <sub>2</sub> Fold Change | P value | Accession number | Chromosome Location           | Mature sequence    |
|--------------|------------------------------|---------|------------------|-------------------------------|--------------------|
| hsa-mir-4284 | -2.05                        | 0.0407  | MIMAT0016915     | chr7: 73711317-73711397 [+]   | GGGCUCACAUCACCCCAU |
| hsa-miR-4286 | -1.51                        | 0.0111  | MIMAT0016916     | chr8: 10666978-10667070 [+]   | ACCCACUCCUGGUACC   |
| hsa-miR-7977 | -8.77                        | 0.0073  | MIMAT0031180     | chr3: 176515103-176515151 [+] | UUCCCAGCCAACGCACCA |



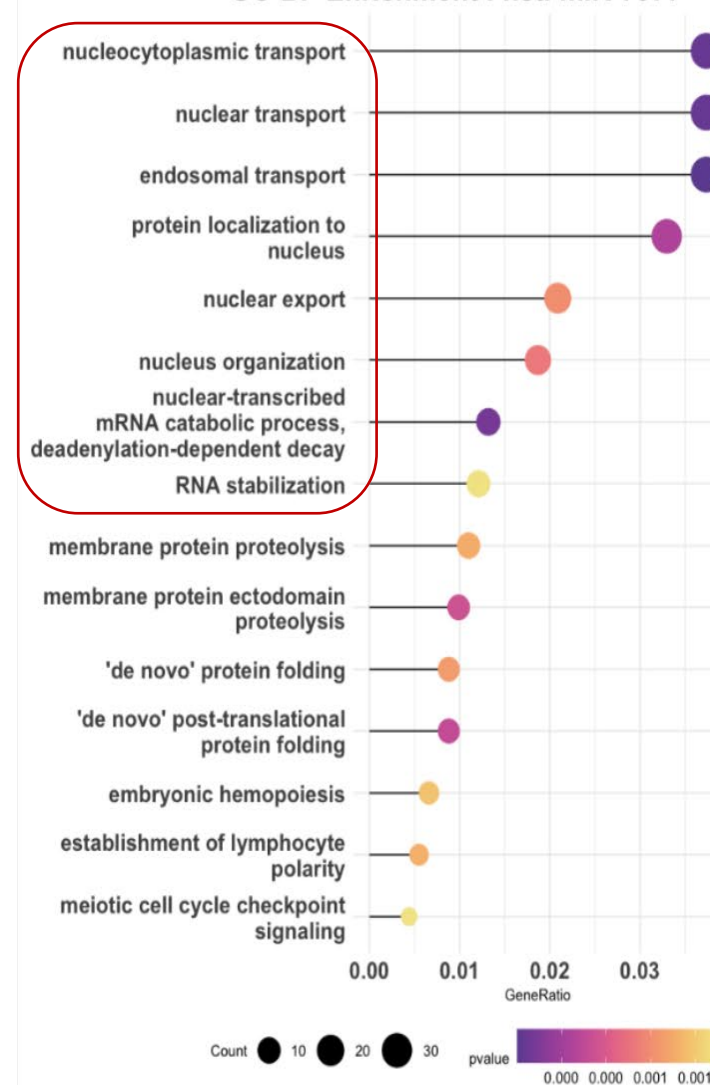
GO BP Enrichment : hsa-miR-4284



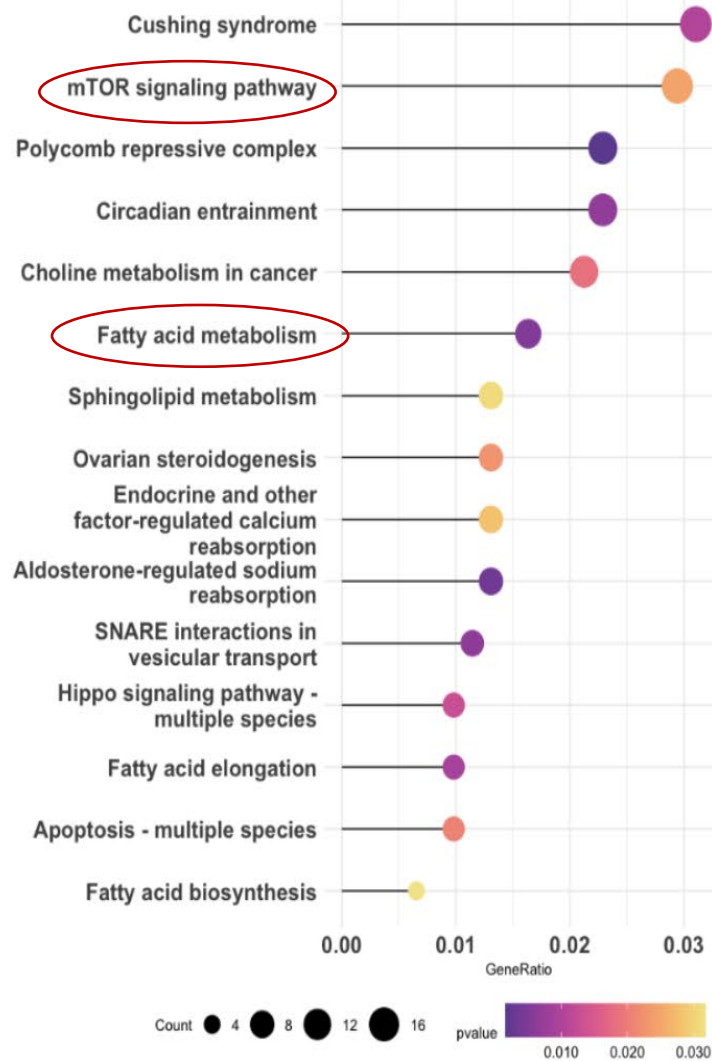
GO BP Enrichment : hsa-miR-4286



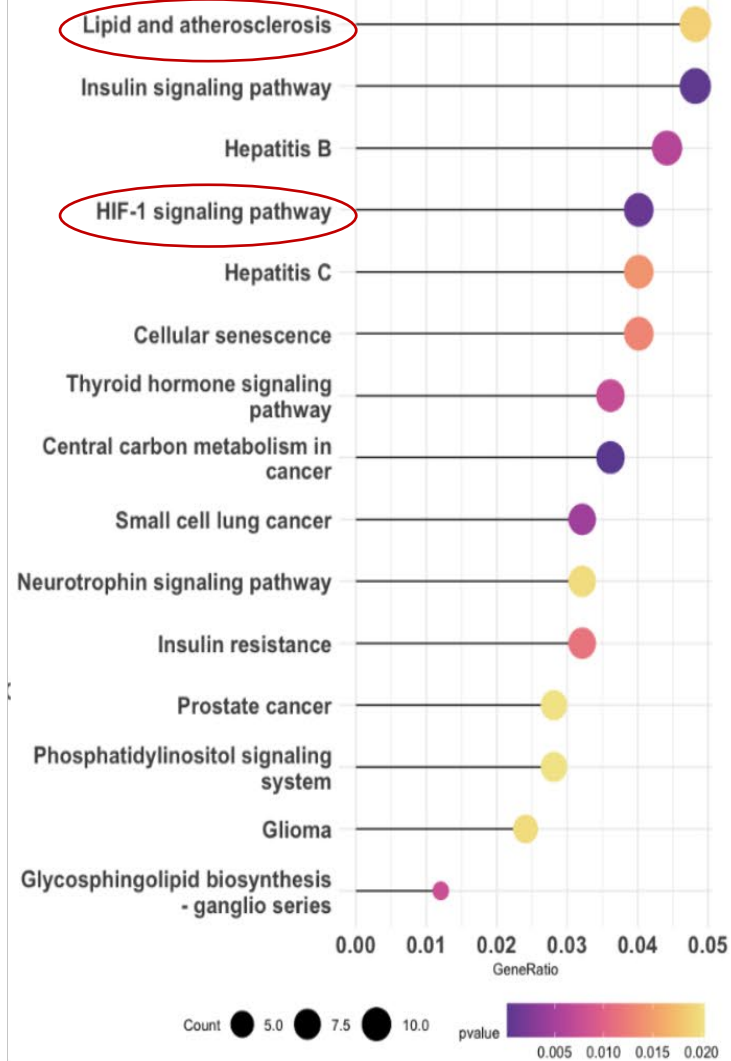
GO BP Enrichment : hsa-miR-7977



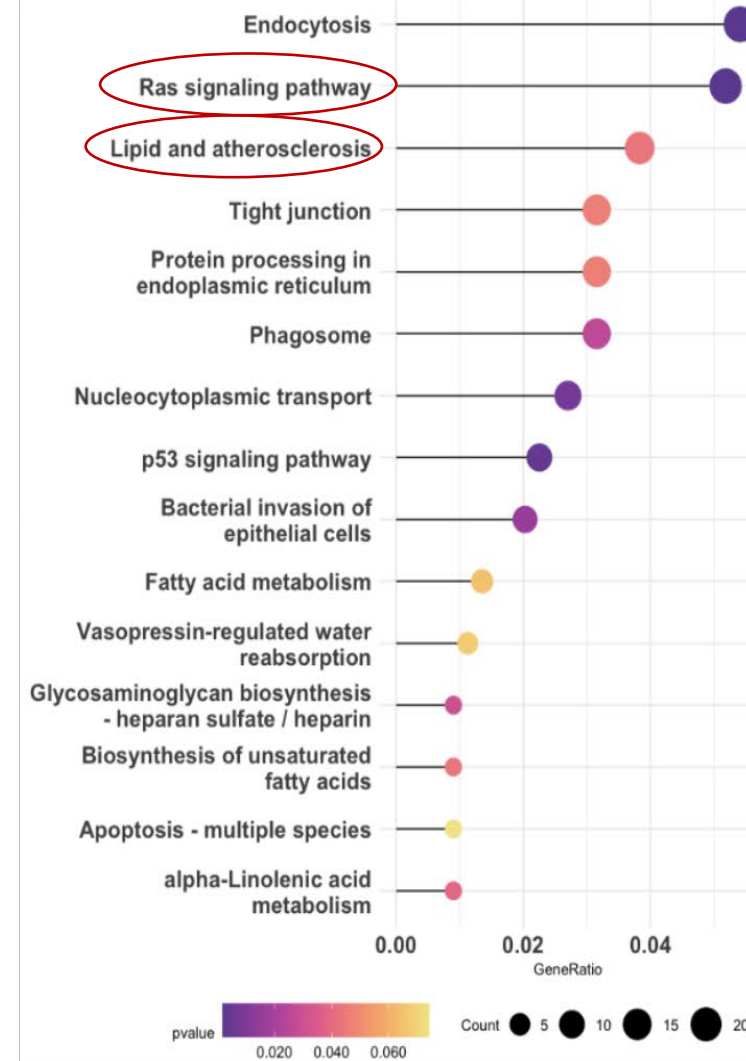
## KEGG Enrichment : hsa-miR-4284



## KEGG Enrichment : hsa-miR-4286

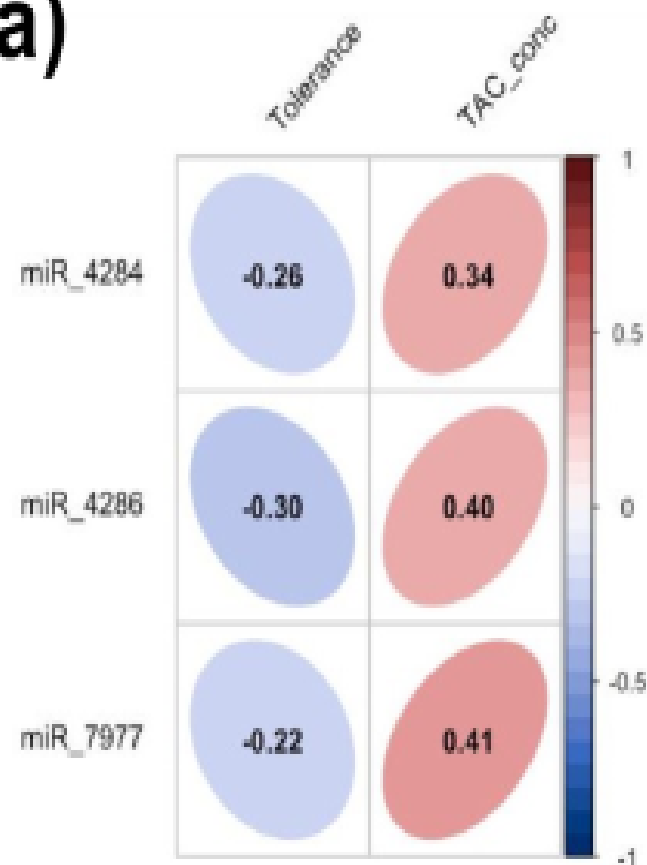


## KEGG Enrichment : hsa-miR-7977

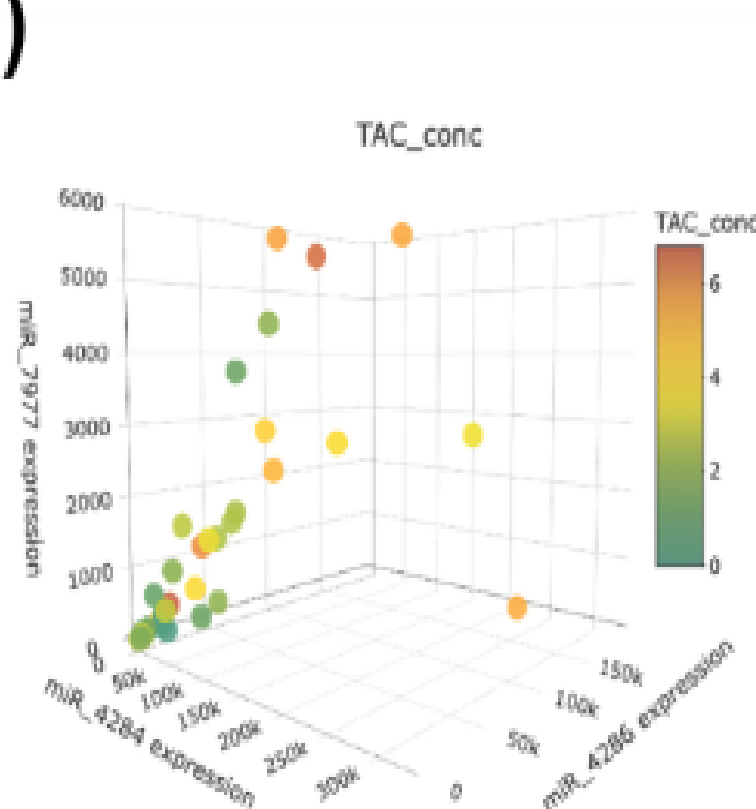




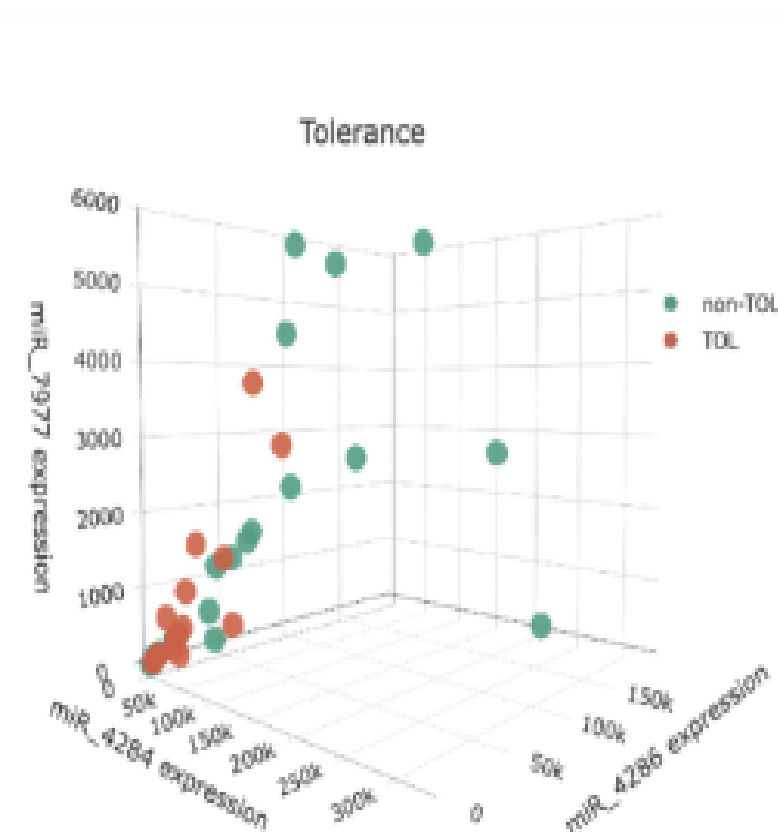
a)



b)



c)





Este ha sido el primer estudio que ha examinado la expresión diferencial de miRNAs a nivel de tejido hepático en la tolerancia al trasplante de hígado humano proporcionar información más localizada sobre los procesos inmunitarios dentro del propio injerto.



Los miRNA, *miR-4284*, *miR-4286*, y *miR-7977* parecen regular procesos biológicos clave, incluidas las respuestas inmunitarias Th-17, la proliferación de células T, el transporte intracelular y varias vías metabólicas como la señalización de mTOR, el metabolismo de los ácidos grasos, la señalización de HIF-1 y la apoptosis.



Observamos una correlación positiva entre las concentraciones basales de tacrolimus y los niveles de expresión de *miR-4284*, *miR-4286*, y *miR-7977* en pacientes no TOL. Esta relación entre los miRNAs y las concentraciones de tacrolimus podría tener implicaciones importantes para la TO.



Nuestros hallazgos sugieren que *miR-4284*, *miR-4286* y *miR-7977* pueden servir como biomarcadores de tolerancia en LT, destacando su potencial como dianas terapéuticas para estrategias personalizadas. Aunque se requiere más investigación para validar estos resultados en cohortes más grandes y explorar sus roles mecanicistas en la OT.

Gloria López-Díaz<sup>1†</sup>, María Isabel Sánchez-Lorencio<sup>2†</sup>, Fernando Lucas-Ruiz<sup>2†</sup>, María Magdalena de la Torre<sup>2</sup>,  
Belén García-Bueno<sup>2</sup>, Mercedes Iñarrairaegui<sup>3</sup>, María Luisa González-Diéguez<sup>4</sup>, Valle Cadahía<sup>4</sup>, Alejandra Otero-  
Ferreiro<sup>5</sup>, María Ángeles Vázquez-Millán<sup>5</sup>, Mario Romero-Cristóbal<sup>6</sup>, Magdalena Salcedo<sup>6</sup>, Sara Lorente-Pérez<sup>7</sup>,  
Gloria Sánchez-Antolín<sup>8</sup>, Jesús de la Peña<sup>9</sup>, Pablo Ramírez<sup>10</sup>,

**Alberto Baroja-Mazo<sup>2†\*</sup>, José I. Herrero<sup>3†</sup> and José A. Pons<sup>1,11†\*</sup>**