



72 - EFECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA VACUNACIÓN CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Irene Soletó¹, Alicia C. Marín¹, Irene Mora¹, Jose Ramón Villagrasa², Montse Baldan-Martín¹, Cristina Ramirez¹, David Bernardo³, Maria Chaparro¹ y Javier P. Gisbert¹

¹Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-Princesa), Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid. ²Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid. ³Mucosal Immunology Lab, Unidad de Excelencia Instituto de Biomedicina y Genética Molecular (IBGM, Universidad de Valladolid-CISC), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Madrid.

Resumen

Introducción: La tasa de respuesta a la vacunación contra el virus de la hepatitis B (VHB) en la población general es superior al 90%; sin embargo, esta tasa es menor en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). La EII es una enfermedad multifactorial, por lo que es importante estudiar las subpoblaciones celulares involucradas en el fracaso de la vacuna contra el VHB. Nuestro objetivo fue evaluar las diferencias entre el sistema inmunitario circulante de los respondedores y no respondedores a dicha vacuna.

Métodos: Se incluyeron 19 pacientes con EII vacunados por primera vez contra el VHB. Los pacientes se dividieron, según su respuesta a la vacunación después de tres dosis de la vacuna, en respondedores (\geq 100 anti-VHB) y no respondedores ($<$ 100 anti-VHB). Se obtuvo sangre antes y después de la vacunación para caracterizar las diferentes subpoblaciones inmunes por citometría de flujo. Los datos se analizaron manualmente y mediante abordajes de reducción de la dimensionalidad (UMAP y FlowSOM).

Resultados: Los no respondedores a la vacuna mostraron menos células T *naïve* que los respondedores; estos últimos tenían menos Th2 de memoria y CD4 antes de la vacunación. El análisis de datos no sesgados identificó 22 metaclústeres de células T (fig. 1). Las células dendríticas convencionales de tipo 2 aumentaron después de la vacuna en ambos grupos y se identificaron 11 submetaclústeres (fig. 2). Las células B y los plasmablastos IgG aumentaron después de la vacunación en los respondedores, mientras que los plasmablastos IgM aumentaron en los no respondedores. El análisis de datos de alta dimensión identificó 26 subpoblaciones (fig. 3).

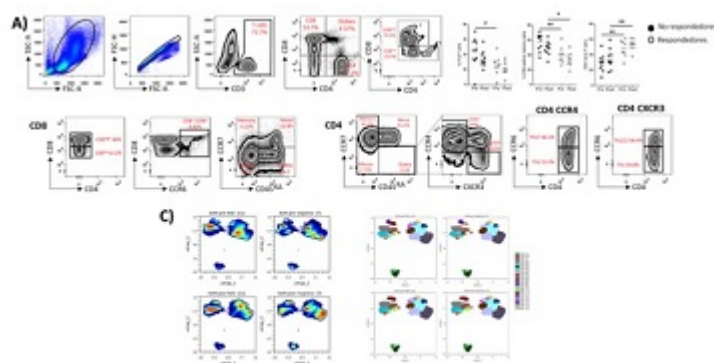


Figura 1. Caracterización de los subconjuntos de células T circulantes. (A) Las poblaciones de células T se identificaron mediante citometría de flujo dentro de células mononucleares de sangre periférica singlete como células CD3⁺. Las células CD3⁺ CD4⁺ se caracterizaron adicionalmente según la expresión de CCR3, CCR7 y CD45. Las células CD3⁺ CD8⁺ se caracterizaron adicionalmente basándose en la expresión de CCR7, CD45RA, CCR4 y CXCR3. (B) Se determinó el linaje de los diferentes subpoblaciones de células T de respondedores y no respondedores. Los resultados se expresan como porcentaje de células positivas (%). Se aplicó ANOVA unidireccional de medidas repetidas con corrección post hoc Tukey para comparar el porcentaje de los diferentes subconjuntos entre respondedores y no respondedores antes y después de la vacunación. (C) Análisis de datos de alta dimensión en células CD3⁺ de siete u once donantes que muestran grupos de FlowSOM proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manual y automatizado. El gráfico superpuesto muestra eventos concatenados de las 11 muestras, mientras que los gráficos de densidad muestran diferencias en la distribución de la población. Como era de esperar, con una combinación de datos de alta resolución y alta dimensión, varios clusters contienen eventos que no se identifican con el análisis clásico. Los valores de $p < 0.05$ se consideran significativos (* < 0.05 , ** < 0.01).

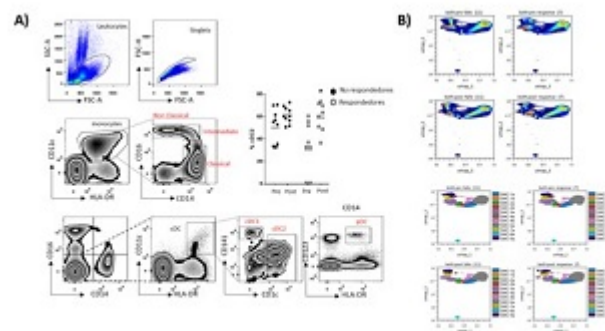


Figura 2. Caracterización de monocitos circulatorios y subconjuntos de células dendríticas. (A) Las poblaciones de monocitos se identificaron mediante citometría de flujo dentro de células mononucleares de sangre periférica singlete como células CD11c⁺HLA-DR⁺. Dentro de la gate CD11c⁺HLA-DR⁺, los monocitos clásicos se definieron como CD14⁺CD16⁻, y los intermedios se definieron como CD16⁺. (B) Análisis de datos de alta dimensión en células M1A-DR⁺ de siete u once pacientes que muestran como gráficos FlowSOM proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manual y automatizado. El gráfico superpuesto muestra eventos concatenados de las 11 muestras, mientras que los gráficos de densidad muestran diferencias en la distribución de la población. Como era de esperar, con una combinación de datos de alta resolución y alta dimensión, varios clusters contienen eventos que no se identifican con el análisis clásico. Los valores de $p < 0.05$ se consideran significativos (* < 0.05).

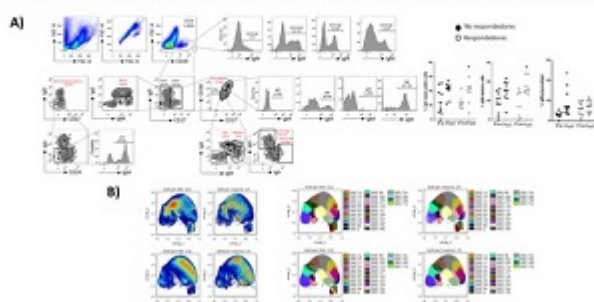


Figura 3. Caracterización de los subconjuntos de células B circulantes. (A) Las poblaciones de células B se identificaron mediante citometría de flujo dentro de células mononucleares de sangre periférica singlete como células CD19⁺. Las células CD19⁺ se seleccionaron adicionalmente como IgD⁺CD27⁺, el subconjunto IgD⁺CD27⁺ se dividió en plasmablastos, células B de la zona marginal, células B de memoria y poblaciones de cambio de clase. Cada población se caracterizó además según la expresión de los diferentes isotipos de inmunoglobulinas. Los resultados se expresan como porcentaje de células positivas (%). Se aplicó ANOVA unidireccional de medidas repetidas con corrección post hoc para comparar el porcentaje de los diferentes subconjuntos entre respondedores y no respondedores y antes y después de la vacunación. (B) Análisis de datos de alta dimensión en células M1A-DR⁺ de siete u once pacientes que muestran grupos de FlowSOM proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manual y automatizado. El gráfico superpuesto muestra eventos concatenados de las 11 muestras, mientras que los gráficos de densidad muestran diferencias en la distribución de la población. Como era de esperar, con una combinación de datos de alta resolución y alta dimensión, varios clusters contienen eventos que evaden una definición clásica. Los valores de $p < 0.05$ se consideran significativos (* < 0.05).

Conclusiones: La proporción de subpoblaciones de células T puede constituir un marcador predictor de la respuesta a la vacuna de la VHB en pacientes con EII, aunque más estudios son necesarios para su validación. El análisis de los datos de alta dimensión muestra varios grupos que no son identificables mediante el análisis clásico.