



---

**Universidad de Valladolid**

**Facultad de Medicina**

# **BIOMARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS PRONÓSTICOS DEL POSTRASPLANTE**

AUTORA:

**ELENA MEZQUITA GARCÍA**

Curso: **2019-2020**

TUTORES:

**Prof. Dra. CORALINA M. BERNUY GUEVARA**

Laboratorio de Macrodatos, Farmacología, Universidad de Valladolid

**Prof. Dr. FRANCISCO M. HERRERA GÓMEZ**

Departamento de Anatomía y Radiología. Facultad de Medicina. Universidad  
de Valladolid

## **ÍNDICE**

|  |    |
|--|----|
| <b>RESUMEN</b> .....                                   | 3  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....                              | 4  |
| OBJETIVOS.....   | 5  |
| <b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....                        | 6  |
| <b>RESULTADOS</b> .....                                | 9  |
| ATG Y CÁNCER.....                                      | 10 |
| ODDS RATIO Y VALOR PREDICTIVO DEL FENOTIPO INMUNE..... | 11 |
| RELACIÓN FENOTIPO INMUNE CON EL TEJIDO CANCEROSO.....  | 14 |
| INMUNOSUPRESORES, INMUNOFENOTIPO Y CÁNCER.....         | 14 |
| ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....                              | 15 |
| <b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b> .....                  | 18 |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....                              | 19 |

## RESUMEN

**Introducción y objetivos:** los pacientes trasplantados renales reciben tratamiento inmunosupresor para evitar el rechazo del órgano; se sabe que el riesgo de padecer cáncer es de 2 a 6 veces mayor que en la población general, siendo el cáncer de piel no melanoma el que requiere de una consideración especial.

El objetivo principal de este trabajo es saber si existe relación entre los niveles de células TREG con la posterior aparición de carcinoma de células escamosas (CCE), para poder llevar a cabo medidas de prevención y diagnóstico precoz del mismo si fuesen necesarias.

**Material y métodos:** se realizó una búsqueda sistemática en PubMed, sin restricción de fecha e idioma. Se evaluó la heterogeneidad de los resultados obtenidos usando la versión 5.3 del software RevMan Review manager (Cochrane Collaboration).

**Resultados:** las células FOXP3 CD4<sup>+</sup> y CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup> elevadas y las células T CD8 de memoria central bajas están relacionadas con el desarrollo del CCE; no se han encontrado diferencias en las células NK. Se obtuvieron resultados estadísticamente significativos que evidencian que un número elevado de FOXP3 está asociado con el carcinoma de células escamosas siendo además el valor más útil para predecir el desarrollo agresivo del mismo.

**Conclusiones:** aunque haya que confirmarlo con estudios más amplios, este meta-análisis demuestra que podría emplearse el perfil inmunitario de estos pacientes para estratificar el riesgo de desarrollar cáncer y así beneficiarse de un mayor seguimiento preventivo dermatológico y manipulación del tratamiento inmunosupresor recibido.

**Palabras clave:** “trasplante renal”, “carcinoma de células escamosas”, “TREG”, “FOXP3”.

## INTRODUCCIÓN

El trasplante renal es admitido como el mayor avance de la medicina moderna por proporcionar alta calidad de vida en pacientes con fallo renal irreversible, en todo el mundo. Supera a la hemodiálisis y a la diálisis peritoneal con una supervivencia igual o mayor. Es por tanto de elección siempre y cuando no esté contraindicado (1).

Se reconoce que el trasplante de riñón fue el primer trasplante de órganos realizado con éxito. Se llevó a cabo en el hospital Peter Bent Brigham en diciembre de 1954, entre gemelos idénticos. Este hecho anunció una nueva era para los pacientes con patología renal terminal (2).

Los pacientes trasplantados necesitan recibir tratamiento inmunosupresor para evitar el rechazo del órgano. Este tratamiento se basa normalmente en la combinación de un fármaco de cada grupo: glucocorticoide con un anticalcineurínico, ciclosporina o tacrolimus, además de un inhibidor de la síntesis de nucleótidos, como el micofenolato-mofetil. Este tratamiento forma parte del éxito en cuanto a evitar el rechazo del injerto, principalmente en la fase de inducción. En la fase de mantenimiento se pretende conseguir un buen funcionamiento del injerto, alcanzando la máxima calidad de vida y supervivencia del trasplantado (3) (4).

Se sabe que los receptores de trasplante renal tienen un riesgo de entre 2,4 y 6,5 veces mayor comparado con la población general de padecer cáncer. El cáncer de células escamosas requiere de una consideración especial, y es precisamente uno de los tumores en el que las medidas de prevención, cribado y diagnóstico precoz son las herramientas más importantes para su control (5) (6).

El cáncer de piel no melanoma es el más frecuente. Además es mucho más agresivo comparándolo con el que padece la población general. El 52% de los receptores de raza blanca desarrollan cáncer de piel después de 20 años del trasplante. El intervalo de aparición del cáncer y el momento del trasplante se ha estimado en 3 años en pacientes mayores de 60 años. El tipo histológico más frecuente es el carcinoma epidermoide de células escamosas (80%) (7). Es muy importante el cribado por el dermatólogo antes, durante y después del trasplante renal.

A los pacientes que van a ser trasplantados hay que realizarles una serie de pruebas, entre las que destaca ese cribado o detección precoz del cáncer; ya que es una de las principales causas de muerte entre estos pacientes; tienen más riesgo de

sufrir un cáncer y además tienen peor pronóstico para el mismo grado y etapa, siendo la mortalidad mayor, jugando un papel importante la inmunosupresión (8).

Con las estrategias de detección precoz se espera una reducción tanto de la morbilidad como de la mortalidad asociada al cáncer (9).

## OBJETIVOS

El objetivo primordial de este trabajo es la realización de una revisión sistemática sobre si existe alguna relación entre los niveles de células T reguladoras presentes en pacientes que han recibido un trasplante renal con la posterior aparición de carcinomas, dándole especial relevancia al carcinoma de células escamosas.

Así, se investiga la literatura existente recogida en diferentes artículos científicos que se han ido publicando, para poder llegar a un conjunto de comparaciones y conclusiones que puedan ser útiles en este campo de la Medicina.

En esta revisión sistemática se valorará si un número alto de células T reguladoras (TREG) predice el carcinoma de células escamosas en pacientes que han sido trasplantados de riñón. Se quiere esclarecer si con el fenotipo inmune se pueden identificar a aquellos pacientes con un mayor riesgo de desarrollar carcinoma. Así se podría usar este perfil inmunitario para que los pacientes con mayor riesgo se puedan aprovechar de una terapia preventiva (6) (10).

Otra diferencia que se persigue en esta revisión es investigar si antes y después de la resección del carcinoma los niveles de células inmunitarias varían, así como conocer si están relacionados con la evidencia clínica del tejido canceroso (6).

En cuanto a estas células (TREG), se pretende saber además si un mayor número prevé un mal pronóstico en esta población con cáncer (6).

El principal objetivo de esta revisión sería por lo tanto, poder demostrar si estas células (TREG) están relacionadas con la aparición de carcinoma y si es así, poder monitorizar sus niveles en los pacientes que presenten un mayor riesgo de malignidad y con ello conseguir que se puedan beneficiar de una mejor revisión dermatológica, tratamiento preventivo y posibles manipulaciones de dosis inmunosupresoras.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Esta revisión sistemática se ha realizado desde el mes de diciembre de 2019 al mes de mayo de 2020 gracias a la búsqueda sistemática en PubMed. La búsqueda no se limitó según el año de publicación o según el idioma, ya que es un tema bastante reciente y no se encuentran demasiados artículos o estudios sobre ello.

Se utilizaron una serie de palabras clave como: “trasplante de riñón”, “tolerancia”, “supervivencia”, “donante”, “receptor”, “enfermedad renal crónica”, “FoxP3”, “linfocitos”, “CD”, “inmunosupresión”, “Treg”, “inmunoterapia”, “neoplasia”, “carcinoma”, “carcinoma de células escamosas”.

- En enero se realizó la búsqueda de artículos y no se establecieron filtros como fecha de publicación o idioma. Así se obtuvieron 51 artículos de los que se extrajeron las palabras claves.
- En febrero se estableció la pregunta de investigación: “¿Qué relación hay entre los niveles de FoxP3 en los trasplantados renales con la aparición de neoplasias?”. Así se emplearon dos fórmulas de búsqueda:
  - I. ("Kidney Transplantation"[Mesh] AND "T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh]) AND "Carcinoma, Squamous Cell"[Mesh].
  - II. ("Kidney Transplantation"[Mesh] AND "Carcinoma, Squamous Cell"[Mesh]) AND "Phenotype"[Mesh].
- Con la primera fórmula se obtuvieron 3 artículos y con la segunda fórmula 10. Estos 13 artículos se revisaron para poder estudiar aquellos que según su contenido se aproximaban más a la pregunta de investigación.
- En el mes de marzo, se descartaron aquellos artículos que no cumplían con los criterios de inclusión en el estudio, por lo que finalmente se seleccionaron 3 artículos.

A continuación se explican los criterios de selección, tanto los de inclusión como los de exclusión, que se han tenido en cuenta para la selección de los artículos.

Los criterios de inclusión en este estudio fueron los que siguen: artículos que relacionan el perfil inmunológico de los trasplantados renales con la generación de neoplasias, haciendo hincapié en los carcinomas de células escamosas; y que incluyeran los métodos e instrumentos necesarios para sacar conclusiones sobre aquellos pacientes que se pudieran aprovechar del tratamiento y prevención.

Por otro lado, en cuanto a los criterios de exclusión que se tuvieron en cuenta fueron: artículos que relacionan los polimorfismos de interleucinas concretas con la producción de cáncer en estos pacientes; los artículos que a pesar de recoger información sobre la relación entre el FOXP3 y los carcinomas de células escamosas, que le den una importancia primordial en esta relación a los tratamientos inmunosupresores; los artículos que relacionen la generación de las neoplasias con otras causas como el polimorfismo de la haptoglobina, las células dendríticas derivadas de monocitos o las células madre derivadas de donantes; también aquellos artículos que no podían visualizarse de manera gratuita.

- Finalmente, desde el mes de abril hasta mayo se han realizado las tablas PICO (Tabla 2), así como la propia redacción de los apartados teóricos del trabajo.
- La presentación de los resultados estimados con el correspondiente intervalo de confianza al 95% (95% CI), y la evaluación de la heterogeneidad (I<sup>2</sup>), se calcularon usando la versión 5.3 del software RevMan Review manager (Cochrane Collaboration).

Se realizó la evaluación de sesgos de los tres artículos estudiados. Hay seis áreas importantes a tener en cuenta al evaluar la validez y el sesgo en los estudios de factores pronósticos: la participación, el abandono del estudio, la medición del factor pronóstico, los resultados, los factores confusores y el análisis estadístico y reporte. Así evaluamos la calidad metodológica de los estudios (11). (Tabla 1).

*Tabla 1. Tabla QUIPS.*

| <b>ESTUDIOS</b>     | <b>Participación en el estudio</b> | <b>Deserción en el estudio</b> | <b>Medidas del factor pronóstico</b> | <b>Resultados</b> | <b>Factores confusores</b> | <b>Análisis estadístico y reporte</b> |
|---------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| <b>CARROLL 2010</b> | Moderado                           | Moderado                       | Bajo                                 | Bajo              | Moderado                   | Bajo                                  |
| <b>HOPE 2014</b>    | Moderado                           | Bajo                           | Bajo                                 | Bajo              | Moderado                   | Bajo                                  |
| <b>DUCLoux</b>      | Moderado                           | Bajo                           | Moderado                             | Bajo              | Moderado                   | Bajo                                  |

Tabla 2. Resultados PICO de los artículos estudiados.

| Estudio              | P  | I  | C                                  | O  |
|----------------------|--|--|------------------------------------|--|
| <b>Carroll, 2010</b> | Pacientes trasplantados renales. Más de 5 años después del trasplante (mediana de seguimiento de 340 días)<br>n = 65 pacientes con cá<br>n = 51 pacientes sin cá   | Niveles de TREG elevados: > 35 céls/μl<br>Otros: <100 NK céls/ μl<br>Previo SCC<br>Ratio CD8/FoxP3 | Niveles de TREG bajos: <35 céls/μl | De 65 pacientes con trasplante renal, 23 pacientes presentan nuevo SCC.<br>De 51 pacientes sin trasplante renal, ninguno presentó nuevo SCC. |
| <b>Hope, 2014</b>    | Pacientes trasplantados renales (2 años tx)<br>n total = 116 pacientes<br>n = 65 pacientes con cá (34 actual, 31 pasado)<br>n = 51 pacientes sin cá de los 65, 49 con SCC (mediana de seguimiento de 15 meses) | Niveles de TREG elevados: >16 céls/μl  | Niveles de TREG bajos: <16 céls/μl | De 49 pacientes con trasplante renal e historia de SCC: 37 SCC<br>De los cuales 22 (59%) pacientes presentan nuevo SCC de alto riesgo        |
| <b>Ducloux</b>       | 115 pacientes trasplantados renales  | Niveles de TREG:<br>a) ≤3735 [T1, n=38],<br>b) 3924–15755 [T2, n=39]                               | c) ≥16816 [T3, n=38]               | Cá en 24 pacientes:<br>a) T1: 47,4%<br>b) T2: 12,5%<br>c) T3: 2,7%   |

## RESULTADOS

En el artículo de **Ducloux**, “Función tímica, globulinas anti-timocitos y cáncer después del trasplante renal”, se examinó la función tímica previa al trasplante (niveles de TREG), para saber si predecía la aparición de cáncer después del tratamiento con ATG (12).

Fue un estudio prospectivo, con 115 receptores renales, donde se estudiaron los TREG en sangre periférica medidos cuantitativamente mediante la técnica de PCR. Los receptores del trasplante renal, en este estudio, habían recibido terapia de inducción con ATG; y como tratamiento inmunosupresor de mantenimiento, la ciclosporina y la azatioprina o micofenolato de mofetilo (12).

En el artículo de **Hope**, “El fenotipo inmune puede estar relacionado con el desarrollo de cáncer en receptores de trasplante renal”, se estudia si el fenotipo inmune TREG puede identificar receptores de trasplante renal que tienen más riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas y/o cáncer de órganos sólidos (6).

El estudio fue llevado a cabo en 116 pacientes (receptores de trasplante renal) de los cuales 65 tuvieron cáncer o en la actualidad o en el pasado. También es un estudio prospectivo, simple ciego, en el que la mediana de seguimiento fue de 15 meses. El fenotipado inmunitario se hizo con citometría de flujo; y se examinó el factor de transcripción de la familia Ikaros Helios como marcador de TREG derivados de timo o naturales (nTREG). Los pacientes con cáncer eran más mayores y habían recibido una inmunosupresión total más larga que los pacientes sin cáncer. La cohorte de pacientes con cáncer tenían un régimen de inmunosupresión basado en micofenolato. En este estudio, a diferencia del de Ducloux, la inducción con ATG fue mayor en la cohorte con cáncer en relación con la cohorte sin cáncer (6).

No había diferencia en el estado seropositivo entre los pacientes con y sin cáncer para el CMV y VEB (6).

En el artículo de **Carroll**, “El fenotipo inmune predice el riesgo de carcinoma de células escamosas postrasplante”, se pretende estudiar la hipótesis de que el carcinoma de células escamosas en receptores de trasplante renal se asocia o no a un mayor

número de TREG, fenotipando la sangre periférica y el lugar de la lesión cancerígena (10).

El estudio fue llevado a cabo en 116 paciente, 65 trasplantados renales con cáncer, y 51 trasplantados renales sin cáncer. Fallecieron 3 pacientes durante el seguimiento. No se reclutaron las coincidencias de 5 pacientes con cáncer y 5 sin cáncer, por lo que se estudiaron finalmente 60 pacientes con carcinoma y 50 sin carcinoma. También es un estudio prospectivo, con una mediana de seguimiento de 340 días. El fenotipado inmunitario se realizó utilizando citometría de flujo; emparejando según la edad, el sexo y la duración de la inmunosupresión. En este estudio los pacientes con cáncer y sin cáncer tenían un historial farmacológico similar; ningún paciente tomaba sirolimus o everolimus (10).

#### ❖ ATG Y CÁNCER

Ducloux en su estudio pretendía conocer la relación existente entre el tratamiento con ATG en pacientes que iban a ser trasplantados con la posterior aparición de cáncer (12).

Midieron los valores de TREG previos al trasplante y después del trasplante. El cáncer apareció en 24 pacientes, siendo la mayoría cáncer de piel. Se vio que los pacientes que desarrollaron cáncer de piel tenían los valores de TREG más bajos antes del trasplante siendo mejor factor predictivo que la edad; sin embargo en la dosis acumulada de ATG no encontraron correlación (12).

Los pacientes que tenían TREG más bajos, el número de infecciones era mayor, así como la frecuencia de células T CD4+ con un fenotipo regulador. Se podría decir que las infecciones, favorecidas por ese defecto inmune, provocarían cánceres que inducen una respuesta reguladora (12).

La terapia con ATG generaría una involución tímica acelerada con inmunosenescencia irreversible en aquellos pacientes que tenían un función tímica baja previa a la realización del trasplante (12).

Por ello, su estudio demostró así la importancia de considerar evaluar la función tímica por TREG antes de la administración de ATG, ya que una baja función tímica

previa al trasplante se relacionaría con mayores tasas de infecciones posteriores y la aparición de cáncer en pacientes que recibieron esa terapia con ATG (12).

Sin embargo, en el estudio de **Hope**, se investigó el fenotipo inmune varios años después del uso de ATG y en los niveles de CD4 y TREG no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos que diferenciaron usuarios que habían tomado ATG de los que no habían tomado (6).

#### ❖ ODDS RATIO Y VALOR PREDICTIVO DEL FENOTIPO INMUNE

En el estudio de **Hope** hicieron un recuento comparativo de las células inmunitarias entre los pacientes trasplantados con cáncer y sin cáncer mediante las pruebas de dos colas de Mann-Whitney. En los pacientes con cáncer estaban elevados los parámetros TREG, las células T  $\gamma\delta$  y las células B de memoria y maduras; no hubo diferencias en los linfocitos NK (6).

Para estudiar si había asociación entre el fenotipo inmune y el cáncer, calcularon las Odds Ratio utilizando modelos de regresión logística, ajustando por edad, sexo y duración de la inmunosupresión. En la Tabla 3 se encontrarían los valores más importantes.

Tabla 3. Odds Ratio para la asociación del fenotipo inmune y el cáncer.

|  | Sin ajustar |             |         | Ajustado |             |         |
|--|-------------|-------------|---------|----------|-------------|---------|
|  | OR          | IC (95%)    | Valor P | OR       | IC (95%)    | Valor P |
| <b>% FoxP3 / CD4</b>                     | 1.26        | (1.04-1.53) | 0.019   | 1.31     | (1.03-1.66) | 0.028   |
| <b>% TREG / CD4</b>                      | 1.61        | (1.17-2.20) | 0.003   | 1.61     | (1.13-2.29) | 0.008   |
| <b>% memoria / B</b>                     | 1.03        | (1.00-1.06) | 0.038   | 1.04     | (1.00-1.07) | 0.025   |
| <b>% <math>\gamma\delta</math> T / T</b> | 1.07        | (1.00-1.14) | 0.043   | 1.03     | (0.97-1.12) | 0.310   |
| <b>NK</b>                                | 1.00        | (1.00-1.00) | 0.879   | 1.00     | (1.00-1.00) | 0.846   |

Las células B mostraron ser factor de protección contra el cáncer, ya que los valores obtenidos fueron  $<1.00$ ; sin embargo en el % de células B de memoria se obtuvo una OR de 1.03 y aunque este valor es  $>1.00$ , su intervalo de confianza al 95% es de 1.00-1.06 (6).

Las células NK no se asociaron con el cáncer, OR de 1.00 en los dos modelos. En otros estudios habían encontrado asociación entre los bajos niveles de NK con el desarrollo del carcinoma de células escamosas, sin embargo en este estudio, no se obtuvieron datos significativos que mostraran esta relación (6).

Las células que mostraron una asociación más fuerte fueron las TREG ya que en ambos modelos se obtuvo una OR de 1.61 con un P-valor  $\leq 0.05$ , por lo que estos resultados fueron estadísticamente significativos (6).

Las células T  $\gamma\delta$  tenían unos valores de OR  $>1$ , sin embargo en el análisis multivariante, esta OR cae. En el cáncer de células renales, un número elevado de estas células presagian buen pronóstico (6).

Realizaron las curvas ROC, para determinar la precisión y la sensibilidad / especificidad de cada tipo de célula inmune para el posterior desarrollo de cáncer.

El número de TREG obtuvo la mayor precisión, ya que su área bajo la curva fue de 0.78, con una especificidad del 68% y una sensibilidad del 71%. Seguido de las células B de memoria, con un área bajo la curva de de 0.68, una especificidad del 85% y una sensibilidad del 56% (6).

Se demostró que el número elevado de TREG tiene una fuerte asociación con la progresión del cáncer y es el valor más útil para predecir el desarrollo agresivo del carcinoma de células escamosas; por ello el aumento en el número de esta población linfocitaria se reflejaría en un peor pronóstico (6).

En el estudio de **Carroll** se evaluaron las variables clínicas e inmunológicas en una regresión logística corregida por edad y sexo y se calcularon sus Odds Ratio. En la tabla 4 se encontrarían los valores más importantes, para poder diferenciarlos y relacionarlos con los obtenidos en el estudio de Hope.

No se obtuvieron diferencias en números absolutos en células NK, CD4 y CD8. Pero sí que hubo diferencias en algunos subconjuntos de linfocitos como FOXP3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> y CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup>, en los que un número elevado estaba relacionado con el carcinoma de células escamosas; al igual que un número bajo de células CD8 de memoria central (10).

Tabla 4. Odds Ratio para la asociación del fenotipo inmune y el cáncer.

|   | <i>Análisis univariante</i> |                 |                | <i>Análisis multivariante</i> |                 |                |
|---|-----------------------------|-----------------|----------------|-------------------------------|-----------------|----------------|
|   | <b>OR</b>                   | <b>IC (95%)</b> | <b>Valor P</b> | <b>OR</b>                     | <b>IC (95%)</b> | <b>Valor P</b> |
| <b>% FoxP3 / CD4</b>                      | 1.24                        | (1.01-1.52)     | 0.042          | 1.26                          | (1.02-1.55)     | 0.035          |
| <b>% CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup></b> | 1.02                        | (1.01-1.03)     | 0.006          | 1.02                          | (1.01-1.03)     | 0.005          |
| <b>% CD8 mem. central</b>                 | 0.92                        | (0.85-0.99)     | 0.027          | 0.92                          | (0.85-0.99)     | 0.027          |
| <b>NK</b>                                 | 1.00                        | (1.00-1.03)     | 0.566          |                               |                 |                |

De la tabla anterior le damos una gran importancia a la OR obtenida del % de FOXP3/CD4, ya que es de 1.24 con un P-valor <0.05, por lo que es estadísticamente significativo; manteniendo el resultado en el análisis multivariante.

En este estudio se asoció la seropositividad al CMV y el historial de carcinoma de células escamosas con el aumento de las células CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup> (10).

Este estudio va más allá, y diferencia el subconjunto de células de memoria en el compartimento CD8; las células T<sub>CM</sub> (memoria central) CD62L<sup>+</sup> y las células T<sub>EM</sub> (memoria efectora) CD62L<sup>-</sup>. Un número elevado de células T<sub>CM</sub> se asoció con el no desarrollo de carcinoma, con un P-valor estadísticamente significativo. La prednisolona redujo el nivel de estas células (10).

## ❖ RELACIÓN FENOTIPO INMUNE CON EL TEJIDO CANCEROSO

En el artículo de **Hope**, utilizando la prueba de dos colas de Mann-Whitney se comparó el número de TREG en pacientes trasplantados, y se vio que tanto los pacientes con cáncer de órgano sólido como con carcinoma de células escamosas, presentaban un nivel de células más elevado que aquellos pacientes trasplantados sin cáncer (6).

Varios pacientes que desarrollaron cáncer tenían realizado el fenotipo inmunitario antes y en el momento del diagnóstico y se pudo ver que el número de TREG aumentó, por lo que tendrían un cambio dinámico hacia arriba durante el transcurso del cáncer (6).

Además, después de la resección del tejido canceroso, el número de células T disminuyó significativamente; también disminuyeron las células NK y las células T  $\gamma\delta$ . Los números de células B no mostraron cambios (6).

Con estos pacientes estudiados se observó que el número de TREG aumentó significativamente cuando los tumores se vuelven clínicamente evidentes (6).

El estudio de **Carroll** va un poco más allá y sugiere que un número bajo de CD8<sup>+</sup> y un número elevado de FOXP3 dentro de un tumor, predice el desarrollo de uno nuevo; pudiendo valer este hallazgo para utilizar los niveles de células extraídas de un cáncer como lectura (10).

## ❖ INMUNOSUPRESORES, INMUNOFENOTIPO Y CÁNCER

En el estudio de **Carroll**, se observó que un régimen inmunosupresor basado en CNI, reducía el número de células FOXP3; independientemente del uso o no de CNI, el número de FOXP3 seguía siendo un factor de riesgo independiente para desarrollar carcinoma de células escamosas. En esta cohorte no encontraron asociación de CNI con el desarrollo de carcinoma de células escamosas (10).

No se encontró relación entre el régimen farmacológico y el número de células CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup> (10).

Anteriormente, habíamos afirmado que la terapia con esteroides disminuía el nivel de células  $T_{CM}$ , y también se ha demostrado que la continuación con esteroides después del trasplante aumenta el riesgo de aparición de carcinoma. Cabría esperar que la interrupción de la administración de estos asociaría una menor incidencia de cáncer, pero no se han obtenido resultados estadísticamente significativos en el estudio (10).

Combinando el fenotipo inmune y el historial de carcinoma de células escamosas con una confianza al 95% se predice un riesgo x2 de desarrollar carcinoma de células escamosas en un periodo de tiempo corto; por ello se podrían realizar modificaciones en los inmunosupresores en pacientes con alto riesgo (10).

#### ❖ ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis estadístico incluimos los artículos de Hope y de Carroll para poder evaluar la heterogeneidad entre ambos. La presentación de los resultados estimados con el correspondiente intervalo de confianza al 95% (95% CI), y la evaluación de la heterogeneidad (I<sup>2</sup>), se calcularon usando la versión 5.3 del software RevMan Review manager (Cochrane Collaboration). Los datos se muestran en la tabla 5.

Incluimos el estudio de Hope y de Carroll para compararlos ya que presentan una metodología y diseño de estudios semejantes para que su análisis sea adecuado.

En base a nuestra pregunta formulada al inicio del estudio y en base a los resultados obtenidos establecemos una serie de conclusiones. Pretendíamos dar respuesta a si existe relación entre un número elevado de FOXP3 con la posterior aparición de cáncer de células escamosas en pacientes trasplantados renales.

Contrastamos los valores de OR del % de CD4 de TREG obtenidos en cada estudio y obtenemos una OR de 1.26 en el estudio de Carroll y una OR de 1.31 en el de Hope, con un IC al 95% de (1.02-1.55) y de (1.03-1.66), respectivamente. Estos resultados son estadísticamente significativos ya que el intervalo de confianza no incluye en ninguno de los dos casos el valor de 1.00. Posteriormente se calcula el log [OR], cuyos datos se muestran en la tabla 5.

En la sexta columna nos encontramos con la representación visual de los resultados de ambos estudios. En este caso la línea vertical central tiene valor de 1 ya

que utilizamos variables dicotómicas, representando el valor de riesgo relativo. Los cuadros rojos representan el efecto evaluado en cada estudio y el tamaño está directamente relacionado con el peso de ambos estudios; la línea horizontal representaría el intervalo de confianza. Ambos resultados se posicionan al lado derecho de la gráfica, por lo que indicaría una heterogeneidad baja.

El diamante negro representaría los resultados obtenidos globalmente. El centro es el valor del efecto en conjunto, representando el ancho el intervalo de confianza general. Éste se encuentra claramente a la derecha de la gráfica, por lo que se considera estadísticamente significativo.

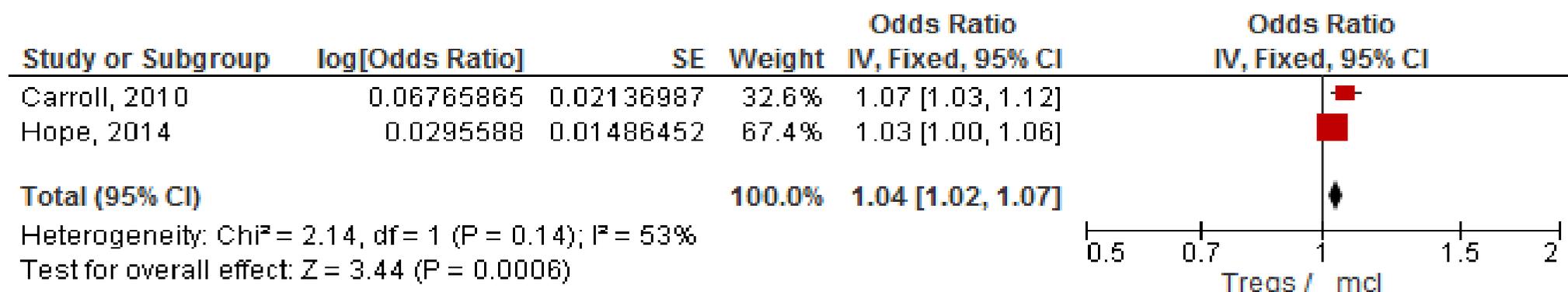
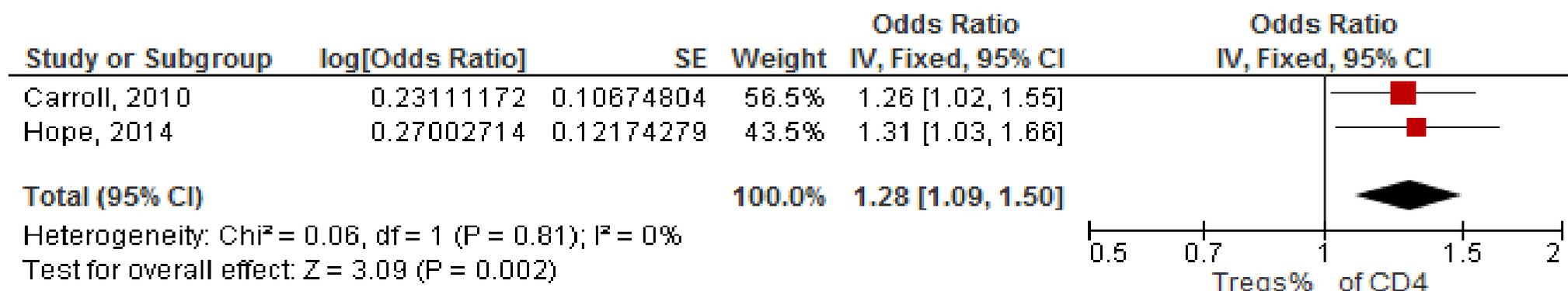
El peso de ambos estudios es más o menos parecido, por lo que tendrán el mismo peso en los resultados, ejerciendo una influencia más o menos semejante en el resultado final.

Finalmente, se incluye la prueba de heterogeneidad ( $I^2$ ), para medir la variabilidad de los estudios y ver así cómo de comparables son; su resultado es del 0% por lo que podemos decir que hay ausencia de heterogeneidad. Además, el valor de la  $P$  es  $<0.05$ , concluyendo que los resultados son estadísticamente significativos.

Si comparamos los niveles de TREG en valores absolutos, aunque el diamante está al lado derecho de la gráfica, su tamaño es menor y se encuentra más cercano a la línea vertical central.

Además en este caso el valor de  $I^2$  es del 53%, por lo que habría alta heterogeneidad, ya que el valor es  $>50\%$ .

Tabla 5. Forest Plot



## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se han ido analizando diferentes artículos científicos para poder conocer si de verdad está relacionado un número elevado de linfocitos FoxP3 con la aparición de carcinomas de células escamosas en pacientes que han recibido un trasplante de riñón.

El número de estudios era bastante limitado ya que es un tema poco estudiado y fue difícil encontrar artículos que cumplieran con los criterios de inclusión que establecimos para poder obtener ciertas conclusiones; pero se pudo realizar un análisis estadístico y llegar a resultados estadísticamente significativos.

Este meta-análisis tiene ciertas limitaciones ya que abarca solamente dos estudios que utilizan además distintos puntos de corte para valorar los resultados obtenidos. En el estudio de Hope se consideran niveles de TREG elevados cuando son  $> 16$  céls/ $\mu$  y en el estudio de Carroll cuando los niveles de TREG son  $> 35$  céls/ $\mu$ .

Sin embargo, se ha podido concluir y demostrar que el fenotipo inmune está asociado con el desarrollo del carcinoma de células escamosas y por ello un monitoreo de TREG podría permitir identificar a aquellos pacientes trasplantados que tienen más riesgo de padecer cáncer de piel, pudiéndose beneficiar así de un mayor seguimiento preventivo dermatológico así como de la posible manipulación del tratamiento inmunosupresor recibido; aunque esto debería de confirmarse con estudios más amplios.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Barry JM. Renal transplantation in 2016. *Indian J Urol IJU J Urol Soc India*. 2016;32(3):175–7.
2. Hatzinger M, Stastny M, Grützmacher P, Sohn M. [The history of kidney transplantation]. *Urol Ausg A*. 2016 Oct;55(10):1353–9.
3. MUNTEAN A, LUCAN M. Immunosuppression in kidney transplantation. *Clujul Med*. 2013;86(3):177–80.
4. Asiain AS, Carrasco BM, Franco NC, Arroyo MB, Polonio AG, Varela JP, et al. La inmunosupresión como causa del cáncer: Presentación de un caso y revisión de la terapia inmunosupresora en pacientes con trasplante renal. *Salux Rev Cienc Humanidades*. 2019;(7):11–3.
5. Witmanowski H, Lewandowska M, Szycha P, Sporny S, Rykała J. The development of squamous cell carcinoma in a patient after kidney transplantation: a case report. *Adv Dermatol Allergol Dermatol Alergol*. 2013 Feb;30(1):65–71.
6. Hope CM, Grace BS, Pilkington KR, Coates PT, Bergmann IP, Carroll RP. The immune phenotype may relate to cancer development in kidney transplant recipients. *Kidney Int*. 2014 Jul;86(1):175–83.
7. Moloney FJ, Comber H, O’Lorcain P, O’Kelly P, Conlon PJ, Murphy GM. A population-based study of skin cancer incidence and prevalence in renal transplant recipients. *Br J Dermatol*. 2006 Mar;154(3):498–504.
8. Chapman JR, Webster AC, Wong G. Cancer in the Transplant Recipient. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2013 Jul;3(7). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3685882/>
9. Gogna S, John S. Post Transplantation Cancer. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537256/>
10. Carroll RP, Segundo DS, Hollowood K, Marafioti T, Clark TG, Harden PN, et al. Immune Phenotype Predicts Risk for Posttransplantation Squamous Cell Carcinoma. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2010 Apr;21(4):713–22.
11. Hayden JA, van der Windt DA, Cartwright JL, Côté P, Bombardier C. Assessing Bias in Studies of Prognostic Factors. *Ann Intern Med*. 2013 Feb 19;158(4):280.
12. Ducloux D, Bamoulid J, Courivaud C, Gaugler B, Rebibou J-M, Ferrand C, et al. Thymic function, anti-thymocytes globulins, and cancer after renal transplantation. *Transpl Immunol*. 2011 Jul;25(1):56–60.

# BIOMARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS PRONÓSTICOS DEL POSTRASPLANTE



Curso: 2019-2020

Autora: ELENA MEZQUITA GARCÍA

Tutores: Dra. CORALINA M. BERNUY GUEVARA y Dr. FRANCISCO M. HERRERA GÓMEZ

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Los pacientes trasplantados renales reciben tratamiento inmunosupresor para evitar el rechazo del órgano; se sabe que el riesgo de padecer cáncer es de 2 a 6 veces mayor que en la población general, siendo el cáncer de piel no melanoma el que requiere de una consideración especial.

- El objetivo principal de este trabajo es saber si existe relación entre los niveles de células TREG con la posterior aparición de carcinoma de células escamosas, para poder llevar a cabo medidas de prevención y diagnóstico precoz del mismo si fueran necesarias.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Búsqueda en PubMed, sin filtro de fecha e idioma

Palabras clave: "trasplante de riñón", "carcinoma de células escamosas", "TREG", "FOXP3"

Pregunta de investigación: "**¿Qué relación hay entre los niveles de FOXP3 en los trasplantados renales con la aparición de neoplasias?**"

Dos fórmulas de búsqueda → 13 artículos → criterios de inclusión y exclusión → [3 artículos](#)

## RESULTADOS

### ATG Y CÁNCER

Hay que evaluar la función tímica antes de la administración de ATG, ya que una baja función previa al trasplante se relaciona con más infecciones y cáncer en pacientes que recibieron esa terapia (3).

### ODDS RATIO Y VALOR PREDICTIVO DEL FENOTIPO INMUNE

% FOXP3 / CD4: OR: 1.31; IC: 1.03-1.66; p 0.028 (2)

% FOXP3 / CD4: OR: 1.26; IC: 1.02-1.55; p 0.035 (1)

#### Relacionado con el desarrollo de CCE:

FOXP3+ CD4+ ↑ (1) (2).

CD28- CD8+ ↑ (1).

#### Relacionado con el NO desarrollo de CCE:

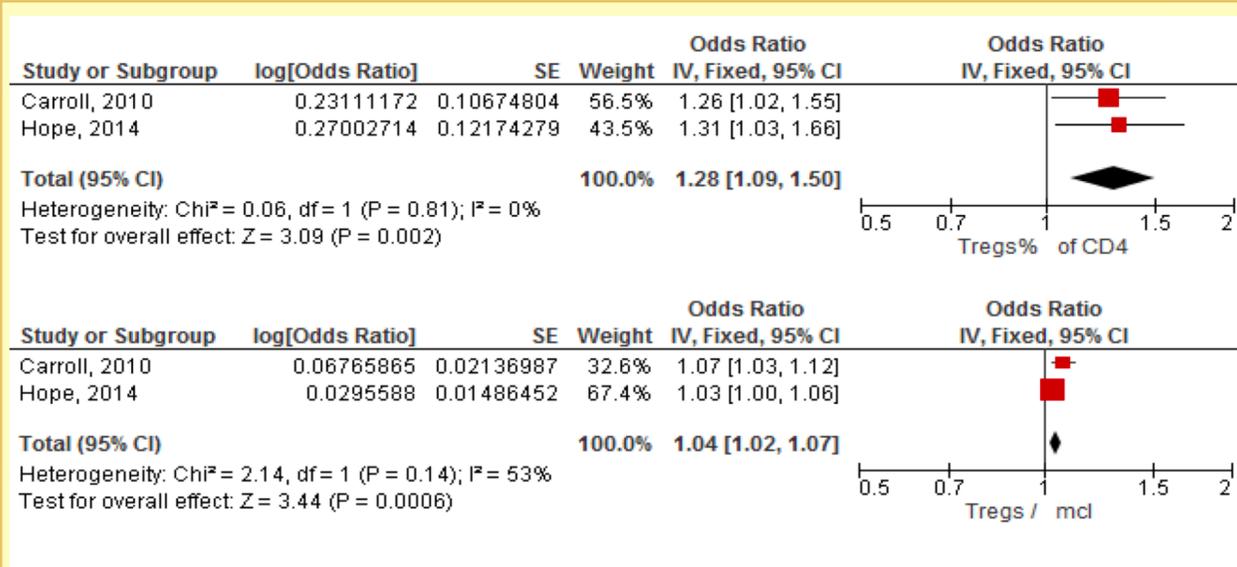
Células T CD8 memoria central ↑ (1).

Sin diferencias → células NK (1) (2).

El número ↑ de TREG tiene una fuerte asociación con la progresión del cáncer; es el valor más útil para predecir el desarrollo agresivo del carcinoma de células escamosas (2).

### INMUNOFENOTIPO, TEJIDO CANCEROSO E INMUNOSUPRESORES

- Número de TREG ↑ en paciente trasplantados con cáncer (2).
- TREG tiene un cambio dinámico hacia ↑ durante el transcurso del cáncer (2).
- Tras la resección del cáncer: ↓ células T y NK; células B sin cambios (2).
- El número de TREG ↑ cuando el tumor se vuelve clínicamente evidente (2).
- CD8+ ↓ y FOXP3 ↑ dentro de un tumor, predice el desarrollo de uno nuevo (1).
- Un régimen inmunosupresor basado en CNI, reduce el número de células FOXP3 (1).



## CONCLUSIONES

Aunque haya que confirmarlo con estudios más amplios, este meta-análisis demuestra que podría emplearse el fenotipo inmune de estos pacientes para estratificar el riesgo de desarrollar cáncer y así beneficiarse de un mayor seguimiento preventivo dermatológico y manipulación del tratamiento inmunosupresor recibido.

## BIBLIOGRAFÍA PRINCIPAL

- Carroll RP, Segundo DS, Hollowood K, Marafioti T, Clark TG, Harden PN, et al. Immune Phenotype Predicts Risk for Posttransplantation Squamous Cell Carcinoma. J Am Soc Nephrol JASN. 2010 Apr;21(4):713-22
- Hope CM, Grace BS, Pilkington KR, Coates PT, Bergmann IP, Carroll RP. The immune phenotype may relate to cancer development in kidney transplant recipients. Kidney Int. 2014 Jul;86(1):175-83.
- Ducloux D, Bamoulid J, Courivaud C, Gaugler B, Rebibou J-M, Ferrand C, et al. Thymic function, anti-thymocytes globulins, and cancer after renal transplantation. Transpl Immunol. 2011 Jul;25(1):56-60.