



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

Irene Soletó<sup>1</sup>, Alicia C. Marín<sup>1</sup>, Irene Mora<sup>1</sup>, Jose Ramón Villagrasa<sup>2</sup>, Montse Baldan-Martín<sup>1</sup>, Cristina Ramírez<sup>1</sup>, David Bernardo<sup>3</sup>, Maria Chaparro<sup>1</sup> y Javier P. Gisbert<sup>1</sup>

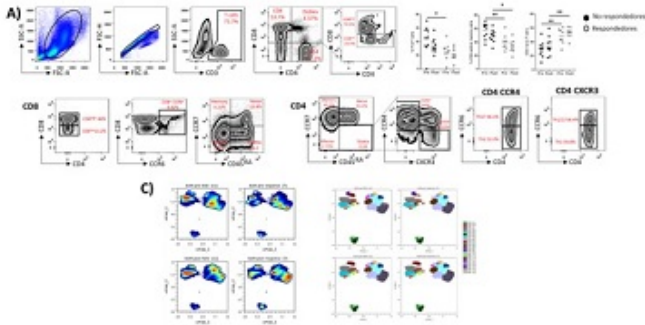
<sup>1</sup>Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-Princesa), Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid. <sup>2</sup>Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid. <sup>3</sup>Mucosal 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

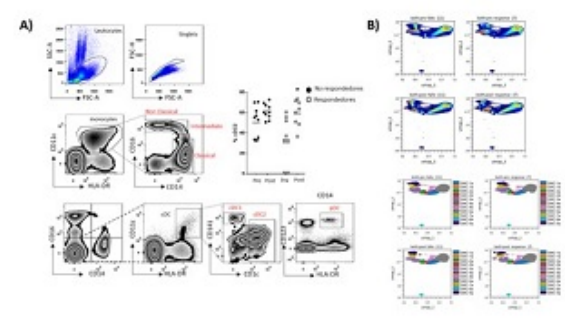
**Introducción:** La tasa de respuesta a la vacunación contra el virus de la hepatitis B (VHB) en la población general es superior al 90%; sin embargo, esta tasa es menor en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). La EII es una enfermedad multifactorial, por lo que es importante estudiar 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).

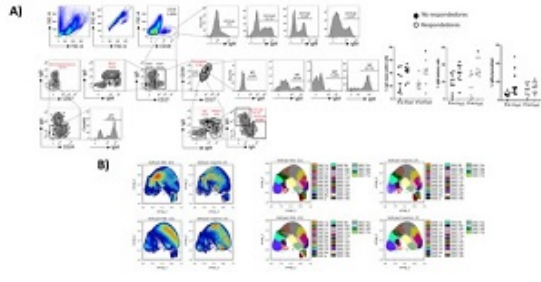
**Resultados:** Los no respondedores a la vacuna mostraron menos células T *naïve* que los respondedores; estos últimos tenían menos Th2 de memoria y CD4 antes de la vacunación. El análisis de datos no sesgados identificó 22 metaclústeres de células T (fig. 1). Las células dendríticas convencionales 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 sujeta como células CD3+. Las células CD4+ CD8+ se caracterizaron adicionalmente según la expresión de CCR3, CCR2 y CD45. Las células CD4+ CD8+ se caracterizaron adicionalmente basándose en la expresión de CCR3, CD137A, CCR2 y CCR3. (B) Se determinó el linaje de las diferentes subpoblaciones de células T de respondedores y no respondedores. Los resultados se expresan como porcentaje de células positivas (%) (n=6-33). Se aplicó ANOVA unidimensional de medias repetidas con conexión post hoc Tukey para comparar el porcentaje de los diferentes subgrupos 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 Flow-50M proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manuales y automatizadas. 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 circulantes y subconjuntos de células dendríticas.** (A) Las poblaciones de monocitos se identificaron mediante citometría de flujo dentro de células mononucleares de sangre periférica sujeta como células CD11c+ M1A+ DS-. Dentro de la gate CD11c+ M1A+ DS-, los monocitos clásicos se definieron como CD11c+ CD11b-, y los intermedios se definieron como CD11b+. (B) Análisis de datos de alta dimensión en células M1A+ DS- de siete u once pacientes que muestran como gráfico Flow-50M proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manuales y automatizadas. 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 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 sujeta 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 (%) (n=9-10). Se aplicó ANOVA unidimensional de medias repetidas con conexión post hoc para comparar el porcentaje de los diferentes subgrupos entre respondedores y no respondedores antes y después de la vacunación. (B) Análisis de datos de alta dimensión en células M1A+ DS- de siete u once pacientes que muestran grupos de Flow-50M proyectados en dos dimensiones UMAP para mostrar la concordancia entre las técnicas de análisis manuales y automatizadas. 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 detección 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.