

## DECLARACIÓN DE INTERÉS PARA RECIBIR PROFESIONALES FP-II EN CONTRATOS DE PRÁCTICAS

Grupo Acreditado Receptor: Hepatología y Trasplante Hepático

Responsable: Victoria Aguilera Sancho-Tello y Ángela Carvalho-Gomes

### ESPECIALIDAD/ES SOLICITADAS ACORDE CON LA NATURALEZA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL CUAL SE ADSCRIBIRÍA Y COLABORARÍA EL CONTRATADO

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Anatomía patológica-Citología      | <input type="checkbox"/> Dietética               |
| <input checked="" type="checkbox"/> Laboratorio de Diagnóstico Clínico | <input type="checkbox"/> Documentación Sanitaria |
| <input type="checkbox"/> Laboratorio (rama Química)                    | <input type="checkbox"/> Otros, especificar      |

**Proyecto de investigación en vigor al que se adscribirá el contratado** (indique referencia y resumen)

**Impacto de la respuesta inmune celular específica contra citomegalovirus (CMV) tras el trasplante hepático en la agresividad de la hepatitis C recurrente. PI13/01770 y 2014/0055**

Diversos factores se han relacionado con la agresividad de la hepatitis C recurrente. Entre ellos, la reactivación de la infección por CMV es un factor controvertido. Trabajos recientes han comunicado que la expresión de IFN-gamma por las células T-CD8 puede ser un marcador de protección inmunológica específica contra la reactivación de CMV tras el trasplante hepático (TH). La respuesta inmune contra CMV provoca una alteración en el pool global de linfocitos T, con efectos indirectos en el control de otras infecciones. Hipótesis: Podemos hipotetizar que una respuesta inmune celular específica (RCE) contra CMV disfuncional puede resultar inmunopatogénica y alterar de forma indirecta el control sobre el VHC. La cuantificación de la RCE contra CMV y de su funcionalidad tras el TH permitiría distinguir a pacientes con hepatitis C recurrente agresiva o leve a los 6-12 meses del TH. Objetivos: (i) evaluar si la RCE contra CMV permite predecir la evolución de la hepatitis C recurrente (fibrosadores lentos frente a rápidos), (ii) en el subgrupo de pacientes con replicación CMV post-TH<sub>1</sub> evaluar si la RCE es capaz de predecir que pacientes controlarán la replicación CMV frente a los que no. (iii) determinar si medir la RCE permite un ahorro frente a la práctica actual. Pacientes/Métodos: inclusión prospectiva pacientes trasplantados por VHC durante 36 meses. En todos se realizará viremia seriada de CMV y medición de la RCE por ICS. Se recogerán datos analíticos, elastografía 6º mes y biopsia anual.

*(Se podrán presentar dos declaraciones de interés, como máximo por grupo y en formularios separados)*

## PROGRAMA FORMATIVO A REALIZAR POR EL CONTRATADO

**Describir el proyecto de investigación, haciendo especial énfasis en los aspectos formativos y las tareas a realizar por el contratado FP-II (Este apartado se publicará junto con las bases de la convocatoria con el fin de que el candidato FP-II pueda seleccionar el proyecto que más le interese)**

En pacientes trasplantados hepáticos en el hospital La Fe se determinará la inmunidad celular específica de CMV, con una periodicidad quincenal hasta el tercer mes, y mensual hasta el sexto mes. Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se separarán a partir de sangre total mediante centrifugación por gradiente de Ficoll y se criopreservarán en nitrógeno líquido. La sangre total o los CMSP previamente criopreservados se estimulan simultáneamente con dos juegos de péptidos solapados que incluyen la secuencia de las proteínas del CMV pp65 y IE-1 (disponibles comercialmente), en la presencia de los anticuerpos co-estimuladores CD28 y CD49d, un anticuerpo anti-CD107a marcado, brefeldina, y monensina durante 6 hr. a 37°C. Las células serán lavadas en una solución de PBS-2% suero bovino fetal, y teñidas con anticuerpos monoclonales para marcadores de superficie anti-CD8, anti-CD4, y anti-CD3. Posteriormente, las células serán permeabilizadas, lavadas, y finalmente teñidas con anticuerpos monoclonales para citocinas intracelulares (anti-IFN $\gamma$  y anti-TNF $\alpha$ ). Las células serán almacenadas en 4° C en PBS-1%formaldehído, y adquiridas durante las 4 horas siguientes en un citómetro BD FACScantoll. Más tarde, los archivos de citometría se analizarán con el programa FlowJo. Los controles negativos (ausencia de estimulación) y positivos (estimulación policlonal con toxina estafilocócica B), serán procesados en paralelo para todos los experimentos. Calcularemos el número total de cada subpoblación de linfocitos T CD8+ y T CD4+ con la multiplicación de los porcentajes de cada subpoblación y del número total de linfocitos T CD8+ y T CD4+, y mediante análisis jerarquizado, utilizando el programa FlowJo.

El técnico que se incorpore al proyecto participará en todo el proceso de estudio de la muestra, desde la recepción, registro y análisis final:

1. Preparación de medios de cultivo, tampones y reactivos de laboratorio.
2. Realización de hemogramas.
3. Técnicas de cultivos celulares.
4. Aislamiento de linfocitos en sangre entera mediante centrifugación por gradiente de Ficoll (Leucosep).
5. Criopreservación y descongelación de células mononucleares.
6. Determinación de citoquinas plasmáticas mediante ELISA.
7. Análisis multiplexado de proteínas solubles (Luminex).
8. Estimulación, permeabilización y fijación de linfocitos.
9. Tinción intracelular de citoquinas
10. Citometría de flujo multiparamétrica.
11. Aprendizaje en el manejo de software de análisis de citometría de flujo multiparamétrica (FlowJo y FacsDiva) y análisis estadístico (SPSS).

