Elise Hoover: Comience con nuestro primer presentador, el Dr. Abbott.

Molly Abbott: Hola. Entonces, soy Molly. Estoy basado en Oxford de la Universidad de Oxford. Por lo tanto, estoy en el Reino Unido en este momento. Entonces, mi presentación es sobre un caso que vi como parte del equipo médico. Dentro del Reino Unido, tengo un paciente con poliquistosis renal. También es una enfermedad renal poliquística dominante, pero de ahora en adelante me referiré a ella como PKD. Desafortunadamente, este paciente sufrió varios tipos de ingresos hospitalarios y graves infecciones a causa de esto. Y así, me llevó a hacer una especie de revisión de la literatura y una discusión con el equipo médico que lo atendía sobre qué tipo de opciones tenía para el manejo.

Entonces, solo como antecedentes, como estoy seguro de que todos saben, la PKD es la enfermedad renal hereditaria más común, pero todavía no hay una cura, y las opciones de manejo quirúrgico están bastante abrumadas por sus complejidades y las complicaciones de la base de evidencia. para los planes de gestión de edificios es bastante escaso, y alrededor del 50% de los pacientes con PKD progresan a la enfermedad renal en etapa terminal a los 60 años.

La causa subyacente de la enfermedad no se comprende bien en absoluto, solo se sabe que la función renal se deteriora a medida que se forman los quistes y aumentan en número y tamaño en la edad adulta temprana. Entonces, dado que no hay cura, el tratamiento se centró en limitar los síntomas, las complicaciones y retrasar el tratamiento para retrasar la necesidad de diálisis.

Entonces, mi paciente de un hombre de 67 años que se llama Sr. X, y se presentó con fiebre, algunos sudores fríos y se sentía bastante mal. Y así, había conocido la enfermedad del riñón poliquístico. Entonces, monitoreó sus marcadores inflamatorios, entonces, su CRP en la aplicación de su teléfono que pudo acceder a los resultados de sus análisis de sangre, qué sistema usan aquí, no estoy seguro sobre en los EE. UU. Entonces, había tenido dos ingresos hospitalarios similares en el mismo año con una presentación similar.

Entonces, esto solo muestra que su primera hospitalización fue por neuropatía obstructiva. Entonces, sus uréteres estaban obstruidos debido a su enfermedad renal. Y esto fue dos meses antes, y se presentó con dolor en el costado derecho. Y colocaron un stent para lidiar con esto. Tres semanas después, ingresó nuevamente con la misma presentación y tenía sepsis por el mismo problema.

Entonces, cambiaron el stent nuevamente. Entonces, ese es el amarillo y luego el verde en esto, el rosa fue esta presentación para la que lo vi. Entonces, nuevamente, cuando presentó, su función renal disminuyó nuevamente, con su eGFR, entonces, su función renal, filtración, reducción y su **inyección** de gratim .

Entonces, en el momento de esta admisión, los hallazgos relevantes para este caso fueron que tenía distensión abdominal severa. Es muy firme, le costaba caminar por el tamaño de su estómago. Tenía una hernia umbilical, y en realidad tenía la separación de los músculos de su estómago debido a la fuerza severa que había dentro de su estómago, la presión, todas las observaciones también encajaban con él teniendo una infección de sepsis grave. Entonces, solo para revisar y dar una imagen más clara de todo el caso, la mayoría de los medicamentos que estaba tomando estaban relacionados con las complicaciones de su condición. Entonces, cosas como el aumento del riesgo de coágulos. Tenía un reflujo ácido muy fuerte debido a una hernia de hiato que tenía por la presión dentro de su estómago, y tenía enfermedad de reflujo, muchos años con tamsulosina por los síntomas de los stents que tenía, desde su diagnóstico, dos de sus hijos habían sido diagnosticados y lo siento. , uno de sus hijos había sido diagnosticado y dos de los hijos de su hermana habían sido diagnosticados al igual que su hermana.

Y antes de su diagnóstico, realmente disfrutaba del ciclismo de larga distancia, pero ahora estaba demasiado fatigado y sin aliento para poder hacer esto. Entonces, se hicieron algunas imágenes en el hospital y se confirmó que no se vio otra fuente para la infección, excepto la obstrucción de los uréteres. Nuevamente, debido al tamaño de los quistes en sus riñones y su hígado. Entonces, para esta admisión, hubo un aumento significativo con la gestión que tuvo.

Puede ver que el marcador naranja es el aumento de la función renal. Entonces, lo que los médicos realmente hicieron fue sacar el stent y colocar un stent doble. Entonces, colocaron dos centavos uno al lado del otro dentro de los uréteres y admitieron que ya estaba hecho. y algo así como por desesperación porque era la tercera vez que esto sucedía y después de la operación , estaba cómodo y funcionando bien.

Entonces, tuve que hubo mucha discusión sobre qué hacer en términos de manejo y todo este tipo de decisión de demorar los dos stents se produjo después de discutir con el paciente también y considerar sus opciones, así que solo eché un vistazo. en la literatura para las diferentes opciones disponibles. Por lo tanto, la colocación de stents es el principal tratamiento para la neuropatía obstructiva, alivia la contrapresión en los riñones.

Y aunque es mínimamente invasivo, aún existe el riesgo de sangrado e infección. Y lo que es más importante, el 80 % de los pacientes que tienen esto tienen un stent, terminan con molestias o dolor permanentes al orinar, así como una mayor frecuencia y micción para ellos, por lo que no es algo agradable de tener a menudo. Y a menudo los síntomas no se viven con un medicamento. Un estudio encontró que, en general, obtiene una mejoría mayor con la colocación de stents si tiene una mejor función renal inicial y tiene riñones más pequeños, por lo tanto, esto en realidad no nos lleva a la PKD.

De todos modos, también, la colocación de stent no es curativa. Y como hemos visto, en este caso, la causa de la obstrucción permanece y, a menudo, la compresión realmente ocurre. Una opción alternativa es extirpar el riñón problemático. La perfusión se considera en alrededor del 20% de los pacientes con enfermedad renal en etapa terminal, especialmente aquellos que tienen quistes infectados. Obviamente, esto disminuye la masa abdominal y para el Sr. X, como si tuviera sus síntomas de dolor, infección y reflujo ácido, le falta mucho el aire por el esfuerzo, por lo que esto aliviaría mucho esto para él.

Sin embargo, los pacientes con nefrectomía necesitan diálisis a largo plazo, y no podemos olvidarnos de considerar el tipo de compromiso de tiempo y la reducción de la calidad de vida que eso implica. Además, considerando la escala de una operación de nefrectomía, debe pensar en el riesgo de la anestesia general. Y, a menudo, los pacientes con PKD tienen hipotensión y un riesgo potencial de aneurisma, en lo que hay que pensar y, en el caso del Sr. X, tenía bastantes riesgos cardiovasculares debido a su IMC.

Entonces , debido a su tamaño relacionado con su estómago. Entonces, discutimos sobre la posibilidad de drenar algunos de los quistes. A menudo, revisé una revisión sistemática que comparaba antimicrobianos, antibióticos y también tratamientos quirúrgicos que analizaban si las infecciones del sistema se manejaban mejor con cualquiera de los dos. Y, en general, mostró que posiblemente los antibióticos profilácticos a largo plazo eran ventajosos porque, a menudo, cuando solo se trata con antibióticos después, eso no trata las recurrencias de la infección, pero obviamente esto tampoco es curativo.

Teniendo en cuenta el drenaje de quistes. La escleroterapia, que es un método que utiliza agujas para aspirar los quistes, es una opción. Sin embargo, se encontró que el drenaje con catéter era mejor para los quistes más grandes, lo que es más relevante para la PKD. Sin embargo, esto obviamente presenta el riesgo de infección si está perforando quistes dentro del estómago. Entonces, esto simplemente resalta el hecho de que todas las opciones de manejo vienen con complicaciones significativas.

Y también, hubo una falta real de evidencia al analizar este estudio que analizó desde 1948 hasta 2014. Aún así, solo se encontraron 85 pacientes. Entonces, al hablar sobre el trasplante de riñón, obviamente hay mucho estrés psicológico en torno a la espera de un donante, pero elimina la opción de tener que someterse a diálisis a largo plazo solo con nefrectomía. Curiosamente, descubrí que algunos estudios habían demostrado que un tamaño de riñón nativo en realidad puede reducirlos; el riñón retrocederá si coloca un riñón nuevo, lo que luego elimina algunas de las complicaciones considerando tener un efecto para mí.

Alternativamente, algunos estudios muestran que las personas que no pueden tener un efecto para cumplir pueden tener una embolización arterial para eliminar las arterias que irrigan ese riñón esencialmente. Y eso puede crear algo de espacio abdominal y aliviar algunos de los síntomas de presión que tenía el Sr. X. Entonces, también tuve una discusión bastante interesante con el paciente sobre cómo su familia tenía enfermedad renal poliquística.

¿Cómo es que sus padres? No sabía si sus padres lo tenían. Y él fue quien levantó la bandera y su familia que lo tenía y todos se hicieron la prueba. Entonces, en realidad explicó que esto tuvo un gran impacto psicológico y que había visto a su médico general durante más de 10 años, explicando que estaba realmente preocupado por su intersección abdominal, pero el médico de cabecera seguía diciéndole que perdiera peso y dijo que debe buscar asesoramiento para su ansiedad de salud.

Y en realidad no se constató que tuviera esta enfermedad hasta que tuvimos esta presentación de emergencia en el EDE. Por lo tanto, pensé que sería interesante investigar si no haber sido diagnosticado antes habría marcado una diferencia porque tuve esta conversación con él y me hizo estas preguntas. Hay algunos ensayos que analizan las terapias moleculares para atacar el crecimiento de quistes.

Y muestran que si lo abordas, bueno, algunos estudios han demostrado que tienes menos mutaciones cuando eres un niño en comparación con un adulto, lo que luego piensa que tendrías menos quistes y, por lo tanto, podría ser beneficioso. Sin embargo, la mayoría de estos estudios que analizan las terapias moleculares para el crecimiento de quistes están en su infancia. Y son solo datos preliminares. Sin embargo, si hay un tipo más grande de ensayos controlados aleatorios, y algunos de los que han demostrado reducir el volumen del riñón, podrían comprarse en la práctica de rutina, lo que ciertamente abordaría muchos de estos problemas que hemos discutido. .

Creo que finalmente, solo pensamos en el impacto en la planificación familiar. El Sr. X no se había dado cuenta en absoluto. Y él dijo, ya sabes, tal vez a la gente le gustaría hacerse una prueba como una preimplantación. Pero esto es bastante polémico en la literatura entre médicos. Pero pensé que era algo que era importante plantear. Entonces, estas son mis conclusiones. Y si alguien tiene alguna pregunta, por favor hágamelo saber.

Elise Hoover: Fantástico, gracias, Dr. Abbott. Sabes, me gustaría saber, para casos como el Dr. X, qué, Sr. X, qué podemos hacer para recopilar más datos o investigar más sobre este tipo de tema.

Molly Abbott: Entonces, creo que eso fue algo que encontré al buscar en la literatura que es realmente difícil, porque muchos estudios en realidad excluyen a los pacientes con PKD cuando investigan algunos de estos tratamientos para la enfermedad renal o para problemas renales porque verlo como un confusor. Pero obviamente, eso significa que muchos de estos estudios que incluso yo analicé, tuve que decir, bueno, tienes que extrapolar los datos para incluso suponer que esto funcionaría para los pacientes con PKD.

Entonces, creo que reducir esto como criterio de exclusión y simplemente tenerlos como un subgrupo dentro de los estudios sería una opción. Y también, creo, alentar a los pacientes con poliquistosis renal cuando se sientan cómodos para unirse a una especie de recopilación de datos. Me di cuenta al principio que había un registro PKD. Y cosas como esta, obviamente, muy, muy beneficiosas porque es una enfermedad rara, sería muy útil poder recopilar datos sobre los pacientes que están dispuestos a dárselos.

Elise Hoover: Gracias, tenía otra pregunta si pudiera comentar un poco más sobre la reducción renal versus un efecto para mí, algo así como lo que vio en la literatura en cuanto a cuándo recomendar cualquiera de los dos.

Molly Abbott: Entonces, creo que pareció tener el efecto para mí y, si es posible, alivia muchos más síntomas para las personas y tiene una mejor comprensión en la literatura. Pero también, los cirujanos se sienten más cómodos con este tipo de procedimientos, porque son más comunes que hacer cosas como la embolización arterial para tratar de reducir el tamaño del riñón. Estos no son tan comunes, o bien practicados. En general, la razón por la que investigué la reducción de riñón es que para muchos pacientes que tienen PKD, el riesgo de anestesia general de ser puestos a dormir para una operación tan grande significa que no son considerados, y cuando hablé con los médicos que Estaba trabajando con, para este paciente, dijeron que no creían que sería seguro para él someterse a una nefrectomía.

Por eso pensé, bueno, echaría un vistazo a las otras opciones. Entonces, creo que, en general, la nefrectomía, si es posible, es más preferida por la impresión general que tuve, sin embargo, desafortunadamente para muchos pacientes con PKD, eso no se considera una opción.

Elise Hoover: Gracias. Dr. Abbot. Y, por supuesto, en la fundación PKD queremos animar a todos a que hablen con su médico sobre su propia atención individual. Pero es realmente interesante ver un caso de estudio como ese. Gracias de acuerdo, pasemos al Dr. Bland.

Bland Sarah J: Muy bien, voy a compartir mi pantalla aquí. Oh, en realidad no me da la opción de hacerlo.

Elise Hoover: Pruébalo ahora.

Bland Sarah J: Está bien, todavía no me permite escuchar que vamos. Está bien. Vale, ¿pueden ver mi pantalla?

Elise Hoover: Sí, podemos.

Bland Sarah J: Está bien. Lo siento, mi PowerPoint se congeló Bien, ¿puedes ver mi mouse aquí? ¿O se movió para ustedes a la siguiente diapositiva?

Elise Hoover: Sí, pase a la siguiente diapositiva. De vuelta en la página de paddle hacia abajo.

Bland Sarah J: Está bien. Muy bien, creo que lo conseguimos. Bueno. Bueno, gracias a todos por estar aquí hoy. Mi nombre es Sarah Bland y soy investigadora postdoctoral en la Senadora de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oklahoma, no tengo revelaciones que hacer hoy. Entonces, hoy les hablaré sobre mi proyecto que está analizando una población de macrófagos residentes de riñón positivos para trem2 que están asociados con la enfermedad renal quística de progresión lenta.

Por lo tanto, las enfermedades renales quísticas son trastornos multisistémicos y pueden tener varias ideologías diferentes. Hay muchos tipos de enfermedad renal quística. Estos incluyen ADPKD, ARPKD, síndrome de Meckel-Gruber y muchos otros. Afectan aproximadamente a una de cada 500 personas y provocan quistes no solo en el riñón, sino también en el hígado y, finalmente, conducen a pacientes con enfermedad renal en etapa terminal y fibrosis hepática.

Actualmente, hay opciones de tratamiento limitadas disponibles, que incluyen tolvaptán y terapia de reemplazo renal. Ahora, si bien estas enfermedades tienen varias ideologías diferentes, una cosa que todas comparten es que todas estas enfermedades son lo que se llama ciliopatías. Entonces, esto significa que son causados por mutaciones en genes que de alguna manera afectan los cilios celulares o la función ciliar. Entonces, los cilios primarios en el riñón son estos diminutos orgánulos sensoriales que se encuentran en la superficie apical de las células epiteliales que recubren la nefrona y el conducto colector. Todavía no entendemos completamente cómo las mutaciones en estos genes conducen a la enfermedad renal quística.

Pero un posible factor que contribuye a la progresión de la enfermedad son las células inmunitarias que están presentes en el riñón. Ahora, en el riñón quístico, hay varias células inmunitarias diferentes presentes, incluidas las células T, los neutrófilos, los monocitos y luego las células que el laboratorio está más interesado en los macrófagos residentes en el riñón. Por lo tanto, durante mucho tiempo se pensó que los macrófagos residentes en el riñón estaban involucrados en la enfermedad renal quística.

Se cree que promueven la proliferación de células epiteliales quísticas, lo que impulsa la expansión quística. También se cree que juegan un papel en la deposición de matriz extracelular, promoviendo así la fibrosis en el riñón. Y, por último, están las células residentes en los tejidos, que están en una excelente posición para afectar tanto la infiltración como la activación de otros tipos de células inmunitarias que ingresan.

Por lo tanto, los macrófagos residentes en el riñón están ahí para pensar principalmente para impulsar la progresión de la enfermedad y, por lo tanto, ser perjudiciales en el microambiente del riñón quístico. Ahora, sabemos en humanos con PKD. Durante las primeras dos décadas de vida, la función renal es en promedio normal y la progresión del quiste comienza en algún momento de la segunda década; los pacientes generalmente no alcanzan la enfermedad renal terminal hasta entre la quinta y la novena década de vida.

Entonces, en los humanos, esta es una enfermedad gradual que progresa muy lentamente. Ahora, muchos de los estudios que implican a los macrófagos en la progresión de la enfermedad se realizan utilizando modelos animales con enfermedad quística que progresa rápidamente. Entonces, si miramos la tabla que he mostrado aquí, he enumerado un par de diferentes modelos de enfermedades rápidas que usamos en animales. Ahora, en la parte superior, aquí se ve el modelo animal de CPK , este modelo sería equivalente a observar el curso completo de la enfermedad y un ser humano entre las edades de cero a cinco meses.

Entonces, estos modelos rápidos no son necesariamente homólogos a cómo la enfermedad progresa, se presenta y progresa en humanos. Sin embargo, hay modelos de enfermedades que progresan más lentamente, como el modelo Cre IFT88 que se muestra aquí abajo y luego el modelo PKD1 RC que progresan mucho más lentamente a lo largo de la vida del modelo animal y son un poco más representativos de lo que es la enfermedad. típicamente se ve como en pacientes humanos.

 Por lo tanto, nos preguntamos si los macrófagos que están presentes en estos modelos de enfermedad de progresión más lenta tendrían la misma función que los que están presentes en los modelos de enfermedad de progresión más rápida. Entonces, hoy voy a repasar datos de dos modelos diferentes, un modelo rápido, el modelo Cre IFT88 IR que usamos en nuestro laboratorio, y luego el modelo Cre IFT88 envejecido, que es un modelo de enfermedad de progresión más lenta.

Para estos experimentos, comenzamos induciendo la enfermedad quística en nuestros ratones mediante la administración de tamoxifeno. Entonces, en un grupo de ratones en la mitad inferior de este gráfico, tres semanas después de la inyección de tamoxifeno, recibieron una lesión por isquemia-reperfusión en el riñón o una lesión en el RI. Dos meses después, recolectamos el tejido renal de estos ratones y terminamos con tres grupos diferentes. Entonces, tenemos nuestro grupo quístico que progresa rápidamente.

Y luego tenemos dos controles rápidos. En el otro grupo de ratones después de la inyección de tamoxifeno, dejamos que estos ratones envejecieran y que la enfermedad progresara durante aproximadamente siete meses antes de recolectar nuestros tejidos. Y terminamos con dos grupos de ratones de este grupo de animales, tenemos nuestro grupo quístico que progresa lentamente, y luego tenemos nuestro control de envejecimiento lento. Ahora, después de recolectar los tejidos, clasificamos los grupos de células que nos interesan y luego los enviamos para la secuenciación de ARN de una sola célula.

Ahora, después de secuenciar y procesar los datos, usamos un programa llamado Seurat para generar lo que se llama proyecciones UMAP de nuestros datos de células inmunitarias. Ahora, lo que hace un UMAP es mostrarle visualmente los diferentes grupos que llamamos clústeres que están presentes en sus datos. Y cada grupo se muestra en un color diferente. Ahora, los grupos que muestro aquí están separados en función de la expresión de ciertos genes.

Entonces, en los paneles inferiores, el UMAP se superpone con un mapa de calor para mostrar el nivel de expresión de los marcadores comunes que usamos para delinear o definir nuestros grupos. Entonces, en los mapas de calor, cuanto más color rosa hay, más alto es el nivel de expresión del gen al que se hace referencia, mientras que azul significa menos expresión del gen al que se hace referencia. Entonces, en nuestro primer panel aquí, donde dice C1QA, este es un marcador de macrófago residente en macrófagos muy común, entonces, sabemos que los grupos que tienen esta expresión rosa fuerte serán nuestros grupos de macrófagos residentes en riñones.

Entonces, después de generar nuestro UMAP para nuestros cinco grupos experimentales, notamos que hay un grupo que es mucho más abundante y está progresando lentamente en el modelo de enfermedad. Y este es el grupo cuatro que he marcado con un círculo aquí en rojo. Y este es un grupo de macrófagos residentes en el riñón que encontramos definido por la expresión trem2. Trem2 es un gen que codifica el receptor activador de proteínas expresado en las células mieloides. Ahora, aunque parece más abundante en estos UMAPS, queríamos seguir adelante y cuantificar la cantidad de células como porcentaje de todas las células inmunitarias que secuenciamos.

Y como puede ver, vemos un enriquecimiento significativo de este término para agrupar en nuestro modelo de enfermedad lenta en comparación con el modelo de enfermedad rápida. Entonces, estos datos fueron de nuestra secuenciación de ARN, como mencioné, nuestro siguiente paso fue verificar estos hallazgos mediante un proceso llamado citometría de flujo. Ahora, cuando hacemos citometría de flujo, usamos anticuerpos marcados con fluorescencia para marcar nuestras células y determinar qué tipos de células están presentes. Desafortunadamente, históricamente, los anticuerpos trem2 no han funcionado muy bien. Y el trem2 de superficie también es muy comúnmente escindido por proteasas, lo que significa que puede ser difícil identificar estas células positivas para trem2 mediante citometría de flujo. Entonces, en su lugar, usamos lo que se llama un marcador sustituto, que es simplemente otro gen que está altamente expresado en nuestro grupo, pero para el cual tenemos un anticuerpo confiable para definirlo. Entonces, en este caso, estamos usando CD206 como nuestro marcador sustituto.

Y puede ver por los mapas de calor que trem2 y CD206, codificados por el gen Mrc1, tienen patrones de expresión muy similares en nuestro conjunto de datos. Entonces, utilizando nuestro marcador sustituto, analizamos las células inmunitarias renales de cada uno de nuestros cinco grupos mediante citometría de flujo. Entonces, aquí se muestran algunos diagramas de flujo representativos de los cinco grupos con el marcador de macrófagos F4/80, que se muestra en el eje x, y luego nuestro marcador sustituto se muestra en el eje Y.

Y así, el cuadro superior en estos gráficos representará nuestros macrófagos trem2 positivos que están presentes. Y como puede ver, en nuestro modelo lento, tenemos una cantidad mucho mayor de estas celdas en ese cuadro superior en el gráfico, en comparación con un modelo rápido y luego con todos nuestros grupos de control. Entonces, cuantificamos estos datos de flujo como también se muestra aquí en este gráfico, y vimos que hubo un aumento significativo en la cantidad de estas células trem2 positivas como porcentaje de nuestras células individuales vivas.

Y también tenemos algunos datos preliminares que comparan este modelo de enfermedad lenta con otros modelos de enfermedad rápida. Y aunque tenemos números bajos de N, actualmente, todavía estamos viendo en promedio más de estos macrófagos en nuestro modelo de progresión lenta en comparación con todos nuestros modelos de enfermedad de progresión rápida. Entonces, lo que les mostré hoy es que, si bien los dos tipos de modelos de enfermedades que usamos en animales, estos progresan rápidamente y progresan lentamente, comparten muchas características similares. Pero a pesar de esto, los macrófagos que están presentes en estos dos modelos de enfermedades parecen estar compuestos por diferentes poblaciones.

Entonces, para nuestras direcciones futuras con este proyecto, primero queremos ver si esta tendencia que estamos viendo de más macrófagos trem2 en nuestros modelos lentos es cierta para otros tipos de modelos de enfermedades. Entonces, tenemos una serie de otros modelos quísticos rápidos que compararemos y luego otros modelos de enfermedad quística lenta que compararemos. Y luego queremos ver si trem2 la cadena es necesaria para esta población de macrófagos.

¿Y qué sucede con la progresión de la enfermedad si eliminamos este gen o si nos deshacemos de él? Entonces, con eso, tomaré cualquier pregunta. Y me gustaría reconocer y agradecer a mi laboratorio, siempre son excelentes en nuestros largos días de experimentación, los animales de investigación y nuestra financiación que hace que esto sea posible. Y luego, la Fundación PKD y los organizadores de PKD connect por invitarme a hablar y organizar todo esto.

Elise Hoover: Fantástico . Gracias, Dr. Bland. Si no comencé con una pregunta. Entonces, mencionó que cuando está haciendo estos modelos de ratones, indujo intencionalmente una lesión en el riñón y algunos de ellos, ¿podría hablar sobre por qué lo hace?

Bland Sarah J: Entonces, cuando eliminas el gen de los cilios, cuando le damos el tamoxifeno a nuestro modelo de ratón, provoca la eliminación de un gen relacionado con los cilios. Y cuando se induce una lesión en esos animales después de la eliminación del gen relacionado con los cilios, se produce una enfermedad quística que progresa muy rápidamente. Si elimina los cilios y simplemente los deja ir, como lo hacemos con nuestra edad, todavía tendrán la enfermedad quística, solo que lleva mucho más tiempo.

Elise Hoover: Tiene sentido. Y luego, en la enfermedad quística, estos macrófagos trem2, ¿podría aclarar si son beneficiosos o perjudiciales para la progresión de la enfermedad?

Bland Sarah J: Entonces, muy buena pregunta. Y aún no estamos seguros. Entonces, en otra enfermedad que progresa lentamente, la enfermedad de Alzheimer, estos macrófagos trem2 son beneficiosos. Así, ayudan a restringir la expansión de las placas y mejoran la función cognitiva cuando están presentes. Sin embargo, en la obesidad y el cáncer, los macrófagos trem2 son perjudiciales, por lo que son malos. Entonces, realmente no estamos muy seguros de cómo irá en nuestras direcciones futuras.

Creemos que debido a que la PKD progresa lentamente de manera similar al Alzheimer, podrían ser beneficiosas. Pero no estamos seguros de que tengamos algunos modelos animales actualmente en proceso. Entonces, estamos muy emocionados de ver, ver lo que hace.

Elise Hoover: Y, ya sabes, una vez que pasas por estos experimentos en ratones, ¿cómo es para los pacientes humanos? ¿Cuándo pueden esperar ver tal vez algo traducido a ensayos clínicos?

Bland Sarah J: Entonces, lo emocionante es que, si estos macrófagos son beneficiosos y causan enfermedades, ya hay un anticuerpo en ensayos clínicos para humanos para el Alzheimer, por lo que estimula trem2 y activa estos macrófagos trem2. Entonces, si estos macrófagos son beneficiosos, ya existe un tratamiento potencial que podría usarse en pacientes. Eso es nuevamente, suponiendo que estos macrófagos sean beneficiosos.

Ahora, si no lo son si son perjudiciales, aún podríamos usar ese mismo plan de ataque. Entonces, otro tipo de anticuerpo para deshacerse de estos, se dirige específicamente a estos macrófagos, y eso también podría usarse clínicamente más adelante para los pacientes.

Elise Hoover: Muy bien. Bueno, esperamos ver los resultados de su trabajo. Muchas gracias. ¿Hay otras preguntas para el Dr. Bland? No dude en escribirlas y las pondremos al final si podemos. Muy bien, ahora nuestro último presentador, el Dr. DeRossi .

Charles DeRossi : Hola a todos. Vale, entonces, ¿puedes ver mi pantalla?

Elise Hoover: Sí .

Charles DeRossi : Está bien. Hola a todos. Entonces, no tengo nada que revelar, no lo vamos a hacer. Entonces, déjame presentarme primero. Mi nombre es Carlos De Rossi. Soy profesor asistente en el Departamento de Pediatría de la Escuela de Medicina Icahn en Mount Sinai en Nueva York. Obtuve mi doctorado. en Alemania en la Universidad de Heidelberg. Y luego llegué al Monte Sinaí. Hice mi formación postdoctoral. Posteriormente me quedé como instructor y luego fui ascendido a profesor asistente el año pasado. Entonces, mi experiencia no es en PKD sino más bien en glicosilación y estudio del metabolismo y cómo contribuyen al desarrollo y la enfermedad. Recién este año, me otorgaron la beca de investigación de la fundación PKD y un premio de investigador joven.

Entonces, ahora estoy probando lo que aprendí usando manosa, que es un azúcar simple como terapia antifibrótica, y viendo si también se puede usar para tratar los problemas hepáticos que se desarrollan en pacientes con poliquistosis renal autosómica recesiva. . Entonces , primero déjame darte un trasfondo de lo que es la fibrosis. Entonces, la fibrosis es solo su depósito excesivo de matriz extracelular en el espacio intersticial del hígado.

 Por lo tanto, esto suele ser en respuesta a una lesión. Siempre que tenga una lesión o daño hepático, como una infección de hepatitis y un trastorno autoinmune o un trastorno metabólico. Lo que sucede es que las células especializadas y la célula estrellada del hígado se activan e inician un programa de proliferación, contractilidad y depósito de colágeno para tratar de combatir las lesiones que ocurran.

El problema es que cuando tiene una lesión hepática crónica, está haciendo esto en exceso y el hígado se vuelve más rígido como si fuera progresivo. Eventualmente, desarrollará cirrosis y requerirá un trasplante de hígado, esto generalmente es fibrosis hepática por **cirrosis .** Actualmente, el único remedio para abordar esto es tratar la enfermedad primaria mediante un esfuerzo activo para desarrollar terapias antifibróticas, generalmente dirigidas a células estrelladas hepáticas desactivadas y donantes silvestres aprobados, aunque hay algunos que están en ensayos clínicos.

Entonces, en nuestras manos, estamos usando un azúcar simple manosa para tratar de desarrollar una terapia antifibrótica. Y espero que a medida que avance la charla, se convenza de esto. Entonces, ¿cómo se conecta esto con la enfermedad renal poliquística autosómica recesiva? Entonces, no voy a dar una gran información sobre la ARPKD, porque realmente no voy a hablar de eso hoy. Lo único con lo que quiero compararlo es cómo puede encajar con una constelación.

Entonces, toda una constelación es la adición de azúcares a las proteínas. Y así, PKHD1 es el gen que está involucrado en la mayoría de los casos de ARPKD, y codifica una proteína llamada sistema de fibra, que es una proteína glicosilada altamente glicosilada. Entonces, esto ya conecta ARPKD al menos en el hígado, en general a una constelación.

Entonces, realmente quiero centrarme en la enfermedad hepática que se desarrolla en ARPKD y lo que tiene aquí a medida que desarrolla un tipo de fibrosis llamada fibrosis hepática congénita y ligadura del conducto biliar debido a malformaciones de la placa dúctil y puede ver eso aquí en este ARP KD hígado y esto surge debido al desarrollo anormal de la placa dúctil en el hígado en desarrollo que normalmente produciría un sistema biliar dentro del hígado, pero en cambio, se producen por conductos biliares dilatados y podría haber problemas posteriores con esto.

Entonces, ¿cómo se conecta esto nuevamente con una constelación en general? Entonces, estamos usando, en lo que trabajo en los últimos años se centra en una enzima llamada manosa fosfato isomerasa. Entonces, esta es una enzima metabólica de carbono central que cataliza la conversión de manosa seis fosfato y fructosa seis fosfato, esto entra en este es un intermedio, la glucólisis y la manosa seis fosfato generalmente se usan en constelación porque hay mucho más fucosa seis fosfato en el célula, la manosa seis fosfato generalmente la reacción enzimática va en esta dirección y va hacia producir como constantemente proteínas.

Sin embargo, cuando tiene una mutación en MPI, podría restringir el flujo en esta dirección. Y así, ha restringido la glicosilación en las proteínas aguas abajo. Lo notable en relación con la ARPKD es que estos pacientes también desarrollan fibrosis hepática congénita con información de placas dúctiles. Entonces, esto sugiere que hay un componente de glicosilación que podría estar contribuyendo al desarrollo de este trastorno.

Lo notable de MPI CBG es que en realidad se puede tratar con manosa, por lo que, si administra suplementos orales controlados, puede evitar el defecto bioquímico y la constelación de hiperdeslizamiento correctamente aquí está viendo la transferrina sérica que se usa como un marcador para la glicosilación correcta. Puede ver pacientes con MPI CDG que no reciben tratamiento, tienen un nivel reducido de esto, pero se corrige cuando obtiene manosa.

Además, el suero para enzimas se corrige aquí y se muestra terapia anticoagulante y albúmina. Pero lo más notable es la fibrosis en el hígado aquí medida usando una técnica llamada estándar de fibra que mide la rigidez del hígado, se puede ver que cuando dos pacientes reciben manosa, se reduce la rigidez del hígado. Por lo tanto, esto respalda que la manosa se puede usar en el contexto de MPI CDG como antifibrótico.

Entonces, queríamos modelar esto en el laboratorio. Entonces , lo que hicimos fue usar un modelo de pez cebra para MPI CDG. Y podrías estar pensando guau, pez cebra, ¿por qué usarías eso? Sorprendentemente, el hígado del pez cebra es sorprendentemente similar a los hígados humanos. Y es, en realidad actúa como un gran modelo para estudiar los trastornos hepáticos humanos. Entonces, lo que hacemos es usar lo que se llama un oligonucleótido de morfolino, y agotamos el revestimiento de ARN para MPI.

Y podemos ver que en estos animales con el MPI morpholino, tienen un problema con ese hígado. Aquí se puede ver porque está iluminado en blanco, han reducido la oscilación en estos hígados. Y lo más destacable es que tienen cinco días post fecundación. Entonces, esto es en la etapa de larvas, han aumentado el tamaño de su capacidad y se reestructura. Debido a que los morfolinos no se quedan demasiado tiempo, también desarrollamos mutantes genéticos estables de MPI y en los heterocigotos, en el pez cebra adulto, entonces, esto es alrededor de 18 meses, pueden ver que la fibrosis que desarrollan es notablemente similar a lo que parece una fibrosis hepática congénita con inflamación plaquetaria ductal. Y finalmente, si observamos la expresión de marcadores fibróticos dentro de los hígados, vemos que en estos hígados morfantes vemos un aumento en estos marcadores fibróticos. Entonces, la siguiente pregunta está bien, bueno, si les damos manosa, podemos aliviar esta fibrosis y, de hecho, vemos que cuando alimentamos a los morfógenos con manosa, se recuperan.

 Y si miran aquí abajo, también ven una disminución en la expresión de los marcadores fibróticos. Entonces, la siguiente pregunta que nos hicimos fue bien, ¿es esto algo específico cuando completas MPI? ¿O es posible que esto se use generalmente como un antifibrótico?

Entonces, mire esto, primero nos quedamos con el pez cebra, e inducimos la fibrosis dándoles etanol al 2% en el agua y con o sin manosa, y de hecho, vimos que en el grupo de etanol más manosa en comparación con el grupo de etanol solo, vimos una reducción en la expresión de marcadores fibróticos. Entonces, esto sugirió que está bien, esto es más general que simplemente cuando tiene una deficiencia de MPI, puede usarse más generalmente como un marcador fibrótico.

Entonces, queríamos alejarnos de los peces y ver con este trabajo en un sistema de mamíferos, porque en última instancia, querríamos usarlo en pacientes humanos con fibrosis. Y así , usamos un hígado de tetracloruro de carbono, un modelo tóxico y una toxina hepática CCL4. Y después de cuatro semanas de inyectar CCI4 en el peritoneo, desarrollan fibrosis hepática, y les pondremos agua o agua normal o manosa en agua.

Y, de hecho, pueden ver lo que el CCL4 por sí solo desarrollaría esta fibrosis puente que podemos ver aquí, pero cuando incluimos 5% o 20% de Nanos en su agua potable, la fibrosis se redujo notablemente. Y podríamos quedarnos para esto usando colágeno. Agregue nuevamente, puede ver que la tinción roja aumenta con el CCL4, pero luego, cuando agrega un 20% de manosa, se reduce sustancialmente, y eso se cuantifica aquí.

Entonces, parece que la manosa en general actúa como un antifibrótico. Entonces, recuerde al principio, cuando dije que las células estrelladas hepáticas son el principal impulsor de la fibrosis hepática, entonces queríamos saber si la manosa actúa a nivel de las células estrelladas hepáticas. Y, de hecho, lo que encontramos fue que cuando se trata de dos líneas de células estelares hepáticas estelares hepáticas humanas diferentes donde las cultivamos en cultivo, pudimos ver que simplemente cultivándolas, estos tipos de células se activan.

Y cuando añadimos manosa, estos marcadores de activación disminuyeron. Y esto sucedió de una manera dependiente de la dosis. Entonces, parece que la manosa está actuando, y todo esto se publicó en 2019. Hicimos un análisis mucho más completo de esto. Por lo tanto, puede consultar el documento si desea ver más. Pero finalmente, lo que queríamos hacer es qué pasó con la glicosilación. Entonces, actualmente estamos viendo los hígados en el modelo CCL 4 y otro modelo animal que estamos usando. Pero cuando miramos en el estrellado hepáticocélulas, somos lo que hicimos hace años cromatografía líquida y espectrometría de masas para observar la glicosilación de proteínas globales. Una proteína que surgió fue el receptor del factor de crecimiento epidérmico. Entonces, pueden ver aquí que este es el control LX2 y en *[No está claro]* Pueden ver una reducción en, por ejemplo, este sitio de glicosilación aquí, pero cuando dábamos manosa, se iniciaba por la abundancia de la constelación en esa ubicación. Curiosamente, el EGFR se ha relacionado con la fibrosis hepática o estará relacionado con la fibrosis hepática progresiva.

Y así, nos alegramos mucho de encontrar esto. Y esto es algo en lo que nos estamos enfocando más en el futuro para ver si potencialmente podría ser un jugador importante y cómo la manosa está mediando sus efectos antifibróticos. Entonces, rápidamente en resumen, desarrollamos un modelo de pez cebra para la deficiencia de MPI que imita el MPI CBG en humanos, incluida la reducción por constelación y fibrosis hepática con malformación de doble punto.

La manosa mitiga la gravedad de la fibrosis y el pez cebra deficiente en MPI. Y la manosa también puede mitigar la fibrosis en modelos de pez cebra y ratón independientemente de la deficiencia de MPI. Y finalmente, la manosa puede reducir la respuesta fibrótica en HSC humana y restaurar la glicosilación de EGFR, HSC deficiente en MPI. Y muy rápidamente, esto pasa a cómo se relaciona con el premio PKD que recibí porque ahora estamos ampliando esta investigación a un modelo animal para ARPKD. Entonces, usando ratones knockout para PKD, PKHD1, lo vamos a tratar con o sin manosa y también usando un inhibidor de EGFR.

Esto de hecho se ha publicado en PKHD1, ratones deficientes para reducir la fibrosis en estos animales. Y miraremos hacia abajo mediante el análisis proteómico clínico y el análisis histológico y molecular. Entonces, con eso, solo quería agradecer, especialmente a Jamie y al resto de las personas en el laboratorio. Y esta es mi información de contacto. Si alguno de ustedes quisiera comunicarse conmigo, estaré encantado de tener alguna pregunta.

Elise Hoover: Gracias , Dra. Rossi. Tenemos una pregunta sobre los tipos de nódulos hepáticos. ¿Puede comentar sobre la manosa en folicular nodular, hiperplasia, hiperplasia?

Charles DeRossi : Bueno, ¿qué sé yo? Vi que querías decir efectivo.

Elise Hoover: ¿Hay? ¿Tiene alguna investigación específica sobre los tipos de nódulos hepáticos con manosa o es más general?

Charles DeRossi : Entonces, vi que no estoy familiarizado con esos nódulos y te digo la verdad. Entonces, ¿es preneoplásico o algo así? ¿O son solo, son estos quistes?

Elise Hoover: ¿Poco claro claro? Podría conectarte más tarde con el, decimos **que** te haces la pregunta.

Charles DeRossi : Bueno, entonces, no sé, de improviso. esa respuesta Se ha demostrado que la manosa es algo beneficiosa para las personas con trastornos autoinmunes, que las personas en modelos animales de trastornos autoinmunes, como la enfermedad inflamatoria intestinal, porque parece inducir la expansión de las células T reguladoras, lo que modula la respuesta inmunitaria, y lo hace. a través de un mecanismo beta del factor de crecimiento transformante? Oh, bueno, no están exactamente seguros de cómo funciona eso. Entonces, hay otros trastornos para los que esto puede ser útil.

Elise Hoover: ¿Qué pasa con la fibrosis renal? ¿Hay alguna evidencia de que la gestión tenga un impacto? -

Charles DeRossi : Esa es una gran pregunta. Y en realidad, eso es algo que sabes, ya que me estoy expandiendo a PKD. Ahora, eso es algo que me gustaría ver porque creo que sería efectivo. Si lo. Entonces, esto es algo que vigilaré mientras realizo estos experimentos en modelos animales.

Elise Hoover: Y también, ya sabes, si estamos pensando en usar manosa como terapia, ¿hay algún efecto secundario negativo que conozcas?

Charles DeRossi : Entonces, en general, la manosa se considera muy segura, es solo un azúcar simple que se puede comprar sin receta. Hay algunos casos en los que los pacientes pueden tener algo de hinchazón gastrointestinal, especialmente si saben, honestamente, porque el intestino no lo absorbe de manera muy eficiente. Y así, tienes esto. Si comes muchas manosas, será un montón de tu intestino y tendrás debido a consideraciones osmóticas, tendrás líquido en tu intestino.

La otra cosa de la que debe tener cuidado es si tiene una deficiencia de MPI porque cuando tiene una deficiencia de MPI, puede que la MPI sea importante y movemos cualquier exceso de manosa y, por lo tanto, si no tiene o si tiene si no tiene MPI, es un letal embrionario, sabe que no es compatible con , si tiene baja actividad de MPI, puede acumular manosa seis fosfato y esto podría tener algunos efectos perjudiciales. Pero, en términos generales, la manosa es segura y ya se usa para tratar MPI CDG y para tratar infecciones del tracto urinario en la clínica.

 *[Fin de audio] [1:01:06]*