



# Συσχέτιση των CD4<sup>+</sup> Τ λεμφοκυττάρων με τη θνησιμότητα σε άνδρες με καρδιονεφρικό σύνδρομο τύπου 2 ανεξάρτητα από το μοντέλο καρδιακής ανεπάρκειας του Seattle

Ανίλα Ντούνι<sup>1</sup>, Ιωάννης Αλέκος<sup>1</sup>, Άρης Μπεχλιούλης<sup>2</sup>, Αθανάσιος Κίτσος<sup>1</sup>, Ιωάννης Μαλλιώρας<sup>1</sup>, Χρήστος Γεωργόπουλος<sup>1</sup>, Λάμπρος Λάκκας<sup>2</sup>, Γεώργιος Μαρκόπουλος<sup>3</sup>, Γεώργιος Μπαξεβάνος<sup>3</sup>, Γεώργιος Βαρθολομάτος<sup>3</sup>, Κατερίνα Νάκα<sup>2</sup>, Ευαγγελία Ντουνούση Ε<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Τμήμα Νεφρολογίας, Ελλάδα

<sup>2</sup>Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Τμήμα Χειρουργικής και μονάδα νεφρικών μεταμοσχεύσεων, Ελλάδα

<sup>3</sup>Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Τμήμα Αιματολογίας – Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, Ελλάδα

**CKD**

**Chronic  
inflammation**

Oxidative stress

**Endothelial  
dysfunction**

- *Monocytes subsets*
- *Natural Killer (NK) cells and Natural Killer T (NKT) cells*
- *Lymphocyte subsets and T regulatory cells - Tregs*

**ACCELERATED  
ATHEROSCLEROSIS**

**LVH**

**HF**

## MONOCYTE SUBSETS AND THE INFLAMMATORY PARADIGM OF HEART FAILURE: IMPLICATIONS FOR CKD

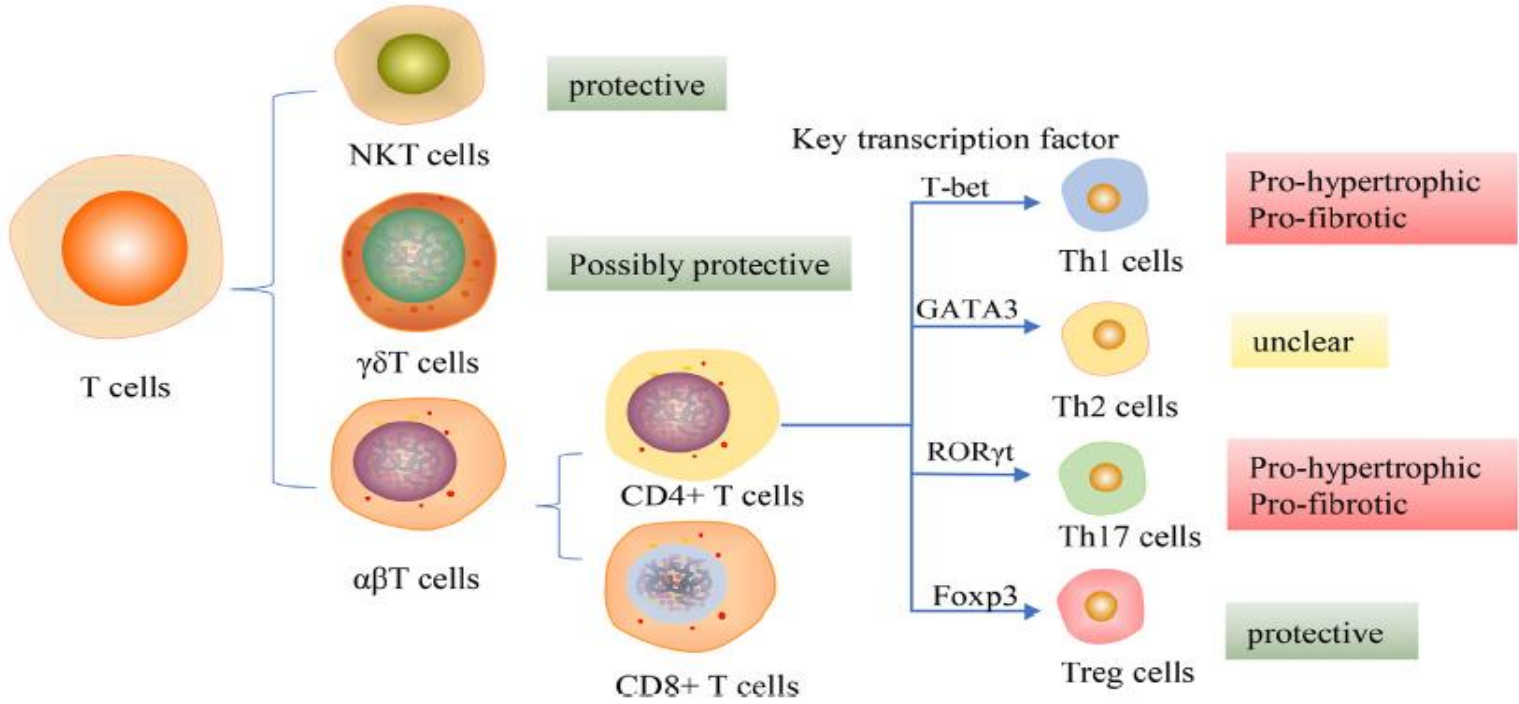
---

- Monocytes are considered an essential component of the inflammatory cascade in HF.
- Proinflammatory CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte counts are elevated in patients with both acute and stable chronic HF and have been associated with CKD progression, mortality and rehospitalization.
- There is defective regulation of monocyte apoptosis in patients with concomitant HF and CKD.
- Interventions used to treat HF, including RAS blockade and  $\beta$ -blockers, attenuate monocyte activation and cytokine production in in vitro models.

# T cells are major contributors to Heart Failure

- T-cell activation combined with activation of the LV endothelium results in LV T-cell infiltration.
- CD4+ T cells promote the transition from hypertrophy to HF during chronic pressure overload.

**Data on B cells in heart failure are scant.**



Saigusa et al, Nat Rev Cardiol. 2020  
 Liu et al, J Mol Cell Cardiol. 2019  
 Nevers et al, Circ Heart Fail. 2015  
 Laroumanie, Circulation 2014

# The Seattle Heart Failure Model

## Prediction of Survival in Heart Failure

Wayne C. Levy, MD; Dariush Mozaffarian, MD, MPH; David T. Linker, MD;  
Santosh C. Sutradhar, PhD; Stefan D. Anker, MD; Anne B. Cropp, PharmD; Inder Anand, MD;  
Aldo Maggioni, MD; Paul Burton, MBBS, PhD; Mark D. Sullivan, MD, PhD; Bertram Pitt, MD;  
Philip A. Poole-Wilson, MD; Douglas L. Mann, MD; Milton Packer, MD

*Circulation. 2006*

The Seattle Heart Failure Model provides an accurate estimate of 1-, 2-, and 3-year survival with the use of easily obtained clinical, pharmacological, device, and laboratory characteristics.

- ✓ NYHA class
- ✓ ischemic etiology
- ✓ diuretic dose
- ✓ EF
- ✓ SBP
- ✓ sodium
- ✓ hemoglobin
- ✓ percent lymphocytes
- ✓ uric acid
- ✓ cholesterol

Renal function was not an independent predictor

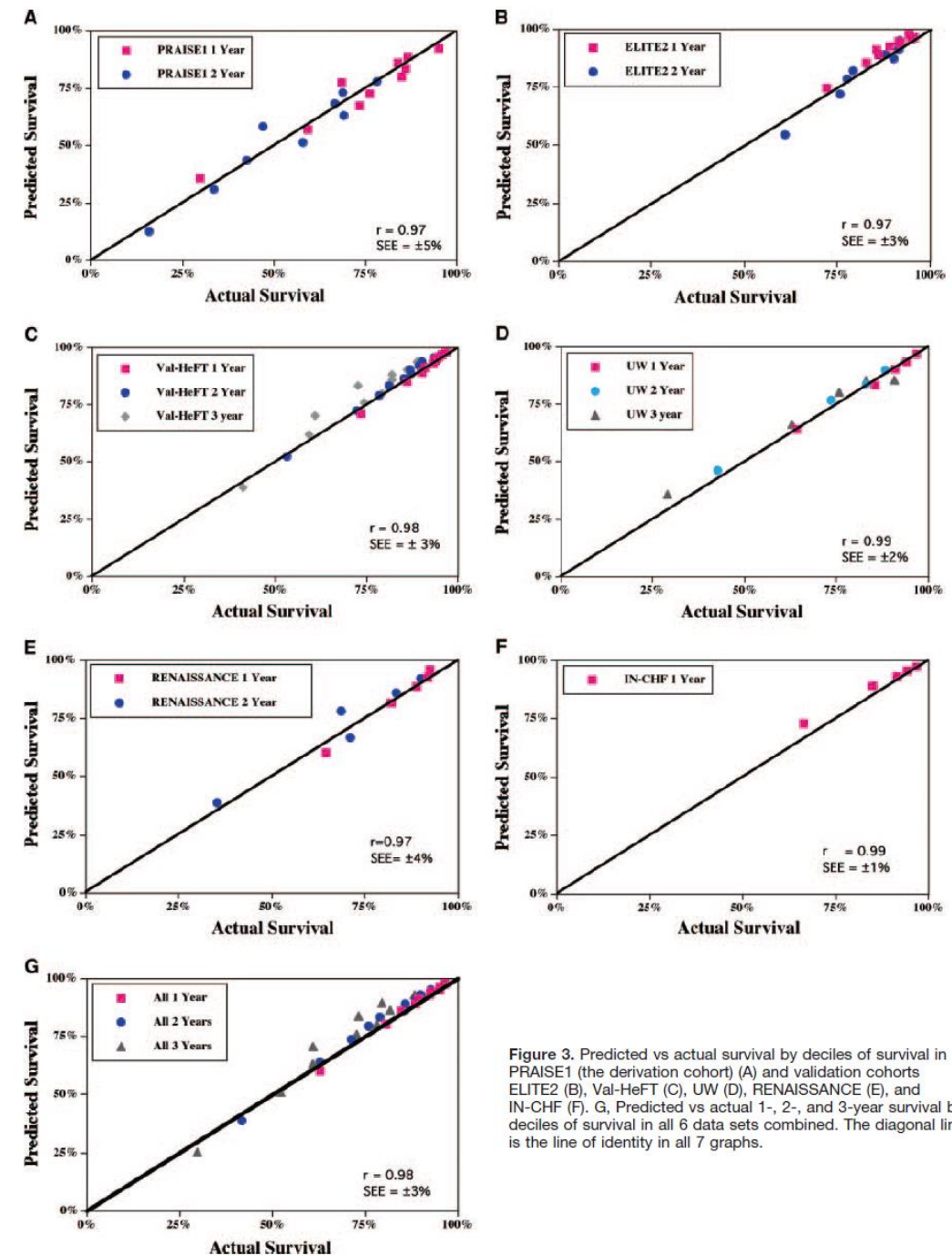






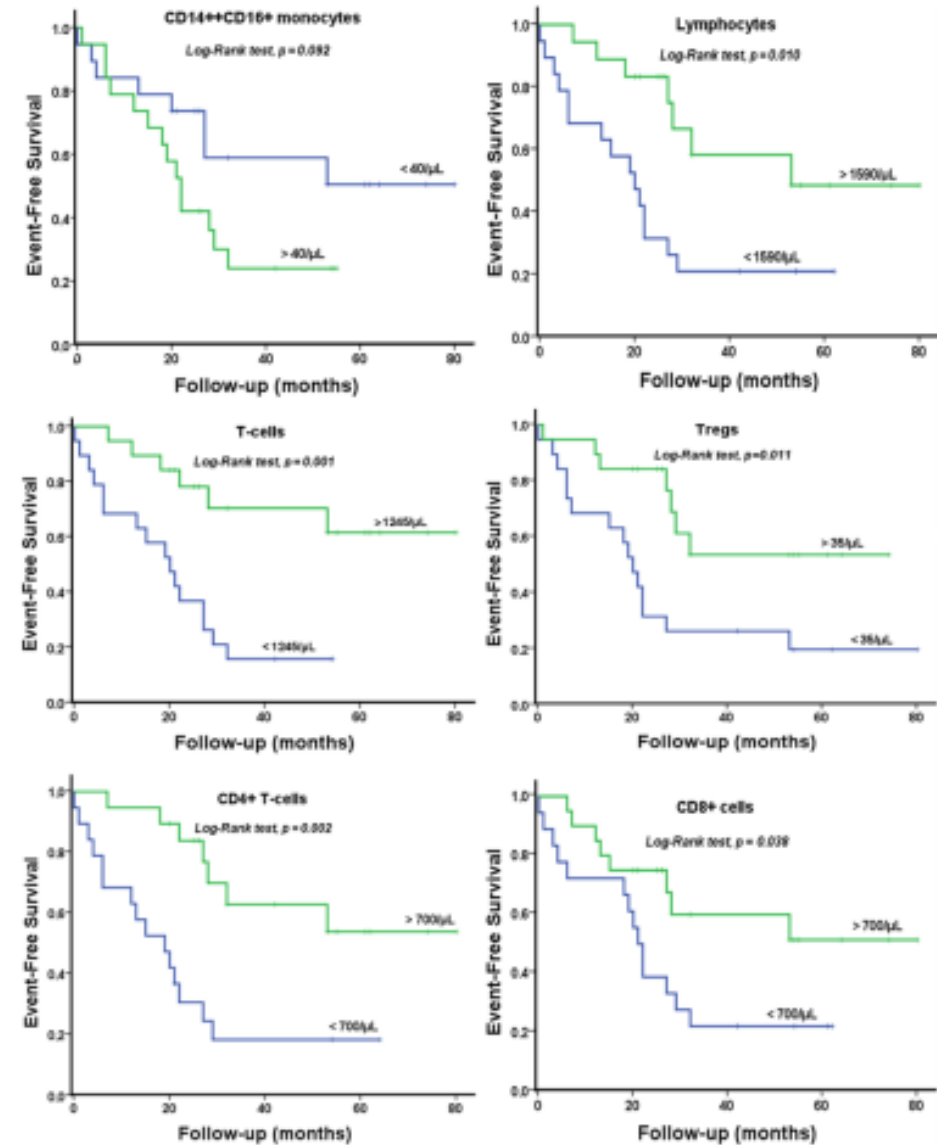
Figure 3. Predicted vs actual survival by deciles of survival in PRAISE1 (the derivation cohort) (A) and validation cohorts ELITE2 (B), Val-HeFT (C), UW (D), RENAISSANCE (E), and IN-CHF (F). G, Predicted vs actual 1-, 2-, and 3-year survival by deciles of survival in all 6 data sets combined. The diagonal line is the line of identity in all 7 graphs.

# Differences in the Profile of Circulating Immune Cell Subsets in Males with Type 2 Cardiorenal Syndrome versus CKD Patients without Established Cardiovascular Disease

Anila Duni<sup>1,2</sup>, Athanasios Kitsos<sup>1,2</sup>, Aris Bechlioulis<sup>3</sup>, Georgios S. Markopoulos<sup>4</sup> , Lampros Lakkas<sup>3</sup>, Gerasimos Baxevas<sup>4</sup>, Michail Mitsis<sup>2</sup>, George Vartholomatos<sup>4</sup> , Katerina K. Naka<sup>3</sup> , and Evangelia Dounousi<sup>1,2,\*</sup> 

*Biomedicines* 2023

- Decreased lymphocytes, T-lymphocytes, CD4+ T-cells, CD8+ T-cells, Tregs, and increased CD14++CD16+ monocytes were associated with mortality at a median follow-up of 30 months ( $p < 0.05$  for all).
- In a multivariate model including all six immune cell subsets, only CD4+ T-lymphocytes remained independent predictors of mortality (OR 0.66; 95% CI 0.50–0.87;  $p = 0.004$ ).



## Σκοπός μελέτης

---

- Η εκτίμηση της συμπληρωματικής προγνωστικής αξίας επι του SHFM ενός επιλεγμένου panel υποπληθυσμών ανοσοκυττάρων σε άρρενες ασθενείς με ΚΝΣ τύπου 2.

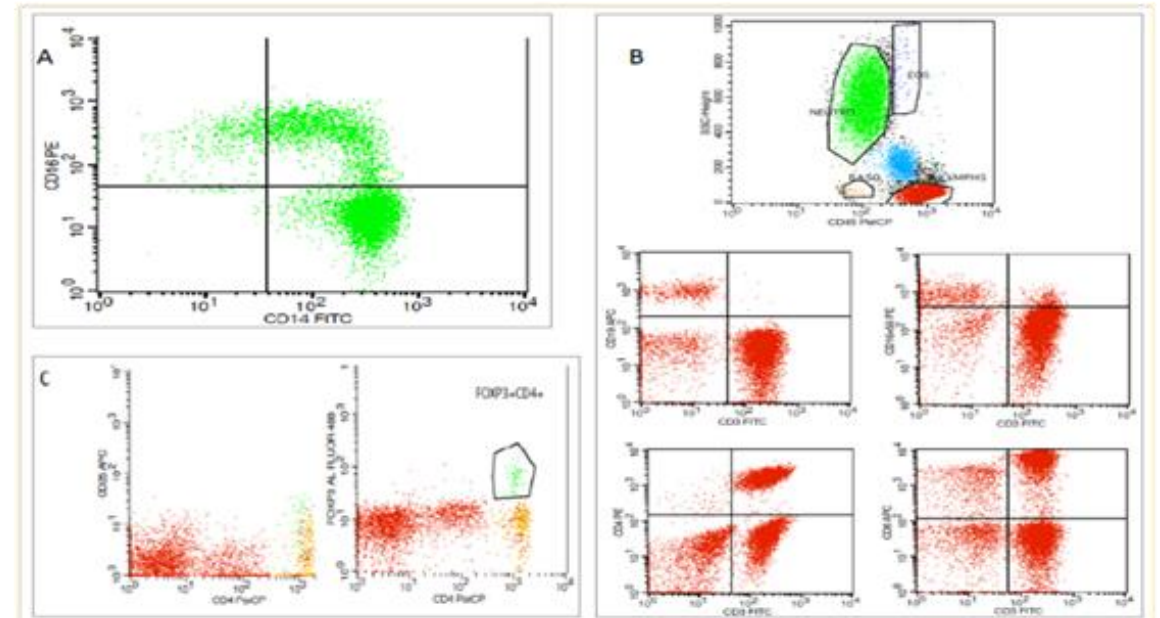
## Υλικό και Μέθοδος

---

- 36 άνδρες με ΚΝΣ τύπου 2 συμπεριλήφθησαν στην παρούσα προοπτική μελέτη παρατήρησης.
- Κριτήρια αποκλεισμού ήταν το ιστορικό αυτοάνοσων παθήσεων, κακοήθειας και χρόνιων λοιμώξεων.
- Καταγράφηκαν τα δημογραφικά και κλινικά δεδομένα από τους κλινικούς φακέλους των ασθενών ενώ μετρήθηκαν οι κλασσικοί εργαστηριακοί αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες.

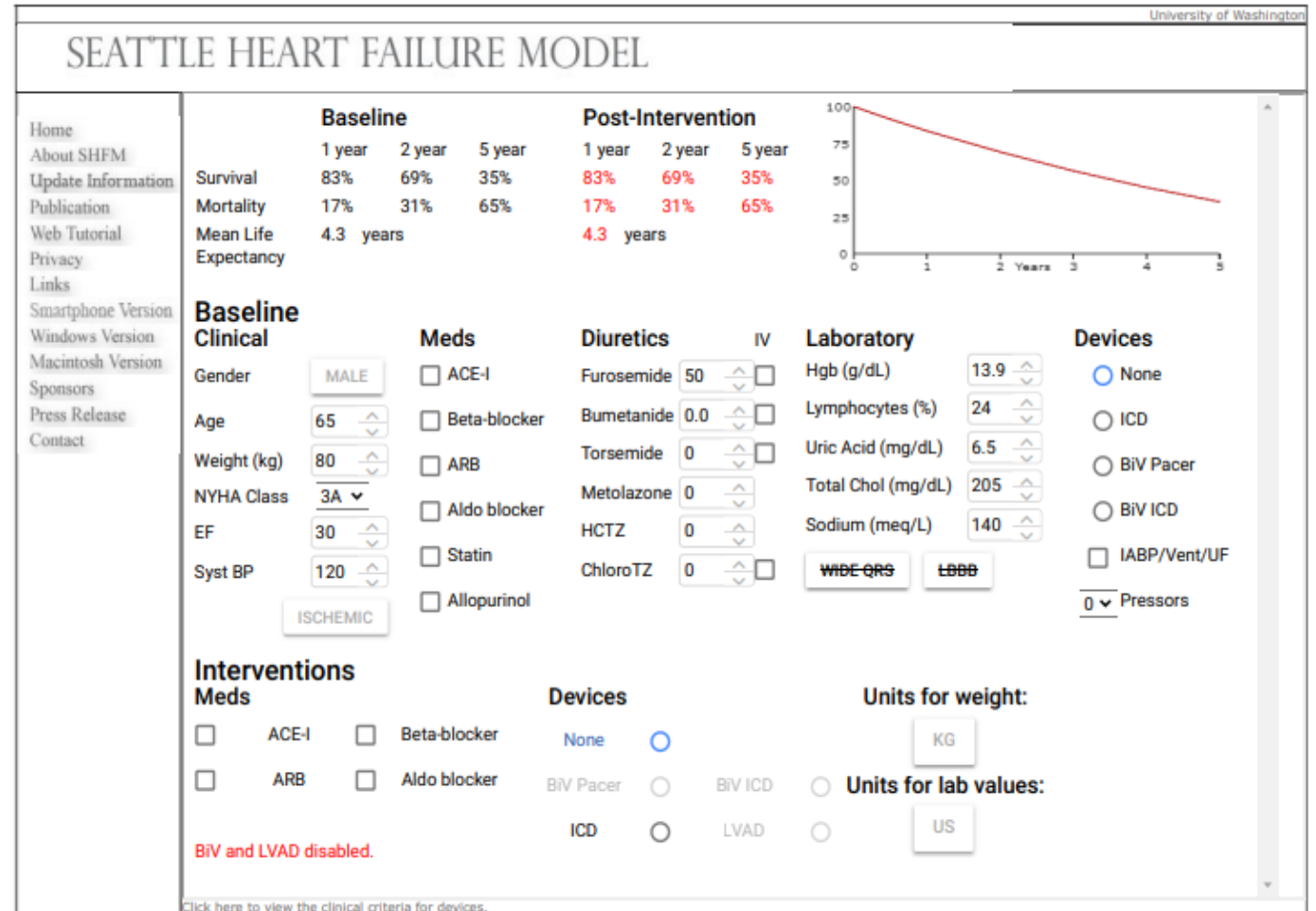
# Υλικό και Μέθοδος

- Μετρήθηκαν με κυτταρομετρία ροής:
- οι υποτύποι των μονοκυττάρων CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> και CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>
- οι φυσικοί φονείς (NK, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>)
- οι υπότυποι των λεμφοκυττάρων CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup> Β-λεμφοκύτταρα, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Τ-κύτταρα, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> Τ-κύτταρα και Τ-ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>)



# Υλικό και Μέθοδος

- Το SHFM score εκτιμήθηκε απο το online updated calculator <https://depts.washington.edu/shfm>.



# Υλικό και Μέθοδος

---

- Μετά την αρχική εκτίμηση, οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν μέχρι την εκδήλωση χρόνιας νεφρικής νόσου (ΧΝΝ) τελικού σταδίου ή την εκδήλωση του κύριου καταληκτικού σημείου της μελέτης που ήταν ο συνδιασμός ολικής και καρδιαγγειακής θνητότητας.
- Με λογαριθμική παλινδρόμηση και με ανάλυση της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC) εκτιμήθηκαν η προγνωστική αξία των ανοσοκυτταρικών υποπληθυσμών ως προς την παρατηρούμενη και την υπολογιζόμενη από το SHFM θνητότητα.

# Αποτελέσματα

Descriptive characteristics	
Age, years	73±9
Diabetes Mellitus	58%
Arterial Hypertension	28%
Coronary artery disease	75%
Atrial Fibrillation	69%
Left ventricular EF <30%	47%
NYHA class	
II	55%
III	45%
Medications	
RAASi	39%
B blockers	89%
Statins	83%
eGFR, ml/min/1.73 m <sup>2</sup>	36.8±12.9
UPCR (g protein/g creatinine)	0.19 (0.10–0.52)
BNP (pg/mL)	324 (184–797)

# Αποτελέσματα

## Immune cell subpopulations in patients with type 2 CRS

Monocytes (N)	600 (IQR 400-700)
Monocytes (%)	6.5 (IQR 5.4-8.1)
CD14++CD16- (N)	450±184
CD14++CD16- (%)	80.6±10
CD14++CD16+ (N)	41 (IQR 24-78)
CD14++CD16+ (%)	8 (IQR 5.6-12.0)
CD14+CD16++ (N)	22 (IQR 12-36)
CD14+CD16++ (%)	4.2 (IQR 2.7-6.6)
Lymphocytes (N)	1557±691
Lymphocytes (%)	18.7±8.3
T-lymphocytes (N)	1227±510
T-lymphocytes (%)	81.7±8.7
B-lymphocytes (N)	68 (IQR 31-104)
B-lymphocytes (%)	4.2 (IQR 2.2-9.0)
NK cells (N)	148 (IQR 103-258)
NK cells (%)	10.7 (IQR 7.1-16.6)
CD4+ T-Cells (N)	732±308
CD4+ T-cells (%)	48.6±10.4
CD8+ T-cells (N)	411 (IQR 224-720)
CD8+ T-cells (%)	28.5 (IQR 23.3-38.0)
Tregs (%)	2.7 (IQR 2.0-3.9)
T Regs (N)	36 (IQR 24-49)

# Αποτελέσματα

---

- Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 29,8 +/- 3,4 μήνες.
- 21 ασθενείς (58%) απεβίωσαν και 5 ασθενείς (14%) εμφάνισαν ΧΝΝ τελικού σταδίου στη διάρκεια της μελέτης.
- Το σκορ του SHFM στο πρώτο έτος συσχετίσθηκε με την παρατηρούμενη θνητότητα ( $r=0.500$ ,  $p=0.001$ ), αλλά όχι με την εξέλιξη σε ΧΝΝ τελικού σταδίου.

# Αποτελέσματα

---

- Τα ολικά λεμφοκύτταρα, T-λεμφοκύτταρα, CD4+ T-κύτταρα, CD8+ T-κύτταρα και T-ρυθμιστικά συσχετίστηκαν με την SHFM υπολογιζόμενη και με την παρατηρούμενη θνητότητα.

---

### Significant univariate associations of cell subtypes with SHFM mortality score

---

	<i>R, p value</i>
Total Lymphocytes	-0.516, 0.001
T- cells	- 0.543, 0.002
CD4+ T cells	- 0.518, 0.001
CD8 + T cells	-0.409, 0.013
T regs	-0.376, 0.024

---

- Τα CD14++CD16+ μονοκύτταρα συσχετίστηκαν μόνο με την παρατηρούμενη θνητότητα ( $r=0,383$ ,  $p=0,021$ ).

# Αποτελέσματα

---

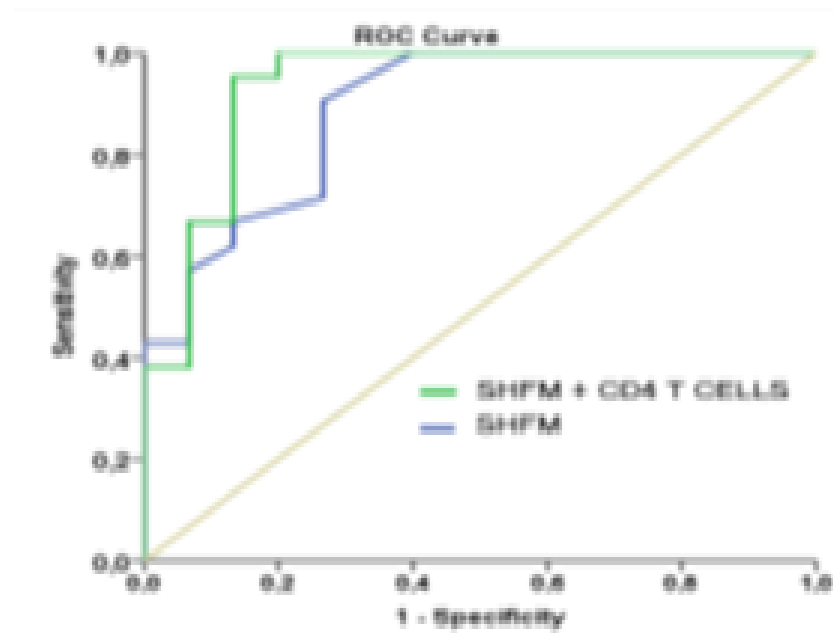
## Προσαρμόζοντας για την SHFM-υπολογιζόμενη θνητότητα

- μόνο τα CD4<sup>+</sup> T-κύτταρα παρουσίασαν ανεξάρτητη συσχέτιση με την παρατηρούμενη θνητότητα (OR=0,99, p=0,045).
- τα Tregs παρουσίασαν μία μη σημαντική τάση συσχέτισης με την παρατηρούμενη θνητότητα (OR 0.95, p=0.063).

# Αποτελέσματα

Η προσθήκη των CD4+ T λεμφοκυττάρων ή των Tregs στο SHFM βελτίωσε την AUC για τη θνητότητα όμως όχι σημαντικά.

- *AUC SHFM 0.833*
- *AUC SHFM + CD4+ T cells 0.933 (p=0.155 vs SHFM)*
- *AUC SHFM + Tregs 0.933 (p=0.145 vs SHFM).*



# Strengths and limitations of the study

---

## ✓ Σχεδιασμός της μελέτης

- Ομοιογενής κοορτή ασθενών με ΚΝΣ τύπου 2 ως προς τα κλινικά χαρακτηριστικά
- Κατάλληλη διάρκεια παρακολούθησης
- Περιεκτικό συνδυαστικό καταληκτικό σημείο
  - Μικρό μέγεθος κοορτής
  - Φυλετικοί περιορισμοί
  - Μελέτη παρατήρησης

## Συμπεράσματα

---

- Σε μια μικρή ομάδα αρρένων ασθενών με ΚΝΣ τύπου 2, ο αριθμός των  $CD4^+$  Τ-λεμφοκυττάρων συσχετίσθηκε ανεξάρτητα με τη θνητότητα και μετά τη προσαρμογή για το SHFM.
- Ωστόσο, ο συνδυασμός του SHFM με τον αριθμό των  $CD4^+$  λεμφοκυττάρων δεν βελτίωσε σημαντικά την προγνωστική ακρίβεια των μοντέλων, το οποίο πιθανά οφείλεται και στο μικρό αριθμό των ασθενών.
- Μεγαλύτερες κλινικές μελέτες χρειάζονται ώστε να εκτιμήσουν τη σημασία των ειδικών υποπληθυσμών των μονοκυττάρων ως προς την πρόγνωση και αντιμετώπιση των ασθενών με καρδιονεφρικό σύνδρομο.

