



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina



BIOMARCADORES DE TOLERANCIA OPERACIONAL EN TRASPLANTE RENAL Y HEPÁTICO

TRABAJO DE FIN DE GRADO



CURSO 2019/2020

AUTORA: CLAUDIA SEVILLA DÍEZ

TUTORES:

DRA. CORALINA MELISSA BERNUY GUEVARA

Laboratorio de Macrodatos, Farmacología, Universidad de Valladolid

DR. FRANCISCO HERRERA GÓMEZ

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

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT	2
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1. Razón de la revisión	4
2.2. Objetivo de la revisión	4
3. MATERIALES Y MÉTODOS	5
3.1. Diseño de la revisión sistemática y búsqueda de la literatura	5
3.1.1. Primera fase: establecer la pregunta de investigación y búsqueda general de la literatura publicada	5
3.1.2. Segunda fase: criterios de selección de los artículos	6
3.1.3. Tercera fase: aplicabilidad de los criterios en la selección de artículos	6
3.2. Extracción de datos y análisis	8
3.2.1. Descripción de los estudios	8
3.2.2. Evaluación de la calidad metodológica de los mismos (riesgo de sesgos)	8
3.3. Síntesis de estudios	10
3.4. Diseño de estudios	11
4. RESULTADOS	11
4.1. Diferencias y similitudes entre poblaciones	11
4.2. Diferencias y similitudes en relación a la intervención	12
4.3. Diferencias y similitudes en los resultados	13
5. DISCUSIÓN	15
5.1. Importancia del estudio	15
5.2. Coincidencia con otros estudios	16
5.3. Evaluación de la heterogeneidad y limitaciones del estudio	16
5.4. Citometría de flujo	16
5.5. Conclusión	17
5.6. Qué queda por hacer	18
6. PÓSTER	19
7. BIBLIOGRAFÍA	20
8. ANEXOS	22
8.1. ANEXO I. Palabras más repetidas de los artículos	22
8.2. ANEXO II. Tablas PICO y características demográficas de todos los artículos de la revisión	23
8.2.1. Trasplantados renales	23
8.2.2. Trasplantados hepáticos	30

1. RESUMEN/ ABSTRACT

RESUMEN

- **Contexto:** Los datos publicados acerca del fenómeno de tolerancia operacional espontánea tras el cese de la inmunosupresión en trasplantados renales y hepáticos, motivan el interés actual para la definición de biomarcadores en este estado de ausencia de respuesta inmunológica.
- **Métodos:** Se elabora un análisis de la evidencia con relación al fenotipo inmune asociado a la tolerancia operacional tras el trasplante renal y hepático. Es llevada a cabo una revisión sistemática cualitativa / síntesis narrativa que explora la asociación y los hallazgos entre los estudios incluidos, describiéndose en la presente revisión sistemática.
- **Resultados:** En total se han incluido 14 estudios. Cinco estudios sobre tolerancia operacional en trasplantados renales y 9 hepáticos. En el primer grupo se observaron 71 tolerantes operacionales, y fueron 145 pacientes en el segundo. La técnica más utilizada para definir los biomarcadores de tolerancia fue la citometría de flujo. En global, los pacientes de ambos grupos presentaban una expresión mayor del número de células Treg CD4 + CD25+ Foxp3, siendo este el marcador inmunofenotípico principal en la totalidad de los estudios analizados. Desglosando a los pacientes en las dos poblaciones, la renal también presentaba mayor expresión de linfocitos B y una menor expresión de la vía IL4/STAT6, y, por su parte, la población hepática un mayor número de linfocitos T $\gamma\delta$ y un mayor número de células Treg CD4 + CD8+ y CD3+.
- **Conclusiones:** La importancia de la citometría de flujo es clave para la identificación de biomarcadores inmunofenotípicos que predigan la respuesta a la retirada de inmunosupresores. Todos los estudios incluidos en esta revisión han utilizado esta herramienta para la elaboración y el análisis de los resultados.

PALABRAS CLAVE: Tolerancia operacional, Trasplante renal, Trasplante hepático, Linfocitos T, células reguladoras T, Biomarcadores, CD4, CD25, Citometría de flujo, FOXP3

ABSTRACT

- Context: The published data about the spontaneous operational tolerance phenomenon after the withdrawal of immunosuppressants on kidney and liver transplant patients gives rise to the current interest for the definition of biomarkers in this state of absent immune response.
- Methods: An evidence analysis is elaborated concerning the immune phenotype associated with operational tolerance after renal and liver transplantation. It is carried out by a qualitative systematic review / narrative synthesis which explores the association and the findings among the included studies, being described in the present systematic review.
- Results: In total 14 studies have been included. Five studies about operational tolerance in renal transplant patients and nine in hepatic transplant patients. In the first group 71 operational tolerants were noticed, and 145 were observed in the second group. The most commonly used technique to define the tolerance biomarkers was the flow cytometry. In global, patients from both groups showed and increased expression of the Treg CD4+CD25+ Foxp3, being this the main immunophenotypic marker in all the analyzed studies. Disaggregating the patients in the two populations, the renal one showed a higher expression of B lymphocytes and a smaller expression of the IL4/STAT6 via, and, on their side, the hepatic population showed a greater number of lymphocytes T $\gamma\delta$ and a higher number of of Treg CD4 + CD8 + and CD3 + cells .
- Conclusions: The importance of flow cytometry is key for the immunophenotypic biomarkers identification which predict the answer to the immunosuppressants withdrawal. All the studies included in this review have made use of this tool for the development and analysis of the results

KEY WORDS: Transplantation Tolerance, Kidney transplantation, Liver Transplantation, T-Lymphocytes, Regulatory T cells, Biomarkers CD4, CD25, Flow Cytometry, FOXP3

2. INTRODUCCIÓN

Hay ocasiones en las que tras un trasplante sucede el denominado fenómeno de tolerancia operacional. Consiste en la preservación del injerto durante tiempo indefinido en ausencia de tratamiento inmunosupresor. Este fenómeno prueba que la tolerancia inmunitaria se puede dar en humanos.(1,2)

Este suceso es especialmente importante en trasplante renal y hepático, ya que es en estos dos grupos en los que se ha registrado en mayor porcentaje sucesos de tolerancia operacional.

La evidencia actual sostiene que aproximadamente entre el 20 y el 30% de los trasplantes hepáticos experimentan el fenómeno de tolerancia operacional (1,3). Es menos conocido el porcentaje en el que los trasplantados renales experimentan esta casuística, aunque se han reportado casos (4)

2.1 Razón de la revisión

Una vez comprendida la definición, parece obvia la importancia que este suceso entraña. La terapia inmunosupresora requerida en los pacientes trasplantados supone un gran aumento de la morbilidad en los mismos: aumento de infecciones, complicaciones metabólicas, toxicidad metabólica y procesos neoplásicos, entre otras.(4,5)

La búsqueda de biomarcadores que predigan a sujetos tolerantes operacionales parece una labor fundamental en el contexto del trasplante. El éxito en esta tarea se traducirá en una reducción de la morbimortalidad de estos pacientes.

Separando a priori a los sujetos con el perfil de tolerancia de los que no lo tienen, sería factible la elaboración de una estrategia terapéutica diferente en ambos grupos. Siendo posible, incluso, la no implantación de terapia inmunosupresora en los individuos con el privilegio inmunológico detectado, reduciendo así a la mínima expresión las secuelas de las terapias inmunosupresoras en estos pacientes. Y, por el contrario, detectando precozmente a los grupos no tolerantes. Advirtiendo en estos últimos que muy probablemente requieran de terapias inmunosupresoras sin posibilidad de retirada total (4,6–9).

2.2 Objetivo de la revisión

Revisión de la literatura científica publicada en relación con los biomarcadores que predigan tolerancia operacional espontánea en trasplante renal y hepático. Esta es una búsqueda ambiciosa, ya que los mecanismos fisiopatológicos de la tolerancia operacional aún son poco conocidos, y esto dificulta el estudio de marcadores biológicos relacionados con el fenómeno. Aun así, encuentro trascendental aunar la ciencia que existe publicada en las bases de datos médicas acerca de esta materia, y con ella tratar de elaborar respuestas como las que en esta revisión se exponen.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño de la revisión sistemática y búsqueda de la literatura

Se trata de una síntesis narrativa sistemática de la literatura existente acerca de biomarcadores de tolerancia operacional entre los trasplantados hepáticos y renales.

Esta es una revisión multietapa de estudios realizada de acuerdo a las guías PRISMA (10), y centrándose en la estrategia *PICO* como guía. Esta estrategia en modo de acrónimo: paciente, intervención, comparación y resultados (outcomes), engloba los cuatro componentes esenciales en a la pregunta de investigación y posibilita la construcción de la búsqueda bibliográfica. Permite la definición correcta de qué evidencia se necesita para la resolución de la pregunta clínica y maximiza la recuperación en bases de datos, evitando búsquedas innecesarias (11). La herramienta que he utilizado para ordenar la literatura ha sido *Zotero*, que es gestor de referencias bibliográficas.

3.1.1 Primera fase: establecer la pregunta de investigación y búsqueda general de la literatura publicada

En un primer momento determiné cuál era la pregunta de investigación y rellené la estrategia *PICO* con mi revisión sistemática:

P: Pacientes trasplantados renales o trasplantados hepáticos

I: Identificación de las células relacionadas con la tolerancia operacional

C: Identificación de aquellas células que no tengan relación con la tolerancia operacional

O: Número de pacientes que hacen tolerancia operacional y biomarcadores implicados

Una vez definida la pregunta de investigación, comencé la búsqueda de artículos en la base de datos *PubMed*. Esta es la base de datos principal que he utilizado para la realización de la revisión. Todos los artículos los he obtenido de *PubMed* a excepción de dos que rescaté de la literatura gris en *Google Scholar*. Las dos primeras búsquedas que realicé fueron las siguientes:

Búsqueda 1: ("Transplantation Tolerance"[Mesh]) AND "Kidney Transplantation"[Mesh]

Búsqueda 2: ("Transplantation Tolerance"[Mesh]) AND "Liver Transplantation"[Mesh]

En estas dos búsquedas utilicé el término *Mesh* que se inserta para buscar términos médicos de cualquier tipo y así cualquier base de datos puede reconocerlo. (12)

De estas dos primeras búsquedas obtuve un total de 692 artículos. De la búsqueda 1 fueron 430 y 262 de la búsqueda 2. Estos artículos los revisé uno por uno para determinar si tenían que ver con mi pregunta de investigación o no. Para determinar lo anteriormente dicho, en ocasiones era suficiente con leer el título para desecharlos y en otros artículos había que leer el *abstract* o el artículo completo. Finalmente seleccioné 157 de trasplante renal y 128 de hepático y con ellos describí las

palabras más repetidas en todos o artículos, que se encuentran en Anexo I, ese primer ejercicio se llevó a cabo para analizar de un modo muy generalista literatura acerca del tema de investigación e introducirme en la materia mediante la lectura de varios artículos. Además de obtener un listado de las palabras más repetidas.

3.1.2 Segunda fase: criterios de selección de los artículos

En esta segunda fase antes de comenzar con nuevas estrategias de búsqueda con conectores booleanos, se definen los criterios de selección de los artículos a elegir:

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	CRITERIOS DE INCLUSIÓN
Estudios con animales	Pacientes trasplantados renales
Trasplantes combinados	Pacientes trasplantados hepáticos
Trasplantes de órganos distintos a hígado o riñón	Pacientes que alcanzan la tolerancia operacional
Estudios que hablan sobre células marcadoras de rechazo agudo y no de tolerancia	Estudios de células que se expresan más en tolerantes
Estudios dirigidos a obtener unas células con fines terapéuticos en lugar de biomarcadores	Estudios con subgrupos tolerantes y no tolerantes comparados entre sí
Estudios en los que los pacientes no alcanzan tolerancia operacional	Artículos con acceso al resumen y al texto completo
Revisiones sistemáticas	Estudios observacionales (prospectivos
Estudios sin resultados clínicos	Artículos en inglés y en español
Artículos en idioma destino al inglés o español	Pacientes de todas las edades
Artículos que no permiten leer el texto completo	

Tabla 1. Criterios de elegibilidad de los artículos.

3.1.3 Tercera fase: aplicabilidad de los criterios en la selección de artículos

A continuación se procedió a la realizar otras búsquedas en la base de datos *PubMed*. Estas búsquedas fueron más dirigidas, con la intención de acotar resultados, y se usaron los denominados conectores booleanos. También se hicieron búsquedas avanzadas. Resumo en el siguiente cuadro las búsquedas realizadas en *PubMed*:

BÚSQUEDAS	BÚSQUEDA GENERALISTA	
	Primera fase	Objetivo
Búsqueda 1: ("Transplantation Tolerance"[Mesh]) AND "Kidney Transplantation"[Mesh]	De aquí seleccioné 157 artículos que podrían estar relacionados con la temática sin establecer criterios estrictos sino laxos	Revisando estos 285 artículos hice una búsqueda de las palabras más repetidas en los artículos. Obteniendo así un documento con las palabras clave (Anexo I)
Búsqueda 2: ("Transplantation Tolerance"[Mesh]) AND "Liver Transplantation"[Mesh]	De aquí seleccioné 128 artículos que podrían estar relacionados con la temática sin establecer criterios estrictos sino laxos	
	BUSQUEDA ESPECÍFICA TRAS APLICACIÓN DE CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD	
	Primera fase	Nº de artículos seleccionados finales que cumplen con todos los criterios
Búsqueda 3: ("T-Lymphocytes, Regulatory/transplantation"[Mesh]) AND "Clinical Trial" [Publication Type]	Seleccioné 4 artículos posibles	0
Búsqueda 4: ("B-Lymphocytes/transplantation"[Mesh]) AND "Clinical Trial" [Publication Type]	Seleccioné 1 artículo posible	0
Búsqueda 5: ("Kidney Transplantation"[Mesh]) AND "T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh] AND "Transplantation Tolerance"[Mesh]	Seleccioné 17 artículos posibles	2
Búsqueda 6: ("Liver Transplantation"[Mesh]) AND "T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh] AND "Transplantation Tolerance"[Mesh]	Seleccioné 15 artículos posibles	6
Búsqueda 7: ("transplant tolerance"[Text Word]) AND "kidney transplantation"[Text Word]	Ambas búsquedas 7 y 8 fueron en de tipo <i>búsqueda avanzada en Pubmed</i> . En la BUS7 seleccioné 11 y en la BUS8 13 artículos.	3
Búsqueda 8: ("transplant tolerance"[Text Word]) AND "liver transplantation"[Text Word]		1

Tabla 2. Resumen de las búsquedas en PubMed.

Como he comentado anteriormente, además de la búsqueda en la base de datos PubMed, realicé dos búsquedas en la literatura gris, en concreto en *Google Scholar*. De ahí obtuve dos artículos más del subgrupo trasplantados hepáticos.

BÚSQUEDAS	Nº de ARTICULOS SELECCIONADOS
Búsqueda 9: (GOOGLE ACADÉMICO) "R G DE LA GARZA TRASPLANTE HEPATICO" (ordenar por relevancia)	1
Búsqueda 10: (GOOGLE ACADÉMICO) "PONS JA TRASPLANTE HEPATICO" (ordenar por relevancia)	1

Tabla 3. Resumen de búsquedas en literatura gris (*Google Scholar*)

El número total de artículos seleccionados fue de 14. Distribuidos de esta manera:

- Artículos en relación con la tolerancia operacional en trasplante renal: 5. Todos de *PubMed*.
- Artículos en relación con la tolerancia operacional en trasplante hepático: 9. Siete artículos de *PubMed* y dos de *Google Scholar*.

3.2 Extracción de datos y análisis

Se trata de una revisión narrativa sistemática de datos con información presentada en forma de tablas y texto.

3.2.1 Descripción de los estudios

Los estudios seleccionados varían siendo: prospectivos, retrospectivos y transversales como se muestra en la *Tabla 6*. La totalidad de ellos dividen a los pacientes en subgrupos: tolerantes, dependientes de inmunosupresión, rechazo agudo/crónico y controles sanos. Se definen las características demográficas, intervención medida y resultados en las tablas de los Anexos 7.2.1 y 7.2.2.

3.2.2 Evaluación de la calidad metodológica de los mismos (riesgo de sesgos)

Una parte muy importante de las revisiones es el análisis de los sesgos de cada uno de los estudios. Para ello he utilizado la herramienta *QUIPs* que evalúa el riesgo de sesgos. Se determinan seis dominios a evaluar en cada uno de los artículos, y de cada dominio se puntúa como: bajo/medio/alto riesgo de sesgos en función de si cumple o no las características especificadas en el archivo *QUIPs* adjuntado en la bibliografía (13)

BIAS RENAL ARTICLES	Study participation	Study attrition	Prognostic factor measurement	Outcome measurement	Confounding measurement and account	Statistical analysis and reporting
"Differential monocyte stat6 activation" (14)	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Central role of CD45RA- "(15)	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Development of a cross-platform biomarker" (16)	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Reduced TCR signaling contributes to" (17)	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Identification of a B cell signature" (18)	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo

Tablas 4. Riesgo de sesgos en los artículos de trasplante renal con la herramienta QUIPS

BIAS HEPATIC ARTICLES	Study participation	Study attrition	Prognostic factor measurement	Outcome measurement	Confounding measurement and account	Statistical analysis and reporting
"Hepatic infiltrates in operational tolerant" (19)	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Differential profile of activated regulatory " (20)	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"FOXP3 in peripheral blood is associated" (21)	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Multiparameter immune profiling of" (22)	Bajo riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo
"The presence of FOXP3 expressing " (23)	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"HLA-G level on monocytoid dendritic" (24)	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Extracellular adenosine reversibly" (25)	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Monitorización de subpoblaciones - linfocitarias" (26)	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Bajo riesgo de sesgo
"Retirada de la inmunosupresión en el trasplante" (27)	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo	Alto riesgo de sesgo	Moderado riesgo de sesgo

Tablas 5. Riesgo de sesgos en los artículos de trasplante hepático con la herramienta QUIPS

La limitación principal de estos trabajos es el sesgo por factor de confusión. Este sesgo de confusión es especialmente prevalente en estudios de tipo observacional, que son los de la presente revisión. Se puede comprender como un problema de comparabilidad, cuyo origen reside en la imposibilidad de realizar una asignación aleatoria de la exposición en los sujetos del estudio. Con lo cual, cabe la posibilidad de que la asociación observada entre dos variables sea explicada, totalmente o en parte, mediante una distribución desigual entre los grupos de estudio de otros factores distintos a los de la exposición de interés (28). En general, los estudios relacionados con la tolerancia en trasplante hepático seleccionados en la presente revisión son estudios con menor valor y con mayor número de sesgos. Las características de la población son menos homogéneas y describen peor a los participantes de los estudios, dando menos información. Además, los dos últimos estudios en relación con tolerantes hepáticos carecen de características demográficas de los subgrupos y apenas dan información sobre métodos y materiales. Es por ello que las conclusiones sacadas de los mismos deben someterse a una evaluación más rigurosa.

3.3 Síntesis de estudios

De cada estudio he obtenido los siguientes datos relevantes, los cuales he sintetizado en tablas PICO y en tablas sobre características demográficas por subgrupos de pacientes. Parámetros analizados en cada estudio:

- Resultados:
 - Qué células y en qué medida están más expresadas en los pacientes tolerantes operacionales.
 - Qué células están más expresadas en pacientes con rechazo crónico/agudo o en dependientes de inmunosupresión.
- Características de los subgrupos
 - Número de pacientes en cada subgrupo: tolerantes, rechazo crónico/agudo, dependientes de inmunosupresión y controles sanos
 - Edad al trasplante
 - Sexo (femenino/masculino)
 - Tiempo desde el trasplante
 - Tiempo sin tratamiento inmunosupresor
 - Tipo de trasplante (vivo/fallecido)
 - Número de eventos relacionado con el rechazo agudo
 - Necesidad de transfusión sanguínea
 - Relación con la aparición de infecciones virales (VHB/VHC)
 - Más de un injerto
 - Compatibilidad HLA

3.4 Diseño de estudios

En función del diseño de estudios encontramos las siguientes agrupaciones

PROSPECTIVOS	RETROSPECTIVOS	TRANSVERSALES
“Central role of CD45RA-“ (15)	“Differential monocyte stat6 activation”(14)	“The presence of FOXP3 expressing ”(23)
“Development of a cross-platform biomarker” (16)	“Reduced TCR signaling contributes to”(17)	
Hepatic infiltrates in operational tolerant”(19)	“Identification of a B cell signature”(18)	
“FOXP3 in peripheral blood is associated”(21)	“Differential profile of activated regulatory ”(20)	
“Extracellular adenosine reversibly”(25)	“Multiparameter immune profiling of” (22)	
“Monitorización-de subpoblaciones linfocitarias”(26)	“HLA-G level on monocytoïd dendritic”(24)	
“Retirada de la inmunosupresión en el trasplante”(27)		

Tabla 6. Diseño de los estudios

4. RESULTADOS

4.1 Diferencias y similitudes entre poblaciones

El conjunto de estudios seleccionados presenta varias diferencias con relación al tipo de población estudiada que serán destacadas a continuación. Todas las características en detalle se encuentran en el Anexo II en las tablas de “características demográficas”, una por estudio.

Siguiendo el modelo PICO, comenzaremos por analizar la P de población:

Con relación a **la edad de los subgrupos** de los estudios, en los trasplantados renales hay gran homogeneidad tanto en los distintos estudios como en los subgrupos, situándose la media de edad al trasplante en 47,63 años. Sin embargo, no ocurre lo mismo en los trasplantados hepáticos, ya que de los 9 estudios seleccionados hay 5 que sí son homogéneos y tienen una media de edad de 55,52 (mayor con respecto a los renales), pero hay dos estudios en los que no se proporcionan las edades (los estudios realizados en *Google Scholar* (26,27). Y , además, existen otros dos estudios de trasplante hepático que son en población pediátrica (23,24), con unas medias de edad en todos los subgrupos de: 6,67 y 5,36 respectivamente.

Analizando **exclusivamente las edades del subgrupo de tolerantes operacionales** observamos que en pacientes renales la media se sitúa en 51,7 años. En pacientes hepáticos, siguiendo la misma

línea de situar los pediátricos aparte para no distorsionar la media, encontramos la media en 57,42 años, y en los estudios pediátricos hepáticos en 2,75 años.

Otra característica que analizar puede ser **el tiempo que están sin inmunosupresión** los pacientes tolerantes operacionales en los distintos estudios. En el grupo de trasplantados renales todos los estudios especifican este dato, siendo la media de todos ellos 6,77 años sin tratamiento inmunosupresor. En cambio, en el grupo hepático tan solo 5 de los 9 estudios especifican este dato. Siendo la media de 5,6 años libres de inmunosupresión.

En relación **con el porcentaje de sexos**, en trasplantados renales el 72,35% de tolerantes eran hombres. Y en el grupo hepático vuelve a sucedernos lo mismo que antes, de 3 grupos no hay datos, y es necesario dividir el subconjunto pediátrico, en el cual el 39% eran varones, del resto de los grupos en los cuales el 75% eran varones.

El **tiempo desde el trasplante hasta el estudio** en el grupo de trasplantados renales tolerantes fue de 15,99 años y en el hepático de 10,47. En el grupo hepático no en todos los estudios se definía esta característica, tan solo en 4 de 9.

	TRASPLANTADOS RENALES TOLERANTES	TRASPLANTADOS HEPÁTICOS TOLERANTES
Número de pacientes	71	145
Edad media al trasplante (años)	51,7	41,11
Proporción de sexos (%H)	72,35	62,99
Tipo de trasplante vivo/fallecido	36/35	No hay datos
Tiempo desde el trasplante (años)	15,99	10,47
Tiempo sin tratamiento IS (años)	6,77	5,6

Tabla 7. Resumen de las características de la población

Con respecto a las similitudes, observamos en los datos que:

- Existe predominio de sexo varón en ambos estudios.
- Tiempo desde el trasplante al estudio de más de 10 años en ambos estudios.
- Tiempo sin tratamiento inmunosupresor similar en ambos estudios, alrededor de 6 años.

4.2 Diferencias y similitudes en relación a la intervención

En relación con la I de intervención, en todos los estudios se estudian marcadores inmunofenotípicos en las células mediante citometría de flujo, cada biomarcador estudiado se puede observar con detalle en Anexo II. Algunas de las características se resumen en la tabla 8:

ARTÍCULOS DE TRASPLANTE RENAL (14–18)	ARTÍCULOS DE TRASPLANTE HEPÁTICO (19–27)
Células Treg CD4+ CD25+ Foxp3	Células Treg CD4+ CD25+ Foxp3
vía de señalización IL-6 / STAT3 e IL-4 / STAT6	Expresión de células dendríticas
Niveles circulantes CD45RA- foxp3high mTregs	Niveles circulantes CD45RA- relacionados con el antígeno D de leucocitos humanos
Expresión CD39	Expresión CD39, CD73s,
Expresión de linfocitos B y NK	Expresión de linfocitos B y NK
Medición de respuesta TH17	Expresión de linfocitos T CD3+ $\gamma\delta$
Expresión génica	Expresión génica y de miRNA específicos
Expresión de IL10	Expresión de CD8+ y CD4+

Tabla 8. Resumen de los biomarcadores más estudiados

Como podemos observar hay subpoblaciones celulares que se estudian en ambos grupos (los resaltados en color mas oscuro), sin embargo, hay otras que son específicas de uno.

4.3 Diferencias y similitudes en los resultados

Todos los resultados de esta revisión están presentados en detalle y con datos numéricos en el apartado “O” (outcomes) de las tablas PICO (Anexo II).

En cada uno de los estudios son numerosos los marcadores que se estudian con el fin de averiguar en qué subgrupo (tolerantes y no tolerantes principalmente) se elevan unos u otros. El objetivo de la presente revisión es dilucidar cuáles de ellos son los más relevantes y estadísticamente significativos, es decir, qué marcadores inmunofenotípicos representan una marca de tolerancia en varios estudios. De este modo se podría vislumbrar *una firma de tolerancia operacional* con más evidencia de la que posee cada estudio individualmente.

A continuación expongo los resultados estadísticamente significativos en ambos grupos:

TRASPLANTE RENAL PERFIL TOLERANTE OPERACIONAL	TRASPLANTE HEPÁTICO PERFIL TOLERANTE OPERACIONAL
Mayor nº de células Treg CD4 + CD25+ Foxp3	Mayor nº de células Treg CD4+ CD25+ Foxp3
Menor expresión de CD45RA	Menor expresión de CD45RA
Mayor expresión de células B totales (marcador CD19)	Mayor proporción de linfocitos T $\gamma\delta$
Disminución de la activación de la vía IL4/STAT6 en la región de monocitos	Mayor nº de células Treg CD4+CD8+ y CD3+
Mayor expresión de genes Foxp3	Genes regulados positivamente: genes involucrados en la señalización IL2, regulación transcripcional y síntesis de proteínas

Mayor nº de linfocitos NK	Expresión elevada de células dendríticas en monocitos en HLA-G en tolerantes
Menor frecuencia de la vía indirecta anti donante IFN-γ CD4 + de células T	Mayor proporción de ADO, CD39, CD73 soluble, gen ADA
Menor respuesta Th17 inflamatoria	Mayor expresión relativa de miR95, miR24, miR31, miR146a, miR155
	Mayor expresión de mRNA FOXP3
	Menor proporción de IL 6, TNFalfa, IL1 e ICAM1
	Genes regulados negativamente: respuesta al estrés, RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2 y los de respuesta inflamatoria

Tabla 9. Resumen de los resultados

Como podemos observar en las tablas, las casillas coloreadas de verde claro corresponden a características de los tolerantes renales y las de azul a hepáticos. En color rosa se han resaltado los rasgos que se han encontrado **comunes a ambos**.

La característica inmunofenotípica más importante del presente estudio son las células Treg CD4 + CD25+ Foxp3. Estas células se encuentran en la totalidad de los artículos (14–27) , y en todos ellos están elevadas en la población que experimenta tolerancia operacional espontánea. Es, por tanto, el biomarcador de este fenómeno con más evidencia científica encontrado.

Además, CD45RA mostró una expresión reducida en tolerantes renales como hepáticos, aunque esta característica tan sólo se observó en dos artículos (15,20)

Con respecto a las características de **tolerantes operacionales renales destacan** además:

- Mayor nº de linfocitos B (16,18)
- Disminución de la activación de la vía IL4/STAT6 en la región de monocitos (15)

Y con relación a **los tolerantes hepáticos:**

- Mayor proporción de linfocitos T γδ (22)
- Mayor nº de células Treg CD4+CD8+ y CD3+ (19,22–24,26)
- Genes regulados positivamente: los involucrados en la señalización IL2, regulación transcripcional y síntesis de proteínas. Genes regulados negativamente: los de respuesta al estrés e inflamatorios (19,20,22)

Y, por último, podríamos hablar de los marcadores que en lugar de elevarse se ven disminuidos, en el grupo renal:

- Como hemos dicho más arriba: disminución de la activación de la vía IL4/STAT6 en la región de monocitos (12)
- Menor frecuencia de la vía indirecta anti donante IFN- γ CD4 + de células T (16)
- Menor respuesta Th17 inflamatoria (17)

Y en el grupo hepático:

- Menor proporción de IL 6, TNF alfa, IL1 e ICAM1 (22)
- Genes regulados negativamente: respuesta al estrés, RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2 y los de respuesta inflamatoria (22)

5. DISCUSIÓN

5.1 Importancia del estudio

La tolerancia operacional es un fenómeno infrecuente pero que ha sido reportado en varias ocasiones como se contempla en los estudios analizados. Los individuos que la experimentan podrían no necesitar de tratamientos inmunosupresores y se beneficiarían de una calidad de vida superior. (1,2,4)

La importancia de este estudio reside en la identificación de marcadores inmunofenotípicos resaltados en estudios observacionales que distinga a pacientes tolerantes de los que no lo son. Acercándonos así a trazar una firma de tolerancia operacional espontánea.

5.2 Coincidencia con otros estudios

No son muchas las revisiones sistemáticas publicadas en relación a este tema. Las revisiones sistemáticas publicadas en *Pubmed* acerca de la tolerancia operacional en trasplante renal y hepático los resultados obtenidos no difieren mucho de los de la presente revisión. El artículo que más merece la pena es “*Messengers of tolerance*” (29), una revisión sistemática en el cual se analizaron varios de los artículos que se han seleccionado en el presente trabajo (18,21–23), destacando el papel de las células B en tolerancia, algunos genes como IGKV4-1, IGLL1, IGKV1D-13 y otros, importancia de los linfocitos $\gamma\delta$ y las células Treg CD4 + CD25+ Foxp3. Además, hace referencia al artículo “*Comparison of transcriptional and blood cell-phenotypic markers between operationally tolerant liver and kidney recipients*”(30) donde destaca que en los tolerantes hepáticos existe aumento de los linfocitos NK mientras que en los renales el aumento corresponde a los linfocitos B. Y que, la transcripción aumentada de linfocitos B no se encontraba en el grupo hepático. El aumento de linfocitos B en los trasplantados renales y no en los hepáticos también se encuentra en la presente revisión (ver tabla 8: Resumen de resultados). Lo que sugiere, al menos en algún grado, dos vías de tolerancia distintas en función del órgano.

5.3 Evaluación de la heterogeneidad y limitaciones del estudio

Como se explica en el apartado 3.2.2 *Evaluación de la calidad metodológica de los mismos (riesgo de sesgos)*, uno de los principales problemas de los estudios publicados y por tanto de la presente revisión, es la heterogeneidad que existe en la población estudiada. En primer lugar, los estudios que se incluyen son de tipo observacional: prospectivos, retrospectivos y transversales. Esto implica que no se ha realizado una aleatorización de los pacientes, cometiéndose el sesgo por factor de confusión. Si el sesgo es alto (observar las tablas 4 y 5 del apartado 3.2.2) puede suceder que la asociación observada entre las variables sea explicada, totalmente o en parte, mediante una distribución desigual entre los grupos de estudio de otros factores distintos a los de la exposición de interés (13) . Esta es la principal limitación de la revisión.

Además, existen más sesgos en los estudios realizados. Es el caso de la población hepática. Hay dos estudios de trasplante hepático (23,24) en los que la población es pediátrica. Es decir, tenemos 7 estudios de tolerantes hepáticos en población adulta con una media de edad de 57,42 años y 2 con una media de 2,75. A la hora de aunar los resultados se produce una gran heterogeneidad.

En general, la revisión de la tolerancia operacional hepática posee muchos más sesgos por factor de confusión, de participación y medición. Es por este motivo que son de una calidad inferior. Además, hay dos artículos (26,27) de una calidad analítica y metodológica baja. En primer lugar, no subdividen por subgrupos y no presentan tablas demográficas. En segundo lugar, pertenecen a la literatura gris (Google Scholar). Y, en tercer lugar, no permite leer el texto completo uno de ellos. Y, además, los apartados materiales y métodos y resultados no están definidos. Son artículos que incluyo en la bibliografía por ser tesis doctorales a pesar de ser literatura gris, pero que difícilmente se pueden estudiar en profundidad por su falta de transparencia, exposición clara de resultados y proceso de elaboración.

Sin embargo, la revisión del grupo tolerantes renales posee gran similitud en las características demográficas. Además, tanto los parámetros demográficos como la exposición de la metodología y resultados obtenidos se exponen de una forma clara y concisa, siendo los sesgos mucho menores y con ello mucho mayor la calidad de los artículos.

Otro aspecto que limita la revisión es que la mayoría de los estudios incluidos poseen un tamaño muestral bastante reducido, empobreciendo parcialmente que la validez de la evidencia encontrada se pueda extrapolar a toda la población.

5.4 Citometría de flujo

La elaboración de los trabajos y la obtención de los resultados viene marcada por la citometría de flujo. Sin ella, estos marcadores inmunes de los que tanto hablamos no podrían haber sido medidos

y, por lo tanto, no sabríamos qué subpoblaciones aumentan o disminuyen según los subgrupos de pacientes.

La tecnología de citometría de flujo se basa en la medición de la fluorescencia asociada a las células que han sido previamente marcadas con anticuerpos monoclonales ligados a fluorocromos. El inmunofenotipado es la aplicación más utilizada en la citometría de flujo. Emplea la capacidad de la citometría para analizar simultáneamente poblaciones mixtas de células para múltiples parámetros. Anticuerpos conjugados con fluorocromo se dirigen contra antígenos en la superficie celular, estos antígenos reciben “grupos de diferenciación” que suele corresponder a las letras “CD”. A menudo los experimentos de inmunofenotipaje también incluyen marcadores intracelulares como FcγR3, citocinas (TNF alfa, IFN gamma...), marcadores de proliferación .. etc. (31)

Además, tiene la ventaja de que teóricamente cualquier muestra biológica se puede analizar mediante citometría de flujo. Aunque la más comúnmente analizada es la sangre periférica, en concreto aislando células mononucleares de sangre periférica (PBMC) (32). Este es el método que siguen prácticamente todos los estudios incluidos en la revisión.

5.5 Conclusión

Todos los estudios incluidos contienen un subgrupo de pacientes que experimenta la tolerancia operacional espontánea, ya sea en el trasplante renal o hepático. El objetivo de la presente revisión era dilucidar qué subpoblaciones celulares podrían jugar un papel clave en el fenómeno tolerancia operacional espontánea. A la vista de los resultados obtenidos tras la revisión realizada, se obtiene que la característica inmunofenotípica más repetida y presente en los 14 artículos seleccionados son las células Treg CD4 + CD25+ FcγR3. Que han demostrado ser hasta ahora la firma de tolerancia operacional más constante (4,11–23). El marcador CD45RA mostró una expresión reducida en tolerantes renales como hepáticos, aunque esta característica tan sólo se observó en dos artículos (15,20)

Con respecto a las características de tolerantes operacionales renales destaca un número significativamente mayor de linfocitos B (13,15) y una disminución de la activación de la vía IL4/STAT6 en la región de monocitos (12). Con relación a los tolerantes hepáticos se detecta una mayor proporción de linfocitos T $\gamma\delta$ (4), un elevado número de células Treg CD4+CD8+ y CD3+ (4,16,19,20,22), varios genes regulados positivamente: como los involucrados en la señalización IL2, regulación transcripcional y síntesis de proteínas, y varios genes regulados negativamente: los de respuesta al estrés e inflamatorios (4,16,17)

Estas son las características más importantes y las que se repiten con mayor evidencia científica. Otras de las características pueden ser analizadas en el apartado 4.3 o con más detalle en Anexo II.

5.6 Qué queda por hacer

Parece claro que la actividad de las células Treg Foxp3 es eminentemente inmunomoduladora, y que su papel en la tolerancia al trasplante es clave. Además, hay otros subgrupos celulares o marcadores inmunofenotípicos explicados en el apartado 4. *Resultados* que también demuestran favorecer la tolerancia clínica al injerto.

Sin embargo, para hacer posible “una firma inmunofenotípica de tolerancia espontánea” son precisos más estudios. Estos nuevos trabajos para corroborar estos hallazgos y establecer una evidencia más estable deberían contar con un mayor tamaño muestral, un seguimiento más prolongado y una aleatorización de los pacientes integrantes.



BIOMARCADORES DE TOLERANCIA OPERACIONAL EN TRASPLANTE RENAL Y HEPÁTICO

TRBAJO DE FIN DE GRADO. CURSO 2019/2020

AUTORA: CLAUDIA SEVILLA DÍEZ

TUTORES: DRA. CORALINA MELISSA BERNUY GUEVARA Laboratorio de Macrodatos, Farmacología, Universidad de Valladolid

DR. FRANCISCO HERRERA GÓMEZ Departamento de Anatomía y Radiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid

Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

RESUMEN

- **Contexto:** Los datos publicados acerca del fenómeno de tolerancia operacional espontánea tras el cese de la inmunosupresión en trasplantados renales y hepáticos, motivan el interés actual para la definición de biomarcadores en este estado de ausencia de respuesta inmunológica.
- **Métodos:** Se elabora un análisis de la evidencia con relación al fenotipo inmune asociado a la tolerancia operacional tras el trasplante renal y hepático. Es llevada a cabo una revisión sistemática cualitativa / síntesis narrativa que explora la asociación y los hallazgos entre los estudios incluidos, describiéndose en la presente revisión sistemática.
- **Resultados:** En total se han incluido 14 estudios. Cinco estudios sobre tolerancia operacional en trasplantados renales y 9 hepáticos. En el primer grupo se observaron 71 tolerantes operacionales, y fueron 145 pacientes en el segundo. La técnica más utilizada para definir los biomarcadores de tolerancia fue la citometría de flujo. En global, los pacientes de ambos grupos presentaban una expresión mayor del número de células Treg CD4 + CD25+ Foxp3, siendo este el marcador inmunofenotípico principal en la totalidad de los estudios analizados. Desglosando a los pacientes en las dos poblaciones, la renal también presentaba mayor expresión de linfocitos B y una menor expresión de la vía IL4/STAT6, y, por su parte, la población hepática un mayor número de linfocitos T $\gamma\delta$ y un mayor número de células Treg CD4 + CD8+ y CD3+.
- **Conclusiones:** La importancia de la citometría de flujo es clave para la identificación de biomarcadores inmunofenotípicos que predigan la respuesta a la retirada de inmunosupresores. Todos los estudios incluidos en esta revisión han utilizado esta herramienta para la elaboración y el análisis de los resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

P	Pacientes trasplantados renales o trasplantados hepáticos
I	Identificación de las células relacionadas con la tolerancia operacional
C	Identificación de aquellas células que no tengan relación con la tolerancia operacional
O	Número de pacientes que hacen la tolerancia operacional y biomarcadores implicados

- Herramienta PICO para establecer la pregunta de Estrategia de búsqueda en PubMed principalmente
- Búsqueda sistemática en la literatura con criterios de inclusión y exclusión
- Selección de un total de 14 estudios incluidos en la revisión
- Gestor de referencias bibliográficas utilizado Zotero
- Herramienta QUIPS para evaluar los sesgos
- Síntesis y resumen de los estudios

Características de la población

	TRASPLANTADOS RENALES TOLERANTES	TRASPLANTADOS HEPÁTICOS TOLERANTES
Número de pacientes	71	145
Edad media al trasplante (años)	51,7	41,11
Proporción de sexos (%H)	72,35	62,99
Tipo de trasplante vivo/fallecido	36/35	No hay datos
Tiempo desde el trasplante (años)	15,99	10,47
Tiempo sin tratamiento IS (años)	6,77	5,6

RESULTADOS

TRASPLANTE RENAL PERFIL TOLERANTE OPERACIONAL	TRASPLANTE HEPÁTICO PERFIL TOLERANTE OPERACIONAL
Mayor nº de células Treg CD4 + CD25+ Foxp3	Mayor nº de células Treg CD4+ CD25+ Foxp3
Menor expresión de CD45RA	Menor expresión de CD45RA
Mayor expresión de células B totales (marcador CD19)	Mayor proporción de linfocitos T $\gamma\delta$
Disminución de la activación de la vía IL4/STAT6 en la región de monocitos	Mayor nº de células Treg CD4+CD8+ y CD3+
Mayor expresión de genes Foxp3	Genes regulados positivamente: genes involucrados en la señalización IL2, regulación transcripcional y síntesis de proteínas
Mayor nº de linfocitos NK	Expresión elevada de células dendríticas en monocitos en HLA-G en tolerantes
Menor frecuencia de la vía indirecta anti donante IFN- γ CD4 + de células T	Mayor proporción de ADO, CD39, CD73soluble, gen ADA
Menor respuesta Th17 inflamatoria	Mayor expresión relativa de miR95, miR24, miR31, miR146a, miR155
	Mayor expresión de mRNA FOXP3
	Menor proporción de IL 6, TNFalfa, IL1 e ICAM1
	Genes regulados negativamente: respuesta al estrés, RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2 y los de respuesta inflamatoria

CONCLUSIONES

- Treg CD4 + CD25+ Foxp3 es el marcador inmunofenotípico principal de tolerancia operacional espontánea en la totalidad de los estudios revisados
- La presencia de CD45RA se encuentra elevada en tolerantes renales y hepáticos
- En el grupo de trasplantados renales existe mayor expresión de linfocitos B y menor expresión de la vía IL4/STAT6
- En el grupo de trasplantados hepáticos se observó un mayor número de linfocitos T $\gamma\delta$ y de Treg CD4 + CD8+ y CD3+
- Entre las limitaciones de esta revisión se encuentran principalmente el sesgo por factor de confusión de los estudios y un número limitado de pacientes incluidos.
- Una de las herramientas clave en el desarrollo de esta investigación es la citometría de flujo. Ya que ha posibilitado enormemente la labor de investigación sobre marcadores inmunofenotípicos en la totalidad de los trabajos incluidos en esta revisión.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Newell KA, Adams AB, Turka LA. Biomarkers of operational tolerance following kidney transplantation - The immune tolerance network studies of spontaneously tolerant kidney transplant recipients. *Hum Immunol.* mayo de 2018;79(5):380-7.
2. Mas VR, Portilla D, Maluf DG. Biomarkers of Transplant Tolerance: A Provisional Analysis for an Unmet Need. *Transplantation.* abril de 2016;100(4):705-6.
3. Levitsky J, Feng S. Tolerance in clinical liver transplantation. *Hum Immunol.* 1 de mayo de 2018;79(5):283-7.
4. Ashton-Chess J, Giral M, Brouard S, Souillou J-P. Spontaneous Operational Tolerance After Immunosuppressive Drug Withdrawal in Clinical Renal Allograft Transplantation. *Transplantation.* noviembre de 2007;84(10):1215–1219.
5. Sánchez-Fueyo A. Utilización de marcadores transcripcionales en el diagnóstico de la tolerancia al injerto hepático. :7.
6. Massart A, Ghisdal L, Abramowicz M, Abramowicz D. Operational tolerance in kidney transplantation and associated biomarkers. *Clin Exp Immunol.* agosto de 2017;189(2):138-57.
7. Souillou J-P, Giral M, Brouard S. Operational Tolerance in Kidney Transplantation—Improved Terminology May Enable More Precise Investigation. *Transplantation.* septiembre de 2013;96(5):e36.
8. Salisbury EM, Game DS, Lechler RI. Transplantation tolerance. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2014;29(12):2263.
9. Lakkis FG. Transplantation tolerance: a journey from ignorance to memory. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* octubre de 2003;18(10):1979-82.
10. PRISMA_Spanish.pdf [Internet]. [citado 30 de abril de 2020]. Disponible en: https://es.cochrane.org/sites/es.cochrane.org/files/public/uploads/PRISMA_Spanish.pdf
11. Santos CM da C, Pimenta CA de M, Nobre MRC. The PICO strategy for the research question construction and evidence search. *Rev Lat Am Enfermagem.* junio de 2007;15(3):508-11.
12. Medical Subject Headings - Home Page [Internet]. U.S. National Library of Medicine; [citado 30 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>
13. Hayden JA, van der Windt DA, Cartwright JL, Côté P, Bombardier C. Assessing Bias in Studies of Prognostic Factors. *Ann Intern Med.* 19 de febrero de 2013;158(4):280.
14. Moraes-Vieira PMM, Silva HM, Takenaka MCS, Monteiro SM, Lemos F, Saitovitch D, et al. Differential monocyte STAT6 activation and CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells in kidney operational tolerance transplanted individuals. *Hum Immunol.* mayo de 2010;71(5):442-50.
15. Braza F, Dugast E, Panov I, Paul C, Vogt K, Pallier A, et al. Central Role of CD45RA- Foxp3hi Memory Regulatory T Cells in Clinical Kidney Transplantation Tolerance. *J Am Soc Nephrol JASN.* agosto de 2015;26(8):1795-805.
16. Sagoo P, Perucha E, Sawitzki B, Tomiuk S, Stephens DA, Miqueu P, et al. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest.* junio de 2010;120(6):1848-61.
17. Nova-Lamperti E, Romano M, Christakoudi S, Runglall M, McGregor R, Mobillo P, et al. Reduced TCR Signaling Contributes to Impaired Th17 Responses in Tolerant Kidney Transplant Recipients. *Transplantation.* 2018;102(1):e10-7.
18. Newell KA, Asare A, Kirk AD, Gisler TD, Bourcier K, Suthanthiran M, et al. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest.* junio de 2010;120(6):1836-47.

19. Taubert R, Danger R, Londoño M-C, Christakoudi S, Martínez-Picola M, Rimola A, et al. Hepatic Infiltrates in Operational Tolerant Patients After Liver Transplantation Show Enrichment of Regulatory T Cells Before Proinflammatory Genes Are Downregulated. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* abril de 2016;16(4):1285-93.
20. Revilla-Nuin B, de Bejar Á, Martínez-Alarcón L, Herrero JI, Martínez-Cáceres CM, Ramírez P, et al. Differential profile of activated regulatory T cell subsets and microRNAs in tolerant liver transplant recipients. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2017;23(7):933-45.
21. Pons JA, Revilla-Nuin B, Baroja-Mazo A, Ramírez P, Martínez-Alarcón L, Sánchez-Bueno F, et al. FoxP3 in peripheral blood is associated with operational tolerance in liver transplant patients during immunosuppression withdrawal. *Transplantation.* 27 de noviembre de 2008;86(10):1370-8.
22. Martínez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, et al. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* febrero de 2007;7(2):309-19.
23. Li Y, Zhao X, Cheng D, Haga H, Tsuruyama T, Wood K, et al. The presence of Foxp3 expressing T cells within grafts of tolerant human liver transplant recipients. *Transplantation.* 27 de diciembre de 2008;86(12):1837-43.
24. Castellaneta A, Mazariegos GV, Nayyar N, Zeevi A, Thomson AW. HLA-G level on monocytoïd dendritic cells correlates with regulatory T-cell Foxp3 expression in liver transplant tolerance. *Transplantation.* 27 de mayo de 2011;91(10):1132-40.
25. Baroja-Mazo A, Revilla-Nuin B, de Bejar Á, Martínez-Alarcón L, Herrero JI, El-Tayeb A, et al. Extracellular adenosine reversibly inhibits the activation of human regulatory T cells and negatively influences the achievement of the operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2019;19(1):48-61.
26. Monitorizacion-de-subpoblaciones-linfocitarias-en-el-estudio-de-tolerancia-en-el-trasplante-hepatico.pdf [Internet]. [citado 14 de abril de 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/losu_Sola/publication/301778734_Monitorizacion_de_subpoblaciones_linfocitarias_en_el_estudio_de_tolerancia_en_el_trasplante_hepatico/links/572792cd08ae262228b45036/Monitorizacion-de-subpoblaciones-linfocitarias-en-el-estudio-de-tolerancia-en-el-trasplante-hepatico.pdf
27. Pons JA. Retirada de la inmunosupresión en el trasplante hepático: la tolerancia clínica operacional depende de la expresión de células t reguladoras, disminuye el riesgo cardiovascular y mejora la función renal [Internet] [<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>]. Universidad de Murcia; 2010 [citado 14 de abril de 2020]. p. 1. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=259053>
28. Skelly AC, Dettori JR, Brodt ED. Assessing bias: the importance of considering confounding. *Evid-Based Spine-Care J.* febrero de 2012;3(1):9-12.
29. Bontha SV, Fernandez-Piñeros A, Maluf DG, Mas VR. Messengers of tolerance. *Hum Immunol.* mayo de 2018;79(5):362-72.
30. Lozano JJ, Pallier A, Martínez-Llordella M, Danger R, López M, Giral M, et al. Comparison of transcriptional and blood cell-phenotypic markers between operationally tolerant liver and kidney recipients. *Am J Transplant.* 2011;11(9):1916-26.
31. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol.* 21 de febrero de 2018;120:5.1.1-5.1.11.
32. Flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies - UpToDate [Internet]. [citado 12 de mayo de 2020]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/flow-cytometry-for-the-diagnosis-of-primary-immunodeficiencies?search=flow%20cytometry&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H2

7. ANEXOS

ANEXO I: ANEXO 7.1

PALABRAS MÁS REPETIDAS DE LOS ARTÍCULOS.

BÚSQUEDAS 1 y 2: "Transplantation Tolerance"[Mesh] AND "Kidney Transplantation"[Mesh] Y "Transplantation Tolerance"[Mesh] AND "Liver Transplantation"[Mesh]

- Acute rejection
- Adult
- Allograft tolerance
- alpha 1-Antitrypsin
- Animals
- Antibodies
- Antigens
- Apoptosis
- Autoimmune Diseases
- B cells
- B lymphocyte
- Biomarkers
- Biopsy
- B-Lymphocytes
- Bone Marrow Cells
- Calcineurin inhibitors
- CD4 Antigens
- CD40 Ligand
- CD4-Positive T-Lymphocytes
- CD8-Positive T-Lymphocytes
- CTLA-4 Antigen
- Cyclosporine
- Dendritic Cells
- Depletion of Foxp3+ Tregs
- DNA microarray
- Drug Administration Schedule
- Fas Ligand Protein
- Flow Cytometry
- Forkhead Transcription Factors
- Foxp3(+) Tregs
- Gene Expression
- Genetic Markers
- Genetic Vectors
- Genome
- Graft Rejection
- Graft Survival
- Hematopoietic Stem Cells
- Hepatitis B
- Hepatitis C
- Histocompatibility
- Histocompatibility Antigens Class II
- Histocompatibility Testing
- HLA Antigens
- HLA-DQ Antigens
- HLA-DR Antigens
- HLA-G Antigens
- Humans
- Immunoglobulins
- Immunomodulation
- Immunophenotyping
- Immunotherapy
- Induced tolerance
- Inflammation
- Interferon-gamma
- Interleukin-10
- Interleukin-17
- Interleukin-2
- Interleukin-6
- Isoantibodies
- Isoantigens
- Kidney Diseases
- kidney transplant tolerance
- Kidney Transplantation
- Liver
- Liver Transplantation
- Living Donors
- Lymphocyte Activation
- Lymphocyte Depletion
- Macrophages
- Major Histocompatibility Complex
- Memory T cells
- Mesenchymal Stem Cell Transplantation
- Mice
- MicroRNAs
- Mixed chimerism
- Molecular biomarkers
- Monocytes
- Myeloid Differentiation Factor 88
- Myeloid suppressor cells
- Natural Killer T-Cells
- NF-kappa B
- Operational tolerance
- Phenotype
- Polymorphism
- Prednisone
- Rats
- Receptors
- Regulatory Factor X Transcription Factors
- Regulatory T cells
- Rejection
- Renal Insufficiency
- Risk Factors
- Self Tolerance
- Signal Transduction
- Sirolimus
- STAT3 Transcription Factor
- Steroids
- Survival Analysis
- T cell biology
- Tacrolimus
- Th17 Cells
- Thymus
- Time Factors
- T-Lymphocytes
- Toll-Like Receptors
- TOR Serine-Threonine Kinases
- Transcription
- Treatment Outcome
- Tregs
- Tumor Necrosis Factor-alpha

ANEXO II. ANEXO 7.2

TABLAS PICO Y CARACTERÍSTICAS DE SUBGRUPOS ACERCA DE LOS 14 ARTÍCULOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN.

ANEXO 7.2.1 TRASPLANTADOS RENALES

BUS 5	ARTICULO1: DIFFERENTIAL MONOCYTE STAT6 ACTIVATION AND CD4+CD25+FOXP3+ T CELLS IN KIDNEY OPERATIONAL TOLERANCE TRANSPLANTED INDIVIDUAL (14)					
P	5 grupos de pacientes trasplantados renales: tolerantes operativos (OT), nefropatía por aloinjerto (CR), injerto estable con inmunosupresión estándar (STA), injerto estable con inmunosupresión baja (LI) y sanos (HI).					
I/E	Expresión en número y porcentaje del perfil de células CD4+ CD25+ Foxp3, vía de señalización IL-6 / STAT3 e IL-4 / STAT6 en células pacientes tolerantes operacionales.					
C	Expresión en número y porcentaje del perfil de células CD4+ CD25+ Foxp3, vía de señalización IL-6 / STAT3 e IL-4 / STAT6 en los otros grupos de pacientes.					
O	<ul style="list-style-type: none"> - El número de células T CD4 CD25HighFoxp3 fue significativamente mayor en individuos OT en relación con aquellos con RC, y similar a pacientes HI y LI - El número de células T CD4 CD25LowFoxp3 fue significativamente mayor en individuos OT en relación a individuos CR. - Las diferencias observadas en la vía de IL-6/ STAT3 no parece estar relacionada con la tolerancia operacional. - el grupo OT presenta disminución de la activación IL4/STAT6 en la región de monocitos 					
		OT n=5	LI n=5	STA n=12	CR n=11	HI n=10
	células T CD4 + CD25HighFoxp3 (cells/mm3)	12 cells/mm3	9 cells/mm3	8 cells/mm3	4 cells/mm3	16 cells/mm3
	células T CD4+ CD25LowFoxp3 (cells/mm3)	13 cells/mm3	14 cells/mm3	4 cells/mm3	4.1 cells/mm3	15.1 cells/mm3
	Fosforilación IL4/STAT6 en la región de monocitos (%)	215 %	340 %	455 %	420 %	540 %
TABLA 1. Resultados del estudio						

	GRUPO OT	GRUPO LI	GRUPO STA	GRUPO CR
Nº de pacientes	5	5	12	11
Edad al trasplante (años)	43,8 +/- 7,13	61 +/-12	47 +/-10	44 +/- 14
Pacientes por sexo (F/M)	2/3	3/2	6/6	3/8
Tiempo desde el trasplante (años)	14.2 +/- 7,65	15 +/- 9	5 +/-6	8 +/-3
Tiempo sin tto IS (años)	4,52 +/-2,28	--	--	--
Tipo de trasplante vivo/fallecido	4/1	4/1	10/2	4/7
Nº de eventos relacionados con el rechazo agudo (si / no)	1/5	2/5	8/11	4/12
Trasfusiones sanguíneas	2/5	2/5	8/11	4/12
Relación con aparición de infecciones virales	1/5	2/5	5/11	4/12
Un injerto o más (uno/+)	4/5	5/0	5/0	5/0
incompatibilidad HLA (A,B,DR)	2	3,4 +/- 1.14	4,72 +/- 1,34	3,83 +/- 1,26

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 5	ARTICULO 2: CENTRAL ROLE OF CD45RA- FOXP3HI MEMORY REGULATORY T CELLS IN CLINICAL KIDNEY TRANSPLANTATION TOLERANCE (15)				
P	Pacientes trasplantados renales con tolerancia operacional				
I/E	Identificación de modificaciones epigenéticas específicas Foxp3 en Tregs que exhiben un fenotipo específico y propiedades inmunorreguladoras en pacientes con tolerancia operativa				
C	Comparación de resultados anteriores con grupos control no tolerantes operativos				
O		TOL n=11	STA n=17	RC n=8	HV n=9
	porcentaje de las células T CD4 + con desmetilación de Foxp3 (%)	13.33% , +/- 1.276%	5.21 % , +/- 0.677%	5.788% , +/- 0.806%	8.996% , +/- 0.978%
	proporción de CD4 + CD25 + CD127lo Foxp3 + Tregs (%)	3,11% +/- 0,47 %	1,88% +/- 0,14%	NS	NS
	Niveles circulantes CD45RA- foxp3high mTregs	2,05	0,97	0,83	0,66
	Capacidad de las células CD45RA- CD25high Tregs para suprimir la respuesta efectora de cel T CD4 CD52 (%)	59 %	18,18 %		45,4%
	Desmetilación del locus Foxp3 en mTregs (%)	Aumento de la desmetilación 72,4%	Limitado aumento de la desmetilación (36,3%)		Aumento de la desmetilación 95,4%
	(medido en intensidad de la fluorescencia, de 0 a 15000)	9375	4675	7500	3750
Expresión de GITR (medido en intensidad de la fluorescencia de 0 a 1500)	625	490	600	312	

TABLA 1. Resultados del estudio
NS: no significativo

	GRUPO HV	GRUPO TOL	GRUPO STA	GRUPO RC
Nº de pacientes	15	13	33	19
Edad al trasplante (años)	41 (37-45)	55 (40-84)	51 (18-73)	51 (25-80)
Pacientes por sexo (F/M)	4/11	6/7	16/17	11/8
Tiempo desde el trasplante (meses)	--	226 (114-347)	129 (67-285)	89 (26-241)
Tiempo sin tto IS (años)	--	8 (2-15)	--	--
Tipo de trasplante vivo/fallecido	--	1/12	0/33	0/19
Episodios de rechazo agudo	--	2	5	2
Infecciones virales (CMV)	--	6	9	4
Incompatibilidad HLA	--	3	3	4

Tabla 2. Características de los grupos

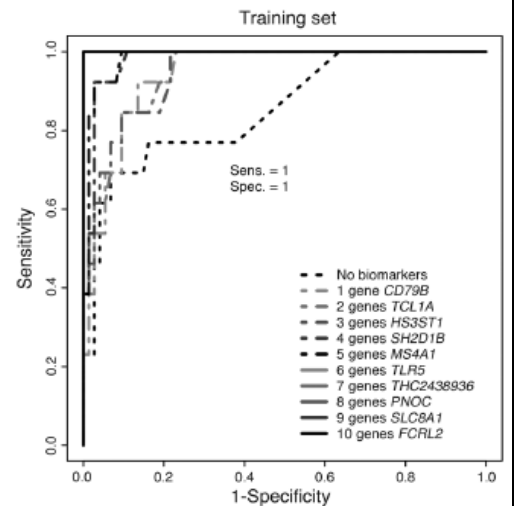
BUS 7	ARTICULO 3: DEVELOPMENT OF A CROSS-PLATFORM BIOMARKER SIGNATURE TO DETECT RENAL TRANSPLANT TOLERANCE IN HUMANS (16)
P	Pacientes trasplantados renales
I/E	Diferencias en la expresión de linfocitos B y NK, células CD4, anticuerpos HLA anti donante y expresión de genes en pacientes tolerantes operacionales en comparación con pacientes: con inmunosupresión, con rechazo crónico y controles sanos
C	No diferencias en la expresión de linfocitos B y NK, células CD4, anticuerpos HLA anti donante y expresión de genes en pacientes tolerantes operacionales en comparación con pacientes: con inmunosupresión, con rechazo crónico y controles sanos

- 1- Los receptores de Tol-DF mostraron un mayor número de linfocitos B y NK.
- 2- Los receptores tolerantes tenían menos células T CD4 + activadas en sangre periférica
- 3- La mayoría de los receptores tolerantes no tenían anticuerpos HLA específicos anti donante detectables (HLA Ab DSA)
- 4- Los pacientes tolerantes tienen frecuencias más bajas de expresión de la vía directa anti donante IFN- γ CD4 + de células T.
- 5- Los pacientes tolerantes mostraron una mayor proporción de expresión de FoxP3 a Genes de α -1,2-manosidasa en sangre periférica
- 6- Se creó una sonda con 10 genes relacionados con la tolerancia para crear un firma genética de tolerancia e identificar así pacientes TOL. Se hizo una curva ROC con dos vertientes: tolerantes y no tolerantes. E= 0,89 S=0,806 VPP=71% VP=93% (gráfico 1)
- 7- Finalmente se identifica una firma de biomarcadores relacionados con la tolerancia aunando todo lo anterior estudiado: Ratio linf B y linf T, % CD4+CD25 T cel, Ratio de la via indirecta antidonante IFN- γ CD4 +, Ratio de la expresión Foxp3/MAN1A2 y la firma de los 10 genes. E=0,923 S= 0,903 VPP= 80% VP= 96%. Lo que amplía la capacidad de diagnóstico comparado con la expresión de genes exclusivamente (gráfico 2)

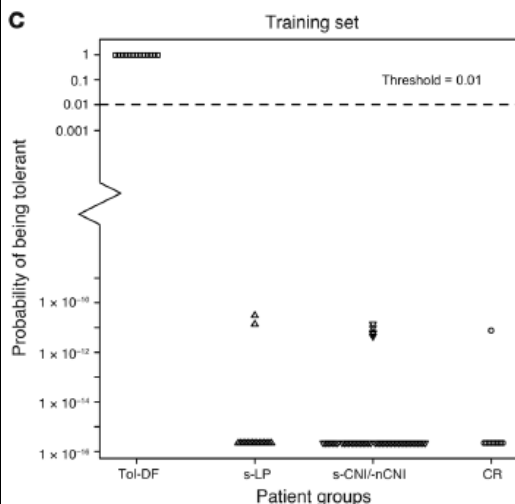
Tabla 1

	HC	Tol-DF	s-LP	s-nCNI	s-CNI	CR
% cél B	8	28	8	6	4	8
% cél NK	7	17	10	4	6	7
% CD4+CD25high	41	24	45	36	32	44
% individuals HLA Ab NDSA CI	34	30	8	30	18	58
% individuals HLA Ab NDSA CII	0	20	34	0	10	44
% individuals HLA Ab DSA CI	0	0	8	10	7	43
% individuals HLA Ab DSA CII	0	0	17	0	7	28
Via indirecta anti donante IFN- γ CD4 + de células T (frecuencia)	--	0,0014	0,0063	0,0056	0,01	0,0030
Ratio Foxp3/MAN1A2	0,82	0,52	0,52	0,10	0,09	0,05

Gráfico 1



O



LEYENDA

- TOL-DF= tol dug free
- s-LP= stable low prednisone
- s- nCNI= stable no calcineurin inhibitor
- s-CNI= stable standard calcineurin inhibitor
- mono= stable monotherapy with steroids
- CR= cronic rejection
- HCs= healthy controls
- DSA= serum donor specific
- NDSA= serum donor no specific

Gráfico 2. Probabilidad de ser tolerante con 4 biomarcadores de tolerancia: Ratio linf B y linf T, % CD4+CD25 T cel, Ratio de la via indirecta antidonante IFN- γ CD4 +, Ratio de la expresión Foxp3/MAN1A2 y la firma de los 10 genes

	GRUPO HC	GRUPO TOLDF	GRUPO S-LP	GRUPO S-nCNI	GRUPO s-CNI	GRUPO CR	TODOS
Nº de pacientes	19	11	11	10	30	9	71
Edad al trasplante (años)	44 (37–52)	54 (41–58)	44 (36–58)	49 (44–57)	42 (37–47)	52 (31–54)	44 (37-56)
Pacientes por sexo %fem	47	18	36	40	47	33	38
Tiempo desde el trasplante (años)	--	12 (7–23)	12 (9–17)	25 (23–26)	6 (5–9)	5 (3–11)	9 (5–18)
% de pacientes con su primer trasplante	--	64	73	70	86	78	77
% pacientes con donante cadáver	--	64	91	30	7	44	38
Incompatibilidad HLA	--	4	4	3.5	4	4	4
Años libre de tto inmunosupresor	--	6	--	--	--	--	--
Nº de trasplantes	--	1,36	--	--	--	--	--
Trasfusiones sanguíneas (0-1/+1)	-	4/7	--	--	--	--	--

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 7	ARTICULO 4: REDUCED TCR SIGNALING CONTRIBUTES TO IMPAIRED TH17 RESPONSES IN TOLERANT KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS (17)																																																								
P	Pacientes trasplantados de riñón																																																								
I/E	Medición de las respuestas Th17 en receptores tolerantes																																																								
C	Medición de las respuestas Th17 en pacientes con rechazo crónico y voluntarios sanos																																																								
O	<p>1- Los receptores de trasplante de riñón tolerante muestran un compartimento de linaje Th17 reducido en comparación con los controles sanos y los pacientes con rechazo crónico</p> <p>2- Los monocitos totales fueron menores en pacientes con rechazo crónico en comparación con receptores tolerantes. - Los monocitos CD14 + CD16 + de pacientes con rechazo crónico expresaron niveles más altos de HLA-DR, en relación con pacientes tolerantes y voluntarios sanos - CD163 se expresó a niveles más altos en monocitos proinflamatorios de pacientes con rechazo crónico, en comparación con receptores tolerantes, lo que sugiere que el tratamiento inmunosupresor en pacientes con rechazo crónico podría afectar las respuestas de monocitos.</p> <p>3- Activación reducida de TCR contribuye a la polarización Th17 deteriorada en receptores tolerantes</p> <p>Estos datos sugieren que las respuestas Th17 proinflamatorias defectuosas pueden contribuir a la supervivencia prolongada del injerto y a la función estable del injerto, que se observa en receptores tolerantes en ausencia de agentes inmunosupresores</p> <p>TABLA 1</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>HC n=12</th> <th>TOL n=17</th> <th>CR n=32</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>FoxP3</td> <td>0,75</td> <td>1</td> <td>-1,5</td> </tr> <tr> <td>RORC</td> <td>0,55</td> <td>-0,5</td> <td>0,3</td> </tr> <tr> <td>STAT1</td> <td>8</td> <td>7,9</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>ERK2</td> <td>6,9</td> <td>6,9</td> <td>7,8</td> </tr> <tr> <td>STAT3</td> <td>6,5</td> <td>7</td> <td>7,6</td> </tr> <tr> <td>%Th 17 CD4+</td> <td>15</td> <td>9</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>IL17 (pg/ml)</td> <td>200</td> <td>50</td> <td>1000</td> </tr> <tr> <td>IL4</td> <td>36,5</td> <td>6,66</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Monocitos totales</td> <td>14,5</td> <td>15</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>Monocitos HLA-DR CD14+CD16+</td> <td>26250</td> <td>27500</td> <td>41500</td> </tr> <tr> <td>% Monocitos CD163+ CD14+CD16+</td> <td>25</td> <td>15</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>Th 17 (pg/ml)</td> <td>1900</td> <td>500</td> <td>1833</td> </tr> <tr> <td>Fosforilación ERK en CD4+</td> <td>0,7</td> <td>0,55</td> <td>0,75</td> </tr> </tbody> </table> <p>TOL: tolerantes CR: rechazo crónico HC: controles sanos</p>		HC n=12	TOL n=17	CR n=32	FoxP3	0,75	1	-1,5	RORC	0,55	-0,5	0,3	STAT1	8	7,9	9	ERK2	6,9	6,9	7,8	STAT3	6,5	7	7,6	%Th 17 CD4+	15	9	16	IL17 (pg/ml)	200	50	1000	IL4	36,5	6,66	7	Monocitos totales	14,5	15	9	Monocitos HLA-DR CD14+CD16+	26250	27500	41500	% Monocitos CD163+ CD14+CD16+	25	15	70	Th 17 (pg/ml)	1900	500	1833	Fosforilación ERK en CD4+	0,7	0,55	0,75
	HC n=12	TOL n=17	CR n=32																																																						
FoxP3	0,75	1	-1,5																																																						
RORC	0,55	-0,5	0,3																																																						
STAT1	8	7,9	9																																																						
ERK2	6,9	6,9	7,8																																																						
STAT3	6,5	7	7,6																																																						
%Th 17 CD4+	15	9	16																																																						
IL17 (pg/ml)	200	50	1000																																																						
IL4	36,5	6,66	7																																																						
Monocitos totales	14,5	15	9																																																						
Monocitos HLA-DR CD14+CD16+	26250	27500	41500																																																						
% Monocitos CD163+ CD14+CD16+	25	15	70																																																						
Th 17 (pg/ml)	1900	500	1833																																																						
Fosforilación ERK en CD4+	0,7	0,55	0,75																																																						

	GRUPO HC	GRUPO TOL	GRUPO RC
Nº de pacientes	12	17	32
Edad (años)	48.0 (23-72)	50.2 (22-77)	44.3 (18-72)
Edad al trasplante (años)	--	31.3 (11-56)	34.9 (11-62)
Pacientes por sexo (F/M)	2/10	3/14	10/22
Tiempo desde el trasplante (meses)	--	226 (114-347)	89 (26-241)
Tiempo sin tto IS (años)	--	6.1 (1-23)	--
Tipo de trasplante vivo/fallecido	--	9/8	11/21
HLA incompatible (A,B y DR)	--	7	14

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 7	ARTICULO 5: IDENTIFICATION OF A B CELL SIGNATURE ASSOCIATED WITH RENAL TRANSPLANT TOLERANCE IN HUMANS (18)																																																																														
P	Trasplantados renales																																																																														
I/E	Diferencias significativas en la expresión génica, subpoblaciones linfocitarias, parámetros clínicos y fenotípicos de pacientes tolerantes post trasplante (TOL-TRN) y pacientes con función estable con inmunosupresión (SI-TRN) o controles sanos (HC).																																																																														
C	No diferencias significativas en la expresión génica, subpoblaciones linfocitarias, parámetros clínicos y fenotípicos de pacientes tolerantes post trasplante y pacientes con función estable con inmunosupresión o controles sanos.																																																																														
O	<ul style="list-style-type: none"> ○ La firma B distingue pacientes SI-TRN de TOL-TRN <ul style="list-style-type: none"> ○ Mediante el estudio de microarrays se descubrió en 30 genes un aumento de 2 veces en la expresión en TOL-TRN versus grupo SI-TRN , y 22 fueron específicos de células B ○ Se realizó una un análisis discriminante lineal aplicado (LDA) para definir unos genes concretos y clasificarlos en: altamente predictivos de tolerancia basándonos en los participantes TOL-TRN y SI-TRN <ul style="list-style-type: none"> ○ El modelo LDA encontró 3 genes predictivos (IGKV4-1, IGLL1 y IGKV1D-13) con un VPP= 86% y un VPN= 100% (TABLA 1 y 2) . Los 6 pacientes clasificados como como TOL fueron identificados como tal por el test, y 5 de 6 de os pacientes SI fueron también correctamente identificados. ○ Se un SVM (Confusion matrix and classification summary) para predecir pacientes TOL/IS en base a las células B transicionales, que fueron significativamente menores en el grupo IS). VPP= 63% VPN= 90% (TABLA 2) ○ Expresión elevada de IL-10 intracelular en pacientes con TOL comparada con IS <table border="1" data-bbox="225 898 946 1742"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL (TRN y TST)</th> <th>SI</th> <th>HC</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>mRNA cd20 (log2)</td> <td>9</td> <td>7,67</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>mRNA FOXP3 (log2)</td> <td>5,5</td> <td>4,5</td> <td>3,75</td> </tr> <tr> <td>mRNA CD3 (log2)</td> <td>11</td> <td>10,75</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>mRNA Perforin (log2)</td> <td>9,5</td> <td>9,5</td> <td>5,8</td> </tr> <tr> <td>mRNA IGKV1D-13 (log2)</td> <td>20,50</td> <td>16,5</td> <td>18,75</td> </tr> <tr> <td>mRNA IGKV4-1 (log2)</td> <td>20</td> <td>13</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>mRNA IGLL1 (log2)</td> <td>17</td> <td>15,75</td> <td>17,5</td> </tr> <tr> <td>Cel B nativas – (CD19+CD27– IgM+IgD+) (cells/ul)</td> <td>190</td> <td>61</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>Células de memoria B CD27+IgM+IgD+ (cells/ul)</td> <td>54,2</td> <td>14,16</td> <td>20,8</td> </tr> <tr> <td>Células CD86+CD19+. (cells/ul)</td> <td>22</td> <td>13,25</td> <td>4,5</td> </tr> <tr> <td>% Total B cells, CD19+</td> <td>7,69</td> <td>3,08</td> <td>6,92</td> </tr> <tr> <td>% Naive B cells, CD19+CD27– IgD+,</td> <td>70</td> <td>50</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>% Transitional B cells, CD19+ CD38+CD24+ IgD+,</td> <td>2,36</td> <td>0,18</td> <td>2,56</td> </tr> <tr> <td>% IL10 en células B estimuladas con PMA+iomicina</td> <td>0,57</td> <td>0</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" data-bbox="1002 1039 1474 1200"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL reales n=6</th> <th>SI reales N=6</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Predicción de TOL</td> <td>6</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Predicción de SI</td> <td>0</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" data-bbox="1050 1585 1474 1794"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL reales n=6</th> <th>SI reales N=12</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Predicción de TOL</td> <td>5</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>Predicción de SI</td> <td>1</td> <td>9</td> </tr> </tbody> </table> <p data-bbox="225 1778 528 1805">Tabla 1. Resultados del estudio</p> <p data-bbox="963 949 1445 1003">Tabla 2. LDA para predecir TOL/SI en base a los genes IGKV4-1, IGLL1 y IGKV1D-13</p> <p data-bbox="963 1525 1374 1579">Tabla 3. SVM para predecir TOL/SI en base a la población de células B transicionales</p>		TOL (TRN y TST)	SI	HC	mRNA cd20 (log2)	9	7,67	6	mRNA FOXP3 (log2)	5,5	4,5	3,75	mRNA CD3 (log2)	11	10,75	7	mRNA Perforin (log2)	9,5	9,5	5,8	mRNA IGKV1D-13 (log2)	20,50	16,5	18,75	mRNA IGKV4-1 (log2)	20	13	20	mRNA IGLL1 (log2)	17	15,75	17,5	Cel B nativas – (CD19+CD27– IgM+IgD+) (cells/ul)	190	61	90	Células de memoria B CD27+IgM+IgD+ (cells/ul)	54,2	14,16	20,8	Células CD86+CD19+. (cells/ul)	22	13,25	4,5	% Total B cells, CD19+	7,69	3,08	6,92	% Naive B cells, CD19+CD27– IgD+,	70	50	80	% Transitional B cells, CD19+ CD38+CD24+ IgD+,	2,36	0,18	2,56	% IL10 en células B estimuladas con PMA+iomicina	0,57	0	1		TOL reales n=6	SI reales N=6	Predicción de TOL	6	1	Predicción de SI	0	5		TOL reales n=6	SI reales N=12	Predicción de TOL	5	3	Predicción de SI	1	9
	TOL (TRN y TST)	SI	HC																																																																												
mRNA cd20 (log2)	9	7,67	6																																																																												
mRNA FOXP3 (log2)	5,5	4,5	3,75																																																																												
mRNA CD3 (log2)	11	10,75	7																																																																												
mRNA Perforin (log2)	9,5	9,5	5,8																																																																												
mRNA IGKV1D-13 (log2)	20,50	16,5	18,75																																																																												
mRNA IGKV4-1 (log2)	20	13	20																																																																												
mRNA IGLL1 (log2)	17	15,75	17,5																																																																												
Cel B nativas – (CD19+CD27– IgM+IgD+) (cells/ul)	190	61	90																																																																												
Células de memoria B CD27+IgM+IgD+ (cells/ul)	54,2	14,16	20,8																																																																												
Células CD86+CD19+. (cells/ul)	22	13,25	4,5																																																																												
% Total B cells, CD19+	7,69	3,08	6,92																																																																												
% Naive B cells, CD19+CD27– IgD+,	70	50	80																																																																												
% Transitional B cells, CD19+ CD38+CD24+ IgD+,	2,36	0,18	2,56																																																																												
% IL10 en células B estimuladas con PMA+iomicina	0,57	0	1																																																																												
	TOL reales n=6	SI reales N=6																																																																													
Predicción de TOL	6	1																																																																													
Predicción de SI	0	5																																																																													
	TOL reales n=6	SI reales N=12																																																																													
Predicción de TOL	5	3																																																																													
Predicción de SI	1	9																																																																													

	GRUPO TOL-TRN	GRUPO TOL-TST	GRUPO SI
Nº de pacientes	19	6	33
Edad al trasplante (años)	51 (27-77)	51 (42-63)	44 (26-75)
Pacientes por sexo (F/M)	7/12	3/3	15/18
Tiempo desde el trasplante (años)	20.42 (7-40.25)	11.79 (5-19.67)	5.5 (1-41.17)
Tiempo sin tto IS (años)	13 (1-32)	5.5 (2-22)	--
Tipo de trasplante fallecido/ vivo relacionado /vivo no relacionado / no hay datos	4/14/-/1	1/3/1/1	8/14/9/2
Episodios de rechazo agudo	--	2	5
Raza asiática/negra/blanca	1/-/18	-/-/6	1/4/28
Incompatibilidad HLA	0.83 ± 1.59 de 6	0.67 ± 1.15 de 6	3.60 ± 1.82 de 6

Tabla 4. Características de los grupos

ANEXO 7.2.2 TRASPLANTADOS HEPÁTICOS

BUS 6	ARTÍCULO 1: HEPATIC INFILTRATES IN OPERATIONAL TOLERANT PATIENTS AFTER LIVER TRANSPLANTATION SHOW ENRICHMENT OF REGULATORY T CELLS BEFORE PROINFLAMMATORY GENES ARE DOWNREGULATED (19)																																																							
P	Pacientes trasplantados de hígado. 24 tolerantes y 14 no tolerantes																																																							
I/E	Aumento de Infiltrado portal, Tregs y genes de respuesta inmune en biopsia de pacientes trasplantados tolerantes (SOT)																																																							
C	Disminución de Infiltrado portal, Tregs y genes de respuesta inmune en biopsia de pacientes trasplantados tolerantes (SOT)																																																							
O	<p>1. En los injertos tolerados (SOT) hay expansión desarrollada del tracto portal con persistencia de infiltración celular después de retirar la inmunosupresión, sin evidencia de daños en el injerto (TABLA 1)</p> <p>2. Células Tregs (tabla 1)</p> <ul style="list-style-type: none"> La infiltración portal de células T mostró una acumulación significativa de CD4 + FOXP3 + Tregs tras un año de retirada de inmunosupresión en pacientes SOT Reducción significativa de los ratios portales de Treg: CD4 + y Treg:CD4+CD8+ en SOT de 1 a 3 años post retirada <p>3. Genes de regulación foxp3 y otros: La expresión de FOXP3 siguió el mismo patrón que El portal CD4 + FOXP3 + Tregs en análisis inmunohistológico , con un aumento transitorio significativo tras 1 año retirada la inmunosupresión y un posterior retorno a la niveles previos al destete a los 3 años posteriores de la retirada.</p> <p>GRÁFICO DE EVENTOS TRAS RETIRADA EXISTOSA DE INMUNOSUPRESIÓN (pacientes SOT)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Pre retirada</th> <th>1 año SOT</th> <th>3 años SOT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tamaño del infiltrado portal (mm3)</td> <td>0,017</td> <td>0,037</td> <td>0,071</td> </tr> <tr> <td>Densidad portal de Treg CD4+FOXP3+ (cells/mm3)</td> <td>43,75</td> <td>68,75</td> <td>40,625</td> </tr> <tr> <td>Ratio portal Treg:CD4</td> <td>0,034</td> <td>0,043</td> <td>0,029</td> </tr> <tr> <td>Ratio portal Treg CD4+CD8+</td> <td>0,019</td> <td>0,024</td> <td>0,018</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 1</p> <p>DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN LA EXPRESION SECUENCIA DE GENES DE LOS TEJIDOS HEPÁTICOS</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1 año SOT vs pre retirada IS</th> <th>3 años SOT versus 1 año de SOT</th> <th>3 años de SOT vs pre retirada IS</th> <th>Rechazo vs pre retirada IS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CD244</td> <td>1.01</td> <td>- 1,46</td> <td>-1,44</td> <td>No determinado</td> </tr> <tr> <td>FOXP3</td> <td>2.25</td> <td>-2.52</td> <td>-1.12</td> <td>1.74</td> </tr> <tr> <td>CD52</td> <td>- 1,13</td> <td>- 1,58</td> <td>- 1,78</td> <td>-1,21</td> </tr> <tr> <td>GPNMB</td> <td>1,39</td> <td>-1,63</td> <td>-1,18</td> <td>1.03</td> </tr> <tr> <td>IL32</td> <td>1.81</td> <td>-1,56</td> <td>1,16</td> <td>1,08</td> </tr> <tr> <td>STAT1</td> <td>1,51</td> <td>-1,81</td> <td>-1,22</td> <td>1,37</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 2</p> <p>ACR = acute cellular rejection SOT,= spontaneous operational tolerance Verde: aumento Rojo= disminución</p>		Pre retirada	1 año SOT	3 años SOT	Tamaño del infiltrado portal (mm3)	0,017	0,037	0,071	Densidad portal de Treg CD4+FOXP3+ (cells/mm3)	43,75	68,75	40,625	Ratio portal Treg:CD4	0,034	0,043	0,029	Ratio portal Treg CD4+CD8+	0,019	0,024	0,018		1 año SOT vs pre retirada IS	3 años SOT versus 1 año de SOT	3 años de SOT vs pre retirada IS	Rechazo vs pre retirada IS	CD244	1.01	- 1,46	-1,44	No determinado	FOXP3	2.25	-2.52	-1.12	1.74	CD52	- 1,13	- 1,58	- 1,78	-1,21	GPNMB	1,39	-1,63	-1,18	1.03	IL32	1.81	-1,56	1,16	1,08	STAT1	1,51	-1,81	-1,22	1,37
	Pre retirada	1 año SOT	3 años SOT																																																					
Tamaño del infiltrado portal (mm3)	0,017	0,037	0,071																																																					
Densidad portal de Treg CD4+FOXP3+ (cells/mm3)	43,75	68,75	40,625																																																					
Ratio portal Treg:CD4	0,034	0,043	0,029																																																					
Ratio portal Treg CD4+CD8+	0,019	0,024	0,018																																																					
	1 año SOT vs pre retirada IS	3 años SOT versus 1 año de SOT	3 años de SOT vs pre retirada IS	Rechazo vs pre retirada IS																																																				
CD244	1.01	- 1,46	-1,44	No determinado																																																				
FOXP3	2.25	-2.52	-1.12	1.74																																																				
CD52	- 1,13	- 1,58	- 1,78	-1,21																																																				
GPNMB	1,39	-1,63	-1,18	1.03																																																				
IL32	1.81	-1,56	1,16	1,08																																																				
STAT1	1,51	-1,81	-1,22	1,37																																																				

	GRUPO TOL	GRUPO NO TOL
Nº de pacientes	24	14
Edad al trasplante (años)	60,7 +/-10	58,4 +/-7,8
Pacientes por sexo (%hombres)	88,3	64,3
Tiempo desde el trasplante hasta el inicio de la retirada IS (meses)	137,5 +/- 43,6	79,7 +/- 28,9
Edad de los donantes	36,8 +/- 16,3	41,1 +/-22,7

Tabla 3. Características de los grupos

BUS 6	ARTICULO 2: DIFFERENTIAL PROFILE OF ACTIVATED REGULATORY T CELL SUBSETS AND MICRORNAS IN TOLERANT LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS (20)																																																
P	Pacientes trasplantados hepáticos tolerantes (N= 24 Tol) y no tolerantes (N= 23 no-Tol)																																																
I/E	Evaluar la expresión de TSDR (Tcell specific demethylated región), de miRNAs específicos, genes HELIOS y FOXP3, péptido asociado a la latencia (LAP), Tregs y CD45RA- relacionado con el antígeno D de leucocitos humanos (HLA-DR) en pacientes tolerantes																																																
C	Comparar la expresión de TSDR (Tcell specific demethylated región), de miRNAs específicos, genes HELIOS y FOXP3, péptido asociado a la latencia (LAP), Tregs y CD45RA- relacionado con el antígeno D de leucocitos humanos (HLA-DR) en pacientes no tolerantes																																																
O	<p>1. Los pacientes no Tol tienen un grado más bajo de desmetilación de TSDR (Tcell specific demethylated región) en comparación con sanos y pacientes Tol</p> <p>2. La expresión de miR95, miR24, miR31, miR146a y miR155 fue mayor en pacientes Tol que en pacientes no Tol y se correlacionó positivamente con los marcadores Treg activados.</p> <p>3. Mayor expresión de HELIOS, FOXP3 , péptido asociado a latencia (LAP), Tregs y CD45RA- relacionado con el antígeno D de leucocitos humanos (HLA-DR) + Treg de memoria efectora en pacientes Tol.</p> <p>En conclusión, estos datos sugieren que Tregs de memoria efectora activada y un estado de desmetilación de TSDR de Tregs pueden desempeñar un papel en el complejo sistema de regulación de la tolerancia en trasplante hepático (LT). Además, describimos un conjunto de miRNAs expresados diferencialmente en pacientes LT Tol humanos que proporcionan evidencia sugestiva de que los miRNAs están implicados en la preservación de la auto tolerancia según la mediación de Tregs.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL n=24</th> <th>NO TOL n= 23</th> <th>SANOS n=14</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Desmetilación de TSDR (%)</td> <td>2,13</td> <td>1,25</td> <td>2,63</td> </tr> <tr> <td>mRNA expresión gen HELIOS (expresión relativa)</td> <td>17,14</td> <td>10,71</td> <td>14,28</td> </tr> <tr> <td>mRNA expresión gen FOXP3 (expresión relativa)</td> <td>8</td> <td>2</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>% Tregs que expresan LAP</td> <td>25</td> <td>8,32</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>% Tregs que expresan ICOS</td> <td>26,67</td> <td>42,66</td> <td>58,67</td> </tr> <tr> <td>% de CD45RA- que expresan HLA-DR</td> <td>76,65</td> <td>61,67</td> <td>73,32</td> </tr> <tr> <td>miR95 (expresión relativa)</td> <td>0,032</td> <td>0,012</td> <td>0,05</td> </tr> <tr> <td>miR24 (expresión relativa)</td> <td>283,32</td> <td>99,99</td> <td>316</td> </tr> <tr> <td>miR31 (expresión relativa)</td> <td>0,426</td> <td>0,213</td> <td>0,714</td> </tr> <tr> <td>miR146a (expresión relativa)</td> <td>21,42</td> <td>7,14</td> <td>64,28</td> </tr> <tr> <td>miR155 (expresión relativa)</td> <td>4,17</td> <td>2,5</td> <td>15,85</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 1. Resultados del estudio</p> <p>TSDR = Tcell specific demethylated región Péptido asociado a latencia= LAP CD45RA= células efectoras de memoria Treg HLA-DR= células activadas efectoras de memoria Treg</p>		TOL n=24	NO TOL n= 23	SANOS n=14	Desmetilación de TSDR (%)	2,13	1,25	2,63	mRNA expresión gen HELIOS (expresión relativa)	17,14	10,71	14,28	mRNA expresión gen FOXP3 (expresión relativa)	8	2	7	% Tregs que expresan LAP	25	8,32	20	% Tregs que expresan ICOS	26,67	42,66	58,67	% de CD45RA- que expresan HLA-DR	76,65	61,67	73,32	miR95 (expresión relativa)	0,032	0,012	0,05	miR24 (expresión relativa)	283,32	99,99	316	miR31 (expresión relativa)	0,426	0,213	0,714	miR146a (expresión relativa)	21,42	7,14	64,28	miR155 (expresión relativa)	4,17	2,5	15,85
	TOL n=24	NO TOL n= 23	SANOS n=14																																														
Desmetilación de TSDR (%)	2,13	1,25	2,63																																														
mRNA expresión gen HELIOS (expresión relativa)	17,14	10,71	14,28																																														
mRNA expresión gen FOXP3 (expresión relativa)	8	2	7																																														
% Tregs que expresan LAP	25	8,32	20																																														
% Tregs que expresan ICOS	26,67	42,66	58,67																																														
% de CD45RA- que expresan HLA-DR	76,65	61,67	73,32																																														
miR95 (expresión relativa)	0,032	0,012	0,05																																														
miR24 (expresión relativa)	283,32	99,99	316																																														
miR31 (expresión relativa)	0,426	0,213	0,714																																														
miR146a (expresión relativa)	21,42	7,14	64,28																																														
miR155 (expresión relativa)	4,17	2,5	15,85																																														

	GRUPO SANOS	GRUPO NO TOL	GRUPO TOL
Nº de pacientes	16	23	24
Edad al trasplante (años)	48,8 +/- 2	54,2 +/- 2,2	53,6 +/-1,7
Pacientes por sexo (F/M)	5/11	4/19	2/22
Años desde el trasplante hasta el inicio de retirada IS	--	6,1 +/- 0,6	10,8 +/- 0,9
Años desde el destete hasta la muestra	--	3,9 +/- 0,9	4,5 +/- 0,5
VHB	--	2	7
VHC	--	--	1

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 6	ARTICULO 3: FOXP3 IN PERIPHERAL BLOOD IS ASSOCIATED WITH OPERATIONAL TOLERANCE IN LIVER TRANSPLANT PATIENTS DURING IMMUNOSUPPRESSION WITHDRAWAL (21)																																			
P	12 Pacientes trasplantados hepáticos																																			
I/E	Expresión de células T CD4+ CD25+ y de Foxp3 en pacientes que hicieron tolerancia operacional tras la retirada de la IS (5 pacientes)																																			
C	Expresión de células T CD4+ CD25+ y de Foxp3 en pacientes que presentaron rechazo del injerto tras la retirada de la IS (7 pacientes)																																			
O	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de la población de células T CD4 CD25 inmunorreguladoras durante la retirada de IS en pacientes tolerantes operacionales (5 pacientes) (TABLA 1) No ocurrió el aumento de dichas células en los pacientes que presentaron rechazo tras la retirada de la IS (no tolerantes) (TABLA 2) Ocurrió un aumento progresivo y significativo de Foxp3 en los pacientes que se les quitó la IS desde el comienzo de la retirada hasta que se llegó a la tolerancia (tabla 1), no ocurrió en el grupo rechazo (tabla 2) 																																			
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>GR-T grupo n=5</th> <th>Bs- T</th> <th>T</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CD4+CD25+cells (%)</td> <td>6,6</td> <td>19,05 (gran crecimiento p<0.05)</td> </tr> <tr> <td>CD4+CD25+ (número absoluto células)</td> <td>99,7</td> <td>347,5 (gran crecimiento p<0.05)</td> </tr> <tr> <td>CD4+CD25high (%)</td> <td>0,98</td> <td>3,15 (gran crecimiento p<0.05)</td> </tr> <tr> <td>CD4+CD25high(número absoluto células)</td> <td>10,8</td> <td>54,5 (gran crecimiento p<0.05)</td> </tr> <tr> <td>Expresión de FoxP3 mRNA</td> <td>0,22</td> <td>0,80 (gran crecimiento p<0.05)</td> </tr> </tbody> </table>	GR-T grupo n=5	Bs- T	T	CD4+CD25+cells (%)	6,6	19,05 (gran crecimiento p<0.05)	CD4+CD25+ (número absoluto células)	99,7	347,5 (gran crecimiento p<0.05)	CD4+CD25high (%)	0,98	3,15 (gran crecimiento p<0.05)	CD4+CD25high(número absoluto células)	10,8	54,5 (gran crecimiento p<0.05)	Expresión de FoxP3 mRNA	0,22	0,80 (gran crecimiento p<0.05)		<table border="1"> <thead> <tr> <th>GR-R grupo n=7</th> <th>BS-R</th> <th>R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CD4+CD25+cells (%)</td> <td>8</td> <td>9 (muy leve crecimiento, no significativo)</td> </tr> <tr> <td>CD4+CD25+ (número absoluto células)</td> <td>129,4</td> <td>141,9 (muy leve crecimiento, no significativo)</td> </tr> <tr> <td>CD4+CD25high (%)</td> <td>1,2</td> <td>1,6 (muy leve crecimiento, no significativo)</td> </tr> <tr> <td>Expresión de FoxP3 mRNA</td> <td>0,26</td> <td>0,36 (muy leve crecimiento, no significativo)</td> </tr> </tbody> </table>	GR-R grupo n=7	BS-R	R	CD4+CD25+cells (%)	8	9 (muy leve crecimiento, no significativo)	CD4+CD25+ (número absoluto células)	129,4	141,9 (muy leve crecimiento, no significativo)	CD4+CD25high (%)	1,2	1,6 (muy leve crecimiento, no significativo)	Expresión de FoxP3 mRNA	0,26	0,36 (muy leve crecimiento, no significativo)
GR-T grupo n=5	Bs- T	T																																		
CD4+CD25+cells (%)	6,6	19,05 (gran crecimiento p<0.05)																																		
CD4+CD25+ (número absoluto células)	99,7	347,5 (gran crecimiento p<0.05)																																		
CD4+CD25high (%)	0,98	3,15 (gran crecimiento p<0.05)																																		
CD4+CD25high(número absoluto células)	10,8	54,5 (gran crecimiento p<0.05)																																		
Expresión de FoxP3 mRNA	0,22	0,80 (gran crecimiento p<0.05)																																		
GR-R grupo n=7	BS-R	R																																		
CD4+CD25+cells (%)	8	9 (muy leve crecimiento, no significativo)																																		
CD4+CD25+ (número absoluto células)	129,4	141,9 (muy leve crecimiento, no significativo)																																		
CD4+CD25high (%)	1,2	1,6 (muy leve crecimiento, no significativo)																																		
Expresión de FoxP3 mRNA	0,26	0,36 (muy leve crecimiento, no significativo)																																		
	<p>TABLA 1</p> <p>GR-T: grupo tolerante Bs-T : muestra basal delo grupo TOL T: muestra durante la tolerancia GR-R: grupo rechazo BS-R: muestra basal grupo rechazo R: muestra en el rechazo H: sanos ID: inmunosuprimidos</p>																																			
		<p>TABLA 2</p>																																		

	GRUPO TOL	GRUPO RECHAZO	GRUPO CONTROL
Nº de pacientes	5	7	9
Edad al trasplante (años)	50.8 +/- +/- 8.42	46,43 +/- 9,85	42,2 +/- 9
Pacientes por sexo (F/M)	2/3	5/2	5/4
Meses desde trasplante a inicio de Retirada IS	79 +/- 35,53	42.29 +/- 19,98	--

Tabla 3. Características de los grupos

BUS 6	ARTICULO 4: MULTIPARAMETER IMMUNE PROFILING OF OPERATIONAL TOLERANCE IN LIVER TRANSPLANTATION (22)																																																																																														
P	Pacientes trasplantados hepáticos																																																																																														
I/E	Expresión de genes de sangre periférica e inmunofenotipificación de células sanguíneas en 16 pacientes tolerantes operacionales (TOL)																																																																																														
C	Expresión de genes de sangre periférica e inmunofenotipificación de células sanguíneas extensa en 16 pacientes dependientes de inmunosupresión (ID)																																																																																														
O	<p>- Genes involucrados en la señalización IL2, regulación transcripcional y síntesis de proteínas: estos genes están más expresados en los pacientes TOL (TABLA 2)</p> <p>- Pacientes TOL muestran una expresión menor de genes proinflamatorios que se sobre expresan en pacientes VHC (TABLA 1)</p> <p>- Los receptores tolerantes exhibieron un número significativamente mayor de subconjuntos de células T potencialmente reguladoras circulantes (células T CD4 + CD25 + y células T gamma delta +) que pacientes no tolerantes o individuos sanos. (tabla 1)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">(expresión relativa)</th> <th colspan="2">TOLERANTES n=16</th> <th colspan="2">DEPENDIENTES DE IS n=16</th> <th rowspan="2">Control N=10</th> </tr> <tr> <th>TOL VHC +</th> <th>TOL VHC-</th> <th>ID VHC +</th> <th>ID VHC-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Expresión IL6</td> <td>0,125</td> <td>-0,125</td> <td>1,25</td> <td>0,125</td> <td>-0,1</td> </tr> <tr> <td>Expresión de TNFalfa</td> <td>4</td> <td>0</td> <td>14</td> <td>0,1</td> <td>-0,1</td> </tr> <tr> <td>Expresión IL1</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>62,5</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Expresión ICAM1</td> <td>-2,4</td> <td>-6</td> <td>3,6</td> <td>-1,2</td> <td>-4</td> </tr> <tr> <td>% Cells T CD3+TCR gamma delta +</td> <td colspan="2">6</td> <td colspan="2">2,3</td> <td>2,5</td> </tr> <tr> <td>Vd1+CD3+/Vd2+CD3+ V T-cell ratio</td> <td colspan="2">6</td> <td colspan="2">1</td> <td>0,5</td> </tr> <tr> <td>% de CD25+ entre T cells CD4+ CD62L high</td> <td colspan="2">9,1</td> <td colspan="2">4,7</td> <td>7,2</td> </tr> <tr> <td>% Foxp3 entre Tcells CD4+</td> <td colspan="2">5,5</td> <td colspan="2">2,5</td> <td>3,5</td> </tr> <tr> <td>Células dentríticas</td> <td colspan="5">No dif significativas entre los grupos</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 1. Expresión de genes proinflamatorios en los distintos subgrupos y de la propocion de CD4+CD25+ y células T gamma y delta en pacientes TOL</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>GENES REGULADOS A LA ALTA EN PACIENTES TOL</th> <th>GENES REGULADOS A LA BAJA EN PACIENTES TOL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Regulación de la transcripción (SMURF, SMAD2)</td> <td>Respuesta a estrés</td> </tr> <tr> <td>Metabolismo DNA</td> <td>Regulación de la transcripción (RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2)</td> </tr> <tr> <td>Ciclo de control y reparación del DNA</td> <td>Respuesta inflamatoria</td> </tr> <tr> <td>Procesamiento mRNA</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Actividad GTPAsa</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cadherinas</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Receptores NK</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Células T</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Receptor de señal IL2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>biosíntesis de proteínas</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Respuesta a estímulos externos</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Proteólisis</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Actividad proteín kinasa</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Receptor de la actividad G-proteína</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 2- expresión de genes en pacientes TOL</p>	(expresión relativa)	TOLERANTES n=16		DEPENDIENTES DE IS n=16		Control N=10	TOL VHC +	TOL VHC-	ID VHC +	ID VHC-	Expresión IL6	0,125	-0,125	1,25	0,125	-0,1	Expresión de TNFalfa	4	0	14	0,1	-0,1	Expresión IL1	0	0	62,5	0	0	Expresión ICAM1	-2,4	-6	3,6	-1,2	-4	% Cells T CD3+TCR gamma delta +	6		2,3		2,5	Vd1+CD3+/Vd2+CD3+ V T-cell ratio	6		1		0,5	% de CD25+ entre T cells CD4+ CD62L high	9,1		4,7		7,2	% Foxp3 entre Tcells CD4+	5,5		2,5		3,5	Células dentríticas	No dif significativas entre los grupos					GENES REGULADOS A LA ALTA EN PACIENTES TOL	GENES REGULADOS A LA BAJA EN PACIENTES TOL	Regulación de la transcripción (SMURF, SMAD2)	Respuesta a estrés	Metabolismo DNA	Regulación de la transcripción (RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2)	Ciclo de control y reparación del DNA	Respuesta inflamatoria	Procesamiento mRNA		Actividad GTPAsa		Cadherinas		Receptores NK		Células T		Receptor de señal IL2		biosíntesis de proteínas		Respuesta a estímulos externos		Proteólisis		Actividad proteín kinasa		Receptor de la actividad G-proteína	
(expresión relativa)	TOLERANTES n=16		DEPENDIENTES DE IS n=16		Control N=10																																																																																										
	TOL VHC +	TOL VHC-	ID VHC +	ID VHC-																																																																																											
Expresión IL6	0,125	-0,125	1,25	0,125	-0,1																																																																																										
Expresión de TNFalfa	4	0	14	0,1	-0,1																																																																																										
Expresión IL1	0	0	62,5	0	0																																																																																										
Expresión ICAM1	-2,4	-6	3,6	-1,2	-4																																																																																										
% Cells T CD3+TCR gamma delta +	6		2,3		2,5																																																																																										
Vd1+CD3+/Vd2+CD3+ V T-cell ratio	6		1		0,5																																																																																										
% de CD25+ entre T cells CD4+ CD62L high	9,1		4,7		7,2																																																																																										
% Foxp3 entre Tcells CD4+	5,5		2,5		3,5																																																																																										
Células dentríticas	No dif significativas entre los grupos																																																																																														
GENES REGULADOS A LA ALTA EN PACIENTES TOL	GENES REGULADOS A LA BAJA EN PACIENTES TOL																																																																																														
Regulación de la transcripción (SMURF, SMAD2)	Respuesta a estrés																																																																																														
Metabolismo DNA	Regulación de la transcripción (RELB, MAFG, NR4A3, NFKB2)																																																																																														
Ciclo de control y reparación del DNA	Respuesta inflamatoria																																																																																														
Procesamiento mRNA																																																																																															
Actividad GTPAsa																																																																																															
Cadherinas																																																																																															
Receptores NK																																																																																															
Células T																																																																																															
Receptor de señal IL2																																																																																															
biosíntesis de proteínas																																																																																															
Respuesta a estímulos externos																																																																																															
Proteólisis																																																																																															
Actividad proteín kinasa																																																																																															
Receptor de la actividad G-proteína																																																																																															

	GRUPO TOL	GRUPO ID	GRUPO HI
Nº de pacientes	16	16	10
Edad al trasplante (años)	59.6	59	58
Pacientes por sexo (F/M)	--	--	--
Tiempo desde el trasplante (años)	11 (6–16)	8.3 (2.5–14)	--
Tiempo medio desde la reanudación de IS	--	4 (2–6)	--
Tiempo medio de destete (años)	4 (1–6)	--	--
Infección VHC en el momento del análisis	56%	62.5%	--

Tabla 3 Características de los grupos

BUS 6	ARTICULO 5: THE PRESENCE OF FOXP3 EXPRESSING T CELLS WITHIN GRAFTS OF TOLERANT HUMAN LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS (23)																									
P	Pacientes trasplantados hepáticos																									
I/E	Expresión de Foxp3 y subpoblaciones CD4 y CD8 en biopsias tolerantes operacionales																									
C	Comparación de los datos en tolerantes operacionales con distintos grupos: pacientes con terapia inmunosupresora (Gr-IS), pacientes con rechazo crónico del injerto: (Gr-CR), pacientes con hígado sano: (Gr-NL).																									
O	<p>1- El número de células Foxp3 detectadas en Gr-Tol aumentó significativamente en comparación con eso en Gr-IS</p> <p>2- La expresión de foxp3 mRNA fue significativamente mayor en todas las biopsias post trasplante comparada con las biopsias de hígado normal.</p> <p>3- En 9 biopsias de TOL: se encontraron 46 células foxp3, de las cuales 92% (42 de 46) de las eran CD4+ y 8% eran CD8 (4 de 46)+. Con lo cual, la mayoría de las células Foxp3 en pacientes TOL son CD4+.</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>Gr- TOL</th> <th>Gr- IS</th> <th>Gr- CR</th> <th>Gr- NL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Expresión de mRNA Fox P3 en biopsias de pacientes</td> <td>4.1 n=12</td> <td>3,6 n=18</td> <td>4,2 n=7</td> <td>3 n=12</td> </tr> <tr> <td>Nº de cells foxp3</td> <td>51.5 n=28</td> <td>23,3 n=29</td> <td>0 n=7</td> <td>6,8 n=10</td> </tr> <tr> <td>Nº de cells CD8+</td> <td>1179,5 n=28</td> <td>1346,2 n=29</td> <td>2487,5 n=7</td> <td>871 n=10</td> </tr> <tr> <td>Nº de cells CD4 +</td> <td>396,9 n=28</td> <td>320,8 n=29</td> <td>49,5 n=7</td> <td>93,3 n=10</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">Tabla 1..</p> <p style="text-align: center;">Tolerantes operacionales: (Gr-Tol) (n=28), Pacientes con terapia inmunosupresora: (Gr-IS) (n=29) Pacientes con rechazo crónico del injerto: (Gr-CR) (n=7), Pacientes con hígado sano: (Gr-NL) (n=12).</p>		Gr- TOL	Gr- IS	Gr- CR	Gr- NL	Expresión de mRNA Fox P3 en biopsias de pacientes	4.1 n=12	3,6 n=18	4,2 n=7	3 n=12	Nº de cells foxp3	51.5 n=28	23,3 n=29	0 n=7	6,8 n=10	Nº de cells CD8+	1179,5 n=28	1346,2 n=29	2487,5 n=7	871 n=10	Nº de cells CD4 +	396,9 n=28	320,8 n=29	49,5 n=7	93,3 n=10
	Gr- TOL	Gr- IS	Gr- CR	Gr- NL																						
Expresión de mRNA Fox P3 en biopsias de pacientes	4.1 n=12	3,6 n=18	4,2 n=7	3 n=12																						
Nº de cells foxp3	51.5 n=28	23,3 n=29	0 n=7	6,8 n=10																						
Nº de cells CD8+	1179,5 n=28	1346,2 n=29	2487,5 n=7	871 n=10																						
Nº de cells CD4 +	396,9 n=28	320,8 n=29	49,5 n=7	93,3 n=10																						

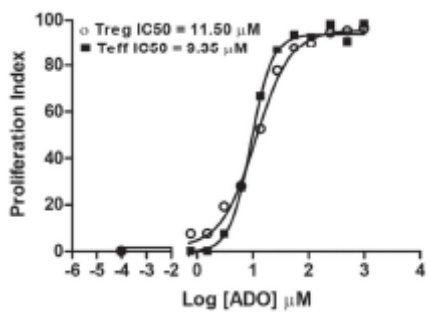
	GRUPO TOL	GRUPO IS	GRUPO CR	GRUPO NL
Nº de pacientes	28	29	7	12
Edad al trasplante (años)	1 +/- 2	4 +/- 4	15 +/-17	--
Pacientes por sexo (F/M)	21/7	17/12	4/3	7/5
Tiempo desde el trasplante (años)	10 +/-4	4 +/-2	1 +/-2	--
Año de la biopsia	12 +/-4	9 +/-5	17 +/-17	--
Duración después de la retirada IS (meses)	47 +/- 29	--	--	--
Sexo del donante (F/M)	18/10	9/20	4/3	--
Edad del donante (años)	33 +/-6	35 +/-6	44 +/-13	33 +/-7
Compatibilidad ABO (idéntico/compatible/incompatible)	19/5/4	15/11/13	5/1/1	--

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 6	ARTICULO 6: HLA-G LEVEL ON MONOCYTOID DENDRITIC CELLS CORRELATES WITH REGULATORY T CELL FOXP3 EXPRESSION IN LIVER TRANSPLANT TOLERANCE (24)																														
P	Pacientes trasplantados hepáticos																														
I/E	Examinamos la expresión de moléculas reguladoras inmunes en subconjuntos de células dendríticas (DC) en: pacientes que presentan tolerancia operativa a trasplante hepático pediátrico (TOL), pacientes sometidos a destete inmunosupresor (PW), pacientes en mantenimiento inmunosupresión (MI) y controles sanos (HC).																														
C	Comparamos la expresión de moléculas reguladoras inmunes en subconjuntos de células dendríticas (DC) entre los grupos tolerantes (TOL) y el resto (PW, MI y HC).																														
O	<p>1- mDC en pacientes tolerantes expresan niveles elevados de HLA-G 2- Los niveles séricos de HLA-G no difieren significativamente entre el destete tolerante y prospectivo y pacientes con inmunosupresión de mantenimiento 3- Los pacientes tolerantes exhiben niveles significativamente más altos de Treg circulante que el mantenimiento pacientes y controles de inmunosupresión 4- La expresión elevada de HLA-G por mDC en pacientes tolerantes se correlaciona con niveles mejorados de la expresión Treg Foxp3</p> <p>Tabla 1. Resumen del estudio</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL n=26</th> <th>PW n= 28</th> <th>MI n=24</th> <th>HC n=28</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>% mDC niveles expresados de HLA-G</td> <td>68,8</td> <td>66,67</td> <td>58,89</td> <td>56,89</td> </tr> <tr> <td>% pDC niveles expresados de HLA-G</td> <td>NS</td> <td>NS</td> <td>NS</td> <td>NS</td> </tr> <tr> <td>% niveles de ILT4</td> <td>NS</td> <td>NS</td> <td>NS</td> <td>NS</td> </tr> <tr> <td>% de cels CD4 Treg</td> <td>1,59</td> <td>1,83</td> <td>0,86</td> <td>0,9</td> </tr> <tr> <td>Treg en CD4+ CD25high foxp3+</td> <td>162,7</td> <td>125,2</td> <td>104,1</td> <td>119,5</td> </tr> </tbody> </table> <p>DC dendritic cell HC healthy control HLA human leukocyte antigen mDC monocytoid dendritic cell MI maintenance immunosuppression pDC plasmacytoid dendritic cell PW prospective weaning sHLA-G serum human leukocyte antigen-G TOL tolerant</p>		TOL n=26	PW n= 28	MI n=24	HC n=28	% mDC niveles expresados de HLA-G	68,8	66,67	58,89	56,89	% pDC niveles expresados de HLA-G	NS	NS	NS	NS	% niveles de ILT4	NS	NS	NS	NS	% de cels CD4 Treg	1,59	1,83	0,86	0,9	Treg en CD4+ CD25high foxp3+	162,7	125,2	104,1	119,5
	TOL n=26	PW n= 28	MI n=24	HC n=28																											
% mDC niveles expresados de HLA-G	68,8	66,67	58,89	56,89																											
% pDC niveles expresados de HLA-G	NS	NS	NS	NS																											
% niveles de ILT4	NS	NS	NS	NS																											
% de cels CD4 Treg	1,59	1,83	0,86	0,9																											
Treg en CD4+ CD25high foxp3+	162,7	125,2	104,1	119,5																											

	GRUPO TOL	GRUPO PW	GRUPO MI	GRUPO HC
Nº de pacientes	26	28	24	28
Edad al trasplante (años)	3,5 +/-5,6	4,8 +/-4,5	7,8 +/-6,1	--
Pacientes por sexo (F/M)	13/13	10/18	10/14	12/16
Tiempo desde el trasplante (años)	16,4 +/-5.5	6,9 +/-4,3	4,9 +/-4,4	--
Edad en el estudio	20,1 +/-9,5	12,1 +/-5	12,5 +/-7,3	34,4 +/-4,3
Tiempo sin tto IS (años)	10,6 +/-4,5	--	--	--
Tipo de trasplante vivo/fallecido	1/25	5/23	5/19	--
Raza (asiática/blanca/negra)	0/25/1	2/25/1	3/20/1	2/24/2
Tiempo de isquemia frio (min)	681,3 +/-442,9	495,3 +/-265,3	553,6 +/-202,7	--
Tiempo de isquemia caliente (min)	45,5 +/-11,7	38,1 +/-9,3	37,7 +/-8.6	--
Tiempo desde el trasplante hasta el comienzo de la retirada IS (años)	3,1 +/- 3,1	4,6 +/-3	--	--
Tiempo desde el comienzo de la retirada hasta la retirada total	3,2 +/-3,8	--	--	--
Historia de rechazo agudo %	20	25	79	--
2 o más rechazos agudos	7,7	10,7	62,5	--
Historia de infección por EBV (%)	8,3	0	12.5	--

Tabla 2. Características de los grupos

BUS 8	ARTICULO 7: EXTRACELLULAR ADENOSINE REVERSIBLY INHIBITS THE ACTIVATION OF HUMAN REGULATORY T CELLS AND NEGATIVELY INFLUENCES THE ACHIEVEMENT OF THE OPERATIONAL TOLERANCE IN LIVER TRANSPLANTATION (25)																																																																								
P	17 trasplantados hepáticos (12 no Tol, 5 Tol)																																																																								
I/E	Diferencias en la expresión de nucleótidos extracelulares en células T humanas, CD39, Ectonucleotidasas CD73 y señalización de adenosina a través del receptor de adenosina 2 (A2R) en tolerantes vs no tolerantes																																																																								
C	Ausencia de diferencias en la expresión de nucleótidos extracelulares en células T humanas, CD39, Ectonucleotidasas CD73 y señalización de adenosina a través del receptor de adenosina 2 (A2R) en tolerantes vs no tolerantes																																																																								
O	<p>1- Los nucleótidos extracelulares inhiben la proliferación de células T CD4 + humanas después de su degradación a ADO (tabla 2)</p> <p>2- ADO inhibe la proliferación de Tregs similares a Teffs. (Tregs = 11.50 μM Teffs = 9.35 μM) (tabla 2 y grafico 1)</p> <p>3- ADO activa la señalización de AMPc pero no cambia la expresión del eje CD39-CD73-A2R en células T humanas (tabla 2)</p> <p>4- La inhibición por ADO de la activación de células T humanas es reversible pero no afecta la capacidad supresora de nTregs (tabla 2)</p> <p>5- Los pacientes con trasplante de hígado tolerante presentan diferencias en la expresión de ADA en comparación con los pacientes no tolerantes a lo largo de un proceso de retirada de IS (tabla 1)</p> <p>6- Nuestros datos respaldan la idea de que la señalización de ADO y su degradación pueden desempeñar un papel en el complejo sistema de regulación de la tolerancia al trasplante de hígado.</p> <p style="text-align: center;">TABLA1</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOL (N=5)</th> <th>NO TOL (N=12)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Reducción de la IS %</td> <td>55.30 \pm 4.71%</td> <td>53.53 \pm 4.83%</td> </tr> <tr> <td>AST en momento del rechazo</td> <td>22.25 \pm 2.01 U/L</td> <td>93.21 \pm 6.85 U / L</td> </tr> <tr> <td>ALT en momento del rechazo</td> <td>24.75 \pm 5.23 U /L</td> <td>124.7 \pm 15.83 U / L</td> </tr> <tr> <td>Concentración ATP</td> <td>120</td> <td>210</td> </tr> <tr> <td>Concentración ADO</td> <td>65</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>CD39</td> <td>66,67</td> <td>56,67</td> </tr> <tr> <td>CD73</td> <td>Inalterada</td> <td>inalterada</td> </tr> <tr> <td>CD73 soluble (sCD73)</td> <td>5,3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>A2AR</td> <td>Inalterada</td> <td>inalterada</td> </tr> <tr> <td>A2BR</td> <td>Inalterada</td> <td>inalterada</td> </tr> <tr> <td>gen ADA</td> <td>1,01</td> <td>0,4</td> </tr> </tbody> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  </div> <p>GRAFICO 1. La inhibición de Tregs por parte de ADO es similar en Tregs y en Teffs (Tregs = 11.50 μM Teffs = 9.35 μM)</p> <p style="text-align: center;">TABLA 2</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th></th> <th>Sin añadir ningún nucleótido</th> <th>En presencia de ATP</th> <th>En presencia de ADP</th> <th>En presencia de AMP</th> <th>En presencia de ADO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Índice de proliferación CD4 en nucleótidos extracelulares</td> <td>80</td> <td>10</td> <td>5</td> <td>9</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Índice de proliferación de Tregs CD4 foxp3+</td> <td>80</td> <td>17</td> <td>10</td> <td>16</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Activación de cAMP en Tregs y Tconv</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>Tregs: >0,06 Tconv: >0,05</td> </tr> <tr> <td>Expresión de CD39+ y CD73+</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>No cambia con la presencia de ADO</td> </tr> <tr> <td>Capacidad supresora de Tregs</td> <td>79</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>--</td> <td>78,5</td> </tr> </tbody> </table>		TOL (N=5)	NO TOL (N=12)	Reducción de la IS %	55.30 \pm 4.71%	53.53 \pm 4.83%	AST en momento del rechazo	22.25 \pm 2.01 U/L	93.21 \pm 6.85 U / L	ALT en momento del rechazo	24.75 \pm 5.23 U /L	124.7 \pm 15.83 U / L	Concentración ATP	120	210	Concentración ADO	65	25	CD39	66,67	56,67	CD73	Inalterada	inalterada	CD73 soluble (sCD73)	5,3	3	A2AR	Inalterada	inalterada	A2BR	Inalterada	inalterada	gen ADA	1,01	0,4		Sin añadir ningún nucleótido	En presencia de ATP	En presencia de ADP	En presencia de AMP	En presencia de ADO	Índice de proliferación CD4 en nucleótidos extracelulares	80	10	5	9	4	Índice de proliferación de Tregs CD4 foxp3+	80	17	10	16	7	Activación de cAMP en Tregs y Tconv	--	--	--	--	Tregs: >0,06 Tconv: >0,05	Expresión de CD39+ y CD73+	--	--	--	--	No cambia con la presencia de ADO	Capacidad supresora de Tregs	79	--	--	--	78,5
	TOL (N=5)	NO TOL (N=12)																																																																							
Reducción de la IS %	55.30 \pm 4.71%	53.53 \pm 4.83%																																																																							
AST en momento del rechazo	22.25 \pm 2.01 U/L	93.21 \pm 6.85 U / L																																																																							
ALT en momento del rechazo	24.75 \pm 5.23 U /L	124.7 \pm 15.83 U / L																																																																							
Concentración ATP	120	210																																																																							
Concentración ADO	65	25																																																																							
CD39	66,67	56,67																																																																							
CD73	Inalterada	inalterada																																																																							
CD73 soluble (sCD73)	5,3	3																																																																							
A2AR	Inalterada	inalterada																																																																							
A2BR	Inalterada	inalterada																																																																							
gen ADA	1,01	0,4																																																																							
	Sin añadir ningún nucleótido	En presencia de ATP	En presencia de ADP	En presencia de AMP	En presencia de ADO																																																																				
Índice de proliferación CD4 en nucleótidos extracelulares	80	10	5	9	4																																																																				
Índice de proliferación de Tregs CD4 foxp3+	80	17	10	16	7																																																																				
Activación de cAMP en Tregs y Tconv	--	--	--	--	Tregs: >0,06 Tconv: >0,05																																																																				
Expresión de CD39+ y CD73+	--	--	--	--	No cambia con la presencia de ADO																																																																				
Capacidad supresora de Tregs	79	--	--	--	78,5																																																																				

	GRUPO HV	GRUPO no TOL	GRUPO TOL
Nº de pacientes	12	12	5
Edad al trasplante (años)	--	62.4 \pm 1.	58.6 \pm 2.2
Pacientes por sexo (F/M)	4/8	3/9	2/3
Tiempo desde el trasplante hasta la retirada de la IS (años)	--	6 \pm 0.9; 5	9 \pm 1.3; 9
Infección por VHB	--	2	--

Tabla 3. Características de los grupos

BUS 9	ART 8: MONITORIZACION-DE-SUBPOBLACIONES-LINFOCITARIAS-EN-EL-ESTUDIO-DE-TOLERANCIA-EN-EL-TRASPLANTE-HEPATICO.PDF (26)																									
P	24 pacientes trasplantados hepáticos. 15 no tolerantes y 9 tolerantes.																									
I/E	Diferencias entre subpoblaciones linfocitarias (LT (CD3+), CD3+ CD4+, CD3+CD8+, LB (CD19+), Treg (CD4+ CD25HI FOXP3+), NK (CD3- CD56+)) entre individuos tolerantes y no tolerantes durante la retirada de la IS																									
C	No diferencias entre subpoblaciones linfocitarias (LT (CD3+), CD3+ CD4+, CD3+CD8+, LB (CD19+), Treg (CD4+ CD25HI FOXP3+), NK (CD3- CD56+)) entre individuos tolerantes y no tolerantes durante la retirada de la IS																									
O	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TOLERANTES</th> <th>NO TOLERANTES</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td colspan="2">Progresión desde la retirada del a IS de forma gradual</td> </tr> <tr> <td>%LT (CD3+)</td> <td>No significativo</td> <td>No significativo</td> </tr> <tr> <td>%CD3+ CD4+</td> <td>Descenso significativo P=0.046</td> <td>Descenso significativo P=0.018</td> </tr> <tr> <td>%CD3+CD8+</td> <td>Ascenso significativo P=0.017</td> <td>Ascenso significativo P=0.004</td> </tr> <tr> <td>%LB (CD19+)</td> <td>Descenso significativo P=0.002</td> <td>Descenso significativo P=0.013</td> </tr> <tr> <td>%Treg (CD4+ CD25HI FOXP3+)</td> <td>Ascenso significativo P=0.003</td> <td>Ascenso significativo P=0.016</td> </tr> <tr> <td>%NK (CD3- CD56+)</td> <td>No significativo</td> <td>Ascenso en no tolerantes en T fin que no se encuentra en tolerantes P=0.001</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 1.</p> <p>RESUMEN: Ascenso: CD3+ CD8+, NK Descenso: CD3+CD4+, LB</p> <p>CONCLUSION: La retirada de la inmunosupresión se sigue de un aumento progresivo de inmunidad celular (CD8) y NK. Contrariamente a estudios previos, encontramos un aumento de Treg en no tolerantes.</p>			TOLERANTES	NO TOLERANTES		Progresión desde la retirada del a IS de forma gradual		%LT (CD3+)	No significativo	No significativo	%CD3+ CD4+	Descenso significativo P=0.046	Descenso significativo P=0.018	%CD3+CD8+	Ascenso significativo P=0.017	Ascenso significativo P=0.004	%LB (CD19+)	Descenso significativo P=0.002	Descenso significativo P=0.013	%Treg (CD4+ CD25HI FOXP3+)	Ascenso significativo P=0.003	Ascenso significativo P=0.016	%NK (CD3- CD56+)	No significativo	Ascenso en no tolerantes en T fin que no se encuentra en tolerantes P=0.001
	TOLERANTES	NO TOLERANTES																								
	Progresión desde la retirada del a IS de forma gradual																									
%LT (CD3+)	No significativo	No significativo																								
%CD3+ CD4+	Descenso significativo P=0.046	Descenso significativo P=0.018																								
%CD3+CD8+	Ascenso significativo P=0.017	Ascenso significativo P=0.004																								
%LB (CD19+)	Descenso significativo P=0.002	Descenso significativo P=0.013																								
%Treg (CD4+ CD25HI FOXP3+)	Ascenso significativo P=0.003	Ascenso significativo P=0.016																								
%NK (CD3- CD56+)	No significativo	Ascenso en no tolerantes en T fin que no se encuentra en tolerantes P=0.001																								

**No existen datos para hacer una tabla con las características de los grupos.

BUS 10	ART 9: RETIRADA DE LA INMUNOSUPRESIÓN EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO: LA TOLERANCIA CLÍNICA OPERACIONAL DEPENDE DE LA EXPRESIÓN DE CÉLULAS T REGULADORAS, DISMINUYE EL RIESGO CARDIOVASCULAR Y MEJORA LA FUNCIÓN RENAL (27)
P	20 pacientes trasplantados hepáticos
I/E	El 20% de un grupo de pacientes trasplantados hepáticos debe hacer tolerancia operacional y este hecho está relacionado con la expresión de Treg
C	El 20% de un grupo de pacientes trasplantados hepáticos no debe hacer tolerancia operacional y este hecho no está relacionado con la expresión de Treg
O	<p style="text-align: center;">RESULTADOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • En 8 de 20 pacientes (40%) se pudo retirar completamente la IS (Grupo Tolerante,T) permaneciendo sin IS hasta el último control entre 10 y 132 meses (media ± DE: 61± 39 meses; mediana: 47,5 meses). • Los pacientes tolerantes mejoraron sus parámetros de riesgo cardiovascular como la presión arterial, los niveles de colesterol y triglicéridos y niveles de glucemia mejorando además la función renal. • En 5 pacientes en los que se estudió el quimerismo de células endoteliales en el injerto hepático no pudimos relacionar dicho quimerismo con la presencia de tolerancia. • En 5 pacientes tolerantes comparados con 7 no tolerantes se pudo observar un aumento de mRNA de FoxP3 antes de la retirada completa de inmunosupresión. <p style="text-align: center;">CONCLUSIONES:</p> <ul style="list-style-type: none"> - La retirada completa de inmunosupresión puede realizarse hasta en un 40% de pacientes seleccionados con trasplante hepático. - La tolerancia clínica operacional puede permanecer estable a largo plazo, al menos persistiendo hasta un periodo de 5 años. - En los pacientes con Tolerancia Clínica Operacional mejoran los parámetros de función renal y disminuyen los factores de riesgo cardiovascular, como son la hipertensión arterial, la hiperuricemia y la hipercolesterolemia y, además, se consigue un mejor control de la diabetes. - El quimerismo endotelial en el hígado trasplantado es un fenómeno frecuente y no está relacionado con la inducción de tolerancia en los pacientes con trasplante hepático durante la retirada completa de la inmunosupresión. - El incremento de células T reguladoras CD4+CD25high y del mRNA de FoxP3 se asocia a tolerancia operacional en los pacientes con trasplante hepático durante la retirada de inmunosupresión y este fenómeno, que acontece de forma precoz, antes de concluir la retirada completa de la inmunosupresión, no ocurre en los pacientes a los que no se puede retirar la inmunosupresión, por lo que podría utilizarse como test predictivo de los pacientes tolerantes.

**No existen datos para hacer una tabla con las características de los grupos

