



Universidad de Valladolid

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS DOCTORAL:

Propuesta de un nuevo biomarcador para los trasplantados renales sobre la base del estudio de tecnologías de salud codependientes

Presentada por Don Waldo del Aguila

para optar al grado de **Doctor por la Universidad de Valladolid**

Director:

Prof. Dr. Francisco M. Herrera Gómez

Prof. Dr. Félix J. De Paz Fernández

Año 2022

A mis padres por sus enseñanzas.

Índice

Resumen/Abstract	11
Capítulo 1. Generalidades: Hasta dónde sabemos sobre la respuesta inmune contra el injerto	17
Breve reseña histórica	19
Mecánica de la respuesta inmune contra el injerto	22
Estrategias actuales contra el rechazo del injerto	28
Capítulo 2. Evolución de las estrategias contra la alorreactividad: El papel de los linfocitos T reguladores	31
Nuevas opciones contra el rechazo del injerto	33
Linfocitos T reguladores	35
Capítulo 3. Nuevos enfoques para mejores resultados en trasplante: En busca de nuevos biomarcadores	43
Tecnologías de salud codependientes	46
Biomarcadores y codependencia entre fármaco y prueba en trasplante renal	49
Capítulo 4. Nuestro aporte: Propuesta de un nuevo biomarcador para los trasplantados renales	51
Diseño del estudio	54
Síntesis de la información	62
Tratamiento de las limitaciones	64
Desarrollo del biomarcador	73
Limitaciones del estudio	76
Otros hallazgos	77
Capítulo 5. Brief explanations of the study	79
Conclusiones/conclusions	87
Bibliografía	91

Aportaciones presentadas	115
Estrategia de búsqueda	121

Lista de tablas

Tabla 1. Reuniones internacionales con acceso a sus resúmenes presentados.

Tabla 2. Hallazgos en los cálculos en medidas continuas con estudios observacionales respecto al efecto de la inmunosupresión con I-mTOR en el número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales.

Tabla 3. Hallazgos en el cálculo de la relación entre el aumento del número de Tregs en sangre periférica y la estabilidad de la función del injerto renal.

Lista de figuras

Figura 1. Regulación de la respuesta inmune por parte de los Tregs.

Figura 2. Diseño de ensayo controlado aleatorio estratificado por el resultado del biomarcador.

Figura 3. Plan de estudio de la panrevisión sistemática.

Figura 4. Diagramas de flujo PRISMA presentando el proceso de selección de la pan-revisión sistemática.

Figura 5. Gráfico en embudo de un metaanálisis pareado con ensayos clínicos.

Figura 6. Gráfico de bosque y gráfico en embudo presentando el efecto del aumento del número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales sobre el número de eventos de DAI registrados en estos pacientes.

Figura 7. Gráficos de bosque presentando el efecto de la inmunosupresión con I-mTOR en el número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales.

Resumen/Abstract

El trabajo de investigación que presenta esta tesis doctoral propone un nuevo biomarcador, el número de linfocitos T reguladores (Treg) en sangre periférica, que constituye una variable “sustituta” para un resultado de salud relevante para los trasplantados renales, la estabilidad de la función del injerto renal, definida como una baja frecuencia de eventos de disfunción aguda del injerto (DAI). Hasta la fecha, solo se dispone de la medición de creatinina sérica para la evaluación de la función del injerto renal. Nuestros hallazgos afirman que el número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales varía en tanto varía el efecto del tratamiento con inhibidores de *mammalian target of rapamycin* (mTOR) solos o combinados con belatacept en la función del injerto renal. Nuestros hallazgos plantean, por tanto, el empleo del recuento de Tregs como prueba diagnóstica complementaria del tratamiento con inhibidores de mTOR (I-mTOR) solos o combinados con belatacept. La citometría de flujo es una técnica sencilla y de resultados fiables que puede permitir el seguimiento de los trasplantados renales. Se puede concluir en la codependencia entre fármaco y prueba en vista de nuestros hallazgos y considerando el diseño de los ensayos incluidos que evaluaron el efecto del tratamiento con I-mTOR con/sin belatacept en el número de Tregs en sangre periférica, que realizaron a través de la estratificación de sus participantes por esta exposición.

The research work presented by this PhD thesis proposes a new biomarker, the number of T regulatory lymphocytes (Treg) in the peripheral blood, which constitutes a "surrogate" endpoint for a relevant health outcome for kidney transplant recipients, the stability of kidney graft function, defined as a low frequency of acute allograft dysfunction (AAD) events. To date, only serum creatinine measurement is available for the evaluation of kidney graft function. Our findings affirm that the number of Tregs in the peripheral blood in kidney transplant recipients varies as the effect of treatment with mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors alone or in combination with belatacept on kidney graft function varies. Our findings therefore suggest the use of Treg counts as a companion diagnostic test for the treatment with mTOR inhibitors (mTORi) alone or in combination with belatacept. Flow cytometry is a simple technique with reliable results that can allow the follow-up of kidney transplant recipients. Drug-test codependency can be concluded in view of our findings and considering the design of the included trials that evaluated the effect of treatment with mTORi with/without belatacept on the number of Tregs in the peripheral blood, which they carried out through the stratification of their participants by this exposure.

Capítulo 1

Generalidades

Hasta dónde sabemos sobre la respuesta inmune
contra el injerto

Hasta que los avances en medicina regenerativa y tecnologías biónicas permitan la restauración total e íntegra de los tejidos defectuosos, el trasplante continúa siendo la solución más idónea frente a la disfunción e insuficiencia orgánica terminal.¹ Los avances en las técnicas quirúrgicas y las tecnologías destinadas al implante de órganos sólidos no han permitido vencer de momento el mayor impedimento para el éxito del trasplante alogénico (trasplante de un individuo a otro de la misma especie), que constituye el rechazo inmunológico del injerto, mediado por el sistema inmunitario del receptor que ataca al tejido del donante.

Breve reseña histórica

Llevándose ya intentando el injerto de órganos y tejidos desde la edad media,² antes de la llegada de la inmunosupresión farmacológica en la década de los 70, el éxito del trasplante a corto plazo era rarísimo. El fracaso del tratamiento se atribuía fundamentalmente a una mala técnica quirúrgica o a una mala calidad del tejido injertado, aunque el éxito con determinados trasplantes ayudaba a mantener motivados a los equipos dedicados a este menester.³ Sin embargo, no fue sino hasta la década de los 40, cuando la cirugía plástica asumía un protagonismo en el tratamiento de las bajas militares, que se observó que la destrucción de los tejidos injertados ocurría por causas inmunológicas, naciendo lo que conocemos hoy en día como la inmunología del trasplante.

Los estudios raíz de Peter Medawar y sus colegas arrojaron la primera luz sobre la base inmunológica del rechazo del injerto. Medawar observó que en un paciente que recibió injertos de piel tanto autólogos como alogénicos por lesiones por quemaduras, sólo los injertos alogénicos se perdieron y rápidamente. Medawar también observó que un segundo intento de injertar piel del mismo donante en este paciente resultó en una pérdida acelerada de dichos injertos. Observando astutamente que esta respuesta secundaria acelerada recordaba la respuesta inmunitaria secundaria que sigue a la reexposición a un

patógeno, Medawar investigó el fenómeno más a fondo en un modelo animal y reveló que los conejos rechazaban también los injertos de piel derivados de una cepa distinta con una cinética proporcional a la masa del injerto. Además, los segundos injertos fueron rechazados con rapidez sustancial y mayor que el primer injerto sólo si el segundo injerto procedía del mismo donante que el primer injerto.⁴

La descripción de la inmunidad en el trasplante comenzó por tanto a generar un interés creciente, fundamentalmente por los métodos a través de los cuales esta inmunidad podría someterse a control. En 1941, Frank Macfarlane Burnet propuso la teoría de la tolerancia inmunológica basada en el concepto de que una distinción, a nivel celular y molecular, entre lo "propio" y "no propio" dicta la formación de anticuerpos.⁵ Este concepto de tolerancia inmunológica ya se había observado experimentalmente en terneros gemelos dicigóticos, entre los cuales se toleraban los injertos de piel. Este fenómeno se atribuyó a la aparición de un quimerismo mixto entre las células sanguíneas de estos terneros, como resultado de la transferencia de células sanguíneas precursoras entre estos, llevada a cabo a través de anastomosis venosas en el útero.⁶ Estos hallazgos hicieron pensar a Medawar de que la tolerancia inmunológica podría inducirse mediante la exposición previa de un receptor a células extrañas durante la embriogénesis y llevó a su equipo a investigar los mecanismos subyacentes de este fenómeno.⁷ Ellos observaron que los ratones a los que se injertaron piel de una cepa distinta a la de una inoculación previa llevada a cabo durante el periodo embrionario rechazaron los injertos de esta tercera cepa trasplantados durante el desarrollo fetal. Los investigadores concluyeron que se había generado tolerancia frente a las células inoculadas inicialmente.

Si bien Medawar había identificado el rechazo del injerto como un fenómeno inmunológico sobre la base teórica de que las células alogénicas podrían ser reconocidas como "no propias" por el sistema inmunitario, el mecanismo subyacente de este reconocimiento inmunológico dentro de una especie no pudo entenderse hasta mucho más tarde, con el desarrollo de la inmunogenética. Inicialmente se pensó que la respuesta del sistema inmune frente a estas células alogénicas era próxima a la respuesta antitumoral. Sin embargo, Loeb y su equipo sugirieron que esta respuesta podría estar más bien determinada por la naturaleza del tejido injertado ("diferencias de individualidad"), más que por sus

características malignas. En esta línea, Gorer observó que la destrucción de tumores alogénicos dependía de la expresión diferencial de antígenos de los grupos sanguíneos (al entrar en contacto entre sí eritrocitos de diferentes grupos sanguíneos), es decir, era estrictamente antigénica. En su trabajo de 1938, Gorer proporcionó las pruebas experimentales de la inmunogenicidad de los aloantígenos al demostrar la producción de anticuerpos con afinidad por el "Antígeno II" después del trasplante de tumores de una cepa de ratón que expresaba este aloantígeno a una cepa negativa para este.⁸⁻¹⁰

George Snell y George Higgins caracterizaron posteriormente al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), también conocido como Antígeno Leucocitario Humano (HLA por *human leukocyte antigen*, siglas en idioma inglés), frente al que se desarrolla una respuesta dependiente de los linfocitos T, que actualmente se reconoce como fundamental en el contexto del trasplante alogénico.¹¹ El locus CMH es el más polimórfico del genoma y esto permite el establecimiento de una diversidad de perfiles inmunológicos en una misma población. Además, por la amplia expresión de los antígenos CMH en la superficie de las células, los injertos de cualquier tejido tienden a contener una alta carga de estos. Estas proteínas son reconocidas por un único receptor de linfocitos T o TCR (por *T cell receptor*, siglas en idioma inglés) que desarrolla afinidad por estas tras la selección tímica y reactividad cruzada dentro del repertorio TCR, y se puede estimar que hasta el 10% del total de linfocitos T de un individuo responden únicamente a aloantígenos.^{12,13} Esto explica el riesgo de rechazo que se encuentra si no se emparejarían receptores con donantes con las menores disparidades genéticas en el locus CMH.^{14,15}

Sin embargo, la alorreactividad del sistema inmunitario no es sólo consecuencia de esta diversidad genética en el repertorio CMH y la selección de los correspondientes TCRs que involucran a mecanismos efectoros de la respuesta adaptativa. Los mecanismos de la alorreactividad innata que se observan en los invertebrados ayudan a entender mejor el alorreconocimiento en sí, cuya finalidad no es otra que proteger a los individuos de una misma especie contra el parasitismo.¹⁶ A este respecto, el embarazo puede emplearse como ejemplo para explicar este alorreconocimiento innato que, como en especies inferiores, en los mamíferos impide la invasión de los tejidos maternos por las células fetales. Además, este alorreconocimiento innato da luces sobre los mecanismos de tolerancia hacia los antígenos del padre a

los que se expone la madre.^{17,18} Como toda respuesta por parte del sistema inmune, aquella dirigida hacia aloantígenos también se halla sujeta a un control que dependerá de una serie de mecanismos que permiten “ignorar” los antígenos reconocidos.

Mecánica de la respuesta inmune contra el injerto

El tejido injertado está sujeto a varias oleadas de respuesta inmunológica, que comienzan incluso antes del trasplante y perduran durante la vida del injerto, y que emplean diferentes estímulos y diferentes mediadores.¹⁹ Las primeras fases de la respuesta inmunitaria, antes e inmediatamente después del trasplante, están mediadas por el sistema inmunitario innato (primero el del donante, luego el del receptor). Incluso antes del recabado de órganos y tejidos del donante, la muerte cerebral y la muerte cardíaca en donantes fallecidos comprometen la fisiología de estos injertos, de manera que estimula la respuesta inmunitaria innata que favorece el daño tisular. Estas células sometidas a estrés fisiológico expresan moléculas denominadas patrones moleculares asociados al daño (DAMP por *damage-associated molecular patterns*, siglas en idioma inglés), que son detectadas por células del sistema inmunitario innato del receptor, estimulando a este a que elimine el tejido dañado o desregulado, así como haría con cualquier patógeno que pueda haber iniciado daño.²⁰ En este sentido, si bien las estrategias de preservación y precondicionamiento de órganos están mejorando, cualquier tiempo que se pasa fuera del cuerpo da como resultado un deterioro en la viabilidad celular que exacerba aún más esta respuesta inflamatoria. La inflamación estéril iniciada por el procedimiento quirúrgico, incluida la lesión por isquemia-reperfusión que acompaña a la perfusión del injerto, crea además un entorno inflamatorio dentro y alrededor del trasplante.²¹

Este entorno proinflamatorio no solo expone el injerto a la respuesta inmunitaria innata del receptor, sino que también determina la naturaleza de la respuesta inmunitaria adaptativa que sigue.²² En términos generales, las citocinas proinflamatorias (especialmente las interleucinas, como la interleucina (IL)-6, los interferones de clase I, las quimiocinas y los factores de necrosis tumoral (TNF por *tumor necrosis factor*, siglas en idioma inglés) promueven la activación, el ciclo celular y la migración hacia el injerto de células de la inmunidad.²² A su vez, el sistema del complemento, activada por los DAMPs o por anticuerpos,

genera mediadores moleculares que aumentan tanto la inmunidad innata como la adaptativa. Las fracciones del complemento C3b y C4b se unen a la superficie de las células diana y reclutan fagocitos que contribuyen al daño tisular. Además de actuar como estímulos quimioatrayentes para diversas células inmunitarias, el complemento induce vasodilatación que permite la migración de leucocitos al tejido dañado. Al mismo tiempo, se termina por ensamblar el complejo de ataque de membrana que es responsable de la lisis de las células diana.²³

El papel preponderante que desempeña el sistema inmunitario innato en el inicio del rechazo del injerto viene despertando un interés creciente a partir de una mayor y mejor comprensión de los mediadores moleculares y celulares del rechazo del injerto.²⁴⁻²⁶ La respuesta inflamatoria innata se pueden inducir de forma no específica, sin detección de antígenos extraños. Sin embargo, ahora se conoce que el sistema inmunitario innato es capaz de discriminar entre lo propio y lo ajeno.^{27,28} Los estudios han demostrado que la reacción inflamatoria, incluida la infiltración por células dendríticas secretoras de IL-12 son inducidas en mayor magnitud por trasplantes alogénicos que por trasplantes singénicos, incluso en ratones que carecen de linfocitos.^{29,30} Los monocitos,^{29,30} los macrófagos³¹ y las células NK (por *natural killer*, siglas en idioma inglés)^{31,32} se han identificado como células innatas capaces de participar en el alorreconocimiento innato, pero la identidad exacta de los determinantes moleculares de este alorreconocimiento innato en los mamíferos sigue siendo un misterio en la actualidad.

A las pocas horas del trasplante, se moviliza la respuesta inmunitaria adaptativa del receptor. Tras la exposición a los aloantígenos, se estimulan los linfocitos que proliferan y provocan la destrucción de las células del injerto.

La activación de linfocitos T dependiente de aloantígenos requiere de tres señales.³³ La primera señal la da la unión del TCR del linfocito T al complejo CMH-péptido en el que el péptido o el CMH (o ambos) derivan del donante, lo que da como resultado la activación del sistema de señalización intracelular dependiente del complejo de membrana que forman la unión del TCR con CD3 (CD por *cluster of differentiation*, siglas en idioma inglés). Con esta primera señal, se preparan los linfocitos T alorreactivos

(es decir, cualquier linfocito T en el repertorio capaz de reconocer antígenos derivados de donantes) para responder a los aloantígenos presentados. La segunda señal necesaria para la activación de linfocitos T por los aloantígenos la dan los ligandos coestimuladores, expresados en las células presentadoras de antígenos (CPA), los que se unen a sus respectivos receptores de coestimulación en los linfocitos T participantes tras la unión de su TCR al complejo CMH-péptido.³⁴ La tercera señal la constituyen las citocinas que confieren las señales químicas que son esenciales para la activación de los linfocitos T que tienen que reaccionar. El reclutamiento resultante de moléculas de señalización y adhesión en esta sinapsis inmunológica inicia un programa de expresión génica que permite la activación completa de los linfocitos T que reaccionan específicamente frente a los aloantígenos reconocidos.

El reconocimiento de aloantígenos por parte de los linfocitos T del receptor puede ocurrir a través de tres mecanismos: alorreconocimiento directo, indirecto y semidirecto.^{35,36} Las CPAs del donante pueden migrar del tejido trasplantado a los órganos linfoides del receptor.³⁷ Además, el endotelio vascular del donante puede también presentar antígenos. El CMH del donante expresado en las CPAs del mismo donante, unido a cualquier péptido, puede ser reconocido por linfocitos T del receptor a través de la vía directa. Se cree que este reconocimiento de CMH no propio ocurre, a pesar de la selección positiva de linfocitos T con alta afinidad por el CMH propio, como resultado de la reactividad cruzada de TCRs restringidos por el CMH propio, expresados por linfocitos T que han sobrevivido a la selección positiva en el timo.³⁸ Esta reactividad cruzada de TCRs con múltiples variantes de CMH es propiedad inherente del repertorio TCR preselección. Dado que no existe un ímpetu evolutivo para la selección contra la reactividad hacia el CMH no propio y ningún mecanismo para imponer una selección negativa contra los precursores de linfocitos T reactivos al CMH del donante en el timo, estos TCRs persisten posteriormente a la selección.

La vía indirecta implica la captación, el procesamiento y la presentación de péptidos derivados del donante por parte de las CPAs del receptor, a través de la vía de procesamiento de antígenos exógenos. A continuación, el antígeno del donante se presenta en el CMH de clase II del receptor a los propios linfocitos T CD4+ del receptor restringidos por el CMH correspondiente.

La transferencia trogocítica o mediada por exosomas de la membrana plasmática que contiene el CMH de clase I o clase II del donante intacto desde las células del donante a las CPAs del receptor puede permitir el reconocimiento semidirecto del péptido y CMH del donante, presentado por las CPAs del receptor a los linfocitos T CD4+ o CD8+ del receptor con aloespecificidad directa.³⁹ Se cree que la vía directa de presentación de aloantígenos es más potente, debido a la frecuencia relativamente alta de linfocitos T del receptor que se muestran reactivos al CMH del donante y, por lo tanto, domina durante la fase de iniciación del rechazo, poco después del trasplante. Sin embargo, debido a que las CPAs profesionales pasajeras (que expresan CMH de clase II del donante) persisten sólo por un tiempo relativamente corto, la contribución de la vía directa debe ser reemplazada por las vías indirecta y semidirecta a lo largo del tiempo.⁴⁰

Entre las muchas interacciones ligando-receptor coestimuladoras identificadas en la activación de linfocitos T, dominan las familias de moléculas B7 y TNFs. La unión de CD28 (expresado constitutivamente en los linfocitos T) con CD80 y CD86 (expresados en las CPAs activadas) inducen señales en el linfocito T que inducen el ciclo celular y la producción de IL-2, al tiempo que inhiben la muerte celular inducida por la activación. Las señales coestimuladoras también se inducen mediante la unión de CD154, OX40 (CD134)⁴¹ e ICOS (por *inducible T-cell costimulator*, siglas en idioma inglés; CD278) en el linfocito T, respectivamente, con CD40, ligando de OX40 y ligando de ICOS, expresados en las CPAs. Al contrarrestarse estas señales coestimuladoras, las moléculas coinhibitorias pueden conferir falta de respuesta o anergia en los linfocitos T. En particular, CTLA-4 (por *cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*, siglas en idioma inglés; CD152) inhibe competitivamente la señalización coestimuladora mediada por CD28 al unirse a CD80 y CD86 con mucha mayor avidéz que CD28.⁴²

La secreción de citocinas, incluida la IL-2, aumenta desde los linfocitos T como consecuencia de los programas transcripcionales iniciados por la señalización dependiente de TCR. Estas citocinas actúan de manera autocrina y paracrina para amplificar aún más la expansión y diferenciación clonal de linfocitos T, así como para activar otras células inmunitarias. Varias citocinas promueven la activación de los linfocitos T que ejecutan el rechazo del injerto mediado por células. Ciertas citocinas son responsables de la

“polarización” de esta respuesta de linfocitos T hacia la diferenciación de estos en un subconjunto particular de linfocitos T denominados “colaboradoras” o auxiliares o Th (por *T helper*, siglas en idioma inglés).⁴³ Por ejemplo, la IL-12, producida principalmente por células dendríticas, favorece la diferenciación hacia linfocitos Th1. Estos linfocitos Th1 promueven respuestas de macrófagos y linfocitos T CD8+ que median clásicamente la destrucción celular. Este tipo de respuesta puede observarse, por ejemplo, frente a células malignas o frente a patógenos intracelulares. Mientras tanto, la IL-4 favorece la diferenciación en linfocitos Th2 que promueven respuestas por parte de linfocitos B, eosinófilos y mastocitos, que son responsables de un tipo de respuesta denominada humoral o basada en anticuerpos. Por el contrario, la presencia de citocinas antiinflamatorias como IL-10, IL-35 y TGF (por *transforming growth factor*, siglas en idioma inglés)- β puede inducir falta de respuesta por parte de los linfocitos T o favorecer su diferenciación en linfocitos T reguladores (Tregs), lo que promueve la tolerancia hacia el aloinjerto en el contexto de la respuesta a aloantígenos.⁴⁴ En última instancia, el resultado del reconocimiento, la activación o la anergia de linfocitos T (que promueven el rechazo o la tolerancia del injerto, respectivamente) está determinado por el equilibrio entre las señales estimuladoras e inhibitoras.

Después de la activación de los linfocitos reactivos a los antígenos, los mecanismos por los cuales el sistema inmunitario adaptativo se dirige al tejido del injerto son numerosos y están interconectados, y esto permite una rápida escalada de la respuesta desarrollada. Las citocinas proinflamatorias transmiten señales entre diferentes tipos de células de los sistemas inmunitarios adaptativo e innato con el fin de hacer uso de las funciones celulares más apropiadas para la naturaleza del estímulo inmunitario. La destrucción del tejido del donante queda orquestada en este punto por y ocurre bajo la responsabilidad de los linfocitos T citotóxicos y las células NK en el caso del rechazo celular, y bajo la acción de los linfocitos B y la producción de anticuerpos en el caso del rechazo humoral.⁴⁵

Sobre el papel de los linfocitos B, estos poseen receptores de antígenos como los linfocitos T, el receptor de linfocitos B o BCR (por *B cell receptor*, siglas en idioma inglés), que se unen al antígeno intacto (sin procesar) en su conformación nativa, independientemente del CMH. Además, la activación de los linfocitos B se ve aumentada por las citocinas derivadas de los leucocitos y del tejido dañado, y por el

complemento.⁴⁶ Los linfocitos B no están restringidos por el CMH y, por tanto, no muestran la misma predisposición al alorreconocimiento que los linfocitos T, y en este sentido, no permiten la tolerancia de los aloantígenos, a menos que entren en anergia si no son asistidos por linfocitos T CD4+ activados.

Los linfocitos B a través del BCR unido a aloantígenos reciben señales para madurar y secretar anticuerpos reactivos contra el donante. Tras la unión de los anticuerpos producidos con su correspondiente aloantígeno, especialmente con aquellos expresados en el endotelio vascular, estos anticuerpos fijan complemento y reclutan varias células inmunitarias innatas a través de sus receptores Fc y los receptores de las fracciones del complemento participantes. Con esto, las células donantes diana son objeto de fagocitosis, los anticuerpos inducen además citotoxicidad a estas (por macrófagos y células NK), y citólisis mediada por el complemento (a través de la formación del complejo de ataque de membrana).⁴⁷ Un ejemplo de estos procesos lo constituye el rechazo hiperagudo de trasplantes de órganos sólidos vascularizados que ocurre por mediación de anticuerpos preformados en receptores con conocida reactividad frente a determinadas especificidades del donante. Tan pronto como el órgano del donante es perfundido con la sangre del receptor, los anticuerpos reactivos contra el donante se unen a sus respectivos antígenos en el endotelio vascular, desencadenándose el rechazo hiperagudo consecuente.

Sin embargo, el papel de los anticuerpos y linfocitos B también se puede observar en la disfunción aguda y crónica del injerto con la generación *de novo* de anticuerpos específicos contra el donante.⁴⁸ Aunque todavía existe controversia,⁴⁹ existen pruebas de la infiltración de los tejidos del donante por linfocitos B, del depósito en estos tejidos de anticuerpos y de la fracción C4b del complemento, lo que respalda el papel de los linfocitos B y anticuerpos en el rechazo del injerto.^{50,51} Esto que se observa en la clínica ya se había descrito en el laboratorio con la transferencia de anticuerpos alorreactivos a ratones deficientes en linfocitos, que era suficiente para inducir vasculopatía crónica en aloinjertos de corazón.

Sin la mediación de anticuerpos, los mecanismos celulares dominan la respuesta del sistema inmune contra los aloantígenos.⁵² Los linfocitos T son los principales protagonistas de la alorreactividad adaptativa celular. Los linfocitos T citotóxicos secretan enzimas citolíticas, granzimas A y B y perforina, y expresan

ligandos de muerte celular que inducen la apoptosis de las células diana. Los linfocitos T auxiliares o Th, por su parte, propagan la respuesta inmune contra el injerto de varias formas.⁵³ En primer lugar, estos linfocitos secretan citocinas y expresan ligandos de superficie que reclutan otros leucocitos hacia el injerto y órganos linfoides asociados y potencian la actividad de otras células efectoras inmunitarias. Otra función importante de estos linfocitos colaboradores es ayudar a los linfocitos B para iniciar la respuesta humoral contra el injerto.

Además, debe tenerse en cuenta la participación de los linfocitos T memoria. A diferencia de la respuesta por parte de linfocitos T nativos, que dependen de la presentación de antígenos por las CPAs dentro de los órganos linfoides,⁵⁴ los linfocitos T memoria que ya conocen a los aloantígenos pueden activarse en la periferia (incluso dentro del injerto) y con un umbral más bajo de coestimulación.⁵⁵ Esto hace peligrosamente vigorosa y rápida la respuesta de estos linfocitos memoria contra los aloantígenos, sobre todo si se consideran los menores requerimientos de coestimulación de estos.⁵⁶ Actualmente se reconoce a esta respuesta de memoria como un determinante crítico del rechazo del injerto y del fracaso para la inducción de tolerancia en los receptores de órganos sólidos.⁵⁷

Finalmente, debe mencionarse la participación de las células NK en el rechazo. Estas células son capaces de reconocer células alogénicas a través de un mecanismo diferente a los mencionados anteriormente, denominado "yo perdido". Las células NK expresan receptores inhibitorios que reconocen específicamente el propio CMH de clase I y son activados por las células del donante en ausencia del propio CMH.⁵⁸ Una vez activadas, las células NK a través de la perforina y granzimas, median la lisis citotóxica de las células diana.

Estrategias actuales contra el rechazo del injerto

Sin tratamiento para controlar la respuesta inmune, los injertos alogénicos están inevitablemente sujetos al rechazo inmunológico, que eventualmente destruirá el tejido del donante y dañará el tejido del receptor expuesto a la inflamación.

Se han adoptado varios enfoques para contrarrestar los mecanismos de rechazo en cada etapa. Hoy en día, las estrategias para aumentar el reclutamiento de donantes de órganos, junto con los avances tecnológicos en la conservación de órganos y tejidos, aumentan la probabilidad de donaciones de buena calidad, con órganos expuestos a un daño mínimo antes del trasplante. La tipificación de tejidos para determinar el haplotipo HLA de posibles donantes y receptores vivos permite cierto grado de coincidencia estratégica para minimizar la disparidad genética entre donante y receptor. Sin embargo, inevitablemente, siempre habrá aloantígenos presentes en el injerto para inducir respuesta por parte de los linfocitos del receptor, por lo que se requieren de más intervenciones para superar la respuesta inmunitaria adaptativa.

La inmunosupresión farmacológica sigue siendo la intervención médica prototipo para prevenir el rechazo del injerto. Los fármacos inmunosupresores actúan por diversos mecanismos para alterar la actividad de las células inmunitarias efectoras, especialmente de los linfocitos T y B, que se cree que son los principales protagonistas de la respuesta alogénica. Los regímenes para el trasplante de órganos sólidos implican una inducción profiláctica de inmunosupresión intensa durante un período breve de tiempo después de la intervención que conduce al injerto del órgano, seguida de una inmunosupresión de mantenimiento de por vida. En todo caso, se puede administrar inmunosupresión suplementaria si se detecta rechazo.

Los fármacos inmunosupresores pueden ejercer acción a todo nivel de la respuesta inmunitaria, desde la supervivencia y proliferación de los linfocitos en respuesta a la exposición al aloantígeno, a través de la estimulación del TCR y señales de coestimulación, hasta la producción de moléculas inmunitarias efectoras.⁵⁹ El enfoque más potente (pero también bastante rudimentario) consiste en agotar los leucocitos del receptor, lo que normalmente se realiza como terapia de inducción inmediatamente después del trasplante. La depleción de leucocitos puede lograrse utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos expresados específicamente en leucocitos, como anti-CD52, que agota estas células, contrarrestando la citotoxicidad tanto dependiente de anticuerpos como dependiente del complemento.⁶⁰ Las globulinas policlonales antitimocitos también se utilizan, aunque estas para la depleción únicamente de linfocitos T. Más específicamente, para contrarrestar la activación de los

linfocitos T, se pueden usar también fármacos para bloquear el TCR (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-CD3). Alternativamente, algunos fármacos bloquean las señales de coestimulación^{61,62} que se requieren para la activación de los linfocitos T, como es el caso de los anticuerpos anti-CTLA-4, lo que lleva a inactivar la señalización coestimuladora dependiente de CD80/86.

También se pueden utilizar para la inducción fármacos para neutralizar a los mediadores moleculares de la respuesta inmunitaria, o sus receptores, con el fin de extinguir la cascada de autopropagación de respuestas inflamatorias mediadas por citocinas. En este sentido, es frecuente el uso de anticuerpos dirigidos contra la cadena α del receptor de IL-2 (CD25), o anti-CD25, para inhibir la activación de los linfocitos T.⁶³

Para la inmunosupresión de mantenimiento, los fármacos que agotan los linfocitos serían demasiado perjudiciales para su uso a largo plazo, por lo que en este caso se trata a los pacientes con fármacos que inhiben la activación, proliferación o reclutamiento de células inmunitarias, en lugar de usar fármacos que afectan la supervivencia celular. Los inhibidores de la calcineurina que bloquean la síntesis de IL-2⁶⁴ y por tanto la activación de los linfocitos T se emplean ampliamente como inmunosupresión de mantenimiento. Los agentes que interfieren en el ciclo celular afectarán preferentemente a los linfocitos, debido a la inusual alta capacidad proliferativa de estas células en comparación con otros tejidos adultos. Constituyen ejemplos de estos medicamentos, los análogos de purina o pirimidina y los agentes alquilantes que interrumpen la síntesis de ADN necesaria para la división celular.

Capítulo 2

Evolución de las estrategias contra la alorreactividad

El papel de los linfocitos T reguladores

Desde el advenimiento de la quimioterapia inmunosupresora para el trasplante en la década de los 70, el resultado a corto plazo del trasplante ha mejorado constantemente, con tasas de supervivencia del injerto al año después del trasplante que alcanzan el 97% en los casos de trasplantados de riñón adultos con injertos de donantes vivos.

No obstante, mientras que la reducción progresiva del rechazo agudo del injerto en pacientes trasplantados a lo largo de la historia es sin duda un testimonio de la eficacia de la medicación inmunosupresora, se ha observado que el impacto es pobre en la mejora de la tasa de disfunción crónica del injerto. Además, los beneficios de estos fármacos se ven contrarrestados por sus graves efectos secundarios.⁶⁵ El estado de impotencia del sistema inmunitario que sigue como consecuencia del efecto de la inmunosupresión deja al paciente vulnerable a infecciones y tumores que serían contenidas y destruidas por un sistema inmunitario intacto. Además, cada fármaco posee un perfil de toxicidades que juega en detrimento de la calidad de vida de estos pacientes. El tratamiento con inhibidores de la calcineurina, por ejemplo, se asocia a un mayor riesgo de hipertensión, diabetes de nueva aparición y nefrotoxicidad. Dado que la protección conferida por estos fármacos se mantiene sólo mientras dure el tratamiento, el receptor de un trasplante está obligado a sufrir todas las consecuencias de una inmunosupresión que debe emplear durante toda su vida.

Nuevas opciones contra el rechazo del injerto

En los últimos 10 años se vienen explorando otras alternativas para prevenir el rechazo del aloinjerto. La inducción de tolerancia, con el objetivo de hacer que el sistema inmunitario intacto del receptor no responda al aloantígeno es una de las principales. Se cree que el bloqueo de las señales de coestimulación puede contribuir a la inducción de tolerancia, ya que, en teoría, los linfocitos T que reconocen al aloantígeno en ausencia de coestimulación deberían volverse anérgicos.⁶⁶ La inducción del

macroquimerismo hematopoyético del donante, mediante el cual la sangre del receptor se llena con células sanguíneas del donante después de la infusión de médula ósea o células madre hematopoyéticas, puede provocar la eliminación apoptótica de los linfocitos T reactivos contra el donante y crear un estado tolerante. Esta es otra opción que se ha ensayado. Se han informado de varios casos de pacientes que recibieron trasplantes de órganos sólidos después de trasplantes de células madre del mismo donante, a quienes se les pudo retirar la inmunosupresión con éxito.⁶⁷⁻⁶⁹ Además, se puede suponer que los mecanismos dominantes de tolerancia periférica, como los ejercidos por subconjuntos de células con función reguladora, podrían explotarse para una inducción de tolerancia más potente, y esta posibilidad también está en estudio.

En todo caso, idealmente, cualquier tratamiento para el rechazo del aloinjerto debería suprimir la respuesta inmunitaria contra el injerto específicamente, sin efectos sistémicos sobre el sistema inmunitario. La próxima generación de terapias de trasplante debe diseñarse con una toxicidad mínima y una especificidad máxima para proteger al injerto contra el rechazo. En este sentido, una vía prometedora que se está explorando como solución a la morbilidad asociada a uso de los medicamentos inmunosupresores actuales es complementar o reemplazar el tratamiento con estos fármacos por terapias celulares. También, en lugar de utilizar medicamentos para manipular las células inmunitarias in situ, podría ser preferible modular el número o la calidad de las células inmunitarias supresoras mediante la infusión de más células reguladoras en el paciente.⁷⁰

El concepto de terapia celular para el trasplante es atractivo ya que las células se adaptan exquisitamente a lo largo de la evolución para responder a su entorno y comportarse de una manera beneficiosa para su organismo huésped. Además, las células reguladoras ejercen diversos efectos protolerogénicos que afectan a todo el sistema inmunitario,⁷¹ en lugar de dirigirse a un tipo particular de célula (o ruta bioquímica). De manera crítica, se cree que la tolerancia inducida por las células reguladoras se perpetuaría en sí misma, de modo que un solo ciclo de tratamiento podría ser suficiente para mantener sus resultados a largo plazo.

Si bien se ha observado capacidad reguladora facultativa en una amplia gama de subconjuntos de células, esta función reguladora a menudo depende del contexto o posiblemente se limite a un subconjunto particular de células. Es importante saber que muchas de estas poblaciones celulares, incluidas las células dendríticas plasmocitoides,⁷² las células NK-T⁷³ y los linfocitos T $\gamma\delta$,⁷⁴ que han demostrado poseer función reguladora de la respuesta inmune, también muestran una función efectora que sería perjudicial para las terapias celulares inductoras de tolerancia. Entre las células reguladoras aparentemente “profesionales” se están explorando varias poblaciones como terapias celulares para varias patologías y el trasplante.⁷⁰ En fin, se están estudiando varias opciones de terapia con células inmunitarias reguladoras en trasplante renal, incluidos los linfocitos T reguladores clásicos, los linfocitos Tr1, las células dendríticas tolerogénicas y los macrófagos reguladores. Los linfocitos T reguladores, que probablemente tienen el cuerpo de pruebas más consistente para respaldar su eficacia como producto de terapia celular, son el motivo de esta tesis doctoral y se describirán con más detalle a continuación.

Linfocitos T reguladores

Los linfocitos T reguladores son un subconjunto de linfocitos T cuya función es mantener la homeostasis inmunitaria y suprimir la respuesta inmunitaria autorreactiva. La necesidad de una regulación inmunitaria mediada por estas células queda ilustrada por las patologías graves asociadas a defectos en este subconjunto linfocitario. Los pacientes que padecen del síndrome de inmunodeficiencia, poliendocrinopatía y enteropatía ligada al cromosoma X, o IPEX (por *Immunodysregulation Polyendocrinopathy Enteropathy X-linked*, siglas en idioma inglés), que ocurre como consecuencia de una mutación genética en el factor de transcripción FOXP3 (por *forkhead box 3*, siglas en idioma inglés), que presentan los linfocitos Treg, sufren de autoinmunidad sistémica.⁷⁵⁻⁷⁷ Mientras tanto, los defectos en la función de los linfocitos Treg se han implicado en muchas otras enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo I y la esclerosis múltiple.⁷⁸ Sin embargo, un aumento en el número de estos linfocitos T que expresan FOXP3 se ha asociado con infecciones crónicas⁷⁹ y metástasis de tumores.⁸⁰ En consecuencia, dado el papel crítico que desempeñan los linfocitos Treg en la regulación de la inmunidad, ha habido y sigue habiendo un gran interés por caracterizar estas células e identificar los marcadores mediante los

cuales se pueda reconocer a esta población linfocitaria, para comprender su desarrollo y función sobre todo con fines terapéuticos.

A día de hoy, se han defendido una plétora de moléculas en tanto que marcadores de estos linfocitos Treg, aunque aún no se ha identificado ninguna molécula que distinga de manera única a los Tregs humanos de cualquier otro subconjunto de linfocitos T. Esta escasez de marcadores hace difícil no sólo la identificación, sino también el aislamiento y la manipulación de estas células. El subconjunto de linfocitos T reguladoras identificado por primera vez en ratones se caracterizó como CD4+CD25+.^{81,82} En ratones, la expresión del factor de transcripción FOXP3 está restringida a estos linfocitos T con función reguladora y, por tanto, define a este subconjunto linfocitario. FOXP3 es fundamental para establecer la regulación epigenética y transcripcional de la expresión génica específica de los linfocitos Treg, definiendo el destino “funcional” de estas células.^{83,84} Sin embargo, en la práctica, la detección de este marcador se halla limitada por su localización intracelular, que imposibilita el acceso a este sin comprometer la viabilidad de estas células. Además, en humanos, no sólo los linfocitos Treg expresan FOXP3, sino también aquellos linfocitos CD4+ y CD8+ activados,^{85,86} lo que puede llevar a confusión a la hora de definir en base a este marcador a los linfocitos T reguladores propiamente dichos.

Otras moléculas presentes en la superficie celular de estos linfocitos, aunque no exclusivamente, pueden llevar también a confusión a la hora de identificar a los linfocitos Treg. En particular, CD25, el receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR por *glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor*, siglas en idioma inglés),⁸⁷ el gen 3 de activación de linfocitos (LAG-3 por *lymphocyte-activation gene 3*, siglas en idioma inglés), y CTLA-4 (CD152),^{82,88} se los puede encontrar a todos en la superficie de los linfocitos Tregs, aunque también en la superficie de los linfocitos T efectores (Teff).

El perfil transcripcional puede ayudar a discriminar entre Tregs y Teffs, constituyendo actualmente la manera para identificar la huella más fidedigna del fenotipo Treg, que la da la desmetilación del ADN en la región TSDR (por *Treg-specific demethylated region*, siglas en idioma inglés) de FOXP3.^{84,89-91}

Nuevamente, las técnicas empleadas para identificar a estas células por su perfil epigenético no permiten el aislamiento de células vivas, y por tanto su eventual empleo terapéutico.

Y para más confusión, se han descrito otros varios subconjuntos de linfocitos T con función reguladora, los linfocitos Tr1 productores de IL-10,⁹² los linfocitos T CD8+FOXP3+,⁹³ los linfocitos T doble negativos⁹⁴ y los linfocitos Th3 productores de TGF- β , que hacen difícil el propósito de la regulación de la respuesta inmune con fines terapéuticos.

Al igual que todos los linfocitos T, el desarrollo de los linfocitos Treg en el timo comienza a partir de un precursor de timocitos. Con esta consideración, los Tregs se pueden clasificar en dos categorías según su historia de desarrollo: 1) los que adquirieron el fenotipo Treg dentro del timo ("Tregs derivados del timo" o "tTregs"), y 2) los que emergieron del timo como Teffs y luego fueron inducidos a diferenciarse en Tregs en la periferia ("Tregs periféricos" o "pTregs").

La diferenciación tímica de los linfocitos Treg depende de la unión de su TCR al complejo CMH-autopéptido. Los Tregs que responden a autoantígenos sobreviven a una selección clonal,^{95,96} lo que no ocurre con los Teffs tras su exposición a autoantígenos.⁹⁷ Los Tregs son estimulados por interacciones TCR-CMH-autopéptido con afinidad mucho más baja que los Teffs, lo que permite la supervivencia de los Tregs guardando afinidad por su antígeno afín con un umbral por debajo del requerido.⁹⁸ Además, Los Tregs se hacen en este proceso de diferenciación resistentes a la apoptosis.⁹⁹ Al final de este proceso, los tTregs emergen adaptados para mantener una tolerancia constante a autoantígenos con el fin de prevenir la autoinmunidad.

Mientras tanto, la diferenciación de Teffs en Tregs en la periferia es inducida por la estimulación del TCR con antígenos exógenos en condiciones tolerogénicas (por efecto de citocinas antiinflamatorias, especialmente TGF- β , que predominan sobre las citocinas proinflamatorias, y con CPAs que expresan ligandos de coestimulación inhibitorios).¹⁰⁰ Estos antígenos exógenos que inducen esta diferenciación de Teffs en Tregs incluyen antígenos alimentarios y otros procedentes de organismos comensales. Los pTregs

resultantes confieren tolerancia a estos antígenos no propios inofensivos en la periferia, siendo responsables de esta forma de un mecanismo de protección contra las reacciones de hipersensibilidad.

Una vez que los linfocitos Treg se hallan en los órganos linfoides secundarios, la estimulación a través del TCR y CD28 permite via los factores de transcripción IRF4 y Blimp-1,¹⁰¹ la diferenciación de estas células hacia un fenotipo Treg efector ("eTreg"). Estos eTregs que se caracterizan por una expresión muy elevada de marcadores de activación, incluido CD25, migran hacia sitios periféricos para mantener la homeostasis inmunitaria a través de la tolerancia a antígenos extraños que son inocuos,¹⁰² en estrecha relación con los Teffs, atañando las respuestas Th1,¹⁰³ Th2¹⁰⁴ y Th17.¹⁰⁵

La diferenciación adicional de los Tregs en un subconjunto de memoria (mTregs) que ocurre al igual que con los Teffs, puede explicar que también existe memoria para los antígenos tolerados.¹⁰⁶ Estos mTregs persisten en los tejidos periféricos con el fin de modular la respuesta efectora hacia determinados antígenos en estos sitios. En efecto, la memoria reguladora se puede considerar como una adaptación frente a determinados antígenos, como puede ser el caso de aloantígenos derivados del feto o del semen, frente a los que en situaciones normales no se reacciona.

Además, debe destacarse la plasticidad fenotípica de los Tregs, que pueden adquirir un fenotipo proinflamatorio en sitios de inflamación,¹⁰⁷ y que probablemente sea el reflejo de la regulación de su función en estos sitios, lo que hace pensar el papel que juega el microambiente y la exposición a antígenos en este microambiente donde estos Tregs migran y residen. Los transcriptomas exhibidos por estos Tregs residentes en los tejidos permiten la caracterización de estas células y su localización en estos sitios, que puede ir más allá de la regulación inmunitaria per se, y puede dejar entrever funciones de soporte y otras no relacionadas con la respuesta inmunitaria.¹⁰⁸

Figura 1.

Regulación de la respuesta inmune por parte de los Tregs

Se requiere del contacto de célula con célula (p. ej., bloqueo de la coestimulación vía la unión de CTLA-4 con CD80/86), y puede involucrar a otras células distintas a las del sistema monocito-macrófago. También se lleva a cabo a través de la inducción de apoptosis de los Teffs vía perforina y granzimas, limitación de la activación y proliferación de los Teffs a través del agotamiento de IL-2 y ATP en el microambiente, secreción de citocinas antiinflamatorias (IL-10, IL-35 y TGF- β), entre otros mecanismos.

ATP, adenosine triphosphate (adenosina trifosfato); *CTLA-4, cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*; *CXCL, chemokine (C-X-C motif) ligand 1*; *DC, dendritic cells* (células dendríticas); *HO-1, heme oxygenase-1*; *ICOS/ICOSL, inducible T-cell costimulator/ligand*; *IDO, indolamina 2,3-dioxigenasa*; *IFN- γ , interferon gamma*; *IL, interleucina*; *ILC2, type 2 innate lymphoid cells*; *LAG-3, lymphocyte-activation gene 3* (gen 3 de activación de linfocitos); *MHCII, major histocompatibility complex class II* (Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase II); *NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*; *NK, natural killer cells*; *NKG2D, natural killer cells G protein type 2D*; *PD/PD-L, programmed death protein/-ligand*; *SOCS3, suppressor of cytokine signaling 3*; *TGF- β , transforming growth factor- β* ; *TNF, tumor necrosis factor* (factor de necrosis tumoral).

Esquema (idioma inglés), Romano y col., 2018 (110)

Los mecanismos por los que los Tregs ejercen su influencia suprimiendo la respuesta inmune son numerosos y variados.^{71,109,110} Esta regulación de la respuesta inmune apunta a una multitud de subconjuntos celulares y procesos intracelulares, y puede ser dependiente como independiente del contacto célula con célula (Figura 1).

Los mecanismos dependientes del contacto entre los Tregs y Teffs o CPAs incluyen la participación de correceptores inhibitorios con sus respectivos ligandos de coestimulación inhibitorios. Un claro ejemplo de esta interacción la constituyen la unión de CTLA-4 con CD80 y CD86. Las señales intracelulares transmitidas tras esta unión tienen que ver con el deterioro de la maduración, la inducción de la generación de moléculas inmunorreguladoras, incluida la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), etc. Además, esta unión de CTLA-4 con CD80/86 compite físicamente con la unión de CD28 con CD80/86, lo que bloquea eficazmente la coestimulación.^{111,112} De manera similar, la expresión de LAG3 en los Tregs contribuye a inhibir la maduración de las células dendríticas tras su interacción con el CMH.¹¹³

La variedad de factores solubles antiinflamatorios secretados por los Tregs, que incluyen IL-10, IL-35 y TGF- β , contribuyen a generar y mantener un entorno “supresor” potente dentro del microambiente en el que se hallan ejerciendo efecto los Tregs.⁴⁴ La IL-10 es una interleucina inherentemente supresora de la respuesta inmune en la que ya no media contacto celular alguno.¹¹⁴ No obstante, el contacto entre los Tregs con otras células hace que estas últimas secreten citocinas antiinflamatorias que modulan el comportamiento del resto de células en la vecindad.^{115,116}

Además, los Tregs agotan activamente la IL-2 de su microambiente, debido a la alta densidad del receptor de esta citoquina que los Tregs exponen en su superficie celular. Esto afecta a los Teffs que se ven limitados en su activación, proliferación y función.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Los Tregs también limitan la actividad de los Teffs agotando el ATP (por *adenosine triphosphate*, siglas en idioma inglés) extracelular de su microambiente. Las ectoenzimas CD39 y CD73, expresadas preferentemente por los Tregs, convierten el ATP en AMP (por *adenosine monophosphate*, siglas en idioma inglés) y ADP (por *adenosine diphosphate*, siglas en idioma inglés), metabolizando después el AMP en adenosina.^{120,121} Con la adenosina y a través de fluctuaciones

en los niveles de cAMP (por *cyclic adenosine monophosphate*, siglas en idioma inglés), los Tregs inhiben vía contacto con los Teffs, la secreción de IL-2 por parte estos.^{122,123} Los Tregs también son capaces de inducir la muerte celular por apoptosis de los Teffs directamente mediante la secreción de enzimas citolíticas granzima A, granzima B¹²⁴ y perforina,¹²⁵ y a través del ligando Fas en la superficie de los Tregs al contactar este con su respectivo ligando en los Teffs.^{126,127}

En todo caso, los mecanismos reguladores empleados por los Tregs dependen del contexto y están determinados por el microambiente en el que se hallan estos, en el que juegan además otros varios factores como la naturaleza de la respuesta inmunitaria, el tipo de células efectoras activadas y el sitio anatómico donde estos Tregs están actuando. Por ejemplo, la supresión de la respuesta inmune mediada por los Tregs no es la misma dentro de los tumores, donde depende de la producción de IL-10 y TGF- β , en comparación con la que se lleva a cabo en sangre periférica, en la que juegan además los niveles de las citocinas reguladoras que son secretadas.¹²⁸ Finalmente, el entorno regulador establecido por los Tregs se mantiene después y a través de varios mecanismos de retroalimentación positiva, incluso una vez resuelta la inflamación que se ha logrado yugular.

Capítulo 3

Nuevos enfoques para mejores resultados en trasplante

En busca de nuevos biomarcadores

Hasta hace relativamente poco tiempo la información sobre la respuesta probable de un paciente a los tratamientos era limitada. Las estrategias de tratamiento generalmente se basaban en la información de la que se disponía, que en gran parte procedía de la experiencia con otros pacientes. No obstante, con una mayor comprensión de la genética ahora es posible personalizar los tratamientos de acuerdo al perfil de cada paciente, con el fin de indicarlos en aquellos que previsiblemente responderán mejor a estos tratamientos, y todo ello con la menor cantidad de efectos adversos.¹²⁹⁻¹³²

En esta línea de tratar aquellos que previsiblemente responderán mejor, en el campo del cáncer se han desarrollado y comercializado ya varios medicamentos que se acompañan de una prueba diagnóstica “complementaria” que permite saber si un paciente dado presenta un resultado positivo para un biomarcador determinado que predice que este responderá al medicamento que se le va a administrar. Constituyen ejemplos de este proceder los tratamientos con trastuzumab y un resultado positivo para HER2 (por *human epidermal growth factor receptor 2*, siglas en idioma inglés) en el cáncer de mama, cetuximab y la presencia de la mutación K-RAS (por *Kirsten rat sarcoma viral oncogene*, siglas en idioma inglés) para el cáncer colorrectal metastásico, y gefitinib y la presencia de mutaciones en el gen del EGFR (por *epidermal growth factor receptor*, siglas en idioma inglés) para el cáncer de pulmón.^{133,134}

La Administración Federal de Medicamentos de los E.E.U.U. ha realizado esfuerzos preliminares para brindar una orientación sólida para el desarrollo de tratamientos basados en fármacos y sus correspondientes pruebas diagnósticas complementarias, aunque tales tratamientos son todavía materia de debate en lo que respecta a cómo abordar estas tecnologías codependientes desde una perspectiva regulatoria y de coberturas.^{135,136} En este sentido, existe una creciente frustración, fundamentalmente en el seno de la industria y que demuestran los profesionales de la salud por los retrasos que afectan a estos

tratamientos de medicina personalizada que no terminan de llegar al paciente,¹³⁷ y que hacen persistir en tratamientos que no dependen de prueba alguna.¹³⁸

Tanto el medicamento como la prueba diagnóstica complementaria necesitan ser evaluados para determinar su desempeño como requisito a la aprobación de estos dos como tratamiento, además de lo que respecta la correspondiente cobertura de los mismos, lo que no es una tarea fácil.¹³⁶ El soporte probatorio es muchas veces deficiente, sobre todo en los que respecta a los ensayos clínicos que necesitan evaluar el impacto directo de estos tratamientos en resultados de salud determinados.¹³⁸ Los órganos encargados en Australia reconocen de manera similar que las tecnologías codependientes (o tecnologías que trabajan mejor juntas), en tanto que tratamientos de medicina personalizada, requieren de una evaluación más que minuciosa. Como consecuencia, del trabajo de investigadores australianos en el campo de la evaluación de tecnologías sanitarias, se dispone recientemente de un marco de evaluación que hemos utilizado en nuestros métodos, y que procedemos a explicar a continuación.

Tecnologías de salud codependientes

El examen del impacto en la clínica de las tecnologías codependientes requiere de un enfoque innovador. Se necesitan de datos para respaldar la afirmación de una relación entre el resultado tras medir un determinado biomarcador y el efecto propiamente dicho del fármaco que se quiere asociar a este biomarcador. La plausibilidad biológica de esta relación es fundamental. Específicamente, se busca una relación causal para desmentir que el biomarcador es independiente del medicamento a emplear a efectos de su eficacia (prueba pronóstica), es decir, para afirmar que el fármaco ejerce un efecto que se traduce en cambios en el biomarcador que mide la prueba diagnóstica complementaria.¹³⁹ Las decisiones regulatorias requieren por tanto de evaluar el nivel de codependencia entre fármaco y prueba. Esta relación se puede examinar en el soporte probatorio disponible. Se requerirán de ensayos controlados aleatorios que hayan evaluado prospectivamente el efecto del tratamiento sobre determinados resultados de salud relevantes para el paciente (p. ej., supervivencia, calidad de vida, complicaciones reducidas) en subgrupos delimitados por el biomarcador.¹⁴⁰ Serán argumentos de peso las pruebas que aporten los ensayos clínicos que se hayan diseñado con este fin.¹⁴¹

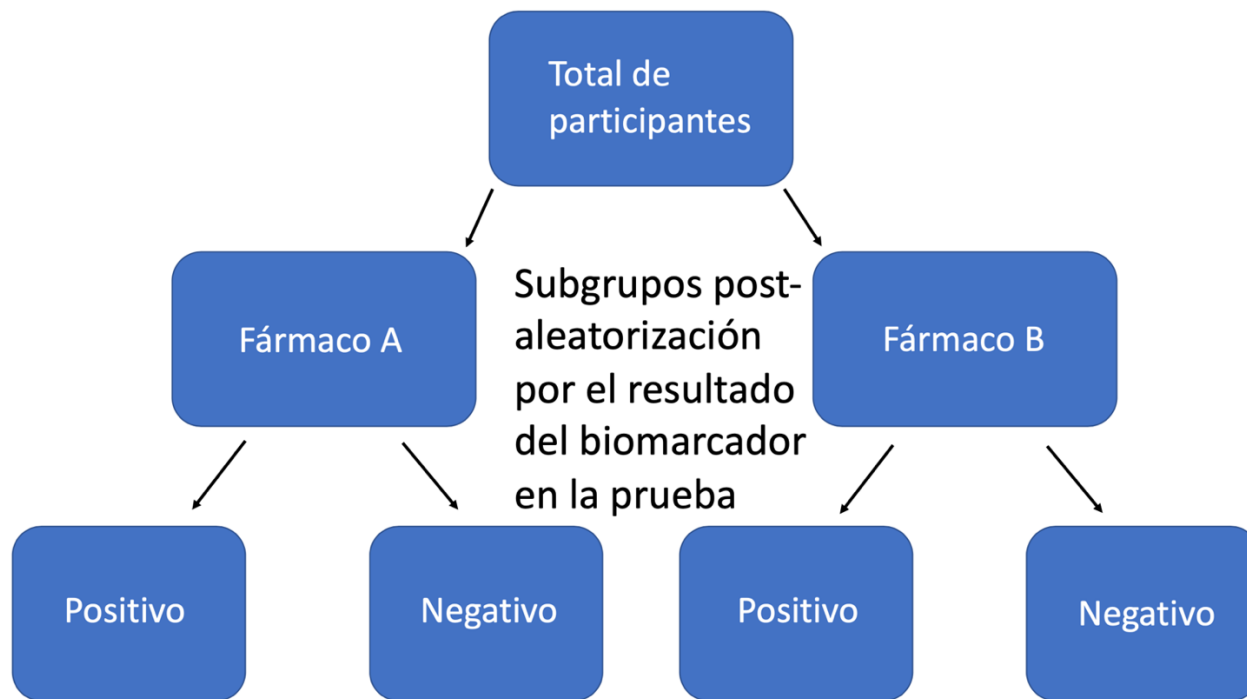


Figura 2.

Diseño de ensayo controlado aleatorio estratificado por el resultado del biomarcador

Adaptación del trabajo de Merlin y col., 2013. (140)

Resulta de interés señalar las limitaciones prácticas al respecto de disponer de los ensayos clínicos apropiados, sobre todo en lo referente a la talla de la muestra en la que se llega a medir el biomarcador de interés. En este sentido, muchas veces resulta más eficiente, y es lo que se hace, medir el efecto del tratamiento comparativamente entre individuos con un resultado positivo y negativo para el biomarcador (Figura 2).

Cuando el efecto del tratamiento se puede medir a través del estado del biomarcador, el fármaco y la prueba se consideran altamente codependientes. Un fármaco A puede haber sido desarrollado específicamente para acometer a un biomarcador determinado y producir un beneficio clínico que se puede medir a través de resultados de salud relevantes para el paciente previamente definidos. Un impacto “favorable” del tratamiento se puede apreciar por tanto a través de un resultado positivo del biomarcador en aquellos que reciben el fármaco A. Si estos pacientes usaran un fármaco B, reemplazando este por el fármaco A mejorarían los resultados con el cambio llevado a cabo.

No obstante, muchas veces es necesario y razonable adoptar un enfoque pragmático vinculando distintos tipos de pruebas con el fin de construir una cadena de argumentos que permita abordar todas las incertidumbres y límites posibles, sobre la base de una sólida validez interna dictada por el carácter sistemático de los procesos seguidos.¹⁴⁰

Además, es necesario considerar otros factores al evaluar el medicamento de interés, por ejemplo, si el tratamiento es adicional a otros ya existentes o si reemplaza a los actuales, lo que puede incluir también al biomarcador que se pretende asociar al fármaco evaluado, así como otros factores que tienen que ver con la logística en la gestión de pacientes y muestras, etc.¹⁴⁰

En el ámbito internacional, aunque existen otras iniciativas, hasta la fecha, ningún país ha desarrollado un sistema para evaluar los paquetes de fármacos y pruebas diagnósticas complementarias con fines regulatorios como ha sido el caso de Australia.

Biomarcadores y codependencia entre fármaco y prueba en trasplante renal

El trasplante a pesar de ser la solución más apropiada frente a la insuficiencia orgánica terminal¹ se enfrenta a límites hoy en día todavía infranqueables, que sobre todo vienen impuestos por la necesidad de una inmunosupresión farmacológica de por vida. Los fármacos empleados para prevenir el rechazo del injerto se asocian a graves e invalidantes efectos secundarios,⁶⁵ lo que subraya la necesidad de intervenciones encaminadas a reducir la exposición a estos medicamentos. En este sentido, como en otros campos en investigación clínica, la necesidad de biomarcadores que viene planteada desde la intención de poder proponer tratamientos más personalizados a estos pacientes, ha generado y sigue generando entusiasmo a todo nivel. Particularmente, los investigadores en farmacometría y la investigación que conduce a nuevas decisiones regulatorias se encuentran particularmente implicados en mejorar el tratamiento de los trasplantados.

No obstante, la utilidad clínica real de los marcadores propuestos hasta el momento no se entiende del todo bien. A este respecto, los biomarcadores procedentes del perfil transcripcional para detectar receptores con bajo riesgo de rechazo contribuyen sólo a comprender los mecanismos involucrados en una menor respuesta por parte del sistema inmune que estos pacientes presentan, pero no es posible con ellos llegar a una toma de decisiones en la clínica. A esto se suman los costosos métodos que suponen la puesta en marcha de la tecnología de secuenciación para poder detectar estos marcadores.

Alternativamente, la evaluación del fenotipo inmunitario en sangre periférica podría convertirse en una herramienta valiosa para discernir entre pacientes con alto y bajo riesgo de rechazo. La citometría de flujo es una técnica sencilla y de resultados fiables que puede permitir un seguimiento de aquellos receptores con bajo riesgo de rechazo tras ajustes en la inmunosupresión con el fin de favorecer una menor respuesta a los aloantígenos del donante por parte del receptor. Nuevamente, los linfocitos T reguladores hacen su aparición como protagonistas de esta menor respuesta y del bajo riesgo de rechazo. Los esquemas *de novo* con, o el cambio a inhibidores de mTOR (por *mammalian target of rapamycin*, siglas en idioma inglés) con/sin belatacept, un anticuerpo monoclonal anti-CTLA-4, favorecen la expansión de esta población linfocitaria, que se ha relacionado con la estabilidad e incluso la mejora de la función de los

injertos renales, que se piensa ocurre por efecto del tratamiento con estos inmunosupresores. Las pruebas de un efecto protector de esta población linfocitaria constituyen la base de ensayos clínicos que han intentado confirmar si tratando con estos medicamentos se llegarían a mejores resultados en trasplante renal.

Si la hipótesis de codependencia entre fármaco y prueba es cierta,¹⁴⁰ en tanto que biomarcador, el número de Tregs en sangre periférica se puede asumir que varía dependiendo del efecto que tienen los inhibidores de mTOR (I-mTOR) solos o combinados con belatacept en el mantenimiento de la función del injerto renal. Por tanto, estos inmunosupresores podrían usarse con una prueba diagnóstica complementaria, la determinación del número de Tregs en sangre periférica. En este sentido, un mayor número de Tregs se asociaría a una menor frecuencia de eventos de disfunción aguda del injerto (DAI) que observaríamos a través de la estabilidad de la función del injerto renal, que se asumiría como resultado de salud relevante para el paciente o beneficio. Hasta la fecha, solo se dispone de la medición de creatinina sérica para la evaluación de la función del injerto renal.

Capítulo 4

Nuestro aporte

Propuesta de un nuevo biomarcador para los
trasplantados renales

Un biomarcador, según la definición del Instituto Nacional para la Salud de los Estados Unidos, es una característica que se puede medir de forma objetiva y evaluar como un indicador de los procesos biológicos normales, patogénicos o de la respuesta a un fármaco o intervención terapéutica.¹⁴² Con la llegada de los biomarcadores ha ocurrido un cambio importante en el concepto de atención en salud, que apuesta ahora por un tratamiento “a medida” de las enfermedades, es decir, adaptado a cada paciente.

Los hallazgos que presenta esta tesis doctoral constituyen el punto de partida para personalizar el tratamiento de los trasplantados renales, que resulta necesarísimo, como lo es para otros receptores de órganos sólidos, con el fin de minimizar y prevenir los efectos indeseables de la inmunosupresión farmacológica, y que interesan sobre todo en un país como España que destaca por su intensa actividad trasplantadora.

Nuestro trabajo propone un biomarcador que constituye una variable “sustituta” para un resultado de salud relevante para los trasplantados renales.¹⁴³ Sobre la base de los ensayos clínicos considerados, se asumió la estabilidad de la función del injerto que hemos definido como una baja frecuencia de eventos de DAI en tanto que el beneficio a alcanzar. El nuevo biomarcador que proponemos, el número de Tregs en sangre periférica, varía en tanto varía el efecto del tratamiento con I-mTOR con/sin belatacept en la función del injerto renal, por lo que plantea el empleo del recuento de estos linfocitos como prueba diagnóstica complementaria del tratamiento con estos inmunosupresores.

En las líneas siguientes se expone el desarrollo de nuestro trabajo que ha dado lugar a la publicación de tres artículos en revistas indizadas, que constituyen el aporte al conocimiento de esta investigación que presenta este manuscrito de tesis doctoral.¹⁴⁴⁻¹⁴⁶

Diseño del estudio

Se elaboraron, revisaron, y modificaron si fue el caso, cinco protocolos de revisión sistemática de la literatura en la que participaron nefrólogos e internistas con experiencia en trasplante de renal, inmunólogos con experiencia en citometría de flujo, y farmacometristas. Estos protocolos de estudio se sometieron para su evaluación por el comité editorial del Registro Internacional de Revisiones Sistemáticas Prospero (dirección electrónica: <https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>), inscribiéndose y publicándose estos el 22 de agosto de 2016 (referencia: CRD42016046285), 2 de marzo de 2017 (CRD42017057570), y 18 de enero de 2018 (CRD42018085019, CRD42018084941, CRD42018085186). Todas las versiones de estos protocolos se encuentran disponibles y son de libre acceso a través del portal de Prospero.

Estos protocolos de estudio presentan los métodos, al equipo investigador, y demás detalles importantes de las revisiones sistemáticas llevadas a cabo. Con el registro de estos protocolos se cumplen las exigencias de las guías del grupo de trabajo PRISMA (por *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, siglas en idioma inglés) que son actualmente la referencia para el desarrollo y la presentación de toda revisión sistemática que no se ciñe a los patrones de las revisiones Cochrane.¹⁴⁷ Con la inscripción de nuestros protocolos de estudio se garantiza el carácter prospectivo de la anotación de todos los detalles de nuestro estudio, que involucran no sólo los métodos que se siguieron,¹⁴⁸ sino también cualquier cambio justificado en estos,¹⁴⁸ la idoneidad del trabajo en su totalidad,¹⁴⁹ y muy particularmente previene la aparición de cualquier tipo de sesgo evitable que pudiera restar calidad a cualquiera de las revisiones sistemáticas que se llevaron a cabo.¹⁵⁰ Pueden consultarse los textos de las guías PRISMA disponibles que avalan estos argumentos en el siguiente hipervínculo: <http://www.prisma-statement.org/>

Las cinco revisiones sistemáticas que conformaron la panrevisión sistemática que presenta esta tesis doctoral se diseñaron para permitir recolectar las pruebas referentes al valor del número de Tregs en sangre periférica como variable “sustituta” del efecto del tratamiento con I-mTOR solos o combinados con belatacept en la función del injerto renal. Respondiendo a la pregunta de investigación que se desprende

de este propósito, la intención de nuestra investigación era la de proponer el empleo del recuento de estos linfocitos como prueba diagnóstica complementaria del tratamiento con estos inmunosupresores.

Nuestro punto de partida fue una primera revisión sistemática denominada “piloto”, cuyos hallazgos publica el primer artículo de esta tesis doctoral,¹⁴⁴ y que sirvió de guía para el diseño y desarrollo de las siguientes 4 revisiones sistemáticas con las que se identificó la información para responder a la pregunta central de investigación de nuestro trabajo (Figura 3).



Figura 3.

Plan de estudio de la panrevisión sistemática.

Una primera revisión sistemática (información a fecha 31 de agosto de 2016) dio lugar a las posteriores 4 revisiones desarrolladas (información a fecha 31 de diciembre de 2017).

Ninguna de las cinco revisiones sistemáticas desarrolladas respondieron a la misma pregunta de investigación ni recuperaron las mismas pruebas. Tras la revisión sistemática “piloto” que se desarrolló siguiendo un diseño clásico de revisión sistemática, empleamos una técnica secuencial ya empleada en otras investigaciones en otras áreas, en la que las revisiones sistemáticas se desarrollan por etapas,¹⁵¹ para con los hallazgos de una primera etapa informar la siguiente. Estas etapas o pasos constituyeron un inventario preliminar de pruebas sobre la problemática a resolver –en la literatura mencionado con el nombre de *mapping* (término en idioma inglés)– con el que se orientó la búsqueda y posterior

identificación de aquellas pruebas con las que finalmente se dió respuesta a la pregunta central de investigación, en un segundo paso denominado de revisión “en profundidad”.¹⁵²

Los hallazgos de estas cuatro revisiones sistemáticas desarrolladas tras la primera se publican en los otros dos artículos en los que se sustenta esta tesis doctoral.^{145,146} Dos de estas revisiones fueron de dos etapas y se diseñaron para confortar respectivamente con una revisión la siguiente –en nuestro artículo publicado en la revista *International Immunopharmacology* se las menciona como revisiones *core* e *in-focus* (términos en idioma inglés)–, para lo que fue necesario el soporte de los hallazgos de otras dos revisiones de una etapa, una en apoyo del paso del inventario preliminar y la otra del paso de la revisión sistemática “en profundidad” de la revisión sistemática *core* (Figura 4).

Los hallazgos que presentamos corresponden a la información recuperada a fecha 31 de diciembre de 2017 (revisión sistemática *in-focus*), que actualizan los hallazgos de nuestras búsquedas a fecha 31 de marzo de 2017 (revisión sistemática *core*), así como los hallazgos en la revisión sistemática “piloto” que tienen fecha de 31 de agosto de 2016. El proceso de selección de estudios de las 5 revisiones sistemáticas desarrolladas fue el que dicta el grupo de trabajo PRISMA en sus recomendaciones para revisiones sistemáticas nuevas en las que se buscaron en bases de datos, repositorios y otras fuentes,¹⁵³ llevándose a cabo esta selección de estudios en el orden que dictaba nuestro plan de estudio.

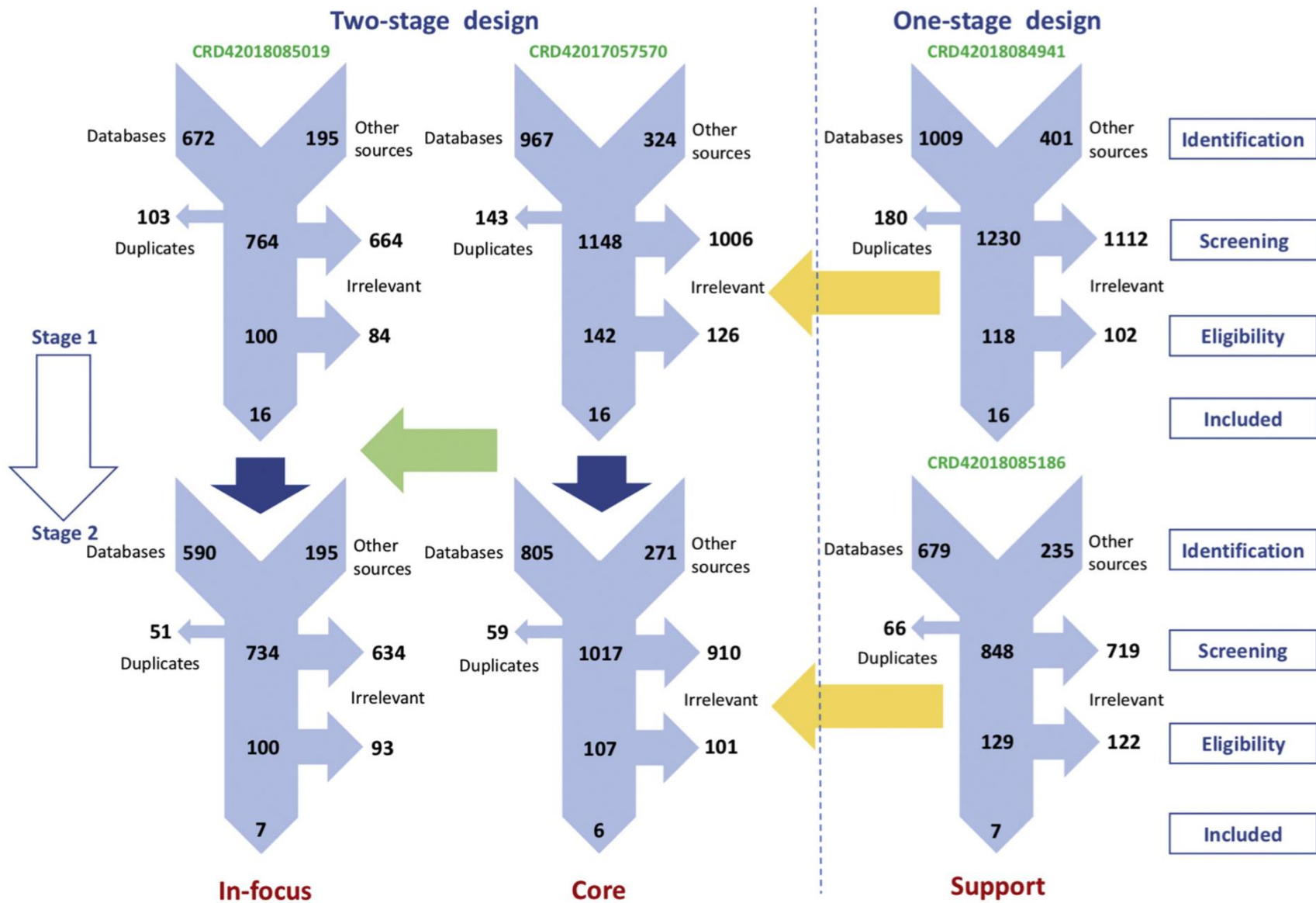


Figura 4.

Diagramas de flujo PRISMA presentando el proceso de selección de la pan-revisión sistemática.

PRISMA, Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses.

Esquema (idioma inglés), Herrera-Gómez y col., 2018 (145)

Previamente, basados en búsquedas no sistemáticas de la literatura, se definieron los elementos en base a los cuales se juzgó sobre la elegibilidad de los estudios a incluir. En las líneas siguientes, a través del acrónimo PIECOS (por Participants, Interventions, Exposures, Comparators, Outcomes, Study type, siglas en idioma inglés), se presentan a los participantes (población objetivo), las intervenciones, exposiciones, el comparador, los desenlaces, y tipos de estudio que se consideraron elegibles.

Los principales hallazgos de este trabajo involucran únicamente a pacientes trasplantados renales adultos, para los que se propone el biomarcador y en los que se confirmó la codependencia entre fármaco y prueba. Sin embargo, siguiendo nuestra intención y según lo permitía nuestro plan de estudio y diseño de las revisiones sistemáticas desarrolladas, se recopiló información –además de trasplantados renales– de otros receptores de órganos sólidos, tanto adultos y pediátricos, en línea a poder recuperar todas las pruebas referentes a las propiedades reguladoras de la respuesta inmune de los Tregs en estos pacientes, que, en segundo lugar, luego quisimos estudiar en relación con el tratamiento con I-mTOR solos o combinados con belatacept.

El número de Tregs en sangre periférica fue la exposición en todas las revisiones sistemáticas llevadas a cabo. El tratamiento con I-mTOR con/sin belatacept se comparó con el tratamiento clásico con inhibidores de la calcineurina (ICN). Se consideraron tanto los esquemas con I-mTOR *de novo*, es decir, el tratamiento con estos inmunosupresores desde el primer día postrasplante, así como la conversión a I-mTOR antes y después del primer año postrasplante. Se consideraron como cointervenciones el tratamiento con derivados del ácido micofenólico con/sin corticosteroides, y el tratamiento de inducción con globulinas antitimocitos policlonales, y anticuerpos anti-CD52 y anti-CD25. La estabilidad de la función del injerto definida como una baja frecuencia de eventos de DAI fue el resultado o desenlace elegido.

Independientemente de los ensayos controlados aleatorios (ECA) que fueron los estudios en base a los cuales se presentan los principales hallazgos de este trabajo, con las revisiones sistemáticas desarrolladas también se identificaron estudios observacionales y transversales.

Con la misma combinación de términos referentes a los participantes, las intervenciones y exposiciones, se procedió a la búsqueda bibliográfica en cada una de las bases de datos, repositorios y archivos para identificar los estudios a incluir, adaptándose las fórmulas de búsqueda construidas al lenguaje, dicción y restricciones terminológicas de cada una de las bases de datos con las que se trabajó. A todos los fármacos considerados en tanto de intervenciones y cointervenciones se los incluyó en las fórmulas construidas haciendo uso de sus nombres comerciales, genéricos, y su código en el Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química (ATC por *Anatomical, Therapeutic, Chemical*, siglas en idioma inglés). A los linfocitos T reguladores se los incluyó haciendo uso de todos los sinónimos posibles. En todos los casos, las búsquedas se llevaron a cabo haciendo uso de términos de indización y de texto libre. Las búsquedas no se filtraron por tipo de informe (p. ej., artículo original o carta al editor), tipo de acceso (p. ej., acceso abierto), o año/fecha de publicación de los trabajos.

A efectos de su elegibilidad, sólo se incluyeron las investigaciones desarrolladas, tanto aquellas publicadas y no publicadas, hasta el 31 de diciembre de 2017 (leer líneas arriba). Aunque se accedieron a trabajos en idioma chino, español, francés, y portugués, nuestra búsqueda bibliográfica se diseñó para identificar únicamente trabajos en idioma inglés.

Se buscaron estudios publicados en revistas indizadas en los buscadores PubMed, Ovid y WOS (*Web of Science*) que dan acceso a Medline, Scopus de Elsevier que permite acceder a Embase, y en el buscador del Registro CENTRAL de la Colaboración Cochrane. Se revisaron también los registros de estudios ClinicalTrials.gov, Registro de Ensayos Clínicos de la Unión Europea y Registro de ISRCTN (por *International Standard Randomised Controlled Trial Number*, siglas en idioma inglés) de Reino Unido, en busca de los protocolos de los estudios publicados identificados, y, a través de esta búsqueda de protocolos, de otros estudios pendientes de identificar.

Además, nuestra búsqueda se extendió a las fuentes de literatura gris –estas fuentes recogen todas las investigaciones no publicadas en revistas indizadas– que incluyeron los repositorios de tesis doctorales y trabajos de fin de máster DART-Europe (por *Digital Access to Research Theses – Europe*, siglas en idioma

inglés) y OATD (por *Open Access Theses and Dissertations*, siglas en idioma inglés), así como los archivos de resúmenes de reuniones internacionales relacionadas con la temática de nuestro estudio. Asimismo, las referencias bibliográficas de los estudios incluidos también se revisaron a fin de no dejar de identificar ningún estudio potencialmente elegible de entre aquellos citados por los trabajos incluidos.

Tabla 1.

Reuniones internacionales con acceso a sus resúmenes presentados.

Nombre de la reunión	Sesiones
All Annual Meeting	2006–2017
ASN Kidney Week	2003–2015
ATC	2002–2005, 2007–2013, 2015–2017
ECI	2006, 2009, 2012 and 2015
ERA-EDTA	2002–2015
ESOT Congress	1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015, 2017
TTS International Congress	1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016
World Transplant Congress	2006, 2014

Abreviaturas: AAI, *American Association of Immunologists*; ASN, *American Society of Nephrology*; ATC, *American Transplant Congress*; ECI, *European Congress of Immunology*; ERA-EDTA, *European Renal Association – European Dialysis and Transplantation Association*; ESOT, *European Society for Organ Transplantation*; TTS, *the Transplantation Society*.

Los ensayos clínicos y demás estudios identificados tras las búsquedas en las cinco revisiones sistemáticas se sometieron al proceso de selección correspondiente según la sistemática del grupo de trabajo PRISMA para revisiones sistemáticas nuevas en las que se buscaron en bases de datos, repositorios y otras fuentes (leer líneas arriba).¹⁵³ En todas las revisiones sistemáticas, dos investigadores realizaron un cribado previo en el que revisaron los títulos y resúmenes de los estudios publicados y no publicados identificados para

seleccionar los estudios potencialmente elegibles, cuyo texto completo luego se revisó de forma independiente para decidir formalmente sobre su inclusión en cada una de estas revisiones sobre la base de los criterios de elegibilidad definidos. Cuando existieron dudas, siempre que fue posible, se contactó con los investigadores de los trabajos que se estaban revisando en busca aclaraciones, y en caso de persistir las dudas, estas se resolvieron bien mediante el diálogo o transfiriendo el trabajo en conflicto a otro investigador que actuó de conciliador. La identidad de los investigadores que participaron en este proceso de selección puede consultarse en nuestros protocolos de estudio registrados en Prospero.

Síntesis de la información

Recabamos toda la información por la que los trabajos incluidos cumplían con los criterios de elegibilidad definidos, es decir, todos los detalles referentes a los participantes (población objetivo), las intervenciones, exposiciones, el comparador, los desenlaces, y tipos de estudio que interesaron, con los que se procedió al desarrollo de la síntesis perseguida.

No obstante, previo al desarrollo de este resumen, se evaluó el riesgo de sesgo o calidad en los estudios incluidos con las herramientas metodológicas apropiadas.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ Con la herramienta de la Colaboración Cochrane se evaluó la calidad en el seno de los ensayos clínicos buscando la existencia de sesgos considerando los siguientes 7 dominios clave: 1) generación aleatoria de la secuencia, 2) ocultamiento de la asignación, 3) cegamiento de los participantes y del personal, 4) cegamiento de los evaluadores de los desenlaces, 5) datos incompletos de los desenlaces, 6) notificación selectiva de los resultados, y 7) otras fuentes de sesgo.¹⁵⁴ Se decidió emplear la herramienta de Hayden para evaluar la calidad en los estudios observacionales incluidos los transversales al entender que estos habían evaluado un potencial factor pronóstico.¹⁵⁵ Esta herramienta en su última versión se compone de 6 ítems que consideran las siguientes fuentes de sesgos: 1) participación en el estudio; 2) deserción del estudio; 3) medición del factor pronóstico; 4) medición de los resultados o desenlaces; 5) medición y control de las variables de confusión, y 6) adecuación del análisis estadístico.¹⁵⁶

Asimismo, todos los hallazgos de esta síntesis se sometieron a una evaluación por clínicos expertos en inmunopatología del trasplante, expertos en citometría de flujo, y expertos en farmacometría, para confirmar sobre todo si nuestros hallazgos seguían la dirección correcta y se encontraban acordes al contexto actual, participando en una técnica de supervisión ya empleada en otras investigaciones.¹⁵² La identidad de estos especialistas de renombrada cualificación puede consultarse en nuestros protocolos de estudio registrados en Prospero y en los artículos que publican los resultados de este trabajo.

Se llevaron a cabo cálculos de metaanálisis pareado con datos agregados. En ningún momento se pretendió aspirar a una síntesis con datos individuales de los participantes en los estudios seleccionados. Todos los cálculos que se presentan se han realizado en modelos de efectos aleatorios. La frecuencia de eventos de DAI en base a la cual se juzgó sobre la estabilidad de la función del injerto fue el resultado o desenlace principal de nuestro análisis matemático, calculándose el efecto que tiene sobre este desenlace el número de Tregs en sangre periférica, que se presenta a través del cociente o razón de probabilidades –en la literatura mencionado con el nombre de *odds ratio* (término en idioma inglés)– obtenido con la fórmula de Mantel-Haenszel mostrada a continuación:

$$OR_{Mantel-Haenszel} = \frac{\sum_{i=1}^s \frac{a_i d_i}{n_i}}{\sum_{i=1}^s \frac{b_i c_i}{n_i}}$$

Además, se comparó el número de Tregs en sangre periférica entre trasplantados renales tratados con I-mTOR con/sin belatacept y con ICN a través de la diferencia media tipificada δ –en la literatura mencionado con el nombre de *standardized mean difference* (término en idioma inglés)–, asumiendo la independencia y normalidad de las distribuciones de cada uno de estos dos grupos en la variable dependiente, y ponderados por la inversa de la varianza siguiendo el precepto expresado por la fórmula siguiente:

$$\delta = \frac{\mu^e - \mu^c}{\sigma}$$

Hemos utilizado el programa informático RevMan (Review Manager) versión 5.3 (Colaboración Cochrane) para el desarrollo de esta parte del análisis, y con los ajustes por defecto que ofrece este programa a efectos de simplificar la reproducibilidad de nuestros cálculos.

Nuestro análisis incluyó también la estimación del coeficiente de correlación de Pearson r correspondiente a la relación entre el aumento del número de Tregs en sangre periférica y la estabilidad de la función del injerto renal, para la que se utilizó el programa informático MedCalc versión 16.4.1 (*American Statistical Association*). Con este programa y con RevMan se confeccionaron los pertinentes gráficos de bosque –*Forest plot* (término en idioma inglés)– con los efectos calculados y sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC-95%).

Tratamiento de las limitaciones

Se realizaron los cálculos pertinentes para evaluar el impacto de las limitaciones propias a cualquier metaanálisis. Estas limitaciones son la heterogeneidad y el sesgo de publicación.

Con RevMan y MedCalc, según correspondió, se calculó la heterogeneidad estadística empleando la prueba de Chi-cuadrado, así como el impacto que ejerce esta heterogeneidad en las estimaciones a través del estadístico I^2 o prueba de inconsistencia. Con estos programas, en los gráficos de bosque confeccionados, tras calcular los grados de libertad y el p-valor correspondiente a los valores de Chi-cuadrado obtenidos, se calculó el valor de I^2 correspondiente, cuya fórmula que incluye a Chi-cuadrado y considera sus grados de libertad (gl) se muestra a continuación:

$$I^2 = \left(\frac{Q - gl}{Q} \right) \times 100\%$$

Con el estadístico I^2 se establecen umbrales que muestran en porcentajes el alcance de la heterogeneidad en los resultados de un metaanálisis, con una interpretación –esta depende sobre todo de la fuerza de la prueba de Chi-cuadrado, es decir, de su p-valor– que es la siguiente:

1. 0–40%: pudiera no ser importante;
2. 30–60%: puede representar heterogeneidad moderada;
3. 50–90%: puede representar heterogeneidad significativa;
4. 75–100%: la heterogeneidad es considerable.

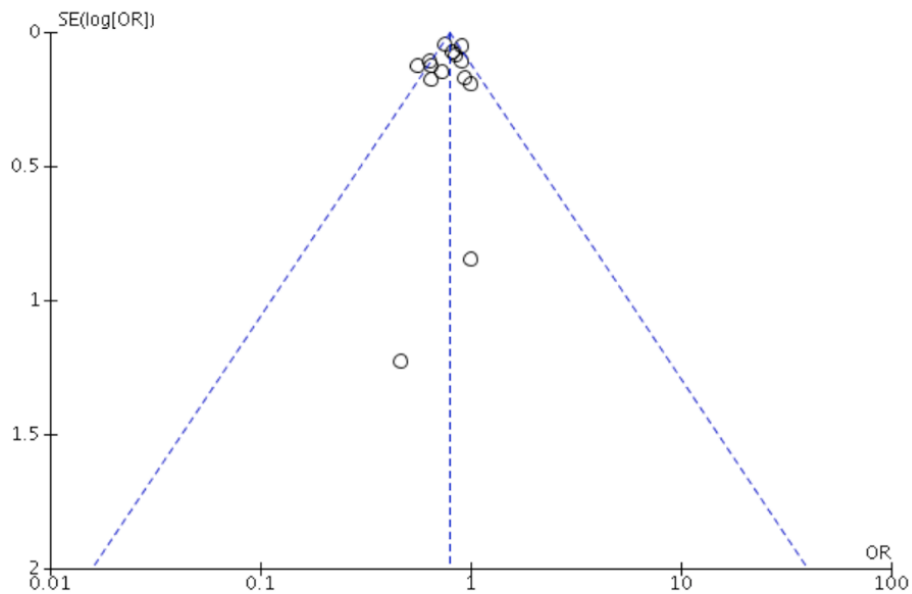


Figura 5.

Gráfico en embudo de un metaanálisis pareado con ensayos clínicos.

Los estudios se disponen en el embudo invertido por su tamaño muestral expresado a través de su ET.

ET, error típico; OR, *odds ratio* (cociente de probabilidades); SE, *standardized error* (error típico).

Esquema (idioma inglés), Herrera-Gómez y col., 2019. (156)

Con RevMan y MedCalc, según correspondió, a través de la evaluación visual de los gráficos en embudo – *Funnel plot* (término en idioma inglés)– que estos programas confeccionan, y con METAFOR (por *META-analysis package FOR R*, siglas en idioma inglés) version 2.4 (Entorno R), que complementa con la prueba de Egger la evaluación visual de estos gráficos en embudo, se evaluó la existencia de sesgo de publicación. Los gráficos en embudo en los que se enfrenta el error típico (ET) –este se usa como medida del tamaño

muestral— con la magnitud del efecto de la intervención/exposición calculada, permiten la evaluación del sesgo de publicación en caso de observar una asimetría en la disposición del conjunto de estudios en ellos, que ocurre frecuentemente cuando aparecen estudios con un número pequeño de participantes y mostrando efectos importantes.

A manera de ejemplo, para entender cómo visualmente se debe buscar la existencia de sesgo de publicación, extraído de un trabajo llevado a cabo en nuestro laboratorio,¹⁵⁷ se muestra el gráfico en embudo (Figura 5) correspondiente a un análisis que midió el efecto del tratamiento reductor de colesterol en individuos que presentaban función renal normal (FRN) hasta un deterioro leve compatible con estadios 1 y 2 de enfermedad renal crónica (ERC) según la clasificación del grupo internacional KDIGO (por *Kidney Disease—Improving Global Outcomes*, siglas en idioma inglés).¹⁵⁸ En este gráfico, según la manera en cómo se disponen los estudios comparados, se puede observar que dos de estos yacen en la parte central del embudo invertido, y esto debido al número de participantes que estos incluyeron, que fue menor respecto al de los doce trabajos restantes.¹⁵⁷

La prueba de Egger¹⁵⁹ es una prueba de regresión lineal que calcula la intercepción β_0 con el inverso del ET que es equivalente a la precisión (variable independiente) y el efecto referenciado $|z|$ que resulta de aplicar la fórmula siguiente:

$$|z| = \frac{\theta}{ET}$$

Los valores de dividir el efecto correspondiente a la intervención de interés θ entre su ET se considerarán significativos cuando sean $\geq 1,96$ ó $\leq -1,96$, que es lo que se esperará encontrar con estudios pequeños que, con su poca precisión, muestran un efecto importante. En estos casos se obtendrán intercepciones β_0 importantes, con amplios grados de libertad (gl), confirmándose la asimetría en un gráfico en embudo.

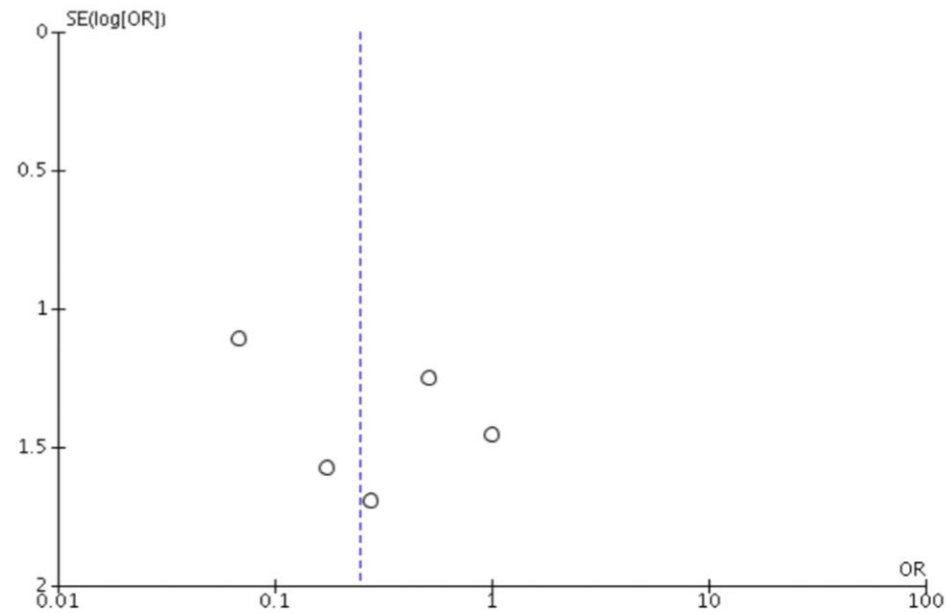
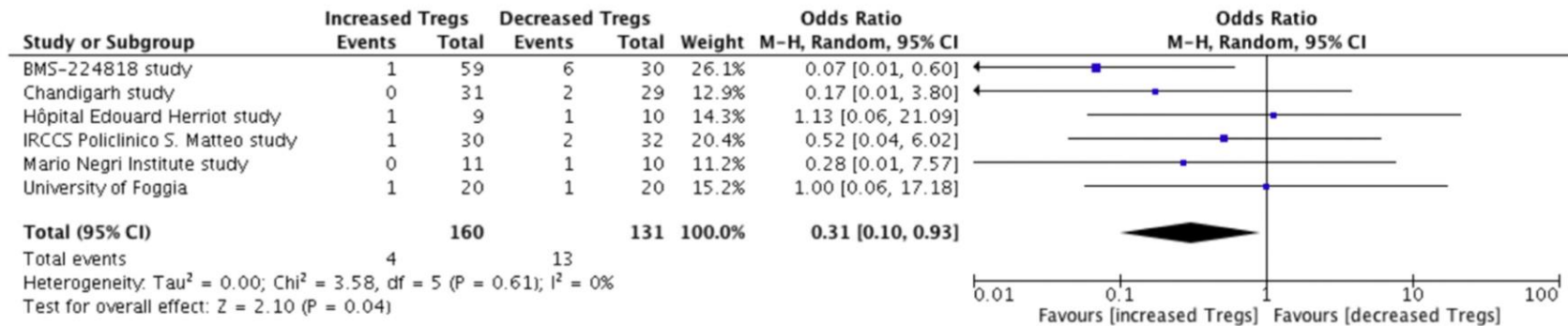
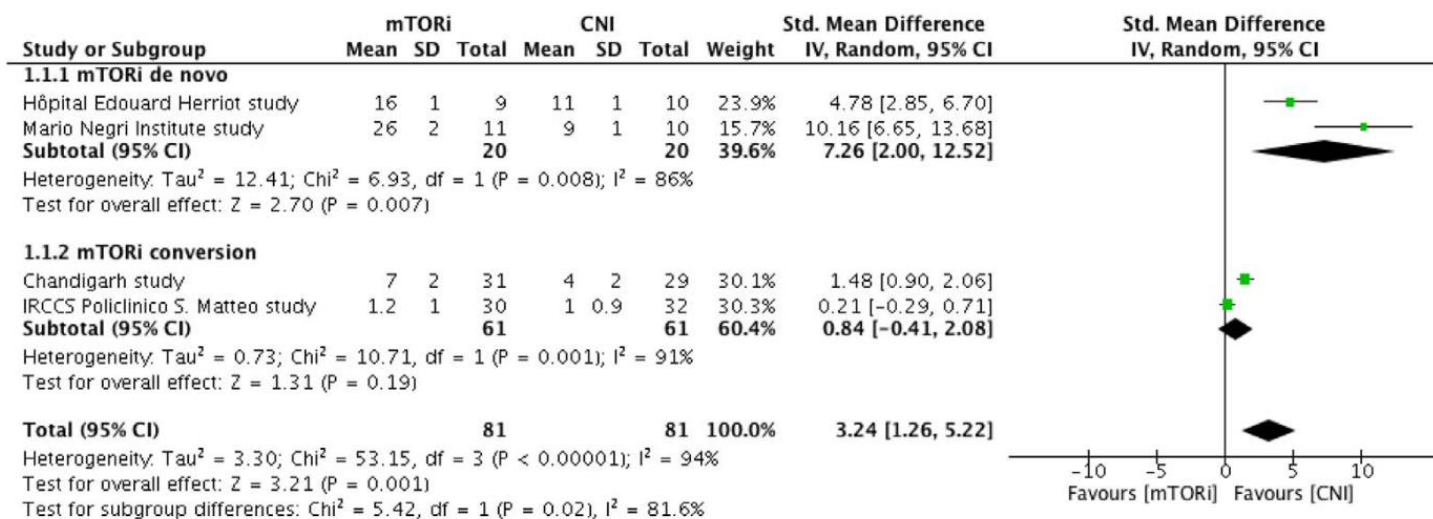


Figura 6.

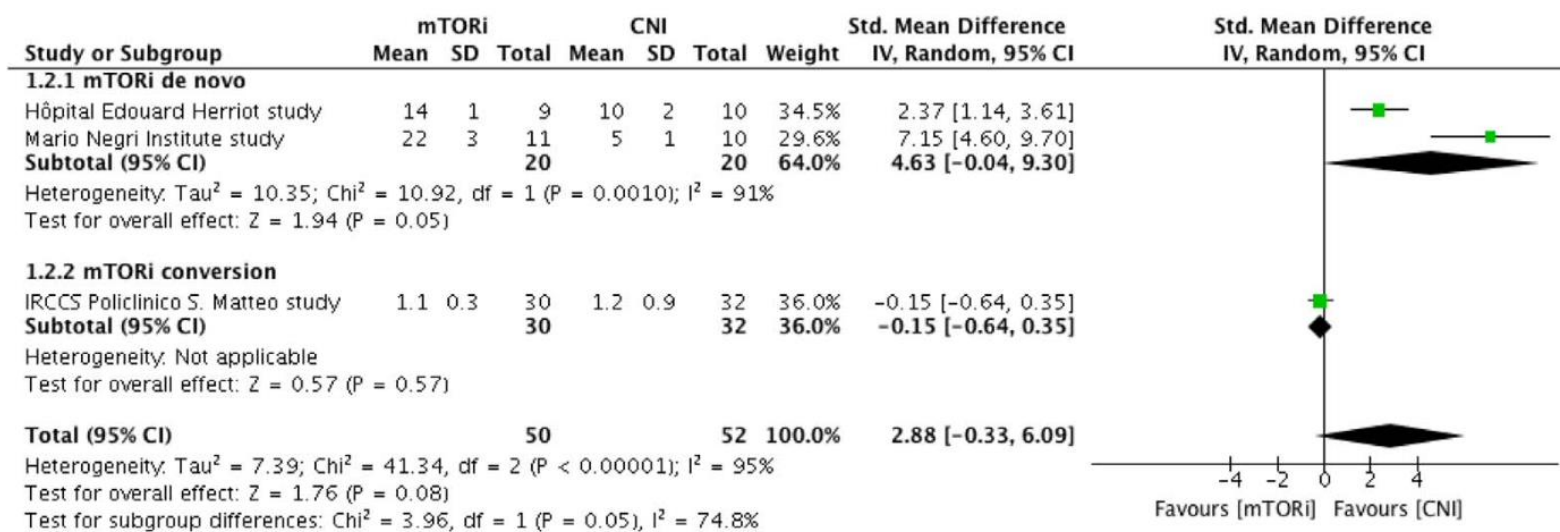
Gráfico de bosque y gráfico en embudo presentando el efecto del aumento del número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales sobre el número de eventos de DAI registrados en estos pacientes.

CI, *confidence interval* (intervalo de confianza); DAI, disfunción aguda del injerto; M-H: Mantel-Haenszel; Tregs, linfocitos T reguladores; SE, *standard error* (error típico).

a



b



C

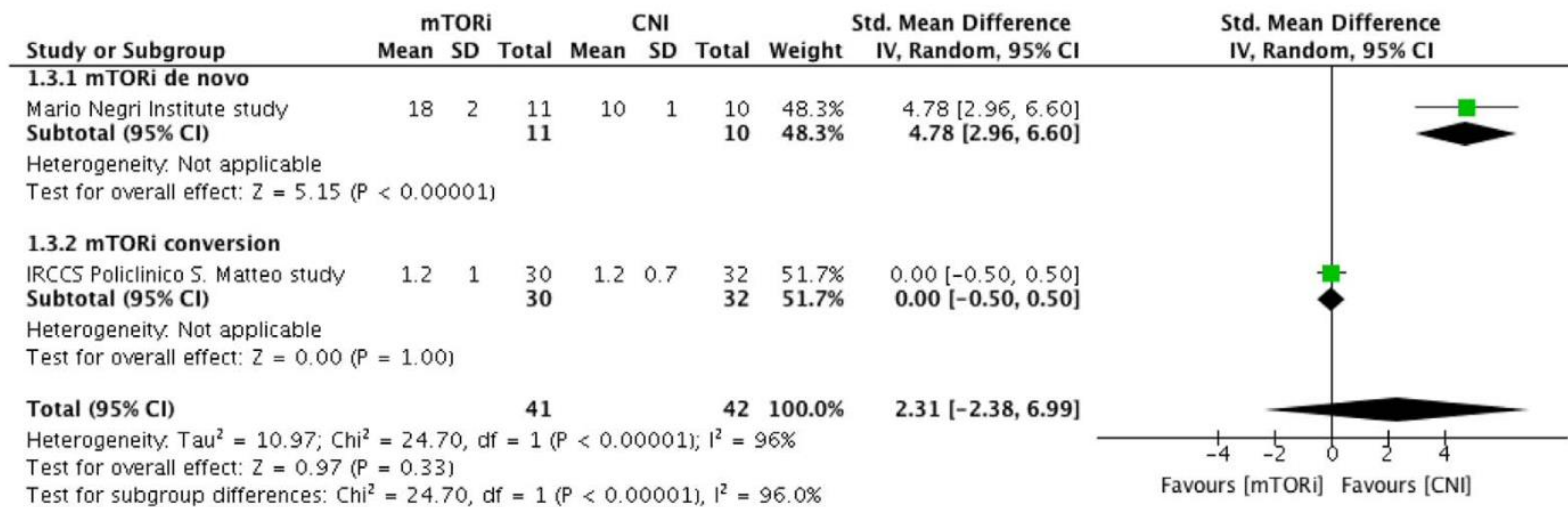


Figura 7.

Gráficos de bosque presentando el efecto de la inmunosupresión con I-mTOR en el número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales.

(a) 3–6 meses post-TX (b) 12 meses post-TX (c) 24 meses post-TX

CI, *confidence interval* (intervalo de confianza); CNI, *calcineurin inhibitors* (inhibidores de la calcineurina); IV: *inverse variance* (inversa de la varianza); mTORi, *mammalian target of rapamycin inhibitors*, (inhibidores de *mammalian target of rapamycin*); Tregs, linfocitos T reguladores; TX, trasplante; SD, *standard deviation* (desviación típica).

Desarrollo del biomarcador

Los principales hallazgos de nuestro trabajo involucran a un total de 291 trasplantados renales que se estudiaron en 6 ECAs,^{160–166} de los cuales 127 se trataron con esquemas *de novo* con inhibidores de mTOR solos (n = 20) o en combinación con belatacept (n = 26), o se los sometió a la conversión de su tratamiento inmunosupresor con ICN hacia una inmunosupresión basada en I-mTOR (n = 81). Estos ensayos se habían diseñado específicamente para evaluar el efecto del tratamiento con I-mTOR con/sin belatacept en el número de Tregs en sangre periférica y de otras poblaciones linfocitarias, que realizaron a través de la estratificación de sus participantes por estas exposiciones, lo que permitió indagar sobre y luego confirmar la existencia de codependencia entre fármaco y prueba.¹⁴⁰ Remitimos al lector al capítulo 3 de este manuscrito en busca de las aclaraciones pertinentes respecto al enfoque seguido. Estos ensayos formaban parte de la evaluación de fase 2 y 3 de estos inmunosupresores y se habían llevado a cabo en España, E.E.U.U., Francia, Italia, e India. Pueden consultarse los detalles de todos estos trabajos en lo referente a sus participantes, intervenciones, exposiciones, comparador, y desenlaces en los tres artículos que publican los hallazgos de esta tesis doctoral.^{144–146}

Los ECAs incluidos coinciden todos en el aumento del número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales tratados con I-mTOR con/sin belatacept comparados con aquellos tratados con ICN. En estos ensayos, el fenotipo inmunitario considerado para identificar estos linfocitos fueron la expresión de CD4,^{160–166} niveles elevados de CD25,^{160–166} de CTLA-4,¹⁶⁴ niveles bajos de CD127,¹⁶⁵ y la presencia de FOXP3.^{163–166} Ya calculando para el resultado o desenlace considerado, a pesar de la definición de Tregs empleada en estos trabajos en base al fenotipo inmunitario que era tan dispar, los trasplantados renales con un aumento del número de Tregs en sangre periférica presentaron una función del injerto más estable, es decir, presentaron menos eventos de DAI comparados con aquellos con recuentos menores de estas células (Figura 6).¹⁴⁵ Además, los trasplantados renales tratados con I-mTOR con/sin belatacept en estos ensayos presentaron un aumento del número de Tregs en sangre periférica que no se observó entre aquellos pacientes que fueron tratados con ICN (Figura 7), aunque esto es realmente notorio sólo en los primeros 3–6 meses postrasplante –esto incluye los esquemas con I-mTOR *de novo* y la conversión a I-

mTOR antes del primer año postrasplante– considerando los valores de IC-95% correspondientes a las δ obtenidos.¹⁴⁶

Debe mencionarse que el tipo de medida para los cálculos en estos dos análisis no fue la misma –los resultados se expresan empleando como estimadores al cociente probabilidades en uno de los análisis y a la diferencia media tipificada en el otro–, no debiendo esto transmitir desconfianza sobre nuestros hallazgos empleando medidas continuas que muestran cómo el tratamiento con I-mTOR con/sin belatacept favorece la expansión de la población Treg.

Tabla 2.

Hallazgos en los cálculos en medidas continuas con estudios observacionales respecto al efecto de la inmunosupresión con I-mTOR en el número de Tregs en sangre periférica en los trasplantados renales.

Tipo de estudio observacional	δ	IC-95%
Prospectivo		
I-mTOR <i>de novo</i> / conversión < 1 año post-TX	3,88 / 7,31	2,0 a 6,07 / 2,56 a 18,23
Retrospectivo		
I-mTOR conversión > 1 año post-TX	2,16	0,44 a 3,19

Abreviaturas: δ , diferencia media tipificada; IC, intervalo de confianza; I-mTOR, inhibidores de *mammalian target of rapamycin*, Tregs, linfocitos T reguladores; TX, trasplante.

No obstante, como lo han hecho otros,¹⁶⁷ empleando pruebas observacionales se confirmó lo que se había encontrado evaluando ensayos clínicos. En nuestro estudio se identificaron también 8 estudios de cohortes, 4 prospectivos^{168–171} y 4 retrospectivos,^{172–175} con cuyos datos nuestros cálculos corroboran que el número de Tregs en sangre periférica aumenta en los trasplantados renales tratados con I-mTOR respecto a aquellos tratados con ICN, y con mayor fuerza que en los cálculos con ensayos clínicos de acuerdo con las δ e IC-95% obtenidos (Tabla 2).¹⁴⁴

Asimismo, con esta misma intención de observar qué pasa calculando con datos procedentes de ensayos y qué pasa calculando con los propios de estudios observacionales, se calculó el valor de r correspondiente a la relación entre el aumento del número de Tregs en sangre periférica y la estabilidad de la función del injerto renal. Con los datos apropiados de dos ECAs ($n = 80$)^{161,163} y dos estudios de cohortes retrospectivos ($n = 100$),^{174,175} se puede observar que esta relación existe, aunque es modesta y se aprecia mejor en los cálculos con pruebas observacionales (Tabla 3).¹⁴⁴

Tabla 3.

Hallazgos en el cálculo de la relación entre el aumento del número de Tregs en sangre periférica y la estabilidad de la función del injerto renal.

Tipos de estudio	r	IC-95%	p-valor
Ensayos	0,114	-0,062 a 0,406	0,031
Observacionales	0,13	0,000 a 0,361	0,05

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; r coeficiente de regresión de Pearson; Tregs, linfocitos T reguladores.

En base a los hallazgos que presenta nuestro análisis matemático y teniendo en cuenta el diseño de los ensayos que se incluyeron, se demuestra la hipótesis de codependencia entre fármaco y prueba.¹⁴⁰ En este sentido, se confirma la relación causal entre el biomarcador, el número de Tregs en sangre periférica, y el efecto que la inmunosupresión con I-mTOR con/sin belatacept ejerce para acometer a la estabilidad de la función del injerto renal, y que se refleja en cambios en el biomarcador propuesto que son susceptibles de ser medidos.¹³⁹ Por tanto, descartando a efectos de su plausibilidad biológica que el biomarcador es independiente del medicamento a emplear a efectos de su eficacia,¹³⁹ nuestros hallazgos plantean el empleo del recuento de linfocitos T reguladores en sangre periférica como prueba diagnóstica complementaria del tratamiento con I-mTOR solos o en combinación con belatacept.

Limitaciones del estudio

La lectura de los hallazgos que presenta esta tesis doctoral no debieran llevar a asumir categóricamente su absoluta veracidad y debieran invitar a la cautela, sobre todo en lo referente a su potencial aplicación directa a la práctica clínica. Aunque no debieran considerarse de menor valor, nuestros hallazgos empleando medidas continuas necesitan ser confirmados por cálculos sobre estimaciones dicotómicas, para asumir como cierto el impacto que tiene la inmunosupresión con I-mTOR con/sin belatacept en el biomarcador propuesto y el resultado o desenlace elegido. A lo anterior se suman, por supuesto, las limitaciones propias de todo metaanálisis que restan calidad a nuestro trabajo en su totalidad.

Primero, el análisis que presenta esta tesis doctoral no ofrece garantías en cuanto a que los estudios comparados sean homogéneos (error tipo II). A este respecto, no es posible basarse sólo en el hecho de haber cuantificado una mínima o ninguna heterogeneidad, respectivamente, en los cálculos que midieron el efecto del aumento del número de Tregs en sangre periférica en la estabilidad de la función del injerto renal ($I^2 = 10\%$), y los que muestran la relación existente entre el aumento del número de Tregs y la estabilidad de la función del injerto renal ($I^2 = 0\%$).

Segundo, tampoco es posible afirmar que las comparaciones efectuadas con estos trabajos son del todo válidas (error tipo I).¹⁷⁶ A pesar de haber conformado subgrupos como era mandatorio, no fue posible limitar la heterogeneidad en los cálculos que midieron el efecto de la inmunosupresión con I-mTOR en el número de Tregs, aunque sorprendentemente la heterogeneidad obtenida en las comparaciones con estudios observacionales fue menor ($I^2 < 70\%$) que aquellas con ensayos clínicos ($I^2 > 90\%$).

Finalmente, tal cual se esperaba, existe sesgo de publicación, dada la tendencia actual y habitual de preferir aquellos trabajos que rechazan la hipótesis nula (estudios positivos) sobre aquellos que no son capaces de hacerlo (estudios negativos), y considerando lo controversial que a día de hoy sigue siendo el tema abordado.¹⁷⁷ En este sentido, se puede guardar el sentimiento de que nuestros hallazgos arrastran el sesgo de notificación selectiva de los estudios que incluimos, sobre todo teniendo en cuenta la dirección y magnitud de los hallazgos descritos por estos trabajos y que nosotros resumimos.

Otros hallazgos

Junto al resumen cuantitativo, a manera de complemento de respaldo, se elaboró una síntesis narrativa con el resto de información que no pudo incorporarse en cálculo matemático alguno.¹⁷⁸ Esta se extrajo de 4 estudios observacionales, 3 prospectivos¹⁷⁹⁻¹⁹¹ y uno retrospectivo,¹⁹²⁻¹⁹⁴ que presentan las pruebas referentes a las propiedades reguladoras de la respuesta inmune de los Tregs y otras poblaciones reguladoras en los trasplantados renales. Estos estudios correspondieron con grandes iniciativas de investigación lideradas por importantes grupos de Francia y España,¹⁷⁹⁻¹⁸⁷ Reino Unido,^{188,189} E.E.U.U.,^{190,191} y Brasil,¹⁹²⁻¹⁹⁴ que presentan la evaluación del fenotipo inmunitario en sangre periférica de los Tregs y otras poblaciones reguladoras, de determinadas vías de señalización intracelular en estas células, además de corroborar la existencia de una firma de tolerancia en el estudio del transcriptoma. La intención de estos estudios no fue otra que la de identificar al paciente trasplantado renal tolerante. Estos estudios confirman la relación entre el número de Tregs en sangre periférica y la estabilidad de la función del injerto renal en 68 trasplantados renales que se los calificó de “operacionalmente” tolerantes en base a su perfil transcripcional y otros marcadores que incluyeron al aumento de Tregs en sangre periférica. Pueden consultarse todos los detalles al respecto de estos pacientes que describen estos estudios en nuestros artículos publicados en las revistas *International Immunopharmacology* y *Data in Brief*.¹⁴⁵

Capitulo 5

Brief explanations of the study

The kinetics of the FoxP3 regulatory T-cell (Treg) population in kidney transplant recipients (KTR) are related to the clinical effect of immunosuppression based on mammalian Target Of Rapamycin inhibitors (mTORi) with/without belatacept. In fact, there is an inherent but to date unrevealed influence of these immunosuppressants on kidney graft function which may be measured through increased Tregs in the circulation that are associated with a stability of kidney graft function.^{144–146} A large body of evidence leading to assume a protective effect of this regulatory lymphocyte population and a benefit of mTORi with/without belatacept allowed to argue our study rationale and to drive to our intention in this research.

Searching codependent health technologies

The effect of medicines or response should be evaluated in terms of clinical effectiveness on patient-relevant health outcomes. With the aims of adopting a biomarker-driven therapy in kidney transplantation, the stability of graft function that was defined as a low frequency of acute allograft dysfunction (AAD) events, was studied in relation to the number of Tregs in the circulation. Our study shows that the number of circulating Tregs can vary under the effect mTORi alone or combined to belatacept, and increased Tregs are associated to a low frequency of AAD, which is in favor to the predictive biomarker hypothesis proposed by Merlin et al.¹⁴⁰ In this way, our findings demonstrate that health technologies related to the test (quantification of circulating Tregs by flow cytometry) and to the immunosuppression avoiding calcineurin inhibitors (CNI) are codependent, that is, in any case, mTORi may be used hereinafter with a “companion” test for measuring their clinical impact. The armamentarium for immunosuppression in kidney transplantation evolves to its personalization.

First of all, a first systematic review of published and unpublished studies named as pilot review¹⁴⁴ allowed to reveal a correlation between the number of circulating Tregs and glomerular filtration rate

(GFR) of kidney graft according to pooled Pearson correlation coefficient (r), 95% confidence interval (95% CI) and p-value by combining two randomized controlled trials (RCT)^{161,163} on 80 KTRs (0.114 / – 0.062 to 0.406 / 0.031) and two cohort studies on 100 KTRs (0.13 / 0.000 to 0.361 / 0.05).^{174,175}

Nevertheless, although the observed relation between circulating Tregs and GFR of kidney graft was modest, as a continuation, in order to deepen findings from our pilot systematic review, a multistage systematic review of published and unpublished clinical trials and observational studies was performed.

Our observations in this study extension showed that increased Tregs in the circulation in KTRs treated with mTORi alone or combined to belatacept is associated to a low frequency of AAD, that is, with stability of kidney graft function, and that constitutes the main finding our research.¹⁴⁵ The data from 291 KTRs studied in 6 biomarker-stratified RCTs^{160–166} were entered in classical (dichotomous) metaanalysis calculations and allow to confirm codependency fact considering the obtained values of odds ratio (OR) and 95% CI (0.31 / 0.10 to 0.93).

The main finding of our research is consistent with findings on the operational tolerance state reported by 3 prospective and one retrospective cohort studies performed by important research bodies, that our research included and synthesized. Despite unquantifiable effect sizes, among the 68 operationally tolerant kidney recipients evaluated by these observational studies, the number of Tregs in the circulation in association with other factors (e.g., expression of tolerance gene signatures, expansion of other regulatory cell populations, activation of determined intracellular signaling pathways) influence on stability of kidney graft function.^{179–194}

Finally, despite an unanimously description of increased Tregs in the circulation under treatment with mTORi with/without belatacept by the included clinical trials, the enlargement of the marker set for Treg immunophenotyping into the period covered by such studies made to obtain only quantitative estimates on continuous outcomes which our research presents. According to obtained values of standardized mean-difference (SMD) and 95% CI, circulating Tregs increased under treatment with mTORi alone or combined to belatacept at 3 to 6 months (3.24 / 1.26 to 5.22), 1 year (2.88 / –0.33 to 6.09) and 2 years (2.31 / –2.38 to 6.99) after transplantation, and that considering treatment with mTORi into *de novo*

schemes and at conversion from CNI before 1 year post-transplantation.¹⁴⁶ Importantly, the increase in circulating Tregs was noted basically at 3 to 6 months after transplantation.

As performed by others,¹⁶⁷ with extracted data from observational studies^{168–175} in calculations on continuous outcomes (SMD / 95% CI), the number of Tregs in the circulation increased under treatment with mTORi into *de novo* schemes and at conversion from CNI before 1 year post-transplantation by combining 4 prospective cohort studies (3.88 / 2.0 to 6.07; 7.31 / 2.56 to 18.23),^{168–171} and at conversion from CNI more than 1 year post-transplantation by combining 4 retrospective cohort studies (2.16 / 0.44 to 3.19).^{172–175} These calculations strengthen findings after combination of clinical trials for our analysis on continuous outcomes.

More details of our research findings are provided into the full-text of our research articles that are available at the end of this PhD manuscript. In any case, dichotomous data are necessary, because expected to complete and update our research results.

Mechanistic of study procedures

Five systematic reviews was carried out and reported according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines. In order to adhere to these standards, five systematic review protocols were developed and registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO; internet address: <https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>) under the following registration references: CRD42016046285, CRD42017057570, CRD42018085019, CRD42018084941, CRD42018085186.

The evidence provided by this PhD thesis has a expiration date fixed at December 31th, 2017.

Notwithstanding, our study assessments started at August 22th, 2016.

After a classical systematic review design followed to perform the first systematic review named as pilot review, the study team decided to follow a multistage review approach as performed by others¹⁵¹ on the

basis of a two-stage systematic review design where findings in a systematic mapping let an in-depth systematic review. In this way, findings from an in-focus two-stage systematic review are presented for updating findings from a core two-stage systematic review supported by two independent one-stage systematic reviews, one for the systematic mapping step and the other one for the in-depth systematic review step of the core two-stage systematic review.

A multidisciplinary supervision mechanism provided by experts in clinical kidney transplantation, flow cytometry immunophenotyping, and pharmacometrics was planned for contextualizing of research findings, by guaranteeing above all directness of the scientific apportionment as all.¹⁵² Identity of these researchers are provided in our published study protocols and our published research articles.

Anonymized recopilation of study characteristics and participants, including transplantation details, and eligible exposures, as well as interventions, comparators, and data on the outcome defined for the synthesis was made from the full-text of the included studies at the five systematic reviews. With this information, study synthesis including mathematical assessments was performed, after evaluation of risk of bias into the study body with pertinent tools.^{154–156} Clinical trials and observational studies were assessed separately. Details of these procedures are provided into the text of our study protocols and the full-text of our research articles.

Mathematical assessments plan and development

Calculation of OR effect sizes (Mantel-Haenszel random-effects model) for the outcome of a low frequency of AAD events when comparing increased and decreased Tregs in the circulation (in-depth systematic review) was performed to present the main finding of our research. The starting point was the obtained values of pooled Pearson correlation coefficient (r) for the relation between circulating Tregs and GFR of kidney graft. Nevertheless, random-effects meta-regression planned to elucidate that increased Tregs in the circulation are only observed under treatment with mTORi with/without belatacept was not possible given the number of clinical trials providing data for calculations.

In order to argue codependency fact, for elucidating that at least mTORi are a potential effect modifier and demonstrate the predictive biomarker hypothesis, calculations of SMD effect sizes (inverse variance random-effects model) for the comparisons of treatment groups of KTRs using mTORi with/without belatacept and KTRs using CNI or belatacept alone were planned and performed into the pilot systematic review and the in-depth systematic review. Such calculations on continuous outcomes were also attempted at the systematic mapping step for each regulatory cell population by comparing tolerant and non-tolerant KTRs, but not performed because no available data.

Obtention of 95% CI for all estimates in continuous and dichotomous outcomes effect size assessments, examination of heterogeneity by calculating I^2 and estimating Chi-squared test, and elaboration of funnel plots for their visual inspection in order to search reporting bias into calculations were made using Review Manager (RevMan) software version 5.3 (Cochrane Collaboration). MedCalc versión 16.4.1 (American Statistical Association) was used to calculate r presented and the 'metareg' macro from Stata version 12.1 (StataCorp) was destined to calculate the planned meta-regression.

Study limitations

Quantification of the influence of immunosuppression based on mTORi with/without belatacept was only possible on continuous outcomes, that, in addition, was limited by high heterogeneity into both calculations with observational studies ($I^2 < 70\%$) and with clinical trials ($I^2 > 90\%$). Furthermore, although searches in published and unpublished literature sources guarantee that all relevant studies have been retrieved, publication bias was noted. Publication bias can lead to overly optimistic conclusions in a systematic review.¹⁷⁷ In this context, our concern to be reporting inflated associations is difficult to hide.

Final remarks

The intention of this PhD thesis work has not been to promote titration of immunosuppressants. However, biomarkers will allow reaching this aim before long. Healthcare is changing. Shifting the focus from a one-size-fits-all system to one that is patient-tailored, must provide clinicians of the right tools to

treat the right patient with the right dose of the right medicine (or medicines) at the right time. In this context, biomarkers should be able to evaluate the effect of medicines targeted to specific patient populations in order to achieve the most clinically rewarding outcomes. Nevertheless, despite advances, clinical qualification of drug evaluation biomarkers is a time- and resource-consuming exercise, and, particularly, evaluation of codependency when combining medicines and biomarkers may require sophisticated assessments and retrieval of data from appropriate RCTs.

Lastly, but no less important, the test measuring the biomarker should also be the most suitable. Our work highlights the interest of flow cytometric immunophenotyping, probably a technique more easily accessible and understandable to clinicians than other explorations as transcriptome sequencing analysis and others proper of non-clinical research environments.

Conclusiones/Conclusions

Primera/First

Proponemos un nuevo biomarcador, el número de linfocitos T reguladores en sangre periférica, que constituye una variable "sustituta" para un resultado de salud relevante para los trasplantados renales, la estabilidad de la función del injerto renal, definida como una baja frecuencia de eventos de disfunción aguda del aloinjerto. Hasta la fecha, solo se dispone de la medición de creatinina sérica para la evaluación de la función del injerto renal.

We propose a new biomarker, the number of regulatory T lymphocytes in peripheral blood, which constitutes a "surrogate" variable for a relevant health outcome for kidney transplant recipients, the stability of kidney graft function, defined as a low frequency of acute allograft dysfunction events. To date, only measurement of serum creatinine is available for the evaluation of kidney graft function.

Segunda/Second

Nuestros hallazgos afirman que el número de linfocitos T reguladores en sangre periférica en los trasplantados renales varía en tanto varía el efecto del tratamiento con inhibidores de *mammalian target of rapamycin* solos o combinados con belatacept en la función del injerto renal.

Our findings confirm that the number of regulatory T lymphocytes in peripheral blood in kidney transplant recipients varies as the effect of treatment with mammalian target of rapamycin inhibitors alone or combined with belatacept on renal graft function varies.

Tercera/Third

Nuestros hallazgos plantean el empleo del recuento de linfocitos T reguladores como prueba diagnóstica complementaria del tratamiento con los inhibidores de *mammalian target of rapamycin* solos o combinados con belatacept. La citometría de flujo es una técnica sencilla y de resultados fiables que puede permitir el seguimiento de los trasplantados renales.

Our findings suggest the use of regulatory T lymphocyte counts as a companion diagnostic test for treatment with mammalian target of rapamycin inhibitors alone or combined with belatacept. Flow cytometry is a simple technique with reliable results that can allow monitoring of kidney transplant recipients.

Cuarta

Se puede concluir en la codependencia entre fármaco y prueba en vista de nuestros hallazgos y considerando el diseño de los ensayos incluidos que evaluaron el efecto del tratamiento con inhibidores de la *mammalian target of rapamycin* solos o combinados con belatacept en el número de linfocitos T reguladores en sangre periférica, que realizaron a través de la estratificación de sus participantes por esta exposición.

One can conclude on the codependency between medicine and test in view of our findings and considering the design of the included trials that evaluated the effect of treatment with mammalian target of rapamycin inhibitors alone or combined with belatacept on the number of regulatory T lymphocytes in peripheral blood, which they performed by stratifying their participants by this exposure.

Bibliografía

1. Morris, P.J. Transplantation--a medical miracle of the 20th century. *N. Engl. J. Med.* 2004, 351, 2678–2680. <https://doi.org/10.1056/NEJMp048256>
2. Androustos, G.; Diamantis, A.; Vladimirov, L. The first leg transplant for the treatment of a cancer by Saints Cosmas and Damian. *J. BUON.* 2008, 13, 297–304.
3. Armitage, W.J.; Tullo, A.B.; Larkin, D.F.P. The first successful full-thickness corneal transplant: a commentary on Eduard Zirm's landmark paper of 1906. *Br. J. Ophthalmol.* 2006, 90, 1222–1223. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.101527>
4. Medawar, P.B. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits: A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J. Anat.* 1944, 78, 176–199.
5. Burnet, F.M.; Fenner, F. *The Production of Antibodies*. 2° ed. London: Macmillan, 1949; pp. 85–86.
6. Owen, R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science.* 1945, 102, 400–401. <https://doi.org/10.1126/science.102.2651.400>
7. Billingham, R.E.; Brent, L.; Medawar, P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953, 172, 603–606. <https://doi.org/10.1038/172603a0>
8. Gorer, P.A. The detection of a hereditary antigenic difference in the blood of mice by means of human group a serum. *J. Genet.* 1936, 32, 17–31
9. Gorer, P. A. The genetic and antigenic basis of tumor transplantation. *J. Pathol. Bacteriol.* 1937, 44, 691–697.
10. Gorer, P. A. The Antigenic Basis of Tumour Transplantation. *J. Pathol. Bacteriol.* 1938, 47, 231–252.
11. Snell, G.; Higgins, G. Alleles at the histocompatibility-2 locus in the mouse as determined by tumour transplantation. *Genetics.* 1951, 36, 306–310. <https://doi.org/10.1093/genetics/36.3.306>
12. Lindahl, K.F.; Wilson, D.B. Histocompatibility antigen-activated cytotoxic T lymphocytes. II. Estimates of the frequency and specificity of precursors. *J. Exp. Med.* 1977, 145, 508–522. <https://doi.org/10.1084/jem.145.3.508>

13. Suchin, E.J.; Langmuir, P.B.; Palmer, E.; Sayegh, M.H.; Wells, A.D.; Turka, L.A. Quantifying the frequency of alloreactive T cells in vivo: new answers to an old question. *J. Immunol.* 2001, 166, 973–981. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.2.973>
14. Opelz, G.; Wujciak, T.; Döhler, B.; Scherer, S.; Mytilineos, J. HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study. *Rev. Immunogenet.* 1999, 1, 334–342.
15. Ansari, D.; Bućin, D.; Nilsson, J. Human leukocyte antigen matching in heart transplantation: Systematic review and meta-analysis. *Transpl. Int.* 2014, 27, 1–12. <https://doi.org/10.1111/tri.12335>
16. Rosengarten, R.D.; Nicotra, M.L. Model systems of invertebrate allorecognition. *Curr. Biol.* 2011, 21, R82–R92. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.11.061>
17. Trowsdale, J.; Betz, A.G. Mother’s little helpers: mechanisms of maternal-fetal tolerance. *Nat. Immunol.* 2006, 7, 241–246. <https://doi.org/10.1038/ni1317>
18. Erlebacher, A. Mechanisms of T cell tolerance towards the allogeneic fetus. *Nat. Rev. Immunol.* 2013, 13, 23–33. <https://doi.org/10.1038/nri3361>
19. Wood, K.J.; Goto, R. Mechanisms of Rejection: Current Perspectives. *Transplantation.* 2012, 93, 1–10. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31823cab44>
20. Braza, F.; Brouard, S.; Chadban, S.; Goldstein, D.R. Role of TLRs and DAMPs in allograft inflammation and transplant outcomes. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016, 12, 281–290. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.41>
21. Shen, H., Kreisel, D.; Goldstein, D.R. Processes of sterile inflammation. *J. Immunol.* 2013, 191, 2857–2863. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301539>
22. Walsh, P.T.; Strom, T.B.; Turka, L.A. Routes to Transplant Tolerance versus Rejection: The Role of Cytokines. *Immunity.* 2004, 20, 121–131. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(04\)00024-x](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(04)00024-x)
23. Asgari, E.; Zhou, W.; Sacks, S. Complement in organ transplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2010, 15, 486–491. <https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e32833b9cb7>
24. Murphy, S.P.; Porrett, P.M.; Turka, L.A. Innate immunity in transplant tolerance and rejection. *Immunol. Rev.* 2011, 241, 39–48. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01009.x>

25. Spahn, J.H.; Li, W.; Kreisel, D. Innate immune cells in transplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2014, 19, 14–19. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000041>
26. Farrar, C.A.; Kupiec-Weglinski, J.W.; Sacks, S.H. The innate immune system and transplantation. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013, 3, a015479. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015479>
27. Oberbarnscheidt, M.H.; Zecher, D.; Lakkis, F.G. The innate immune system in transplantation. *Semin. Immunol.* 2011, 23, 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2011.06.006>
28. Oberbarnscheidt, M.H.; Lakkis, F.G. Innate allorecognition. *Immunol Rev.* 2014, 258, 145–149. <https://doi.org/10.1111/imr.12153>
29. Zecher, D.; van Rooijen, N.; Rothstein, D.M.; Shlomchik, W.D.; Lakkis, F.G. An innate response to allogeneic nonself mediated by monocytes. *J. Immunol.* 2009, 183, 7810–7816. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902194>
30. Oberbarnscheidt, M.H.; Zeng, Q.; Li, Q.; Dai, H.; Williams, A.L.; Shlomchik, W.D.; Rothstein, D.M.; Lakkis, F.G. Non-self recognition by monocytes initiates allograft rejection. *J. Clin. Invest.* 2014, 124, 3579–3589. <https://doi.org/10.1172/JCI74370>
31. Liu, W.; Xiao, X.; Demirci, G.; Madsen, J.; Li, X.C. Innate NK cells and macrophages recognize and reject allogeneic nonself in vivo via different mechanisms. *J. Immunol.* 2012, 188, 2703–2711. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102997>
32. Gill, R.G. NK cells: Elusive participants in transplantation immunity and tolerance. *Curr. Opin. Immunol.* 2010, 22, 649–654. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.09.005>
33. Mueller, D.L.; Jenkins, M.K.; Schwartz, R.H. Clonal expansion versus functional clonal inactivation: a costimulatory signalling pathway determines the outcome of T cell antigen receptor occupancy. *Annu. Rev. Immunol.* 1989, 7, 445–480. <https://doi.org/10.1146/annurev.iv.07.040189.002305>
34. Pilat, N.; Sayegh, M.H.; Wekerle, T. Costimulatory pathways in transplantation. *Semin. Immunol.* 2011, 23, 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2011.04.002>
35. Afzali, B.; Lombardi, G; Lechler, R.I. Pathways of major histocompatibility complex allorecognition. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2008, 13, 438–444. <https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e328309ee31>

36. Ali, J.M.; Bolton, E.M.; Bradley, J.A.; Pettigrew, G.J. Allorecognition pathways in transplant rejection and tolerance. *Transplantation*. 2013, 96, 681–688.
<https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31829853ce>
37. Larsen, C.P.; Morris, P.J.; Austyn, J.M. Migration of dendritic leukocytes from cardiac allografts into host spleens: A novel pathway for initiation of rejection. *J. Exp. Med.* 1990, 171, 307–314.
<https://doi.org/10.1084/jem.171.1.307>
38. Yin, Y.; Mariuzza, R.A. The Multiple Mechanisms of T Cell Receptor Cross-reactivity. *Immunity*. 2009, 31, 849–851. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.12.002>
39. Herrera, O.B.; Golshayan, D.; Tibbott, R.; Salcido Ochoa, F.; James, M.J.; Marelli-Berg, F.M.; Lechler, R.I. A Novel Pathway of Alloantigen Presentation by Dendritic Cells. *J. Immunol.* 2004, 173, 4828–4837. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.8.4828>
40. Lin, C.M.; Gill, R.G. Direct and indirect allograft recognition: pathways dictating graft rejection mechanisms. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2015, 21, 40–44.
<https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000263>
41. Gramaglia, I.; Weinberg, A.; Lemon, M.; Croft, M. OX40 Ligand: A Potent Costimulatory Molecule for Sustaining Primary CD4 T Cell Responses. *J. Immunol.* 1998, 161, 6510–6517.
42. Walker, L.S.K.; Sansom, D.M. Confusing signals: recent progress in CTLA-4 biology. *Trends Immunol.* 2015, 36, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.12.001>
43. Luckheeram, R.V.; Zhou, R.; Verma, A.D.; Xia, B. CD4+T cells: Differentiation and functions. *Clin. Dev. Immunol.* 2012, 2012, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/925135>
44. Banchereau, J.; Pascual, V; O’Garra, A. From IL-2 to IL-37: The expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines. *Nat. Immunol.* 2012, 13, 925–931. <https://doi.org/10.1038/ni.2406>
45. Colvin, R.B.; Smith, R.N. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat. Rev. Immunol.* 2005, 5, 807–817. <https://doi.org/10.1038/nri1702>
46. Hoffman, W.; Lakkis, F.G.; Chalasani, G. B cells, antibodies, and more. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2016, 11, 137–154. <https://doi.org/10.2215/CJN.09430915>
47. Wasowska, B.A. Mechanisms involved in antibody- and complement-mediated allograft rejection. *Immunol. Res.* 2010, 47, 25–44. <https://doi.org/10.1007/s12026-009-8136-3>

48. Terasaki, P.I.; Cai, J. Humoral theory of transplantation: Further evidence. *Curr. Opin. Immunol.* 2005, 17, 541–545. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.07.018>
49. Zarkhin, V.; Chalasani, G.; Sarwal, M.M. The yin and yang of B cells in graft rejection and tolerance. *Transplant. Rev.* 2010, 24, 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.trre.2010.01.004>
50. Wiebe, C.; Gibson, I.W.; Blydt-Hansen, T.D.; Karpinski, M.; Ho, J.; Storsley, L.J.; Goldberg, A.; Birk, P.E.; Rush, D.N.; Nickerson, P.W. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am. J. Transplant.* 2012, 12, 1157–1167. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04013.x>
51. Caro-Oleas, J. L.; González-Escribano, M.F.; Gentil-Govantes, M.A.; Acevedo, M.J.; González-Roncero, F.M.; Bernal Blanco, G.; Núñez-Roldán, A. Clinical Relevance of Anti-HLA Donor-Specific Antibodies Detected by Luminex Assay in the Development of Rejection After Renal Transplantation. *Transplantation.* 2012, 94, 338–344. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31825ace2c>
52. Hall, B. M.; Dorsch, S.; Roser, B. The cellular basis of allograft rejection in vivo. I. The cellular requirements for first-set rejection of heart grafts. *J. Exp. Med.* 1978, 148, 878–889. <https://doi.org/10.1084/jem.148.4.878>
53. Liu, Z.; Fan, H.; Jiang, S. CD4+ T-cell subsets in transplantation. *Immunol. Rev.* 2013, 252, 183–191. <https://doi.org/10.1111/imr.12038>
54. Lakkis, F.G.; Arakelov, A.; Konieczny, B.T.; Inoue, Y. Immunologic ‘ignorance’ of vascularized organ transplants in the absence of secondary lymphoid tissue. *Nat. Med.* 2000, 6, 686–688. <https://doi.org/10.1038/76267>
55. Chalasani, G.; Dai, Z.; Konieczny, B.T.; Baddoura, F.K.; Lakkis, F.G. Recall and propagation of allospecific memory T cells independent of secondary lymphoid organs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002, 99, 6175–6180. <https://doi.org/10.1073/pnas.092596999>
56. Valujskikh, A.; Pantenburg, B.; Heeger, P.S. Primed allospecific T cells prevent the effects of costimulatory blockade on prolonged cardiac allograft survival in mice. *Am. J. Transplant.* 2002, 2, 501–509. <https://doi.org/10.1034/j.1600-6143.2002.20603.x>

57. Brook, M.O.; Wood, K.J.; Jones, N.D. The impact of memory T cells on rejection and the induction of tolerance. *Transplantation*. 2006, 82, 1–9.
<https://doi.org/10.1097/01.tp.0000226082.17507.da>
58. van der Touw, W.; Bromberg, J.S. Natural killer cells and the immune response in solid organ transplantation. *Am. J. Transpl.* 2010, 10, 1354–1358. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03086.x>
59. Kaufman, D.B.; Shapiro, R.; Lucey, M.R.; Cherikh, W.S.; Bustami, R.T.; Dyke, D.B. Immunosuppression: Practice and trends. *American Journal of Transplantation*. 2004, 4, 38–53.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-6135.2004.00397.x>
60. Riechmann, L.; Clark, M.; Waldmann, H.; Winter, G. Reshaping human antibodies for therapy. *Nature*. 1988, 332, 323–327. <https://doi.org/10.1038/332323a0>
61. Pilat, N.; Schwarz, C.; Wekerle, T. Modulating T-cell costimulation as new immunosuppressive concept in organ transplantation. *Curr. Opin. Organ. Transpl.* 2012, 17, 368–375.
<https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e328355fc94>
62. Ford, M.L.; Adams, A.B.; Pearson, T.C. Targeting co-stimulatory pathways: transplantation and autoimmunity. *Nat. Rev. Nephrol.* 2014, 10, 14– 24. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2013.183>
63. Sandrini, S. Use of IL-2 receptor antagonists to reduce delayed graft function following renal transplantation: A review. *Clin. Transplant.* 2005, 19, 705–710. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0012.2005.00417.x>
64. Werlen, G.; Jacinto, E.; Xia, Y.; Karin, M. Calcineurin preferentially synergizes with PKC-theta to activate JNK and IL-2 promoter in T lymphocytes. *EMBO J.* 1998, 17, 3101–3111.
<https://doi.org/10.1093/emboj/17.11.3101>
65. Bamoulid, J.; Staeck, O.; Halleck, F.; Khadzhyrov, D.; Brakemeier, S.; Dürr, M.; Budde, K. The need for minimization strategies: Current problems of immunosuppression. *Transpl. Int.* 2015, 28, 891–900. <https://doi.org/10.1111/tri.12553>
66. Jenkins, M.K.; Schwartz, R.H. Antigen presentation by chemically modified splenocytes induces antigen-specific T cell unresponsiveness in vitro and in vivo. *J. Exp. Med.* 1987, 165, 302–319.
<https://doi.org/10.1084/jem.165.2.302>

67. Sayegh, M.H.; Fine, N.A.; Smith, J.L.; Rennke, H.G.; Milford, E.L.; Tilney, N.L. Immunologic tolerance to renal allografts after bone marrow transplants from the same donors. *Ann. Intern. Med.* 1991, 114, 954–955. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-114-11-954>
68. Helg, C.; Chapuis, B.; Bolle, J.F.; Morel, P.; Salomon, D.; Roux, E.; Antonioli, V.; Jeannet, M.; Leski, M. Renal transplantation without immunosuppression in a host with tolerance induced by allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1994, 58, 1420–1422.
69. Sorof, J.M.; Koerper, M.A.; Portale, A.A.; Potter, D.; DeSantes, K.; Cowan, M. Renal transplantation without chronic immunosuppression after T cell-depleted HLA-mismatched bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1995, 59, 1633–1635.
70. Wood, K.J.; Bushell, A.; Hester, J. Regulatory immune cells in transplantation. *Nat. Rev. Immunol.* 2012, 12, 417–430. <https://doi.org/10.1038/nri3227>
71. Tang, Q.; Bluestone, J.A. The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat. Immunol.* 2008, 9, 239–244. <https://doi.org/10.1038/ni1572>
72. Swiecki, M.; Colonna, M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2015, 15, 471–485. <https://doi.org/10.1038/nri3865>
73. Jukes, J.-P.; Wood, K.J.; Jones, N.D. Natural killer T cells: a bridge to tolerance or a pathway to rejection? *Transplantation.* 2007, 84, 679–681.
<https://doi.org/10.1097/01.tp.0000280551.78156.ac>
74. Kabelitz, D.; Peters, C.; Wesch, D.; Oberg, H.-H. Regulatory functions of $\gamma\delta$ T cells. *Int. Immunopharmacol.* 2013, 16, 382–387. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.01.022>
75. Bennett, C.L.; Christie, J.; Ramsdell, F.; Brunkow, M.E.; Ferguson, P.J.; Whitesell, L.; Kelly, T.E.; Saulsbury, F.T.; Chance, P.F.; Ochs, H.D. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat. Genet.* 2001, 27, 20–21. <https://doi.org/10.1038/83713>
76. Bennett, C.L.; Brunkow, M.E.; Ramsdell, F.; O'Briant, K.C.; Zhu, Q.; Fuleihan, R.L.; Shigeoka, A.O.; Ochs, H.D.; Chance, P.F. A rare polyadenylation signal mutation of the FOXP3 gene (AAUAAA→AAUGAA) leads to the IPEX syndrome. *Immunogenetics.* 2001, 53, 435–439.
<https://doi.org/10.1007/s002510100358>

77. Brunkow, M.E.; Jeffery, E.W.; Hjerrild, K.A.; Paeper, B.; Clark, L.B.; Yasayko, S.A.; Wilkinson, J.E.; Galas, D.; Ziegler, S.F.; Ramsdell, F. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat. Genet.* 2001, 27, 68–73. <https://doi.org/10.1038/83784>
78. Long, S.A.; Buckner, J.H. CD4+FOXP3+ T regulatory cells in human autoimmunity: more than a numbers game. *J. Immunol.* 2011, 187, 2061–2066. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003224>
79. Belkaid, Y. Role of Foxp3-positive regulatory T cells during infection. *Eur J Immunol.* 2008, 38, 918–921. <https://doi.org/10.1002/eji.200738120>
80. Martin, F.; Ladoire, S.; Mignot, G.; Apetoh, L.; Ghiringhelli, F. Human FOXP3 and cancer. *Oncogene.* 2010, 29, 4121–4129. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.174>
81. Sakaguchi, S.; Sakaguchi, N.; Asano, M.; Itoh, M.; Toda, M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995, 155, 1151–1164.
82. Takahashi, T.; Tagami, T.; Yamazaki, S.; Uede, T.; Shimizu, J.; Sakaguchi, N.; Mak, T.W.; Sakaguchi, S. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J. Exp. Med.* 2000, 192, 303–310. <https://doi.org/10.1084/jem.192.2.303>
83. Rudensky, A.Y. Regulatory T cells and Foxp3. *Immunol. Rev.* 2011, 241, 260–268. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01018.x>
84. Huehn, J.; Beyer, M. Epigenetic and transcriptional control of Foxp3(+) regulatory T cells. *Semin. Immunol.* 2015, 27, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2015.02.002>
85. Wang, J.; Ioan-Facsinay, A.; van der Voort, E.I.H.; Huizinga, T.W.J.; Toes, R.E.M. Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. *Eur. J. Immunol.* 2007, 37, 129–138. <https://doi.org/10.1002/eji.200636435>
86. Pillai, V.; Ortega, S.B.; Wang, C.K.; Karandikar, N.J. Transient regulatory T-cells: A state attained by all activated human T-cells. *Clin. Immunol.* 2007, 123, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.10.014>

87. Ronchetti, S.; Ricci, E.; Petrillo, M.G.; Cari, L.; Migliorati, G.; Nocentini, G.; Riccardi, C.
Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor-related protein: A key marker of
functional regulatory T cells. *J. Immunol. Res.* 2015, 2015, 171520.
<https://doi.org/10.1155/2015/171520>
88. Read, S.; Malmström, V.; Powrie, F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an
essential role in the function of CD25+CD4+ regulatory cells that control intestinal inflammation.
J. Exp. Med. 2000, 192, 295–302. <https://doi.org/10.1084/jem.192.2.295>
89. Floess, S.; Freyer, J.; Siewert, C.; Baron, U.; Olek, S.; Polansky, J.; Schlawe, K.; Chang, H.-D.; Bopp,
T.; Schmitt, E.; Klein-Hessling, S.; Serfling, E.; Hamann, A.; Huehn, J. Epigenetic control of the
foxp3 locus in regulatory T cells. *PLoS Biol.* 2007, 5, e38.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050038>
90. Polansky, J.K.; Kretschmer, K.; Freyer, J.; Floess, S.; Garbe, A.; Baron, U.; Olek, S.; Hamann, A.; von
Boehmer, H.; Huehn, J. DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur. J. Immunol.* 2008,
38, 1654–1663. <https://doi.org/10.1002/eji.200838105>
91. Baron, U.; Floess, S.; Wieczorek, G.; Baumann, K.; Grützkau, A.; Dong, J.; Thiel, A.; Boeld, T.J.;
Hoffmann, P.; Edinger, M.; Türbachova, I.; Hamann, A.; Olek, S.; Huehn, J. DNA demethylation in
the human FOXP3 locus discriminates regulatory T cells from activated FOXP3+ conventional T
cells. *Eur. J. Immunol.* 2007, 37, 2378–2389. <https://doi.org/10.1002/eji.200737594>
92. Roncarolo, M. G.; Gregori, S.; Bacchetta, R.; Battaglia, M. Tr1 cells and the counter-regulation of
immunity: Natural mechanisms and therapeutic applications. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*
2014, 380, 39–68. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5_3
93. Cosmi, L.; Liotta, F.; Lazzeri, E.; Francalanci, M.; Angeli, R.; Mazzinghi, B.; Santarlasci, V.; Manetti,
R.; Vanini, V.; Romagnani, P.; Maggi, E.; Romagnani, S.; Annunziato, F. Human CD8+CD25+
thymocytes share phenotypic and functional features with CD4+CD25+ regulatory thymocytes.
Blood. 2003, 102, 4107–4114. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-04-1320>
94. Juvet, S.C.; Zhang, L. Double negative regulatory T cells in transplantation and autoimmunity:
recent progress and future directions. *J. Mol. Cell Biol.* 2012, 4, 48–58.
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjr043>

95. Jordan, M.S.; Boesteanu, A.; Reed, A.J.; Petrone, A.L.; Hohenbeck, A.E.; Lerman, M.A.; Naji, A.; Caton, A.J. Thymic selection of CD4+CD25+ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide. *Nat. Immunol.* 2001, 2, 301–306. <https://doi.org/10.1038/86302>
96. Ribot, J.; Enault, G.; Pilipenko, S.; Huchenq, A.; Calise, M.; Hudrisier, D.; Romagnoli, P.; van Meerwijk, J.P.M. Shaping of the autoreactive regulatory T cell repertoire by thymic cortical positive selection. *J. Immunol.* 2007, 179, 6741–6748. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.10.6741>
97. Wirnsberger, G.; Hinterberger, M.; Klein, L. Regulatory T-cell differentiation versus clonal deletion of autoreactive thymocytes. *Immunol. Cell Biol.* 2011, 89, 45–53. <https://doi.org/10.1038/icb.2010.123>
98. Caton, A.J.; Kropf, E.; Simons, D.M.; Aitken, M.; Weissler, K.A.; Jordan, M.S. Strength of TCR signal from self-peptide modulates autoreactive thymocyte deletion and Foxp3+ Treg-cell formation. *Eur. J. Immunol.* 2014, 44, 785–793. <https://doi.org/10.1002/eji.201343767>
99. You, S. Differential sensitivity of regulatory and effector T cells to cell death: A prerequisite for transplant tolerance. *Front. Immunol.* 2015, 6, 4–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00242>
100. Chen, W.; Jin, W.; Hardegen, N.; Lei, K.-J.; Li, L.; Marinos, N.; McGrady, G.; Wahl, S.M. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J. Exp. Med.* 2003, 198, 1875–1886. <https://doi.org/10.1084/jem.20030152>
101. Cretney, E.; Xin, A.; Shi, W.; Minnich, M.; Masson, F.; Miasari, M.; Belz, G.T.; Smyth, G.K.; Busslinger, M.; Nutt, S.L.; Kallies, A. The transcription factors Blimp-1 and IRF4 jointly control the differentiation and function of effector regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 2011, 12, 304–311. <https://doi.org/10.1038/ni.2006>
102. Campbell, D.J. Control of Regulatory T Cell Migration, Function, and Homeostasis. *J. Immunol.* 2015, 195, 2507–2513. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500801>
103. Koch, M.; Thomas, K.R.; Perdue, N.R.; Smigielski, K.S.; Srivastava, S.; Campbell, D.J. T-bet(+) Treg cells undergo abortive Th1 cell differentiation due to impaired expression of IL-12 receptor beta2. *Immunity.* 2012, 37, 501–510. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.05.031>

104. Zheng, Y.; Chaudhry, A.; Kas, A.; deRoos, P.; Kim, J.M.; Chu, T.-T.; Corcoran, L.; Treuting, P.; Klein, U.; Rudensky, A.Y. Regulatory T-cell suppressor program co-opts transcription factor IRF4 to control T(H)2 responses. *Nature*. 2009, 458, 351–356.
<https://doi.org/10.1038/nature07674>
105. Chaudhry, A.; Rudra, D.; Treuting, P.; Samstein, R.M.; Liang, Y.; Kas, A.; Rudensky, A.Y. CD4+ regulatory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner. *Science*. 2009, 326, 986–991. <https://doi.org/10.1126/science.1172702>
106. Rosenblum, M.D.; Way, S.S.; Abbas, A.K. Regulatory T cell memory. *Nat. Rev. Immunol.* 2015, 16, 1–12. <https://doi.org/10.1038/nri.2015.1>
107. Duhon, T.; Duhon, R.; Lanzavecchia, A.; Sallusto, F.; Campbell, D.J. Functionally distinct subsets of human FOXP3+ Treg cells that phenotypically mirror effector Th cells. *Blood*. 2012, 119, 4430–4440. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-392324>
108. Burzyn, D.; Benoist, C.; Mathis, D. Regulatory T cells in nonlymphoid tissues. *Nat. Immunol.* 2013, 14, 1007–1013. <https://doi.org/10.1038/ni.2683>
109. Schmidt, A.; Oberle, N.; Krammer, P.H. Molecular mechanisms of treg-mediated T cell suppression. *Front. Immunol.* 2012, 3, 51. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00051>
110. Romano, M.; Fanelli, G.; Albany, C.J.; Giganti, G.; Lombardi, G. Past, Present, and Future of Regulatory T Cell Therapy in Transplantation and Autoimmunity. *Front. Immunol.* 2019, 10, 43. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00043>
111. Read, S.; Malmström, V.; Powrie, F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J. Exp. Med.* 2000, 192, 295–302. <https://doi.org/10.1084/jem.192.2.295>
112. Sansom, D.M.; Walker, L.S.K. The role of CD28 and cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) in regulatory T-cell biology. *Immunol. Rev.* 2006, 212, 131–148. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2006.00419.x>
113. Huang, C.T.; Workman, C.J.; Flies, D.; Pan, X.; Marson, A.L.; Zhou, G.; Hipkiss, E.L.; Ravi, S.; Kowalski, J.; Levitsky, H.I.; Powell, J.D.; Pardoll, D.M.; Drake, C.G.; Vignali, D.A.A. Role of LAG-3 in regulatory T cells. *Immunity*. 2004, 21, 503–513. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.08.010>

114. Asseman, C.; Mauze, S.; Leach, M.W.; Coffman, R.L.; Powrie, F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J. Exp. Med.* 1999, 190, 995–1004. <https://doi.org/10.1084/jem.190.7.995>
115. Patterson, S.J.; Pesenacker, A.M.; Wang, A.Y.; Gillies, J.; Mojibian, M.; Morishita, K.; Tan, R.; Kieffer, T.J.; Verchere, C.B.; Panagiotopoulos, C.; Levings M.K. T regulatory cell chemokine production mediates pathogenic T cell attraction and suppression. *J. Clin. Invest.* 2016, 126, 1039–1051. <https://doi.org/10.1172/JCI83987>
116. Morlacchi, S.; Dal Secco, V.; Soldani, C.; Glaichenhaus, N.; Viola, A.; Sarukhan, A. Regulatory T cells target chemokine secretion by dendritic cells independently of their capacity to regulate T cell proliferation. *J. Immunol.* 2011, 186, 6807–6814. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003265>
117. Thornton, A.M.; Shevach, E.M. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 1998, 188, 287–296. <https://doi.org/10.1084/jem.188.2.287>
118. Pandiyan, P.; Zheng, L.; Ishihara, S.; Reed, J.; Lenardo, M.J. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation- mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nat. Immunol.* 2007, 8, 1353–1362. <https://doi.org/10.1038/ni1536>
119. McNally, A., Hill, G.R., Sparwasser, T., Thomas, R.; Steptoe, R.J. CD4+CD25+ regulatory T cells control CD8+ T-cell effector differentiation by modulating IL-2 homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011, 108, 7529–7534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103782108>
120. Deaglio, S.; Dwyer, K.M.; Gao, W.; Friedman, D.; Usheva, A.; Erat, A.; Chen, J.-F. Enjyoji, K.; Linden, J.; Oukka, M.; Kuchroo, V.K.; Strom, T.B.; Robson, S.C. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J. Exp. Med.* 2007, 204, 1257–1265. <https://doi.org/10.1084/jem.20062512>
121. Regateiro, F.S.; Cobbold, S.P.; Waldmann, H. CD73 and adenosine generation in the creation of regulatory microenvironments. *Clin. Exp. Immunol.* 2013, 171, 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2012.04623.x>

122. Bopp, T.; Becker, C.; Klein, M.; Klein-Hessling, S.; Palmetshofer, A.; Serfling, E.; Heib, V.; Becker, M.; Kubach, J.; Schmitt, S.; Stoll, S.; Schild, H.; Staeger, M.S.; Stassen, M.; Jonuleit, H.; Schmitt, E. Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J. Exp. Med.* 2007, 204, 1303–1310. <https://doi.org/10.1084/jem.20062129>
123. Bodor, J.; Bopp, T.; Vaeth, M.; Klein, M.; Serfling, E.; Hünig, T.; Becker, C.; Schild, H.; Schmitt, E. Cyclic AMP underpins suppression by regulatory T cells. *Eur. J. Immunol.* 2012, 42, 1375–1384. <https://doi.org/10.1002/eji.201141578>
124. Gondek, D.C.; Lu, L.-F.; Quezada, S.A.; Sakaguchi, S.; Noelle, R.J. Cutting Edge: Contact-Mediated Suppression by CD4+CD25+ Regulatory Cells Involves a Granzyme B-Dependent, Perforin-Independent Mechanism. *J. Immunol.* 174, 1783–1786 (2005). <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.4.1783>
125. Grossman, W.J.; Verbsky, J.W.; Barchet, W.; Colonna, M.; Atkinson, J.P.; Ley, T.J. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity.* 2004, 21, 589–601. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.09.002>
126. Strauss, L.; Bergmann, C.; Whiteside, T.L. Human circulating CD4+CD25highFoxp3+ regulatory T cells kill autologous CD8+ but not CD4+ responder cells by Fas-mediated apoptosis. *J. Immunol.* 2009, 182, 1469–1480. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.3.1469>
127. Ren, X.; Ye, Z.; Jiang, Y.; Chu, S.; Xiong, Y. Wang Involvement of cellular death in TRAIL/DR5-dependent suppression induced by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *Cell Death Differ.* 2007, 14, 2076–2084. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402220>
128. Strauss, L.; Bergmann, C.; Szczepanski, M.; Gooding, W.; Johnson, J.T.; Whiteside, T.L. A unique subset of CD4+CD25highFoxp3+ T cells secreting interleukin-10 and transforming growth factor- β 1 mediates suppression in the tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2007, 13, 4345–4354. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0472>
129. Finkelstein, Y.; Bournissen, F.G.; Hutson, J.R.; Shannon, M. Polymorphism of the ADRB2 gene and response to inhaled beta-agonists in children with asthma: a meta-analysis. *J. Asthma.* 2009, 46, 900–905. <https://doi.org/10.3109/02770900903199961>

130. Roden, D.M.; Altman, R.B.; Benowitz, M.D. Flockhart, D.A.; Giacomini, K.M.; Johnson, J.A.; Krauss, R.M.; McLeod, H.L.; Ratain, M.J.; Relling, M.V.; Ring, H.Z.; Shuldiner, A.R.; Weinshilboum, R.M.; Weiss, S.T. Pharmacogenetics Research Network Pharmacogenomics: challenges and opportunities. *Ann. Intern. Med.* 2006, 145, 749–757. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-10-200611210-00007>
131. Wang, B.; Wang, J.; Huang, S.Q.; Su, H.H.; Zhou, S.F. Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance. *Curr. Drug. Metab.* 2009, 10, 781–834. <https://doi.org/10.2174/138920009789895480>
132. Xie, H.-G.; Frueh, F.W. Pharmacogenomics steps toward personalized medicine. *Future Med.* 2005, 2, 325–337. <https://doi.org/10.2217/17410541.2.4.325>
133. Essers, B.A.; Seferina, S.C.; Tjan-Heijnen, V.C.; Severens, J.L.; Novák, A.; Pompen, M.; Oron, U.H.; Joore, M.A. Transferability of model-based economic evaluations: the case of trastuzumab for the adjuvant treatment of HER2-positive early breast cancer in the Netherlands. *Value Health.* 2010, 13, 375–380. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2009.00683.x>
134. Meckley, L.M.; Gudgeon, J.M.; Anderson, J.L.; Williams, M.S.; Veenstra, D.L. A policy model to evaluate the benefits, risks and costs of warfarin pharmacogenomic testing. *Pharmacoeconomics.* 2010, 28, 61–74. <https://doi.org/10.2165/11318240-000000000-00000>
135. Conti, R.; Veenstra, D.L.; Armstrong, K.; Lesko, L.J.; Grosse, S.D. Personalized medicine and genomics: challenges and opportunities in assessing effectiveness, cost-effectiveness, and future research priorities. *Med. Decis. Making.* 2010, 30, 328–340. <https://doi.org/10.1177/0272989X09347014>
136. Terasawa, T.; Dahabreh, I.; Castaldi, P.; Trikalinos, T. Systematic reviews on selected pharmacogenetic tests for cancer treatment: CYP2D6 for tamoxifen in breast cancer, KRAS for anti-EGFR antibodies in colorectal cancer, and BCR-ABL1 for tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality, 2010.
137. Laksman, Z.; Detsky, A.S. Personalized medicine: understanding probabilities and managing expectations. *J. Gen. Intern. Med.* 2011, 26, 204–206. <https://doi.org/10.1007/s11606-010-1515-6>

138. Meckley, L.M.; Neumann, P.J. Personalized medicine: factors influencing reimbursement. *Health Policy*. 2010, 94, 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2009.09.006>
139. Lee, C.K.; Lord, S.J.; Coates, A.S.; Simes, R.J. Molecular biomarkers to individualise treatment: assessing the evidence. *Med. J. Aust.* 2009, 190, 631–636. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2009.tb02592.x>
140. Merlin, T.; Farah, C.; Schubert, C.; Mitchell, A.; Hiller, J.E.; Ryan, P. Assessing personalized medicines in Australia: a national framework for reviewing codependent technologies. *Med. Decis. Making*. 2013, 33, 333–342. <https://doi.org/10.1177/0272989X12452341>
141. Lord, S.J.; Irwig, L.; Bossuyt, P.M. Using the principles of randomized controlled trial design to guide test evaluation. *Med. Decis. Making*. 2009, 29, E1–E12. <https://doi.org/10.1177/0272989X09340584>
142. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate end- points: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001, 69, 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
143. Lachenbruch PA, Rosenberg AS, Bonvini E, Cavallé-Coll MW, Colvin RB. Biomarkers and surrogate endpoints in renal transplantation: Present status and considerations for clinical trial design. *Am. J. Transplant.* 2004, 44, 451–457. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00386.x>
144. Herrera-Gómez, F.; Del Aguila, W.; Vásquez-Seoane, M.; Martín-García, D.; Maurtua-Briseño-Meiggs, Á.; González-López, A.; Andrés-Martín, B.; Nava-Rebollo, Á.; Casquero-Fernández, F.; Pascual-Núñez, P.; Grande-Villoria, J.; Bustamante-Bustamante, J.; Ochoa-Sangrador, C.; Mendiluce-Herrero, A.; Lambert, C. Peripheral blood regulatory T cell counts as a predictive biomarker for the outcome of kidney transplant: A systematic review. *Med. Clin. (Barc)*. 2017, 149, 523–535. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.05.008>
145. Herrera-Gómez, F.; Del Aguila, W.; Tejero-Pedregosa, A.; Adler, M.; Padilla-Berdugo, R.; Maurtua-Briseño-Meiggs, Á.; Pascual, J.; Pascual, M.; San Segundo, D.; Heidt, S.; Álvarez, F.J.; Ochoa-Sangrador, C.; Lambert, C. The number of FoxP3 regulatory T cells in the circulation may be a predictive biomarker for kidney transplant recipients: A multistage systematic review. *Int. Immunopharmacol.* 2018, 65, 483–492. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.10.028>

146. Herrera-Gómez, F.; Del Aguila, W.; Tejero-Pedregosa, A.; Adler, M.; Padilla-Berdugo, R.; Mautua-Briseño-Meiggs, Á.; Pascual, J.; Pascual, M.; San Segundo, D.; Heidt, S.; Álvarez, F.J.; Ochoa-Sangrador, C.; Lambert, C. Data on a new biomarker for kidney transplant recipients: The number of FoxP3 regulatory T cells in the circulation. *Data Brief*. 2018, 21, 2567–2575. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.11.083>
147. Page, M.J.; Moher, d.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; Chou, R.; Glanville, J.; Grimshaw, J.M.; Hróbjartsson, A.; Lalu, M.M.; Li, T.; Loder, E.W.; Mayo-Wilson, E.; McDonald, S.; McGuinness, L.A.; Stewart, L.A.; Thomas, J.; Tricco, A.C.; Welch, V.A.; Whiting, P.; McKenzie, J.E. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021, 372, n160. <https://doi.org/10.1136/bmj.n160>
148. Stewart, L.; Moher, D.; Shekelle, P. Why prospective registration of systematic reviews makes sense. *Syst. Rev.* 2012, 1, 7. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-1-7>
149. Moher, D. The problem of duplicate systematic reviews. *BMJ*. 2013, 347, f5040. <https://doi.org/10.1136/bmj.f5040>
150. Kirkham, J.J.; Altman, D.G.; Williamson, P.R. Bias due to changes in specified outcomes during the systematic review process. *PLoS One*. 2010, 5, e9810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009810>
151. Degenhardt, L.; Peacock, A.; Colledge, S.; Leung, J.; Grebely, J.; Vickerman, P.; Stone, J.; Cunningham, E.B.; Trickey, A.; Dumchev, K.; Lynskey, M.; Griffiths, P.; Mattick, R.P.; Hickman, M.; Larney, S. Global prevalence of injecting drug use and socio- demographic characteristics and prevalence of HIV, HBV, and HCV in people who inject drugs: a multistage systematic review. *Lancet Glob. Health* 2017, 5, e1192–e1207. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30375-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30375-3)
152. Trivedi D.; Goodman C.; Dickinson A.; Gage H.; McLaughlin J.; Manthorpe J.; Ashaye, K.; Illiffe, S. A protocol for a systematic review of research on managing behavioural and psychological symptoms in dementia for community-dwelling older people: Evidence mapping and syntheses. *Syst. Rev.* 2013, 2, 70. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-2-70>

153. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; Chou, R.; Glanville, J.; Grimshaw, J.M.; Hróbjartsson, A.; Lalu, M.M.; Li, T.; Loder, E.W.; Mayo-Wilson, E.; McDonald, S.; McGuinness, L.A.; Stewart, L.A.; Thomas, J.; Tricco, A.C.; Welch, V.A.; Whiting, P.; Moher, D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
154. 8.5: The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias. In Higgins, J.P.T.; Green, S. *Cochrane Handbook for systematic reviews of interventions*. Version 5.1.0. London, UK: The Cochrane Collaboration, 2011.
155. Hayden, J.A.; Côté, P.; Bombardier, C. Evaluation of the quality of prognosis studies in systematic reviews. *Ann. Intern. Med.* 2006, 144, 427–437. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-144-6-200603210-00010>
156. Hayden, J.A.; van der Windt, D.A.; Cartwright, J.L.; Côté, P.; Bombardier, C. Assessing bias in studies of prognostic factors. *Ann. Intern. Med.* 2013, 158, 280–286. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-4-201302190-00009>
157. Herrera-Gómez, F.; Chimeno, M.M.; Martín-García, D.; Lizaraso-Soto, F.; Maurtua-Briseño-Meiggs, Á.; Grande-Villoria, J.; Bustamante-Munguira, J.; Alamartine, E.; Vilardell, M.; Ochoa-Sangrador, C.; Álvarez, F.J. Cholesterol-lowering treatment in chronic kidney disease: multistage pairwise and network Meta-analyses. *Sci Rep.* 2019, 9, 8951. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45431-5>
158. Andrassy, K.M. Comments on 'KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease'. *Kidney Int.* 2013, 84, 622–623. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.243>
159. Egger, M.; Smith, G.D; Schneider, M.; Minder, C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ.* 1997, 315, 629–634. <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629>
160. Noris, M.; Casiraghi, F.; Todeschini, M.; Cravedi, P.; Cugini, D.; Monteferrante, G.; Aiello, S.; Cassis, L.; Gotti, E.; Gaspari, F.; Cattaneo, D.; Perico, N.; Remuzzi, G. Regulatory T cells and T

cell depletion: role of immunosuppressive drugs. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 1007–1018.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2006101143>

161. Ruggenenti, P.; Perico, N.; Gotti, E.; Cravedi, P.; D'Agati, V.; Gagliardini, E.; Abbate, M.; Gaspari, F.; Cattaneo, D.; Noris, M.; Casiraghi, F.; Todeschini, M.; Cugini, D.; Conti, S.; Remuzzi, G. Sirolimus versus cyclosporine therapy increases circulating regulatory T cells, but does not protect renal transplant patients given alemtuzumab induction from chronic allograft injury. *Transplantation.* 2007, 84, 956–964. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000284808.28353.2c>
162. Morelon, E.; Lefrançois, N.; Besson, C.; Prévautel, J.; Brunet, M.; Touraine, J.-L.; Badet, L.; Touraine-Moulin, F.; Thauvat, O.; Malcus, C. Preferential increase in memory and regulatory subsets during T-lymphocyte immune reconstitution after thymoglobulin induction therapy with maintenance sirolimus vs cyclosporine. *Transpl. Immunol.* 2010, 23, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2010.04.004>
163. Bansal, D.; Yadav, A.K.; Kumar, V.; Minz, M.; Sakhuja, V.; Jha, V. Deferred pre-emptive switch from calcineurin inhibitor to sirolimus leads to improvement in GFR and expansion of T regulatory cell population: a randomized, controlled trial. *PLoS One.* 2013, 8, e75591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075591>
164. Stallone, G.; Pontrelli, P.; Infante, B.; Gigante, M.; Netti, G.S.; Ranieri, E.; Grandaliano, G.; Gesualdo, L. Rapamycin induces ILT3(high)ILT4(high) dendritic cells promoting a new immunoregulatory pathway, *Kidney Int.* 2014, 85, 888–897. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.337>
165. Libetta, C.; Esposito, P.; Gregorini, M.; Margiotta, E.; Martinelli, C.; Boretta, I.; Canevari, M.; Rampino, T.; Ticozzelli, E.; Abelli, M.; Meloni, F.; Dal Canton, A. Sirolimus vs cyclosporine after induction with basiliximab does not promote regulatory T cell expansion in de novo kidney transplantation: results from a single-center randomized trial, *Transpl. Immunol.* 2015, 33, 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2015.07.005>
166. Ferguson, R.; Grinyó, J.; Vincenti, F.; Kaufman, D.B.; Woodle, E.S.; Marder, B.A.; Citterio, F.; Marks, W.H.; Agarwal, M.; Wu, D.; Dong, Y.; Garg, P. Immunosuppression with belatacept-based, corticosteroid-avoiding regimens in de novo kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 2011, 11, 66–76. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03338.x>

167. O'Neil, M., Berkman, N., Hartling, L., Chang, S., Anderson, J., Motu'apuaka, M., Guise, J.M.; McDonagh, M.S. Observational evidence and strength of evidence domains: case examples. *Syst. Rev.* 2014, 3, 35. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-3-35>
168. Bloom, D.D.; Chang, Z.; Fechner, J.H.; Dar, W.; Polster, S.P.; Pascual, J.; Turka, L.A.; Knechtle S.J.. CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cells increase de novo in kidney transplant patients after immunodepletion with Campath-1H. *Am. J. Transplant.* 2008, 8, 793–802. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.02134.x>
169. Hendriks, T.K.; van Gurp, E.A.; Sewgobind, V.D.; Mol, W.M.; Schoordijk, W.; Klepper, M.; Velthuis, J.H.L.; Geel, A.; Ijzermans, J.N.M.; Weimar, W.; Baan, C.C. Generation of donor-specific regulatory T-cell function in kidney transplant patients. *Transplantation.* 2009, 87, 376–383. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181901b69>
170. Traitanon, O.; La Monica, G.; Mas, V.; Methew, J.; Leventhal, J.; Gallon, L. World Transplant Congress 2014, abstract# 2154: Conversion from tacrolimus to sirolimus results in expansion of CD4+CD25highFoxP3+T cells. *Transplantation.* 2014, 98, 113–114. <https://doi.org/10.1097/00007890-201407151-00349>
171. Hoerning, A.; Köhler, S.; Jun, C.; Lu, J.; Fu, J.; Tebbe, B.; Dolff, S.; Feldkamp, T.; Kribben, A.; Hoyer, P.F.; Witzke, O. Cyclosporin but not everolimus inhibits chemokine receptor expression on CD4+ T cell subsets circulating in the peripheral blood of renal transplant recipients. *Clin. Exp. Immunol.* 2012, 168, 251–259. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2012.04571.x>
172. Zhao, T.; Yang, C.; Qiu, Y.; Xue, Y.; Zhao, Z.; Song, D.; Qiu, Y.; Ma, Z.; Yang, B.; Xu, M.; Rong, R.; Zhu, T. Comparison of regulatory T cells and FoxP3-positive T-cell subsets in the peripheral blood of renal transplant recipients with sirolimus versus cyclosporine: A preliminary study. *Transplant. Proc.* 2013, 45, 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.06.067>
173. Yu, J.H.; Kim, K.W.; Kim, B.M.; Chung, B.H.; Cho, M.L.; Choi, B.S.; Park, C.W.; Kim, Y.-S.; Yang, C.W. Safety and immunologic benefits of conversion to sirolimus in kidney transplant recipients with long-term exposure to calcineurin inhibitors. *Korean J. Intern. Med.* 2016, 31, 552–559. <https://doi.org/10.3904/kjim.2014.366>

174. Latorre, I.; Esteve-Sole, A.; Redondo, D.; Giest, S.; Argilaguet, J.; Alvarez, S.; Peligero, C.; Forstmann, I.; Crespo, M.; Pascual, J.; Meyerhans, A. Calcineurin and mTOR inhibitors have opposing effects on regulatory T cells while reducing regulatory B cell populations in kidney transplant recipients. *Transpl. Immunol.* 2016, 35, 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.trim.2016.01.004>
175. San Segundo, D.; Ruiz, J.C.; Izquierdo, M.; Fernández-Fresnedo, G.; Gómez-Alamillo, C.; Merino, R.; Benito, M.J.; Cacho, E.; Rodrigo, E.; Palomar, R.; López-Hoyos, M.; Arias, M. Calcineurin inhibitors, but not rapamycin, reduce percentages of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2006, 82, 550–557.
<https://doi.org/10.1097/01.tp.0000229473.95202.50>
176. Deeks, J.J.; Altman, D.G. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ.* 2003, 327, 557–560. <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>
177. Ioannidis JPA. Why most discovered true associations are inflated. *Epidemiology.* 2008, 19, 640–648. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31818131e7>
178. Centre for Reviews and Dissemination. *Systematic Reviews: Centre for Reviews and Dissemination's (CRD) Guidance for Undertaking Reviews in Health Care.* York, UK: University of York, 2008. www.york.ac.uk/media/crd/Systematic_Reviews.pdf
179. Baeten, D.; Louis, S.; Braud, C.; Braudeau, C.; Ballet, C.; Moizant, F.; Pallier, A.; Giral, M.; Brouard, S.; Souillou, J.-P. Phenotypically and functionally distinct CD8+ lymphocyte populations in long-term drug-free tolerance and chronic rejection in human kidney graft recipients. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 294–304. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005020178>
180. Louis, S.; Braudeau, C.; Giral, M.; Dupont, A.; Moizant, F.; Robillard, N.; Moreau, A.; Souillou, J.-P.; Brouard, S. Contrasting CD25hiCD4+ T cells/FOXP3 patterns in chronic rejection and operational drug-free tolerance. *Transplantation.* 2006, 81, 398–407.
<https://doi.org/10.1097/01.tp.0000203166.44968.86>
181. Braudeau, C.; Racapé, M.; Giral, M.; Louis, S.; Moreau, A.; Berthelot, L.; Heslan, M.; Ashton-Chess, J.; Souillou, J.-P.; Brouard, S. Variation in numbers of CD4+CD25highFOXP3+ T

- cells with normal immuno-regulatory properties in long-term graft outcome. *Transpl. Int.* 2007, 20, 845–855. <https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2007.00537.x>
182. Pallier, A.; Hillion, S.; Danger, R.; Giral, M.; Racapé, M.; Degauque, N.; Dugast, E.; Ashton-Chess, J.; Pettré, S.; Lozano, J.J.; Bataille, R.; Devys, A.; Cesbron-Gautier, A.; Braudeau, C.; Larrose, C.; Souillou, J.-P.; Brouard, S. Patients with drug-free long-term graft function display increased numbers of peripheral B cells with a memory and inhibitory phenotype. *Kidney Int.* 2010, 78, 503–513. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.162>
183. Chesneau, M.; Pallier, A.; Braza, F.; Lacombe, G.; Le Gallou, S.; Baron, D.; Giral, M.; Danger, R.; Guerif, P.; Aubert-Wastiaux, H.; Néel, A.; Michel, L.; Laplaud, D.-A.; Degauque, N.; Souillou, J.-P.; Tarte, K.; Brouard, S. Unique B cell differentiation profile in tolerant kidney transplant patients. *Am. J. Transplant.* 2014, 14, 144–155. <https://doi.org/10.1111/ajt.12508>
184. Braza, F.; Dugast, E.; Panov, I.; Paul, C.; Vogt, K.; Pallier, A.; Chesneau, M.; Baron, D.; Guerif, P.; Lei, H.; Laplaud, D.-A.; Volk, H.-D.; Degauque, N.; Giral, M.; Souillou, J.-P.; Sawitzki, B.; Brouard, S. Central role of CD45RA- Foxp3hi memory regulatory T cells in clinical kidney transplantation tolerance. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015, 16, 1795–1805. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014050480>
185. Louis, S. Etudes d'un Protocole Clinique de Minimisation des Corticostéroïdes et de la Tolérance Opérationnelle Chez des Patients Transplantés Rénaux (dissertation, French). Nantes, France: University of Nantes, 2005. <http://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/fichiers/download/631ee494-fd15-4618-a864-f4425ce8faa0>
186. Braudeau, C. Étude du Phénotype et de la Fonction des Cellules Régulatrices T CD4+ CD25+ dans le Sang des Patients Tolérants Spontanément un Greffe de rein (dissertation, French). Nantes, France: University of Nantes, 2006. <http://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/fichiers/download/54ec8c09-c266-419e-ac89-24d577d95ac9>
187. Baeten, D.; Louis, S.; Braud, C.; Braudeau, C.; Pallier, A.; Giral, M.; Brouard, S.; Souillou, J.-P. American Transplant Congress 2005, abstract# 489: Phenotypically and functionally distinct CD8+ cell populations in long-term drug-free tolerance in human kidney graft recipients. *Am. J.*

- Transplant. 2005, 5 (Suppl. 11), 155–576. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-6135.2005.abstracts.x/epdf>
188. Sagoo, P.; Perucha, E.; Sawitzki, B.; Tomiuk, S.; Stephens, D.A.; Miqueu, P.; Chapman, S.; Craciun, L.; Sergeant, R.; Brouard, S.; Rovis, F.; Jimenez, E.; Ballow, A.; Giral, M.; Rebollo-Mesa, I.; Le Moine, A.; Braudeau, C.; Hilton, R.; Gerstmayer, B.; Bourcier, K.; Sharif, A.; Krajewska, M.; Lord, G.M.; Roberts, I.; Goldman, M.; Wood, K.J.; Newell, K.; Seyfert-Margolis, V.L.; Warrens, A.N.; Janssen, U.; Volk, H.-D.; Soulillou, J.-P.; Hernandez-Fuentes, M.P.; Lechler, R.I. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans, *J. Clin. Invest.* 2010, 120, 1848–1861. <https://doi.org/10.1172/JCI39922>
189. Hernandez-Fuentes, M.P.; Sawitzki, B.; Sagoo, P.; Rovis, F.; Jimenez, E.; Perucha, E.; Le Moine, A.; Craciun, L.; Peters, B.; Braudeau, C.; Brouard, S.; Trzonkowski, P.; Warnecke, G.; Chapman, S.; Libin, M.; Warrens, A.; Goldman, M.; Volk, H.-D.; Soulillou, J.-P.; Janssen, U.; Wood, K.; Lechler, R.I. World Transplant Congress 2006, abstract# 999: Indices of tolerance: interim report. *Am. J. Transplant.* 2006, 6 (Suppl. 2), 65–472. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-6143.2006.01446.x/epdf>
190. Newell, K.A.; Asare, A.; Kirk, A.D.; Gisler, T.D.; Bourcier, K.; Suthanthiran, M.; Burlingham, W.J.; Marks, W.H.; Sanz, I.; Lechler, R.I.; Hernandez-Fuentes, M.P.; Turka, L.A.; Seyfert-Margolis, V.L. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans, *J. Clin. Invest.* 2010, 120, 1836–1847. <https://doi.org/10.1172/JCI39933>
191. Newell, K.A.; Asare, A.; Sanz, I.; Wei, C.; Rosenberg, A.; Gao, Z.; Kanaparthi, S.; Asare, S.; Lim, N.; Stahly, M.; Howell, M.; Knechtle, S.; Kirk, A.; Marks, W.H.; Kawai, T.; Spitzer, T.; Tolckoff-Rubin, N.; Sykes, M.; Sachs, D.H.; Cosimi, A.B.; Burlingham, W.J.; Phippard, D.; Turka, L.A. Longitudinal studies of a B cell-derived signature of tolerance in renal transplant recipients, *Am. J. Transplant.* 2015, 15, 2908–2920. <https://doi.org/10.1111/ajt.13480>
192. Moraes-Vieira, P.M.M.; Silva, H.M.; Takenaka, M.C.S.; Monteiro, S.M.; Lemos, F.; Saitovitch, D.; Kalil, J.; Coelho, V. Differential monocyte STAT6 activation and CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells in kidney operational tolerance transplanted individuals, *Hum. Immunol.* 2010, 71, 442–450. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2010.01.022>

193. Silva, H.M.; Takenaka, M.C.S.; Moraes-Vieira, P.M.M.; Monteiro, S.M.; Hernandez, M.O.; Chacara, W.; Six, A.; Avena, F.; Sesterheim, P.; Barbé-Tuana, F.M.; Saitovitch, D.; Lemos, F.; Kalil, J.; Coelho, V. Preserving the B-cell compartment favors operational tolerance in human renal transplantation. *Mol. Med.* 2012, 18, 733–743. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00281>
194. Silva, H.M.; Takenaka, M.C.S.; Moraes-Vieira, P.M.M.; Monteiro, S.; Lemos, F.; Saitovitch, D.; Kalil, J.; Coelho, V. Immunology 2011, 98th Annual Meeting of the American Association of Immunologists (169.25): Operationally tolerant kidney recipients exhibit higher numbers of suppressive CD19+CD24hiCD38hi b cells in relation to chronic rejection (169.25). *J. Immunol.* 2011, 186 (1 Suppl), 169.25. http://www.jimmunol.org/content/186/1_Supplement/169.25

Aportaciones presentadas

Francisco Herrera-Gómez, Waldo del Aguila, Mónica Vásquez-Seoane, Débora Martín-García, Álvaro Mautua-Briseño-Meiggs, Anunciación González-López, Beatriz Andrés-Martín, Álvaro Nava-Rebollo, Fernando Casquero-Fernández, Pilar Pascual-Núñez, Jesús Grande-Villoria, Jesús Bustamante-Bustamante, Carlos Ochoa-Sangrador, Alicia Mendiluce-Herrero, Claude Lambert

Peripheral blood regulatory T cell counts as a predictive biomarker for the outcome of kidney transplant: A systematic review

Nombre de la revista, nombre abreviado:	Medicina Clinica, Med Clin (Barc)
ISNN/EISSN:	0025-7753/1578-8989
Editorial:	Elsevier
Año:	2017
Volumen/fascículo:	149/12
Páginas inicio y fin:	523–535
DOI:	10.1016/j.medcli.2017.05.008

Indicios de calidad de la aportación

Base de indización: Journal Citation Reports

Índice de impacto de la revista:	1,168
Cuartil y posición en base (año):	Q3 , 93/135 (2017)
Categoría en base:	MEDICINE, GENERAL & INTERNAL
Edición en base:	Science Citation Index Expanded (SCIE)

Francisco Herrera-Gómez, Waldo del Aguila, Armando Tejero-Pedregosa, Marcel Adler, Rosario Padilla-Berdugo, Álvaro Maurtua-Briseño-Meiggs, Julio Pascual, Manuel Pascual, David San Segundo, Sebastiaan Heidt, F Javier Álvarez, Carlos Ochoa-Sangrador, Claude Lambert

The number of FoxP3 regulatory T cells in the circulation may be a predictive biomarker for kidney transplant recipients: A multistage systematic review

Nombre de la revista, nombre abreviado:	International immunopharmacology, Int Immunopharmacol
ISNN/EISSN:	1567-5769/1878-1705
Editorial:	Elsevier
Año:	2018
Volumen/fascículo:	65/–
Páginas inicio y fin:	483–492
DOI:	10.1016/j.intimp.2018.10.028

Indicios de calidad de la aportación

Base de indización: Journal Citation Reports

Índice de impacto de la revista:	3,943
Cuartil y posición en base (año):	Q1 , 63/271 (2018)
Categoría en base:	PHARMACOLOGY & PHARMACY
Edición en base:	Science Citation Index Expanded (SCIE)

Francisco Herrera-Gómez, Waldo del Aguila, Armando Tejero-Pedregosa, Marcel Adler, Rosario Padilla-Berdugo, Álvaro Maurtua-Briseño-Meiggs, Julio Pascual, Manuel Pascual, David San Segundo, Sebastiaan Heidt, F Javier Álvarez, Carlos Ochoa-Sangrador, Claude Lambert

Data on a new biomarker for kidney transplant recipients: The number of FoxP3 regulatory T cells in the circulation

Nombre de la revista, nombre abreviado:	Data in Brief , Cancers (Basel)
ISSN/EISSN:	2352-3409/2352-3409
Editorial:	Elsevier
Año:	2018
Volumen/fascículo:	21/–
Páginas inicio y fin:	2567–2575
DOI:	10.1016/j.dib.2018.11.083

Indicios de calidad de la aportación

Base de indización: Journal Citation Reports

Índice de impacto de la revista:	2,575
Cuartil y posición en base (año):	Q2 , 49/121 (2018)
Categoría en base:	MULTIDISCIPLINARY SCIENCES
Edición en base:	Emerging Sources Citation Index (ESCI)

Estrategia de búsqueda

Resultados / fórmulas

Revisión sistemática “piloto” (referencia PROSPERO: CRD42016046285)

PubMed

62389: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "Immunosuppression"[Mesh Terms]

44236: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "Immunosuppressive Agents"[Mesh Terms]

4125: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "Antilymphocyte Serum"[Mesh Terms]

1289: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "alemtuzumab"[Title/Abstract]

4888: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "basiliximab" [Supplementary Concept]

769: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "daclizumab" [Supplementary Concept]

79631: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "calcineurin inhibitors"[Title/Abstract]

13456: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "cyclosporine"[Title/Abstract]

23587: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "tacrolimus"[Title/Abstract]

11789: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "Sirolimus"[Mesh Terms]

10932: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "rapamycin"[Title/Abstract]

7464: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "everolimus"[Title/Abstract]

3481: ("T-Lymphocytes, Regulatory"[Mesh Terms]) AND "Graft Rejection"[Mesh Terms]

8962: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "acute rejection"[Title/Abstract]

125: ("regulatory t cells"[Title/Abstract]) AND "graft function"[Title/Abstract]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Scyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citantions, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

58744: (regulatory t cells and immunosuppression).ab.

3979: (regulatory t cells and thymoglobulin).ab.

4004: (regulatory t cells and anti-CD25).ab.

71360: (regulatory t cells and calcineurin inhibitors).ab.

11000: (regulatory t cells and cyclosporine).ab.

22879: (regulatory t cells and tacrolimus).ab.

8712: (regulatory t cells and sirolimus).ab.

10015: (regulatory t cells and rapamycin).ab.

6987: (regulatory t cells and everolimus).ab.

8341: (regulatory t cells and acute rejection).ab.

88: (regulatory t cells and graft function).ab.

ClinicalKey

14236: regulatory t cells and thymoglobulin

8412: regulatory t cells and anti-thymocyte globulin

2897: regulatory t cells and alemtuzumab

6388: regulatory t cells and basiliximab

1055: regulatory t cells and daclizumab

105634: regulatory t cells and calcineurin inhibitors

22000: regulatory t cells and cyclosporine

35121: regulatory t cells and tacrolimus

29740: regulatory t cells and mammalian target of rapamycin inhibitors

17999: regulatory t cells and sirolimus

19556: regulatory t cells and rapamycin

11013: regulatory t cells and everolimus

10444: regulatory t cells and acute rejection

144: regulatory t cells and graft function

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

1369: (REGULATORY T CELLS AND IMMUNOSUPPRESSION):TA

365: (REGULATORY T CELLS AND THYMOGLOBULIN):TA

189: (REGULATORY T CELLS AND ANTI-THYMOCYTE GLOBULIN):TA

55: (REGULATORY T CELLS AND ALEMTUZUMAB):TA

201: (REGULATORY T CELLS AND BASILIXIMAB):TA

33: (REGULATORY T CELLS AND DACLIZUMAB):TA

899: (REGULATORY T CELLS AND CYCLOSPORINE):TA

645: (REGULATORY T CELLS AND TACROLIMUS):TA

500: (REGULATORY T CELLS AND SIROLIMUS):TA

458: (REGULATORY T CELLS AND RAPAMYCIN):TA

289: (REGULATORY T CELLS AND EVEROLIMUS):TA

100: (REGULATORY T CELLS AND ACUTE REJECTION):TA

5: (REGULATORY T CELLS AND GRAFT FUNCTION):TA

DART-Europe E-Theses portal

297: regulatory t cells

Open Access Theses and Dissertations

1100: regulatory t cells

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

Sociedad Española de Nefrología 2007-2015, the European Renal Association – European Dialysis and Transplantation Association (ERA-EDTA) 2002-2015, the American Society of Nephrology – Kidney Week 2003-2015, the American Transplant Congress 2012, 2013, 2015 y 2016, the World Transplant Congress 2014

8: búsquedas manuales.

Revisión sistemática *core* (referencia PROSPERO: CRD42017057570)

Inventario preliminar

PubMed

109407: (((("t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]) OR "b lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]) OR "intraepithelial lymphocytes"[MeSH Terms]) OR "dendritic cells"[MeSH Terms]) OR "killer cells, natural"[MeSH Terms]

50037: (((("treg"[Text Word]) OR "breg"[Text Word]) OR "gamma delta t cell"[Text Word]) OR "dendritic cell"[Text Word]) OR "nk cell"[Text Word]

2292: "Transplantation Tolerance"[Mesh Terms]

3430: ("immune tolerance"[MeSH Terms]) AND "organ transplantation"[MeSH Terms]

21322: (((("transplantation"[Text Word]) OR "transplant"[Text Word]) OR "operational"[Text Word])) AND "tolerance"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citations, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

109411: exp dendritic cells/ or exp killer cells, natural/ or exp intraepithelial lymphocytes/ or exp t-lymphocytes, regulatory/ or exp b-lymphocytes, regulatory/

38652: (treg or breg or "gamma adj delta adj t adj cell" or "dendritic adj cell" or "nk adj cell").tw.

2292: exp Transplantation Tolerance/

3432: exp Immune Tolerance/ and exp Organ Transplantation/

136227: ((transpl\$ or operat\$) and tolerance).tw.

Elsevier's Scopus

28553: (KEY("regulatory t cell") OR KEY("regulatory b cell") OR KEY("gamma delta t cell") OR KEY("dendritic cell") OR KEY("natural killer cell")) AND NOT INDEX(medline)

27863: (TITLE-ABS-KEY(treg) OR TITLE-ABS-KEY(breg) OR TITLE-ABS-KEY("gamma delta t cell") OR TITLE-ABS-KEY("dendritic cell") OR TITLE-ABS-KEY("nk cell")) AND NOT INDEX(medline)

481: KEY("transplantation tolerance") AND NOT INDEX(medline)

188: (KEY("immunological tolerance") AND KEY("organ transplantation")) AND NOT INDEX(medline)

30826: ((TITLE-ABS-KEY(transpl*) OR TITLE-ABS-KEY(operat*)) AND (TITLE-ABS-KEY(tolerance))) AND NOT INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

266360: TOPIC: (treg) OR TOPIC: (breg) OR TOPIC: (gamma delta t cell) OR TOPIC: (dendritic cell) OR TOPIC: (nk cell)

TOPIC: (transpl*) OR TOPIC: (operat*) (a)

TOPIC: (tolerance) (b)

77647: (a) and (b)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

1240: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] or MeSH descriptor: [B-Lymphocytes, Regulatory] or MeSH descriptor: [Intraepithelial Lymphocytes] or MeSH descriptor: [Dendritic Cells] or MeSH descriptor: [Killer Cells, Natural] explode all trees in Trials

2679: treg:ti,ab,kw or breg:ti,ab,kw or "gamma delta T cell":ti,ab,kw or "dendritic cell":ti,ab,kw or "NK cell":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

18: MeSH descriptor: [Transplantation Tolerance] explode all trees in Trials

36: MeSH descriptor: [Immune Tolerance] and MeSH descriptor: [Organ Transplantation] explode all trees
in Trials

"transplantation":ti,ab,kw or "transplant":ti,ab,kw or "operational":ti,ab,kw in Trials (Word variations
have been searched) (c)

"tolerance":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (d)

4902: (c) and (d)

**ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's
Clinical Trial Registry**

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

22: breg

Also searched for Regulatory B Cells in ClinicalTrials.gov

50: "gamma delta t cell"

Also searched for Intraepithelial Lymphocytes and Gd T Cells in ClinicalTrials.gov

886: "dendritic cell"

Also searched for Antigen presenting cell in ClinicalTrials.gov

902: "nk cell"

Also searched for Killer Cells in ClinicalTrials.gov

8: "transplantation tolerance"

15: "transplant tolerance"

20: "operational tolerance"

DART Europe E-Theses

341: treg

12: breg

10: "gamma delta t cell"

305: "dendritic cell"

327: "nk cell"

11: "transplantation tolerance"

6: "transplant tolerance"

4: "operational tolerance"

Open Access Theses and Dissertations

1146: treg

33: breg

31: "gamma delta t cell"

1071: "dendritic cell"

880: "nk cell"

54: "transplantation tolerance"

31: "transplant tolerance"

17: "operational tolerance"

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

13: búsquedas manuales.

Revisión sistemática "en profundidad"

PubMed

28759: ("t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]) OR "b lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]

13731: ("treg"[Text Word]) OR "breg"[Text Word]

74200: "kidney function tests"[MeSH Terms]

40239: "glomerular filtration rate"[MeSH Terms]

122674: "creatinine"[Text Word]

317844: "clinical trials as topic"[MeSH Terms]

125730: "controlled clinical trials as topic"[MeSH Terms]

120798: "randomized controlled trials as topic"[MeSH Terms]

808129: "clinical trial"[Publication Type]

557119: "controlled clinical trial"[Publication Type]

469295: "randomized controlled trial"[Publication Type]

1086594: "trial"[Text Word]

95998: "random allocation"[MeSH Terms]

1188673: (("randomized"[Text Word]) OR "random"[Text Word]) OR "randomly"[Text Word]) OR
"randomization"[Text Word]

147670: "double blind method"[MeSH Terms]

25723: "single blind method"[MeSH Terms]

141595: (("double blind"[Text Word]) OR "double mask"[Text Word]) OR "single blind"[Text Word]) OR
"single mask"[Text Word]

36752: "open label"[Text Word]

34076: "placebos"[MeSH Terms]

197944: "placebo"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citantions, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

28760: exp t-lymphocytes, regulatory/ or exp b-lymphocytes, regulatory/

38652: (treg or breg).tw.

74209: exp Kidney Function Tests/

40243: exp Glomerular Filtration Rate/

338764: creatinine.tw.

512552: clinical trial/

92669: controlled clinical trial/

468992: randomized controlled trial/

512552: clinical trial.pt.

92669: controlled clinical trial.pt.

468992: randomized controlled trial.pt.

1588208: trial.tw

95995: Random Allocation/

2758554: random\$.tw.

147676: Double-Blind Method/

25718: single-blind method/

404787: ((doubl\$ adj blind\$) or (doubl\$ adj mask\$) or (singl\$ adj blind\$) or (singl\$ adj mask\$)).tw.

127751: open label.tw.

34079: Placebos/

567003: placebo\$.tw.

Elsevier's Scopus

6883: (KEY("regulatory t lymphocyte") OR KEY("regulatory b lymphocyte")) AND NOT INDEX(medline)

4411: (TITLE-ABS-KEY(treg) OR TITLE-ABS-KEY(breg)) AND NOT INDEX(medline)

21483: KEY("kidney function") AND NOT INDEX(medline)

10449: KEY("glomerulus filtration rate") AND NOT INDEX(medline)

49384: TITLE-ABS-KEY(creatinine) AND NOT INDEX(medline)

28031: KEY("clinical trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

1896: KEY("controlled clinical trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

38285: KEY("randomized controlled trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

658544: TITLE-ABS-KEY(trial) AND NOT INDEX(medline)

14531: KEY(randomization) AND NOT INDEX(medline)

1184031: TITLE-ABS-KEY(random*) AND NOT INDEX(medline)

27421: KEY("double blind procedure") AND NOT INDEX(medline)

4686: KEY("single blind procedure") AND NOT INDEX(medline)

54268: (TITLE-ABS-KEY("double blind*") OR TITLE-ABS-KEY("double mask*") OR TITLE-ABS-KEY("single blind*") OR TITLE-ABS-KEY("single mask*")) AND NOT INDEX(medline)

8875: TITLE-ABS-KEY("open label") AND NOT INDEX(medline)

70892: KEY(placebo) AND NOT INDEX(medline)

99519: TITLE-ABS-KEY(placebo) AND NOT INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

19274: TOPIC: (treg) OR TOPIC: (breg)

180900: TOPIC: (creatinine)

2042190: TOPIC: (trial)

2373510: TOPIC: (random*)

356248: TOPIC: ("double blind*") OR TOPIC: ("double mask*") OR TOPIC: ("single blind*") OR TOPIC: ("single mask*")

62229: TOPIC: ("open label")

312412: TOPIC: (placebo)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

265: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] or MeSH descriptor: [B-Lymphocytes, Regulatory]

explode all trees in Trials

631: treg:ti,ab,kw or breg:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

3887: MeSH descriptor: [Kidney Function Tests] explode all trees in Trials

2475: MeSH descriptor: [Glomerular Filtration Rate] explode all trees in Trials

17543: "creatinine":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

33230: MeSH descriptor: [Clinical Trials as Topic] this term only in Trials

72: MeSH descriptor: [Controlled Clinical Trials as Topic] this term only in Trials

5937: MeSH descriptor: [Randomized Controlled Trials as Topic] this term only in Trials

319398: "clinical trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

90524: "controlled clinical trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

458934: "randomized controlled trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

621290: trial:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

20617: MeSH descriptor: [Random Allocation] this term only in Trials

736635: randomized:ti,ab,kw or random:ti,ab,kw or randomly:ti,ab,kw or "randomization":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

128258: MeSH descriptor: [Double-Blind Method] this term only in Trials

18437: MeSH descriptor: [Single-Blind Method] this term only in Trials

277843: "double blind":ti,ab,kw or "double masked":ti,ab,kw or "single blind":ti,ab,kw or "single masked":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

40918: "open label":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

23339: MeSH descriptor: [Placebos] this term only in Trials

232499: "placebo":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's

Clinical Trial Registry

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

22: breg

Also searched for Regulatory B Cells in ClinicalTrials.gov

5638: creatinine

100427: trial

Also searched for Clinical Trials in ClinicalTrials.gov

152577: randomized

Also searched for Randomization in ClinicalTrials.gov

19357: "double blind" or "double mask"

Also searched for Double blind and Double-blinded in ClinicalTrials.gov

1187: "single blind" or "single mask"

Also searched for Single blind in ClinicalTrials.gov

128750: "open label"

54934: placebo

Also searched for Placebo-controlled in ClinicalTrials.gov

DART Europe E-Theses

341: treg

12: breg

428: creatinine

4901: trial

2525: randomized

454: "double blind" or "double mask"

66: "single blind" or "single mask"

84: "open label"

1270: placebo

Open Access Theses and Dissertations

1146: treg

33: breg

1788: creatinine

28570: trial

17176: randomized

2307: "double blind" or "double mask"

321: "single blind" or "single mask"

282: "open label"

6112: placebo

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

11: búsquedas manuales.

Revisión sistemática *in-focus* (referencia PROSPERO: CRD42018085019)

Inventario preliminar

PubMed

90052: "kidney transplantation"[MeSH Terms]

133516: (((("kidney"[Text Word]) OR "renal"[Text Word])) AND "transplantation"[Text Word]

28459: "t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]

13418: "treg"[Text Word]

2292: "Transplantation Tolerance"[Mesh]

3430: ("immune tolerance"[MeSH Terms]) AND "organ transplantation"[MeSH Terms]

21322: (((("transplantation"[Text Word]) OR "transplant"[Text Word]) OR "operational"[Text Word])) AND "tolerance"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citations, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

90018: exp Kidney Transplantation/

252747: ((kidney or renal) and transplantation).tw.

28460: exp T-Lymphocytes, Regulatory/

38067: treg.tw.

2292: exp Transplantation Tolerance/

3432: exp Immune Tolerance/ and exp Organ Transplantation/

136227: ((transpl\$ or operat\$) and tolerance).tw.

Elsevier's Scopus

18266: KEY("kidney transplantation") AND NOT INDEX(medline)

30357: ((TITLE-ABS-KEY(kidney) OR TITLE-ABS-KEY(renal))) AND (TITLE-ABS-KEY(transplantation)) AND NOT INDEX(medline)

1913: KEY("regulatory t cell") AND NOT INDEX(medline)

4275: TITLE-ABS-KEY(treg) AND NOT INDEX(medline)

329: KEY("transplantation tolerance") AND NOT INDEX(medline)

188: (KEY("immunological tolerance") AND KEY("organ transplantation")) AND NOT INDEX(medline)

30846: ((TITLE-ABS-KEY(transpl*) OR TITLE-ABS-KEY(operat*))) AND (TITLE-ABS-KEY(tolerance)) and not INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

TOPIC: (kidney) OR TOPIC: (renal) (e)

TOPIC: (transplantation) (f)

191179: (e) and (f)

18984: TOPIC: (treg)

TOPIC: (transpl*) OR TOPIC: (operat*) (g)

TOPIC: (tolerance) (h)

77647: (g) and (h)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

3377: MeSH descriptor: [Kidney Transplantation] explode all trees in Trials

"kidney":ti,ab,kw or "renal":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (i)

"transplantation":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (j)

10212: (i) and (j)

265: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] explode all trees in Trials

623: treg:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

18: MeSH descriptor: [Transplantation Tolerance] explode all trees in Trials

36: MeSH descriptor: [Immune Tolerance] and MeSH descriptor: [Organ Transplantation] explode all trees in Trials

"transplantation":ti,ab,kw or "transplant":ti,ab,kw or "operational":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (k)

"tolerance":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (l)

4902: (k) and (l)

ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's Clinical Trial Registry

1821: "kidney transplantation"

Also searched for Kidney Transplants, Renal transplant, and Renal Transplantation in ClinicalTrials.gov

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

8: "transplantation tolerance"

15: "transplant tolerance"

20: "operational tolerance"

DART Europe E-Theses

215: "kidney transplantation"

176: "renal transplantation"

341: treg

11: "transplantation tolerance"

6: "transplant tolerance"

4: "operational tolerance"

Open Access Theses and Dissertations

609: "kidney transplantation"

447: "renal transplantation"

1146: treg

54: "transplantation tolerance"

31: "transplant tolerance"

17: "operational tolerance"

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

12: manual searches.

Revisión sistemática "en profundidad"

PubMed

90052: "kidney transplantation"[MeSH Terms]

133516: (((("kidney"[Text Word]) OR "renal"[Text Word])) AND "transplantation"[Text Word])

28459: "t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]

13418: "treg"[Text Word]

18052: "sirolimus"[MeSH Terms]

3988: "everolimus"[MeSH Terms]

22810: "tacrolimus"[Text Word]

28396: "cyclosporine"[MeSH Terms]

94497: (((("sirolimus"[Text Word]) OR "rapamycin"[Text Word]) OR "everolimus"[Text Word]) OR "tacrolimus"[Text Word]) OR "cyclosporine"[Text Word]

402: "belatacept"[Text Word]

74200: "kidney function tests"[MeSH Terms]

40239: "glomerular filtration rate"[MeSH Terms]

122674: "creatinine"[Text Word]

57034: "graft rejection"[MeSH Terms]

14386: "acute rejection"[Text Word]

317844: "clinical trials as topic"[MeSH Terms]

125730: "controlled clinical trials as topic"[MeSH Terms]

120798: "randomized controlled trials as topic"[MeSH Terms]

808129: "clinical trial"[Publication Type]

557119: "controlled clinical trial"[Publication Type]

469295: "randomized controlled trial"[Publication Type]

1086594: "trial"[Text Word]

95998: "random allocation"[MeSH Terms]

1188673: (((("randomized"[Text Word]) OR "random"[Text Word]) OR "randomly"[Text Word]) OR
"randomization"[Text Word])

147670: "double blind method"[MeSH Terms]

25723: "single blind method"[MeSH Terms]

141595: (((("double blind"[Text Word]) OR "double mask"[Text Word]) OR "single blind"[Text Word]) OR
"single mask"[Text Word])

36752: "open label"[Text Word]

34076: "placebos"[MeSH Terms]

197944: "placebo"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citantions, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

90018: exp Kidney Transplantation/

252747: ((kidney or renal) and transplantation).tw.

28460: exp T-Lymphocytes, Regulatory/

38067: treg.tw.

18052: exp Sirolimus/

3988: exp Everolimus/

14916: exp Tacrolimus/

28398: exp Cyclosporine/

212585: (sirolimus or rapamycin or everolimus or tacrolimus or cyclosporine).tw.

2127: belatacept.tw.

74209: exp Kidney Function Tests/

40243: exp Glomerular Filtration Rate/

338764: creatinine.tw.

57037: exp Graft Rejection/

76980: (acute adj10 rejection).tw.

512552: clinical trial/

92669: controlled clinical trial/

468992: randomized controlled trial/

512552: clinical trial.pt.

92669: controlled clinical trial.pt.

468992: randomized controlled trial.pt.

1588208: trial.tw

95995: Random Allocation/

2758554: random\$.tw.

147676: Double-Blind Method/

25718: single-blind method/

404787: ((doubl\$ adj blind\$) or (doubl\$ adj mask\$) or (singl\$ adj blind\$) or (singl\$ adj mask\$)).tw.

127751: open label.tw.

34079: Placebos/

567003: placebo\$.tw.

Elsevier's Scopus

18266: KEY("kidney transplantation") AND NOT INDEX(medline)

30357: ((TITLE-ABS-KEY(kidney) OR TITLE-ABS-KEY(renal))) AND (TITLE-ABS-KEY(transplantation)) AND NOT INDEX(medline)

1913: KEY("regulatory t cell") AND NOT INDEX(medline)

4275: TITLE-ABS-KEY(treg) AND NOT INDEX(medline)

13484: KEY(rapamycin) AND NOT INDEX(medline)

4291: KEY(everolimus) AND NOT INDEX(medline)

11062: KEY(tacrolimus) AND NOT INDEX(medline)

3382: KEY(cyclosporine) AND NOT INDEX(medline)

12169: KEY("cyclosporin A") AND NOT INDEX(medline)

34778: (TITLE-ABS-KEY(sirolimus) OR TITLE-ABS-KEY(rapamycin) OR TITLE-ABS-KEY(everolimus) OR TITLE-ABS-KEY(tacrolimus) OR TITLE-ABS-KEY(cyclosporine)) AND NOT INDEX(medline)

297: TITLE-ABS-KEY(belatacept) AND NOT INDEX(medline)

21469: KEY("kidney function") AND NOT INDEX(medline)

10443: KEY("glomerulus filtration rate") AND NOT INDEX(medline)

49366: TITLE-ABS-KEY(creatinine) AND NOT INDEX(medline)

13144: KEY("graft rejection") AND NOT INDEX(medline)

5086: TITLE-ABS-KEY(acute W/10 rejection) AND NOT INDEX(medline)

28022: KEY("clinical trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

1895: KEY("controlled clinical trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

36252: KEY("randomized controlled trial (topic)") AND NOT INDEX(medline)

658969: TITLE-ABS-KEY(trial) AND NOT INDEX(medline)

14533: KEY(randomization) AND NOT INDEX(medline)

1184854: TITLE-ABS-KEY(random*) AND NOT INDEX(medline)

27401: KEY("double blind procedure") AND NOT INDEX(medline)

4686: KEY("single blind procedure") AND NOT INDEX(medline)

54300: (TITLE-ABS-KEY("double blind*") OR TITLE-ABS-KEY("double mask*") OR TITLE-ABS-KEY("single blind*") OR TITLE-ABS-KEY("single mask*")) AND NOT INDEX(medline)

8888: TITLE-ABS-KEY("open label") AND NOT INDEX(medline)

70864: KEY(placebo) AND NOT INDEX(medline)

99550: TITLE-ABS-KEY(placebo) AND NOT INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

TOPIC: (kidney) OR TOPIC: (renal) (m)

TOPIC: (transplantation) (n)

191179: (m) and (n)

18984: TOPIC: (treg)

163089: TOPIC: (sirolimus) OR TOPIC: (rapamycin) OR TOPIC: (everolimus) OR TOPIC: (tacrolimus) OR

TOPIC: (cyclosporine)

970: TOPIC: (belatacept)

180900: TOPIC: (creatinine)

31310: TOPIC: (acute near/10 rejection)

2042190: TOPIC: (trial)

2373510: TOPIC: (random*)

356248: TOPIC: ("double blind*") OR TOPIC: ("double mask*") OR TOPIC: ("single blind*") OR TOPIC: ("single mask*")

62229: TOPIC: ("open label")

312412: TOPIC: (placebo)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

3377: MeSH descriptor: [Kidney Transplantation] explode all trees in Trials

"kidney":ti,ab,kw or "renal":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (o)

"transplantation":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (p)

10212: (o) and (p)

265: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] explode all trees in Trials

623: treg:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

1982: MeSH descriptor: [Sirolimus] explode all trees in Trials

1103: MeSH descriptor: [Everolimus] explode all trees in Trials

1750: MeSH descriptor: [Tacrolimus] explode all trees in Trials

730: MeSH descriptor: [Cyclosporine] explode all trees in Trials

12860: "sirolimus":ti,ab,kw or "rapamycin":ti,ab,kw or "everolimus":ti,ab,kw or "tacrolimus":ti,ab,kw or cyclosporine:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

172: belatacept:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

3887: MeSH descriptor: [Kidney Function Tests] explode all trees in Trials

2475: MeSH descriptor: [Glomerular Filtration Rate] explode all trees in Trials

17543: "creatinine":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

2136: MeSH descriptor: [Graft Rejection] explode all trees in Trials

2187: "acute rejection":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

33230: MeSH descriptor: [Clinical Trials as Topic] this term only in Trials

72: MeSH descriptor: [Controlled Clinical Trials as Topic] this term only in Trials

5937: MeSH descriptor: [Randomized Controlled Trials as Topic] this term only in Trials

319398: "clinical trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

90524: "controlled clinical trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

458934: "randomized controlled trial":pt in Trials (Word variations have been searched)

621290: trial:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

20617: MeSH descriptor: [Random Allocation] this term only in Trials

736635: randomized:ti,ab,kw or random:ti,ab,kw or randomly:ti,ab,kw or "randomization":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

128258: MeSH descriptor: [Double-Blind Method] this term only in Trials

18437: MeSH descriptor: [Single-Blind Method] this term only in Trials

277843: "double blind":ti,ab,kw or "double masked":ti,ab,kw or "single blind":ti,ab,kw or "single masked":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

40918: "open label":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

23339: MeSH descriptor: [Placebos] this term only in Trials

232499: "placebo":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's Clinical Trial Registry

1821: "kidney transplantation"

Also searched for Kidney Transplants, Renal transplant, and Renal Transplantation in ClinicalTrials.gov

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

1638: sirolimus or rapamycin

Also searched for Everolimus, Sirolimus, RAD 001, Temsirolimus, mTOR inhibitor, cci779, Rapamune, Afinitor, Torisen, Certican, Zortess in ClinicalTrials.gov

1342: tacrolimus

Also searched for Prograf and FK 506 in ClinicalTrials.gov

1160: cyclosporine

Also searched for Restasis and Neoral in ClinicalTrials.gov

56: belatacept

Also searched for Nulojix and Bms-224818 in ClinicalTrials.gov

5638: creatinine

694: "acute rejection"

100427: trial

Also searched for Clinical Trials in ClinicalTrials.gov

152577: randomized

Also searched for Randomization in ClinicalTrials.gov

19357: "double blind" or "double mask"

Also searched for Double blind and Double-blinded in ClinicalTrials.gov

1187: "single blind" or "single mask"

Also searched for Single blind in ClinicalTrials.gov

128750: "open label"

54934: placebo

Also searched for Placebo-controlled in ClinicalTrials.gov

DART Europe E-Theses

215: "kidney transplantation"

176: "renal transplantation"

341: treg

80: sirolimus or rampamycin

76: everolimus

171: tacrolimus

156: cyclosporine

5: belatacept

428: creatinine

99: "acute rejection"

4901: trial

2525: randomized

454: "double blind" or "double mask"

66: "single blind" or "single mask"

84: "open label"

1270: placebo

Open Access Theses and Dissertations

609: "kidney transplantation"

447: "renal transplantation"

1146: treg

1399: sirolimus or rapamycin

140: everolimus

410: tacrolimus

508: cyclosporine

14: belatacept

1788: creatinine

242: "acute rejection"

28570: trial

17176: randomized

2307: "double blind" or "double mask"

321: "single blind" or "single mask"

282: "open label"

6112: placebo

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

11: manual searches.

Revisión sistemática de apoyo para el inventario preliminar de la revisión sistemática *core* (referencia PROSPERO: CRD42018084941)

PubMed

2292: "Transplantation Tolerance"[Mesh]

3430: ("immune tolerance"[MeSH Terms]) AND "organ transplantation"[MeSH Terms]

21322: (((("transplantation"[Text Word]) OR "transplant"[Text Word]) OR "operational"[Text Word])) AND "tolerance"[Text Word]

109407: (((("t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]) OR "b lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]) OR "intraepithelial lymphocytes"[MeSH Terms]) OR "dendritic cells"[MeSH Terms]) OR "killer cells, natural"[MeSH Terms]

50037: (((("treg"[Text Word]) OR "breg"[Text Word]) OR "gamma delta t cell"[Text Word]) OR "dendritic cell"[Text Word]) OR "nk cell"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citantions, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

2292: exp Transplantation Tolerance/

3432: exp Immune Tolerance/ and exp Organ Transplantation/

136227: ((transpl\$ or operat\$) and tolerance).tw.

109411: exp dendritic cells/ or exp killer cells, natural/ or exp intraepithelial lymphocytes/ or exp t-lymphocytes, regulatory/ or exp b-lymphocytes, regulatory/

38652: (treg or breg or "gamma adj delta adj t adj cell" or "dendritic adj cell" or "nk adj cell").tw.

Elsevier's Scopus

329: KEY("transplantation tolerance") AND NOT INDEX(medline)

188: (KEY("immunological tolerance") AND KEY("organ transplantation")) AND NOT INDEX(medline)

30846: ((TITLE-ABS-KEY(transpl*) OR TITLE-ABS-KEY(operat*))) AND (TITLE-ABS-KEY(tolerance)) AND NOT INDEX(medline)

23516: (KEY("regulatory t cell") OR KEY("regulatory b cell") OR KEY("gamma delta t cell") OR KEY("dendritic cell") OR KEY("natural killer cell")) AND NOT INDEX(medline)

27888: (TITLE-ABS-KEY(treg) OR TITLE-ABS-KEY(breg) OR TITLE-ABS-KEY("gamma delta t cell") OR TITLE-ABS-KEY("dendritic cell") OR TITLE-ABS-KEY("nk cell")) AND NOT INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

TOPIC: (transpl*) OR TOPIC: (operat*) (q)

TOPIC: (tolerance) (r)

77647: (q) and (r)

266360: TOPIC: (treg) OR TOPIC: (breg) OR TOPIC: (gamma delta t cell) OR TOPIC: (dendritic cell) OR TOPIC: (nk cell)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

18: MeSH descriptor: [Transplantation Tolerance] explode all trees in Trials

36: MeSH descriptor: [Immune Tolerance] and MeSH descriptor: [Organ Transplantation] explode all trees in Trials

"transplantation":ti,ab,kw or "transplant":ti,ab,kw or "operational":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (s)

"tolerance":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (t)

4902: (s) and (t)

1240: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] or MeSH descriptor: [B-Lymphocytes, Regulatory] or MeSH descriptor: [Intraepithelial Lymphocytes] or MeSH descriptor: [Dendritic Cells] or MeSH descriptor: [Killer Cells, Natural] explode all trees in Trials

2679: treg:ti,ab,kw or breg:ti,ab,kw or "gamma delta T cell":ti,ab,kw or "dendritic cell":ti,ab,kw or "NK cell":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's Clinical Trial Registry

11: "transplantation tolerance"

6: "transplant tolerance"

4: "operational tolerance"

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

22: breg

Also searched for Regulatory B Cells in ClinicalTrials.gov

50: "gamma delta t cell"

Also searched for Intraepithelial Lymphocytes and Gd T Cells in ClinicalTrials.gov

886: "dendritic cell"

Also searched for Antigen presenting cell in ClinicalTrials.gov

902: "nk cell"

Also searched for Killer Cells in ClinicalTrials.gov

DART Europe E-Theses

11: "transplantation tolerance"

6: "transplant tolerance"

4: "operational tolerance"

341: treg

12: breg

10: "gamma delta t cell"

305: "dendritic cell"

327: "nk cell"

Open Access Theses and Dissertations

54: "transplantation tolerance"

31: "transplant tolerance"

17: "operational tolerance"

1146: treg

33: breg

31: "gamma delta t cell"

1071: "dendritic cell"

880: "nk cell"

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

14: manual searches.

Revisión sistemática de apoyo para la revisión sistemática “en profundidad “ de la revisión sistemática *core* (PROSPERO registration ID: CRD42018085186)

PubMed

90052: "kidney transplantation"[MeSH Terms]

133516: (((("kidney"[Text Word]) OR "renal"[Text Word])) AND "transplantation"[Text Word])

28459: "t lymphocytes, regulatory"[MeSH Terms]

13418: "treg"[Text Word]

18052: "sirolimus"[MeSH Terms]

3988: "everolimus"[MeSH Terms]

22810: "tacrolimus"[Text Word]

28396: "cyclosporine"[MeSH Terms]

94497: (((("sirolimus"[Text Word]) OR "rapamycin"[Text Word]) OR "everolimus"[Text Word]) OR "tacrolimus"[Text Word]) OR "cyclosporine"[Text Word]

402: "belatacept"[Text Word]

74200: "kidney function tests"[MeSH Terms]

40239: "glomerular filtration rate"[MeSH Terms]

122674: "creatinine"[Text Word]

57034: "graft rejection"[MeSH Terms]

14386: "acute rejection"[Text Word]

OvidMedline(R)

Journals@Ovid (Sumarios y Resúmenes todas las Revistas Ovid), Revistas Subscritas a Texto Completo por Sacyl, OvidMEDLINE(R) Epub Ahead of Print, In-Process & Other Non-Indexed Citantions, Ovid MEDLINE(R) Daily, Ovid MEDLINE and Versions(R)

90018: exp Kidney Transplantation/

252747: ((kidney or renal) and transplantation).tw.

28460: exp T-Lymphocytes, Regulatory/

38067: treg.tw.

18052: exp Sirolimus/

3988: exp Everolimus/

14916: exp Tacrolimus/

28398: exp Cyclosporine/

212585: (sirolimus or rapamycin or everolimus or tacrolimus or cyclosporine).tw.

2127: belatacept.tw.

74209: exp Kidney Function Tests/

40243: exp Glomerular Filtration Rate/

338764: creatinine.tw.

57037: exp Graft Rejection/

76980: (acute adj10 rejection).tw.

Elsevier's Scopus

18266: KEY("kidney transplantation") AND NOT INDEX(medline)

30357: ((TITLE-ABS-KEY(kidney) OR TITLE-ABS-KEY(renal))) AND (TITLE-ABS-KEY(transplantation)) AND NOT INDEX(medline)

1913: KEY("regulatory t cell") AND NOT INDEX(medline)

4275: TITLE-ABS-KEY(treg) AND NOT INDEX(medline)

13484: KEY(rapamycin) AND NOT INDEX(medline)

4291: KEY(everolimus) AND NOT INDEX(medline)

11062: KEY(tacrolimus) AND NOT INDEX(medline)

3382: KEY(cyclosporine) AND NOT INDEX(medline)

12169: KEY("cyclosporin A") AND NOT INDEX(medline)

34778: (TITLE-ABS-KEY(sirolimus) OR TITLE-ABS-KEY(rapamycin) OR TITLE-ABS-KEY(everolimus) OR TITLE-ABS-KEY(tacrolimus) OR TITLE-ABS-KEY(cyclosporine)) AND NOT INDEX(medline)

297: TITLE-ABS-KEY(belatacept) AND NOT INDEX(medline)

21469: KEY("kidney function") AND NOT INDEX(medline)

10443: KEY("glomerulus filtration rate") AND NOT INDEX(medline)

49366: TITLE-ABS-KEY(creatinine) AND NOT INDEX(medline)

13144: KEY("graft rejection") AND NOT INDEX(medline)

5086: TITLE-ABS-KEY(acute W/10 rejection) AND NOT INDEX(medline)

Web of Science

Web of Science Core Collection, Current Contents Connect, Derwent Innovations Index, KCI-Korean

Journal Database, Medline, Russian Science Citation Index, SciELO Citation Index

TOPIC: (kidney) OR TOPIC: (renal) (u)

TOPIC: (transplantation) (v)

191179: (u) and (v)

18984: TOPIC: (treg)

163089: TOPIC: (sirolimus) OR TOPIC: (rapamycin) OR TOPIC: (everolimus) OR TOPIC: (tacrolimus) OR

TOPIC: (cyclosporine)

970: TOPIC: (belatacept)

180900: TOPIC: (creatinine)

31310: TOPIC: (acute near/10 rejection)

The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)

3377: MeSH descriptor: [Kidney Transplantation] explode all trees in Trials

"kidney":ti,ab,kw or "renal":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (w)

"transplantation":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched) (x)

10212: (w) and (x)

265: MeSH descriptor: [T-Lymphocytes, Regulatory] explode all trees in Trials

623: treg:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

1982: MeSH descriptor: [Sirolimus] explode all trees in Trials

1103: MeSH descriptor: [Everolimus] explode all trees in Trials

1750: MeSH descriptor: [Tacrolimus] explode all trees in Trials

730: MeSH descriptor: [Cyclosporine] explode all trees in Trials

12860: "sirolimus":ti,ab,kw or "rapamycin":ti,ab,kw or "everolimus":ti,ab,kw or "tacrolimus":ti,ab,kw or cyclosporine:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

172: belatacept:ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

3887: MeSH descriptor: [Kidney Function Tests] explode all trees in Trials

2475: MeSH descriptor: [Glomerular Filtration Rate] explode all trees in Trials

17543: "creatinine":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

2136: MeSH descriptor: [Graft Rejection] explode all trees in Trials

2187: "acute rejection":ti,ab,kw in Trials (Word variations have been searched)

ClinicalTrials.gov, the EU Clinical Trials Register, the United Kingdoms' ISRCTN registry, and the India's Clinical Trial Registry

1821: "kidney transplantation"

Also searched for Kidney Transplants, Renal transplant, and Renal Transplantation in ClinicalTrials.gov

802: treg

Also searched for Regulatory T cell and T-regulatory cell in ClinicalTrials.gov

1638: sirolimus or rapamycin

Also searched for Everolimus, Sirolimus, RAD 001, Temsirolimus, mTOR inhibitor, cci779, Rapamune, Afinitor, Torisen, Certican, Zortess in ClinicalTrials.gov

1342: tacrolimus

Also searched for Prograf and FK 506 in ClinicalTrials.gov

1160: cyclosporine

Also searched for Restasis and Neoral in ClinicalTrials.gov

56: belatacept

Also searched for Nulojix and Bms-224818 in ClinicalTrials.gov

5638: creatinine

694: "acute rejection"

DART Europe E-Theses

215: "kidney transplantation"

176: "renal transplantation"

341: treg

80: sirolimus or rampamycin

76: everolimus

171: tacrolimus

156: cyclosporine

5: belatacept

428: creatinine

99: "acute rejection"

Open Access Theses and Dissertations

609: "kidney transplantation"

447: "renal transplantation"

1146: treg

1399: sirolimus or rapamycin

140: everolimus

410: tacrolimus

508: cyclosporine

14: belatacept

1788: creatinine

242: "acute rejection"

Archivos de comunicaciones de reuniones internacionales:

The American Association of Immunologists Annual Meeting 2006 to 2017, the European Congress of Immunology 2006, 2009, 2012 and 2015, the American Transplant Congress 2002-2005, 2007-2013, 2015-2017, the World Transplant Congress 2006 and 2014, the European Society for Organ Transplantation (ESOT) Congress 1997, 1999, 2001, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015 and 2017, the Transplantation Society (TTS) International Congress 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 and 2016

12: manual searches.