

7125

TRASPLANTE DE ÓRGANOS

EDUARDO A. SANTIAGO-DELPÍN

Director del Programa de Trasplantes de Puerto Rico, Hospital de Auxilio Mutuo;
Profesor de Cirugía, Universidad de Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico

General de Brigada M. C.

J. OCTAVIO RUIZ-SPEARE

Estado Mayor Presidencial;

Director del Programa de Trasplantes, Departamento de Cirugía,
Centro Médico Americano Británico Cowdray, México, D. F.

2ª edición

1999

JGH
EDITORES

39. El eslabón perdido: microquimerismo y supervivencia del injerto

Thomas E. Starzl, Anthony J. Demetris, Noriko Murase, Massimo Trucco, Angus W. Thomson, Abdul S. Rao

Las evidencias recientes sugieren que leucocitos pasajeros migran después del trasplante de órganos y producen quimerismo persistente que es esencial para mantener la supervivencia de los aloinjertos. Aquí, Thomas Starzl y cols. argumentan que este quimerismo hematolinfopoyético proporciona un importante marco para la interpretación tanto de la investigación básica de los trasplantes, como de aquella orientada a la terapéutica.

La caracterización del rechazo de Medawar¹ como una reacción huésped contra injerto (HVG) (fig. 39-1A) fue la piedra angular de la inmunología del trasplante. Una década más tarde, este concepto se transpuso en el contexto de una reacción injerto contra huésped (GVH) (fig. 39-1B), en la que injertos hematolinfopoyéticos histocompatibles rechazaron a los receptores sin defensas inmunológicas.^{2,3} El resultado fue la suposición de que la aceptación o el rechazo de aloinjertos podría comprenderse estudiando en forma independiente las respuestas inmunológicas HVG o GVH; esto condujo a la pronta aceptación de pruebas de reactividad inmune unidireccionales *in vitro* como un "minitransplante" sustituto. Sin embargo, esta suposición no proporcionó una explicación completa de las observaciones realizadas en receptores humanos y animales de aloinjertos.

EL PARADIGMA UNIDIRECCIONAL

Hasta 1959, la infusión preliminar de leucocitos del donador en receptores de órganos con citoablación fue una extensión natural esperada del modelo de tolerancia neonatal de Billingham, Brent y Medawar⁴ y de sus adultos análogos con citoablación.⁵ Sin embargo, la necesidad de quimerismo o de acondicionamiento previo del huésped perdieron apoyo cuando se logró la supervivencia a largo plazo de aloinjertos renales humanos en algunos receptores con irradiación subletal sin infusión de leucocitos del donador y, por lo tanto, normalmente sin citorreducción bajo inmunosupresión farmacológica continua.

La identificación de "leucocitos pasajeros" como el componente antigénico primario de los órganos^{6,7} llevó a la creencia de que su destrucción por el sistema inmune del huésped era esencial para el injerto. Cuando se comprobó que estas células son migratorias,⁸ incluyendo a las células dendríticas (DC),⁹ fueron admitidos sus efectos de sensibilización así como su probable eliminación periférica y en el interior del injerto.

Trasplante de médula ósea

Se ha considerado ampliamente que los modelos restrictivos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de tolerancia adquirida han dado validez a la predicción de Burnet acerca de que los linfocitos en desarrollo podrían depurarse de células auto-reactivas antes de que alcanzaran la madurez funcional, aun después del trasplante de médula ósea. La posibilidad alternativa de que poblaciones celulares inmunes de donador y receptor coexistieran en animales neonatos tolerantes en un estado mutuo de no reactividad mientras conservaran su capacidad de función colaboradora (por ejemplo, respuesta inmune en común a la infección) fue abandonada cuando no se pudo encontrar apoyo experimental directo.¹⁰ Sin embargo, desde entonces se ha aprendido que los resultados obtenidos en modelos de tolerancia neonatal son muy variables y que un estado similar a la supresión clonal permanente no es común.¹¹ Se ha demostrado recientemente que la capacidad proliferativa de subgrupos de leucocitos derivados del donador en respuesta al estímulo de un injerto de piel fue un determinante más crítico del resultado de tolerancia neonatal que el nivel basal de quimerismo.¹²

Trasplante de órganos

La conclusión de que la aceptación de un órgano trasplantado era por mecanismos unidireccionales diferentes a aquellos de los injertos de médula ósea, se reforzó por diferencias importantes entre los dos tipos de procedimiento (tabla 39-1). Generalmente se suponía además que la citoablación (o citorreducción) con el objeto de "crear un espacio microambiental" era una condición necesaria para los leucocitos injertados y el quimerismo, a pesar de evidencias tempranas y recientes de lo contrario.¹³

EL PARADIGMA BIDIRECCIONAL

Se estipuló la existencia de un vínculo entre el trasplante de médula ósea y el de órganos cuando se detectó microquimerismo con técnicas de inmunocitoquímica sensible y de reacción de polimerasa en cadena (PCR) en tejidos o sangre del total de 30 receptores humanos de riñón o hígado estudiados en el posoperatorio durante un periodo de 2 1/2 a 30 años (fig.

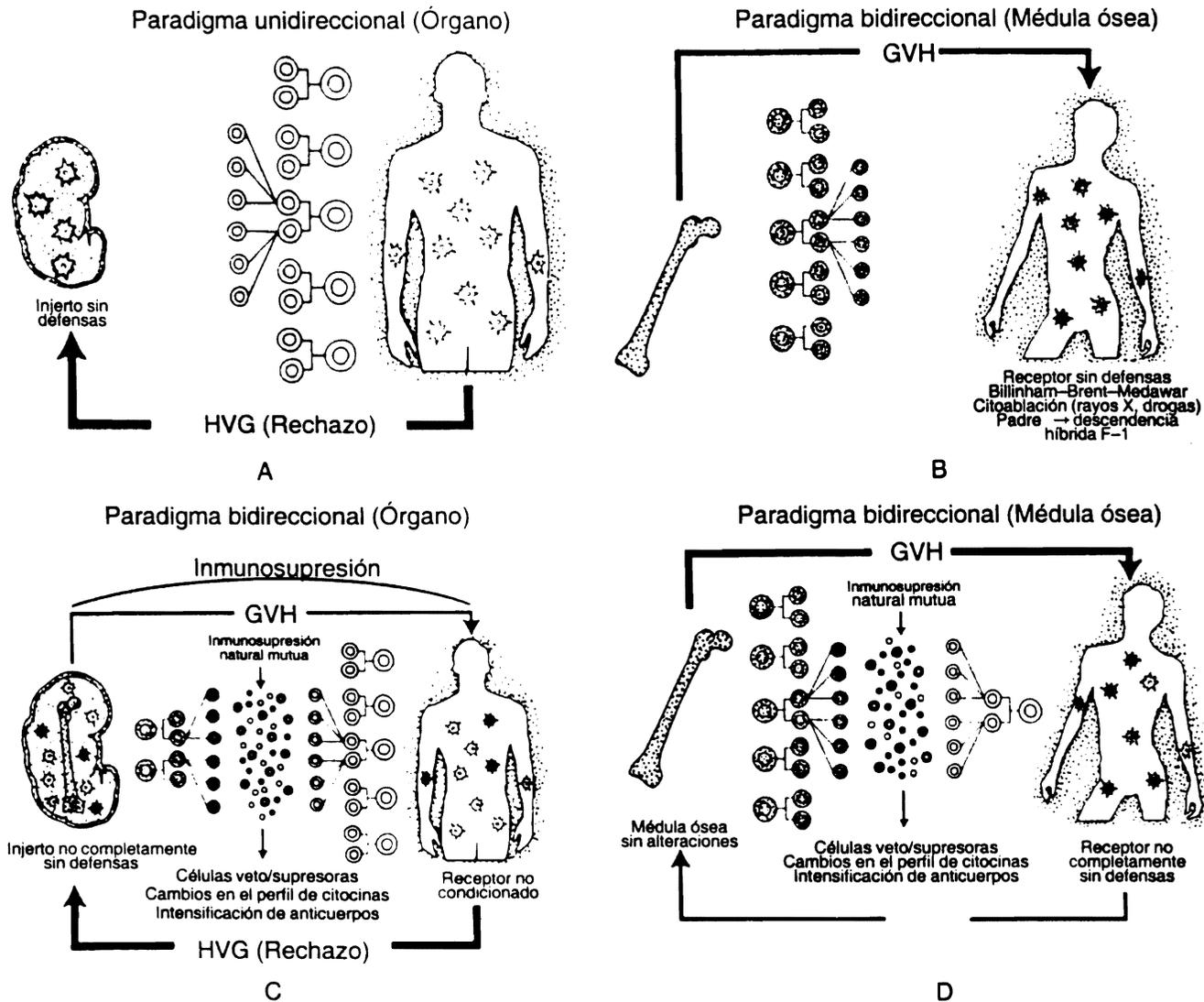


Fig. 39-1. (Páneos superiores.) Paradigma unidireccional en el que se concibe al trasplante como una reacción inmune unidireccional: (A) huésped contra injerto (HVG) con el trasplante de todos los órganos y (B) injerto contra huésped (GVH) con el trasplante de médula ósea o de otros tejidos linfopoyéticos. (Páneos inferiores.) Paradigma bidireccional en el que el trasplante es visto como una reacción inmune bidireccional y contrarrestada mutuamente siendo (C) predominantemente HVG con todos los injertos de órganos y (D) HVG con los injertos de médula ósea.

39-1C).^{14,15} Muchas células del donador parecieron ser DC, con un poderoso antígeno celular expuesto (APC).¹⁶ Frecuentemente las muestras individuales no contienen leucocitos del donador, los cuales crecen y declinan.¹⁷ Sin embargo, las células diseminadas del donador, incluyendo DC y/o DNA del donador, serían demostrables consistentemente si los roedores tolerantes de injertos a largo plazo fueran estudiados en su totalidad.¹⁸⁻²⁰

Coincidente con la migración periférica de células del donador provenientes del injerto trasplantado exitosamente, existe afluencia de leucocitos del receptor que no ocasionan daño al injerto (fig. 39-1C).¹⁵ Tanto el aloinjerto como el receptor se transforman en compuestos genéticos. Existe una condición de imagen en espejo posterior al trasplante de médula ósea²¹ (fig. 39-1D) comprobada por la demostración de indicios de una población residual de leucocitos del hués-

ped básicamente en todos los receptores de médula ósea estables, de los que antes previamente se pensó tenían quimerismo completo hacia las células del donador.²²

¿Causa o efecto?

En el paradigma bidireccional, que excluye un papel para el microquimerismo de células linfoides, se ha vuelto axiomático que antígenos de células parenquimatosas (o del endotelio vascular) de los órganos trasplantados, permiten o inducen la aceptación del aloinjerto²³ de diferente manera, por ejemplo, vía células veto/supresoras, por cambios en el perfil de citocinas o por incremento de los anticuerpos. Se ha argumentado haciendo extensivo tal razonamiento que, en modelos experimentales, es epifenomenal²⁴ el microquimerismo asociado a

Tabla 39-1
Diferencias entre el trasplante convencional de médula ósea y de órganos

Médula ósea		Órgano
Sí	← Citoablación del receptor*	→ No
Esencial	← Compatibilidad MHC	→ No esencial
GVHD	← Complicación principal	→ Rechazo
Común	← Estado libre de medicamentos	→ Raro
Tolerancia	← Términos del éxito	→ Aceptación**

* Nota: todas las diferencias provenientes de este paso terapéutico que establece en realidad una reacción GVH sin oposición en la médula ósea del receptor, siendo eliminada la reacción inmune compensadora.

** O "tolerancia operacional".

trasplante exitoso e inversamente, su desaparición con o precisamente después del rechazo irreversible.^{18,20}

Al hacer una reconsideración basada en el descubrimiento de microquimerismo en receptores de órganos, sugerimos que los leucocitos del donador en los receptores de órganos eran componentes antagonistas atenuados recíprocamente o defensas HVG e GVH abrogadas.^{14,15,21} La supresión de las defensas del huésped por citoablación previa al trasplante de médula ósea, aunque no así en el trasplante de órganos, alteró el balance de este mutuo antagonismo y fue por eso responsable de disparidades en estos dos tipos diferentes de trasplante (tabla 39-1).

El microquimerismo tuvo consecuencias que no pudieron ser explicadas por la simple presencia del antígeno, mientras que el balance no se alteró y ambas poblaciones celulares fueron igualmente inmunosuprimidas. El efecto dinámico de "nulificación" de los dos mecanismos de defensa explicaron el pobre valor pronóstico de parejas HLA para el trasplante de órganos. La rara frecuencia de GVHD posterior al injerto de órganos inmunológicamente activos como son el intestino y el hígado^{14,15,21} y el ciclo característico de crisis inmunológica y resolución, se observaron por primera vez en receptores de riñón²⁵ que fueron prácticamente los más monitoreados por la serie de cambios en la función del órgano aloinjertado (fig. 39-2), el descubrimiento de quimerismo oculto aclaró los conocimientos acerca de linfomas de células B (trastornos linfoproliferativos postrasplante, PTLDs) que habitualmente se originan en el huésped en órganos del receptor, y en el donador después del trasplante de médula ósea. Excepto por su frecuente asociación con el virus de Epstein-Barr, estos padecimientos malignos del ser humano son difíciles de distinguir de aquellos inducidos por Robert Schwartz en un modelo de quimerismo en ratón²⁶ tres años antes de que la complicación de PTLD fuera reconocida clínicamente por primera vez²⁷ y

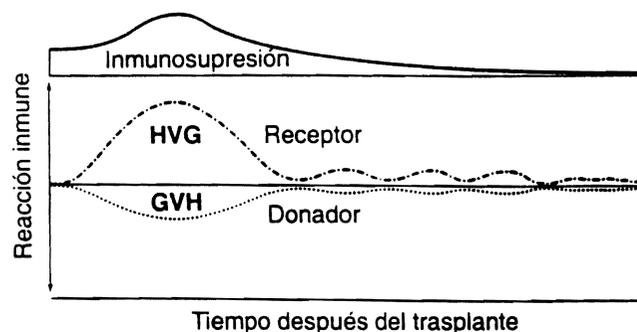


Fig. 39-2. Reacciones contemporáneas huésped contra injerto (HVG) e injerto contra huésped (GVH) en el paradigma bidireccional de la inmunología del trasplante. Siguiendo la interacción inicial, la evolución de la no reactividad de cada una de las poblaciones de leucocitos hacia la otra es vista más que una supresión como un estado estimulador predominantemente de bajo grado que puede crecer y declinar.

explicada por la pérdida natural de seguimiento.²⁸ En contraste, Schwartz atribuyó los tumores a una respuesta linfoproliferativa por el contra-ataque subclínico persistente del GVH efectuado por la minoría de la población leucocitaria del aparato inmune dominante. La relevancia de la conclusión acerca de la patogénesis y de sus implicaciones en la "regla de Schwartz" fueron apreciadas tres décadas más tarde en el contexto del paradigma bidireccional.

El papel de la inmunosupresión

Al igual que en los experimentos "linfoma-génicos" de Schwartz, la inmunosupresión es un requisito temporal para la inducción segura de tolerancia en numerosos modelos de aloinjertos de órganos en roedores. Lo mismo es cierto, aunque impredecible, en perros criados por cruce de razas después de los trasplantes de hígado³⁰ y, con menos frecuencia, de riñón. Por otra parte, el trasplante de hígado exitoso induce tolerancia sin ningún tipo de tratamiento en un porcentaje significativo de cerdos criados por cruce de razas, así como en distintas cepas de ratas^{20,31} y prácticamente en todas las combinaciones de cepas de ratones.¹⁹ Los aloinjertos de corazón y riñón en ratones también son aceptados espontáneamente en un número mucho más limitado de condiciones de disparidad del MHC.¹⁹ Siempre puede encontrarse cuando se realiza una investigación directa de microquimerismo en modelos de roedores.^{19,29,32}

En todas estas especies los órganos atraviesan por una auto-resolución del rechazo agudo en su camino hacia la tolerancia que habitualmente se extiende a trasplantes de órganos y tejidos subsecuentes de otras cepas de donadores.³³ La tolerancia es estable a pesar de evidencias provenientes de pruebas *in vitro* en las que la reactividad antidonador se conserva (tolerancia desdoblada)^{19,20,31,34} o puede restaurarse por medio de la adición de citocinas apropiadas.

El valor acumulado de las observaciones antes mencionadas no apoya la posibilidad de que el microquimerismo sea una consecuencia pasiva del trasplante de órganos. En su

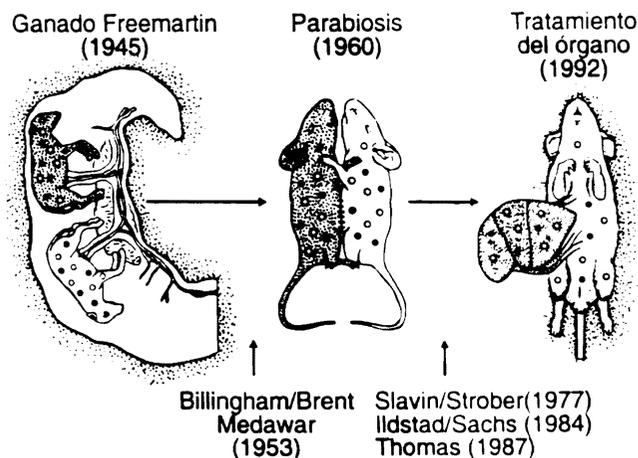


Fig. 39-3. La serie continua de quimerismo proveniente de las observaciones de Ray Owen en ganado Freemartin (de ternera estéril) fue interrumpida como explicación de la aceptación de órganos aloinjertados, desde 1960 hasta el descubrimiento en 1992 de microquimerismo en receptores de órganos.

lugar, puede identificarse un papel activo de quimerismo asociado al órgano en una serie continua de modelos de tolerancia clásica que se inician con las observaciones originales de Ray Owen en ganado Freemartin (ternera estéril) (fig. 39-3).

La pregunta acerca de la célula de origen

Los estudios del quimerismo humano sugirieron que la estirpe hematopoyética y células precursoras estaban entre aquellas que migran hacia órganos trasplantados. En apoyo a esta opinión, todos los linajes celulares en ratones irradiados supralealmente pueden reconstituirse eficazmente por medio de la infusión de células no parenquimatosas con fenotipo de célula de origen aisladas del hígado de ratones adultos singénicos.³⁵ Además, pueden ser bien reconstituidas las ratas irradiadas con trasplante de hígado ortotópico más aquellas con trasplante de médula ósea.³⁶

En forma importante, el trasplante heterotópico de corazón también tiene como resultado una reconstitución hematopoyética permanente en ratas ocasionalmente irradiadas,³⁶ una recuperación que se incrementa hasta $\geq 70\%$ con la administración de lisofilina después del trasplante de corazón (Murase y cols., manuscrito en preparación). La lisofilina es un ácido fosfatídico inhibidor que facilita el injerto de médula ósea por supresión de citocinas inhibitoras de la hematopoyesis (por ejemplo, TNF- α , TGF- β , proteína I- α inhibidora de macrófagos, factor 4 plaquetario) que se liberan característicamente por un estímulo activador durante el período postrasplante, mientras los niveles o actividades de células progenitoras mieloides promotoras de citocinas G-CSF y GM-CSF no se alteren.³⁷

Estos experimentos demuestran que el quimerismo producido por la infusión de médula ósea contra el del trasplante de órganos convencional es el mismo, con diferencias aparentes determinadas en gran parte por regímenes terapéuticos radicalmente divergentes. Consistente con esta conclusión, el qui-

merismo posterior al trasplante de médula ósea, que contiene la extremidad trasera, a receptores sin citoablación es en gran parte el mismo que se presenta después del injerto de órganos parenquimatosos.³⁸

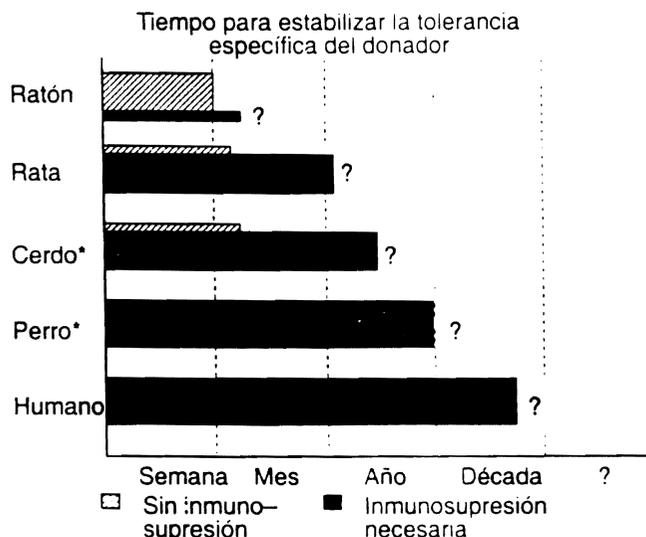
Sin embargo, en términos prácticos, los resultados (HVG, GVHD, o de ambos a la vez) son fuertemente influenciado por el perfil del linaje de inmunocitos maduros contenidos tanto en diferentes órganos vitales (corazón, riñón, hígado o intestino) como en suspensiones celulares preparadas provenientes de diversos órganos linfoides primarios o secundarios. Las células no parenquimatosas del hígado (el más tolerogénico de todos los órganos) semejan a las de médula ósea (el órgano linfóide que produce la suspensión celular más tolerogénica). Ambos órganos incluyen un mayor número de leucocitos inmaduros y células de origen mielóide que los aloinjertos intestinales, ricos en linfocitos y con propensión a GHVD, y que las suspensiones celulares de ganglio linfático o bazo.²⁰

Quimerismo: nivel y duración

Los estudios realizados en humanos y animales implican que el nivel umbral de leucocitos circulantes de donador necesario para un efecto tolerogénico es muy elevado. Aunque las estrategias terapéuticas^{18,19} que directa o indirectamente aumentan el quimerismo^{37,39} en animales de experimentación sin citoablación incrementan la confiabilidad y seguridad de la tolerancia, no es del todo claro que este proceso pueda ser fundamentalmente acelerado. Un postulado es el de que las células inmunes quiméricas permanecen susceptibles a señales posteriores que refuerzan por etapas la no reactividad específica.⁴⁰ Hemos sugerido⁴¹ que los agentes inmunosupresores, con diversos sitios de acción, más que acelerar estos pasos simplemente permiten su desarrollo (con éxito variable) por permitir que las mismas funciones que son la base el sistema inmune se expresen como en modelos de tolerancia espontánea (ver anteriormente).

En modelos de roedores con trasplante hepático en tolerancia espontánea e "inmunosupresión asistida", la causa (quimerismo) y el efecto (tolerancia) son inducidos casi simultáneamente, aunque estos eventos están relacionados, generalmente se presentan separados por meses o años en humanos y animales criados por cruce de razas (fig. 39-4). Muchos receptores humanos de hígado que sobreviven por mucho tiempo se han vuelto independientes de la inmunosupresión (con más frecuencia a causa de incumplimiento del tratamiento) durante períodos posoperatorios muy variables (fig. 39-5). Se obtuvo una información más completa en un ensayo prospectivo de interrupción efectuado en receptores de hígado que tuvieron una función estable del aloinjerto de por lo menos cinco años.⁴² En la mayoría de estos pacientes se pudo suspender la inmunosupresión, otros se encuentran todavía en proceso de interrupción ininterrumpida;⁴³ el 30% desarrolló rechazo, siendo necesaria la reanudación de la inmunosupresión. No se perdieron injertos ni hubo deterioro permanente de la función.

El estado deseable libre de fármacos nunca pudo alcanzarse en una proporción de receptores humanos de hígado, aunque



* Criados por cruce de razas

Fig. 39-4. Tiempo transcurrido entre la causa (quimerismo) y el efecto (tolerancia específica del donador) después de alotrasplante hepático en diferentes especies. Notar que no se requiere siempre inmunosupresión como es el caso de 3 de las 5 especies mostradas.

los leucocitos diseminados derivados del donador (y su órgano acompañante) aparentemente pueden mantenerse bajo inmunosupresión durante toda la vida. Se ha demostrado el mismo principio en ratas receptoras de corazón y riñón, en las cuales la inmunosupresión continua previno la lenta desaparición de quimerismo y el inicio de rechazo crónico sin dolor.²⁰

Como sucede en los animales, se cree que la suspensión de la terapia farmacológica en humanos es más peligrosa después del trasplante de órganos diferentes al hígado. Sin embargo, 5 de los 10 pacientes con supervivencia más prolongada, tole-

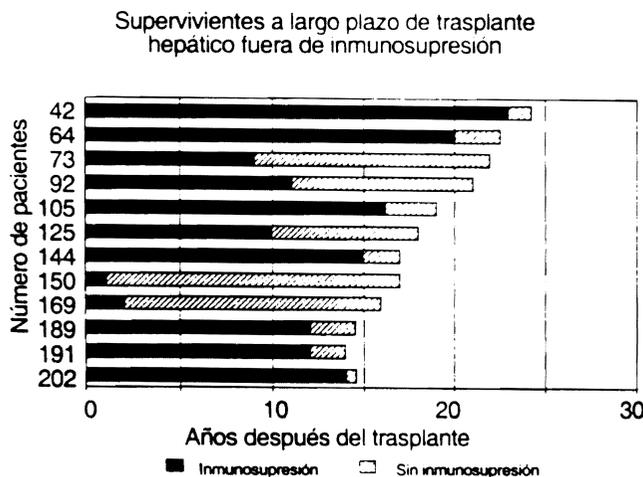


Fig. 39-5. Tiempo dentro (negro) y tiempo fuera de inmunosupresión (gris) en 12 (28%) de nuestros 42 receptores de hígado supervivientes a más largo plazo (de 15 a 26 años postrasplante) que no están recibiendo tratamiento a partir de diciembre de 1995. Estos pacientes libres de fármacos se mantuvieron bien hasta septiembre de 1996.

Tabla 39-2
Interrupción de la inmunosupresión en receptores* de riñón de largo plazo de familiar vivo

Paciente	Años después del tratamiento	Haplotipo dispar	Indicación para el destete
1 (KP)	33	0	nc
2 (SM+)	32	1	comp
3 (JN)	32	0	nc
4 (JW+)	32	2	comp
5 (DS+)	33	1	comp

* Éstos son 5 de los 16 aloinjertos con función más prolongada en el mundo.

comp = complicaciones: cáncer de piel, verrugas, infección, hipertensión, obesidad, problemas ortopédicos

nc = no complicados

+ eran niños al momento del trasplante.

rantes de aloinjerto de pariente vivo, han estado completamente fuera de inmunosupresión durante un período de entre 3 y 30 años (tabla 39-2). Los pacientes tres y cuatro, en los que las pruebas de respuesta linfocítica mixta (MLR) a donador y terceras personas blanco estuvieron profundamente deprimidas antes del destete,⁴⁴ hubo restauración gradual de la MLR en el estado libre de fármacos pero sin evidencia de rechazo.

No existe método empírico en humanos para determinar cuál es la duración de la inmunosupresión continua que se necesita para mantener quimerismo estable y función del aloinjerto. Es por esto que la cuantificación de leucocitos derivados de donador no puede utilizarse para planear protocolos de interrupción de fármacos para los pacientes. Esto debe realizarse por medio de ensayos cautelosos, con las precauciones necesarias para prevenir errores irreversibles.

Factores genéticos

Aunque las bases genéticas de las reacciones inmunes son incuestionables, el efecto del MHC es evidente de manera inequívoca sólo cuando el receptor se encuentra sin defensas inmunológicas: en el modelo de tolerancia neonatal, en citoablación del receptor en todas las especies, o como consecuencia de la crianza (por ejemplo, preparaciones híbridas F₁). Los resultados del trasplante de órganos han desafiado los análisis genéticos detallados cuando el sistema inmune del receptor es competente aún en ratones congénicos¹⁹ y en modelos de ratas.^{45,46} Un efecto pronóstico evidente del MHC después del trasplante de órganos en humanos inmunológicamente intactos ha sido identificado claramente sólo con una prueba perfecta o casi perfecta de paridad HLA.⁴⁷ La falta de predictibilidad puede explicarse por la interacción implícita con el quimerismo en el cual cada población sigue un programa genético propio.

El MHC no se desarrolló por segregación inmunológica de los pacientes trasplantados y sus tejidos, sino más bien al conocerse la necesidad de las poblaciones, no de los indivi-

duos, de flexibilidad inmunológica: el rechazo de aloinjertos fue una consecuencia imprevista de la tecnología moderna. El trasplante de aloinjertos revascularizados quirúrgicamente no fue esencialmente diferente a la inducción y control posterior de la enfermedad autoinmune de un órgano específico. De esta manera, no hubo reglas genéticas rigurosas que prohibieran el quimerismo o el trasplante exitoso de un órgano.

MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES

Los experimentos llamados de "estacionamiento", que consisten en colocar temporalmente el injerto en un tercer receptor antes de ser trasplantado en el huésped planeado, han sido de buena utilidad en la investigación de los trasplantes.^{7,48,49} Sin embargo, nosotros argumentaríamos que la presencia de leucocitos alterados (no reactivos) que repueblan un órgano durante su permanencia en un huésped intermediario alogénico, hacen que tales modelos de trasplantes sean inapropiados para el estudio de los complejos mecanismos de tolerancia. Adicionalmente, el reemplazo de leucocitos durante el período de estacionamiento es incompleto. Se conservan, incluso al año de permanencia en un receptor tolerante, el 10% de las células no parenquimatosas del donador, proporción fijada esencialmente del centésimo día en adelante.¹⁸ No es sorprendente que los resultados posteriores a la trasplatación sean difíciles de interpretar.^{50,51}

En experimentos más sencillos que implican únicamente depleción de leucocitos del órgano por irradiación del donador u otros medios, son abrogadas y debilitadas tanto la tolerogenicidad como la antigenicidad de los aloinjertos de corazón,³⁹ hígado⁵² y de islotes libres de páncreas.⁵³ La tolerogenicidad hepática puede restaurarse por infusión de esplenocitos de la cepa del donador a donadores irradiados 24 horas antes de que el órgano sea removido para su trasplante.⁵⁴ Lo mismo se aplica para los islotes después de añadir nuevamente leucocitos del donador.

En contraste con los artefactos de interpretación introducidos con los modelos de estacionamiento, el trasplante exitoso en el paradigma bidireccional se define como quimerismo persistente, sea o no dependiente de inmunosupresión. Un trasplante fallido implica ascenso de las reacciones GVH o HVG terapéuticamente incontrolable.^{15,41} Con frecuencia se encuentran evidencias patológicas de ambos procesos en casos de fracaso de injerto, pero el resultado final es predominantemente el rechazo o GVHD.

En este contexto, la vasta literatura relacionada con las bases de la tolerancia, así como la preocupada por el rechazo, puede concentrar su atención en los problemas del trasplante. Se han realizado muchos experimentos que han sido paradigmáticos unidireccionales, mostrando los efectos del antígeno exógeno o transgénico sobre las células T y otras subpoblaciones de células inmunes. La interpretación de estos datos en el trasplante debe abarcar las alteraciones en dos poblaciones celulares, cada una de las cuales puede modular a la otra. En adición a un estímulo antigénico mutuo, el paradigma bidireccional implica la protección activa de las defensas coexistentes (GVH o HVG), lo cual es particularmente importante si

una población celular está excedida en número o si existe severa disparidad del MHC. Tal mecanismo "defensivo" recíproco de aumento del injerto ha sido sujeto de investigación aunque sólo en relación con la reconstitución hematolinfopoyética posterior a citoablación del receptor.^{55,57}

Las manipulaciones experimentales bajo condiciones sumamente controladas están dirigidas habitualmente a la comprensión de la "tolerancia de células T". Sin embargo, las células T son únicamente de varios grupos de leucocitos reguladores con especialización inmune. Por ejemplo, Burlingham y cols.⁵⁸ aislaron leucocitos circulantes del donador que se parecen a la célula veto de Miller⁵⁹ en un receptor humano de riñón, con tolerancia al trasplante y función tan poderosa que una sola célula pudo neutralizar la actividad de 10,000 CTL del receptor *in vitro*.

La posibilidad de que la tolerancia al trasplante sea determinada por APCs fue formulada por la destacada e invariable presencia de DC en el humano quimérico^{14,15} y en receptores animales de órganos.^{18,19} Han sido propagadas DC precursoras derivadas de donador utilizando técnicas de cultivo adaptadas de Inaba y cols.⁶⁰ provenientes de localizaciones diseminadas en ratones receptores de aloinjertos de hígado aceptados espontáneamente:⁶¹ éstos están colocalizados con receptores DC que experimentan los mismos cambios.^{61,62} Se ha demostrado que estas DC inmaduras, que son fagocíticas⁶³ y deficientes en la expresión de moléculas de superficie coestimuladoras (familia B7),⁶⁴ inducen anergia de células T *in vitro*,⁶⁴ y prolongan la supervivencia del órgano aloinjertado.⁶⁵

Estos indicios son fascinantes, pero es poco probable que la aceptación de aloinjertos pueda comprenderse totalmente a partir de los resultados del estudio de linajes individuales de leucocitos. En conjunto, los mecanismos de tolerancia al trasplante sugieren el estudio de las funciones inmunes adaptativas de todo el sistema involucrado en la auto-integridad (por ejemplo, citocinas, células inmunorreguladoras, anticuerpos y otros factores).

TOLERANCIA AL TRASPLANTE: CENTRAL O PERIFÉRICA

Ha sido controversial el papel del timo contra el de los mecanismos periféricos en la aceptación de injertos tanto en circunstancias clínicas como experimentales.⁶⁶⁻⁶⁸ La presencia inmediata de leucocitos derivados del donador en el timo del receptor que sigue al trasplante del órgano¹⁸ fue de particular interés debido al notable efecto tolerogénico que produce la inoculación intratímica de leucocitos del donador en roedores.⁵³ Sin embargo, la timectomía en ratas adultas no influye en el quimerismo ni en la tolerancia espontánea inducida por el trasplante hepático.⁶⁹ Dejbakhash-Jones y cols.⁷⁰ han demostrado que, después de la timectomía e irradiación letal, los ratones adultos reconstituidos con células de origen hematolinfopoyéticas purificadas desarrollaron células T $\alpha\beta$, de manera comparable a los animales control, excepto por una reducida proporción en el bazo.

Entre 1962 y 1965, se practicó timectomía transtorácica a 32 pacientes, incluyendo a 24 que formaban parte de un

ensayo aleatorio controlado, efectuada en los 8 a 112 días (en promedio 22) previos del trasplante renal proveniente de donadores vivos emparentados o no. Durante los 3 1/2 a 7 años posteriores no hubo diferencias clínicas aparentes entre los timectomizados y los receptores control, aunque hubo tendencia a una mejor histopatología en el grupo con timectomía.⁷¹ En 1992, se realizaron amplios estudios inmunológicos *in vitro* a muchos de los receptores que aún permanecían y a sus donadores, los cuales no revelaron ninguna característica notable de un grupo contra otro (Gene Shearer y Adriana Zeevi, observaciones no publicadas). Después de 25 a 30 años los pacientes timectomizados no presentaron clínicamente ventajas ni desventajas.

IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS

En el contexto del paradigma bidireccional, los esfuerzos tempranos para mejorar los resultados de trasplante con transfusión sanguínea del donador específico⁷² y aumento de la médula ósea de receptores de órganos,^{73,74} se basaron en principios terapéuticos válidos que involucran el aumento no reconocido de quimerismo. También retrospectivamente es obvio el por qué la totalidad de los órganos es intrínsecamente tolerogénico^{20,23} como lo demostraron por primera vez de manera convincente Calne y cols.³³

La comprensión del concepto de un diálogo de leucocitos donador/receptor debe ayudar a predeterminar qué puede (y qué no puede) realizarse con diversas estrategias inductoras de tolerancia, que son todas un intento de influir en esta interacción. Nuestra primera premisa clínica fue que el microquimerismo espontáneo de un órgano trasplantado podría aumentarse de manera importante por medio de la coadministración de células de médula ósea del donador no modificadas, sin riesgo significativo de GVHD, suministrando las dos poblaciones de inmunocitos que inicialmente eran competentes y que la inmunosupresión repartió en ambas equitativamente. Se pronosticó también que la regulación, severidad y frecuencia del rechazo agudo serían aproximadamente las mismas que en pacientes control con médula ósea no aumentada.^{14,41,75}

Se han cumplido estas expectativas en 150 receptores humanos de órganos tratados en la Universidad de Pittsburgh.^{75,76} La presencia de DNA del donador en las colonias mieloides y eritroides generadas por receptores PBMC, como se ha medido en pruebas estándar⁷⁶ o en innovadores ensayos de clones de células hematopoyéticas progenitoras,⁷⁷ ha proporcionado evidencias inequívocas de quimerismo aumentado en células de origen. No hubo ejemplos de GVHD significativo.

Las hipótesis de eficacia terapéutica sometidas a prueba fueron que la amenaza de rechazo retardado (agudo o crónico) podría reducirse y que la frecuencia de independencia definitiva de las drogas podría incrementarse por un nivel de quimerismo persistente más alto. Una evaluación eficaz se espera que tome de 5 a 10 años,⁴¹ aproximadamente el mismo período de tiempo (figs. 39-4 y 39-5) proyectado por la experiencia clínica con trasplantes hepáticos y de médula ósea con incompatibilidad MHC.

Otras estrategias que intensifican el quimerismo (por ejemplo, G-CSF, GM-CSF o lisofilina) (ver antes) deben seguir las mismas reglas de seguridad/eficacia. En contraste, los procedimientos que alteran sólo una de las defensas que interactúan deben considerarse con precaución, como ha sido ejemplificado por la experiencia histórica con GVHB seguida de citoablación y trasplante de médula ósea. Cuando se intentó la táctica opuesta de depleción específica de leucocitos o de células T de aloinjertos intestinales como profilaxis GVHD en los años 1980s, prácticamente todos los receptores de intestino que sobrevivieron al período perioperatorio desarrollaron linfomas de células B letales asociados a virus de Epstein-Barr.⁷⁸

En un ejemplo experimental de desequilibrio con potencial relevancia clínica, la inducción previa de tolerancia con médula ósea, en ratas inmunosuprimidas brevemente, seguida de trasplante hepático retardado, tuvo como resultado GVHD,¹⁹ una complicación no observada después del trasplante de hígado, de médula ósea o de ambos simultáneamente. Los resultados de la segunda etapa del trasplante semejan a aquellos obtenidos en modelos F₁ de padres con descendencia sin defensas.

CONCLUSIÓN

La suposición de que el quimerismo hematolinfopoyético dirigido por células de origen era irrelevante para el éxito total de los trasplantes de órganos, como el que se practica comúnmente, ha conducido a explicaciones inadecuadas de la aceptación de órganos aloinjertados y ha empañado el significado de trasplante exitoso de médula ósea, impidiendo así el desarrollo de un principio central del trasplante. La incorporación del factor quimerismo al paradigma bidireccional ha permitido que enigmas previos acerca del injerto de órganos y de médula ósea, sean explicados y debe permitir que los avances claves de la inmunología básica sean explotados de manera más significativa en los trasplantes.

ABREVIATURAS

- HVG = huésped contra injerto.
- GVH = injerto contra huésped.
- DC = células dendríticas.
- MHC = complejo mayor de histocompatibilidad.
- PCR = reacción de polimerasa en cadena.
- APC = antígeno celular expuesto.
- PTLDs = trastornos linfoproliferativos postrasplante.
- MLR = respuesta linfocítica mixta.

REFERENCIAS

1. Medawar PB. *J Anat* 1944; 78: 176-199.
2. Billingham R, Brent L. *Trans Bull* 1957; 4: 67-71.
3. Simonsen M. *Acta Path Microbiol Scand* 1957; 40: 480-500.
4. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. *Nature* 1953; 172: 603-606.
5. Main JM, Prehn RT. *J Natl Cancer Inst* 1955; 15: 1023-1029.
6. Snell GD. *Ann Rev Microbiol* 1957; 11: 439-458.
7. Lechler RI, Batchelor JR. *J Exp Med* 1982; 155: 31-41.

8. Nemlander A, Soots A, Willebrand EV, Husberg B, Hayry P. *J Exp Med* 1982; 156: 1087-1100.
9. Larsen CP, Steinman R, Witmer-Pack M, Morris PJ, Austyn JM. *J Exp Med* 1990; 172: 1483-1493.
10. Simonsen M. *Progr Allergy* 1962; 6: 349-461.
11. Streilein JW. *Transplantation* 1991; 52: 1-10.
12. Alard P, Matriano JA, Socarras S, Ortega MA, Streilein JW. *Transplantation* 1995; 60: 1125-1130.
13. Harrison DE. *Blood* 1993; 81: 2473-2474.
14. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. *Lancet* 1992; 339: 1579-1582.
15. Starzl TE, Demetris AJ, Trucco M *et al. Hepatology* 1993; 17: 1127-1152.
16. Steinman RM, Cohn ZA. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-1162.
17. Schlitt HJ, Hundrieser J, Hisanaga M *et al. Lancet* 1994; 343, 1469-1471.
18. Demetris AJ, Murase N, Fujisaki S, Fung JJ, Rao AS, Starzl TE. *Transplantation Proc* 1993; 25: 3337-3344.
19. Qian S, Demetris AJ, Murase N, Rao AS, Fung JJ, Starzl TE. *Hepatology* 1994; 19: 916-924.
20. Murase N, Starzl TE, Tanabe M *et al. Transplantation* 1995; 60: 158-171.
21. Starzl TE, Demetris AJ. *JAMA* 1995; 273: 876-879.
22. Przepiorka D, Thomas ED, Durham DM, Fisher L. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 201-206.
23. Morecki S, Leshem B, Eid A, Slavin S. *J Exp Med* 1987; 165: 1468-1480.
24. Bushell A, Pearson TC, Morris PJ, Wood KJ. *Transplantation* 1995; 59: 1367-1371.
25. Starzl TE, Marchioro TL, Waddell WR. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 117: 385-395.
26. Schwartz R, Andre-Schwartz J. *Ann NY Acad Sci* 1966; 129: 804-821.
27. Penn I, Hammond W, Brettschneider L, Starzl TE. *Transplant Proc* 1969; 1: 106-112.
28. Starzl TE, Penn I, Putnam CW, Groth CG, Halgrimson CG. *Transplant Rev* 1971; 7: 112-145.
29. Nalesnik MA, Rao AS, Fung JJ, Klein G, Whiteside TL, Starzl TE. *Lancet* 1996, submitted.
30. Starzl TE, Marchioro TL, Porter KA *et al. Surgery* 1965; 58: 131-155.
31. Kamada N (ed.). En: *Experimental Liver Transplantation*, 1988. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: 6780.
32. Murase N, Demetris AJ, Tsamandas AC, Ye Q, Starzl TE. *Transplantation* 1996; 61: 1126-1131.
33. Calne RY, Sells RA, Pena Jr *et al. Nature* 1969; 223: 472-474.
34. Dahmen U, Qian S, Rao AS *et al. Transplantation* 1994; 58: 1-8.
35. Taniguchi H, Toyoshima T, Fukao K, Nakauchi H. *Nature Medicine* 1996; 2: 198-203.
36. Murase N, Starzl TE, Ye Q *et al. Transplantation* 1996; 61: 1-3.
37. Singer JW, Bursten SL, Rice GC, Gordon WP, Bianco JA. *Exp Opin Invest Drugs* 1994; 3: 631-643.
38. Talmor M, Steinman RM, Codner MA, Chen M, Harper AD. *Immunology* 1995; 86: 448-455.
39. Pearson TC, Alexander DZ, Hendrix R *et al. Transplantation* 1996; 61: 991-1004.
40. Arnold B, Schönrich G, Hämmerling GJ. *Immunol Today* 1993; 14: 12-14.
41. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Thomson AW, Trucco M, Ricordi C. *Immunol Today* 1993; 14: 326-332.
42. Ramos HC, Reyes J, Abu-Elmagd K *et al. Transplantation* 1995; 59: 212-217.
43. Mazariegos GV, Reyes J, Marino IR *et al. Transplantation* 1996: in press.
44. Starzl TE, Demetris AJ, Trucco M *et al. Transplantation* 1993; 55: 1272-1277.
45. Murase N, Demetris AJ, Woo J *et al. Transplantation* 1993; 55: 1-7.
46. Tanabe M, Murase N, Demetris AJ *et al. Transplant Proc* 1994; 26: 3733-3740.
47. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. *New Engl J Med* 1995; 333: 333-336.
48. Steinmuller D. *Science* 1967; 158: 127-129.
49. Hart DNJ, Winearls CG, Fabre JW. *Transplantation* 1980; 30: 73-80.
50. Sriwatanawongsa V, Davies HS, Calne RY. *Nature Medicine* 1995; 1: 428-432.
51. Thai NL, Qian TS, Fu F *et al. Transplant Proc* 1995; 27: 509-510.
52. Sun J, McCaughan GW, Gallagher ND, Sheil AGR, Bishop GA. *Transplantation* 1995; 60: 233-236.
53. Campos L, Posselt AM, Deli BC *et al. Transplantation* 1994; 57: 950-953.
54. Shimizu Y, Goto S, Lord R *et al. Transplant Internat* 1994, in Press.
55. Vriesendorp HM. In: *Bone Marrow Transplantation*, 1985. Van Bekkum DW, Lowenberg B, eds. Marcel Dekker, Inc., New York: 73-145.
56. Gale RP, Reisner Y. *Lancet* 1986; 1: 1468-1470.
57. Plotnicky H, Touraine JL. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 307-314.
58. Burlingham WJ, Grailer AP, Fechner JH *et al. Transplantation* 1995; 59: 1147-1155.
59. Miller RG. *Nature* 1980; 287: 544-546.
60. Inaba K, Steinman RM, Pack MW *et al. J Exp Med* 1992; 175: 1157-1167.
61. Lu L, Rudert WA, Qian S *et al. J Exp Med* 1995; 182: 379-387.
62. Thomson AW, Lu L, Wan Y, Qian S, Larsen CP, Starzl TE. *Transplantation* 1995; 60: 1555-1559.
63. Lu L, Woo J, Rao AS *et al. J Exp Med* 1994; 179: 1823-1834.
64. Lu L, McCaslin D, Starzl TE, Thomson AW. *Transplantation* 1995; 60: 1539-1545.
65. Fu F, Li Y, Qian S *et al. Transplantation* 1996, in press.
66. Nossal GJV, Pike BL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 3844-3847.
67. Nossal GJV. *Ann Rev Immunol* 1983; 1: 33-62.
68. Miller JF, Morahan G. *Ann Rev Immunol* 1992; 10: 51-69.
69. Kobayashi E, Kamada N, Delriviere L *et al. Immunology* 1995; 84: 333-336.
70. Dejbakhsh-Jones S, Jerabek L, Weissman IL, Strober S. *Immunology* 1995; 155: 3338-3344.
71. Starzl TE, Porter KA, Andres G *et al. Clin Exp Immunol* 1970; 6: 803-814.
72. Salvatierra O Jr, Vincenti F, Amend WJ *et al. Ann Surg* 1980; 192: 543-552.
73. Monaco AP, Clark AW, Wood ML, Sahyoun AI, Codish SD, Brown RW. *Surgery* 1976; 79: 384-392.
74. Barber WH, Mankin JA, Laskow DA *et al. Transplantation* 1991; 51: 70-75.
75. Fontes P, Rao A, Demetris AJ *et al. Lancet* 1994; 344: 151-155.
76. Rao AS, Fontes P, Dodson F *et al. Transplant Proc*, in press.
77. Garcia Morales R, Esquenazi V, Zucker K *et al. Transplantation*, in press.
78. Starzl TE, Todo S, Tzakis A *et al. Surg Gynecol Obstet* 1991; 172: 335-344.