

Seminario Inmunidad frente a transplantes - Mecanismos de rechazo

Introducción

Cuando hablamos de transplantes y de los mecanismos involucrados en el rechazo de los mismos, es necesario tener en cuenta que es el propio sistema inmune y sus componentes y elementos efectores el que media este tipo de reacciones. A partir de estudios en cepas de ratones endocriadas (todos los individuos de una cepa poseen idéntico CMH) se ha establecido que los transplantes o injertos se pueden agrupar en 2 grandes categorías:

1. Injertos o transplantes singeneicos,
2. Injertos o transplantes alogeneicos (aloinjertos), e

Los transplantes o injertos singeneicos son realizados entre individuos de la misma especie y de la misma cepa, es decir que comparten sus antígenos de histocompatibilidad. En estos casos no se observa reacción de rechazo en el corto o mediano plazo. En humanos, el transplante singeneico se da en los casos de autotransplante de médula ósea para el tratamiento de diversas afecciones neoplásicas de células hematopoyéticas o en ciertos casos de transplantes entre gemelos univitelinos.

Por otro lado, los transplantes o injertos alogeneicos son realizados entre individuos de la misma especie pero de cepas diferentes, es decir entre individuos que difieren en sus CMH. Esto es lo que causa una reacción de rechazo a tiempos más o menos cortos. Este tipo de transplantes se da en cerca del 100% de los casos de transplantes de órganos y tejidos en seres humanos y son los que desarrollaremos con mayor detalle.

Desde el punto de vista inmunológico, y en base a la práctica habitual en el terreno del transplante de órganos y tejidos en seres humanos, podemos dividir a los transplantes en 2 grandes grupos, cada uno de los cuales presenta desafíos inmunológicos diferentes con el fin de que no se produzcan reacciones adversas en el receptor del transplante. Así, podemos distinguir:

- Transplantes de órganos sólidos vascularizados
- Transplantes de médula ósea

El problema inmunológico que el médico afronta en cada caso es que en un transplante de órganos sólidos vascularizados estamos transplantando células endoteliales y células dendríticas (CDs) que están dentro del órgano transplantado y que son responsables del disparo de fenómenos inmunológicos que en última instancia pueden llevar al rechazo del órgano transplantado. Por otra parte, en el caso del transplante de médula ósea, estamos realizando el transplante de un sistema inmune completo (ya sean componentes maduros o precursores inmaduros tales como células madre) en un individuo que fue inmunosuprimido completamente como régimen de acondicionamiento previo a la infusión de las células de la médula ósea.

En este marco, es habitual que en la clínica, el paciente transplantado presente reacciones de rechazo que el profesional médico deberá ser capaz de identificar y clasificar ya que el grado de rechazo determinará el curso terapéutico a seguir. En general, las reacciones de rechazo se clasifican de acuerdo a criterios internacionales histopatológicos y tiempo de presentación estandarizados. Asimismo, el médico deberá realizar un monitoreo y seguimiento de los pacientes transplantados con el objeto de

identificar en forma temprana cualquier manifestación de rechazo que se pueda presentar y con el objeto de analizar si el órgano transplantado está funcionando apropiadamente en el receptor. Para ello, el médico realizará el monitoreo del paciente empleando parámetros de laboratorio y técnicas preferentemente no invasivas. Por ejemplo, para evaluar la funcionalidad renal se suele hacer un seguimiento del clearance de creatinina, para evaluar el funcionamiento de un trasplante cardíaco o hepático se empleará la detección de enzimas hepáticas o cardíacas, respectivamente, en suero del paciente, etc.

Como se mencionara, la mayor causa de rechazo de los trasplantes se debe a mecanismos inmunológicos efectores puestos en marcha en el receptor del trasplante. En todos los casos, estos mecanismos efectores involucran la maduración de CD₄ y CD₈, la activación de linfocitos T CD₄ y CD₈, y la producción de Ac dirigidos contra las moléculas del CMH (de clase I y de clase II) del donante (estos Ac, por estar dirigidos contra las moléculas del CMH alogeneicas, se denominan aloanticuerpos). De acuerdo al tipo de trasplante, podemos encontrarnos con diferentes reacciones de rechazo:

En el caso del trasplante de órganos sólidos vascularizados distinguimos el rechazo hiperagudo, el rechazo agudo y el rechazo crónico.

En el caso del trasplante de médula ósea, el rechazo se denomina enfermedad de injerto contra huésped (GVHD de sus siglas en inglés), la que puede ser aguda o crónica. Debido a que las células que responden son las del injerto contra el huésped, este tipo de rechazo resulta fatal para el paciente si no se lo trata con regímenes especiales con drogas inmunosupresoras.

Trasplante de órganos sólidos vascularizados

Como mencionamos anteriormente, en el trasplante de órganos sólidos vascularizados se realiza un trasplante de un órgano entero que además del parénquima contiene vasos sanguíneos y CD₄. En estos vasos hay células endoteliales, que son el primer punto de contacto con el sistema inmune del receptor. Por otra parte, en esos vasos y en el parénquima del órgano existen células dendríticas del donante, las cuales por activación disparada por estímulos que discutiremos más adelante, migrarán hacia los órganos linfoides secundarios del receptor. Estas dos poblaciones celulares (células endoteliales y CD₄) son de importancia fundamental para el desarrollo de una respuesta inmune de rechazo del trasplante, la que puede llevar a la pérdida de funcionalidad del órgano transplantado y a la necesidad de un nuevo trasplante para el paciente.

Años de experiencia acumulada en la clínica en el terreno del trasplante de órganos sólidos vascularizados han permitido identificar 2 grandes factores como responsables del rechazo. El primer factor a considerar es la compatibilidad en las moléculas del CMH, es decir, cuán idénticos con los alelos del CMH del donante y del receptor. Estudios retrospectivos han permitido establecer que cuanto mayor es la discrepancia (*mismatch*) en el número de alelos del CMH entre donante y receptor, menor es la chance de sobrevida del trasplante. Esto pone de manifiesto que para que un paciente que requiere de un trasplante tenga buenas chances de aceptar el órgano transplantado, es necesario realizar estudios de histocompatibilidad (tipificación de moléculas o alelos del HLA) confiables y de alta calidad.

Mecanismos efectores del rechazo de órganos sólidos vascularizados

Antes de describir los elementos efectores involucrados en el rechazo, es necesario destacar que la mera existencia de una reacción de rechazo no necesariamente implica el rechazo o pérdida de funcionalidad del órgano transplantado. En muchos casos, el paciente se recupera incrementando las dosis de drogas inmunosupresoras con el objeto de controlar la reacción de rechazo y lograr que el órgano recobre su funcionalidad (transitoriamente afectada por dicha reacción de rechazo).

Los mecanismos efectores de una reacción de rechazo son múltiples y son en realidad los mismos mecanismos efectores de una respuesta inmune convencional contra diferentes agentes infecciosos. La diferencia es la manera en que se produce la activación de estas células, los antígenos reconocidos y las consecuencias de dicha respuesta inmune.

Para comprender mejor este aspecto, vamos a describir los diferentes tipos de rechazo observado en la clínica y los mecanismos efectores involucrados:

El rechazo hiperagudo está mediado siempre por Ac preformados presentes en el receptor del trasplante y que están dirigidos contra los antígenos de grupo sanguíneo ABO o contra las moléculas del CMH alogeneicas del donante. Este tipo de rechazo se produce cuando el cirujano realiza la anastomosis del órgano transplantado y se alcanza la reperusión del órgano dentro del receptor. El ingreso de sangre del receptor (que posee tales Ac preformados) hace que las células endoteliales de los vasos sanguíneos del órgano del donante sean un blanco inmediato para la unión de tales aloanticuerpos a las moléculas de superficie de las células endoteliales. Esto activa mecanismos efectores tempranos tales como la activación del complemento y, si el proceso se mantiene en el tiempo, la CCDA mediada por neutrófilos. Debido a la naturaleza tan intensa del estímulo, las proteínas regulatorias del complemento que controlan la activación sobre células propias no son suficientes para evitar la lisis celular. El rechazo hiperagudo se presenta muy rápidamente, existiendo casos reportados de rechazo hiperagudo producido aún antes de que el paciente salga del quirófano. En general, se considera rechazo hiperagudo a aquel que se produce dentro de la primera semana post-trasplante. El fenómeno, como se mencionara, es exclusivamente mediado por aloanticuerpos preformados y no involucra reacciones mediadas por linfocitos T efectores. Como tal, no es tratable con ninguna clase de drogas inmunosupresoras pero puede evitarse realizando estudios de laboratorio previos al trasplante que determinan la presencia de aloanticuerpos contra el CMH del donante en el suero del receptor (*cross-match* final contra dador, ver más abajo). Asimismo, es un fenómeno que no se acompaña por infiltrado celular. Los órganos particularmente sensibles a este tipo de rechazo son riñón y corazón, aunque no se sabe por qué razón. Una cuestión importante es cómo se generan esos aloanticuerpos en el receptor (es decir, cómo se inmuniza el receptor). Entre los mecanismos de inmunización de pacientes que pueden llevar a la síntesis de dichos aloanticuerpos, debemos mencionar las transfusiones sanguíneas múltiples, los embarazos múltiples y los trasplantes previos.

El rechazo agudo está mediado por linfocitos T específicos contra moléculas del CMH del donante (CD4 y CD8), macrófagos, células NK, citoquinas y, en algunos casos, aloanticuerpos. En general, el rechazo agudo se presenta entre 1 semana post-trasplante y hasta 3 meses post-trasplante. Es un fenómeno netamente celular que se inicia como una endotelitis debido a la reacción inflamatoria localizada en el endotelio del órgano transplantado y se extiende con una destrucción de las células del parénquima del órgano. Desde el punto de vista histopatológico, va acompañado de infiltrados celulares (linfocitos, macrófagos) en el tejido del órgano transplantado.

El rechazo crónico, en semejanza con el rechazo agudo, también está mediado por linfocitos TCD4 y CD8, macrófagos, células NK, citoquinas y aloanticuerpos. Se considera rechazo crónico a aquel que se presenta luego de los 3 meses post-transplante. En este caso, también se puede observar endotelitis por la reacción inflamatoria local en el endotelio, destrucción de las células del parénquima del órgano pero en general, también se observa una trombosis debido a engrosamiento de la capa muscular lisa de los vasos sanguíneos del órgano afectado. Este engrosamiento se produce debido a la hiperproliferación de las células de la musculatura lisa de estos vasos, causada por la estimulación crónica de los macrófagos del tejido, que liberan factores tróficos para las células musculares mencionadas. Con el tiempo, este tejido es reemplazado por tejido fibroso, lo que contribuye a la pérdida de funcionalidad del órgano. Por lo tanto, el rechazo crónico sería el resultado de la conjunción de daños vasculares y una respuesta inmune específica. Al igual que en el caso anterior, el rechazo crónico va acompañado de infiltrados celulares (linfocitos, macrófagos) en el parénquima del órgano transplantado. Entre los factores predisponentes se destaca la isquemia sufrida por el órgano desde su ablación hasta su implante (ver más abajo), el número de eventos de rechazo agudo sufridos durante las primeras semanas post-transplante y todo tipo de daños tempranos al órgano.

Mecanismos inmunológicos de iniciación y efectores de las reacciones de rechazo

Como se mencionara más arriba, cuando se efectúa un transplante de órganos sólidos vascularizados, se están transplantando simultáneamente CDs residentes en el órgano, las que, por estímulos que discutiremos más adelante, madurarán y migrarán desde el órgano hacia los órganos linfoides secundarios del receptor, donde darán comienzo a una respuesta inmune alogeneica y permitirán la generación de elementos efectores de la respuesta inmune que lleva al rechazo. Simultáneamente, con el correr del tiempo, el órgano será a su vez, repoblado con nuevas CDs provenientes del receptor.

El encuentro en los órganos linfoides secundarios entre las CDs del donante y los linfocitos T del receptor permite que el TCR de estos linfocitos T reconozca con suficiente afinidad a los péptidos propios presentados por las moléculas de clase I y clase II del CMH del donante. Este reconocimiento se denomina “alorreconocimiento” o “reconocimiento alogeneico” y, desde el punto de vista estructural, se debe a que existe complementaridad estructural (“encaje”) suficiente como para desencadenar señales de activación en el linfocito T debido a que el TCR reconoce no sólo al péptido presentado por la molécula del CMH sino que simultáneamente reconoce a grandes porciones de la molécula del CMH. En otras palabras, con que un determinado TCR encuentre algún complejo péptido-CMH con el cual pueda interactuar con suficiente afinidad, el linfocito T que expresa dicho TCR recibirá la señal 1 necesaria para la activación. Las funciones efectoras desencadenadas dependerán si el linfocito T es CD4 o CD8 pero en líneas generales comprenden la proliferación celular, la citotoxicidad y la producción de citoquinas por parte de las células T activadas. Esto constituye la base de la respuesta alogeneica, la que se caracteriza por su alta intensidad y por la alta frecuencia de células T respondedoras. Esta alta frecuencia de células respondedoras (1/500 comparado con 1/100.000 a 1/1.000.000 de células T Ag-específicas) es producto de la manera en que pueden ser reconocidos los diferentes complejo péptido-CMH presentes en la superficie de las células del aloinjerto.

Como mencionamos, cuando las CDs del donante reciben (durante el procedimiento de transplante) estímulos de maduración que las hacen migrar hacia los órganos linfoides secundarios del receptor. Allí se producirá su primer encuentro con los linfocitos T del receptor. Éstos, a través del

fenómeno de alorreconocimiento mencionado en el párrafo anterior, recibirán un estímulo de activación ya que recibirán las señales 1 y 2 respectivas. Este reconocimiento se conoce como la **vía directa de activación linfocitaria**. Esto permite la generación de clones de linfocitos T CD4 colaboradores y CD8 citotóxicos específicos para péptidos presentados por moléculas del CMH del donante (es decir, expresadas en el órgano transplantado). Estos linfocitos T efectores migrarán al órgano transplantado y desarrollarán sus funciones efectoras: los linfocitos T CD4 contribuirán a generar una respuesta pro-inflamatoria que promueve el reclutamiento y activación de macrófagos, y los linfocitos T CD8 desarrollarán funciones citotóxicas contra células endoteliales y del parénquima del órgano transplantado. En su conjunto, estos fenómenos llevan a la destrucción tisular y pérdida de funcionalidad del órgano, lo que se manifiesta clínicamente y se clasifica como rechazo. Debido a que los órganos transplantados tienen un número finito de CDs del donante, la vía directa de activación linfocitaria es de mayor importancia en el rechazo agudo del órgano transplantado.

Asimismo, a medida que el tiempo transcurre, el órgano transplantado es repoblado por nuevas CDs pero del receptor. Estas CDs se encontrarán con nuevos estímulos de maduración que surgen de las reacciones inflamatorias locales producidas como consecuencia de la respuesta inmune alogeneica generada por la vía directa de activación linfocitaria. Los restos de células del órgano transplantado (Ag del donante) serán fagocitados por estas CDs del receptor, destacándose entre ellos los antígenos polimórficos tales como las moléculas alogeneicas del CMH del donante que no están presentes en el receptor y por lo tanto son Ag a los que el receptor nunca antes estuvo expuesto, contra los cuales no existe tolerancia y contra los cuales se monta esta respuesta principalmente. Estas CDs, una vez que hayan madurado, llegarán a los órganos linfoides secundarios del receptor como CDs del receptor maduras que presentan péptidos derivados de proteínas del donante. Esto permite el reconocimiento de estos péptidos por el TCR de linfocitos T CD4 y CD8, y la consiguiente activación de diversos clones de linfocitos T. Este reconocimiento se conoce como la **vía indirecta de activación linfocitaria**. Nuevamente, este circuito permite la generación, principalmente, de clones de linfocitos T CD4 colaboradores específicos para péptidos del donante presentados por moléculas del CMH del receptor (es decir, expresadas en CDs y macrófagos del receptor que ahora anidaron en el órgano transplantado). Estos linfocitos T efectores desarrollarán funciones efectoras, colaborando con los macrófagos y CDs para generar una respuesta pro-inflamatoria que desemboca en el daño al órgano. Asimismo, la estimulación crónica promueve el reclutamiento y activación de macrófagos, los que además comienzan a secretar factores tróficos para las células de la capa muscular de los vasos sanguíneos del órgano transplantado, promoviendo su engrosamiento. Como en el caso anterior, estos fenómenos llevan a la destrucción tisular y pérdida de funcionalidad del órgano, lo que se manifiesta clínicamente y se clasifica como rechazo. Debido a que se requiere de un cierto tiempo para que los órganos transplantados sean repoblados con un número suficientemente alto de CDs del receptor como para permitir que esta reacción se desarrolle, la vía indirecta de activación linfocitaria es de mayor importancia en el rechazo crónico del órgano transplantado. Asimismo, la vía indirecta permite la generación de células T CD4 colaboradoras para la activación de linfocitos B que se diferencian a plasmocitos secretores de aloanticuerpos. Vale la pena mencionar que la vía indirecta es la vía de activación T normal frente a cualquier Ag extraño, mientras que la vía directa es un proceso que sólo se da en transplantes pero no en la respuesta inmune contra agentes infecciosos.

Rol de la isquemia/reperfusión en el rechazo del trasplante

Como mencionamos, entre los múltiples componentes que un receptor recibe del donante, se destacan las células endoteliales de los vasos sanguíneos del órgano transplantado. Y destacamos el rol crítico de la histocompatibilidad en la aceptación o rechazo del trasplante. Sin embargo, existe otro factor de importancia crucial en las chances de sobrevida del órgano transplantado en el receptor. Esto surge de evidencias experimentales que muestran que la sobrevida de órganos transplantados es peor si el tiempo de isquemia es mayor. El tiempo de isquemia es el tiempo que transcurre entre la ablación del órgano hasta su reperfusión en el receptor. Estudios en animales de laboratorio y en pacientes humanos han permitido establecer que la isquemia/reperfusión es un fenómeno que induce la activación del endotelio del órgano transplantado por estímulos de hipoxia. Como consecuencia de la hipoxia, se promueve una fuerte activación del endotelio, con secreción de quimoquinas, citoquinas pro-inflamatorias y expresión de moléculas de adhesión. Este conjunto de moléculas facilita la activación de una respuesta inmune innata y adaptativa, el reclutamiento celular y la inflamación en el órgano transplantado, lo que facilita el rechazo del mismo.

Inmunogenicidad de diferentes órganos

En la actualidad se realizan diferentes tipos de trasplantes de órganos sólidos vascularizados, con diferentes tasas de éxito que dependen en gran medida de la susceptibilidad de cada órgano a los mecanismos efectores de la respuesta alogeneica. De este modo, se ha establecido que es más crítico seleccionar pares donante-receptor histoidénticos para el trasplante de médula ósea que para el trasplante de piel que para el trasplante de intestino que para el trasplante de islotes de Langerhans que para el trasplante de riñón que para el trasplante de corazón que para el trasplante de hígado. En otras palabras, el hígado es más permisivo a discrepancias en el HLA que otros órganos. Se ha especulado que esto tendría que ver con la capacidad de depurar los elementos efectores de la respuesta alogeneica de cada órgano.

Trasplante de médula ósea

Como se mencionara, en el caso del trasplante de médula ósea, se realiza un trasplante de células de un sistema inmune completo (ya sean componentes maduros o precursores inmaduros tales como células madre) en un individuo que fue inmunosuprimido completamente como régimen de acondicionamiento previo a la infusión de las células de la médula ósea. En líneas generales, los objetivos del trasplante de médula ósea son proveer reemplazo de células madre, permitir el uso de dosis de quimio- y radioterapia mieloablativas en enfermedades malignas y generar efecto anti-leucemia (ver más abajo). En la actualidad, el trasplante de médula ósea se aplica en diferentes patologías y con diferentes objetivos. Se aplica en enfermedades hematológicas malignas (tales como leucemias linfoblástica y mieloblástica agudas, leucemia mieloide crónica, etc), síndromes linfoproliferativos (tales como la enfermedad de Hodgkin's, el linfoma no-Hodgkin's y el mieloma múltiple), enfermedades hematológicas (tales como anemia aplásica, anemia de Fanconi, hemoglobinopatías, anemia falciforme, talasemias, etc), tumores sólidos (tales como neuroblastoma, carcinoma ovárico, carcinoma de mama, seminoma, melanoma maligno, etc), enfermedades monogénicas (tales como la enfermedad de Gaucher y la enfermedad de depósito de glicógeno tipo II), y

en inmunodeficiencias congénitas (tales como la inmunodeficiencia severa combinada, el síndrome de Wiskott-Aldrich, etc).

El efecto injerto versus leucemia (GVL)

Muchas de las indicaciones para la realización de un trasplante de médula ósea se deben a enfermedades malignas, en particular, leucemias. Se ha observado que los linfocitos T del donante de médula no sólo son células efectoras de la GVHD sino que tienen también dos funciones que contribuyen al éxito del trasplante. Por un lado, favorecen el “prendimiento” (*engraftment*) de la médula transplantada probablemente a través de la secreción de factores tróficos (citoquinas) cuando se activan en respuesta a aloantígenos del receptor. De hecho, la depleción de linfocitos T maduros de la médula antes de la realización del trasplante ha demostrado que se produce un mayor porcentaje de fallas en el *engraftment* que cuando no se depletan linfocitos T maduros. El otro efecto positivo que ejercen los linfocitos T maduros de la médula ósea del donante se denomina **efecto injerto versus leucemia (GVL)**. Este efecto consiste en que los linfocitos T maduros presentes en la médula transplantada en muchos casos se activan contra células leucémicas remanentes del receptor (células leucémicas que han sobrevivido al tratamiento mieloablativo al que se somete al receptor antes del trasplante. De esta manera, estos linfocitos T ejercen una vigilancia inmunológica contra la aparición de recidivas de la leucemia y, por ejemplo, la depleción de linfocitos T maduros de la médula del donante antes del trasplante resulta en un mayor riesgo de recidivas respecto de casos en los que no se depletan tales linfocitos T maduros. En la actualidad, los antígenos reconocidos por los linfocitos T que median el efecto GVL no son conocidos pero se sabe que algunos son diferentes a los antígenos reconocidos por los linfocitos T que median la GVHD por lo que existe gran interés en poder identificarlos con el objeto de realizar trasplantes de médula ósea que induzcan un buen efecto GVL sin inducir la GVHD.

Mecanismos efectores del rechazo de órganos sólidos vascularizados

Antes de describir los mecanismos inmunológicos involucrados en la GVHD, es necesario mencionar que los órganos y tejidos blanco en los que se manifiesta y a los que el médico prestará particular atención con piel, hígado y tracto gastrointestinal. Aunque la GVHD se clasifica en aguda y crónica, en ambos casos los mecanismos inmunológicos efectores comprenden la activación de linfocitos T CD8 citotóxicos y células NK de la médula ósea del donante, y la producción de citoquinas pro-inflamatorias. Desde el punto de vista de la histopatología, se observan infiltrados linfocitarios en los tejidos afectados.

Se considera una GVHD aguda cuando el cuadro clínico se presenta antes del día 100 post-trasplante de médula ósea, y esta GVHD aguda se caracteriza por la presencia de inflamación sistémica mediada por citoquinas proinflamatorias y la aparición de alguno de los siguientes síntomas: rash (cuando afecta a piel), colestasis (cuando afecta al hígado) y diarrea (cuando afecta al tracto gastrointestinal). Por otra parte, la GVHD es crónica si el cuadro clínico aparece más allá del día 100 post-trasplante de médula ósea. En este caso, la sintomatología puede ser limitada a piel o sistémica, observándose esclerodema (cuando afecta a piel), bronquiolitis obliterativa (cuando afecta al pulmón), colestasis (cuando afecta al hígado), Lichen planus (cuando afecta a mucosas) y manifestaciones en articulaciones. Tanto para la GVHD aguda como crónica, la reacción de GVH puede tener diferente intensidad, y de acuerdo a ésta se clasifica en tipo I a IV, siendo la tipo I la más leve.

Una característica particular de la GVHD es que no se producen aloanticuerpos contra moléculas alogeneicas del receptor del trasplante de médula, y todos los eventos son exclusivamente mediados por la inmunidad celular.

Mecanismos inmunológicos de iniciación y efectores de las reacciones de rechazo

Podrá parecer paradójico que la realización de un trasplante de médula no genere células maduras del sistema inmune (en particular, linfocitos T) en un individuo que posee un timo funcional y por el cual, deberán pasar los precursores de los linfocitos T transplantados. Pero para entender por qué se presenta la GVHD, veamos qué pasa cuando se transplanta médula ósea completa y qué sucede cuando se transplanta médula ósea deplecionada de células T maduras.

Cuando se transplanta médula ósea completa, los linfocitos T maduros presentes en la médula ósea del donante pueden reconocer a las células del huésped como extrañas, activarse por la vía directa de alorreconocimiento y generar células T efectoras (CD4 y CD8) secretoras de citoquinas pro-inflamatorias y citotóxicas contra células del huésped, produciendo la GVHD. Asimismo, también se podrán activar contra células leucémicas remanentes que sobrevivieron al condicionamiento del receptor y mediar el tan deseado efecto GVL. Simultáneamente, las células madre presentes en la médula del donante (ya sea luego de un trasplante de médula ósea completa o del trasplante de médula ósea deplecionada de linfocitos T maduros) madurarán en los órganos linfoides primarios del receptor y generarán una estirpe de células T y B maduras. Como tal, los precursores de los linfocitos T pasarán por las etapas de selección positiva y negativa en el timo del receptor. Luego de estos eventos, aquellas células T maduras que fueron seleccionadas negativamente por células epiteliales del timo (que son del receptor) serán tolerantes contra los aloantígenos del receptor y no representan ningún problema para el paciente. Sin embargo, aquellas células T maduras que fueron seleccionadas negativamente por células dendríticas del timo (que son de origen hematopoyético y por lo tanto, serán del mismo haplotipo HLA que el donante de la médula) serán tolerantes contra el haplotipo del donante pero no contra el haplotipo (antígenos HLA) del receptor. Por lo tanto, estas células T, a pesar de provenir de progenitores inmaduros que hicieron su ontogenia en el receptor, no son tolerantes contra los antígenos HLA del receptor y podrán activarse por la vía directa de alorreconocimiento, generando células T efectoras (CD4 y CD8) secretoras de citoquinas proinflamatorias y citotóxicas contra células del huésped, produciendo la GVHD. Asimismo, también se podrán activar contra células leucémicas remanentes que sobrevivieron al condicionamiento del receptor y mediar el tan deseado efecto GVL.

Tratamiento del paciente transplantado:

Todo paciente transplantado es sometido a tratamientos inmunosupresores que lo exponen a una mayor vulnerabilidad a infectarse con diferentes patógenos. No es objetivo de este seminario detallar las drogas inmunosupresoras y los regímenes de administración. Sólo mencionaremos las más difundidas, entre las que se destacan los corticosteroides, los inhibidores de calcineurina tales como la Ciclosporina A y el FK506 (Tacrolimus), los inhibidores de otras vías de señalización linfocitaria tales como la rapamicina (Sirolimus), los inhibidores de biosíntesis de purinas tales como el micofenolato mofetil, y el suero antilinfocitario (ALS) o el anticuerpo monoclonal humanizado OKT3. Los problemas asociados a estos tratamientos son a inmunosupresión generalizada, la alta incidencia de recidivas y aparición de enfermedades malignas (debido al efecto negativo de los inmunosupresores sobre las células del sistema inmune que ejercen la inmunovigilancia contra tumores) y, en muchos casos, no se

conocen efectos de las drogas sobre rechazo crónico a largo plazo (por ejemplo, la Ciclosporina A ha mostrado tener cierta toxicidad sobre el riñón a largo plazo). Estos problemas hacen que la búsqueda de nuevas estrategias de inducción de tolerancia específica contra los antígenos del HLA del órgano transplantado (en el caso del trasplante de órganos sólidos vascularizados) o contra los antígenos del HLA del receptor del trasplante (en el caso del trasplante de médula ósea) siga siendo la meta final en las investigaciones en este campo. En la actualidad, nos conformamos con realizar tipificaciones de alelos del HLA de buena calidad para seleccionar pares donante-receptor con el menor número de disparidades posibles y además, se trata de reducir el tiempo de isquemia realizando operativos de trasplante eficientes (para el caso del trasplante de órganos sólidos vascularizados).

El laboratorio y la inmunología de trasplantes

En el laboratorio, nosotros podemos inducir la activación de células T alogeneicas efectuando un cultivo denominado cultivo mixto linocitario (CML). Además podemos cuantificar dicha activación, midiendo determinados parámetros indicativos de activación celular. Para lograr la activación sólo basta con realizar un co-cultivo entre células mononucleares de sangre periférica (en las que hay linfocitos) del donante y del receptor. En este caso, cada una de las poblaciones responderá contra la otra y se producirá una activación bidireccional. Mediante el pretratamiento de una de las poblaciones linfocitarias con inhibidores de la mitosis (por ej, mitomicina) o irradiación es posible lograr que sólo la otra población linfocitaria responda, por lo que el cultivo mixto se denomina en este caso unidireccional. La población linfocitaria que prolifera es la población respondedora, mientras que la población inhibida de proliferar es la población estimuladora.

Para cuantificar la proliferación celular se cuantifica la incorporación de timidina tritiada al ADN celular. Sin embargo, existen otros métodos de cuantificación de activación linfocitaria, tales como la medición de la producción de citoquinas por parte de las células respondedoras (ya sea por ELISA en el sobrenadante de cultivo, por RT-PCR o por citometría de flujo para antígenos intracitoplasmáticos). Un tercer método que permite evidenciar la activación celular es la citometría de flujo para marcadores de activación celular tales como CD69. Debido a que durante un CML también se activan células T CD8 y se diferencian a células CD8 citotóxicas, también es posible evaluar la citotoxicidad desarrollada empleando métodos estándar de liberación de ^{51}Cr de células marcadas susceptibles a la lisis por las células T CD8 citotóxicas.