



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES
"CUAUTITLAN"**

**"SUERO ANTILINFOCITICO"
(REVISION BIBLIOGRAFICA)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :

MARTHA MARTINEZ SALAZAR

DIRECTOR DE TESIS: M.C. LUIS ANGEL TERAN ORTIZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE	HOJA
1.- INTRODUCCION	1
2.- OBJETIVOS	6
3.- ANTECEDENTES	7
4.- TRANSPLANTE	32
5.- AGENTES INMUNOSUPRESORES	37
6.- INMUNOSUPRESION BIOLOGICA	42
7.- PREPARACION DE SUERO ANTILINFOCITICO	44
8.- MECANISMO DE ACCION DEL SAL	48
9.- ACTIVIDAD DEL SAL	53
10.- USOS CLINICOS DEL SAL	61
11.- ANTICUERPOS MONOCLONALES	84
12.- CONCLUSIONES	87
13.- GLOSARIO	90
14.- BIBLIOGRAFIA	93

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1	14
FIGURA 2	15
FIGURA 3	16
FIGURA 4	20
FIGURA 5	22
FIGURA 6	26
FIGURA 7	29
FIGURA 8	31
FIGURA 9	48
TABLA 1	33

I.- INTRODUCCION

El suero antilinfocítico es un suero heterólogo preparado inmunizando un animal contra las células linfoides de un animal de otra especie. (20)

Fue a finales del siglo pasado cuando se concibió por primera vez la idea de elaborar anticuerpos heterólogos de uso terapéutico para atacar células humanas. Después del descubrimiento del fenómeno de fagocitosis en el Instituto Pasteur, en 1898 - 1899 Elie Metchnikoff preparó el primer suero antileucocitos inoculando extractos de células de nódulos linfáticos y bazo de rata y conejo en cobayos (20,25). Metchnikoff observó que el antisuero de cobayos aglutinaba y mataba leucocitos polimorfonucleares de las especies que habían servido como donadores de células originales. También demostró que la propiedad citotóxica de dicho suero era termolábil (56 C, 30 min). (19,37)

Posteriormente A. Besredka alumno de Metchnikoff continuó las observaciones demostrando el potencial hemolítico y altamente tóxico de muchos sueros preparados mediante la inoculación repetida de leucocitos entre diferentes especies. (45)

Christian y Leen prepararon antisuero de conejo contra células de nódulos linfáticos y de bazo de rata; la toxicidad de dicho suero la determinaron mediante el movimiento amibodeo celular. También encontraron que la inmunización de conejos con tejido cardíaco, renal o hepático de rata producía suero conteniendo leucocitotoxinas. (45)

Pappenheimer inoculó conejos intravenosamente con

suspensiones de células de timo de rata y linfocitos de amígdalas humanas y produjo antisuero que contenía anticuerpos citotóxicos y aglutinantes para los linfocitos del donador. Asimismo encontró que la propiedad citotóxica del suero antilinfocítico "in vitro" era inactivada mediante calentamiento (58 C durante 30 min) mientras que su capacidad aglutinante no se alteraba. (45)

Simon Flexner examinó los cambios patológicos en las estructuras linfoides de animales que habían recibido inoculaciones múltiples de suero antilinfocítico y observó hipoplasia de células linfoides y algunas células muertas en los centros germinales de nódulos linfáticos de animales tratados con suero de conejo anti-cobayo. (45)

En la misma época Bunting inoculó conejo con un suero preparado en gansos y observó una linfopenia de 1-2 días de duración en los animales inoculados. (45)

En 1937 Chew y Lawrence mediante una serie de experimentos bien planeados con suero de conejo anti-células de nódulos linfáticos de cobayo, absorbido para eliminar anticuerpos Forssman y anticuerpos anti-eritrocitos; demostraron que la linfopenia podía prolongarse durante casi dos semanas mediante la inoculación repetida de suero. (45)

Cruickshank también provocó linfopenia en algunas ratas con suero antilinfocítico y observó que el complemento era utilizado durante la incubación de linfocitos de rata con dicho suero. (45)

Los experimentos de Steinberg y Martin fueron también importantes ya que con ellos demostraron que el suero antilinfocítico podía tener no solamente una cierta especificidad para células linfoides como granulocitos, sino que este suero

podía detectar diferencias entre distintos tipos morfológicos de células mononucleares. (45)

La importancia inmunológica de estos estudios no se percibió sino hasta 1955 aproximadamente cuando se demostró que los linfocitos estaban involucrados en la respuesta inmune y que la aceptación de un injerto en el hombre requería la supresión de esta respuesta. (20,37)

La primera demostración de alteración de la respuesta inmune "in vivo" mediante suero antilinfocítico fue probablemente la de Interbitzen mientras trabajaba en el laboratorio de John Humphey; con experimentos demostró que las reacciones de hipersensibilidad tardía en cobayos eran claramente suprimidas mediante la administración de suero antilinfocítico (45). Estos hallazgos fueron confirmados por Waksman y col, en las mismas especies incluyendo evidencias de la prolongación en la sobrevida de aloinjertos de piel. (37,45)

En 1951 Woodruff fue el primero en establecer que el suero antilinfocítico podía influir el proceso de rechazo a aloinjertos. Sus primeros intentos fueron desafortunados aparentemente aunque después, junto con Anderson pudieron prolongar el rechazo a aloinjertos en ratas utilizando suero antilinfocítico y observaron que el antecedente de una fistula en el ducto torácico potenciaba la efectividad del suero antilinfocítico. (45)

Posteriormente, Mónaco y col. mostraron la eficacia del SAL (suero antilinfocítico) bajo condiciones genéticas cuidadosamente controladas en la prolongación de aloinjertos de piel en ratones

a través del locus H-2. Comprobaron la efectividad del SAL a través de barreras xenogénicas (entre diferentes especies), encontraron que el SAL prolongaba la respuesta secundaria de aloinjertos y xenoinjertos. En ensayos posteriores demostraron la eficacia de un SAL de caballo anti-perro en la prolongación de sobrevida de aloinjertos renales caninos. (37)

Mónaco y col. proporcionaron también la primera demostración del efecto inmunosupresor del SAL en el hombre. El suero de conejo antihumano para nódulos linfáticos purificado hasta la fracción gammaglobulina 7S, prolongó los aloinjertos de piel en seres humanos elegidos al azar y anuló las reacciones de sensibilidad tardías positivas que existían en un pequeño grupo de seres humanos voluntarios. (37)

La aplicación clínica de suero antilinfocítico heterólogo, o gammaglobulina antilinfocítica (GAL) se ha incrementado rápidamente desde 1967, cuando Starzl y sus col. iniciaron su utilización para transplantes renales y hepáticos humanos. (37,55)

Desde entonces el SAL o GAL se ha empleado en el transplante clínico. (54)

En 1969 se probó por primera vez el SAL producido por Upjohn para evaluar su seguridad y tolerancia en estudios piloto en pacientes que habían recibido transplante renal. (55)

Estos protocolos inducirían después a estudios prospectivos controlados de dicho agente inmunosupresor en pacientes que sufren de transplante renal, de corazón, de pulmón e hígado y también en transplante de piel en pacientes con quemaduras graves. (57)

En la década de los setentas los protocolos con SAL se incrementaron enormemente. (55)

En años posteriores además de aplicarse este inmunosupresor biológico a los trasplantes clínicos su uso se ha extendido como probable tratamiento en padecimientos como la anemia aplásica. (31,36)

En los últimos años las evidencias de la efectividad del SAL en el trasplante clínico llevó a la elaboración de anticuerpos monoclonales con el fin de obtener mejores resultados terapéuticos. (12,62)

2.- OBJETIVOS .

Dentro de la gran gama de inmunosupresores que se han producido como instrumentos terapéuticos auxiliares en el trasplante de órganos, fundamentalmente en trasplantes renales, destaca en forma extraordinaria un inmunosupresor de tipo biológico, el suero antilinfocítico "SAL", el cual no obstante haberse producido desde la década de los sesentas sigue siendo objeto de discusión por parte de diversos grupos de investigadores que han experimentado con dicho antisuero.

En el presente trabajo se pretende hacer una revisión bibliográfica lo mejor documentada posible de uno de los inmunosupresores más controvertidos que se hayan elaborado en las últimas décadas, el SAL.

La finalidad de este trabajo va encaminada a:

- 1.- Proporcionar suficientes elementos de juicio, útiles en la valoración del SAL, dando a conocer tanto las ventajas como las desventajas que su uso clínico "in vivo" implica.
- 2.- Plantear las condiciones óptimas de su obtención, purificación, valoración y empleo en trasplantes de órganos en seres humanos.
- 3.- Intenta asimismo servir como fuente de información en posibles trabajos experimentales sobre producción de sueros antilinfocíticos con aplicaciones clínicas, en trasplantes de órganos o como tratamiento terapéutico de aplasias medulares.

3.- ANTECEDENTES.

BASES CELULARES DE LA INMUNIDAD.

Los componentes genético, celular y molecular del sistema inmune están combinados en una exquisita y compleja red de comunicaciones. (50)

El control regulador de los mecanismos inmunes es una función de sus interacciones. (50)

El sistema inmune de vertebrados consta de numerosos órganos y de muy diferentes tipos celulares, los cuales se han desarrollado para reconocer adecuada y específicamente antígenos ajenos y eliminarlos. (44)

Los fagocitos son una defensa importante en todos los animales incluyendo los vertebrados. La clave del desarrollo que ha ocurrido en el sistema inmune de vertebrados es la evolución de las células y órganos linfoides. La función de las células linfoides produce el alto grado de especificidad implicado en el reconocimiento de antígenos ajenos mediante el sistema inmune de los vertebrados. (44)

Existen dos clases distintas de linfocitos los cuales desempeñan diferentes funciones; las células T y las células B, las cuales están equipadas con receptores de superficie para antígenos. Existe una tercera clase de población celular la cual no posee estos receptores convencionales. Las células T se desarrollan en el timo mientras que las células B se diferencian en el hígado fetal y en los mamíferos, en la médula ósea de adultos. En las aves, las células B se diferencian en un órgano que se encuentra solamente en ésta especie "bolsa de Fabricio".

Estos son los órganos linfoides primarios donde los precursores de linfocitos maduros adquieren la capacidad de reconocer antígenos a través de receptores de superficie. La tercera población de linfocitos también denominada células no T, no B, o "células nulas", probablemente se desarrolla en la médula ósea pero su secuencia de diferenciación es aún incierta. Esta población contiene linfocitos citotóxicos. (44)

Los fagocitos son también de dos clases básicas: monocitos y granulocitos polimorfonucleares (PMN). Los últimos pueden ser neutrófilos, basófilos o eosinófilos dependiendo de la coloración diferencial de sus gránulos. Además hay numerosas células auxiliares las cuales incluyen:

- 1.- Una variedad de células especializadas para presentar antígenos a las células T y células B, denominadas células presentadoras de antígenos (APCs).
- 2.- Plaquetas, las cuales intervienen en la coagulación sanguínea y en la inflamación.
- 3.- Células mastoideas, que son similares estructural y funcionalmente a los basófilos polimorfonucleares. (44)

CELULAS LINFOIDES.

Los linfocitos se producen en los órganos linfoides primarios o centrales (timo y médula ósea). Algunas de estas células migran a través de la circulación a los denominados órganos linfoides secundarios tales como: bazo, nódulos linfáticos, amígdalas y tejidos linfoides no encapsulados. Las células linfoides representan aproximadamente 20 % del total de

los leucocitos presentes en la circulación del adulto (la mayoría de los leucocitos son polimorfonucleares). Muchas células linfoides maduras son de vida larga y pueden persistir como células de memoria por varios años. (44)

Se pueden distinguir dos tipos distintos de células linfoides en reposo en la circulación mediante microscopía óptica empleando un colorante hematológico como el Giemsa ; los linfocitos pequeños típicos son agranulares y poseen una elevada relación núcleo - citoplasma y los linfocitos con una baja relación núcleo - citoplasma que contienen gránulos azurófilos intracitoplásmicos los cuales se denominan linfocitos grandes granulares aunque no se deben confundir con granulocitos o monocitos que también contienen gránulos. (44)

Las células sanguíneas T en reposo muestran dos patrones morfológicos distintos. La mayoría de las células T funcionales (células T cooperadoras "Th" y células T supresoras o citotóxicas "Tc/s") poseen una estructura citoplásmica denominada "Cuerpo de Gall", el cual consta de un racimo de lisosomas primarios asociados con una gotita de lípidos. Más del 20 % de células Th y 35 % de células T c/s muestran morfología de linfocitos granulares con lisosomas primarios dispersos en el citoplasma y un aparato de Golgi bien desarrollado. (44)

Las células B en reposo no presentan "Cuerpo de Gall" o morfología de linfocitos granulares y su citoplasma está predominantemente ocupado por ribosomas simples. Ocasionalmente las células B activadas se encuentran con retículo endoplásmico rugoso desarrollado. (44)

La tercera población celular se caracteriza por la morfología de linfocitos granulares. En comparación con las células T granulares exhiben un gran número de gránulos azurófilos. (44)

SISTEMA FAGOCITICO MONONUCLEAR.

El sistema fagocítico mononuclear se origina a partir de células derivadas de la médula ósea, este sistema tiene dos funciones principales, las cuales realiza a través de dos poblaciones celulares distintas: los macrófagos "fagocitos profesionales" cuyo papel fundamental es la eliminación de antígenos y las células presentadoras de antígenos (APC) quienes presentan antígenos a los linfocitos específicos. (44)

SISTEMA RETICULOENDOTELIAL.

Los macrófagos del tejido fagocítico forman una red, el sistema reticuloendotelial (SRE) actualmente denominado sistema fagocítico mononuclear el cual se encuentra en muchos órganos. Los progenitores comunes a la serie granulocítica y monocítica dan origen a los promonocitos en la médula ósea. Estos se diferencian en monocitos sanguíneos los cuales representan una población circulante y migran hacia varios órganos y sistemas de tejidos para convertirse en macrófagos. Los monocitos de la circulación son grandes con relación a los linfocitos, estos generalmente tienen un núcleo en forma de pezuña y comúnmente contienen finos gránulos azurófilos. Ultraestructuralmente, los monocitos poseen membranas rizadas, un complejo de Golgi bien desarrollado y lisosomas intracitoplásmicos. Estos lisosomas contienen gran cantidad de hidrolasas ácidas y peroxidasa las cuales son importantes en la muerte intracelular de los

microorganismos. (44)

Los macrófagos presentan ciertos receptores sobre su membrana y estos receptores probablemente tienen diferentes funciones, las cuales incluirían: iniciación de la destrucción extracelular, opsonización y fagocitosis. Las funciones de los monocitos y macrófagos pueden ser potenciadas por factores liberados por las células T. (44)

CELULAS PRESENTADORAS DE ANTIGENOS.

Las células presentadoras de antígenos son una población heterogénea de leucocitos con una exquisita capacidad inmuno estimulante. Algunas tienen un papel fundamental en la inducción de la actividad funcional de las células T cooperadoras; otras se comunican con otros leucocitos. Existen otras células además de los leucocitos que pueden adquirir la capacidad de presentar antígenos bajo la influencia de citocinas. Esto se refiere generalmente a la inducción de moléculas de clase II del CPH (complejo principal de histocompatibilidad) por células que normalmente no las expresan por ejemplo las células endoteliales. Las APC se encuentran principalmente en la piel, nódulos linfoides, bazo y timo. Las APC son ricas en moléculas de clase II del CPH las cuales son importantes para presentar antígenos a las células CD4+. (44)

GRANULOCITOS POLIMORFONUCLEARES.

Los granulocitos se producen en la médula ósea, son de vida breve (2-3 días), representan aproximadamente 60 - 70 % del total de los leucocitos normales de la sangre, pero se hallan también en sitios extravasculares. Los PMN son capaces de adherirse y

penetrar a las células epiteliales y cubrir los vasos sanguíneos. Las formas maduras tienen un núcleo multilobulado y abundantes gránulos. Se clasifican en neutrófilos, eosinófilos y basófilos en base a la reacción de coloración de sus gránulos con colorantes histológicos. Aunque los PMN no muestran ninguna especificidad para los antígenos juegan un papel importante en inflamaciones agudas y junto con los anticuerpos y el complemento en la protección contra microorganismos. Su papel predominante es la fagocitosis. (44)

MARCADORES CELULARES.

Los linfocitos y otros leucocitos expresan un gran número de moléculas diferentes sobre su superficie, algunos de ellos aparecen en estados particulares de la diferenciación celular o de activación por periodos breves, mientras que otros son característicos de diferentes linajes celulares. Dichas moléculas se usan para distinguir poblaciones celulares y se denominan marcadores, muchos de ellos pueden identificarse por anticuerpos monoclonales específicos. Recientemente se ha desarrollado una nomenclatura sistemática para estas moléculas de superficie, el sistema CD en el cual los marcadores se numeran como CD1, CD2, etc. El término CD (cluster designation) se derivó de un análisis computarizado de anticuerpos monoclonales contra antígenos de leucocitos humanos surgido en diferentes laboratorios del mundo.

MARCADORES DE CELULAS T.

Una de las primeras formas de distinguir células T humanas de células B fue su capacidad para enlazar eritrocitos de carnero lo cual se logra a través de la molécula CD2. Sin embargo el

marcador T celular definitivo es el receptor de antígenos de células T (TCR). Existen dos tipos definidos de TCR; TCR-2 es un heterodímero de dos polipéptidos (alfa y beta) enlazados por un puente disulfuro, TCR-1 es estructuralmente similar pero consta de los polipéptidos gamma y delta. Ambos receptores están asociados con un complejo de polipéptidos que constituyen el complejo CD3. Aproximadamente el 95 % de las células T sanguíneas expresan TCR-2 y el 5 % restante expresan TCR-1. (44)

El marcador TCR-2 lo portan células que posteriormente pueden dividirse en dos poblaciones distintas: la subpoblación T cooperadora la cual es CD4+ y la subpoblación T citotóxica - supresora la cual es CD8+. Las células T CD4+ reconocen antígenos en asociación con las moléculas de clase II del CPH, mientras que las células T CD8+ reconocen antígenos en asociación con moléculas de clase I del CPH. (44)

La población CD4+ se puede dividir después funcionalmente en:

- 1.- Células que influyen positivamente la respuesta inmune de las células T y B (función cooperadora celular) las cuales son CDw29+.
- 2.- Células que inducen las funciones supresora y citotóxica en las células CD8+ (función inductora supresora) las cuales son CD45R+.

Las células T CD8+ se pueden subdividir mediante numerosos criterios y una variedad de anticuerpos monoclonales en subpoblaciones específicas funcionales. Por ejemplo: las células que reconocen antígenos en asociación con moléculas del CPH y producen interleucina 2 (IL-2) que son CD28+ y las células que no

reconocen antígenos en asociación con moléculas del CPH ni producen IL-2 que son CD11b+. (44)

Las células CD3+/TCR-1+ representa una minoría de células T circulantes las cuales son también CD4-, CDB-. Estas células permanecen en la epidermis y en la mucosa epitelial y son denominadas linfocitos intraspiteliales (IEL). En la mucosa intersticial del epitelio las células TCR-1+ también expresan CDB+. Es probable que estas células representen una población citotóxica primitiva que opera en el sitio de entrada de los patógenos. La división de células portadoras de marcadores TCR, CD4 y CDB en distintas subpoblaciones celulares se ilustra en las figuras 1 y 2.

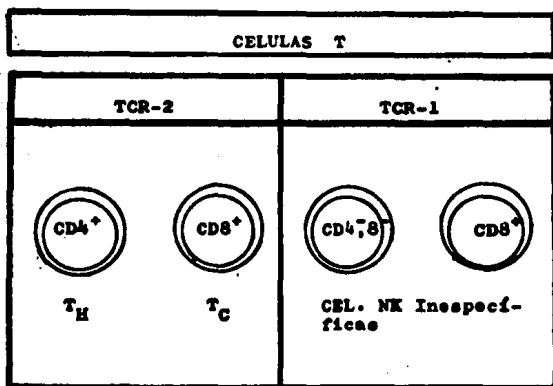


Fig.1. Linaje de células T. Las células T pueden diferenciarse de acuerdo a la expresión de sus receptores antigénicos TCR-1 o TCR-2 y a la expresión de sus moléculas de superficie CD4 o CDB. Estos corresponden con la categoría funcional de la célula. (44)

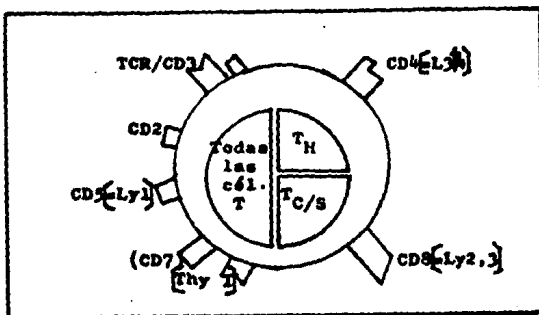


Fig.2. Principales marcadores de células T en el hombre y el ratón. La molécula CD7 está entre paréntesis para indicar que sólo se detecta en el hombre, los marcadores en corchetes indican que son específicos del ratón [Thy-1] o que son equivalentes.

(44)

MARCADORES DE CELULAS B.

Las células B representan aproximadamente del 5 - 15 % de la población linfocítica circulante y se definen clásicamente por la presencia de inmunoglobulinas producidas endógenamente (anticuerpos). Estas moléculas se insertan en la superficie de la membrana donde actúan como receptores antigénicos específicos. La mayoría de los linfocitos B expresan moléculas de superficie tanto de IgM como de IgD las cuales comparten la misma especificidad en la misma célula. Muy pocas células expresan IgG, IgA o IgE de superficie en la circulación aunque ellas estén presentes en gran número en áreas específicas del cuerpo, por ejemplo: las células de la mucosa intestinal portan IgA de superficie. (44)

Las células B tanto murinas como humanas portan numerosos marcadores, algunos de los cuales se ilustran en la figura 3. Las

células B se definen como aquellas células que portan inmunoglobulinas producidas en forma endógena. La mayoría de las células B expresan antígenos de clase II del CPH los cuales son importantes en la cooperación con las células T, estos son: antígenos I-A/I-E en el ratón y HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR en el hombre. Comúnmente se encuentran receptores para complemento en las células B, por ejemplo: C3b (CR1, CD35) y C3d (CR2, CD21) que están asociados con la activación y el posible retorno al reposo de las células. La molécula CR2 también es el receptor del virus Epstein-Barr (EBV) el cual desde su entrada conduce a la activación de las células B. También están presentes los receptores Fc para IgG (FcRII, CDw32). Los marcadores CD19, CD20, y CD22 son los principales marcadores generalmente usados para identificar a las células B humanas. (44)

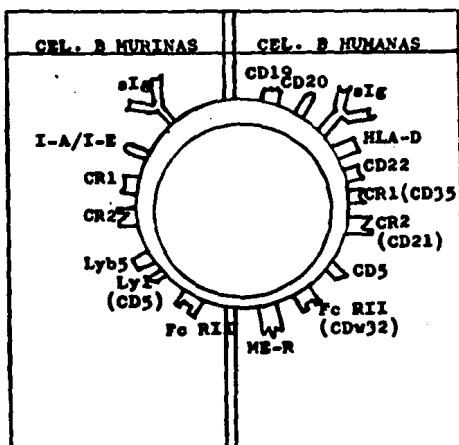


Fig.3. Resumen de los marcadores de superficie en las células B periféricas en el hombre y el ratón. (44)

MARCADORES DE LA TERCERA POBLACION CELULAR.

La tercera población celular (TPC) se ha definido morfológicamente como linfocitos grandes granulares. La TPC posee un número mayor de gránulos electrodensos que las células T granulares. Representan aproximadamente 20 % de los linfocitos sanguíneos y pueden definirse negativamente como células carentes de receptores antigénicos convencionales, como TCR o inmunoglobulinas. La mayoría de los marcadores detectados en la TPC por anticuerpos monoclonales son compartidos con las células T o las células de la serie mielomonocítica. Un reactivo frecuentemente usado para identificar TPC en poblaciones purificadas de linfocitos es el anticuerpo monoclonal para CD16 (Fc γ R1II, Fc γ R1o), éste se expresa también en una pequeña proporción de células T, en granulocitos y algunos macrófagos. La TPC en reposo también expresa la cadena alfa del receptor de IL-2, un receptor de afinidad intermedia. Por lo tanto la estimulación directa con IL-2 da por resultado una activación de TPC. (44)

La TPC también puede identificarse funcionalmente por su capacidad para destruir ciertas células tumorales, células infectadas por virus y células cubiertas con anticuerpos IgG. Estas actividades líticas se refieren como una actividad natural destructiva (natural killer) "NK" y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) respectivamente. También pueden liberar interferón gamma (IFN- γ) y otras citocinas importantes en la regulación de la hemopoyesis y la respuesta inmune. (44)

Las células B, células T y las células de la tercera

población tienen otras moléculas de superficie importantes que son comunes a todos los leucocitos, por ejemplo: el antígeno funcional de leucocitos (LFA-1) que también se encuentra en los granulocitos y macrófagos y es importante en la adhesión celular y en la comunicación intercelular. (44)

INTERACCIONES CELULARES.

El análisis preciso de los mecanismos celulares e interacciones involucradas en la generación de la respuesta inmune se ha facilitado en los últimos años gracias a los avances en distintas áreas de la inmunología, de ahí que actualmente se pueda establecer una secuencia de acontecimientos para el desarrollo de dicha respuesta inmunológica. (30)

RECONOCIMIENTO ANTIGENICO.

Aunque los receptores antigénicos en las células T y B tienen muchas similitudes, el reconocimiento antigénico difiere. Los estudios de Katz demuestran que ambos linfocitos deben reconocer el antígeno pero por diferentes regiones, el linfocito T reconoce al acarreador y el linfocito B reconoce al hapteno. Aún antes de que las células T y B fueran definidas, Bell y Benacerraf habían demostrado que la respuesta de anticuerpos y las reacciones inmunes mediadas por células estaban dirigidas contra diferentes determinantes del antígeno. Las estructuras vistas por anticuerpos son terciarias, mientras que las células reconocen secuencias primarias. Es decir que la conformación precisa de un determinante antigénico particular afectará su capacidad para generar respuestas de células T o B. (44)

PRESENTACION DE ANTIGENOS.

Una de las etapas cruciales en el desarrollo de la respuesta

inmune es la forma en la cual el antígeno es presentado a los linfocitos con los que reaccionará. "In vivo" esta fase es complicada por la organización estructural del tejido linfoide. Los antígenos T-dependientes (antígenos cuyo reconocimiento requiere tanto de células T como de células B) constituyen la mayoría de los antígenos encontrados en el sistema inmune. El reconocimiento antigénico de las células T está restringido genéticamente (restricción genética: necesidad de las células T de reconocer al antígeno extraño en el contexto de las moléculas CPH propias) por los antígenos de histocompatibilidad de clase I y clase II. Las células T reconocen antígenos procesados más moléculas del CPH, no reconocen antígenos libres sino en la superficie de otras células, por ejemplo: APC especializadas capaces de estimular la división de células T o cualquier otra célula viralmente afectada dentro del cuerpo, la cual constituye una célula blanco para las células T citotóxicas. Puesto que el reconocimiento antigénico por las células T está restringido genéticamente por el CPH, esto implica que las células T pueden reconocer tanto al antígeno como a las moléculas del CPH en otras células. Cuando se descubrió el CPH de restricción hubo dos teorías importantes para explicar estos eventos: una fue que las células T pudieran reconocer separadamente moléculas CPH y antígeno en otras células y la otra que un receptor único en las células T reconociera una combinación de CPH y antígeno. Las evidencias actuales han confirmado que la segunda teoría es la correcta, es decir que el receptor antigénico de las células T reconoce moléculas del CPH más el antígeno procesado. Fig. 4

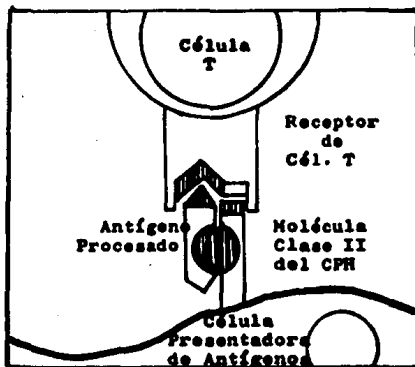


Fig.4. Reconocimiento Antigénico de células T. El reconocimiento antigénico de células T involucra una interacción de tres elementos incluyendo el receptor de células T, la molécula del CPH y el antígeno procesado. (44)

La presentación antigénica la llevan a cabo las APC. Algunas células de la serie monocito - macrófagos expresan moléculas de clase II del CPH y pueden actuar como APC para células T o B. Otros tipos celulares como las células B y las células endoteliales vasculares también pueden actuar como APC. Las APC expresan moléculas CPH de clase II, estas células son potencialmente capaces de presentar antígenos a las células T cooperadoras restringidas genéticamente a las moléculas clase II del CPH las cuales controlan el desarrollo de la respuesta inmune. Por lo tanto la expresión de moléculas clase II es la clave para la presentación de antígenos. Algunas células expresan constitutivamente moléculas clase II y son consideradas como APC constitutivas o profesionales, pero muchos tipos celulares pueden ser inducidos a expresar moléculas de clase II y presentar antígenos si se estimulan adecuadamente y se denominan APC facultativas. La importancia relativa de estos tipos de APC

diferentes depende de si está involucrada una respuesta primaria o secundaria y la localización de la respuesta. (44)

Aunque el reconocimiento antigénico de las células T está genéticamente restringido, no todas las células T reconocen el mismo producto del CPH. En general la mayoría de las células T cooperadoras expresan el marcador de superficie CD4+ y reconocen antígenos en asociación con moléculas de clase II, mientras que la mayoría de las células T citotóxicas expresan CD8+ en su superficie y reconocen antígenos asociados con moléculas de clase I. Existe una gran correlación entre:

- 1.- Restricción de clase II y expresión de CD4+.
- 2.- Restricción de clase I y expresión de CD8+.

La restricción clase I o clase II tiene sentido desde un punto de vista evolutivo. Las células citotóxicas que se requieren para destruir blancos viralmente infectados en cualquier tejido reconocen antígenos más moléculas clase I, las cuales se expresan en todas las células nucleadas. (44)

Las células T cooperadoras clase II restrictivas que regulan y amplifican la respuesta inmune, reconocen antígenos más moléculas clase II, las cuales están presentes en las células presentadoras de antígenos (APC) y las células B. (44)

Los marcadores CD4+ interactúan con moléculas clase II y los CD8+ con moléculas clase I. Se supone que CD4+ y CD8+ interactúan con porciones estructurales invariables de las moléculas del CPH, mientras que el receptor antigénico de las células T reconocería al antígeno asociado con una parte polimórfica de la molécula CPH. Fig. 5

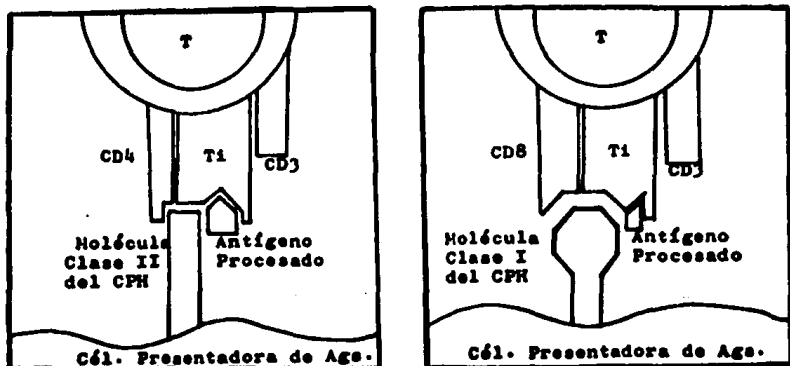


Fig.5. Papel de los marcadores CD4 y CD8. El CD4 presente en las células clase II restringidas, interactúa con las moléculas clase II de otras células y con el complejo receptor de células T. Esto ha hecho pensar que el reconocimiento de células T es estabilizado por las interacciones entre CD4 y moléculas clase II, o CD8 y clase I. (44)

Debe señalarse que otros tipos celulares posiblemente variantes del linaje de macrófagos pueden estar involucrados en la presentación de antígenos a las células T. Estas células tal vez no expresen moléculas de clase II y por lo tanto supuestamente no presentan antígenos a las células T. (44)

PROCESAMIENTO DE ANTIGENOS.

Las APC llevan a cabo el procesamiento de antígenos, en el cual grandes entidades antigénicas, células o proteínas son degradadas a fragmentos más reconocibles por las células T. Estos fragmentos se asocian con moléculas de clase I o clase II del CPH. Es probable que este proceso tenga lugar en numerosos sitios, en la superficie celular o después de la pinocitosis o fagocitosis en endosomas o fagolisosomas. No está claro si la

asociación de fragmentos antigénicos con moléculas del CPH tiene lugar dentro o en la superficie de la célula. Probablemente suceda en ambos sitios. Existen evidencias de que las moléculas de clase I están asociadas más comúnmente con parásitos intracelulares (virus) que las moléculas clase II, por lo tanto es posible que la asociación de moléculas clase I con fragmentos antigénicos ocurra intracelularmente mientras que la asociación de moléculas clase II ocurra extracelularmente. (44)

El inicio de la proliferación de células T involucra no solamente el reconocimiento de antígenos y determinantes del CPH, sino también la transmisión de señales entre las APC y los linfocitos vía interleucinas, incluyendo interleucina-1 (IL-1) y interferón gamma (IFN- γ). Una de las funciones importantes de la IL-1 es inducir la producción de otras citocinas tales como TNF (factor necrótico tumoral) de macrófagos y endotelio, IL-6 de fibroblastos, el GM-CSF de células T. (44)

Tanto los linfocitos T como los B tienen receptores para IL-1, la ocupación de estos receptores cuando los linfocitos son activados conduce a la expresión de receptores de IL-2 (conocida antes como factor de crecimiento de células T) por parte de las células T que empiezan a producir IL-2, de esta manera se inicia el crecimiento de células T. Las células T activadas y las células asesinas naturales (NK) producen IFN γ , este interferón incrementa la función APC en células facultativas (macrófagos, monocitos, células endoteliales) e incrementa también el potencial para activar otras células T posteriormente. El IFN γ actúa como una señal positiva de retroalimentación (activa macrófagos en general y probablemente aumente su capacidad para

fagocitar y procesar antígenos). Los macrófagos liberan IL-1 pero no las células dendríticas. Por lo tanto se cree que la IL-1 es un factor accesorio en la activación de las células T, pero no es indispensable. (44)

ACTIVACION DE LINFOCITOS.

La activación de células T cooperadoras y células T efectoras requiere interacciones con células presentadoras de antígenos (APC). En esta interacción las células APC desempeñan dos funciones importantes, primero: procesan y presentan al antígeno en conjunto con los productos genéticos del CPH en una forma adecuada para el reconocimiento por el receptor de células T y segundo: estas células sintetizan y secretan materiales solubles denominados linfocinas, necesarios para que proceda la activación total de las células T. Una vez que las células T son activadas por las dos señales requeridas para la activación antigénica específica, dichas células pueden liberar otras linfocinas, las cuales actúan entonces de forma inespecífica sobre otras poblaciones de células mononucleares, incluyendo células T o B. Un evento que ocurre después de la activación de las células T es la proliferación y la expansión de las clones específicas de células T antígeno-reactivas activadas. (44)

La activación de células T o B incrementa la expresión de varias moléculas de superficie e induce la aparición de marcadores adicionales (de activación). Esto permite una interacción más eficiente de las células activadas con otras células. Durante la activación las células expresan receptores para interleucina-2 (IL-2), se incrementa el número de sus

receptores para IL-1; aparecen también receptores para transferrina, pues el hierro es esencial para el crecimiento celular, así como antígenos HLA de clase II. Cuando se les desafía adecuadamente las células T secretan IL-2, la cual interactúa con sus receptores IL-2 para mediar el crecimiento. Existen otros factores de crecimiento de las células T, como la IL-4 y la IL-1 las cuales son menos potentes que la IL-2. (44)

La activación de células B puede llevarse a cabo en ausencia de células T, con antígenos T independientes. Sin embargo el desarrollo completo de células B tiene lugar solamente en presencia de células T y sus productos. Las células B en reposo al igual que las células T responden a IL-1. El primer producto de células T que actúa sobre células B en reposo es la IL-4 (conocida antes como factor estimulante de células B). Las células B estimuladas por el antígeno, IL-1 e IL-4 aumentan y entran al ciclo celular. Posteriormente las células B activadas encuentran una molécula derivada de las células T, IL-5 (previa y erróneamente denominada factor reemplazante de células T), la cual está implicada en el crecimiento de las células B y en la producción de inmunoglobulinas. La siguiente molécula caracterizada producida por las células T y requerida por las células B para una producción elevada de inmunoglobulinas es la IL-6 (antes conocida como factor estimulante-2 de células B). Las células B activadas expresan transitoriamente receptores para IL-2 los cuales pueden actuar sobre células B como potente factor de crecimiento y diferenciación. El IFN- γ también actúa como factor de diferenciación de células B. La fig. 6 muestra algunas interacciones celulares durante la respuesta inmune.

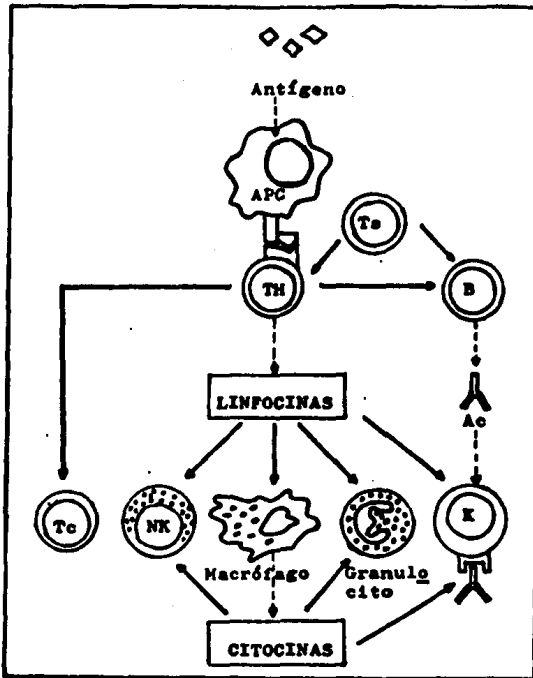


Fig.6. Inmunidad mediada por células. Las APC presentan antígenos a las células TH, las cuales son fundamentales en el desarrollo de las respuestas inmunes. Estas pueden ayudar a la producción de anticuerpos y a modular las acciones de otras células efectoras incluyendo células Tc, células NK, macrófagos, granulocitos y células K. Muchos de estos efectos son mediados por linfocinas, aunque las citocinas de otras células, particularmente de macrófagos son importantes también. Tanto las células T como las B pueden ser influenciadas por las células T supresoras.

RESPUESTAS INMUNES

Existen dos tipos de respuesta inmune: la humoral y la mediada por células. La respuesta humoral da por resultado la producción de anticuerpos, es decir que los efectos que se observan o cuantifican son el resultado de un producto de los linfocitos mientras que la respuesta mediada por células son reacciones que llevan a cabo los linfocitos directamente. (50)

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO TARDIO.

La hipersensibilidad de tipo tardío está crucialmente involucrada en la defensa del huésped contra los virus, hongos, *Micobacterium* y otros organismos que se replican intracelularmente. Las APC operan tanto en forma aferente como eferente de esta reactividad. La activación de las células T específicas para antígenos micóticos, por ejemplo, requiere que éstos sean adecuadamente procesados y presentados por APC positivas a moléculas clase II del CPH, en conjunción con la síntesis de materiales solubles tales como IL-1. El aumento de la reactividad de las células T activadas ocurre mediante la síntesis y liberación de linfocinas tales como el factor de inhibición de la migración. Este factor inhibe la migración al azar de macrófagos por los tejidos y origina así su acumulación alrededor del área de activación de la célula T. Otras linfocinas como el factor de activación de los macrófagos, que parece ser idéntico al gamma interferón, mejoran la actividad citolítica de los macrófagos acumulados. Las reacciones de hipersensibilidad tardía se denominan así debido al tiempo requerido para la síntesis de linfocinas y para que su acción se manifieste. (50)

Las células efectoras requeridas para iniciar las reacciones de hipersensibilidad tardía están incluidas entre la población CD4+ de linfocitos. Es claro que esta reactividad puede ser modulada en un sentido negativo por influencias supresoras existentes entre las células CDB+. (50)

Otro prototipo de la función de células efectoras además de la DTH es la citotoxicidad. (50)

CITOTOXICIDAD.

La respuesta inmune a antígenos de transplante (alcoantígenos) exhibidos por tejido transplantado está caracterizada por la generación de células T que son citotóxicas para el aloinjerto. La aparición de estas células sucede en dos etapas. En la primera, las células CD4+ reconocen las moléculas clase II, mostradas por el aloinjerto como extrañas y se activan. Una parte de esta activación está representada por la proliferación, y es ésta proliferación la que se detecta en la reacción mixta de linfocitos "in vitro" (ensayo para medir la extrañeza de alcoantígenos). La segunda etapa involucra la generación de células efectoras citotóxicas entre la población CDB+ de células T. Estas células citotóxicas reconocen moléculas clase I del CPH exhibidas por el aloinjerto. Es decir la generación total de células citotóxicas efectoras requiere interacciones entre dos poblaciones de células T fenotípicamente distintas. En esta interacción, las células CD4+ ayudan en el desarrollo de células CDB+ efectoras a través de la generación de IL-2. Existen evidencias de que además de la IL-2 se requieren otros factores solubles para la aparición de células T citotóxicas efectoras diferenciadas. (50)

ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

Los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad fueron estudiados inicialmente en el ratón por Gorer (denominándolo sistema H-2 en los años treinta) y desde entonces se reconoció que había varios (cuando menos 14 sistemas polimórficos proteicos, localizados en el cromosoma 17). EL estudio de los sistemas equivalentes en el ser humano se inicia en los años cincuentas, con Dausset, siguiendo siempre la pauta de lo conocido en los murinos. (22)

Los antígenos de histocompatibilidad o HLA (H de humanos, L de leucocitos y A de antígeno) constituyen una familia de antígenos glicoprotéicos presentes en humanos y todos los mamíferos estudiados hasta ahora. Los antígenos HLA están codificados por un grupo de genes localizados en una región del cromosoma 6 en humanos señalada como el complejo génico principal de histocompatibilidad (CPH). Fig. 7

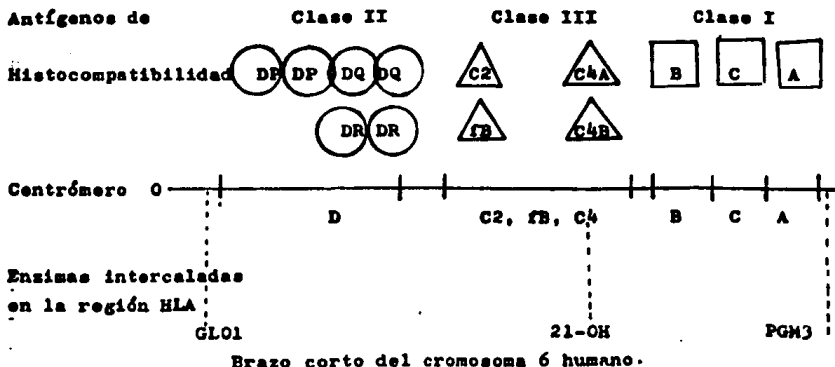


Fig.7. En esta figura se aprecia la distribución de los genes que codifican las diversas proteínas del Complejo Principal de Histocompatibilidad. (22)

Los antígenos HLA varían de especie a especie y aun de individuo a individuo y su primera función descrita estuvo relacionada con el rechazo de transplantes; de ahí su otro nombre generalizado, antígenos de histocompatibilidad. Por lo anterior, durante mucho tiempo se consideraron exclusivamente como marcadores de identidad individual. Estos antígenos (proteínas) corresponden por su estructura y función a tres clases principales. (22)

Los antígenos de la clase I están constituidos por dos polipeptidos diferentes, uno codificado en la región CPH y el otro fuera de ella; la beta 2 microglobulina. Los antígenos de histocompatibilidad de la clase II consisten en dos péptidos no asociados covalentemente y denominados cadena alfa y beta, respectivamente. Las proteínas de la clase III, como las anteriores codificadas por el CPH, forman parte del complemento y tienen además otras funciones inmunológicas. (22)

A las clases I y II pertenecen antígenos con un enorme polimorfismo estructural. Los de la clase I se producen en tres subregiones (A, B y C) del CPH, en cantidades variables y son antígenos de todas las células nucleadas y de las plaquetas, en el hombre. Los antígenos de histocompatibilidad de la clase II están codificados en la subregión D del CPH y tienen una distribución restringida a los linfocitos B, los macrófagos, los monocitos, posiblemente a las células epiteliales y a las células T activadas. Estos antígenos del CPH por participar en el reconocimiento de las células entre sí son glicoproteínas transmembranales de la membrana plasmática. (22)

Los antígenos de clase III a diferencia de los anteriores no se encuentran integrados a las membranas celulares, sino en estado soluble en el plasma en este grupo se encuentran algunos componentes del complemento (22). En la figura 8 se pueden observar los diferentes tipos de antígenos de histocompatibilidad.

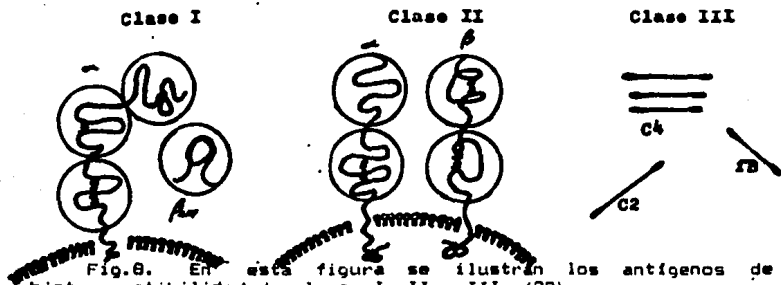


Fig.8. En esta figura se ilustran los antígenos de histocompatibilidad de clases I, II y III. (22)

PAPEL BIOLÓGICO DE LOS ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

Los antígenos producidos por el CPB son esenciales en las reacciones inmunológicas de reconocimiento. Distintos antígenos son reconocidos por diferentes células T; un ejemplo son las células T citotóxicas, que participan en el reconocimiento y muerte de las células infectadas por virus y en el rechazo de células con antígenos de histocompatibilidad diferentes, durante el trasplante. La mayoría de las células infectadas por virus contienen antígenos virales sobre su superficie, asociados a los antígenos de histocompatibilidad y estos pueden ser reconocidos por las células T; el reconocimiento de ambos antígenos conduce a su muerte por las células T citotóxicas y a la liberación de partículas virales incompletas, incapaces de infectar a otras células. (22)

Después de reconocer a los antígenos extraños, asociados a antígenos de histocompatibilidad de la clase II, localizados en la superficie del macrófago (APC), el linfocito T cooperador estimula a los linfocitos B a producir anticuerpos; a otros linfocitos T a producir y liberar linfocinas y a los linfocitos T citotóxicos a ejercer su función. (22)

Actualmente se considera que los antígenos de histocompatibilidad, las inmunoglobulinas y el receptor de la célula T se originaron de un gene ancestral que codificaba para una proteína de aproximadamente 100 aminoácidos, el cual por mutación y duplicación génica pudo generar esta diversidad de estructuras. Las pruebas se basan en las grandes homologías de las secuencias de aminoácidos de éstas moléculas, a las que se les considera actualmente como la superfamilia de las inmunoglobulinas. (22,44)

4.- TRANSPLANTE

Se entiende por transplante el hecho de implantar un tejido u órgano de un individuo en otro, manteniendo dicho órgano sus funciones naturales; por lo tanto, es condición que las células injertadas permanezcan vivas en el receptor. Cuando se realiza un transplante entre individuos de diferente especie (conejo a rata por ejemplo; ver tabla No. 1), el injerto es destruido en unos cuantos días, fenómeno que se conoce con el nombre de rechazo, siendo éste de naturaleza inmune; es decir al poseer sustancias diferentes al receptor, las células injertadas son reconocidas inmediatamente como antigénicas (extrañas) por el aparato inmunocompetente del receptor y agredidas tanto humoral, pero

sobre todo celularmente, hasta su total eliminación. Cuando se realiza un trasplante entre individuos de la misma especie (conejo a conejo; rata a rata; humano a humano), no emparentados, y por lo tanto genéticamente diferentes, también ocurrirá el rechazo, lo que implica que aún dentro de la misma especie existen diferencias. Hasta este momento se conocen en el ser humano cerca de 500 sistemas polimórficos; es decir, se observan en ellos diferencias estructurales en polisacáridos, proteínas simples, glicoproteínas y lipoproteínas genéticamente determinadas (hereditarias), aunque afortunadamente sólo unos cuantos de estos polimorfismos provocan rechazo en el trasplante de tejidos y por eso son denominados antígenos de histocompatibilidad. Con base en su capacidad inmunogénica, estos antígenos se han clasificado en dos grupos:

- 1) El Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH) los muy inmunogénicos.
- 2) El Complejo Menor (secundario) de Histocompatibilidad, los menos inmunogénicos.

Los muy inmunogénicos son los denominados HLA en el ser humano.

Tabla No. 1

Relación Genética entre Donador y Receptor. (22)

Entre diferentes especies	Xenotrasplante (heterotrasplante).
Entre la misma especie pero genéticamente diferentes	Alotrasplante (homotrasplante)
Entre la misma especie y genéticamente idénticos (gemelos univitelinos)	Isotrasplante (singénico)
El donador y el receptor es la misma persona	Autotrasplante

RECHAZO DE TRANSPLANTES

El objetivo en el trasplante clínico es efectuar una tolerancia específica al injerto, es decir que los individuos no puedan rechazar su injerto, pero sí puedan responder a otros antígenos extraños. (5)

El éxito de trasplantes de órganos, el cual se considera el tratamiento de elección, en una gran variedad de enfermedades en etapa terminal, está limitado principalmente al rechazo de injertos. Los episodios de rechazo de injertos fueron señalados inicialmente en 1944 por Sir Peter Medawar como una función de la actividad celular del sistema inmune. Su grupo demostró también que el sistema inmune podría modularse para combatir el proceso de rechazo y promover el incremento en la supervivencia del injerto. (12)

El rechazo de un aloinjerto es producido por los antígenos de histocompatibilidad extraños del tejido transplantado. Las incompatibilidades aloantigénicas entre miembros de una especie varían, los antígenos más fuertes (CPH) pueden conducir al rechazo de injertos en períodos muy breves, mientras que las diferencias más débiles (complejo menor) permiten la supervivencia del injerto a largo plazo. (33)

Con el descubrimiento de la importancia del CPH en muchas reacciones inmunes entre ellas las de rechazo de trasplantes los loci menores de histocompatibilidad se han estudiado poco, sin embargo, las reacciones de rechazo alógeno de segundo desafío a antígenos menores pueden ser tan rápidas como a antígenos CPH. En el ser humano aproximadamente el 50 % de los trasplantes renales

entre hermanos se rechazan después de 5 años sugiriendo que las diferencias en loci menores son suficientes para causar el rechazo. Pero como ya se mencionó, el principal obstáculo para el éxito de un transplante es la compatibilidad entre el CPH, puesto que el rechazo por diferencias allogénicas en antígenos menores puede abatirse generalmente con terapia inmuosupresora, siempre y cuando el receptor no haya sido sensibilizado a los antígenos menores. (44)

RECONOCIMIENTO ALOGENICO.

Las moléculas del CPH allogénicas son extremadamente inmunogénicas. No es necesario que sean reconocidas en asociación con moléculas CPH propias para estimular células T y parece que son capaces de proporcionar una señal dual del CPH propio más el antígeno, para iniciar una respuesta inmune. El número de células T capaces de reconocer un CPH allogénico particular en animales no sensibilizados es relativamente alto, tal vez de aproximadamente 0.1 % del total de la población celular T. La forma precisa en la cual ocurre el reconocimiento allogénico está en debate todavía. Una hipótesis propone que los fragmentos de moléculas CPH allogénicas son procesados en la misma forma que los antígenos convencionales y son presentados después en asociación con moléculas propias por APC. Una segunda hipótesis establece que las células T reaccionan directamente con las moléculas CPH extrañas. Otra sugerencia más reciente es que las moléculas CPH propias normalmente llevan un péptido entre sus sitios de enlace y que este puede ser desplazado por el antígeno procesado, el cual sería reconocido entonces por las células T. Un péptido propio ocupando este sitio podría ser reconocido de la misma

forma como un antígeno por una célula T alogénica. (44)

En el trasplante clínico, el reconocimiento alogénico es considerablemente más complicado que el reconocimiento "in vitro". (44)

Existen diferentes tipos de rechazo, los cuales se clasifican de acuerdo al tiempo que tardan en presentarse e involucran diferentes mecanismos de rechazo y se denominan como: rechazo hiperagudo, rechazo agudo y rechazo crónico. (18)

INMUNOGENICIDAD.

Muchos factores, tales como el tipo de tejido y el sitio del trasplante, determinan la inmunogenicidad de los antígenos de histocompatibilidad y el destino último del tejido alotransplantado, pero obviamente la condición esencial para que el rechazo ocurra es en primera instancia, la incompatibilidad para antígenos del CPH. (44,63)

ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD Y SOBREVIDAS.

La compatibilidad para antígenos HLA-A y HLA-B parece mejorar la sobrevida de injertos, los antígenos del locus B son antígenos más fuertes en el trasplante que los antígenos del locus A. Desde el punto de vista práctico no es fácil obtener pares donador-receptor bien compatibles debido al enorme polimorfismo en el sistema de antígenos clase I, donde se ha demostrado en distintos modelos que la diferencia de un sólo aminoácido es suficiente para inducir una respuesta alogénica. En un trasplante la compatibilidad para HLA-DR como un medio para mejorar la sobrevida de injertos es atractiva puesto que la incompatibilidad para estos antígenos puede ser el principal

estímulo para la generación de la respuesta inmune contra el aloinjerto, mientras que la fase efectora de la respuesta inmune puede estar dirigida inicialmente a los antígenos de clase I incompatibles. La compatibilidad HLA-B y HLA-DR de injertos es más efectiva en la prevención de un rechazo que la de cualquier otro grupo. Además existen más posibilidades de encontrar donadores HLA-DR compatibles puesto que este sistema tiene un polimorfismo limitado. (44,53)

Es conveniente señalar también los efectos benéficos de las transfusiones sanguíneas pre-transplante, los cuales son tan marcados que en muchos lugares no transplantan a pacientes no transfundidos. Cuando los receptores son transfundidos previamente al transplante y han recibido un transplante HLA-DR compatible el índice de sobrevida mejora notablemente. Parece que los efectos benéficos de la compatibilidad HLA-DR y las transfusiones pre-injerto son aditivas. (53)

S.- AGENTES INMUNOSUPRESORES INMUNOSUPRESION.

Una vez establecido que el rechazo de órganos se debe a fenómenos inmunológicos se abrió un nuevo campo dentro de la Inmunología; la inmunosupresión, por medio de la cual se pretende modificar la respuesta inmune retardándola y disminuyendo su eficiencia. (30)

Cuando la estimulación de linfocitos por antígenos (aloantígenos) tiene lugar, estos se transforman en grandes células activas que secretan sustancias que pueden activar o inhibir las funciones de otras células cercanas. Antes de que el

antígeno sea eliminado o destruido, tienen lugar muchos eventos celulares o subcelulares. Esta serie de eventos ofrece oportunidad para la supresión o amplificación de la respuesta. Por ejemplo es posible modificar la proliferación y expansión de clonas de linfocitos sensibles al antígeno. Esta ha sido la etapa clave hacia la cual se dirige la inmunosupresión clínica. (52)

La inmunosupresión es menos efectiva después de que el linfocito ha completado su respuesta a los aloantígenos. La respuesta inmune es más difícil de controlar después de la activación debido a que los anticuerpos preformados a los linfocitos citolíticos activados y a los macrófagos armados con anticuerpos son difíciles de suprimir. (5)

Inicialmente el único medio de inmunosupresión fue la irradiación total con rayos X empleada en animales receptores de alotransplantes con cierto éxito, pero con poca aplicación clínica. (52)

En 1950 se inicia el empleo de las drogas inmunosupresoras. La primera que se utilizó fue la cortisona que demostró retrasar el fenómeno de rechazo en transplantes de piel en conejos; poco después se introduce la mostaza nitrogenada, la 6 mercapto-purina y se establecen protocolos de inmunosupresión con la combinación de azatioprina, prednisona y radiación local. (30)

Con el desarrollo de la inmunología se conocen las células que participan en la respuesta inmune y se procede a la obtención de suero antilinfocítico y al emplearse en el transplante se observa que prolonga el tiempo de sobrevivencia de los injertos.

En 1976, se introduce el uso de ciclosporina y con ello el

manejo del paciente transplantado es mucho mejor pues disminuye las infecciones y rechazos, ya que esta droga sólo afecta a los linfocitos sin alterar a las demás células. (30)

Los progresos clínicos dependen en mucho de la inmunosupresión selectiva. La finalidad del trasplante es la tolerancia del injerto en un huésped totalmente competente, en la medida en que la respuesta inmune se conozca mejor se tendrán mayores posibilidades de alcanzar este objetivo. (52)

Actualmente la inmunosupresión clínica cuenta con tres mecanismos generales de inmunosupresión:

1.- Consiste en la reducción del número de linfocitos periféricos destruyéndolos.

2.- Emplea una variedad de inhibidores metabólicos para interrumpir la proliferación y la diferenciación de linfocitos inducidas por el antígeno.

3.- Inhibe las señales moleculares que activan otras células de la cascada inmune. (52)

Convencionalmente los agentes empleados en la inmunosupresión se han manejado como inmunosupresores químicos e inmunosupresores biológicos. (52)

INMUNOSUPRESORES QUÍMICOS.

CORTICOSTEROIDES.

Los corticosteroides inhiben tanto la inmunidad celular como la humoral y tienen también una gran actividad antiinflamatoria. El principal fármaco empleado en este grupo es la prednisona (metil prednisolona), un corticosteroide adrenal que suele administrarse en combinación con otros agentes. (52)

Los corticoesteroides bloquean la proliferación celular impidiendo la activación del gene de IL-1; los macrófagos tratados con corticoesteroides no producen IL-1 y puesto que la liberación de IL-2 es dependiente de la IL-1, los corticoesteroides también bloquean indirectamente a la IL-2. (52)

Las terapias convencionales para el tratamiento de rechazos agudos de aloinjertos renales incluyen la administración de dosis elevadas de glucocorticoides. Los glucocorticoides tienen también amplios efectos antiinflamatorios e inmunosupresores inespecíficos. Además de sus efectos sobre las linfoquinas reducen la capacidad de los monocitos de migrar hacia el sitio de la inflamación. Una de las principales desventajas del uso de glucocorticoides en el tratamiento de rechazos agudos es que inhiben por completo los sistemas inmune e inflamatorio y alteran otros sistemas sensibles a esteroides. El uso de dosis elevadas puede producir severos efectos colaterales indeseables. Estos incluyen disminución de la capacidad inflamatoria y fagocítica, dando por resultado una susceptibilidad creciente a las infecciones, hiperglicemia, hipercalemia, osteoporosis, aumento en la fragilidad capilar, e inhibición del crecimiento en niños. (12)

Estos agentes son ineficaces en los rechazos mediados por anticuerpos, incluyendo rechazos hiperagudos y crónicos. (52)

AZATIOPRINA.

Esta droga antiproliferativa es un imidazol derivado de 6-mercapto-purina y ejerce su efecto bloqueando la síntesis de DNA. La azatioprina es catabolizada "in vivo" a 6-mercapto-purina y

otros antimetabolitos. No previene la activación genética inicial, pero en lugar de ello inhibe extraordinariamente la replicación genética y la activación de las células T. (12)

Este fármaco inhibe la respuesta inmune primaria, pero tiene poco efecto en la respuesta secundaria así como en la reversión de rechazos agudos de alotransplantes. (52)

La azatioprina disminuye el número de células granulocíticas y mononucleares migratorias, mientras inhibe la proliferación de promielocitos dentro de la médula ósea. Por lo tanto el número de monocitos circulantes disponibles para convertirse en macrófagos disminuye también (12). Entre los efectos indeseables provocados por la administración de azatioprina se encuentran la leucopenia y/o trombocitopenia, alteraciones gastrointestinales, fiebre, hepatotoxicidad y el riesgo creciente de neoplasia. (12,52)

CICLOFOSFAMIDA.

La ciclofosfamida es un derivado de la mostaza nitrogenada. Deprime la respuesta inmune celular y prolonga la sobrevida de injertos de piel en varias especies animales. Por el contrario se ha reportado que anula los efectos de agravamiento inmunológico en la prolongación de sobrevida de aloinjertos en varios modelos experimentales, posiblemente por su destrucción selectiva de linfocitos supresores. En el transplante clínico es probablemente menos efectivo que la azatioprina y puede ser excesivamente tóxico provocando leucopenia y trombocitopenia. (52)

CICLOSPORINA.

La ciclosporina es un undecapéptido derivado del hongo *Trichoderma polysporum*. La acción principal de la ciclosporina es

inhibir la producción de IL-2, de modo que en ausencia de esta linfocina las células T no proliferan, el interferón gamma estimulante de macrófagos no se libera, los factores activantes de células B tampoco son liberados frenando de esta manera la activación de las células T. La ciclosporina es probablemente el agente inmunosupresor más poderoso del que se dispone para la prevención del rechazo, con el mejor índice de riesgo:beneficio. Sin embargo la desventaja principal del uso terapéutico de la ciclosporina es su nefrotoxicidad, la cual suele ocurrir en aproximadamente 25 % de los receptores de trasplante renal tratados con ella (12). La principal aportación de la ciclosporina es la gran mejoría en los índices de supervivencia a primeros injertos, pero es necesario combinarla antes con productos linfocitotóxicos como ATG (globulina antitimocitos) o ALG (globulina antilinfocítica) para mejorar resultados en pacientes sensibilizados. (44)

6.- INMUNOSUPRESION BIOLÓGICA.

Cualquier tipo de inmunosupresión que modifique o atenúe la respuesta normal a aloinjertos es de hecho una inmunosupresión biológica. Sin embargo el término "inmunosupresión biológica" se usa generalmente para describir aquellos métodos empleados para suprimir inmunidad a aloinjertos que no utilizan agentes quimioterapéuticos u hormonales (esteroides) (33). Dentro de esta clasificación están incluidos las transfusiones sanguíneas (tanto específicas como inespecíficas), el suero antilinfocítico policlonal objeto de la presente revisión y los anticuerpos monoclonales para linfocitos efectorales los cuales son una derivación consecuente de los sueros antilinfocíticos. (33)

Ha sido el deseo de alterar selectivamente la función de los linfocitos sin afectar otras células, el que ha dado origen a la producción de antisueros animales contra linfocitos o timocitos del hombre. Durante más de 30 años, se han empleado estos antisueros o sus respectivas inmunoglobulinas para tratar pacientes, en particular receptores de transplante de órganos (50). Pues se ha comprobado en varias ocasiones que el éxito de cualquier transplante alógeno se debe frecuentemente a las medidas inmunosupresoras adoptadas (44).

El suero antilinfocítico heterólogo ha sido un agente biológico importante tanto en investigaciones experimentales como en el transplante clínico. Su uso está aceptado ampliamente en el transplante clínico, el SAL es un agente inmunosupresor que puede emplearse en la inducción de tolerancia inmunológica específica después del transplante de órganos, más que como adyuvante para el tratamiento de la inmunosupresión crónica. Con la gran aplicación clínica del SAL es importante entender su efecto en los fenómenos biológicos e inmunológicos además del rechazo de aloinjertos. El SAL también es útil como reactivo biológico en medicina experimental para el estudio de la historia natural de las infecciones, los mecanismos involucrados en la inmunidad celular y la oncogénesis experimental. (32)

Los anticuerpos para linfocitos preparados en especies heterólogas: suero antilinfocítico "SAL" o globulina antilinfocítica "GAL" y para timocitos: suero antitimocitos "SAT" o globulina antitimocitos "GAT" son probablemente los reactivos biológicos más efectivos empleados para prolongar la sobrevivencia de

aloinjertos en la mayoría de las especies animales estudiadas experimentalmente (33).

7.- PREPARACION DE SUERO ANTILINFOCITICO.

Cuando se emplea el término suero antilinfocítico en inmunosupresión clínica y experimental, esto implica que se trata de un suero heterólogo, es decir anticuerpos preparados contra especies determinadas de linfocitos o timocitos en especies heterólogas. En estas condiciones se generan anticuerpos de alta afinidad para muchas subpoblaciones de linfocitos (32).

El SAL es un reactivo que puede prepararse según muchos diferentes protocolos. Todos son el resultado de inoculaciones repetidas de suspensiones celulares linfoides de una especie a otra. (32,45)

Para el uso humano se han evaluado muchos tipos celulares como inmunógenos. Aunque se han empleado células de nódulos linfáticos, bazo, timo, sangre periférica o de linfa, comúnmente se utilizan linfoblastos cultivados y timocitos humanos para producir globulina policlonal inmune. Los linfoblastos cultivados son fácilmente disponibles y están libres de células hematológicas y tejido estromático, los cuales pueden estimular la producción de anticuerpos indeseables. Una de las desventajas de emplear linfoblastos cultivados es que de hecho los linfoblastos son células B más que células T. El tejido tímico parece ser la fuente ideal de antígenos de células T, pero no siempre está disponible en la cantidad necesaria. El antisuero que se obtiene con preparaciones celulares del timo requiere de la absorción para eliminar anticuerpos antieritrocitos y antiplaquetas resultando por lo tanto un antisuero relativamente

puro (12,25,32,33,37).

El drenaje del ducto torácico puede proporcionar una fuente alterna de inmudgeno, sin embargo este procedimiento se emplea raramente ya que no se puede contar con él para la producción de grandes cantidades de GAL. Las fracciones de membranas de linfocitos también han producido antisueros muy potentes. Se supone que estas fracciones inducen la producción de antisueros relativamente puros, los cuales requieren poca absorción para eliminar anticuerpos antiplaquetas y antieritrocitos. Estos anticuerpos aparecen en abundancia cuando se usan linfocitos de bazo o de sangre periférica, por lo que estas fuentes antigénicas son menos recomendables. (25,32)

Las especies animales utilizadas para la producción de antisueros antilinfocíticos incluyen a los conejos, cabras, borregos, caballos y monos, pero la mayoría de los investigadores que han trabajado al respecto coinciden en que el suero obtenido en conejos y caballos es más potente que el producido en otras especies. (25,29,32,37,45). Pero aún entre estas dos especies animales empleadas para producir SAL se encuentran diferencias, ya que mientras algunos grupos de investigadores afirman que el caballo es la mejor fuente de antisuero, pues aunque se requiere un poco más de células para inmunizar un caballo que un conejo, el caballo puede proporcionar aproximadamente 90 L de plasma crudo (57); otros argumentan que el suero antilinfocítico obtenido en los conejos es mucho más potente (29). Y existen todavía otros grupos que recomiendan contar con SAL o GAL de diferentes especies de manera que si el receptor se sensibiliza

con globulina de caballo se pueda cambiar a globulina de conejo por ejemplo sin necesidad de interrumpir el tratamiento. (37)

Así como hay una gran variedad de antígenos y especies empleadas para la producción de SAL, existe una gran variación en la dosis, vía de administración, tiempo de inmunización y uso de adyuvantes. Muchos investigadores coinciden en que el suero preparado con adyuvante es más potente, según se ha confirmado por su capacidad para suprimir el rechazo de aloinjertos. Pero por otro lado también señalan que mientras más frecuentes son las inmunizaciones al animal productor de SAL, el suero obtenido será más tóxico por la generación de anticuerpos indeseables. (32,37,45)

El SAL producido por cualquier método, se prueba para evaluar su actividad antilinfocítica mediante numerosos ensayos inmunológicos "in vitro" y si es aceptable se procede a la sangría del animal inmunizado; el antisuero puede contener cantidades variables de anticuerpos para antígenos extraños, los más frecuentes son aglutininas para eritrocitos y hemolisinas, también suelen encontrarse anticuerpos para proteínas séricas y plaquetas. Cualesquiera de estos anticuerpos podría ocasionar efectos colaterales serios cuando el SAL se administra "in vivo" de manera que es necesario eliminarlos para lo cual se emplean casi siempre técnicas de absorción. Después el suero heterólogo es objeto de numerosos procesos de purificación, ya que el análisis de la mayoría de los sueros antilinfocíticos revela que la principal porción de actividad antilinfocítica como se ha determinado por aglutinación de linfocitos, citotoxicidad o transformación linfoide reside en la fracción 7S (IgG). La

fracción IgG normalmente contiene la mayor parte de la actividad inmunosupresora. Las globulinas antitimocíticas (GAT) o antilinfocíticas (GAL) producidas actualmente son preparaciones con anticuerpos policlonales. Se estima que menos del 2% de la globulina administrada para el trasplante clínico de órganos son globulinas antilinfocíticas activas, el resto de las moléculas de IgG están dirigidas a blancos tisulares no linfoides. Sin embargo existen muchas ventajas en el uso de preparaciones de SAL purificadas. La purificación puede evitar la administración de grandes cantidades de proteínas como anticuerpos extraños que serían tóxicos, potencialmente inmunogénicos o aún biológicamente activos. Con las preparaciones antilinfocíticas purificadas y concentradas, se pueden administrar mayores cantidades de anticuerpos específicos en un volumen estándar. Sin embargo la purificación tiene la desventaja de que es costosa y que durante el proceso puede contaminarse la preparación, obligando a deshechar grandes lotes del suero potencialmente útil y lo que es más importante puede ocasionar pérdida de la potencia inmunosupresora por degradación de proteínas. (32,33,37,45).

En la actualidad sólo existe una licencia expedida por la FDA (Food and Drug Administration) para la preparación de suero antitimocitos humanos (ATG, Upjohn) para el trasplante clínico de órganos. Esta es una preparación de IgG equina antitimocitos humanos (33,55). Muchos centros elaboran su propio SAL o SAT, los cuales han resultado altamente efectivos. La globulina antilinfoblástica de Minnesota (ALB Minnesota) es una de dichas preparaciones, elaborada inmunizando caballos con una línea de

cultivo de linfoblastos humanos. Otra preparación comúnmente usada es la globulina de conejo antitimocitos humanos. (33)

Debido a las variaciones de potencia entre un lote y otro de SAL producido en una misma especie animal, se recomienda hacer mezclas antes de evaluarlos. (25)

En la figura 9 se esquematiza brevemente la forma de preparación del SAL.

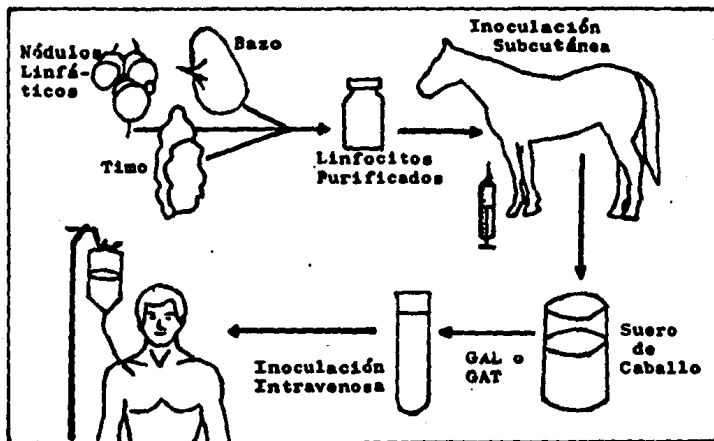


Fig.9. En esta figura se ilustra la secuencia típica en la producción de antisuero policlonal para linfocitos humanos (GAL o GAT). (12,25)

8.- MECANISMO DE ACCION DEL SUERO ANTILINFOCITICO.

Se ha dispensado mucha atención a la cuestión de los mecanismos mediante los cuales el suero antilinfocítico heterólogo o sus fracciones (IgG) ejercen sus extraordinarios efectos biológicos, ya que si existe un completo entendimiento

del modo de acción de estos antisueros se podrá hacer una manipulación más efectiva del sistema inmune. (45)

El mecanismo de acción exacto del SAL o sus fracciones no se conoce, pero se han supuesto diferentes posibles mecanismos a través de los cuales la globulina policlonal inmune puede ejercer su efecto inmunosupresor.

Levey y Medawar fueron los primeros en sugerir que el SAL ejerce su efecto en los linfocitos de la periferia y actualmente numerosos autores han proporcionado evidencias de que el SAL ejerce su acción sobre los pequeños linfocitos circulantes periféricos de vida larga. (32,41,45)

Se supone que el suero antilinfocítico actúa mediante eliminación selectiva de linfocitos pertenecientes al grupo circulante. La importancia de una susceptibilidad especial de las células durante su localización periférica fue sugerida por Levey y Medawar, y sus hipótesis se basan principalmente en experimentos "in vivo" con reacciones de transferencia de linfocitos, los cuales a su vez se apoyan en estudios realizados por otros investigadores. Denman y Frenkel reportaron que la globulina antilinfocítica marcada radiactivamente penetra muy poco en los órganos linfoides aún inmediatamente después de periodos prolongados de administración. Por lo tanto la disminución de células de las áreas paracorticales (áreas asociadas con la circulación periférica de linfocitos) de los nódulos linfáticos y bazo observada después del tratamiento con SAL podría atribuirse principalmente no a la destrucción selectiva de estas células "in situ" sino a una falla para

retornar en el ciclo de su trayectoria. La destrucción selectiva de células T es un hecho perfectamente establecido. Según Mitchison la supresión de células T puede manifestarse de numerosas formas; en particular la pérdida de la actividad cooperadora de las células T puede ser una característica importante en la determinación del resultado del tratamiento.

(45)

Una vez que se ha administrado SAL, se produce una marcada linfopenia, la eliminación selectiva de linfocitos tiene lugar a través de la lisis clásica de linfocitos mediada por complemento y por eliminación de linfocitos debido a la captación del sistema fagocítico-mononuclear (12). Aunque la lisis celular mediada por complemento realmente tiene lugar tanto "in vivo" como "in vitro" y existen reportes de que el complemento se consume "in vivo" después de la administración de SAL. El patrón de secuestro de células marcadas e inoculadas, principalmente por el hígado pero también por el bazo de individuos tratados con SAL, sugiere sin embargo que la opsonización y la fagocitosis pueden ser mecanismos mucho más importantes para la eliminación celular. Esto se fundamenta en las interesantes observaciones hechas en ratones congénitamente deficientes en el factor C5, quienes no obstante, apoyan la actividad inmunosupresora del SAL casi en la misma forma que los individuos congénitos que poseen la secuencia total de complemento. La opsonización requeriría solamente los componentes 1,4,2,3 por lo menos en el esquema clásico de acción de complemento. Es posible asimismo que la opsonización aunque es la ruta principal para la destrucción celular, podría incluir muchas células equivocadas es decir células menos importantes

para la inmunosupresión (45). La fagocitosis se lleva a cabo mediante las células del sistema fagocítico-mononuclear en el hígado, se han obtenido evidencias de ello a través de estudios con linfocitos marcados con Cr-51. Los linfocitos marcados administrados a huéspedes singénicos se dirigen a las áreas periféricas de los nódulos linfáticos. Después de la exposición al SAL "in vitro", estos linfocitos pierden su capacidad de regresar a su lugar de origen y la mayoría de los linfocitos marcados se pueden detectar en el hígado. Los linfocitos normales que entran a la circulación después del tratamiento "in vivo" con SAL también van al hígado. De esta manera el SAL que tiene acceso a los linfocitos de la circulación periférica, causa la desviación de los linfocitos de los órganos linfoides al hígado. El SAL por lo tanto logra una reducción del grupo de linfocitos pequeños en la circulación periférica. Según lo anterior la extraordinaria eficacia del SAL en la inmunidad celular se produce gracias a la circunstancia fisiológica mediante la cual el SAL encuentra primero células linfoides en la circulación periférica. Dichas células están comprometidas principalmente en la inmunidad celular. (32,37)

Otro posible mecanismo de acción que se ha propuesto es la expansión de poblaciones de células supresoras (12). Según Jaffers y col. la linfopenia total que se produce después de la administración de SAL o GAL no es necesaria para la inmunosupresión. Pero además de la gran disminución en el número de células T la GAL o GAT también produce una disminución en la función proliferativa, y estos investigadores han observado que

después de la interrupción del tratamiento el número de células T se incrementa gradualmente mientras que la respuesta proliferativa continúa deteriorada (12,25). Se ha sugerido que este efecto inmunosupresor continuo resulta de la generación de células T supresoras inespecíficas, las cuales se han detectado en modelos animales (ratones y monos). De este modo las evidencias actuales indican que la interrupción inicial de la destrucción del injerto mediada por células resulta de la eliminación de células T con la subsecuente inhibición de la respuesta proliferativa mantenida por las células supresoras inespecíficas. (25)

Un mecanismo de acción adicional es el probable enmascaramiento de los antígenos de las células T por los anticuerpos antilinfocíticos, lo cual daría por resultado el bloqueo de la función de los linfocitos. (12,37,41)

Mónaco y col. han concluido que la explicación más probable para el efecto principal del SAL o SAT es que se combina con linfocitos de la circulación periférica, los cuales son eliminados rápidamente de la circulación por el sistema fagocítico-mononuclear y que otro punto importante de enfatizar es que como se trata de un suero policlonal éste contiene anticuerpos para todos los tipos de linfocitos (T y B) así como para macrófagos, puesto que el inóculo inmunizante indudablemente contiene todas estas células y muchas otras. El hecho de que las preparaciones de SAL o SAT contengan anticuerpos para muchos de los elementos celulares involucrados en la respuesta inmune a aloinjertos explica bastante su eficacia en la modificación del rechazo de aloinjertos. (33)

Independientemente de cual sea el mecanismo de acción real del SAL, lo que si está completamente aceptado por todos los grupos de investigadores que han trabajado con dicho antisuero es que el SAL deprime la inmunidad celular mucho mejor que la producción de inmunoglobulinas (inmunidad humoral) (37,41). Según Lance esto se debe a que las células linfoides que son relativamente sésiles están protegidas porque el SAT o SAL (GAT o GAL) penetra pobremente en los órganos linfoides, explicando de esta forma la conservación de las reacciones humorales en receptores de antisuero policlonal. (37)

Se acepta asimismo que la administración de SAL puede anular la inmunidad de segundo desafío a aloinjertos y la memoria inmunológica. (37)

9.- ACTIVIDAD DEL SUERO ANTILINFOCITICO "In vitro" e "In vivo". PROPIEDADES "In vitro".

El SAL heterólogo combina y aglutina "in vitro" invariablemente células linfoides de la especie que sirvió como donador para el inóculo de linfocitos inmunizantes original (26, 32, 45, 54, 55). La combinación específica de SAL con células puede demostrarse mediante inmunofluorescencia y puede cuantificarse por procedimientos isotópicos. En presencia de complemento los anticuerpos antilinfocitos lisan células "in vitro", la citotoxicidad puede cuantificarse mediante procedimientos estandarizados de exclusión de colorante, o más cuantitativamente mediante métodos de liberación de Cr-51 (11, 26, 32, 37, 45). Los anticuerpos antilinfocíticos en ausencia de complemento también pueden causar la transformación de linfocitos

pequeños maduros a formas inmaduras o blastoides. Esta transformación linfocítica inducida por el SAL es similar a la producida por PHA (fitohemaglutinina) y se refiere como actividad mitogénica del SAL. Esto se ha demostrado en numerosas especies mediante exámenes morfológicos de cultivos tratados con antisuero antilinfocítico así como mediante la cuantificación de la incorporación de Uridina y Timidina marcadas isotópicamente en el RNA y el DNA de linfocitos respectivamente (11,32,37,45). Aunque otros autores han reportado que la respuesta proliferativa "in vitro" a PHA y Con A (concanavalina A) después de la administración de SAL está inmunosuprimida también (51).

Como ya se mencionó anteriormente la porción principal de la actividad transformante del suero antilinfocítico está en la fracción 7S del suero. Además esta actividad transformante está asociada con el componente IgG de la fracción 7S (11,26,32). Estudios sobre la actividad transformante de los fragmentos de anticuerpo han demostrado que el fragmento F(ab)1 (univalente) no aglutinante y no inmunosupresor falla en la estimulación de la transformación linfocítica, pero el fragmento F(ab)2 (bivalente) aglutinante y no citotóxico tiene actividad transformante. La fracción bivalente no citotóxica no es inmunosupresora, sugiriendo que la actividad mitogénica transformante del SAL no depende de sus propiedades inmunosupresoras. Una última propiedad "in vitro" del SAL involucra a la opsonización. Esto puede demostrarse mediante la incubación de células linfoides con SAL "in vitro", e inoculándolas después en animales de prueba donde serán atrapadas rápidamente, particularmente por el hígado. Esto recuerda la captura de células marcadas, por el hígado y el bazo,

la cual tuvo lugar rápidamente, después de la inoculación de SAL "in vivo"; siendo esta una de las razones para considerarla como una probable prueba "in vitro" para predecir la potencia "in vivo" del suero antilinfocítico. (32,45) Existen numerosos métodos para detectar el enlace de moléculas de anticuerpos a la superficie de células linfoides en preparaciones de SAL. Uno de ellos es el que detecta la capacidad del suero para inhibir la formación de rosetas con eritrocitos de carnero en presencia de complemento (11,21,37,45,54,55). Se cree que este fenómeno, extensamente estudiado por J. F. Bach está relacionado con la cantidad de anticuerpos enlazados a células T, los cuales están presentes en el SAL y muchos investigadores la han propuesto como una prueba prometedora de la potencia inmunosupresora "in vivo". (21,32,45,54,55)

Debe señalarse que la mayoría de las actividades de los anticuerpos antilinfocíticos son especie específicos, no particularmente individuales o cepa específicos. También los SAL humanos preparados contra células de nódulos linfáticos de cadáveres humanos seleccionados al azar son igualmente efectivos "in vitro" contra linfocitos de donadores fortuitamente seleccionados. Por lo tanto no hay ventajas en preparar SAL humano "específico" para un receptor individual en proyecto de trasplante. Además la heterogeneidad de los antígenos celulares, así como las células individuales en las suspensiones de linfocitos, usados para la inmunización explica el hecho de que el así llamado SAL reaccione a numerosos tejidos no linfoides. La reactividad cruzada con tejidos no linfoides se debe también a

que los antígenos de linfocitos a los cuales responde el suero heterólogo están representados también en otros tejidos no linfoides. Sin embargo los títulos de anticuerpos para dichos tejidos generalmente no son altos. (32)

PROPIEDADES "In vivo".

La inoculación de SAL "in vivo" inducirá casi invariablemente una linfopenia transitoria, en donde tanto el grado como el periodo de duración de la linfopenia estará relacionado con la dosis. (12,21,32,33,37,45,50,55)

Concomitantemente con esta linfopenia comienza una gradual desaparición de células de las áreas paracorticales de los nódulos linfáticos. En el bazo se ha observado, disminución de linfocitos pequeños especialmente de la envoltura periarteriolar en los cuerpos de Malpigi, mientras que hay un consenso general en que la disminución celular del timo aún después de la administración continua del suero, es mínima. (33,45)

Los cambios en la médula ósea no son notables y el número de células polimorfonucleares en sangre periférica se mantiene e inclusive algunas veces se eleva (45). Se ha reportado granulocitosis asociada, así como una caída en el complemento sérico. Otras células sanguíneas pueden afectarse también por el tratamiento con SAL. Aparte de la granulocitosis transitoria se han observado eosinofilia y monocitosis (32). Se han reportado trombocitopenia y anemia secundaria por anticuerpos antiplaquetas y antieritrocitos después de la administración de ciertos sueros, especialmente después de aquellos preparados contra linfocitos de bazo (26,32). También se han observado linfocitos blastoides o atípicos como los asociados con ciertos síndromes virales después

del tratamiento con SAL en ratones, perros y seres humanos, aunque este fenómeno se presenta en ratones que han sido inoculados con suero normal de conejo, de manera que esto puede representar una respuesta a proteínas heterólogas más que a anticuerpos antilinfocíticos heterólogos específicos. (32)

Como ya se mencionó en otra sección en la población de linfocitos periféricos se pueden distinguir por lo menos dos clases principales de células, un tipo de vida larga y autorrecuperación lenta y otro de vida corta rápidamente recuperable. Muchos sueros antilinfocíticos producen una panlinfocitopenia transitoria inmediatamente después de la inoculación, pero hay evidencias considerables de que las células que retornan a los pocos días a la sangre periférica son principalmente del tipo de vida corta. (32,45)

Estas observaciones además de las del grupo de Everett, en las cuales los linfocitos de vida larga marcados fueron reducidos selectivamente en los nódulos del ducto torácico después del tratamiento con SAL, apoyan o confirman el concepto de que el SAL actúa selectivamente en linfocitos pequeños circulantes de vida larga, ya que el tratamiento con SAL da por resultado una pérdida de células justo de aquellas porciones de los nódulos linfáticos y bazo donde se sabe que residen las células timo-dependientes (células T) circulantes de vida larga (32,33,45). El timo es pasado por alto prácticamente. (32,45)

Los linfocitos de las áreas afectadas fueron reemplazados por histiocitos y macrófagos. Las áreas de necrosis en los nódulos de animales inoculados con suero preparado con adyuvante

(este suero tiende a presentar un efecto linfopénico mayor), estuvieron presentes por más de 4 semanas. Después de 2 - 3 semanas de la terminación del tratamiento con SAL hubo claras evidencias de repoblación de los nódulos linfáticos con reaparición de linfocitos pequeños en áreas paracorticales y otras. Esta coincidió con el inicio de la recuperación de la linfopenia periférica. No hubo evidencias microscópicas de daño aparente en el pulmón, hígado o riñones en ratones bajo tratamiento prolongado de SAL. Los nódulos linfáticos histológicamente afectados estaban frecuentemente hinchados. Es muy interesante el reporte de Denman y Frenkel en el cual tanto los nódulos linfáticos como el bazo, mostraron pérdida de su estructura normal, con eliminación de linfocitos pequeños y, sorpresivamente, la evidencia de proliferación de células reticulares y plasmacitosis después del tratamiento con SAL. Levey y Medawar reportaron hipertrofia de tejidos linfoides después de la administración de SAL y enfatizaron la ausencia de eliminación de linfocitos y la aparición de transformación blastoide en linfocitos de sangre periférica. Señalaron además que la gran hinchazón y la transformación blastoide periférica ocurre después de la administración de suero normal de conejo. Por lo tanto estos últimos cambios se deben principalmente a la introducción de proteínas heterólogas más que a efectos específicos de anticuerpos para linfocitos. (32)

La población de células remanentes en los nódulos linfáticos y el bazo después de un breve tratamiento con SAL, es capaz de montar una respuesta celular normal, por ejemplo: respuesta injerto contra huésped (45). Aunque existen reportes de que en el

hombre durante el tratamiento con GAL se inhibe la capacidad de los linfocitos para montar una reacción injerto contra huésped (37). Las células remanentes tienen un lapso de vida media menor que la población celular nativa, según se determinó siguiendo el destino "in vivo" de células marcadas con timidina - tritiada. Además ésta incluye una porción menor de células que pueden migrar normalmente a nódulos linfáticos cuando se inoculan intravenosamente en individuos normales; pocos responden a PHA (fitohemaglutinina) una cantidad menor forma rosetas con eritrocitos de carnero y menos bajo condiciones experimentales adecuadas son susceptibles a la acción citotóxica de un antisuero anti-O en presencia de complemento o migran electroforéticamente como células T. (45)

Puesto que la administración de SAL reduce el número de linfocitos periféricos formadores de rosetas espontáneas con eritrocitos de carnero, este ensayo de inhibición de la formación de rosetas se ha utilizado con mucha frecuencia para evaluar el efecto de SAL o GAL en algunos pacientes, llegándose a establecer que se alcanza un buen grado de inmunosupresión clínica cuando el porcentaje de células formadoras de rosetas es igual al 10 % del valor inicial, antes de la administración de SAL o GAL. (21,54,55)

El concepto de "dosis por rosetas" (ajustar la dosis de SAL de acuerdo a la cuenta de linfocitos periféricos roseta positivos) se ha aplicado en estudios clínicos de trasplante renal, cardíaco e injertos de piel, y aunque algunos autores han sugerido que la extensión de esta reducción proporciona una guía

útil para la dosis de SAL en receptores de trasplante de órganos, no hay evidencias que indiquen si la dosis es clínicamente efectiva. (21)

En lo que a la respuesta inmune se refiere, el SAL inhibe numerosas reacciones inmunológicas que involucran tanto inmunidad celular como la formación de anticuerpos humorales. (32)

Ciertos antígenos pueden clasificarse como timo-dependientes, mientras que otros son timo-independientes. Parece que el SAL suprime preferentemente la formación de anticuerpos para antígenos timo-dependientes. La respuesta de anticuerpos para antígenos timo-dependientes requiere la cooperación entre células derivadas del timo y de la médula ósea. Los estudios de Martin y Miller establecen claramente que el SAL interfiere con esta respuesta mediante una depresión selectiva de componentes derivados del timo. (32)

El SAL es extraordinariamente efectivo en la supresión de la inmunidad mediada por células. Waskman y col. fueron los primeros en demostrar que las reacciones de hipersensibilidad cutánea de tipo tardío podían abolirse mediante el tratamiento con SAL, con dosis que fallaron para suprimir las reacciones de Arthus (la cual se sabe está mediada por anticuerpos circulantes) (21,32). Similarmente Mónaco y col. reportaron que una dosis mínima de IgG antihumana de conejo administrada durante 3-5 días abolió reacciones de hipersensibilidad tardía positivas en voluntarios humanos durante 6-8 semanas. Estos estudios en cobayos y en el hombre enfatizan la extraordinaria capacidad del SAL para suprimir la inmunidad celular con dosis que fallan para suprimir otras reacciones inmunes. Cuando los receptores tratados con SAL

se exponen a antígenos para los cuales se montan respuestas celulares y humorales (como para virus), la respuesta celular es preferente e invariablemente suprimida. La ineficacia relativa del SAL en la supresión de reacciones inmunes mediadas por anticuerpos circulantes probablemente refleja el hecho de que las células productoras de tales anticuerpos están protegidas de la acción del SAL en virtud de su localización anatómica. Por el contrario la eficacia extraordinaria del SAL en la inmunidad celular refleja la facilidad con la cual el SAL se pone en contacto y actúa sobre los linfocitos pequeños circulantes periféricos timodependientes. (32,55)

10.- USOS CLINICOS DEL SUERO ANTILINFOCITICO Y SUS DERIVADOS.

Los anticuerpos para linfocitos preparados en especies heterólogas (SAL o GAL y SAT o GAT) son probablemente los reactivos biológicos más efectivos empleados para prolongar la sobrevida de aloinjertos y xenoinjertos en la mayoría de las especies animales estudiadas experimentalmente. Aunque el SAL o sus derivados purificados son invariablemente superiores en la prolongación de sobrevida de aloinjertos comparados con drogas clínicamente empleadas como azatioprina, prednisona y más recientemente ciclosporina la efectividad del SAL para la inmunosupresión clínica fue extremadamente difícil de establecer (33).

EFFECTO EN EL RECHAZO DE ALOINJERTOS DE PIEL.

Uno de los efectos más sobresalientes del SAL inicialmente observado además de la linfopenia producida "in vivo" fue la inhibición del rechazo de aloinjertos de piel. Esencialmente en

todas las especies probadas (ratón, rata, perro y hombre) el SAL ha tenido una efectividad extraordinaria en la supresión de rechazos de aloinjertos de piel.

Los estudios de Balner y Dersjant demostraron que la GAL prolonga significativamente la sobrevida de injertos de piel en monos (monos rhesus: *Macaca mulatta* o *Macaca speciosa*) (51,57).

Este hecho se ha generalizado tanto que la prueba de sobrevida de transplante de piel en monos se ha empleado para predecir cuantitativamente la eficacia clínica de un lote de GAT (21).

Thomas y col. encontraron que la potencia en el ensayo de prolongación de injertos de piel indica eficacia clínica potencial de la globulina en receptores de transplante renal (56). Existen evidencias de que el SAL puede prolongar la sobrevida de aloinjertos de piel en pacientes que no han recibido agentes inmunosupresores adicionales (21).

En los injertos de piel en el hombre el tiempo de sobrevida está directamente relacionado con la dosis de GAL administrado a pesar del grado de incompatibilidad (37).

Recientemente se ha obtenido una excelente sobrevida en injertos homólogos de piel en niños con quemaduras graves y bajo tratamiento con GAT cuando los niveles de células T formadoras de rosetas se mantienen aproximadamente en un 10 % de los valores iniciales pre-tratamiento (54).

Pueden hacerse inclusive varias generalizaciones en la sobrevida de injertos considerando el efecto del SAL.

La máxima prolongación para una dosis dada de SAL se alcanza si este se administra en el momento del transplante,

inmediatamente antes o después. El período de prolongación del injerto puede o no coincidir con el período de linfopenia inducida. La administración periódica de SAL después de un régimen inmunosupresor inicial prolongará la sobrevida del injerto por intervalos extraordinariamente largos (aún atravesando las fuertes barreras de histocompatibilidad). La extrema susceptibilidad del rechazo de aloinjertos de piel al SAL se demuestra por el hecho de que dosis altamente tóxicas de irradiación corporal total o drogas citotóxicas fallan en la prolongación de sobrevida de injertos, en la gran extensión en que dosis mínimas de SAL lo consiguen. (32,45)

El SAL también prolonga la sobrevida de aloinjertos secundarios de piel; algo que raras veces o nunca se consigue con irradiación corporal total o drogas citotóxicas. (32)

El tratamiento con SAL puede detener una reacción de rechazo, y mantenerla bajo control.

Finalmente con dosis elevadas de SAL, la memoria inmunológica en términos de rechazo puede borrarse; los animales que han desarrollado inmunidad para aloinjertos pueden tratarse con SAL y transplantarlos tiempo después con injertos de piel en segundo desafío, que hayan rechazado en la forma simple del primer desafío. (32,45)

Estos últimos aspectos, especialmente el efecto del SAL en el rechazo de segundo desafío y la memoria inmunológica, enfatizan además el efecto diferencial del SAL sobre la formación de anticuerpos humorales y el rechazo de aloinjertos de piel (inmunidad mediada por células). El SAL es virtualmente impotente

para compensar la respuesta secundaria de anticuerpos humorales, dejando solamente una memoria inmunológica débil en cuanto a la formación de anticuerpos humorales. (32)

EFFECTO DEL SAL O SUS DERIVADOS EN ALOTRANSPLANTES RENALES.

Después de los injertos de piel en los cuales se comprobó un aumento de sobrevida si se empleaba SAL o sus derivados; el paso siguiente fué investigar que ocurriría con los trasplantes de órganos cuando los receptores fueran tratados con este antisuero. Los primeros estudios por supuesto fueron realizados en animales de experimentación y el primer órgano alotransplantado fué el riñón. Una vez que se estableció cierta concordancia en los reportes publicados por diferentes grupos de investigadores acerca de la efectividad del SAL en la sobrevida de alotransplantes renales en animales estos protocolos se extrapolaron a los seres humanos, y aunque las variaciones de lote a lote de antisueros de caballo y conejo han hecho difícil la estandarización y dicha terapia se ha complicado después por la presencia en algunos sueros, de anticuerpos indeseables (algunos inclusive tóxicos) provocando resultados inconsistentes después del trasplante, las aplicaciones en receptores de trasplantes han continuado con protocolos cada vez mejores. No es raro por lo tanto que durante muchos años las conclusiones sobre la efectividad del SAL en la sobrevida de alotransplantes renales fueran: cierta reducción en el número de episodios de rechazo, pero poca mejoría en el índice de sobrevida (13). Otros investigadores afirman que las principales dificultades inhibitoras de un uso clínico generalizado del SAL han sido la ausencia de una prueba definitiva para asegurar su potencia y

efectividad "in vivo", aunque al respecto se ha propuesto que la determinación de niveles de células T formadoras de rosetas sería un método adecuado para determinar la dosis de SAL en los receptores, el cual permitiría ajustar la dosis diaria del antisuero para mantener a las células roseta - positivas al 10 % aproximadamente de los valores iniciales pre-tratamiento para conseguir una inmunosupresión óptima, sin incrementar la posibilidad de infección, aunque este punto sigue siendo controversial. (54)

En el transplante renal a pesar del continuo mejoramiento en el manejo general de receptores de alotransplante, el rechazo agudo continúa siendo la causa principal de morbilidad y mortalidad. Tradicionalmente el rescate se hacía incrementando la dosis de esteroides, sin embargo con frecuencia se caía en una sobreinmunosupresión, que podía ocasionar más adelante otros episodios de rechazo, alterar la funcionalidad del órgano en cuestión, y aunque en algunos casos esta terapia era capaz de restaurar satisfactoriamente la función del alotransplante, volvía al huésped susceptible a una gran secuela, incluyendo infecciones, alteraciones metabólicas, alteraciones músculo-esqueléticas y neoplasia. (38,49,54)

El uso de SAL o sus derivados en la reversión de rechazos agudos de alotransplantes al principio se hizo en combinación con otros agentes, por lo que era difícil precisar el efecto real del SAL en el rescate de rechazos, se pensaba que sólo ayudaba a revertir más rápidamente un rechazo o que disminuía ligeramente la posibilidad de un segundo episodio de rechazo. (49)

Shield y col. realizaron una serie de experimentos a través de los cuales concluyeron que el SAL puede revertir un rechazo agudo en la mayoría de los casos, y en los que es necesario emplear esteroides, las dosis requeridas son mínimas, por lo tanto se reduce notablemente el riesgo de efectos colaterales mortales, es decir el SAL es más efectivo y menos tóxico. (49)

Cosimi y col. han realizado estudios comparativos en grupos bastante homogéneos (en cuanto a edad, incompatibilidad HLA, número de transplantes previos recibidos, diabetes, presensibilización, etc.) de receptores de alotransplante renal con donador cadavérico (CD), a un grupo se le administró Imuran y prednisona y a otro prednisona más GAT (globulina anti-timocitos). Los resultados obtenidos fueron fundamentalmente importantes en tres áreas: episodios de rechazo tempranos, infecciones y necrosis avascular y las diferencias estadísticamente significativas estuvieron a favor del grupo que recibió prednisona en asociación con GAT, por lo tanto han reportado que el GAT es seguro y efectivo adyuvante en la terapia inmunosupresora convencional y debe considerarse como un agente inmunosupresor convencional en el transplante renal. (29)

Najarian y col. han publicado que en alotransplantes renales de donadores cadavéricos la GAL (globulina antilinfocítica) se administra varias horas antes del transplante y se continúa durante dos semanas después del transplante. Normalmente la han administrado con dosis rutinarias de azatioprina y prednisona y observaron que la sobrevida de alotransplantes aún con incompatibilidades mejoraba notablemente, y que estos resultados estaban en relación directa con la dosis administrada, a dosis

crecientes mejores sobrevividas, detectaron también que hubo una disminución en los episodios de rechazo entre los pacientes que recibieron GAL. (37)

Otros autores han reportado que la sobrevida de alotransplantes renales no se prolonga con GAL cuando este se administra en dosis que ocasionen eliminación substancial de linfocitos circulantes roseta positivos. (21)

El hospital de la Universidad de Minnesota ha publicado que de 120 pacientes con transplante renal y bajo tratamiento con GAL solamente un paciente murió en los primeros 90 días post-transplante y un breve programa con GAL disminuye el número de episodios de rechazo disminuyendo así la terapia con esteroides y reduciendo finalmente el número de complicaciones por infecciones. (37)

Nelson y col. evaluaron la eficacia del GAT en receptores de alotransplante renal de LRD (donador emparentado vivo) y de CD (donador cadavérico) principalmente en el tratamiento de rescate de rechazo agudo de transplante, y han concluido apoyandose en los resultados obtenidos que el GAT es el mejor agente en el tratamiento en todos los receptores de alotransplante de LRD. Con este tratamiento observaron una sobrevida esencialmente igual a la alcanzada en pacientes que nunca han tenido un episodio de rechazo. Además ésta se alcanza sin necesidad de otra manipulación, como serían las transfusiones sanguíneas donador específicas, y generalmente sin necesidad de altas dosis de esteroides. En receptores de alotransplantes renales de CD se han encontrado resultados similares, aunque se requiera un incremento

temporal en la dosis de esteroides en un gran porcentaje de pacientes. Este grupo también está de acuerdo con otros investigadores en el sentido de que se tienen realmente beneficios mínimos cuando el GAL se emplea en forma profiláctica. Parece que su administración en el momento del rechazo es igualmente efectiva en el control del rechazo, y de este modo se evita su empleo completamente en pacientes que nunca presentan rechazo. Sin embargo en pacientes que son sensibles a la terapia de esteroides, se recomienda ampliamente el uso de GAT en forma profiláctica. Los resultados de estos estudios confirman la efectividad del GAT en la reversión del rechazo de alotransplante renal y no obstante que algunos pacientes requieran terapia convencional con esteroides, la inmunoterapia de mantenimiento generalmente se reduce (38). El GAT es superior a la terapia de esteroides no solamente en la reversión de episodios de rechazo inicial sino también limitando la incidencia de episodios de rechazo subsecuentes (21,38). Asimismo se puede concluir que el GAT es el tratamiento de elección en el rechazo de alotransplantes renales tanto en receptores de LRD como de CD.

(38)

Existen otros reportes de la capacidad del SAL para prolongar la sobrevida de alotransplantes renales en seres humanos donde el efecto ha sido equivocado e incluso negativo (21). Estudios donde se ha publicado que el SAL es ineficaz en la reversión del rechazo de alotransplantes renales humanos (21,37). Sin embargo pese a estos reportes no debe perderse de vista lo que se ha señalado en otras secciones de este trabajo sobre la falta de estandarización de algunos de los lotes de SAL

empleados, las variaciones en los programas y dosis aplicadas, la procedencia del suero, los métodos de evaluación, etc.

En los estudios de Renlund y col. se reporta que el OKT3 (anticuerpo monoclonal específico para el antígeno T3) es un agente profiláctico mucho más ventajoso que el GAT, puesto que su administración da por resultado menos rechazos y un requerimiento menor de corticosteroides y disminuye la incidencia de rechazos a largo plazo (42). En este reporte debe aclararse que el antisuero empleado fué de origen equino el cual según coinciden varios investigadores es menos potente que el obtenido en conejos.

Debets y col. reportaron que el tratamiento de rechazo de alotransplante renal agudo, el cual ocurre en aproximadamente 40 - 60 % de los receptores de transplante a pesar de la inmunosupresión con ciclosporina, ha mejorado significativamente desde el advenimiento de la terapia por anticuerpos antilinfocíticos. Se ha reportado un índice de supervivencia al año del transplante de aproximadamente 78 % para pacientes tratados por rechazo agudo de transplante con GAT de conejo. (17)

Recientemente los anticuerpos monoclonales anti-células T como el OKT3 se usan también para este propósito. (17)

Actualmente se acepta que la aplicación principal del SAL o sus derivados es el rescate de rechazo de alotransplante renal, en el cual se ha demostrado su eficacia cuando se emplea asociado con terapia de altas dosis de esteroides, después de la administración de esteroides para rechazos resistentes a estos o como tratamiento único en rechazos (33). Asimismo se ha

comprobado una mejoría en la sobrevida de trasplantes en pacientes tratados con GAL en relación con los pacientes que han recibido terapia inmunosupresora tradicional (54). Frecuentemente se administra GAL inmediatamente después del trasplante antes de instituir la terapia con ciclosporina (33), y aunque algunos autores sugieren que cuando se administran inmunosupresores combinados debe evaluarse muy bien el beneficio esperado porque frecuentemente se cae en un estado de sobreinmunosupresión, otros afirman que aún en los casos en que deba emplearse una terapia inmunosupresora combinada el hecho de incluir SAL o uno de sus derivados reduce notablemente las dosis totales necesarias para alcanzar una inmunosupresión óptima disminuyendo por lo tanto el riesgo de complicaciones infecciosas. (37)

EFFECTO DEL SAL O SUS DERIVADOS EN ALOTRANSPLANTE CARDIACO.

Otra de las aplicaciones clínicas del SAL o sus derivados donde su utilidad se ha estado probando en los últimos años es el trasplante cardíaco, pues los rechazos agudo y crónico continúan siendo la causa principal de muerte prematura después del trasplante y el régimen inmunosupresor óptimo actual sigue siendo controversial. (27)

En un intento por encontrar un protocolo de inmunización adecuado para el trasplante cardíaco, muchas instituciones han utilizado alguna forma de terapia citolítica para células T. (28)

El grupo del departamento de Cardiología de la Universidad de Arizona ha reportado después de 10 años de experiencia en trasplantes cardíacos que la terapia multidroga ha proporcionado los resultados más favorables en la prevención del rechazo. Este grupo ha empleado un programa en el cual se

administró RATG (globulina de conejo antitimocitos humanos) por considerarlo más efectivo que la GAT de caballo, junto con ciclosporina, esteroides y azatioprina. Este programa no solo ha disminuido el índice y frecuencia de rechazos sino que ha disminuido también la proporción de infecciones y complicaciones colaterales. Este grupo incluyó estudios comparativos en los cuales se administró GAT equino y el anticuerpo monoclonal OKT3 y señala que la RATG es más efectiva y que el OKT3 el cual es relativamente nuevo no ha sido aprobado para usarse en trasplante cardiaco, aunque se sabe que es efectivo en la disminución de células T, este agente ocasiona hipotensión y fiebre en la primera administración en más del 70 % de los pacientes y causa edema pulmonar y colapso cardiovascular. (15)

Kormos y col. de la Universidad de Pittsburgh realizaron un estudio para comparar la RATG y el OKT3 en la inmunosupresión post-trasplante. El argumento para emplear estos agentes parece ser el deseo de reducir la cantidad de ciclosporina (nefrotóxica) empleada en el periodo inicial post-trasplante. Esta estrategia está dirigida a preservar la función renal mientras se proporciona una inmunosupresión máxima sin incrementar el riesgo de infecciones oportunistas, la inmunosupresión optima debe alcanzarse cuando es más probable que el huésped responda al nuevo órgano, de este modo se reduce la posibilidad de futuros rechazos. En este estudio se reporta que el rechazo ocurrió mucho después y con reducida frecuencia en pacientes que recibieron RATG durante 5 días como profilaxis que en aquellos que recibieron OKT3 durante 14 días aún cuando todos recibieron

inmunosupresión de apoyo idéntica. La diferencia en el índice de rechazos entre el RATG y el OKT3 fué más notable durante las primeras 5 semanas posteriores al trasplante. (28)

Copeland y col. han observado que el RATG desempeña un papel especial en la inmunosupresión causando disminución en la cuenta de células T inmediatamente después del trasplante y en el grupo de terapia triple proporciona una cobertura inmunosupresora en combinación con la azatioprina y los esteroides hasta que los niveles de ciclosporina alcanzan el rango terapéutico. (15)

Según ciertos autores aunque no hay diferencia significativa en la sobrevida del trasplante cuando se emplean RATG u OKT3, el objetivo de reducir la frecuencia de rechazos tempranos parece justificado por que el riesgo de enfermedad de la arteria coronaria acelerada (generalmente un fenómeno tardío post-trasplante) puede estar relacionado con la frecuencia del rechazo. (27,28)

Existen algunos reportes en los cuales se señala que se han conseguido índices de sobrevida de un año en aproximadamente 90 % de los trasplantes cardíacos con un programa de mantenimiento a base de prednisona, ciclosporina y azatioprina. En la Universidad de Utah han obtenido una reducción en rechazos iniciales con excelente sobrevida a mediano plazo (98 % a un año) con OKT3. (27)

La idea de que la terapia profiláctica de "inducción" con RATG o con OKT3 es necesaria para una sobrevida elevada de alotrasplante cardíaco a mediano plazo, está también en contraposición con los resultados de la Universidad de Minnesota donde han obtenido magnífica sobrevida (87 % a dos años) con un

programa de mantenimiento de prednisona, ciclosporina y azatioprina sin OKT3 o RATG profilácticos. (27)

Kirklin y col. realizaron un estudio comparativo de la eficacia del tratamiento profiláctico anti-rechazos tempranos con RATG y OKT3 en un programa de trasplante cardíaco con una terapia inmunosupresora de tres medicamentos (prednisona, azatioprina y ciclosporina), y recomiendan este programa como un tratamiento efectivo del rechazo agudo con una supervivencia alta a mediano plazo tanto del trasplante como del receptor (100 % de sobrevida en todos los pacientes que se transplantaron entre 1987 y 1989). (27)

Según los estudios anteriores la profilaxis con RATG consigue una reducción importante en los rechazos inmediatos de alotrasplantes sin incrementar el riesgo de infecciones oportunistas mayores, el OKT3 estuvo asociado con más infecciones herpéticas menores en los primeros treinta días del trasplante. Aunque el uso del RATG generalmente causa fiebre y malestar en el sitio de la inoculación (lo que se puede evitar administrando el antisuero por vía intravenosa) no se han reportado episodios de hipotensión o anafilaxia, como tampoco ha habido disminución de la función renal asociada con la "enfermedad del suero", es decir existen efectos colaterales que no comprometen funciones vitales, y que pueden ser atendidas sintómicamente. El OKT3 ocasiona fiebre, dolor de cabeza, náusea, hipotensión y disnea y aproximadamente 70 % de los pacientes del grupo de Kormos y col. requirieron oxígeno o terapia inotrópica después de la primera dosis, (15,28) además la terapia con OKT3 está asociada con una

incidencia del 5 % de meningitis aseptica, el uso de OKT3 requiere un monitoreo cuidadoso por las complicaciones mortales potenciales (28). La meningitis aseptica puede resultar por que los determinantes antigenicos del tejido meningeo podrian ser similares a los determinantes de la superficie del linfocito (11,28). Por otro lado el costo del tratamiento con RATG por paciente es realmente bajo y segun algunos reportes el numero de rechazos se puede prevenir mucho mejor con RATG que con OKT3, el RATG eleva el indice de sobrevivida y disminuye considerablemente la incidencia de infecciones (por bacterias, nocardia y virus) (15), aunque otros reportes sealan que los resultados obtenidos con ambos agentes son muy similares y que el riesgo de infecciones es muy bajo con excepcion de las producidas por citomegalovirus, lo cual es una de las limitaciones principales en estos protocolos (27).

Cabe sefalar que ha pesar de que en todos los protocolos para transplante cardiaco se emplea una terapia combinada de azatioprina, corticoesteroides y ciclosporina ademàs de RATG u OKT3, la dosis de cada agente es menor que las utilizadas en protocolos previos. (27,28)

El grupo de Copeland informa que el RATG es un producto que està disponible en Europa desde la dècada pasada y que espera que el aho pròximo estè disponible en Estados Unidos de Norteamerica porque es realmente recomendable en el transplante cardiaco y sugiere que el programa con OKT3 se reserve a aquellos episodios de rechazo resistentes a esteroides y a RATG. (15)

EFFECTO DEL SAL O SUS DERIVADOS EN AFLASIAS MEDULARES.

Otra aplicaci3n clìnica del SAL o sus derivados sumamente

importante y no menos controvertida es el tratamiento de anemia aplásica, el interés por probar su utilidad terapéutica en este padecimiento surgió porque varios grupos de investigadores se enfrentaron al problema de la "enfermedad injerto contra huésped" cuando se realizaban trasplantes de médula ósea. La "enfermedad injerto contra huésped" (GVHD) es la complicación principal del trasplante de médula ósea alogénica y se cree que está mediada fundamentalmente por linfocitos T del donador (21). A pesar de la selección de HLA compatibles y el uso de tratamiento inmunosupresor post-trasplante, la mitad de los receptores desarrollan GVHD, y aproximadamente 25 % de ellos mueren. Se han diseñado protocolos en los cuales la médula ósea del donador se incubaba "in vitro" con globulina antilinfocítica humana y después se administra al receptor (21,43,58) y en algunos casos se han obtenido resultados verdaderamente sorprendentes, consiguiendo sobrevividas de 200 días con una recuperación hematopoyética a niveles casi normales cuando la médula se transplantó en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (43). Otros grupos han señalado que el SAL falla en la prevención de la GVHD pero que la severidad del rechazo disminuye en pacientes que recibieron SAL en comparación con los pacientes control que no recibieron el antisuero (21). Algunos investigadores afirman que la administración del GAT realmente se traduce en una mejoría en la GVHD en la mayoría de los pacientes sometidos a este tratamiento, pero que la evaluación de los beneficios clínicos generales fue muy difícil y que el GAT se debe administrar hasta que se tengan evidencias de GVHD severa o moderada (58).

El SAL o sus derivados se han empleado con mucho éxito en el tratamiento de anemia aplásica, ya sea en combinación con el trasplante de médula ósea o con otros inmunosupresores.

La anemia aplásica es una alteración hematológica fatal que se manifiesta por una disminución importante del número de elementos formes de la sangre periférica, glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas a consecuencia de una insuficiencia hematopoyética medular que afecta a las tres series. La causa que genera la pancitopenia reside en la propia médula ósea y no en la sangre periférica. (61)

En la mayoría de los casos de anemia aplásica (AA) la causa se desconoce y se han manejado muchos mecanismos patogénicos potenciales. La mayoría de los reportes sugieren que la AA es generalmente el resultado de la ausencia o de un defecto de las células germinales hematopoyéticas. Las causas menos comunes incluyen defectos en el microambiente de la médula ósea o anomalías de células o de factores reguladores hematopoyéticos. En los últimos años ha habido un interés considerable en la participación del sistema inmune en la regulación de la hematopoyesis normal en la patogenia de la AA. (14,36,61)

Algunos grupos han publicado resultados de estudios "in vitro" compatibles con el concepto de que la supresión de la hematopoyesis mediada por linfocitos T circulantes o por anticuerpos es la causa de anemia aplásica en algunos pacientes. Las observaciones clínicas también sugieren que la inmunidad anormal puede contribuir a la patogénesis del padecimiento, ya que aproximadamente la mitad de un grupo de pacientes con AA

quienes recibieron trasplante de médula ósea de gemelos genéticamente idénticos no recuperaron la hematopoyesis normal. La mayoría de estos pacientes la recuperaron sin embargo, cuando se efectuó un segundo trasplante precedido de un tratamiento inmunosupresor. Además algunos pacientes han recuperado la hematopoyesis autóloga después del tratamiento con agentes inmunosupresores en combinación con un trasplante fallido de médula ósea o después de un tratamiento inmunosupresor sólo (14,36).

Actualmente no hay terapia efectiva probada para los pacientes con anemia aplásica que no sean candidatos a un trasplante de médula ósea (14). La AA grave tiene una mortalidad superior al 80 % cuando los pacientes sólo reciben transfusiones, anabólicos o ambos. Además la incidencia de la GVHD con su morbi-mortalidad asociadas limita la posibilidad del tratamiento con trasplante de médula ósea a aquellos pacientes sin donador histocompatible o con edad superior a los 40 años (3,36). Por ello algunos investigadores han evaluado la GAT o GAL como un agente terapéutico potencial, que aumente el número de enfermos que sobrevivan a los primeros meses de evolución del padecimiento que es cuando fallece la mayoría. (3,14,36)

En varios estudios iniciales no controlados se ha reportado que aproximadamente 30 - 65 % de los pacientes con AA bajo tratamiento con GAL se han recuperado. Otros investigadores han reportado índices más bajos y por ello la eficacia del GAL continúa siendo controversial. (14)

Es indudable que el trasplante de médula ósea conlleva una

morbi-mortalidad directas asociadas mayores que el tratamiento inmunosupresor, sin embargo ofrece una serie de ventajas incuestionables; pero para aquellos pacientes que carecen de donadores HLA- idénticos o que son mayores de 40 años en los cuales existe un alto riesgo de complicaciones post-transplante la mejor, sino es que la única alternativa terapéutica es el tratamiento con GAL o GAT, con el cual se han reportado resultados efectivos en aproximadamente 50 % de los pacientes, por lo que se sugiere que antes de la administración del antisuero se identifique a los mejores candidatos. En este estudio solamente los pacientes que recibieron GAL mejoraron hematológicamente. (14)

El pronóstico de los enfermos menores de 40 años con un donador compatible también mejoró en forma importante después de la administración de GAL. El GAL disminuye significativamente la mortalidad de los pacientes con AA grave durante los primeros meses de evolución del padecimiento, lo que permite que se instale algún tipo de remisión en un porcentaje elevado de pacientes. (36)

Otros autores han señalado que los resultados obtenidos con GAT son esperanzadores. El porcentaje de respuesta fue de 60 %. Los pacientes que no responden o que recidivan tras tener una respuesta inicial pueden responder a otro nuevo tratamiento y mencionan como factor importante en la obtención de respuesta la administración de GAL en un intervalo no superior a los 2-4 meses a partir del diagnóstico. La supervivencia que se llega a alcanzar a largo plazo va de 48-61.6 %. (3)

Otros investigadores han reportado que aproximadamente 44 %

de los pacientes tratados con GAL responden con un índice de sobrevida promedio de 60 % al año. (9)

El mecanismo inmune de la anemia aplásica se ha identificado en 30-35 % de los sujetos estudiados (36). Champlin y col. sugieren que la GAT puede actuar alterando el balance de células reguladoras linfoides para estimular la hematopoyesis, aunque también debe considerarse la posibilidad de que el GAT actúe a través de un mecanismo diferente al de la modulación inmune. (14)

En otras publicaciones se ha señalado que el mecanismo mediante el cual la GAL o GAT mejoran la función de la médula ósea en la AA podría ser la eliminación de una supresión anormal de tipo inmune de la hematopoyesis, también se han sugerido el efecto estimulante directo en las células hematopoyéticas germinales, la activación de células accesorias con la consecuente liberación de factores de crecimiento hematopoyéticos y una acción inmunoestimulante. Al respecto el grupo de Lopez-Karpovitch realizó un estudio acerca del comportamiento de las subpoblaciones de células mononucleares inmunorreguladoras en pacientes con AA que habían recibido terapia con GAT y encontraron que todos los pacientes con AA de este protocolo presentaban niveles elevados de células Tac+ (receptor para interleucina-2) antes y durante las primeras administraciones de GAT, pero que conforme progresó el tratamiento se observó una marcada disminución y una "normalización" en los niveles de células Tac+ circulantes, por lo cual se le atribuye un papel patógeno a las células Tac+ en pacientes con AA y se supone que el blanco de la terapia con GAL pueden ser las células

mononucleares Tac+. Asimismo observaron un incremento importante de células Leu-M3+ circulantes (monocitos) en los pacientes con AA durante el tratamiento con GAL. Esto fue importante porque el número de monocitos en la sangre periférica refleja indirectamente la función de la médula ósea por lo que se puede pensar que el GAL ejerce un efecto estimulante en la monopoiesis. El GAL podría desempeñar un papel dual "in vivo", destruyendo células con actividad mielosupresora putativa y estimulando la hematopoiesis. (31)

Todos los grupos que han empleado la GAT o GAL recientemente como un tratamiento para la anemia aplásica señalan que es el único inmunosupresor que ha resultado efectivo en este padecimiento y que en la actualidad representa un recurso terapéutico útil por ser la única alternativa al trasplante de médula ósea. (36)

OTRAS APLICACIONES DEL GAL O SUS DERIVADOS.

Existen algunos reportes en los cuales se ha probado el GAL o sus derivados en el tratamiento de padecimientos tan diversos como: glomerulonefritis, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, esclerosis múltiple, linfoma humano, leucemia linfoblástica, miastenia gravis y enfermedad renal mediada inmunológicamente, en tales estudios los resultados son contradictorios, ya que mientras ciertos autores afirman su efectividad otros niegan su valor terapéutico en dichas enfermedades; se ha publicado también el efecto positivo que tiene el GAL en trasplantes de intestino delgado para evitar reacciones del tipo GVHD (debido a la gran cantidad de tejido linfoide el intestino delgado es el único órgano sólido capaz de

desencadenar una respuesta de este tipo) aunque este trasplante sólo se ha efectuado en modelos animales (perros y ratas) (21,37,41,48). Es necesario esperar que se realicen más estudios y mejores para poder llegar a establecer generalidades al respecto.

EL SAL O SUS DERIVADOS COMO AGENTES PROFILACTICOS.

Puesto que los estudios iniciales usando globulina policlonal inmune como inmunosupresor profiláctico mostraron resultados conflictivos, generalmente no se ha empleado con este fin. Sin embargo estudios más recientes han demostrado una mejoría de un 10 - 15 % en la sobrevida de injertos con globulina policlonal inmune profiláctica comparada con la inmunosupresión por esteroides. Los estudios también indican que el uso profiláctico puede reducir el número y la severidad de los episodios de rechazo, y que aquellos que ocurran sean tardíos y fácilmente reversibles (12). Existen asimismo reportes acerca de la tolerancia a alotransplantes inducida por la administración de médula ósea del donador y SAL previos al advenimiento de la ciclosporina A en seres humanos donde se obtuvieron resultados positivos. Estos estudios enfatizan que el modelo SAL - médula ósea fresca o congelada obtenida de donadores vivos relacionados o donadores cadavéricos puede ser efectivo en alotransplantes humanos, ya que en modelos animales se han tenido resultados muy satisfactorios. La efectividad de la administración de SAL - médula ósea (donador específica) post-trasplante se ha evaluado no sólo por el mejoramiento del paciente y la sobrevida del injerto sino también por otros efectos benéficos como la

disminución de esteroides, la reducción de rechazos y la minimización de inmunosupresión de mantenimiento requerida. Con este método se ha sugerido que en donadores cadavéricos de multiórganos se podría obtener médula ósea (por fraccionamiento de las costillas) en cantidad suficiente para inducir tolerancia en todos los receptores de transplante (corazón, riñones, pulmones, páncreas). Los resultados podrían ser mejores si se combinan los diferentes agentes inmunosupresores: azatioprina, prednisona, ciclosporina, SAL y médula ósea en protocolos adecuadamente planeados, pudiéndose llegar en estudios cada vez mejor controlados a prescindir de algunas drogas. (35)

EFFECTOS COLATERALES DEL SAL O SUS DERIVADOS.

Muchas de las complicaciones en la terapia con SAL son resultado de sus efectos secundarios a causa de su gran contenido de anticuerpos a células extrañas como son: los eritrocitos, plaquetas y la presencia de proteínas séricas heterólogas (32,37). Si el GAL se prepara con linfoblastos cultivados, el antisuero no contendrá tales anticuerpos, no requerirá absorción y se podrá administrar intravenosamente sin efecto trombogénico importante y puede darse en grandes dosis sin producir anemia o trombocitopenia. El uso de GAL preparado contra antígenos purificados y la vía de administración venosa proporciona la máxima seguridad (37). Un segundo grupo de complicaciones se deben a reacciones alérgicas a proteínas heterólogas específicas e inespecíficas. Antes de la administración clínica de cualquier presentación de SAL debe descubrirse cuidadosamente la posible sensibilidad existente a proteínas heterólogas en el candidato a receptor, exactamente antes de la primera dosis de SAL. Algunos

investigadores sugieren que las pruebas y la administración de SAL se hagan al mismo tiempo que el transplante, de manera que si el transplante preparado no se hace por alguna razón como se planeó, el peligro de la sensibilización al SAL o GAL sin un programa de tratamiento completo se evita. De esta manera el SAL puede usarse en un futuro sin el riesgo de una sensibilización previamente inducida. (32)

La GAL o GAT pueden producir fiebre, escalofríos, urticarias u otras manifestaciones alérgicas las cuales responden generalmente al tratamiento con antihistamínicos y corticoesteroides. (17,32,37,38 55)

Otros efectos colaterales incluyen, artralgias, dolor lumbar, náuseas, vómito, hipertensión, taquicardia, angina de pecho, disnea causada por broncoespasmo y edema pulmonar, aunque muchos de ellos son realmente esporádicos (13,17). Se ha sugerido que la posible causa de estos efectos colaterales es la liberación de citocinas procedentes de los linfocitos lisados como un resultado de la administración de GAL o GAT. Puesto que la fiebre y el escalofrío son síntomas preponderantes observados en pacientes tratados con SAL a pesar de no haberse encontrado sustancias pirogénicas mediante pruebas de control en las preparaciones antes de administrarlas, se investigaron las concentraciones plasmáticas de citocinas, TNF (factor de necrosis tumoral) caquectina e interleucina-1 β , las cuales poseen una fuerte actividad pirogénica, encontrándose que tales sustancias se elevan durante el tratamiento de rechazo de alotransplante renal con GAT. En esta investigación Debets y col. concluyen que

las reacciones sistémicas que acompañan el tratamiento del rechazo de alotransplantes renales con GAL o GAT están relacionadas con los altos niveles de TNF circulantes, aunque la contribución de otros mediadores endógenos (pirogenicos) como la IL-1, IL-6, linfotóxina e IFN- γ no debe excluirse. (17)

Se ha reportado una alta incidencia de tumores espontáneos malignos en pacientes inmunosuprimidos crónicamente, sin que haya una correlación directa con la administración de GAL o GAT. Sin embargo Deodhar y col. reportaron el caso de un paciente con sarcoma de células reticulares en el sitio de la administración intramuscular del antisuero, este hallazgo enfatiza la necesidad de administrar intravenosamente el GAL para minimizar la rara posibilidad del desarrollo de tumores malignos en el sitio de la administración. (32,37)

Algunos autores asociaban la frecuencia de infecciones por citomegalovirus con la administración de GAL o GAT, sin embargo Nelson y col. observaron que si se disminuye la dosis de inmunosupresores incluido el GAT o GAL la incidencia de este tipo de infecciones se reduce notablemente y que la infección más frecuente entre los pacientes que recibieron GAL o GAT fue por Herpes labialis. (38)

11.- ANTICUERPOS MONOCLONALES.

Los anticuerpos monoclonales son otro ejemplo de los denominados inmunosupresores biológicos, estos surgieron como una consecuencia de la búsqueda de especificidad o selectividad de los anticuerpos antilinfocíticos policlonales. El OKT3 (Orthoclone, Orthoclone OKT3, o muromonab CD3) es el primer anticuerpo monoclonal que está disponible para la terapia en

humanos. Es un anticuerpo monoclonal contra el antígeno CD3 (T3), el cual es un marcador común de todas las células T humanas maduras. Cuando se administra "in vivo" causa una disminución rápida en el número de células CD3 (T3) circulantes, así como de células CD4+ y CD8+. Algunos ensayos clínicos han demostrado que el OKT3 es efectivo en la reversión de episodios de rechazo agudo de transplante renal, hepático, cardíaco y en el transplante de riñón-páncreas. También ha sido efectivo en el tratamiento de rechazos resistentes a las terapias convencionales. De modo que este agente ofrece una alternativa importante cuando no hay más opciones terapéuticas. Otros investigadores han señalado que el OKT3 es más efectivo que las altas dosis de corticoesteroides en la reversión de los primeros episodios de rechazo agudo renal o hepático. Además se han conseguido buenos resultados contra el rechazo agudo renal y cardíaco en el periodo post-transplante, y en forma preliminar parece efectivo en la GVHD en pacientes con transplante de médula ósea (33,47,62). Aunque en forma general los resultados obtenidos con la administración de OKT3 son muy similares a los conseguidos con SAL o sus derivados, las reacciones colaterales que desencadena este anticuerpo monoclonal suelen ser más severas que las ocasionadas por GAL o GAT y además comprometen más funciones vitales que el antisuero policlonal, una limitante muy importante de este agente es la rapidez con que se generan anticuerpos contra el OKT3, sensibilizando al receptor, o causando enfermedad del suero e inclusive provocando shock anafiláctico (47,62). Sin embargo su aparición es relativamente reciente y habrá que esperar la realización de

otras investigaciones para evaluar realmente su efectividad.

12.- CONCLUSIONES .

A lo largo de este trabajo se ha intentado poner de manifiesto la importancia clínica de uno de los inmunosupresores más controvertidos que se han empleado desde la década de los sesentas, época en la que se dieron a conocer los primeros estudios en modelos animales experimentales empleando SAL, GAL o GAT; se han mencionado trabajos en los cuales los resultados han sido realmente sorprendentes y estudios donde sus aportaciones terapéuticas han sido mínimas o nulas. Pero haciendo un análisis global de la información aquí presentada se puede establecer lo siguiente:

1.- Si bien es cierto que los resultados de muchos protocolos inicialmente se contraponían (debido tal vez a las diferencias en la potencia entre lotes de antisuero, a los programas de administración en receptores de transplantes, a los métodos de valoración, etc.) actualmente se acepta que el SAL o sus derivados es un agente inmunosupresor que debe considerarse dentro de la terapéutica del transplante. Principalmente en transplante renal, donde se ha incorporado como inmunosupresor rutinario y como el único agente efectivo en el rescate de rechazo agudo.

2.- Aún cuando en la mayoría de los estudios se ha empleado el SAL o sus derivados en combinación con otros agentes inmunosupresores, las dosis de cada uno de ellos se han reducido considerablemente, lo que trae como consecuencia que se alcance una buena inmunosupresión sin caer en sobreinmunosupresiones que pondrían en riesgo al paciente, al transplante o a ambos.

3.-Las posibilidades que se plantean en trasplantes cardiacos cuando se emplea el SAL, GAL o GAT también son dignos de tomarse en cuenta, aunque este es un punto en el que todavía se está trabajando activamente y no será sino hasta dentro de algunos años cuando se puedan establecer conclusiones como en el caso del trasplante renal.

4.- Un beneficio verdaderamente reciente dado a conocer por diferentes grupos de investigadores, es el relativo a la utilidad que representa en SAL, GAL o GAT en el tratamiento de aplasias medulares, específicamente en anemias aplásicas, puesto que ya se han tenido resultados muy satisfactorios y además porque constituye la mejor alternativa al trasplante de médula ósea.

5.- Actualmente parecería que el SAL, GAL o GAT resultan obsoletos si se comparan con los anticuerpos monoclonales (OKT3) de uso clínico, debido a los inconvenientes que su producción implica, es decir, las variaciones de potencia de lote a lote, los contaminantes asociados, los efectos colaterales que desencadena su administración, etc., sin embargo no hay que perder de vista que es un agente muy económico en relación con el OKT3, que los efectos que desencadena no comprometen funciones vitales como el monoclonal y que la estandarización de los diferentes lotes de antisuero probablemente se alcance muy pronto ya que por ejemplo en Estados Unidos de Norteamérica existe un gran interés en incorporar este inmunosupresor como agente rutinario en el trasplante de corazón. Además existen algunas investigaciones sobre la posibilidad de reducir la antigenicidad de proteínas heterólogas mediante el enlace a polietilén glicoles (1,2,16), lo cual representa una buena alternativa a futuro para

disminuir efectos indeseables del SAL, GAL o GAT cuando se administre a receptores de transplante. Una ventaja más del SAL, GAL o GAT sobre el OKT3 es que éste último ocasiona una rápida sensibilización en los receptores de dicho agente.

6.- Los sueros antilinfocíticos, GAL o GAT pueden elaborarse domesticamente si se controlan adecuadamente todas las etapas de producción (fuente celular, vía de inoculación, presencia de adyuvante, dosis, especie animal productora de antisuero, pruebas para evaluar potencia "in vitro" e "in vivo", purificación, etc.) de manera que estos productos sean de óptima calidad y puedan aplicarse a programas de transplante o al tratamiento de otros padecimientos.

7.- Considero que el SAL, GAL o GAT constituye un elemento importante dentro de los inmunosupresores que actualmente se están empleando y puesto que todos representan beneficios y riesgos terapéuticos, lo mejor es administrarlos en programas multidroga a fin de disminuir sus efectos colaterales y potenciar su efectividad.

8.- Finalmente no se excluye la posibilidad de producir sueros antilinfocíticos en algún centro hospitalario del país para consumo nacional a un costo reducido.

13.- GLOSARIO

AA. Anemia aplásica.

ADCC (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos). Una reacción citotóxica en la cual las células "killer" portadoras del receptor Fc reconocen células blanco via anticuerpos específicos.

Anafilaxis. Reacción inmune antígeno específica mediada principalmente por IgE lo que ocasiona una vasodilatación y constricción de músculos lisos, incluyendo los de los bronquios y que puede provocar la muerte del animal.

Antígenos Ia. (Antígenos asociados con la región I). Antígenos que son controlados por los genes Ir y que están presentes sobre diversos tejidos.

APCs (células presentadoras de antígenos). variedad de tipos celulares que portan antígenos de manera que puedan estimular a los linfocitos.

C1-C9. Componentes del complemento clásico y la vía lítica que son responsables de mediar las reacciones inflamatorias, de la opsonización de partículas y la lisis de membranas celulares.

CD (marcadores). Moléculas de la superficie celular de leucocitos y plaquetas que se detectan con anticuerpos monoclonales y se usan para diferenciar poblaciones celulares.

CD. Donador cadavérico.

CD4+. Marcador de superficie de linfocitos T cooperadores/inductores (OKT4, T4, Leu 3).

CD8+. Marcador de superficie de linfocitos T citotóxicos/supresores (OKT8, T8, Leu).

Células dendríticas. Grupo de células presentadoras de antígenos presentes en los nódulos linfáticos, bazo y en bajo nivel en sangre, las cuales son particularmente activas en la estimulación de células T.

Células K (Células "killer"). Grupo de linfocitos capaces de destruir sus blancos a través de citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos. Poseen receptores Fc.

Células NK (células "natural killer"). Un grupo de linfocitos que poseen la capacidad intrínseca de reconocer y destruir algunas células viral y tumoralmente afectadas.

Células TH (Células T cooperadoras). Subclase funcional de células T que pueden ayudar a generar células T citotóxicas y cooperar con células B en la producción de una respuesta por anticuerpos.

Células Ts/c (Células T supresoras). Subpoblación de células T que actúa reduciendo la respuesta inmune de otras células T o B.

Células IEL. Linfocitos intraepiteliales.

Moléculas Clase I, II, y III del CPH. Los principales tipos de moléculas codificadas dentro del CPH. Las moléculas de clase I tienen un péptido codificado en el CPH asociado con beta-2 microglobulina. Las moléculas de clase II tienen dos péptidos codificados dentro del CPH pero que no están asociados covalentemente y las moléculas de clase III que incluyen componentes del complemento.

Restricción clase I y II. Observación de que las células sólo cooperan efectivamente cuando comparten haplotipos CPH en los loci de clase I o de clase II.

Con A (concanavalina A). Un mitógeno para células T.

CPH (Complejo principal de histocompatibilidad). Región genética que se encuentra en todos los mamíferos cuyos productos son fundamentalmente responsables del rechazo rápido de injertos entre individuos y funciona en la señalización entre linfocitos y células que expresan antígenos.

CR1,CR2,CR3. Receptores para fragmentos C3 activados.

Citocinas. Un término genérico para moléculas solubles que median interacciones entre células.

DTH ("Delayed type hypersensitivity"). Hipersensibilidad de tipo tardío, este término incluye las reacciones cutáneas de tipo tardío asociadas con hipersensibilidad de tipo tardío.

Enfermedad del suero. Respuesta inmunitaria adversa a una antígeno extraño, habitualmente una proteína heteróloga.

Epstein-Barr virus (EBV). Agente causal del linfoma de Burkitt y de la mononucleosis infecciosa, el cual transforma las células B humanas en líneas celulares humanas.

Fab. Parte de la molécula de un anticuerpo que contiene el sitio combinante con el antígeno, consta de una cadena ligera y parte de la cadena pesada y es producida por digestión enzimática.

Fc. La porción de un anticuerpo que es responsable de enlazarse a los receptores de anticuerpos sobre las células y al componente C1q del complemento.

Gamma globulinas. Proteínas del suero con movilidad gamma en la electroforesis que comprenden la mayoría de las inmunoglobulinas y anticuerpos.

GAL. Globulina antilinfocítica.

GAT. Globulina antitimocítica.

GVHD ("graft versus host disease"). Reacción injerto contra huésped, condición causada por linfocitos alogénicos del donador que reaccionan contra el tejido del huésped en un receptor inmunosuprimido.

H-2. Complejo principal de histocompatibilidad murino.

HLA (Antígenos leucocitarios humanos). La mayor región genética de histocompatibilidad en el hombre.

Inmunoglobulinas. Glucoproteínas compuestas de cadenas H y L que funcionan como anticuerpos.

IFNs (Interferones). Grupo de mediadores que incrementan la resistencia de células a infecciones virales, y actúan como citocinas.

IFN- γ (Interferón gamma). Mediador biológico muy importante.

Interleucinas (IL-1 - IL-7). Grupo de moléculas involucradas en la señalización celular del sistema inmune.

LAFs (Antígenos funcionales de leucocitos). Grupo de tres moléculas que median la adhesión celular entre leucocitos y otras células en forma antígeno inespecífica.

LRD. Donador emparentado vivo.

Loci. Plural de locus.

Locus. El sitio específico de un gene sobre un cromosoma.

Linfocinas. Un término genérico para moléculas involucradas en la señalización entre células del sistema inmune y son producidas por los linfocitos (interleucinas).

Mitógenos. Sustancias que estimulan la división celular particularmente de los linfocitos.

Monoclonal. Derivado de una sola clona, anticuerpos monoclonales, los cuales son producidos por una sola clona y son homogéneos.

OKT. Grupo de anticuerpos monoclonales empleados para identificar marcadores de superficie celular en linfocitos T humanos.

PHA (fitohemaglutinina). Un mitógeno para células T

PMN. Polimorfonucleares.

RATG. Globulina de conejo antitimocitos humanos.

SAL. Suero antilinfocítico.

SRE (Sistema retículo endotelial actualmente conocido como sistema fagocítico mononuclear). Sistema difuso de células fagocíticas derivado de células germinales de médula ósea que están asociadas con el tejido conectivo estructural del hígado, bazo, nódulos linfáticos y otras cavidades serosas.

TCR (receptor de células T). Receptor antigenico de células T que consta ya sea de un dímero α/β (TCR2) o de un dímero γ/δ (TCR1) asociado con el complejo molecular CD3.

TPC. tercera población celular.

TNF (Factor necrótico tumoral). Citotoxina liberada por macrófagos activados que está relacionada estructuralmente con las linfoxinas liberadas por las células T activadas.

14.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abuchowski Abraham, McCoy John R., Palczuk Nicholas C., van Es Theo and Davis Frank F. 1977 J Biol Chem 252:3582.
- 2.- Abuchowski Abraham, van Es Theo, Palczuk Nicholas C. and Davis Frank F. 1977 J Biol Chem 252:3578.
- 3.- Arranz R., Steegmann J. L., Fernández Garesse D., Figueroa A. Vázquez L. y Fernández Rañada J. M. 1989 Rev Clin Esp 184:121-124.
- 4.- Ascher N.L., Hoffman R.A., Hanto D.W. and Simmons R.L. 1984 Immunological Rev 77:217.
- 5.- Ascher N.L. and Simmons R. L. Organ Transplantation and Replacement. Cerilli G. James. Philadelphia. J.B. Lippincott Co. 1988 Pág: 67-68.
- 6.- Bach J.F. y Lesavre P. Inmunología. Barcelona Ed. Masson S.A. 1983 Pág: 261-271.
- 7.- Balner H. and Dersjant H. In Wolstenholme G.E.W. and O'Connor M. (eds). Antilymphocytic Serum (Ciba Foundation Study Groups No. 29). Boston Little Brown and Co. 1967 Pág: 85.
- 8.- Bieber Charles P., Jamieson Stuart, Raney Aidan, Burton Nelson, Bogarty Sharon, Hoppe Richard, Kaplan Henry S., Strober Samuel and Stinson Edward B. 1979 Transplantation 28:347.
- 9.- Bielory L., Wright R., Nenhuis A.W., Young N.S., Kaliner Michel A. 1988 J A M A 260:3164-3167.
- 10.-Borel Yves 1984 Springer Semin Immunopathol 7:19-24.
- 11.-Braathen Lasse R., Forre Oystein and Natvig Jacob B. 1978 Clin Immunol Immunopathol 13:211.
- 12.-Burdick James F., Strom Terry B. Immunosuppression in Transplantation. The Biology and Therapeutic Modalities. Belzer Folkert O. Editor. Chicago USA 1990 American Society of Transplant Surgeons.
- 13.-Carpenter Charles B. and Strom Terry B. 1984 Springer Semin Immunopathol 7:43-57.
- 14.-Champlin Richard, Ho Winston and Gale Robert P. 1983 N Engl J Med 308: 113.
- 15.-Copeland J.G., Icenogle T.B., Williams R.J., Rosado L.J., Butman S.M. et. al. 1990 Thorac Cardiovasc Surg 99:852-860.
- 16.-Davis S., Abuchowski A., Park Y.K., Davis F.F. 1981 Clin Exp Immunol 46: 649-652.

- 17.-Debets Joop M.H., Leunissen Karel M.L., van Hooff Hans J., van der Linden Cees J. and Buurman Wim A. 1989 Transplantation 47: 487-492.
- 18.-Golub Edward S. Immunology a synthesis. Sunderland Massachusetts USA. Sinauer Associates. 1987 Pág: 234-249.
- 19.-Grabar Pierre and Loisillier Felix 1878 Immunochemistry 15:797.
- 20.-Hamburger J., Crosnier J., Dormont J. and Bach J.F. Renal Transplantation. London 1967 Pág: 100-129.
- 21.-Heyworth Martin F. 1982 Immunological Rev 65: 79-97.
- 22.-Hicks Gómez J.J. y Díaz Zagoya J.C. Bioquímica e Inmunología Vol. 2. México D.F. Ed. Facultad de Medicina UNAM 1988 Pág: 421-427 y 525-535.
- 23.-Humphrey J.H. In Wolstenholme G.E.W. and O'Connor M. (eds). Antilymphocytic Serum (Ciba Foundation Study Groups No.29). Boston. Little Brown and Co. 1967 Pág: 2.
- 24.-Hutchinson I.V. Kidney Transplantation. New York. Grune and Stratton Ltd. 1984 Pág: 308-309.
- 25.-Jaffers G.J. and Cosimi A.B. Kidney Transplantation. New York. Grune and Stratton Ltd. 1984 Pág: 281-290 y 296-297.
- 26.-Kashiwagi Noboru, Sherer David, Townsend Courtney M., Jacobs Roberta, Ono Keiji, Kapur Brij y Starzl Thomas E. 1970 Surgery 67:789.
- 27.-Kirklin James K., Bourge Robert C., White-Williams Connie, Naftel Davis C., Thomas Francis T., Thomas Judith M. and Phillips Michael G. 1990 J Thorac Cardiovasc Surg 99:716-724.
- 28.-Kormos Robert L., Armitage John M., Dummer J. Stephen, Miyamoto Yuji, Griffith Barthey P., Hardesty Robert L. 1990 Transplantation 49:306-311.
- 29.-Levey R.H. 1979 Transplant Proc 11:1179.
- 30.-Lezcano Diana, Camarena Angel, Juárez Armida y Terán Luis. Boletín. 1990 (en imprenta).
- 31.-López-Karpovitch X., Zarzosa M.E., Cárdenas M.R. y Piedras J. 1989 Acta Haemat 81:176-180.
- 32.-Mónaco Anthony P. Antilymphocyte serum. Transplantation. Edited by J.S. Najarian, R.L. Simmons. Philadelphia. Lea and Febiger Ltd. 1972 Pág: 222-247.

- 33.-Mónaco Anthony P. Organ Transplantation and Replacement. Cerilli G. James. Philadelphia. J.B. Lippincott Co. 1988 Pág: 83-90.
- 34.-Mónaco Anthony P., Abbott William M., Othersen H. Biemann, Simmons Richard L., Wood Mary L., Flax Martin H. and Russell Paul S. 1966 Science 153:1264.
- 35.-Mónaco A.P., Wood M.L., Maki T. and Gozzo J.J. 1988 Transplant Proc 20:1207-1212.
- 36.-Morales-Polanco M.R., Pizzuto-Chavez J., Izquierdo-Ramirez J. y Farfan-Canto J. Ma. 1989 Gaceta Médica de México 125: 97-104.
- 37.-Najarian John S. and Simmons Richard L. 1971 N Engl J Med 285: 158.
- 38.-Nelson Paul W., Cosimi A. Benedict, Delmonico Francis L., Rubin Robert H., Tolkoff-Rubin Nina E., Fang Leslie and Russell Paul S. 1983 Transplantation 36: 587.
- 39.-Noel R.R. y Friedman H. El Laboratorio en Inmunología Clínica. Buenos Aires. Ed. Panamericana, 1984 Pág:33-34.
- 40.-Parcells Alan J., White Gordon J. 1979 Transplantation 27:219.
- 41.-Pirofsky Bernard, Bardana Emil J., Bayracki Cemil and Porter George A. 1969 J A M A 210: 1059.
- 42.-Renlund Dale G., O'Connell John B., Gilbert Edward M., Hammond M. Elizabeth and et.al. 1989 Transplantation 47: 599-605.
- 43.-Radt H., Kolb H.J., Netzel B., Rieder I., Janka G., Belohradsky B., Hass R.J. and Thierfelder S. 1979 Transplant Proc 11: 962.
- 44.-Roitt Ivan M., Brostoff Jonathan and Male David K. Immunology. London, England. Gower Medical Publishing M. House. The C.V. Mosby Co. 1989 Pág: 2.1-2.14, 7.6-7.8, 8.5-8.9, 9.2-9.3, 24.1-24.5.
- 45.-Russell P.S. Antilymphocyte sera and Immunosuppression. A powerful class of agents awaiting full application to patient care. In Harber E. and Krause R.M. (eds): Antibodies in Human Diagnosis and Therapy. New York. Raven Press. 1977 Pág: 303-357.
- 46.-Schlossman Stuart F., and Reinherz Ellis L. 1984 Springer Semin Immunopathol 7: 9-17.
- 47.-Seaman W.E. and Wofsy D. 1988 Ann Rev Med 39: 231-241.

- 48.-Shaffer David, Maki Takashi, DeMichelle Stephen J., Karlstad Michael, Bristian Bruce., Balogh Karoly and Monaco Anthony P. 1988 Transplantation 45:262-269.
- 49.-Shield III Charles F., Cosimi A. Benedict, Talkoff-Rubin Nina, Rubin Robert H., Herrin John and Russell Paul S. 1979 Transplantation 28:461.
- 50.-Stites D.P., Fudenberg H.H., Stobo J.D. and Wells J.V. Inmunologia Basica y Clinica. Mexico D.F. Ed. El Manual Moderno 1985 Pág: 13-20, 55-65, 69-76, 342-345 y 349-351.
- 51.-Thomas J.M., Carver M., Scott J., Williams E. and Thomas F. 1979 Transplantation 27:163.
- 52.-Tilney Nicholas L. and Strom T.B. Organ Transplantation and Replacement. Corilli G. James. Philadelphia. J. B. Lippincott Co. 1988 Pág: 118-119.
- 53.-Ting Alan. Kidney Transplantation. New York. Grune and Stratton Ltd. 1984 Pág: 159-161, 166-170 y 178.
- 54.-Uittenbogaart Christel H., Robinson Brenda J., Malekzadeh Mohammad H., Pennisi Alfred J., Ettenger Robert B. and Fine Richard N. 1979 Transplantation 28:291.
- 55.-Wechter William J., Brodie Jean A., Morrell Roger M., Rafi Muhammed and Schultz John R. 1979 Transplantation 28: 294.
- 56.-Wechter William J., Morrell Roger M., Bergan John, Rosenberg J.C., Turcotte Jeremiah, and Schultz John R. 1979 Transplantation 28:365.
- 57.-Wechter William J., Nelson John W., Perper Robert J., Parcellis Alan J., Riebe Kenneth W., Evans John S., Satoh Paul S. and Ko Howard. 1979 Transplantation 28:303.
- 58.-Weiden Paul L., Doney Kris, Storb Rainer, and Thomas Donnal E. 1979 Transplantation 27:219.
- 59.-Woodruff M.F.A., James K., Anderson N.F. and Reid B.L. In Wolstenholme G.E.W. and O'Connor M. (eds). Antilymphocytic Serum (Ciba Foundation Study Groups No. 29). Boston. Little Brown and Co. 1967 Pág: 57.
- 60.-Zimmerman Barry and Tsui Florence 1979 Transplantation 28:323.
- 61.-Sanz Sabrafen J. y col. Hematología Clínica. Ediciones Doyma S.A. Barcelona, España. 1a. Ed. 1982 Pág: 346-347.
- 62.-Todd Peter A. and Brogden Rex N. 1989 Drugay 37:871-899.
- 63.-Morris Peter J. Kidney Transplantation. New York. Grune and Stratton Ltd. 1984 Pág: 19, 25-26.-