

# Tolerancia inmunológica y trasplante de hígado

A. Sánchez-Fueyo

Instituto de Enfermedades Digestivas. Hospital Clínic de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

## RESUMEN

**La inducción de tolerancia a los aloinjertos ha sido tradicionalmente uno de los objetivos fundamentales de la investigación en trasplante.** Múltiples datos obtenidos en modelos experimentales indican que el resultado del trasplante (rechazo frente a aceptación/tolerancia) depende del equilibrio entre linfocitos citopáticos alorreactivos y linfocitos inmuno-reguladores. Así, la mayor parte de los tratamientos inductores de tolerancia intentan reducir el número de linfocitos aloagresivos y, al mismo tiempo, aumentar la población de linfocitos reguladores, que son los que se encargan de asegurar la viabilidad del injerto una vez interrumpido el tratamiento farmacológico. Los aloinjertos hepáticos son singulares por cuanto se aceptan sin necesidad de tratamiento en la mayor parte de modelos experimentales. En humanos los injertos hepáticos muestran también una menor susceptibilidad al rechazo que cualquier otro órgano, y es posible eliminar completamente el tratamiento inmunodepresor en aproximadamente un 25% de los receptores. Se han propuesto muchos mecanismos para explicar las propiedades tolerogénicas del hígado. Entre ellas destacan los efectos derivados del gran número de leucocitos «pasajeros» presentes en el hígado y la especial anatomía hepática, que maximiza el contacto entre los linfocitos de la sangre y las células hepáticas con potencial tolerogénico. A pesar de que existen múltiples casos de tolerancia en receptores humanos de aloinjertos, carecemos todavía de estrategias terapéuticas que permitan inducir tolerancia de manera predecible y sin riesgos desmesurados de efectos secundarios. Por ello, tradicionalmente la mayor parte de los estudios en humanos han tenido como objetivo la minimización de las dosis de fármacos inmunodepresores más que su completa eliminación. Resultados recientes en modelos preclínicos y estudios piloto indican, sin embargo, que la consecución de protocolos terapéuticos inductores de tolerancia puede no ser muy lejana.

Correspondencia: Dr. A. Sánchez-Fueyo.  
 Hospital Clínic de Barcelona.  
 Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.  
 Correo electrónico: afueyo@clinic.ub.es

Recibido el 4-10-2004; aceptado para su publicación el 5-10-2004.

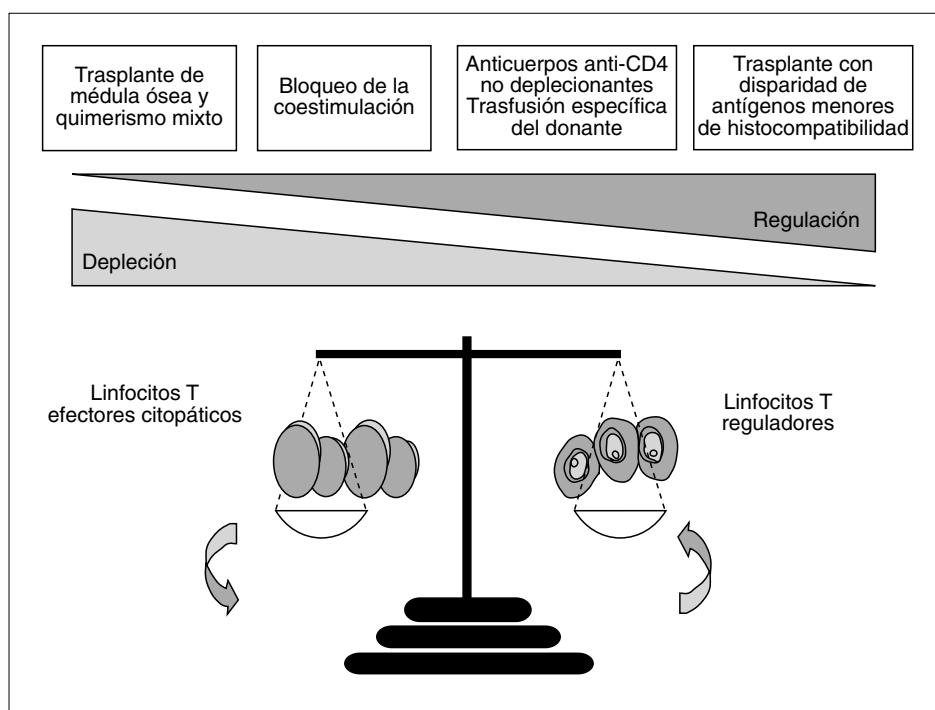
## IMMUNOLOGICAL TOLERANCE AND LIVER TRANSPLANTATION

The induction of tolerance to allografts has traditionally been one of the basic aims of transplantation research. Multiple data obtained in experimental models indicate that the outcome of transplantation (rejection *versus* acceptance/tolerance) depends on the balance between allo-reactive cytotoxic lymphocytes and immunoregulatory lymphocytes. Thus, most tolerance-inducing treatments aim to reduce the number of allo-aggressive lymphocytes and, at the same time, to increase the population of regulatory lymphocytes, which ensure graft viability once drug therapy has been withdrawn. Liver allografts are singular in that they are accepted without the need for treatment in most experimental models. Likewise, in humans, liver grafts also show a lower susceptibility to rejection than any other organ and immunosuppressive treatment can be completely eliminated in approximately 25% of recipients. Many mechanisms have been proposed to explain the tolerogenic properties of the liver. Notable among these are the effects derived from the large number of “passing” leukocytes present in the liver and its peculiar anatomy that maximizes contact among blood lymphocytes and liver cells with tolerogenic potential. Although there are many cases of tolerance in human allograft recipients, therapeutic strategies that would allow predictable tolerance induction and without a high risk of adverse affects are still lacking. Therefore, most studies in humans have traditionally aimed to minimize doses of immunosuppressive drugs rather than eliminate them. However, recent results in preclinical models and pilot studies indicate that therapeutic protocols for tolerance induction may become available in the not too distant future.

## INTRODUCCIÓN

El trasplante de órganos ha avanzado enormemente en las últimas 4 décadas y es en la actualidad un tratamiento bien establecido para enfermedades terminales de riñón, hígado, páncreas, corazón y pulmón. Si bien en todos estos casos la supervivencia a corto plazo es excelente, por desgracia la supervivencia a largo plazo todavía es, en

Fig. 1. Equilibrio entre depleción y regulación en la tolerancia a los aloinjertos. Aunque tanto la depleción como la regulación tienen papeles importantes en la inducción de tolerancia a los aloinjertos, la contribución cuantitativa de cada uno de estos 2 mecanismos difiere de modelo a modelo. Así, en ausencia de linfocitos T reguladores CD4+CD25+, los tratamientos basados en el bloqueo de la coestimulación no son capaces de inducir tolerancia. Por el contrario, la depleción de estos linfocitos reguladores no interfiere en el establecimiento de quimerismo mixto y tolerancia después de la administración de condicionamiento linfoablativo y médula ósea del donante, lo cual indicaría que los mecanismos inmunorreguladores no son fundamentales en este modelo de tolerancia



comparación, pobre: aproximadamente un 50% a los 5 años en el caso de los injertos renales. Esta cifra, que ha permanecido prácticamente inalterada desde 1975, es consecuencia de la lesión irreversible por rechazo crónico y de los efectos secundarios de la inmunodepresión estándar<sup>1,2</sup>. La inducción de tolerancia, definida como una hiporrespuesta inmunitaria específica para el donante mantenida en ausencia de tratamiento inmunodepresor continuado, se considera una solución potencial a estos 2 problemas que en la actualidad limitan la supervivencia de los injertos humanos.

La adquisición de tolerancia inmunitaria fue descrita por vez primera por Medawar et al hace más de 50 años. Desde entonces, un gran número de estrategias han mostrado ser capaces de inducir tolerancia en modelos experimentales de trasplante. Sin embargo, la mayor parte de los intentos de trasladar estas estrategias terapéuticas a la clínica han sido infructuosos. Así, si bien se han descrito casos de receptores humanos tolerantes, fundamentalmente en el trasplante hepático, carecemos todavía de un tratamiento clínicamente aplicable para inducir tolerancia en la clínica.

Los linfocitos T desempeñan un papel crítico en la génesis de las respuestas aloinmunitarias y dirigen tanto los mecanismos de rechazo como la adquisición de tolerancia. El primer paso en cualquier respuesta inmunitaria aloespecífica es la presentación aloantigénica. Los linfocitos T del receptor, a través de su receptor de células T, pueden reconocer tanto péptidos alogénicos presentados en moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (HLA) de las células presentadoras del receptor, como moléculas HLA intactas del donante expresadas en la superficie de células presentadoras del donante. La

combinación de estas 2 formas de alopresentación, que se producen fundamentalmente en los ganglios linfáticos regionales, es la causante de la enorme proporción de linfocitos T efectores alorreactivos y de la potencia de la respuesta aloinmunitaria en ausencia de inmunización previa. Los linfocitos T aloactivados posteriormente se expanden, adquieren propiedades efectoras y migran al injerto, donde provocan lesiones tisulares. Algunos linfocitos, sin embargo, son también cruciales para regular o suprimir las respuestas aloinmunitarias efectoras y así inducir un estado de tolerancia específico para el donante. Este fenómeno de inmunorregulación mediado por linfocitos T se conoce desde hace años, pero sólo recientemente se ha conseguido caracterizar con detalle los linfocitos T reguladores ( $T_{reg}$ ). Muchas evidencias obtenidas en modelos experimentales indican que el cociente entre linfocitos aloagresivos y linfocitos reguladores es una de las claves que determinan la inducción de rechazo o de tolerancia inmunitaria (fig. 1). De hecho, la mayoría de los tratamientos inductores de tolerancia parecen actuar alterando este cociente en favor de las células reguladoras. Tal como se muestra en la figura 1, sin embargo, los mecanismos inmunorreguladores no son imprescindibles en todos los casos para inducir tolerancia, ya que en algunas circunstancias la administración de médula ósea del donante da lugar a un estado de quimerismo hematopoyético en el cual se produce la destrucción completa de todas las células T alorreactivas; se consigue así un estado de tolerancia en el cual no pueden detectarse mecanismos inmunorreguladores (tolerancia central)<sup>3</sup>. Así, es común distinguir entre estrategias encaminadas a la consecución de tolerancia central, lo cual requiere la administración de médula ósea del donante, y aquéllas otras basadas en la

TABLA I. Mecanismos de tolerancia a los trasplantes

<b>Tolerancia central:</b> estado de tolerancia que se establece fundamentalmente en el timo a partir de un proceso de depleción clonal de los linfocitos T alorreactivos. Esta estrategia aprovecha la capacidad de las células presentadoras de antígeno tímicas de inducir la muerte por apoptosis de los linfocitos T que reconocen los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad con alta afinidad (selección negativa tímica). Este estado de tolerancia se ha llevado a cabo de forma exitosa tanto en modelos experimentales como en humanos a partir de la administración de médula ósea del mismo donante que proporciona el órgano sólido, después de un condicionamiento agresivo del receptor. Las células presentadoras que emergen de la médula ósea administrada repueblan el timo y eliminan a los linfocitos T alorreactivos
<b>Tolerancia periférica:</b> estado de tolerancia que se alcanza en ausencia de un proceso de selección negativa en el timo. Múltiples mecanismos están involucrados. Entre ellos, la apoptosis de los linfocitos T alorreactivos en la periferia y el desarrollo de células inmunorreguladoras parecen ser los más importantes

promoción de mecanismos inmunorreguladores, lo cual se conoce habitualmente como tolerancia periférica (tabla I). La presente revisión intenta presentar algunos aspectos relacionados con el papel de la inmunorregulación en la inducción de tolerancia a los trasplantes, haciendo especial mención al caso concreto de la tolerancia a los injertos hepáticos.

## DEPLECIÓN E INMUNORREGULACIÓN EN LA TOLERANCIA A LOS ALOINJERTOS

En el trasplante, los aloantígenos pueden ser reconocidos por los linfocitos T del receptor a través de 2 vías. La vía de alorreconocimiento directa implica la interacción entre los receptores de células T expresados por los linfocitos T del receptor y moléculas HLA alogénicas intactas presentes en la superficie de las células presentadoras del donante. Por otra parte, en la vía indirecta, los péptidos derivados de proteínas del donante son procesados por células presentadoras del receptor y presentados en moléculas HLA propias a los linfocitos T del receptor. Tanto la vía directa como la indirecta están involucradas en el desarrollo del rechazo agudo. Ahora bien, ya que las células presentadoras del injerto (fundamentalmente células dendríticas) tienen una vida media corta, las respuestas aloinmunitarias por vía directa son importantes sobre todo en período postrasplante inmediato. En cambio, las respuestas por vía indirecta son más preeminentes más tarde, por ejemplo, durante el rechazo crónico. La combinación de alopresentación directa e indirecta da lugar a que el número de linfocitos T capaces de reconocer aloantígenos sea mucho mayor de lo que ocurre en respuestas inmunitarias frente a antígenos «convencionales»<sup>4</sup>. Esto hace que en el trasplante, para conseguir la inducción de tolerancia sea preciso reducir drásticamente esta enorme población de linfocitos alorreactivos. Esto es así incluso en los casos en que se utilizan tratamientos que no inducen directamente la depleción de linfocitos T<sup>5</sup>. Ahora bien, la eliminación de los linfocitos alorreactivos, a menos que sea completa, como ocurre en la inducción

de quimerismo hematopoyético y tolerancia central (tímpica), no es suficiente para evitar de manera indefinida que se produzca el rechazo. Así, en la mayoría de casos, la supervivencia a largo plazo de los injertos depende de que se hayan desarrollado mecanismos inmunorreguladores que se autoperpetúen y sean capaces de suprimir a los linfocitos T alorreactivos que no se hayan eliminado<sup>6-10</sup>. Se han encontrado linfocitos T reguladores incluso en individuos que están experimentando un rechazo agudo. Esto quiere decir que la activación y expansión de los linfocitos inmunorreguladores es una parte esencial de una respuesta aloinmunitaria<sup>11</sup>. Ahora bien, en ausencia de tratamiento, el aumento más rápido de los linfocitos citopáticos sobrepasa a los efectos protectores de los linfocitos reguladores y se produce el rechazo. Así pues, el resultado del trasplante (rechazo o tolerancia) depende de las proporciones relativas de linfocitos citopáticos y reguladores, y la reducción de los primeros es imprescindible para asegurar la viabilidad del injerto hasta que los linfocitos reguladores se expandan y controlen la respuesta aloinmunitaria<sup>12</sup>.

## IDENTIDAD DE LOS LINFOCITOS T REGULADORES EN EL TRASPLANTE

Varios tipos celulares han demostrado ser capaces de mediar efectos inmunorreguladores en modelos de trasplante: linfocitos T CD4+<sup>8,13,14</sup>, linfocitos T CD8+CD28<sup>-15</sup>, linfocitos T *natural Killer* (NKT)<sup>16</sup>, linfocitos T CD4-CD8<sup>-17</sup>. Aunque probablemente existen interconexiones entre estos diferentes tipos celulares, en la mayor parte de modelos experimentales de tolerancia periférica las células CD4+ parecen desempeñar el papel central<sup>8,13,14</sup>. Las vías inmunorreguladoras dependientes de los linfocitos T CD4+ se caracterizan por su especificidad aloantígenica y su capacidad de mediar el fenómeno de supresión ligada. Este fenómeno, característico del estado de tolerancia periférica<sup>18-20</sup>, consiste en la capacidad de los linfocitos inmunorreguladores de suprimir respuestas inmunitarias dirigidas contra aloantígenos diferentes de los aloantígenos tolerados, siempre y cuando estos 2 tipos de aloantígenos sean presentados por la misma célula presentadora. Asimismo, en modelos de tolerancia periférica los linfocitos de los individuos tolerantes son capaces de transferir de manera aloantígeno específica su capacidad supresora a linfocitos *naïve*, fenómeno que se conoce como «tolerancia infecciosa»<sup>8</sup>.

El hallazgo, en 1990, de que el marcador CD25 permite identificar una subpoblación de linfocitos T CD4+ con capacidad supresora «intrínseca» ha sido un paso muy importante para comprender los mecanismos inmunorreguladores presentes en la tolerancia a los aloinjertos<sup>21,22</sup>. Los linfocitos T CD4+CD25+ ( $T_{reg}$ ) son supresores «por naturaleza», es decir, emergen del timo con un fenotipo supresor ya establecido, y en la periferia constituyen entre el 5 y el 10% de los linfocitos T CD4+. Además de los  $T_{reg}$ , otros linfocitos CD4+ también ejercen funciones inmunorreguladoras en el trasplante<sup>23</sup>. Ahora bien, estas

otras subpoblaciones requieren de un tratamiento tolerogénico para adquirir su fenotipo regulador y no parecen ser tan potentes como los  $T_{reg}^{23}$ . Por todo ello, los linfocitos T CD4+CD25+ son los linfocitos reguladores que mejor se han caracterizado, tanto en modelos experimentales<sup>9,24,25</sup> como en humanos<sup>26,27</sup>. Los  $T_{reg}$  son capaces de ejercer diversas acciones sobre los linfocitos efectores, especialmente inhibición de la proliferación celular, excreción de citocinas y producción de anticuerpos<sup>28</sup>. La importancia de los  $T_{reg}$  en la adquisición de tolerancia a los trasplantes se ha comprobado experimentalmente al observar que, en ausencia de  $T_{reg}$ , diversos tratamientos fracasan en la inducción de tolerancia<sup>29,30</sup>. De la misma forma, la capacidad de los linfocitos obtenidos de receptores tolerantes de transferir su capacidad supresora a otros receptores también desaparece si se eliminan las células CD4+CD25+<sup>9,24</sup>.

A pesar de que se ha generado mucha información recientemente sobre la biología de las células  $T_{reg}^{31-37}$ , todavía no está claro si este subtipo celular es el único responsable de la especificidad por el donante que caracteriza el estado de tolerancia. Lo que parece claro es que algunos tratamientos inductores de tolerancia son capaces de aumentar la actividad supresora de los  $T_{reg}$  de una manera aloantígeno específica<sup>30</sup>. En cambio, la ciclosporina A, que en algunos modelos experimentales antagoniza la acción de los tratamientos inductores de tolerancia, puede neutralizar el efecto supresor de donante específico de los  $T_{reg}$  (observaciones no publicadas). En resumen, la modulación de la actividad supresora y/o de la especificidad de los  $T_{reg}$  parece ser uno de los mecanismos por los cuales los tratamientos inductores de tolerancia ejercen sus efectos.

De la misma forma que existen pocas dudas acerca de que las células CD4+CD25+  $T_{reg}$  desempeñan un papel central en el mantenimiento de la tolerancia a los aloinjertos, también está claro que los tratamientos inductores de tolerancia son capaces de incidir sobre los linfocitos T «convencionales» y convertirlos en linfocitos reguladores. Estos linfocitos reguladores «inducibles» son un grupo heterogéneo de subtipos celulares, y hasta el momento carecemos de marcadores fenotípicos claros. De entre todos los linfocitos reguladores inducibles, las subpoblaciones que parecen más implicadas en la tolerancia a los trasplantes son los linfocitos reguladores CD4+ productores de interleucina 10 y los linfocitos T CD8+CD128-, llamados «supresores». Por último, algunas evidencias indican que, si bien por regla general las células reguladoras CD4+CD25+ se originan centralmente en el timo, en circunstancias especiales pueden generarse en la periferia a partir de linfocitos convencionales CD4+CD25-. En resumen, los linfocitos T reguladores comprenden tanto linfocitos reguladores «naturales» CD4+CD25+, que se generan en el timo, como subpoblaciones linfocitarias inducidas en la periferia después de la administración de tratamientos tolerogénicos. Estos diferentes tipos linfocitarios parecen complementarse funcionalmente, aunque todavía desconocemos las bases celulares/moleculares de esta cooperación, así

como el compartimiento anatómico preciso en el cual la supresión de las respuestas citopáticas tiene lugar.

## LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS SON ESENCIALES PARA ARBITRAR EN LA DECISIÓN ENTRE INMUNIDAD Y TOLERANCIA

Las células dendríticas (CD) son las células presentadoras de antígeno más inmunogénicas que existen, gracias a su elevada expresión de moléculas HLA y coestimuladoras, y a su gran capacidad para procesar y presentar antígenos. Debido a estas propiedades, las CD son fundamentales para el inicio de las respuestas inmunitarias efectoras. Ahora bien, en ocasiones tienen un efecto inhibitorio sobre las respuestas inmunitarias, ya sea inactivando directamente los linfocitos T o contribuyendo a la génesis de linfocitos inmunorreguladores. Así, las CD arbitran de alguna manera la decisión entre inmunidad y tolerancia. Esta capacidad para mediar uno u otro tipo de respuesta depende en gran medida del tipo de CD involucrada, su estado de maduración o su localización anatómica. Dado este papel central de las CD en la génesis de las respuestas inmunitarias, no sorprende constatar que tanto los fármacos inmunodepresores como muchos tratamientos inductores de tolerancia median algunas de sus acciones interfiriendo bien con el desarrollo de las CD, bien con su maduración, expansión, localización anatómica o migración<sup>38</sup>. Así pues, mientras que el equilibrio entre linfocitos citopáticos y reguladores es lo que determina en última instancia la supervivencia o no del aloinjerto, las CD son fundamentales en la regulación de este equilibrio gracias a su capacidad para modular la función de los linfocitos efectores y controlar el desarrollo de los linfocitos reguladores (fig. 2).

## TOLERANCIA EN MODELOS EXPERIMENTALES DE TRASPLANTE HEPÁTICO

Los injertos hepáticos son únicos en cuanto que se aceptan espontáneamente, sin tratamiento inmunodepresor, en cerdos, ratas y ratones<sup>39-41</sup>. En estos modelos experimentales se produce el rechazo, pero se resuelve de forma espontánea, y los receptores pueden aceptar otros órganos del mismo donante, pero no de donantes que expresen antígenos de histocompatibilidad diferentes<sup>42</sup>. Los mecanismos responsables de esta capacidad tolerogénica intrínseca no se conocen del todo, y se han propuesto múltiples hipótesis, entre las cuales se encuentran la inducción de microquimerismo, la producción de proteínas inmunorreguladoras como moléculas HLA de clase I, la deplección por apoptosis de los linfocitos T alorreactivos y el desarrollo de redes inmunorreguladoras controladas por linfocitos supresores. En cualquier caso, al igual que ocurre con la tolerancia inmunitaria frente a otros órganos, la vía común en la que todos estos distintos mecanismos confluyen es la eliminación de los clones citopáticos alorreactivos y la expansión de los linfocitos reguladores.

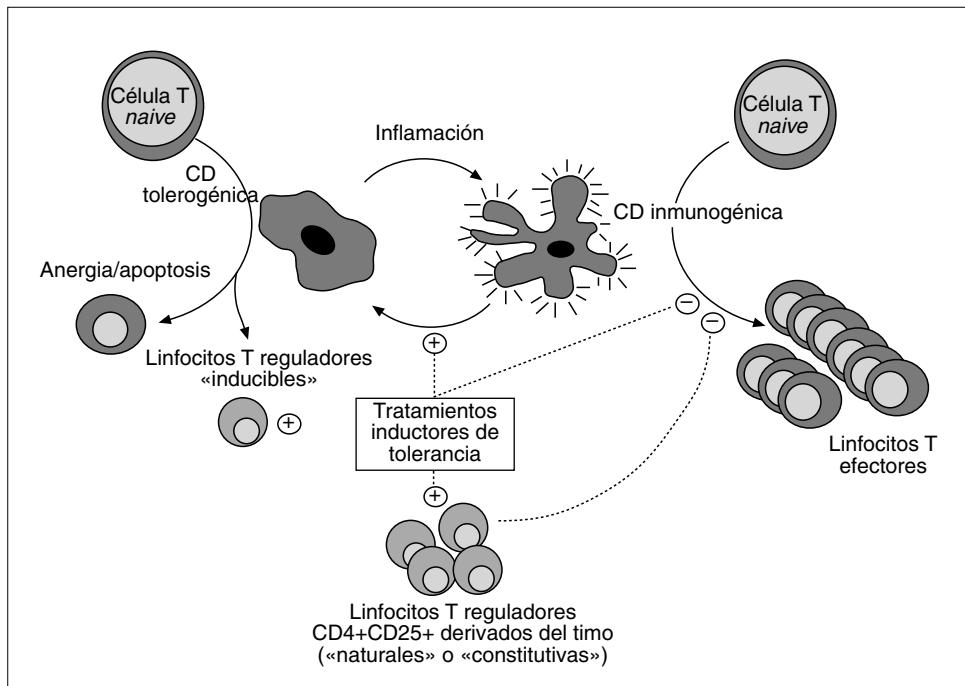


Fig. 2. Mecanismos immunorreguladores activos durante la inducción de tolerancia periférica. En condiciones proinflamatorias, las células dendríticas (CD) maduran, adquieren propiedades inmunogénicas y se vuelven capaces de estimular de manera óptica a los linfocitos T. Por el contrario, las CD tolerogénicas inducen una activación incompleta de los linfocitos T, que son así incapaces de desencadenar una respuesta inmunitaria productiva y acaban muriendo por apoptosis o se convierten en células reguladoras. Los tratamientos inductores de tolerancia bloquean la maduración de las CD e interfieren con las interacciones entre CD y linfocitos T, con lo que disminuye el contingente de linfocitos efectores y se favorecen los mecanismos immunorreguladores. Las propias células reguladoras amplifican estos efectos inhibiendo a su vez los linfocitos efectores y las CD inmunogénicas.

El hígado produce grandes cantidades de moléculas HLA de clase I solubles, y en modelos experimentales estos aloantígenos han demostrado ser capaces de inducir apoptosis de linfocitos CD8+ alorreactivos tanto *in vitro* como *in vivo* y de prolongar la supervivencia de los aloinjertos hepáticos<sup>43,44</sup>.

El intercambio de leucocitos migratorios entre el injerto y el receptor, lo que da lugar a un estado de microquimerismo celular, se ha propuesto también como un posible mecanismo para explicar la tolerancia espontánea de los injertos hepáticos<sup>45</sup>. De acuerdo con esta teoría, tras el trasplante se produce una interacción bidireccional entre los leucocitos del donante y los del receptor (respuesta del injerto contra el huésped y del huésped contra el injerto) que da lugar a la eliminación tanto de los linfocitos T alorreactivos del receptor como de los linfocitos del donante capaces de reconocer antígenos del receptor<sup>45</sup>. Este modelo, propuesto inicialmente por Starzl et al<sup>45</sup>, ha sido históricamente muy influyente y ha estimulado sobremanera toda la investigación en la migración de leucocitos «pasajeros». Ahora bien, aunque existen muchos datos que indican que el microquimerismo celular se da en receptores humanos de un trasplante hepático<sup>46</sup>, no hay evidencias claras de que este fenómeno sea en realidad la causa principal de la tolerancia. En concreto, no disponemos de ninguna prueba de que el microquimerismo sea la causa y no la consecuencia del estado de tolerancia<sup>47</sup>. En este sentido, es importante constatar que en los casos en que se ha utilizado en humanos un trasplante de médula ósea para inducir tolerancia central frente a injertos renales, sólo se detecta quimerismo durante los primeros meses después del trasplante, si bien los injertos renales se aceptan indefinidamente en ausencia de inmunodepresión<sup>48</sup>. En los últimos años se ha especula-

do que determinados subtipos de CD hepáticas podrían tener una función específicamente inmunodepresora, y que podrían ser las células responsables de la capacidad tolerogénica de los leucocitos «pasajeros» de los injertos hepáticos<sup>49</sup>. Esta última hipótesis, que conceptualmente es muy diferente del modelo bidireccional postulado por Starzl et al<sup>45</sup>, es congruente con múltiples evidencias experimentales sobre la capacidad tolerogénica de determinados subtipos de CD tanto en modelos experimentales de autoinmunidad como de trasplante.

Una interpretación alternativa para explicar las propiedades tolerogénicas del hígado se basa en la observación de que durante la aceptación de los injertos hepáticos los linfocitos T infiltran el parénquima, pero se les elimina rápidamente sin que lleguen a causar lesión en el injerto<sup>50</sup>. Trabajos posteriores<sup>51</sup> han mostrado que los linfocitos T alorreactivos son deplecionados por apoptosis en el hígado a través de mecanismos tanto de muerte celular pasiva como de muerte inducida por activación.

Finalmente, otros procesos tolerogénicos activos en el hígado son la génesis de linfocitos reguladores CD4+ como consecuencia de la presentación aloantígenica en la superficie de las células sinusoidales o de subtipos de CD específicos del hígado<sup>52,53</sup>. Por último, en una reciente comunicación se ha descrito que las células reguladoras CD4+CD25+ son precisas para la aceptación espontánea de injertos hepáticos en modelos murinos<sup>54</sup>.

En definitiva, las propiedades tolerogénicas de los injertos hepáticos son probablemente resultado de la combinación de múltiples mecanismos diferentes, en un contexto anatómico singular, en el que se maximiza el contacto entre las células inmunitarias del torrente circulatorio y las células hepáticas.

## TOLERANCIA A LOS ALOINJERTOS HEPÁTICOS EN LA CLÍNICA

De la misma manera que ocurre en modelos experimentales, también en humanos la aparición de tolerancia es mucho más común en el caso del trasplante hepático que en el de cualquier otro órgano. Por otra parte, el hígado es igualmente mucho menos susceptible al rechazo agudo que otros órganos, lo cual puede comprobarse por su capacidad de sobrevivir pese a disparidades de HLA, incompatibilidad ABO y pruebas cruzadas positivas. Si bien la retirada completa de la inmunodepresión rara vez se ha llevado a cabo de forma intencionada y protocolizada, la experiencia acumulada hasta la fecha indica que esta práctica es posible en un 25-33% de los receptores de un trasplante hepático<sup>55-58</sup>. Se ha descrito que estos pacientes sin ningún tipo de inmunodepresión permanecen sanos y con injertos viables en ocasiones durante más de 30 años, y por tanto se les considera tolerantes. Desgraciadamente, no ha sido posible hasta la fecha identificar qué variables son predictivas de una retirada exitosa de la medicación inmunodepresora, lo cual ha dificultado la instauración sistemática de protocolos de retirada de los fármacos. En la actualidad se están ensayando diversas técnicas de inmunomonitorización para identificar las características del estado de tolerancia inmunitaria en humanos<sup>59</sup>. Un primer grupo de técnicas se basan en la caracterización de las respuestas de los linfocitos T frente a antígenos del donante, ya sea *in vitro* (ELIspot, tinción intracelular de citocinas) o *trans vivo* (hipersensibilidad de tipo retardado en ratones inmunodeficientes). Otro grupo de estrategias no específicas del antígeno se centran en el estudio inmunofenotípico, repertorio antigenético y expresión genética de los linfocitos T en sangre periférica. Teniendo en cuenta la enorme complejidad del sistema inmunitario de los humanos, es muy probable que sea preciso utilizar una combinación de todas estas técnicas para llegar a caracterizar de manera precisa el estado de tolerancia.

Aunque carecemos de técnicas que permitan identificar a los pacientes tolerantes, se han realizado ya diversos estudios piloto en humanos para intentar inducir tolerancia a órganos sólidos. En el trasplante renal se ha utilizado el trasplante simultáneo de médula ósea e injerto renal para inducir quimerismo y tolerancia central, la irradiación linfoidea total o el anticuerpo Campath-1 (dirigido tanto contra linfocitos T como B) seguido de dosis bajas de inmunodepresión. Aunque ocasionalmente estos tratamientos han tenido éxito y conseguido la aceptación de los injertos sin necesidad de administración continuada de inmunodepresores, no parece que por el momento puedan aplicarse de forma generalizada. En el trasplante hepático la principal estrategia que se ha utilizado para inducir tolerancia de forma intencionada es el protocolo diseñado por Starzl et al<sup>60</sup>, que consiste en la administración de una única dosis de anticuerpos antilinfocitarios (timoglobulina) pretrasplante, seguida de monoterapia con tacrolimus a dosis bajas. El concepto que subyace en este protocolo es eliminar el mayor número posible de linfocitos T alo-

rreactivos antes del trasplante para poder minimizar el uso de fármacos inmunodepresores y así facilitar las interacciones entre los leucocitos «pasajeros» del injerto y el sistema inmunitario del receptor. Los resultados publicados hasta la fecha son prometedores, y en algunos casos se ha conseguido eliminar progresivamente el tacrolimus de manera casi completa. Sin embargo, habrá que esperar a ver cuáles son los efectos a largo plazo de esta estrategia sobre la viabilidad de los injertos, sobre todo en lo que respecta al desarrollo de infecciones, neoplasias o recidiva grave por el virus de la hepatitis C.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Paul L. Chronic renal transplant loss. *Kidney Int.* 1995;47: 1491-9.
2. Carpenter CB. Long-term failure of renal transplants: adding insult to injury. *Kidney Int.* 1995;48:S40-S4.
3. Sykes M. Mixed chimerism and transplant tolerance. *Immunity.* 2001;14:417-24.
4. Suchin EJ, Langmuir PB, Palmer E, Sayegh MH, Wells AD, Turka LA. Quantifying the frequency of alloreactive T cells *in vivo*: new answers to an old question. *J Immunol.* 2001;166: 973-81.
5. Li XC, Strom TB, Turka LA, Wells AD. T cell death and transplantation tolerance. *Immunity.* 2001;14:407-16.
6. Hall BM, Jelbart ME, Dorsch SE. Suppressor T cells in rats with prolonged cardiac allograft survival after treatment with cyclosporine. *Transplantation.* 1984;37:595-600.
7. Qin S, Cobbold SP, Pope H, et al. «Infectious» transplantation tolerance. *Science.* 1993;259:974-7.
8. Cobbold S, Waldmann H. Infectious tolerance. *Curr Opin Immunol.* 1998;10:518-24.
9. Hara M, Kingsley CI, Niimi M, et al. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens *in vivo*. *J Immunol.* 2001;166:3789-96.
10. Graca L, Cobbold SP, Waldmann H. Identification of regulatory T cells in tolerated allografts. *J Exp Med.* 2002;195: 1641-6.
11. Schneider TM, Kupiec-Weglinski JW, Towpik E, et al. Development of suppressor lymphocytes during acute rejection of rat cardiac allografts and preservation of suppression by anti-IL-2-receptor monoclonal antibody. *Transplantation.* 1986;42:191-6.
12. Zheng XX, Sánchez-Fueyo A, Domenig C, Strom TB. The balance of deletion and regulation in allograft tolerance. *Immunol Rev.* 2003;196:75-84.
13. Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory lymphocytes: regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2003;3: 199-210.
14. Lechner RI, Garden OA, Turka LA. The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:147-58.
15. Chang CC, Ciubotariu R, Manavalan JS, et al. Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol.* 2002;3:237-43.
16. Seino KI, Fukao K, Muramoto K, et al. Requirement for natural killer T (NKT) cells in the induction of allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:2577-81.
17. Zhang ZX, Yang L, Young KJ, Du Temple B, Zhang L. Identification of a previously unknown antigen-specific regulatory T cell and its mechanism of suppression. *Nat Med.* 2000;6:782-9.
18. Madsen JC, Superina RA, Wood KJ, Morris PJ. Immunological unresponsiveness induced by recipient cells transfected with donor MHC genes. *Nature.* 1988;332:161-4.
19. Wise MP, Bemelman F, Cobbold SP, Waldmann H. Linked suppression of skin graft rejection can operate through indirect recognition. *J Immunol.* 1998;161:5813-6.
20. Davies JD, Leong LY, Mellor A, Cobbold SP, Waldmann H. T cell suppression in transplantation tolerance through linked recognition. *J Immunol.* 1996;156:3602-7.

21. Hall BM, Pearce NW, Gurley KE, Dorsch SE. Specific unresponsiveness in rats with prolonged cardiac allograft survival after treatment with cyclosporine. III. Further characterization of the CD4+ suppressor cell and its mechanisms of action. *J Exp Med.* 1990;171:141-57.
22. Sakaguchi S, Sakaguchi N. Thymus and autoimmunity: capacity of the normal thymus to produce pathogenic self-reactive T cells and conditions required for their induction of autoimmune disease. *J Exp Med.* 1990;172:537-45.
23. Graca L, Thompson S, Lin CY, Adams E, Cobbold SP, Waldmann H. Both CD4(+)CD25(+) and CD4(+)CD25(-) regulatory cells mediate dominant transplantation tolerance. *J Immunol.* 2002;168:5558-65.
24. Sánchez-Fueyo A, Weber M, Domenig C, Strom TB, Zheng XX. Tracking the immunoregulatory mechanisms active during allograft tolerance. *J Immunol.* 2002;168:2274-81.
25. Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, Wood KJ. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol.* 2002;168:1080-6.
26. Salama AD, Najafian N, Clarkson MR, Harmon WE, Sayegh MH. Regulatory CD25+ T cells in human kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:1643-51.
27. Game DS, Hernández-Fuentes MP, Chaudhry AN, Lechler RI. CD4+CD25+ regulatory T cells do not significantly contribute to direct pathway hyporesponsiveness in stable renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:1652-61.
28. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunological self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:531-62.
29. Zheng XX, Sánchez-Fueyo A, Sho M, Domenig C, Sayegh MH, Strom TB. Favorably tipping the balance between cytotoxic and regulatory T cells to create transplantation tolerance. *Immunity.* 2003;19:503-14.
30. Sánchez-Fueyo A, Tian J, Picarella D, et al. Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto- and alloimmune-responses and promotes immunological tolerance. *Nat Immunol.* 2003;4:1093-101.
31. Josien R, Douillard P, Guillot C, et al. A critical role for transforming growth factor-beta in donor transfusion-induced allograft tolerance. *J Clin Invest.* 1998;102:1920-6.
32. Piccirillo CA, Letterio JJ, Thornton AM, et al. CD4(+)CD25(+) regulatory T cells can mediate suppressor function in the absence of transforming growth factor beta1 production and responsiveness. *J Exp Med.* 2002;196:237-46.
33. Suri-Payer E, Cantor H. Differential cytokine requirements for regulation of autoimmune gastritis and colitis by CD4(+)CD25(+) T cells. *J Autoimmun.* 2001;16:115-23.
34. Papiernik M, De Moraes ML, Pontoux C, Vasseur F, Penit C. Regulatory CD4 T cells: expression of IL-2R alpha chain, resistance to clonal deletion and IL-2 dependency. *Int Immunol.* 1998;10:371-8.
35. Malek TR, Yu A, Vincek V, Scibelli P, Kong L. CD4 regulatory T cells prevent lethal autoimmunity in IL-2Rbeta-deficient mice. Implications for the nonredundant function of IL-2. *Immunity.* 2002;17:167-78.
36. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, et al. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity.* 2002;16:311-23.
37. Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol.* 2002;3:135-42.
38. Hackstein H, Thomson AW. Dendritic cells: emerging pharmacological targets of immunosuppressive drugs. *Nat Rev Immunol.* 2004;4:24-34.
39. Calne RY, Sells RA, Pena JR, et al. Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts. *Nature.* 1969;223:472-6.
40. Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat. *Surgery.* 1983;93:64-9.
41. Qian S, Demetris AJ, Murase N, Rao AS, Fung JJ, Starzl TE. Murine liver allograft transplantation: tolerance and donor cell chimerism. *Hepatology.* 1994;19:916-24.
42. Kamada N. Animal models of hepatic allograft rejection. *Semin Liver Dis.* 1992;12:1-15.
43. Scherer MN, Graeb C, Tange S, Dyson C, Jauch KW, Geissler EK. Immunologic considerations for therapeutic strategies utilizing allogeneic hepatocytes: hepatocyte-expressed membrane-bound major histocompatibility complex class I antigen sensitizes while soluble antigen suppresses the immune response in rats. *Hepatology.* 2000;32:999-1007.
44. Behrens D, Lange K, Fried A, et al. Donor-derived soluble MHC antigens plus low-dose cyclosporine induce transplantation unresponsiveness independent of the thymus by down-regulating T cell-mediated alloresponses in a rat transplantation model. *Transplantation.* 2001;72:1974-82.
45. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *Lancet.* 1992;339:1579-82.
46. Starzl TE, Demetris AJ, Trucco M, et al. Cell migration and chimerism after whole-organ transplantation: the basis of graft acceptance. *Hepatology.* 1993;17:1127-52.
47. Wood K, Sachs DH. Chimerism and transplantation tolerance: cause and effect [discussion 588]. *Immunol Today.* 1996;17:584-7.
48. Buhler LH, Spitzer TR, Sykes M, et al. Induction of kidney allograft tolerance after transient lymphohematopoietic chimerism in patients with multiple myeloma and end-stage renal disease. *Transplantation.* 2002;74:1405-9.
49. Lau AH, De Creus A, Lu L, Thomson AW. Liver tolerance mediated by antigen presenting cells: fact or fiction? *Gut.* 2003;52:1075-8.
50. Qian S, Lu L, Fu F, et al. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implications for tolerance induction. *J Immunol.* 1997;158:4654-61.
51. Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:51-62.
52. Gassel HJ, Hutchinson IV, Engemann R, Morris PJ. The role of T suppressor cells in the maintenance of spontaneously accepted orthotopic rat liver allografts. *Transplantation.* 1992;54:1048-53.
53. Knolle PA, Schmitt E, Jin S, et al. Induction of cytokine production in naive CD4(+) T cells by antigen-presenting murine liver sinusoidal endothelial cells but failure to induce differentiation toward Th1 cells. *Gastroenterology.* 1999;116:1428-40.
54. Li W, Zheng XX, Perkins J. CD25+ regulatory T cells are involved in liver transplant tolerance induction in mice. *Am J Transplant.* 2004;4:329.
55. Mazariegos GV, Reyes J, Marino IR, et al. Weaning of immunosuppression in liver transplant recipients. *Transplantation.* 1997;63:243-9.
56. Devlin J, Doherty D, Thomson L, et al. Defining the outcome of immunosuppression withdrawal after liver transplantation. *Hepatology.* 1998;27:926-33.
57. Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, et al. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation.* 2001;72:449-54.
58. Pons JA, Yélamos J, Ramírez P, et al. Endothelial cell chimerism does not influence allograft tolerance in liver transplant patients after withdrawal of immunosuppression. *Transplantation.* 2003;75:1045-7.
59. Hernández-Fuentes MP, Warrens AN, Lechler RI. Immunologic monitoring. *Immunol Rev.* 2003;196:247-64.
60. Starzl TE, Murase N, Abu-Elmagd K, et al. Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet.* 2003;361:1502-10.