



Inmunología

www.elsevier.es/inmunologia



Panorama

II Simposium Internacional sobre tolerancia inmunológica: aplicación al trasplante y a enfermedades de base inmunológica

II International symposium on immune tolerance: application to transplantation and immune diseases

*Natividad de los Reyes Montes Barqueros, María Victoria Martínez Sánchez, María Rocío López-Álvarez, María Carmen García Calatayud, María Rocío Álvarez-López y Alfredo Minguela Puras**

Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

Los días 29 y 30 de septiembre de 2011 se celebró en Murcia el «II Simposium Internacional sobre tolerancia inmunológica: aplicación al trasplante y a enfermedades de base inmunológica». En él se revisaron en 5 sesiones aspectos recientes relacionados con la tolerancia inmunológica: 1) respuesta inmunitaria innata y específica; 2) inmunotolerancia en trasplante; 3) monitorización inmunológica en trasplante de órgano sólido; 4) inmunorregulación de la respuesta auto-inmune y alérgica, y 5) inmunopatología y cáncer.

Sesión-1: Respuesta inmunitaria innata y específica

El Dr. Manuel Muro (Hospital U. Virgen de la Arrixaca, Murcia) analizó diversos «Aspectos relevantes de la respuesta molecular inmunitaria», y describió múltiples mecanismos implicados en la inmunidad innata, y cómo a través de factores mecánicos, químicos o biológicos, el organismo se protege de las infecciones. El reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, del inglés, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*), componentes esenciales altamente conservados en los patógenos, se lleva a cabo por receptores de reconocimiento de patrones (PRR, del inglés, *Pattern Recognition*

Receptors) específicos. Los PRR pueden ser secretados, como las lectinas tipo-C o las galectinas, estar unidos a la membrana celular, como los receptores tipo Toll (TLR, del inglés, *Toll Like Receptors*) o los receptores Scavenger, o ser intracelulares, como NOD1 y NOD2. También destacó la importancia de la activación del complemento, ya sea a través de la vía clásica, alternativa o de las lectinas. Así mismo, enfatizó la importancia de las citoquinas y quimioquinas, principales mensajeros en la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. Estas moléculas se pueden clasificar en 4 familias según su estructura, hematopoyetinas, interferones, TNFs y quimioquinas, o en 6 familias según su función. Las citoquinas y quimioquinas definen en muchos casos a los tipos celulares que las secretan, de esta manera se pueden diferenciar diversos tipos de linfocitos colaboradores (Th, del inglés, *T helper*) Th0, Th1, Th2, Th3 o Th17; el desequilibrio entre dichos subtipos es la causa de numerosas patologías. Además, destacó la importancia de IL-12, secretada por macrófagos y células dendríticas, pues es la citoquina que conecta la inmunidad innata con la adaptativa, y actúa sobre linfocitos T CD4⁺ y células NK.

La Dra. García Peñarubia (Universidad de Murcia) describió brevemente aspectos relacionados con la función de citotoxicidad y el desarrollo de modelos teóricos de citotoxicidad celular. Analizó el efecto modulador de diversos anticuerpos

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: alfredo.minguela@carm.es, aminguela@ono.com (A. Minguela Puras).

sobre la conjugación y citolisis celular a través de receptores de membrana expresados en células NK, destacando el papel inhibitorio de CD33 y MHC-I. Mediante ensayos de lisis redirigida con anticuerpos que reconocen receptores inhibidores y activadores, utilizando como células diana la línea P815 de ratón, rica en receptores Fc, se puso de manifiesto la existencia de un nuevo mecanismo de inhibición selectivo a través de CD33 que complementa la acción del MHC-I. MHC-I inhibe las señales activadoras iniciadas por receptores acoplados a moléculas transductoras que poseen secuencias ITAM y se conducen a través de Zap-70 y Syk, mientras que CD33 inhibe las señales activadoras que se transducen de manera independiente de secuencias ITAM, como es el caso de DAP-10. Las secuencias ITIM que posee CD33 podrían ejercer su efecto inhibitorio reclutando fosfatasa de tipo SHP-1 y 2. En cambio, MHC-I carece de estos dominios y ejercería su efecto inhibitorio por asociación en cis con otras moléculas de señalización negativa, como los receptores LIRL (del inglés, *Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors*), ya que se unen a los dominios $\alpha 3\text{-}\beta 2\text{m}$ de MHC-I y KIR (del inglés, *Killer Immunoglobulin-like Receptors*) o CD94-NKG2, que se unen a los dominios $\alpha 1\text{-}\alpha 2$ de las moléculas MHC-I.

Para finalizar, describió un modelo matemático de ayuda para comprender la modulación de la respuesta inmunitaria en la formación del complejo receptor-ligando y de los complejos inhibidores. Este modelo permite el cálculo de las variaciones de concentración de los diferentes complejos de la sinapsis inmunológica, obteniendo modelos en los que los gradientes de concentración se suceden de manera concéntrica desde el punto de sinapsis, hecho demostrado de manera experimental, siendo el punto de partida para el desarrollo de modelos computacionales más complicados en los que cada vez se tienen en cuenta más moléculas.

El Dr. Pujol-Borrell (Hospital German Trias y Pujol, Badalona) revisó la «Tolerancia inmunológica y las vías de inmunorregulación», con particular énfasis en el papel que desempeña el timo, y cómo una función inadecuada de este órgano provoca enfermedades como diabetes, esclerosis múltiple y otras patologías autoinmunitarias. La enfermedad de Graves es el paradigma de enfermedad autoinmune inducida por anticuerpos anti-receptor, concretamente contra el Receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR). El polimorfismo del gen que codifica TSHR está relacionado con la enfermedad de Graves, de forma que variantes genéticas que provocan que el gen se exprese pobremente en el timo dificultan la eliminación clonal de los linfocitos T autorreactivos. Por otro lado, las células dendríticas (DC, del inglés, *Dendritic Cells*), son un tipo celular crítico en la inducción de tolerancia, tanto en trasplantes como en autoinmunidad, de manera que la captura de exosomas por DC plasmocitoides puede representar una vía de presentación alógena para inducir tolerancia.

Finalmente, el Dr. Zhorou Liu (Universidad de Columbia, Nueva York), describió un modelo experimental de «Inducción de inmunotolerancia a células de islotes pancreáticos mediada por ILT3-Fc en ratones diabéticos NOD/SCID humanizados». En dicho modelo, ratones NOD/SCID trasplantados con células de islotes pancreáticos humanas y tratados con la proteína recombinante ILT3-Fc, toleraron el injerto de forma indefinida (>90 días) a diferencia de los grupos control tratados con IgG o sin tratar. El tratamiento con ILT3-Fc

disminuyó la secreción de citoquinas y la expresión de CD40L, e indujo la diferenciación de células T CD8⁺ supresoras capaces de inhibir la respuesta alógena. Por tanto, los datos derivados de este trabajo mostraron que ILT3-Fc puede actuar como un potente agente inmunorregulador suprimiendo el rechazo de los islotes aloinjertados en ratones NOD/SCID humanizados.

Conferencia inaugural: genética e interacción funcional de HLA y receptores NK

El Prof. John Trowsdale (Universidad de Cambridge, Reino Unido) habló de los receptores KIR expresados por células NK y de los receptores LILR y OSCAR (*Osteoclast Associated Receptor*), estos últimos expresados principalmente por células mieloides. Destacó el elevado polimorfismo de los loci HLA y KIR, y cómo la interacción entre las moléculas codificadas por ambos grupos de genes da lugar a la regulación de la función citolítica de las células que expresan receptores KIR (células NK y linfocitos T). A esa diversidad parece haber contribuido de forma importante el entrecruzamiento entre los propios genes KIR, generando nuevos haplotipos y afectando al número de copias de cada gen. Este polimorfismo da pie a que los individuos sean diferencialmente susceptibles a diversas enfermedades como infecciones (VHC, VIH, etc.), artritis psoriásica, preeclampsia o cáncer cervical.

Respecto a los receptores LILR, destacó que son capaces de modular la diferenciación y el potencial regulador de las DC y presentó resultados en los que se podía apreciar que la afinidad de distintos receptores LILR activadores varía en función del alelo HLA que se considere y que además, esta afinidad se incrementa con la ausencia de la $\beta 2\text{-microglobulina}$, por lo que se supone que estos receptores LILR activadores pueden detectar moléculas HLA que no están completas en la superficie de células infectadas.

Por último, habló del receptor OSCAR, expresado en células mieloides y que tiene función activadora debido a su asociación con la proteína adaptadora Fc γ . Los ligandos específicos de este receptor, y su función *in vivo*, son hasta ahora desconocidos, pero se ha demostrado que OSCAR estimula una de las vías asociadas a Fc γ requerida para la osteoclastogénesis *in vivo*. Además, se sabe que se une a motivos específicos en las fibras de colágeno, incrementando el número de osteoclastos en cultivos celulares, lo que sugiere que puede reconocer ligandos en el colágeno que dan lugar a la diferenciación funcional de leucocitos.

Sesión-2: Inmunotolerancia en trasplante

El Dr. Frans Claas (Universidad de Leiden, Holanda) nos habló del «Embarazo con éxito como modelo de tolerancia». Describió la «paradoja inmunológica» que se produce durante el embarazo, ya que el feto es semialógeno con la madre y, sin embargo, no es rechazado como pasaría con un aloinjerto porque el sistema inmunitario de la madre ignora su presencia. Esta tolerancia se debe especialmente a la existencia de una regulación de la respuesta inmunitaria a nivel del trofoblasto. Estas células no expresan antígenos clásicos de HLA de

clase I y clase II, lo que previene de una respuesta por parte de las células T alo-reactivas maternas, y en cambio sí expresan HLA de clase I no clásico como HLA-G y HLA-E y HLA-C, que previene del ataque de las células NK. La idea de la regulación local se apoya en el hecho de la distribución diferencial de subtipos de linfocitos T en las 3 interfases materno-fetal: *decidua basalis*, *decidua parietalis* y la sangre periférica materna. En la *decidua basalis* hay un ratio CD4/CD8 inverso al de sangre periférica y en la *parietalis*, un incremento de la expresión de CD25 en las células T CD4⁺, aunque se desconoce si son células T reguladoras o activadas. Una mayor incompatibilidad HLA entre madre y feto se asoció con un mayor porcentaje de células CD4⁺CD25^{dim} activadas en la *parietalis*, y observaron que con tan solo una incompatibilidad HLA-C entre feto y madre se inducían células reguladoras funcionales en la *decidua parietalis*. También se analizaron las diferencias en la regulación de la respuesta inmunitaria inducida por embarazos a partir de un óvulo donado (OD), por fecundación *in vitro* (FIV) o por embarazos naturales, y se describió que el número de células CD4⁺CD25⁺ se incrementaba en la sangre periférica de embarazadas de OD y FIV. Igualmente el número de incompatibilidades HLA se correlacionó con el porcentaje de células CD4⁺CD25^{dim}, como reflejo de una mayor inmunoregulación en las OD que en las FIV.

El Dr. José María Moraleda (Hospital U. Virgen de la Arrixaca, Murcia) con su sesión de «Terapia celular e inmunotolerancia», resaltó la utilidad del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) como herramienta en inmunoterapia. En estos trasplantes, tras la estabilización del injerto, es necesario el mantenimiento de un tratamiento inmunosupresor destinado a reducir el riesgo de rechazo y la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Respecto a este último factor de riesgo, conviene recordar el efecto injerto contra leucemia (EICL) que mejora de la supervivencia en los pacientes trasplantados. Actualmente, los objetivos principales en un TPH son 3: 1) disminuir la morbi-mortalidad, para lo que se intenta reducir la toxicidad del acondicionamiento; 2) segregar los efectos de la EICH y del EICL para optimizar su efecto inmunomodulador, y 3) optimizar la búsqueda de donantes para aumentar las posibilidades del trasplante haploidéntico. El TPH haploidéntico es una herramienta clave en aquellos pacientes que no cuentan con donantes HLA idénticos; afortunadamente en los últimos años se ha optimizado, mejorando la estrategia de selección de precursores hematopoyéticos (CD34⁺) y linfocitos T reguladores CD4⁺CD25⁺ (Treg), con lo que se pretende conseguir la supresión de la EICH, preservando el EICL. Por otro lado, el denominado trasplante «mini-ALO» o TPH con Acondicionamiento de Intensidad Reducida (TPH-AIR) se fundamenta en un régimen de preparación no mieloablativo, pero muy inmunosupresor, que permite el establecimiento de quimeras. En este, la aparición del EICL es más tardía y depende de los linfocitos T alogénicos infundidos. El TPH-AIR presenta baja mortalidad, al favorecer un estado de inmunosupresión que favorece el injerto y el desarrollo de EICL.

El Dr. Jordi C. Ochando (ISCIII, Madrid) describió la función inmunorreguladora de células supresoras derivadas de células mieloides (MDSC, del inglés, *Myeloid-Derived Suppressor Cells*), que constituyen una población heterogénea de la que forman parte progenitores de macrófagos, granulocitos, DC y células mieloides inmaduras, y cuya función se

relaciona con la supresión de la respuesta dependiente de linfocitos T (antígeno-específica y no-antígeno-específica) y el desarrollo de tumores, por lo que es una población de interés como posible diana terapéutica. Estas células se describieron inicialmente en experimentos en ratas sometidas a trasplante renal, donde la inducción de tolerancia parecía deberse a la participación de una población celular con fenotipo CD3⁻Clase-II⁻CD11b⁺CD80/86⁺, que se identificó como MDSC, capaces de inhibir a los linfocitos T y de inducir apoptosis dependiente de contacto, debido también a la inducción de linfocitos Treg. La expansión y la activación de las MDSC se regula por diversos factores: CSF (del inglés, *Macrophage-colony Stimulating Factor*), granulocito-macrófago-CSF, VEGF (del inglés, *Vascular Endothelial Growth Factor*), factor de células madre, IL-6, así como prostaglandinas y su regulador, la ciclooxygenasa-2. Todos ellos influyen la mielopoiesis y la diferenciación mieloide.

Por su relevancia en la inducción de tolerancia en trasplante, sería interesante poder expandir, inducir y activar las MDSC. El Dr. Ochando expuso los prometedores resultados obtenidos por su grupo en la generación *in vitro* de MDSC en modelos murinos, a partir tanto de células madre embrionarias como de células madre hematopoyéticas de médula ósea, con capacidad de inhibir la proliferación de linfocitos T e inducir el desarrollo de linfocitos Treg.

Sesión-3: Monitorización inmunológica en trasplante de órgano sólido

El Dr. Oriol Bestard (Hospital Universitario de Bellvitge, IDIBELL, Barcelona) en su presentación «Monitorización de la alorrespuesta celular donante-específica en trasplante renal», destacó que en trasplante renal la mejora de la terapia inmunosupresora, junto a una estricta monitorización inmunológica de la respuesta humoral pre y postrasplante, ha contribuido a reducir la incidencia de rechazo mediada por anticuerpos. Sin embargo, el rechazo agudo mediado por células T persiste o incluso se ha incrementado. En modelos murinos de tolerancia al trasplante, la supervivencia del órgano va ligada al bloqueo de las moléculas coestimuladoras, mientras que la adición de células T memoria específicas lleva a una brusca disminución de la supervivencia. Estas células T memoria son refractarias a regulación, por lo que la tolerancia no se puede lograr en presencia de respuestas de células T memoria. La cuantificación de células T memoria específicas mediante ELISPOT de IFN- γ pretrasplante y a los 6 meses postrasplante mostraba una clara relación con el desarrollo de rechazo agudo subclínico, pero no con la respuesta aloinmune humoral, ni tampoco de los valores pretrasplante con el daño histológico.

El Dr. Alfredo Minguella (Hospital U. Virgen de la Arrixaca, Murcia) presentó el trabajo «Variabilidad KIR en trasplante hepático» en el que se analizó la importancia de la interacción de los receptores KIR con sus ligandos HLA en la aceptación de injertos hepáticos. La compatibilidad en HLA-C se asocia a una disminución en la frecuencia de rechazo agudo lo que sugiere un papel relevante de HLA-C en la aceptación de este tipo de injertos. HLA-C además, es el ligando específico de receptores KIR, donde la presencia de Asn80 (alelos del

grupo C1) en pacientes se asociaba a una disminución significativa de la frecuencia de rechazo agudo, mientras que ocurría lo contrario cuando el aminoácido presente en la molécula de HLA-C era Lys80 (alelos del grupo C2), divergencia que se veía especialmente acentuada cuando el donante del injerto era heterocigoto C1C2. Más aún, la mejor aceptación del injerto en los pacientes C1C1 homocigotos se asociaba con un aumento en el número de células CD8⁺KIR2D⁺. En colaboración con los grupos de la Dra. Clara Alonso (Hospital Juan Canalejo, La Coruña) y el Dr. Carlos Vilches (Hospital Puerta de Hierro, Madrid), se presentaron resultados que demostraban que la presencia del receptor KIR2DL3 (inhibidor) y su ligando C1 en el paciente favorecía la aceptación del injerto, mientras que la presencia de KIR2DS1 (activador) con su ligando C2, incrementaba la posibilidad de padecer rechazo agudo. Además, en concordancia con estudios previos, los resultados de este trabajo revelaron que pacientes KIR2DL3⁺ presentaban una tasa de recurrencia de VHC significativamente menor que los pacientes KIR2DL3⁻.

El Dr. Antonio Núñez (Hospital Virgen del Rocío, Sevilla) en su presentación «Monitorización de anticuerpos donante-específicos en trasplante», describió 4 factores serológicos de relevancia que condicionan la aceptación del injerto: 1) presencia de anticuerpos anti-HLA donante-específicos preformados, y la importancia de las pruebas cruzadas, que puedan predecir un cuadro de rechazo agudo. En este sentido, el ensayo de citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) se ha revelado como la prueba *gold-standard*; 2) presencia de anticuerpos postrasplante *de novo*, y la importancia de determinar cuidadosamente las evidencias histológicas de daño crónico, las pruebas de la acción de los anticuerpos como la presencia de depósitos de C4d en los capilares, el indicio de la activación y participación de los anticuerpos en el rechazo y la presencia de anticuerpos anti-HLA u otros anticuerpos donante-específicos formados *de novo*; 3) presencia de anticuerpos donante específicos no anti-HLA, en pacientes sometidos a trasplante hepático con evidencias de disfunción del órgano mediada por anticuerpos. Pacientes con disfunción hepática severa postrasplante y biopsias compatibles con hepatitis autoinmune, presentaron formación de anticuerpos anti-GSTT1, en concreto en receptores de injertos negativos para la proteína GSTT1 que recibían injertos positivos para la misma, y 4) presencia de anticuerpos anti-hn-RNP-K en pacientes con Vasculopatía Cardíaca del Alotrasplante (CAV). La hn-RNP-K es una proteína de la matriz nuclear perteneciente al grupo *pre-mRNA-Binding Proteins* cuya expresión resulta en la activación de promotores de la Polimerasa-II. La presencia de los anticuerpos anti-hn-RNP-K después de 48 meses tras el trasplante se revela como un claro factor de riesgo en el desarrollo de CAV y se relaciona con una menor supervivencia.

Sesión-4: Inmunorregulación de las respuestas autoinmune y alérgica

La Dra. Marta Vives (Hospital Germans Trias y Pujol, Badalona) en su presentación «¿Es posible prevenir y tratar la diabetes autoinmunitaria mediante inmunoterapia?», planteó la posibilidad de desarrollar tratamientos de base inmunológica para

la diabetes autoinmune o diabetes tipo 1 (DT1). La destrucción selectiva de las células β de los islotes pancreáticos por la acción de linfocitos T y B autorreactivos es la causa de esta enfermedad. Los ensayos realizados para prevenir o curar DT1 se basan en estrategias de bloqueo de anticuerpos o células implicadas en la respuesta inmunitaria, que han sido aplicadas con éxito en modelos murinos, pero que han fallado en la práctica clínica, a pesar de haber conseguido respuestas parciales con producción de insulina endógena tras la regeneración incompleta de las células β .

En DT1 la respuesta inmunitaria se retroalimenta de la propia muerte celular por factores ligados a daño molecular (DAMP, del inglés, *Damage-Associated Molecular Patterns*), asociados a necrosis. Si las células apoptóticas son fagocitadas de manera temprana no hay riesgo de que estos DAMP estimulen al sistema inmunitario, al eliminar rápidamente la fuente de autoantígenos. Experimentos realizados en ratón, demostraron que es posible inducir tolerancia y resistencia a DT1, mediante la inducción de DC tolerogénicas, al ponerlas en contacto con cuerpos apoptóticos de líneas celulares de células β de páncreas. Las DC inmaduras que entraron en contacto con cuerpos apoptóticos, modularon la expresión de moléculas coestimuladoras (CD40 y CD86) y la secreción de citoquinas proinflamatorias, además de inhibir su propia maduración. Teniendo en cuenta la facilidad con la que estas células dendríticas se pueden obtener a partir de monocitos de sangre periférica, la posibilidad de que puedan ser aplicadas en la práctica clínica es importante.

El Dr. Mario Delgado (CSIC, Granada) habló sobre la «Inmunorregulación por neuropéptidos endógenos». El péptido intestinal vasoactivo (VIP, del inglés, *Intestinal Vasoactive Peptide*), es un neuropéptido/neurotransmisor ampliamente distribuido en el SNC y SNP, que es liberado tanto por neuronas como por células del sistema inmunitario y cuyos efectos son pleiotrópicos ya que tiene función como neurotransmisor, regulador inmune, vasodilatador y secretagogo. VIP es un potente agente antiinflamatorio que afecta tanto a la inmunidad innata, actuando sobre macrófagos, DC y microglía, como a la inmunidad adquirida, frenando la respuesta inmunitaria de células T y células presentadoras de antígenos. VIP desarrolla su efecto inmunoregulatorio inhibiendo la producción de citoquinas inflamatorias, la expresión de moléculas coestimuladoras en macrófagos y DC y de la respuesta Th1.

Sus resultados también demuestran que VIP se puede considerar una citoquina de tipo Th2, al favorecer la supervivencia de células Th2 y regular la respuesta Th1/Th2 a favor de esta última, por lo que se abre la posibilidad de su uso terapéutico para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, en las que predomina una respuesta de tipo Th1 auto-reactiva. Además, recientemente se ha descubierto que VIP es capaz de inducir la generación y activación de células Treg específicas de antígeno, contribuyendo a mantener el estado de tolerancia inmunológica.

Sesión-5: Inmunopatología y cáncer

El Dr. Armand Bensussan (INSERM, París) habló sobre «La estructura y función de los receptores NK expresados en linfopátías malignas», concretamente los receptores

KIR3DL2/CD158k y NKp46 en linfocitos T CD4⁺ de pacientes con síndrome de Sézary (SS). El SS es una variante leucémica y eritrodérmica agresiva de linfoma T cutáneo caracterizada por la presencia de una población T clonal con núcleo cerebriforme en piel, nódulos linfáticos y sangre periférica. Actualmente se sabe que el fenotipo de estos linfocitos es CD4⁺CD45RO⁺CD26⁻CD7⁻. En trabajos previos, el grupo del Dr. Bensussan identificó el receptor CD158k/KIR3DL2 como un marcador específico de la superficie celular de los linfocitos T CD4⁺, que permite evaluar la carga tumoral circulante y realizar un seguimiento de los pacientes con SS. La habilidad para transcribir genes de receptores cuya expresión es más específica de células NK, alentó la búsqueda de otros receptores de células NK que pudieran coexpresarse en las células patológicas, como NKp46. Encontraron que el fenotipo de los linfocitos T malignos era CD4⁺CD158k⁺NKp46⁺, y su monitorización podría ser de utilidad en el pronóstico, pues en periodos de remisión o en pacientes sometidos a tratamiento, esta población presenta valores absolutos menores que en los periodos de recaída o agravamiento de la enfermedad.

El Prof. Federico Garrido (Hospital Virgen de las Nieves, Granada) cerró el simposium con la charla «El escape inmunológico del cáncer: expresión de MHC y rechazo», en la que analizó los mecanismos de escape utilizados por las células tumorales para evadir la respuesta inmunológica, principalmente, basados en una reducción de la expresión de moléculas MHC. En diversos tipos de carcinoma, vejiga, colon, recto, próstata, melanoma, mama y laringe, se evidencia la pérdida de expresión de HLA de clase I (HLA-A, -B o -C) o HLA-DR. Mediante métodos inmunohistoquímicos y moleculares, de pérdida de heterocigosidad (LOH, del inglés, *Loss Of Heterozygosity*) y de PCR-SSO, se analiza la expresión de los diferentes genes de HLA, para clasificar los tumores según su fenotipo de pérdida de HLA: pérdida total de expresión, pérdida de un haplotipo o locus o alelo, fenotipos complejos que solo expresan determinados alelos u otros que no responden a interferón o que presentan expresión de alelos HLA no clásicos (HLA-E, -F o -G). En conjunto los fenotipos alterados pueden detectarse hasta en el 90% de las lesiones primarias de los cánceres enumerados anteriormente. Las alteraciones detectadas en las

células tumorales se pueden considerar reversibles y leves, si están alteradas las vías de regulación de la expresión de la β 2-microglobulina o de HLA; o irreversibles y graves, si existen mutaciones o LOH.

En la actualidad, están utilizando este tipo de estudios para explicar la evasión de tumores en pacientes que reciben inmunoterapia contra cáncer, exponiendo el caso de un paciente afectado de melanoma tratado con una vacuna constituida por células cancerosas autólogas modificadas con dinitrofenil (DNP). El tratamiento consistió en la aplicación de varias inyecciones intradérmicas de este preparado celular mezclado con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), que induce inflamación en las masas metastásicas mediada por linfocitos T productores de IFN- γ . El tratamiento redujo la masa tumoral, sin embargo, observaron la aparición de metástasis con baja expresión de HLA de clase I, resistentes a la inmunoterapia. Por microarray, corroboraron que la inmunoterapia inducía la aparición de metástasis con defectos adicionales en la expresión de HLA y lesiones graves irreversibles. Para evitarlo, se están desarrollando adenovirus para su uso en terapia génica, para tratar de insertar los genes HLA y/o β 2-microglobulina en las células tumorales y restaurar la expresión de HLA.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a todos los que, en tiempos difíciles, han contribuido para que este simposium fuera un éxito. A todos los compañeros del Servicio de Inmunología y a los patrocinadores: tanto públicos, Consejería de Sanidad de la Región de Murcia, Hospital U. Virgen de la Arrixaca, Real Academia de Medicina de Murcia, Fundación Séneca, Fundación CajaMurcia, Fundación para la Formación e Investigación Sanitaria de Murcia (FFIS), Fundación HEFAME, Fundación para el Estudio y Desarrollo de la Inmunogenética en Murcia (FEYDIM) y Sociedad Española de Inmunología (SEI); como privados, Alere Healthcare, Analyzer, Astellas, Becton Dickinson, Bristol-Myers-Squibb, CLS Behring, Binding Site, Comercial Rafer, Diagnóstica Lonwood, Grifols, Izasa, Menarini Diagnostics, Miltenyi biotec, Novartis, Phadia, Siemens y Thermofisher.