

Imunobiologia do alotransplante

INTRODUÇÃO

Pequeno histórico da imunobiologia do transplante

Historicamente, os primeiros relatos a respeito das bases biológicas da rejeição de um enxerto foram feitos por pesquisadores especialistas em tumores, no começo do século passado, principalmente por Schöne (1912), Tytzer (1916) e Woglom (1929). Esses pesquisadores descreveram que tumores transplantados para os animais de sua origem eram aceitos e aqueles transplantados em indivíduos diferentes eram rejeitados, sendo inclusive introduzido o termo de *Imunidade ao Transplante*. No entanto, foi durante a Segunda Guerra Mundial, através de experimentos realizados por um pesquisador britânico – nascido no Rio de Janeiro –, que ficaram definidas as principais bases biológicas do transplante, chamadas *Leis do Transplante*. Esse período foi chamado, por historiadores, como o período de renascença do transplante. Sir Peter Medawar e Thomas Gibson realizaram experimentos de transplante de pele, inicialmente, em um indivíduo com queimaduras de pele decorrentes da guerra e, através de biópsias seriadas, descreveram que: (i) enxertos do próprio indivíduo eram aceitos (auto-enxertos); (ii) enxertos de outros indivíduos eram rejeitados (aloenxertos); (iii) um segundo aloenxerto igual ao primeiro era rejeitado de forma acelerada, confirmando as observações dos pesquisadores em tumores. Nessa ocasião, concluíram que os resultados sugeriam que a destruição da epiderme derivada do doador ocorria por um mecanismo de imunização ativa. Mais tarde, Medawar confirmou esses resultados em experimentos bem controlados realizados em coelhos (1944-1945), reafirmando assim as *Leis do Transplante*. Constatou também que o processo de rejeição se originava sistemicamente e não localmente e que, pelo menos, sete antígenos estavam envolvidos. Esses experimentos ficaram clássicos na área de imunologia de transplantes (Figura 1). Assim ficou consolidada a base genética e imunológica para o processo de rejeição do transplante. Posteriormente, com base nas observações de Ray David Owen sobre tolerância imunológica em bezerros gêmeos não idênticos (1945), Medawar trouxe outra enorme contribuição cien-

Verônica Coelho

Médica pesquisadora: Laboratório de Imunologia do InCor, Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia da FMUSP e Instituto de Investigação em Imunologia - iii – Instituto do Milênio, São Paulo, Brasil.

Cristina Caldas Ramos

Graduação em Ciências Biológicas (Universidade de Brasília). Mestrado em Biologia Molecular (Universidade de Brasília). Doutorado em Imunologia pela USP. Atua principalmente nos seguintes temas: imunologia dos transplantes e humanização dos anticorpos.

Jorge Elias Kalil Filho

Professor titular da Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia (HC/FMUSP). Diretor do Laboratório de Imunologia – InCor. Presidente do Conselho Diretor - InCor.

tífica, melhor caracterizando o fenômeno de tolerância imunológica, despertando possibilidades de superação da rejeição (1951-1952).

A produção do conhecimento científico na área de imunologia de transplantes contou com a participação de cinco diferentes especialidades: 1) cirurgiões (exerceram práticas de transplante); 2) especialistas de tumores (descrição das primeiras *Leis do Transplante* – da primeira a segunda década do século XX); 3) geneticistas mendelianos (ingressam nesta área nos anos 1930, começando a caracterizar histocompatibilidade em termos científicos; ex. George Snell e Jean Dausset definem os sistemas de genes de histocompatibilidade em camundongos – H-2 – e em humanos – HLA –, respectivamente); 4) biólogos/zoologistas (durante Segunda Guerra Mundial, consolidação das *Leis do Transplante*); 5) imunologistas (apenas nos anos 1950-1960).

Hoje, temos sólido conhecimento de que o sistema imunológico é fundamental para rejeição e aceitação do transplante e que os indivíduos geneticamente diferentes têm na superfície de suas células moléculas polimórficas – que constituem parte da identidade molecular individual – e que são reconhecidas por células do sistema imune do indivíduo transplantado, desencadeando o processo de rejeição do aloenxerto. Essas moléculas são principalmente as moléculas do sistema HLA (do inglês,

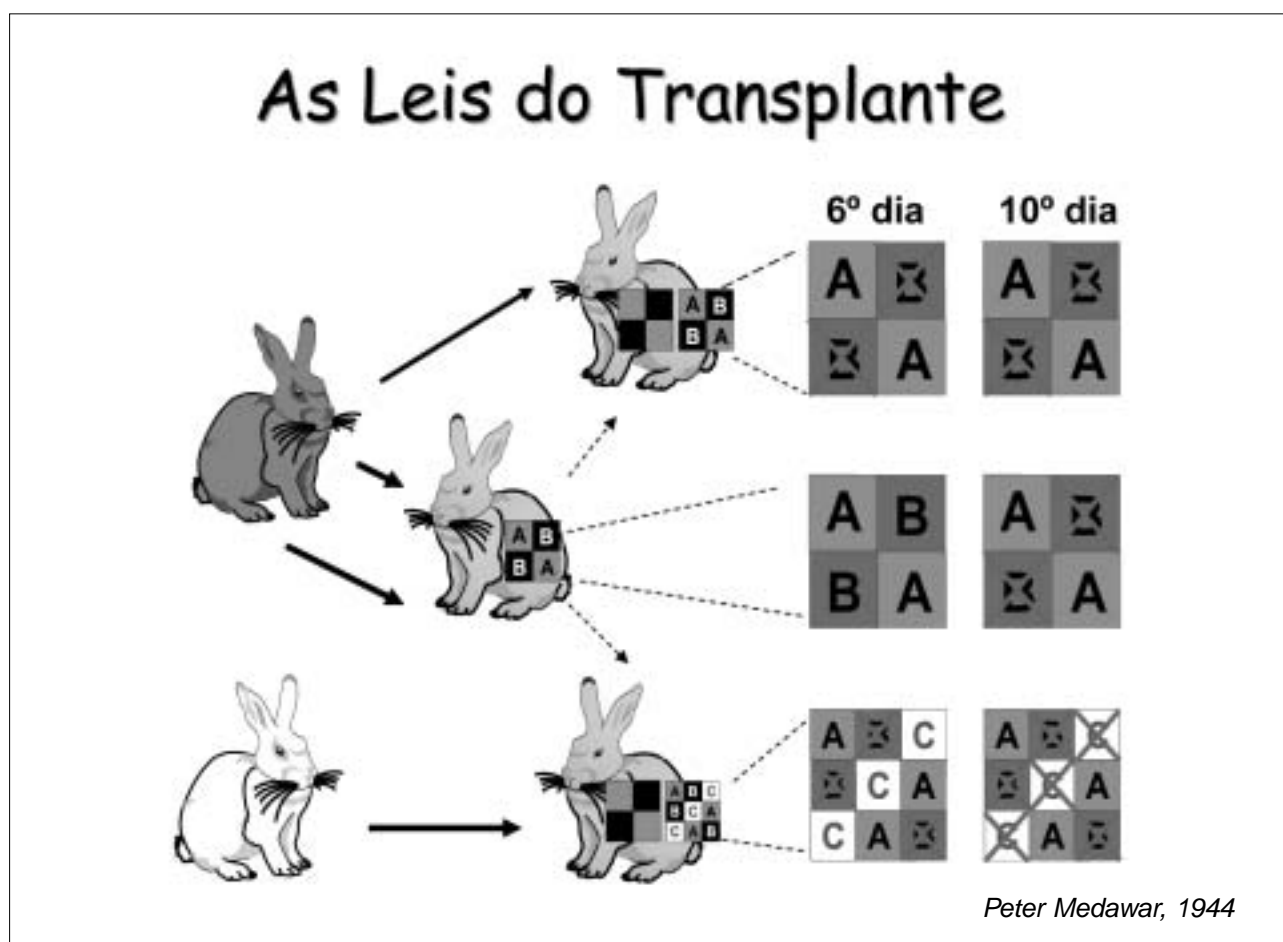


Figura 1 - As Leis do Transplante. Coelhos de três linhagens diferentes foram usadas para transplante de pele (A-amarelo, B-cinza, C-branco). No primeiro experimento, coelhos amarelos receberam pele de coelho cinza e também de um outro igual a ele, amarelo. No 10º dia ocorreu rejeição apenas da pele cinza. No segundo experimento, coelhos que haviam recebido esses mesmos transplantes (A e B) receberam mais tarde novos enxertos: novamente A e B e também do coelho branco (C). Agora a rejeição da pele B-cinza foi rejeitada de forma mais acelerada com 6 dias, enquanto que a pele C só foi rejeitada com 10 dias e a pele igual a dele não foi rejeitada. Esses experimentos mostram que: (i) enxertos de indivíduos geneticamente iguais não são rejeitados; (ii) enxertos de indivíduos geneticamente diferentes são rejeitados; (iii) há memória na resposta ao enxerto, acelerando a rejeição, em caso de sensibilização prévia; (iv) há especificidade na resposta ao enxerto, uma vez que a aceleração foi específica ao enxerto que já havia sido transplantado previamente. Medawar , 1944.

Human Leukocyte Antigens), mas também outras moléculas polimórficas podem desencadear uma resposta imunológica e serem importantes no processo de rejeição, como os antígenos secundários. Também é bem consolidado que os linfócitos T têm um papel determinante no desencadeamento de rejeição, devido à sua capacidade de reconhecer as moléculas polimórficas presentes nas células do tecido transplantado.

ALGUMAS BASES PARA COMPREENSÃO DA IMUNOBIOLOGIA DO TRANSPLANTE

Repertório periférico de linfócitos T: alta frequência de células alorreativas

O repertório de linfócitos T presente nos órgãos linfóides periféricos e no sangue periférico de qualquer

indivíduo normal tem uma alta frequência de células com capacidade de reconhecer moléculas HLA+ peptídeo de outro indivíduo. Esse reconhecimento de moléculas polimórficas de um outro indivíduo da mesma espécie é chamado de alorreconhecimento, que significa reconhecimento do outro (*allós*, do grego, significa outro). Assim, o alorreconhecimento é uma forma de reconhecimento molecular do outro. Esta característica do repertório de linfócitos T periférico é determinante na resposta ao transplante e, conseqüentemente, para a compreensão da imunobiologia do transplante. Assim, é importante analisar por que o repertório de linfócitos T tem alta frequência de células alorreativas.

Durante o processo de amadurecimento e desenvolvimento dos linfócitos T no timo, os timócitos passam a expressar diversas moléculas de superfície (tais como CD3,

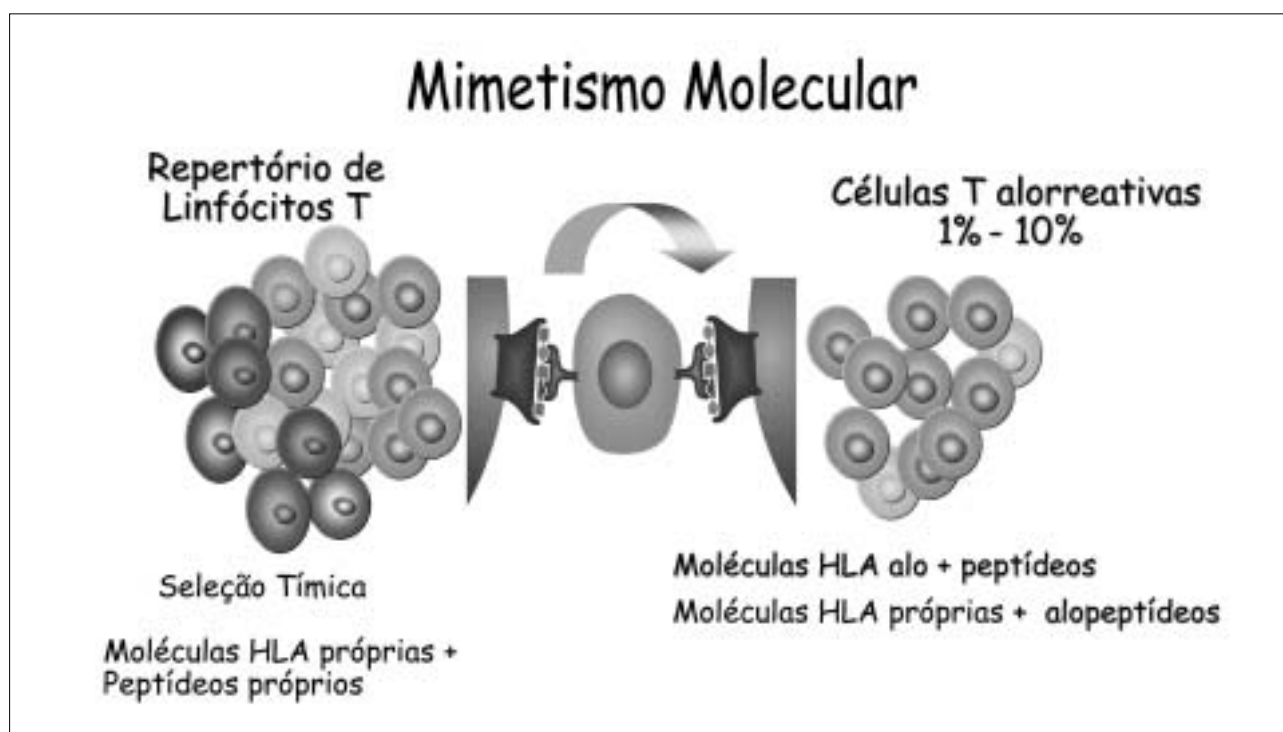


Figura 2 - Seleção do repertório alorreativo. O repertório de linfócitos T é formado no timo através da interação com moléculas HLA próprias + peptídeos próprios, sendo selecionados os que interagem com esses complexos com afinidade intermediária. Uma parte do repertório de linfócitos T maduro é também alorreativo (1-10%), sendo capaz de reconhecer moléculas HLA alogeneicas + peptídeos, assim como moléculas HLA próprias + alopeptídeos, através de mimetismo molecular.

CD4, CD8, Receptor de Célula T – RCT, algumas também CD25), fundamentais para as interações celulares que permitem a continuidade do seu desenvolvimento no timo, assim como de suas posteriores funções efetora e reguladora na periferia, como linfócitos T maduros. No timo, os tímócitos, cujos RCT interagem com afinidade intermediária com as moléculas de HLA + peptídeos do epitélio tímico, são selecionados positivamente e prosseguem nas diferentes etapas de seu desenvolvimento, culminando em sua saída do timo para popular os órgãos linfóides periféricos. Em contraste, exceto por uma pequena população celular de células T reguladoras (T reg CD4+/CD25+), os tímócitos, cujos RCT interagem com muita intensidade de ligação, são selecionados negativamente e morrem no timo por apoptose. Também morrem no timo os linfócitos cujos RCT não interagem com os complexos HLA + peptídeos. Assim, o repertório de linfócitos T da periferia de qualquer indivíduo normal é composto por células que foram selecionadas com capacidade reconhecer suas próprias moléculas de HLA, que apresentam peptídeos próprios. Uma vez maduros, os linfócitos T são capazes de exercer suas atividades funcionais após o reconhecimento de outros peptídeos antigênicos (por exemplo, peptídeos virais ou de outros microrganismos), apresentados dentro do contexto de moléculas HLA próprias.

Estudos, *in vitro*, realizados com células do sangue periférico de diferentes indivíduos, permitiram a interessante observação de que os linfócitos de um determinado indivíduo eram capazes de proliferar na presença das células do outro indivíduo. Este tipo de ensaio *in vitro* é chamado de Cultura Linfocitária Mista (MLR, do inglês, *Mixed Lymphocyte Reaction*). Assim, foi feita uma estimativa de que aproximadamente 10% dos linfócitos periféricos eram células com capacidade de reconhecer aloantígenos, ou seja, as moléculas de HLA + peptídeos de outros indivíduos. Este reconhecimento de moléculas HLA de outros indivíduos, ocorre provavelmente por mimetismo molecular, uma vez que essas moléculas, apesar de muito polimórficas, têm muitas semelhanças moleculares, sejam de seqüência ou conformacionais (Figura 2). A hipótese mais aceita é que os complexos moleculares HLA + peptídeo, que geraram a seleção positiva de um determinado linfócito T, sejam semelhantes a complexos moleculares HLA + peptídeo alogeneicos. A alta frequência de linfócitos T alorreativos presente no repertório de linfócitos T periférico terá importantes implicações no transplante, como veremos mais adiante.

É interessante apontar que, além do transplante e das transfusões sanguíneas serem experiências alogeneicas que alguns indivíduos passam na vida, todos nós

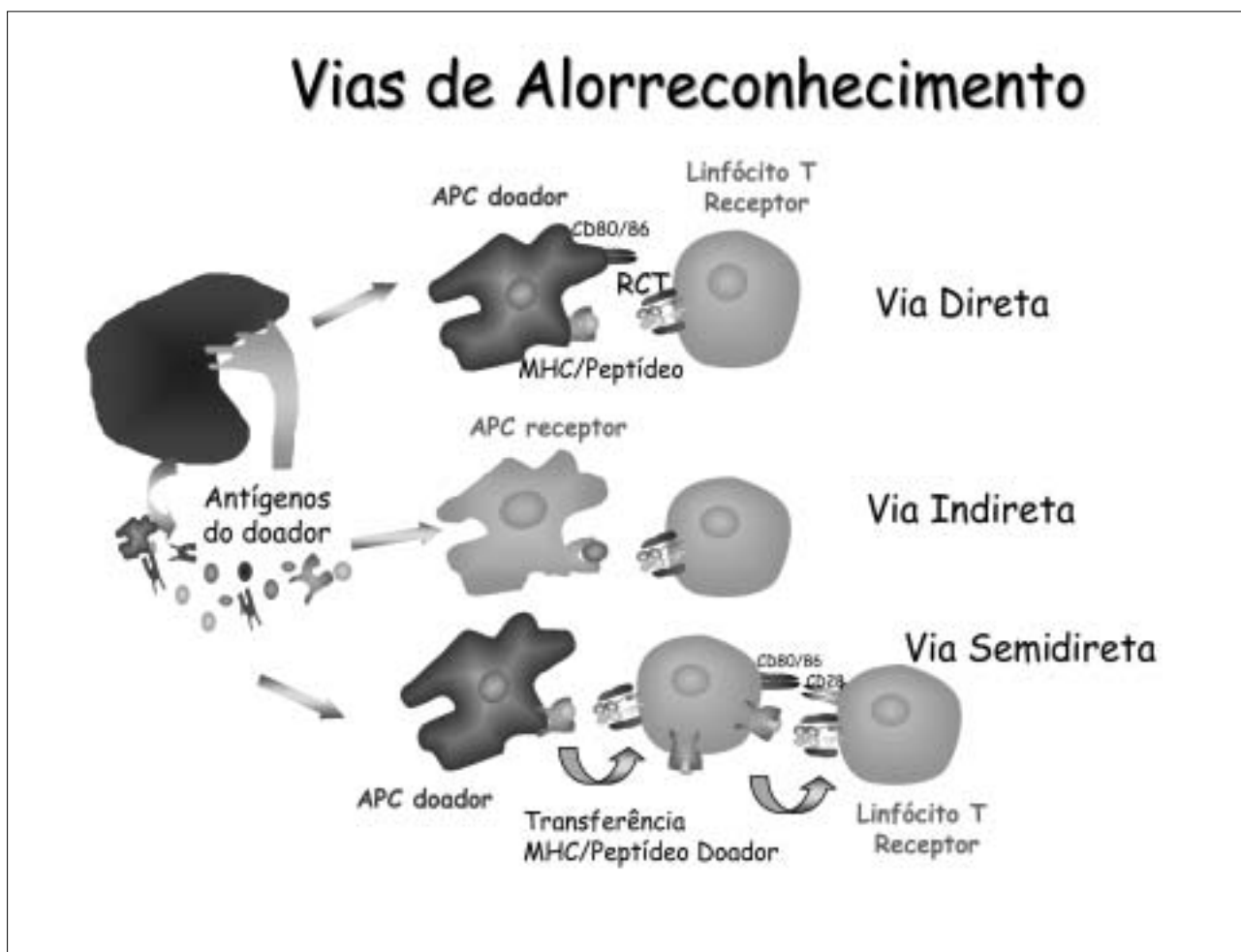


Figura 3 - Vias de alorreconhecimento. O reconhecimento alogeneico ocorre através das vias direta, indireta e semidireta. Na via direta os linfócitos T do receptor reconhecem moléculas HLA + peptídeo nas células apresentadoras de antígeno (APC) do doador. Na via indireta os linfócitos T do receptor reconhecem os antígenos alogeneicos (derivados do doador) processados e apresentados pelas APCs do próprio receptor. Na via semidireta, complexos HLA+ peptídeos presentes nas células do doador são transferidos para a superfície de linfócitos do receptor que, por sua vez, passam a ativar outros linfócitos alorrereativos.

vivemos pelo menos uma experiência alogeneica fisiológica: na relação mãe-feto, durante a gravidez.

O que ocorre no transplante de um órgão sólido?

Quando um indivíduo é transplantado com um órgão, como o rim, há uma modificação importante no seu estado de ativação imunológica que culmina em uma intensa resposta inflamatória contra o transplante. Este processo é iniciado pelo trauma cirúrgico, que leva a um aumento da expressão de mediadores inflamatórios e de moléculas de adesão, levando a uma intensa migração leucocitária, assim como de células apresentadoras de antígenos para o enxerto. Nesta fase inicial, há ativação de importante componente da resposta imune inata. No entanto, a progressão do processo inflamatório que culmina na rejeição do órgão transplantado parece depender da resposta imune adaptativa. Assim, a agres-

são ao transplante é desencadeada (e mantida) por linfócitos T do indivíduo transplantado que são capazes de reconhecer moléculas polimórficas do doador, principalmente as moléculas HLA, referidas anteriormente, mas também outros antígenos secundários presentes, por exemplo, em células endoteliais. Assim, os linfócitos T são fundamentais no desencadeamento da rejeição, por sua capacidade de alorreconhecimento. O papel crucial de linfócitos T na rejeição pôde ser constatado em diversos modelos experimentais animais nos quais, animais desprovidos de linfócitos T não rejeitam enxertos, mesmo aqueles com disparidade total em relação às moléculas de MHC.

É importante apontar que o alorreconhecimento pode ocorrer tanto no órgão transplantado como nos órgãos linfóides periféricos, uma vez que tanto antígenos com alguns tipos de células do doador como os leucócitos

passageiros podem circular e atingir os órgãos linfóides do indivíduo transplantado.

As interações entre linfócitos do receptor e antígenos do doador podem ocorrer principalmente de duas maneiras, que são conhecidas como *vias direta e indireta de alorreconhecimento* (Figura 3). Na *via direta de alorreconhecimento* os linfócitos T do indivíduo transplantado reconhecem os antígenos polimórficos presentes na superfície das células do doador (peptídeos apresentados dentro de moléculas HLA em células apresentadoras de antígenos do doador), que podem ser desde células dendríticas presentes no órgão, como células endoteliais presentes nos vasos do enxerto, até células do parênquima do órgão que expressam moléculas de HLA. Na *via indireta de alorreconhecimento* os linfócitos T reconhecem antígenos polimórficos processados e apresentados na forma de peptídeos, dentro de moléculas HLA, presentes na superfície celular das APC do próprio receptor. Vale ressaltar que esta última forma de apresentação corresponde à própria via de processamento e apresentação de outros antígenos nominais, como aqueles derivados de patógenos. Há dados na literatura mostrando que ambas as vias de alorreconhecimento são importantes no processo de rejeição e que elas não são excludentes, podendo ocorrer simultaneamente. Adicionalmente, mais recentemente, foi sugerida uma terceira via de alorreconhecimento, chamada de *semidireta*. Nesta via, complexos moleculares HLA + peptídeos do doador podem ser transferidos para linfócitos do receptor e, esses, por sua vez, podem estimular a resposta alogênica de outros linfócitos T alorreativos.

Há dados na literatura de transplante sugerindo que, no sangue periférico, a frequência de linfócitos T reativos pela via direta de alorreconhecimento seja muito maior do que aquela pela via indireta, em transplantados e em indivíduos saudáveis. Vários pesquisadores postulam que na fase mais precoce do transplante, quando células apresentadoras de antígenos profissionais do doador (como células dendríticas) ainda estão presentes no órgão transplantado, a via direta de alorreconhecimento tenha maior importância na resposta ao transplante. Com a migração de células do receptor para o enxerto, inclusive de células apresentadoras de antígenos profissionais, acredita-se que a via indireta passe a ganhar mais importância, permanecendo importante na fase tardia do transplante, quando a via direta teria um papel menor. Vale ressaltar, no entanto, que esta é uma questão em debate na literatura, uma vez que as próprias células endoteliais do órgão transplantado, que podem expressar moléculas HLA de classe II quando ativadas, poderiam continuar permitindo a ativação de linfócitos T alorreativos pela via direta de alorreconhecimento. Não há

muitos dados sobre a via semidireta de alorreconhecimento.

Uma questão bem discutida na literatura é se a via indireta tem um papel no desenvolvimento da doença vascular do enxerto, ou rejeição crônica (no transplante renal, nefropatia crônica do enxerto, no transplante cardíaco, coronariopatia do enxerto). Dados de alguns grupos mostram uma associação entre a detecção de alorreatividade pela via indireta no sangue e rejeição aguda e crônica. No entanto, há também dados, inclusive de nosso grupo, mostrando a detecção da via indireta de alorreconhecimento em pacientes transplantados renais, sem relação com o estado de rejeição. Ademais, há indicação de que o repertório de linfócitos T alorreativos possa ser funcionalmente heterogêneo e que parte da população reativa pela via indireta de alorreconhecimento possa ter capacidade de regular negativamente o processo inflamatório de agressão ao enxerto, ou seja, função reguladora.

Mecanismos efetores de rejeição

Com exceção da rejeição hiperaguda, que é mediada por aloanticorpos formados previamente ao transplante, os outros tipos de rejeição (seja ela predominantemente mediada por anticorpos ou por células) são desencadeados por linfócitos T, após o reconhecimento de antígenos polimórficos do doador. Após a ativação de linfócitos T alorreativos ocorre proliferação e expansão clonal de linfócitos T capazes de agredir as células do enxerto. Como consequência de uma rede de interações celulares e moleculares, que compreende também secreção de diversas citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, ocorre um recrutamento de células predominantemente inflamatórias para o enxerto que contribuem para a agressão do órgão transplantado. Assim, apesar da base molecular da rejeição do enxerto ser decorrente do reconhecimento específico de aloantígenos do doador, o processo de rejeição envolve também a participação de outras células inflamatórias que são recrutadas e que têm outras especificidades antigênicas, como as proteínas de choque térmico, ou mesmo outros antígenos tecidos-específicos, muitos dos quais são auto-antígenos, não polimórficos. Vale ressaltar que as células endoteliais presentes nos vasos do enxerto também podem ser alvo importante de agressão, não apenas pela expressão de moléculas HLA, mas também de antígenos endoteliais. Esses antígenos não foram ainda bem caracterizados e têm sido objeto de investigação em diversos grupos de pesquisa, inclusive no nosso laboratório. Anticorpos dirigidos a antígenos endoteliais foram descritos tanto no soro como em eluatos de enxertos perdidos por rejeição renal, em nosso e em outros laboratórios,

e há sugestão de que esses anticorpos possam ser relevantes na rejeição mediada por anticorpos.

A participação de linfócitos T tem sido vastamente documentada na literatura e há dados experimentais de diversos grupos de pesquisa, inclusive do nosso, mostrando que tanto os linfócitos T CD4⁺ como aqueles CD8⁺ são importantes na rejeição e que, na ausência de uma dessas subpopulações de linfócitos T, a rejeição ocorre igualmente.

Também células apresentadoras de antígenos como macrófagos e células dendríticas têm um papel importante na imunobiologia da resposta ao transplante, uma vez que elas são capazes de produzir diversas citocinas e quimiocinas inflamatórias e, assim, contribuir para a agressão ao enxerto, tanto pela ação direta de algumas dessas substâncias como por criarem determinados microambientes que propiciam o recrutamento de diferentes células efetoras. As células dendríticas (DCs) são particularmente importantes, uma vez que têm, constitutivamente, uma alta expressão de moléculas de HLA de classe II. As células NK (do inglês, *Natural Killers*, ou matadoras naturais) e os macrófagos também participam de mecanismos de citotoxicidade mediada por anticorpos. Mesmo outras células como eosinófilos e mastócitos têm sido apontadas como participantes no processo de alguns tipos de rejeição.

Nos últimos anos, o potencial tolerogênico das DCs tem sido explorado, ainda de forma mais experimental, para a expansão de células T reguladoras que expressam FOXP3 (importante fator de transcrição na atividade supressora) e supressão de processos inflamatórios tanto em doenças auto-imunes como na resposta alérgica no transplante. Muitos apostam que a expansão de células T reguladoras na presença de DCs seja uma importante estratégia para indução de imunorregulação na clínica.

Também vale ressaltar que o próprio órgão transplantado tem um papel na imunobiologia do transplante. Durante o processo de ativação imunológica no enxerto há um aumento da expressão de proteínas de choque térmico (Hsp, do inglês *heat shock proteins*) que podem, na fase mais precoce do transplante, funcionar como um sinal de perigo e amplificar o recrutamento de células inflamatórias para o enxerto. Ademais, outras células do enxerto são ativadas, como, por exemplo, as células endoteliais que são capazes de produzir diversos fatores solúveis pró-inflamatórios e alguns fatores que podem ter uma influência importante na evolução do processo patológico do enxerto. O TGF β (do inglês, *Transforming Growth Factor*), entre tantas ações, é capaz de aumentar a síntese de matriz extracelular e diminuir a sua degradação, aumentando a fibrose tecidual e PDGF (do

inglês, *Platelet-derived Growth Factor*) que estimula a proliferação de células musculares lisas, componentes esses importantes da nefropatia crônica do enxerto.

No transplante renal também vale citar a expressão de várias quimiocinas importantes na migração e adesão de leucócitos e macrófagos. Por exemplo, células de determinadas regiões do epitélio tubular expressam uma quimiocina de superfície (CX3CL1) que tem domínio de ligação para a quimiocina CX3C e uma porção de mucina. Esta quimiocina é capaz de promover adesão e migração de leucócitos e macrófagos, tendo assim, provavelmente, um papel importante na inflamação tubular, no processo de rejeição.

Mais recentemente, também tem sido objeto de investigação, a expressão de determinados genes chamados *genes protetores* no órgão transplantado (basicamente genes com funções antiapoptóticas e antiinflamatórias, exemplos: A20, hemeoxigenase 1, Bcl-x), inclusive no contexto do transplante renal. Desse modo, é reforçada a importância do próprio órgão transplantado na regulação da resposta inflamatória contra ele próprio.

A complexa rede de interações imunológicas leva a vários caminhos de agressão ao enxerto, às vezes, com algumas características predominantes (rejeição predominantemente mediada por anticorpos, rejeição mais celular, rejeição vascular, rejeição crônica), mas, muitas vezes, com sobreposição de mecanismos mediados por células e por anticorpos. São vários os mecanismos efetores de rejeição (Figura 4). Os linfócitos T ativados podem agredir o enxerto por mecanismos de citotoxicidade, através da liberação de enzimas com atividade lítica, como a perforina e granzima. Essas substâncias são acumuladas em grânulos de linfócitos T citotóxicos e são capazes de provocar lesão da membrana da célula-alvo. Além da citotoxicidade, a morte celular mediada por apoptose é um mecanismo importante no transplante. Os linfócitos T ativados podem desencadear reação de hipersensibilidade tardia (DTH, do inglês *Delayed Type Hypersensitivity*) através da produção de citocinas predominantemente pró-inflamatórias como IFN- γ (interferon gama) e TNF- α (fator de necrose tumoral, do inglês *Tumor Necrose Factor*), por exemplo. IFN- γ , além de aumentar a expressão de moléculas de HLA na superfície das células do enxerto, amplificando o reconhecimento, promove o recrutamento e ativação de macrófagos que, por sua vez, são capazes de produzir diversas substâncias com atividade inflamatória, inclusive enzimas líticas, que podem causar dano direto ao enxerto. TNF- α é capaz de causar diretamente lise celular. Os linfócitos T CD4⁺ também podem auxiliar linfócitos B na produção de aloanticorpos que podem agredir o enxerto ao fixarem complemento e ativar esta cascata de lise

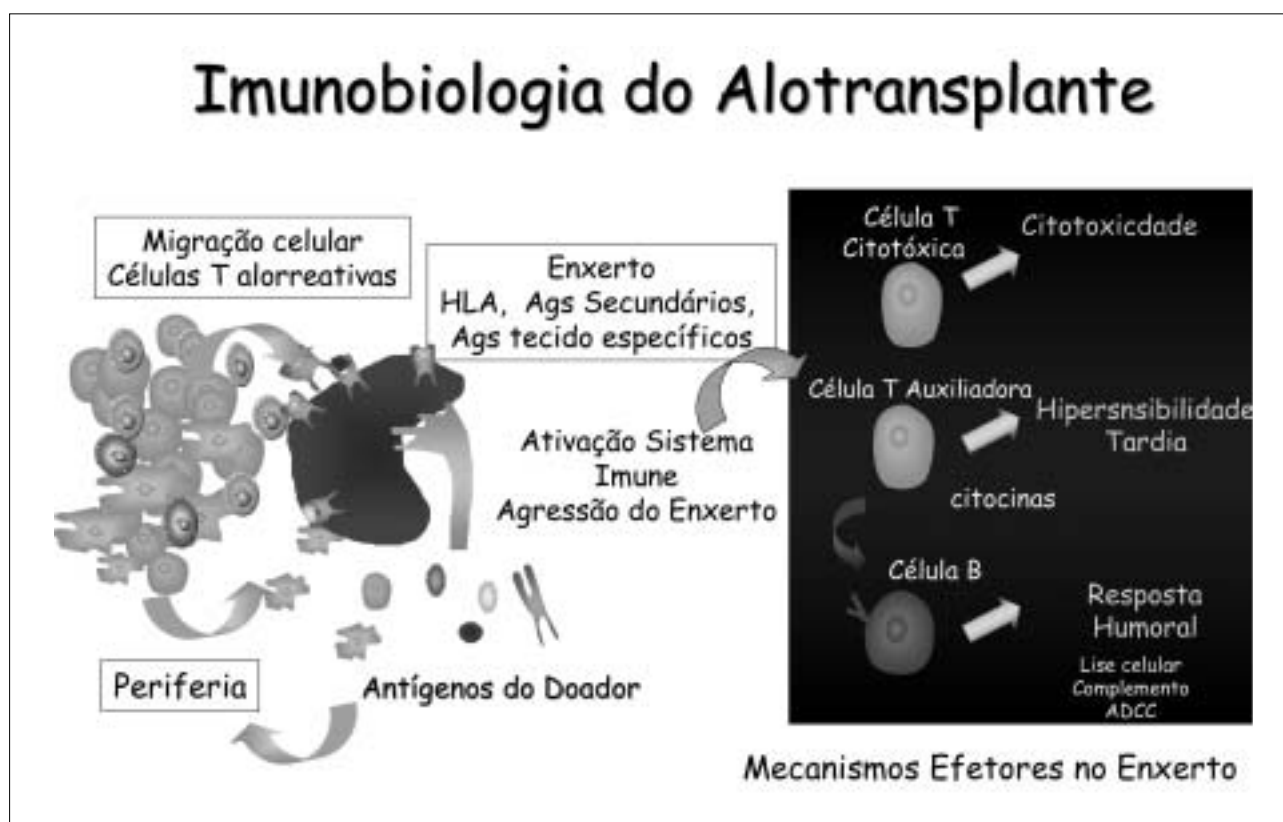


Figura 4 - Imunobiologia do alotransplante e mecanismos efetores de rejeição. O reconhecimento alogeico desencadeia uma série de interações entre diferentes células do sistema imune, levando à citotoxicidade, hipersensibilidade retardada e a produção de anticorpos que são capazes de causar dano ao tecido transplantado.

celular ou, ainda, através de citotoxicidade dependente de anticorpo, ligando-se a macrófagos ou células NK que são capazes de induzir lise celular por enzimas líticas.

A análise histopatológica e por imunoistoquímica dos enxertos renais no processo de rejeição, por exemplo, mostra um infiltrado celular predominantemente monolinfocitário, nos diferentes tipos de rejeição, e uma gama de citocinas e fatores de crescimento, indicando o intenso processo inflamatório em curso. Chama a atenção: (i) na rejeição humoral, a presença de anticorpos e frações do complemento freqüentemente em regiões perivasculares; (ii) na rejeição celular, o marcante infiltrado intersticial e tubular, com predomínio de linfócitos T e monócitos e intensa expressão de citocinas inflamatórias do tipo IFN- γ , IL-1, TNF- α , mas também IL-4, e IL-10, mais freqüentemente consideradas antiinflamatórias; (iii) na nefropatia crônica do transplante, o estreitamento de vasos do órgão transplantado, com um espessamento fibrointimal com proliferação das células musculares lisas, um infiltrado de linfócitos e macrófagos, depósito de anticorpos e frações do complemento, e citocinas diversas, com predomínio de TGF β e PDGF. Também chama a atenção que mesmo em enxertos livres de rejeição ain-

da se observa um infiltrado celular e a expressão de diversas citocinas – ainda que de menor intensidade –, indicando que também no processo de manutenção do enxerto há atividade imunológica.

Como podemos observar, o processo de rejeição é complexo e pode envolver diversos mecanismos efetores de agressão ao órgão transplantado. O conjunto de conhecimento construído sobre as bases moleculares da resposta imune, assim como sobre os diversos mecanismos envolvidos na rejeição e manutenção do enxerto têm possibilitado melhores seleções de pares de doadores/receptores, assim como o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas – como o bloqueio do reconhecimento antigênico e ativação de linfócitos T, bloqueio de moléculas coestimuladoras e indução de tolerância – mesmo que algumas delas, ainda, apenas experimentalmente.

Considerando esta diversidade de caminhos à rejeição, é interessante compreender por que alguns indivíduos desenvolvem rejeição predominantemente mediada por anticorpos, outros apenas mediada por células, outros desenvolvem rejeição crônica e, ainda outros, mesmo que raros, mantêm o enxerto sem drogas imunossupressoras (*tolerância operacional*)? Que condições

ou componentes da resposta imune são relevantes e/ou determinantes na natureza da resposta que cada indivíduo transplantado vai desenvolver na interação com o aloenxerto? Essas perguntas são objeto de intensas investigações na Imunologia.

Sabemos que os repertórios de linfócitos T e de imunoglobulinas de cada indivíduo são construídos a partir das experiências imunológicas vividas ao longo de sua vida. Assim, serão igualmente importantes as experiências imunológicas individuais para a imunobiologia da resposta ao transplante. A combinação dessas experiências individuais epigenéticas com a base genética (por exemplo, os polimorfismos genéticos de citocinas e de fatores de crescimento) influencia a diversidade de resposta ao aloenxerto encontrada nos pacientes transplantados. Nesse sentido, vale ressaltar que os polimorfismos genéticos de diversas citocinas e fatores de crescimento – associados a maior ou menor produção das proteínas – têm sido relacionados à rejeição ou mesmo proteção do enxerto. Como exemplo, podemos citar a associação do polimorfismo para o gene de TGF- β , alta produção de IL-4 e menor prevalência de rejeição aguda. Porém, a grande complexidade de interação entre esses diversos componentes da resposta imune, tanto do receptor como do doador, ainda tem dificultado o uso clínico desses parâmetros.

Participação da resposta imune inata na imunobiologia do alotransplante

Em contraste com grande acúmulo de informação sobre a importância da resposta imune adaptativa processo de rejeição, o papel da resposta imune inata no transplante de órgãos foi pouco estudada nas últimas décadas. Porém, nos últimos anos, ela tem sido objeto de intensas pesquisas no transplante e cada vez mais tem sido verificado que componentes da resposta imune inata influenciam de forma importante na evolução do enxerto. O crescente interesse na resposta imune inata no transplante se deve provavelmente ao acúmulo de conhecimento sobre as bases moleculares e celulares da resposta inata e a descoberta de tanta interface entre os diferentes componentes das respostas imunes adaptativa e inata.

Sabe-se, hoje, que a resposta imune inata tem uma contribuição na injúria ao aloenxerto causada pela isquemia e reperfusão do órgão e nos eventos inflamatórios iniciais que ocorrem no enxerto, mesmo antes da ativação da resposta imune adaptativa. Discute-se também que esses eventos muito iniciais na resposta ao aloenxerto têm implicação na sua evolução mais tardia, tanto em relação ao desenvolvimento de episódios de rejeição aguda como de rejeição crônica. Além disso,

mais recentemente há dados experimentais em modelos animais que apóiam a discussão de que é possível haver algum grau de discriminação alogênica mediada por componentes da resposta imune inata, abrindo novos conceitos dentro da imunobiologia da resposta ao alotransplante. Certamente, nos próximos anos haverá novos conhecimentos nesta área que poderão trazer contribuições inéditas para a compreensão sobre como o sistema imune interage com um órgão alogeneico.

Regulação da resposta inflamatória ao aloenxerto

No transplante diversos protocolos para a indução de tolerância têm sido utilizados em diferentes modelos experimentais, mas nenhum tem sido usado rotineiramente na clínica. As diferenças existentes entre os resultados obtidos como os protocolos de tolerância, em modelos experimentais e em humanos indicam que ainda há muito que aprender sobre a regulação da resposta imune ao aloenxerto em humanos.

É interessante destacar que um grupo de pacientes têm uma evolução clínica muito favorável, com estabilidade da função do enxerto, mesmo sem uso de qualquer droga imunossupressora (geralmente suspendem as drogas por conta própria). O estado desses pacientes tem sido chamado de *tolerância operacional*. A resposta imune nesses pacientes tem sido objeto de estudo em todo mundo. Esses estudos podem fornecer importantes informações sobre os mecanismos envolvidos neste estado de tolerância e, conseqüentemente, contribuir para a elaboração de novas estratégias terapêuticas. Ademais, eles também podem contribuir para o estabelecimento de critérios para a discriminação deste estado de tolerância que poderão ser utilizados para a retirada ou diminuída de doses de imunossupressores de outros pacientes.

É possível que abordagens mais complexas da resposta imune, buscando uma compreensão mais sistêmica e relacional com outros sistemas, ao longo da experiência do indivíduo transplantado – como análises individuais em estudos seqüenciais e estudos por microarranjos gênicos e proteômicos –, possam contribuir para a compreensão dessas complexas questões. Assim, poderá ser possível lançar mão de abordagens terapêuticas mais individualizadas, visando à indução de tolerância ao enxerto e, ao mesmo tempo, preservar a imunocompetência do paciente transplantado.

O crescente acúmulo de conhecimento sobre as células T reguladoras, as células dendríticas tolerogênicas e diversos mecanismos envolvidos em imunorregulação e mesmo da resposta imune inata deverá contribuir de forma significativa para o desenvolvimento de novas estratégias para imunorregulação e tolerância no contexto do transplante.

BIBLIOGRAFIA UTILIZADA

1. Akl A, Luo S, Wood KJ. Induction of transplantation tolerance—the potential of regulatory T cells. *Transpl Immunol.* 14(3-4):225-30, 2005.
2. Avihingsanon Y, Ma N, Csizmadia E, Wang C, et al. Expression of protective genes in human renal allografts: a regulatory response to injury associated with graft rejection. *Transplantation* 73:1079-85, 2002.
3. Baker RJ, Hernandez-Fuentes MP, Brookes PA, Chaudhry AN, Cook HT, Lechler RI. Loss of direct and maintenance of indirect alloresponses in renal allograft recipients: implications for the pathogenesis of chronic allograft nephropathy. *J Immunol.* 2001 Dec 15;167(12):7199-206.
4. Ciubotariu R, Liu Z, Colovai AI, Ho E, Itescu S, Ravalli S, Hardy MA, Cortesini R, Rose EA, Suciú-Foca N. Persistent alloepitope reactivity and epitope spreading in chronic rejection of organ allografts. *J Clin Invest* 1998 Jan 15;101(2):398-405
6. Chakravorty SJ, Howie AJ, Girdlestone J, Gentle D, et al. Potential role for monocyte chemoattractant protein-4 (MCP-4) in monocyte/macrophage recruitment in acute renal inflammation. *J Pathol.* 194:239-46, 2001.
7. Coelho V, Spadafora-Ferreira M, Marrero I, Fonseca JA, et al. Evidence of indirect allorecognition in long-term human renal transplantation. *Clin Immunol.* 90:220-9, 1999.
8. Cohen, IR. *Tending Adams Garden. Evolving the Cognitive Immune Self.* 1st edn. Academic Press, San Diego, 2000.
9. Dickinson AM, Middleton PG. Beyond the HLA typing age: genetic polymorphisms predicting transplant outcome. *Blood Rev.* 19(6):333-40, 2005.
10. Game DS, Lechler RI. Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. *Transpl Immunol.* 10:101-8, 2002.
11. Gibbs PJ, Sadek SA, Cameron C, Tan LC, et al. Immunomonitoring of renal transplant recipients in the early posttransplant period by analysis of cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells. *Transplant Proc.* 33:3285, 2001.
12. Goldstein DR. Toll like receptors and acute allograft rejection. *Transpl Immunol.* 17(1):11-5, 2006.
13. Hahn AB, Kasten-Jolly JC, Constantino DM, Graffunder E, et al. TNF-alpha, IL-6, IFN-gamma, and IL-10 gene expression polymorphisms and the IL-4 receptor alpha-chain variant Q576R: effects on renal allograft outcome. *Transplantation.* 72:660-5, 2001.
14. Hongwei W, Nanra RS, Stein A, Avis L, et al. Eosinophils in acute renal allograft rejection. *Transpl Immunol* 2:41-6, 1994.
15. Hornick PI, Mason PD, Baker RJ, Hernandez-Fuentes M, et al. Significant frequencies of T cells with indirect anti-donor specificity in heart graft recipients with chronic rejection. *Circulation* 101:2405-10, 2000.
16. Koskinen PK, Kovanen PT, Lindstedt KA, Lemstrom KB. Mast cells in acute and chronic rejection of rat cardiac allografts—a major source of basic fibroblast growth factor. *Transplantation* 27:1741-7, 2001.
17. Kalil J, Guilherme L, Neumann J, Rosales C, Marin M, Saldanha L, Chocair PR, Ianhez LE, Sabbaga E. Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplant Proc.* 21(1 Pt 1):711-3, 1989.
18. Lucchiari N, Panajotopoulos N, Xu C, Rodrigues H, Ianhez LE, Kalil J, Glotz D. Antibodies eluted from acutely rejected renal allografts bind to and activate human endothelial cells. *Hum Immunol.* 61(5):518-27, 2000.
19. McShane P. Association of polymorphisms in the human interferon-gamma and interleukin-10 gene with acute and chronic kidney transplant outcome. *Transplantation* 73:1682, 2002.
20. Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, Lerut J, Latinne D, Margarit C, Bilbao I, Brouard S, Hernandez-Fuentes M, Souillou JP, Sanchez-Fueyo A. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant.* 7(2):309-19, 2007.
21. Noronha IL, Eberlein-Gonska M, Hartley B, Stephens S, Cameron JS, Waldherr R. In situ expression of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma, and interleukin-2 receptors in renal allograft biopsies. *Transplantation* 54:1017-24, 1992
22. Noronha IL, Hartley B, Cameron JS, Waldherr R. Detection of IL-1 beta and TNF-alpha message and protein in renal allograft biopsies. *Transplantation.* 56:1026-9, 1993
23. Ossevoort MA, Ringers J, Kuhn EM, Boon L, et al. Prevention of renal allograft rejection in primates by blocking the B7/CD28 pathway. *Transplantation* 68:1010-8, 1999.
24. Pockley AG. Heat shock proteins, anti-heat shock protein reactivity and allograft rejection. *Transplantation* 71:1503-7, 2001.
25. Portugal K, Dozmorov I, Sidorov I, Marrero I, et al. Renal transplant patients show variations in their self-reactive repertoires: a serial study. *Int Immunol.* 13:747-55, 2001.
26. Sankaran D, Asderakis A, Ashraf S, Roberts IS, Short CD, Dyer PA, Sinnott PJ, Hutchinson IV. Cytokine gene polymorphisms predict acute graft rejection following renal transplantation. *Kidney Int.* 1999 Jul;56(1):281-8.
27. Silverstein AM. *A History of Immunology,* 1st Ed., Academic Press, 1989.
28. Spadafora-Ferreira M, Fonseca JA, Granja C, Malheiros DM, et al. Predominant IL-10 production in indirect alloreactivity is not associated with rejection. *Clin Immunol.* 101:315-27, 2001.
29. Suarez IM, Benvenuto LA, Noronha I, Van Kaer L, et al. Rejection of grafts with no H-2 disparity in TAP1 mutant mice: CD4 T cells are important effector cells and self H-2b class I molecules are target. *Transpl Immunol.* 9:101-10, 2002.
30. Suchin EJ, Langmuir PB, Palmer E, Sayegh MH, et al. Quantifying the frequency of alloreactive T cells in vivo: new answers to an old question. *J Immunol.* 166:973-81, 2001.
31. Suciú-Foca N, Liu Z, Colovai AI, Fisher P, et al. Indirect T-cell recognition in human allograft rejection. *Transplant Proc.* 1-2:1012-3, 1997.
32. Thomson AW, Fairchild RL. The last 5 years of basic science investigation in transplant immunology. *Am J Transplant.* 6(8):1768-73, 2006.
33. Waldmann H, Adams E, Fairchild P, Cobbold S. Infectious tolerance and the long-term acceptance of transplanted tissue. *Immunol Rev.* 212:301-13, 2006.
34. Walker WE, Nasr IW, Camirand G, Tesar BM, Booth CJ, Goldstein DR. Absence of innate MyD88 signaling promotes inducible allograft acceptance. *J Immunol.* 177(8):5307-16, 2006.
35. Yamazaki S, Inaba K, Tarbell KV, Steinman RM. Dendritic cells expand antigen-specific Foxp3+ CD25+ CD4+ regulatory T cells including suppressors of alloreactivity. *Immunol Rev.* 212:314-29, 2006.