

ASPECTOS INMUNOBIOLOGICOS DEL RECHAZO

DEL TRASPLANTE DE PIEL

(APUNTES BIBLIOGRAFICOS PREVIOS)

DRA. IMELDA CAMPO AASEN *

GUILLERMO PLANAS GIRON **

MARIELA SOTO DE LUNA ***

Es sólo en años recientes que los oftalmólogos cirujanos se han visto en la necesidad de estudiar los fenómenos biológicos que acompañan a los trasplantes de piel y de córnea, ya que por casi un siglo, y después de considerables controversias y fracasos, se llegó a la conclusión de que los trasplantes debían proceder de individuos de la misma especie. Interesaba a los cirujanos que un injerto cicatrizara en su sitio, con continuidad anatómica y ausencia de infección. Como la infección ha quedado controlada con los antibióticos y como en un 80 por ciento de los casos se obtiene éxito en sujetos seleccionados, la corriente de interés en técnicas quirúrgicas empezó a disminuir y la atención empezó a concentrarse en las influencias biológicas desconocidas que tienen el mismo interés en el éxito de los trasplantes tanto de córnea como de piel de los párpados en cirugía plástica, tan en boga en los últimos años.

Grandes progresos se han hecho en estos últimos tiempos en el desarrollo de técnicas quirúrgicas para el uso de trasplantes, pero nuestros conocimientos de los factores inmunológicos y genéticos ha quedado

* Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, Cátedra de Dermatología y Sifilografía.

** Médico Residente del Servicio de Dermatología, Escuela Vargas, Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

*** Técnica del Laboratorio de Cito e Histoquímica del Servicio de Dermatología. Facultad de Medicina de la Universidad- Central de Venezuela.

bien atrás. Este conocimiento es indispensable no sólo por su valor científico sino también para transformar el aspecto clínico-terapéutico de los injertos.

DIFERENTES FUENTES DE INJERTOS

1. Voluntarios de la misma familia o no.
2. Órganos removidos de otros individuos por razones terapéuticas.
3. Cadáveres.
4. Tejidos y órganos de animales de otras especies.

Los tejidos avasculares como la córnea y el cartílago poseen menos problemas que aquellos que poseen vascularización, porque el material avascular sobrevive, cualquiera que sea la histocompatibilidad de los antígenos del donante y del receptor. En los casos del trasplante de córnea, el aspecto inmunológico es de poca importancia. Muchos factores, como técnica inadecuada, una inexperta selección de donantes, contribuyen al fracaso, pero los cambios biológicos también pueden tener profunda influencia si ellos llegan a provocar:

1. Vascularización.
2. Edema.
3. Fibrosis.

No es objeto de esta exposición analizar los fenómenos biológicos mencionados, ya que la córnea ofrece un caso único por ser avascular, y por lo tanto la reacción inmunológica, si se produce, es de escasa resonancia como para amenazar la vida del trasplante. Sólo recordamos, sin embargo, el porqué del 80 por ciento de éxitos cuando la técnica quirúrgica ha sido bien escogida y realizada.

Siendo, por el contrario, la piel un órgano muy vascularizado, se realizan en ella todos los fenómenos característicos del rechazo, y de ahí la importancia del conocimiento biológico para su aplicación en cirugía plástica.

Según la procedencia del tejido donante, el injerto se denomina:

1. Autoinjerto o trasplante de un tejido u órgano de un lugar a otro del mismo individuo.
2. Isoinjerto o trasplante de un tejido u órgano de un individuo a otro genéticamente igual.
3. Homoinjerto o trasplante de tejido u órgano de un individuo a otro de la misma especie.
4. Heteroinjerto o trasplante de tejido u órgano de un individuo a otro de distinta especie.

En el autoinjerto e isoinjerto no existen reacciones inmunológicas de intolerancia, puesto que el material donante posee idénticas cualidades biológicas que el receptor y por lo tanto el tejido donante es perfectamente tolerado.

En cambio, en los homoinjertos y heteroinjertos se produce la reacción inmunológica de intolerancia, tanto más severa mientras más se separe biológicamente el receptor del donante. Por eso la reacción de intolerancia en el heterotrasplante es mucho más acentuada y aguda.

Cada organismo tiene sus proteínas características que le son específicas, de tal manera que cuando esas proteínas son trasplantadas a otro organismo de la misma especie, o a otra especie, el organismo que recibe las proteínas extrañas con capacidad antigénica reacciona contra esta invasión y trata de expulsarlas, estableciéndose una verdadera enfermedad, caracterizada por una verdadera reacción inmunológica antígenoanticuerpo, que termina por destruir al tejido trasplantado. Esta reacción del receptor será más acentuada mientras más diferentes sean entre sí el donante y el receptor.

Ya que la reacción de inmunidad es producida por el organismo entero, los antígenos del trasplante sólo pueden penetrar en el huésped o receptor, ya sea por la vía linfática o bien por la vascular, que enlaza el injerto al huésped.

Cuando el tejido es vascularizado algunos *tests* inmunológicos deben ser realizados:

1. Identificación de los antígenos transportados por los variados grupos de células de ambas partes.
2. Tipear las células del donante contra el suero del receptor.

3. Compatibilidad de antígenos de glóbulos rojos y de antígenos de los tejidos.

4. Antígenos de leucocitos; se ha demostrado su presencia en personas que han recibido injertos de piel, por intermedio de *tests* de aglutinación, usando aglutininas específicas de leucocitos.

5. Antígenos de plaquetas.

TECNICAS EMPLEADAS

1. Los glóbulos rojos del donante en presencia del suero del receptor y sus aglutininas ABO y Rh, como para hacer una transfusión sanguínea.

2. *Tests* de compatibilidad empleando células inmunológicamente competentes o células linfoides.

3. De todos los *tests* existentes, aquellos que usan las células linfoides como elementos ímunocompetentes son los que ofrecen la solución más práctica.

Estas pruebas biológicas de compatibilidad son:

1. La transferencia de linfocitos normales.

La inyección intradérmica de linfocitos homólogos provoca en acures y en el hombre una reacción inflamatoria a las 24-48 horas, tipo: tuberculina, en el sitio de la inyección, para desaparecer y luego reaparecer a los nueve días.

2. Técnica del cultivo de leucocitos mezclados y diferentes.

Leucocitos de dos sujetos normales se mezclan y se cultivan. Algunos de ellos se transforman en células grandes basófilas, capaces de sintetizar R.N.A. y de producir mitosis. Esta reacción se explica por diferencias genéticas entre los dos sujetos y la inmunidad homóloga.

Se sobreentiende que la inyección de linfocitos autólogos no produce reacción.

Esta técnica puede ser usada a diferentes intervalos, antes y después de un trasplante, comparando la evolución del trasplante con el grado de desarrollo de células basófilas entre el paciente y el donante.

Esta técnica indicaría los indicios del comienzo del rechazo o la incompatibilidad, asomando la necesidad de usar drogas inmunosupresoras y de su aumento progresivo, o bien del uso o no de determinado donante.

Dos mecanismos experimentales indirectos han demostrado la influencia de los linfocitos en el mecanismo del rechazo:

1. El procedimiento que evita el desarrollo normal de los linfocitos, como la timoidectomía, que impediría el desarrollo y la presencia normales de linfocitos en el bazo, ganglio y sangre.

2. El drenaje crónico de linfocitos a través del conducto torácico, lo cual produce una ausencia de linfocitos pequeños. Estos acures de experimentación no sufren el rechazo de injertos porque tienen escasas células inmunocompetentes en su organismo.

Hay dos mecanismos para explicar la reacción antígeno-anticuerpo del rechazo del injerto de piel:

1. Por intermedio de los linfocitos pequeños de los ganglios regionales locales.

2. Por intermedio de los linfocitos de la sangre, que pasando al injerto directamente, iniciarían o inducirían la reacción.

¿De dónde vienen y cuáles son los linfocitos que tienen actividad inmunológica?

Son los linfocitos pequeños, de 5 a 7 micras. Se sabe que el tejido linfoide en los roedores constituye el 1 por ciento del peso total del animal.

Las bursectomías (bolsa de Fabricio) efectuadas en pollos al salir del cascarón y las timectomías realizadas en ratones al nacer, revelan que el timo es responsable del desarrollo de una línea celular que desencadena la reacción contra los injertos homólogos. La significación del timo en el terreno de la inmunología permite comprender mejor determinadas afecciones. Hay una vinculación entre las timopatías y el lupus eritematoso, la artritis reumática, la dermatomiositis, las miocarditis. El timo sería responsable de las reacciones de autoinmunidad. En el hombre la relación entre el timo y el desarrollo de la capacidad de autodefensa resulta evidente, ya que puede establecerse un paralelismo entre ciertos síndromes típicos de deficiencia inmunitaria y el insuficiente desarrollo de esta glándula.

La experiencia enseña que hay una relación entre la presencia del timo y la aparición de un tipo de linfocitos pequeños inmunológicamente activos que son responsables de las reacciones de inmunidad frente a los injertos.

El mecanismo del rechazo en el trasplante renal y cardíaco parece ser diferente y se realiza directamente por la sangre, debido al paso brusco de antígenos durante la operación o a la reacción de los linfocitos de la sangre en contacto con los antígenos del órgano. Estos linfocitos pasarían de inmediato al sistema ganglionar y de allí se desataría la reacción de rechazo.

El rechazo del tejido homólogo trasplantado se realiza por un mecanismo inmunológico iniciado por el receptor, por la introducción de un injerto extraño a su organismo. Aunque hay un entendimiento general acerca de que el rechazo es un fenómeno inmunológico, hay un desacuerdo considerable acerca del papel de la respuesta celular inflamatoria que se produce en el lecho del trasplante. La opinión general de los investigadores es que la infiltración celular que acompaña a la destrucción del trasplante es el primer hecho y que la muerte se produce por la interacción de los anticuerpos producidos por estas células y los antígenos trasplantados.

Los estudios de microscopía electrónica llevados a cabo para observar la reacción intrínseca entre el injerto y el huésped enfatizan la importancia de algunas células aparecidas después del trasplante. El rechazo completo del injerto, evidenciado por necrosis epidérmica completa, generalmente se produce dentro de los nueve días siguientes al injerto.

Tres episodios tisulares se describen en el rechazo:

1. Proliferación del epitelio del injerto y del lecho fibrovascular de la dermis del huésped.
2. Infiltración característica de células mononucleares en la dermis y en la epidermis.
3. La epidermis muere rápidamente y se desprende junto con el resto del injerto.

La primera etapa se produce alrededor del quinto día. El injerto queda sólidamente pegado al huésped. La epidermis está conservada.

En este período inicial se observa una acentuación de la proliferación de fibroblastos y neoformación de capilares y fibras colágenas. A través del tejido conjuntivo se observan polinucleares neutrófilos. Algunas de estas células presentan degeneración. Se observan núcleos libres y membranas celulares rotas.

La segunda etapa se realiza entre el quinto y séptimo día. La epidermis permanece normal y no presenta cambios degenerativos. Los leucocitos y restos celulares descritos en el trasplante ya no se ven más. Los estudios hechos con el microscopio de luz y el electrónico revelan un nuevo tipo de células, tanto en la epidermis como en las dermis, caracterizadas por un núcleo central rodeado por un anillo de citoplasma basófilo y cromatina basófila intensa. De tamaño aproximado de 5 a 7,5 micras y hasta 10 micras. Han sido observadas, en primer lugar, adyacentes a los capilares de la dermis, y después, en número mayor tanto en la dermis como en la epidermis. Todas estas células son similares en su estructura y se identifican como mononucleares.

La tercera etapa se realiza entre el séptimo y noveno día. Se caracteriza por la necrosis de la epidermis del injerto. La degeneración epitelial aparece primero en la capa basal y se extiende a las otras capas de la epidermis. Hay edema de sus células y de sus organelos y amontonamiento de las tonofibrillas. Ruptura de la membrana nuclear y pérdida de citoplasma. El estadio final de esta etapa revela una disminución de la epidermis, con células sin organelos, excepto algunas tonofibrillas. Células mononucleares sanas se observan entre los restos de células epidérmicas y la degeneración ocurre a medida que se extiende la invasión de las células mononucleares. Estas células son de primera importancia en el rechazo del homoinjerto. Otro tipo de células inflamatorias como leucocitos polinucleares y células plasmáticas no aparecen sino cuando la necrosis está bien avanzada. La aparente dependencia del rechazo a la presencia de estas células infiltrativas sugiere fuertemente que estos elementos son inmunológicamente competentes. Estas células corresponden indudablemente a células linfoides observadas por numerosos investigadores. No hay grandes diferencias estructurales entre linfocitos y monocitos. El tamaño de las células (5 a 7 micras), el tamaño de sus mitocondrias y la baja densidad del citoplasma son características del linfocito y hacen presumir que se trata primordialmente de linfocitos pequeños.

Estas células inmunológicamente competentes tienen toda una estructura similar característica. No se observan células transicionales que indiquen un origen diferente. Todo esto sugiere que estas células no se originan en el sitio mismo del injerto, sino que a su llegada, ya son estadios finales. Células similares se describen en el ganglio linfático del huésped al mismo tiempo. Usando técnicas trazadoras como la autoradiografía, los investigadores han demostrado que algunos de los pequeños linfocitos en los nódulos linfáticos reaccionan a los antígenos del injerto y dan lugar a células grandes pironinofílicas (ricas en R.N.A.), las cuales a su vez dan origen a nuevos grupos de pequeños linfocitos, los cuales abandonan el ganglio, entran a la circulación periférica e invaden el injerto. La abolición o disminución del rechazo en animales timectomizados y en la depleción experimental de los pequeños linfocitos por el conducto torácico confirma el papel del tejido linfoide en el rechazo del injerto.

La naturaleza precisa de los antígenos del trasplante permanece oscura. Se dice que contienen proteínas y carbohidratos y son químicamente similares a los antígenos de los grupos sanguíneos. La forma en la cual los antígenos se presentan a los linfocitos se desconoce y el sitio anatómico en que la interacción ocurre no es conocido. La naturaleza del mecanismo en la destrucción del injerto es todavía objeto de controversia. Se cree que los linfocitos activados, enviados de los nódulos linfáticos a la sangre, juegan un rol crucial. El papel de los linfocitos como formadores de anticuerpos no es conocido, pero hay evidencia de que toman parte en las reacciones primarias de inmunidad.

La secuencia sería:

Antígenos del trasplante > linfocitos pequeños del ganglio dan células pironinofílicas > éstas se dividen y dan a su vez linfocitos pequeños activados > éstos pasan a la sangre periférica y de ahí al injerte para rechazarlo.

FORMAS DE TRATAR EL RECHAZO

La barrera que la reacción de rechazo impone a los trasplantes puede ser eliminada paralizando al receptor con antígenos del donante. Esta forma de tratamiento ya es procedimiento de rutina en animales y da

la mejor esperanza de suprimir la reacción sin interferir con otras defensas inmunológicas.

Los métodos usados son:

Supresión de las respuestas inmunológicas por intermedio de:

1. Irradiación intensa.
2. Drogas inmunosupresoras.
3. Drenaje crónico del conducto linfático.
4. Administración de la globulina Alfa 2 del suero, la cual reduciría la gammaglobulina circulante.
5. Administración del suero antilinfocítico.

El suero antilinfocítico es obtenido de conejos inyectados intraperitonealmente, semanalmente, por debajo del diafragma, con linfocitos obtenidos del conducto torácico de ratas, por canalización con sonda plástica. Desangrado diez días después de la última inyección se separa del suero, se centrifuga y se esteriliza en ampollas.

El suero antilinfocítico actúa provocando el descenso apreciable de los linfocitos y la eliminación de las células muertas por los histiocitos, especialmente en el bazo.

Estos procedimientos se han venido usando en los trasplantes renales y cardíacos, en perros y en el hombre; y están en plena y acelerada investigación en varios laboratorios del mundo para hacer más asequibles y posibles los trasplantes de órganos y de tejidos. Se vienen usando no sólo homoinjertos sino también heteroinjertos. En Estados Unidos, por ejemplo, bajo la presión de la escasez aguda de riñones humanos, se ha empezado a utilizar el riñón de primates. Aunque todavía es muy temprano para avanzar juicios y conclusiones, se está en el camino de determinar si estos injertos xenogénicos resolverán el problema del trasplante en gran escala.

SUMMARY

The authors present a review of the latest scientific bibliography concerning the immuno-biological aspects of the skin transplant rejection prior to their histochemical experimental work on the subject.

They make a summary of the techniques, biological compatibility tests, the tissue reaction and the mechanisms of the antigen-antibody reaction. The methods used to treat the reaction against the transplant are also included in this report.

BIBLIOGRAFIA

1. Revista **Imagen**. Foto documentación médica. Roche. N° 22
2. K. L. G. Goldsmith. "Donor selection and compatibility typing". **Brit. Med. Bull.**, 1965. 162-165, vol. 21.
3. Wiener, Spiro and Russell. "An electron microscopic study of the homograft reaction". **Am. J. Path.**, 44: 319; 1964.
4. Brentaand Medawar. "Nature of the normal lymphocyte transfer reaction". **Nature**: 204, 90-91, 1964.
5. Brentaand Medawar. "Tissue transplantation: a new approach to the typing problem". **Brit. Med.**, 8. ii, 269-272; 1963.
6. J. L. Gowans. "Role of lymphocytes in destruction of homografts". **Brit. Med. Bull.**, vol. 21, 106-110; 1965.
7. K. A. Porter. "Morphological aspects of renal homograft rejection". **Brit. Med. Bull.** vol. 21, N° 2, 171-175.
8. Porter, K. A. et al. **Lab. Invest.**, 13, 809; 1964.
9. Porter, K. A. et al. **Lab. Invest.**, 13, 1080; 1964.
10. Gowans, J. L. et al. "Initiation of immune responses by small lymphocytes". **Nature**: 651; 1962.
11. Billingham, R. E. "Adoptive transfer of transplantation immunity by means of blood borne cells". **Lancet**: 512; 1962.
12. Scothorne. "Cellular changes in lymph nodes and spleer following skin homografting in the rabbit". **J. Anat.**, 89: 283; 1955.
13. Marchesi et al. "The migration of lymphocytes through the endothelium of venules in the lymph nodes". **Proc. Roy. Soc. (Biol)** 159: 283; 1964.
14. Gowans, J. L. **Brit. J. Exptl. Path.**, 38: 67; 1957.
15. Loodruff and Anderson. "Lymphocitic depletion. Sith International Transplant Conference. Part I". **Ann. Ac. Sc.**, 120, Art. 1. 1-446.
16. Medawar, P. B. "The homograft reaction". **Proc. Roy. Soc.**, London, S. B., 149, 145-166; 1958.

17. Benjamin Rycroft. "Biological problems of the corneal graft". **Brit. Med. Bull.**, 147-153, 1965.
18. Gowans, J. L. "Initiation of immune responses by small lymphocytes". N° 4855, **Nature**, nov. 17, 1962, 651-655.
19. Gorer. P. A. In: **Ciba Foundation Symposium on Cellular Aspects of Immunity**, p. 330, Churchill, London; 1960.
20. Gowans, J. L. and McGregor, D. D. **Progr. Allergy**, 9, 1; 1965.
21. Gowans, J. L. et al. "The immunologically competent cell: its nature and origin", p. 20. **Ciba Foundation Study group**, N° 16, Churchill, London; 1963.
22. Berenbaum, M. C. "Immunosuppressive agents". **Brit. Med. Bull**, 142146; 1965.
23. Medawar, P. B. **Transplantation**, I, 21; 1963.
24. Cameron, G. E. W. **Ciba Foundation Symposium on Transplantation**, p. 90, Churchill, London.
25. Gowans, J. L. and Knight, E. J. **Proc. Roy. Soc. B.**, 159, 257; 1964.