

## TRASPLANTARIEDAD

PEDRO GARCÍA BARRENO \*

\* Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. pgbarreno@insde.es.

### RESUMEN

La idea de componer o de recomponer cuerpos —organismos— a partir de estructuras de distintas procedencias ha estimulado la imaginación desde tiempos remotos; así lo atestigua la mitología griega. De hecho, uno de los monstruos más emblemáticos, la Quimera (**fig.1**), se ha erigido en símbolo de la trasplantariedad; y hacia el oriente, Hua T'o relata que el cirujano chino Pien Ch-iao intercambió, con éxito, los corazones de dos individuos; tal alotrasplante se realizó hacia el año 200 a. C. A semejanza del *Corpus hipocrático* griego, el *Sushruta Samhita* representa la tradición médica hindú y que, por la riqueza de propuestas quirúrgicas, se considera el primer texto de



**Figura 1.** Quimera. Escultura etrusca en bronce, siglos v-iv a. C. Museo Arqueológico, Florencia.

cirugía. En él se documenta la práctica de reemplazar tejidos mutilados, en particular de la nariz, mediante autoinjertos de piel. El Nuevo Testamento recoge varios autotrasplantes: Jesús repone una oreja separada por la espada de Simón, Pedro repara los pechos amputados a Santa Ágata y San Marcos vuelve a poner en su sitio la mano de un soldado perdida en la batalla. La tradición cristiana otorga a los santos Cosme y Damián la autoría del primer alotrasplante de miembros y, en esta línea, Rabelais (1494-1553) describió el autoinjerto de la cabeza de Epistemón en *Gargantúa y Pantagruel*. Esta panorámica precientífica puede cerrarse con Gasparo Tagliacozzi (1546-99), de Bolonia; considerado el padre de la cirugía plástica apuntó la posibilidad de realizar alo y xenoinjertos. No creyó que fuera posible; ello sobre la base del carácter singular de cada individuo, tal como señaló en *De Curtorum Chirurgia per Insitionem*, escrito en 1596.

Hubo que esperar hasta mediados del siglo xx para abordar, con éxito, el problema de reemplazar órganos enfermos; hasta entonces, el fracaso de aquellos esenciales para la vida era invariablemente fatal. Los intentos iniciales de trasplante renal fracasaron; ello sobre la base de que la comprensión de la inmunología subyacente no evolucionó tan rápidamente como la idea y la técnica quirúrgica. En la actualidad, los avances en el control de la respuesta inmunológica y en la conservación de órganos han conseguido que el fracaso de los órganos vitales no sea una barrera para la supervivencia del paciente. Por su parte, tejidos no vitales— córnea, dura madre, hueso, piel —pueden ser

igualmente trasplantados mejorando la calidad de muchas vidas.

Donación, conservación de órganos, técnica quirúrgica, inmunología y control del rechazo del injerto definen la cadena de la trasplantariedad, y cuyo primer eslabón controla la secuencia. Sin un sistema de detección e identificación de donantes no es posible iniciar el proceso donación-trasplante: «sin donante no hay trasplante». Órganos y tejidos pueden proceder de dos tipos de donantes: vivo y cadáver. En España, país del mundo con mayor índice de donantes, el 96% de ellos lo son en muerte encefálica acaecida en el hospital. Una vez detectado un paciente en tal situación, se pone en marcha una exhaustiva valoración respecto a su posible catalogación como donante; ello incluye el mantenimiento del cadáver a efectos de garantizar la viabilidad de los órganos que pudieran ser trasplantados y la obtención de las autorizaciones familiar y judicial. Finalizada esta primera fase se procede a extraer y conservar los órganos donados. La preservación efectiva de órganos permite disponer del tiempo necesario para su transporte, realizar su tipaje y comprobar la compatibilidad con el posible receptor, preparar a éste y trabajar con los programas de trasplante regionales, nacionales e internacionales que se encargarán de su distribución.

El trasplante implica un procedimiento quirúrgico que transfiere órganos o tejidos en la misma persona (autotrasplante o autoinjerto) o entre diferentes individuos. Un isoinjerto es aquel que se realiza entre individuos genéticamente idénticos; aloinjerto lo es entre individuos de la misma especie genéticamente diferentes, y xenoinjerto es la transferencia de tejidos entre especies diferentes. Se denomina ortotópico al trasplante de un órgano o tejido en su lugar anatómico, y heterotópico al ubicado en lugar diferente. El éxito de un trasplante radica, en parte, en el grado de similitud genética entre donante y receptor, y fundamentalmente en la efectividad de las medidas inmunosupresoras que amortiguan la respuesta inmunológica. El tipaje del tejido y la compatibilidad del sistema antigénico sanguíneo ABO son las pruebas más comúnmente realizadas. El rechazo es una reacción inmunológica que intenta destruir el tejido trasplantado, aunque en ocasiones se desencadena una reacción del injerto contra el huésped. La técnica quirúrgica y los modernos fármacos han conseguido

que el trasplante de órganos y de tejidos sea una herramienta terapéutica plenamente incorporada en la práctica clínica.

## LAS BASES TÉCNICAS DEL TRASPLANTE

Alexis Carrel comenzaba su discurso de aceptación del Premio Nobel de Fisiología o Medicina 1912: «La idea de reemplazar órganos enfermos por otros sanos, de reimplantar un miembro amputado accidentalmente o de injertar una nueva extremidad a un paciente que perdió la suya por una amputación programada, no es original. Muchos cirujanos tuvieron la misma idea antes que yo, pero no la llevaron a cabo porque carecieron de un método para reestablecer de inmediato la circulación normal en la estructura trasplantada. Conseguir un método adecuado para unir los vasos del nuevo órgano a los del receptor supuso franquear la primera barrera. En 1902 comencé a investigar como lograr una sutura vascular sin que se produjera estenosis o trombosis. Muchos cirujanos habían realizado, sin éxito, anastomosis vasculares. Comencé utilizando los métodos de Payr y de Murphy, tras lo que inicié el estudio de los principios de una nueva técnica de sutura vascular en cadáveres humanos. Luego realicé algunas suturas en perros vivos en la Universidad de Lyon, en el laboratorio del profesor Stewart y con la colaboración del Dr. Guthrie. Más tarde, en el *Rockefeller Institute for Medical Research*, analicé las causas de todas las posibles complicaciones, a la vez que conseguí una mayor perfección metodológica. Con esta técnica modificada se realizaron numerosas operaciones experimentales, cuyos resultados clínicos y anatómicos pudieron ser observados durante tres o cuatro años. El estudio de las anastomosis vasculares puede darse por concluido tras el análisis de los resultados técnicos y experimentales».

Más adelante, Carrel se refiere a la técnica de la sutura en las anastomosis vasculares: «Pasaré a describir la técnica de sutura, seleccionado como nuestro modelo la anastomosis término-terminal. Luego señalaré las modificaciones realizadas en las anastomosis término-lateral y látero-lateral. La anastomosis término-terminal se efectúa manteniendo los extremos de los vasos en contacto, sin someterlos a

tracción alguna. Los extremos se fijan mediante tres puntos de sutura localizados en tres puntos equidistantes de su circunferencia. La tracción de estos tres puntos transforma la circunferencia de la arteria en un triángulo, a la vez que se dilata su perímetro. A continuación, los bordes de cada uno de los lados del triángulo se unen mediante una sutura continua y mientras se mantiene la tensión. Durante la sutura se debe tener el máximo cuidado en conseguir una aposición perfecta de las superficies de sección de la pared vascular... Se realizaron numerosas suturas y anastomosis vasculares según el método expuesto en perros y gatos, y alguna en humanos. Las intervenciones se efectuaron en arterias y venas, de calibres grandes y pequeños. La simplicidad de la técnica la hace posible en cualquier tipo de vasos... Los resultados fueron tan simples como la técnica. No se observaron ni hemorragias ni estenosis en las anastomosis... La complicación más frecuente en las suturas vasculares, la trombosis, nunca ocurrió con nuestro método... [y] nunca hubo estenosis ni dilatación en el nivel de la línea de sutura» (fig. 2).

Tras referirse en la segunda parte de su discurso al trasplante de vasos sanguíneos, Carrel dedicó la tercera y última parte de aquel al trasplante de miembros y de órganos: «El trasplante de tejidos y de órganos debe considerarse desde dos puntos de vista, el quirúrgico y el biológico. Comencé mi investigación intentando desarrollar una técnica que permitiera restaurar, sin demora, la circulación en los órganos trasplantados. Tras ello, intenté establecer hasta donde el órgano trasplantado llevaba a cabo sus funciones, tanto en los trasplantes autoplásticos como homoplásticos. Encontré que podía trasplantarse una región anatómica completa desde un animal a otro... En 1907 comencé el estudio del trasplante de miembros. Este estudio estuvo precedido por varios experimentos llevados a cabo por otros cirujanos que se habían ocupado del reimplante de miembros. En 1891 Robert Abbe... Hoepfner en 1903... En 1905, en Chicago, realicé con Guthrie varios experimentos de reimplante de patas. Los tejidos y vasos cicatrizaban por primera intención, pero éramos incapaces de mantener vivos a los animales más allá de once días. No realicé más reimplantes y me dediqué a estudiar el trasplante de extremidades de un animal a otro. Estos experimentos fueron hechos en el *Rockefeller Institute*, en los años 1907 y 1908... uno puede permitirse conje-

turar que la tolerancia mostrada por un organismo hacia su nueva extremidad puede variar de acuerdo a ciertas condiciones generales. Durante los últimos siete años he realizado un gran número de experimentos de reimplante y trasplante de órganos... En 1902, junto con M. Morel, llevé a cabo mi primer experimento de extirpación y reimplante de la glándula tiroidea de un perro... En 1905, con la colaboración de Mr. Guthrie, tuve éxito en el reimplante tiroideo... El mayor número de experimentos fueron realizados con riñones, y pueden dividirse en dos clases: trasplantes autoplásticos y trasplantes homoplásticos. El primer trasplante autoplástico de un riñón fue realizado por Ullmann en 1902... Durante el mismo año llevé a cabo dos trasplantes autoplásticos de riñón en perros, pero en ambos casos se presentaron complicaciones sépticas. Experimentos similares fueron realizados por De Castello, Karl Beck y Floresco. En 1905, con la ayuda de Guthrie, tuve éxito con un autotrasplante de riñón colocado en el cuello y que funcionó. También tuvimos éxito con el primer trasplante homoplástico de riñón que consistió en el injerto en masa de ambos riñones a otro animal. La mayoría de las operaciones fueron llevadas a cabo en el *Rockefeller Institute*, donde fui capaz de hacer un estudio sistemático de los resultados de reimplante y de trasplante renales... Todos los animales murieron antes de los 40 días tras la operación. El examen histológico de los riñones trasplantados mostró que los órganos presentaban algunas lesiones, muy ligeras en algunos casos y más graves en otros. Las lesiones correspondían a nefritis

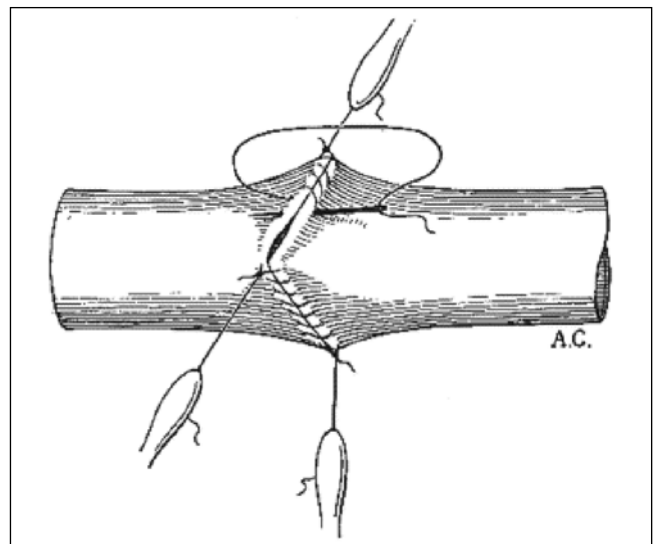


Figura 2. Sutura vascular. Alexis Carrel, 1902.

difusa. Es muy probable que en el trasplante de riñones, como en el trasplante de extremidades, la reacción del organismo contra su nuevo órgano tenga lugar tras unos pocos días. El nuevo órgano puede que tenga una marcada influencia sobre la condición general del receptor... Las interacciones del órgano y su huésped no han sido suficientemente estudiadas hasta la fecha...».

Resueltos los problemas técnicos de la sutura vascular por Carrel, durante las décadas siguientes los esfuerzos se orientaron a resolver los problemas inmunológicos; ello con la esperanza de poder repetir el milagro de los santos Cosme y Damián quienes, de acuerdo con la tradición, transfirieron quirúrgicamente la pierna del cadáver de un infiel para reemplazar la pierna gangrenada y amputada de un cristiano. La intervención se llevó a cabo en Roma, en la basílica Feliciana.

## MITOS Y LEYENDAS

Según E. Rinaldi, la escueta información hagiográfica disponible sobre estos santos deriva de la *Leyenda de los Santos* o *Leyenda Dorada*, escrita por Jacopo da Varagine el Santo (1228-1298), que fue obispo de Génova. Cosme y Damián, mellizos, nacieron hacia mediados del siglo III en Egea, una ciudad de Cilicia en Asia Menor, en la actual Turquía. Fueron hijos de Teodora (*regalo de Dios*) o Teodata (*consagrada a Dios*), quién los educó en la fe cristiana y envió a Siria para ser instruidos en el arte médico. Nunca aceptaron recompensa alguna por su trabajo. Su regla de caridad fue rota una sola vez; por Damián, quién aceptó un estipendio simbólico de Palladia, para no humillarla. Ello provocó la ira de Cosme, quien dio instrucciones para no ser enterrado junto a su hermano. Al día siguiente se le apareció el Señor y perdonó a su hermano. B. D. Kahan refiere que fueron decapitados junto a sus tres hermanos —Antimo, Leonzino y Eurepio— en el año 303, durante la persecución de Diocleciano. Se les atribuyen tres milagros: el de la serpiente, el del endemoniado y el milagro de «la pierna negra»; el último, un trasplante homoplástico del miembro inferior de un etiope, enterrado pocas horas antes en el cementerio de *San Pietro in Vincoli*. Tal extremidad fue utilizada para sustituir la pierna gangrenada de Justiniano, sacristán de la Gran



**Figura 3.** Fray Angélico, Iglesia–Museo de San Marcos, Florencia.

Basílica, luego dedicada a los hermanos, construida por orden del Papa San Félix IV, entre 526 y 530, sobre las ruinas de dos edificios imperiales, el templo de Divus Rómulo (siglo IV) y la biblioteca del Foro Vespasiano (siglo I). Junto a esta biografía «oficial», se apunta la existencia de, al menos, tres pares de hermanos médicos: dos árabes u orientales, decapitados por Gayo Aurelio Valerio Diocleciano (gobernó entre 284 y 305); dos romanos condenados durante el imperio de Marco Aurelio Carino (283-285), y dos hijos de Teodora que murieron en paz. Una cuarta teoría les identifica, en el mundo cristiano, con los gemelos Castor y Pollux, hijos de un dios pagano. Por último, la derivación posible de los nombres: Cosme, del griego «modelo», y Damián, del latín «la mano de Dios» o del griego «dominar». En cualquier caso, inspiraron una devoción que se extendió de Oriente a Occidente: en Sferracavallo (Palermo), Giave (Cerdeña), Riace (Regio Calabria) o en Covarrubias (Burgos). Además, son, junto con San Lucas, los patronos de la Medicina, de la Cirugía plástica y de la Ortopedia.

Las representaciones artísticas e iconográficas de los santos médicos fueron prolíficas en Italia durante los siglos XV y XVI, comenzando en Florencia bajo los Médicis. Esta familia, fundada por Cósimo el Viejo (1389-1464) y que gobernó la ciudad durante el Renacimiento, eligió a los hermanos Cosme y Damián como sus Santos Patronos. Entre los numerosos artistas que gravitaron alrededor de la familia Medici, fue



el fraile Giovanni da Fiesole —nombre de pila: Guido de Pietro da Mugello— a quién conocemos como Fray o Beato Angélico (1387-1455), el que primero utilizó el tema del «milagro de la pierna» como alegoría artística religiosa. La pintura de Angélico —pequeña pieza de 37 cm×45 cm— se expone en la iglesia de San Marcos, en Florencia (**fig. 3**).

La reevocación del milagro por Fray Angélico —tan simple y tan elegante— fue rápidamente incorporada al catálogo de los mejores artistas de la época. En la misma Florencia, en Santa María del Fiore, existe, sobre el altar, una réplica de Lorenzo di Bicci (c 1429) que también recoge al donante, un personaje ignorado por Fray Angélico. También en Florencia, Francesco di Stefano (1422-1457) —conocido como Pasellino— realizó su obra, que ahora puede admirarse en el Louvre parisino. En la misma Toscana, en Siena, Sano di Pietro (1406-1481) dedicó dos paneles del altar de San Girolamo al «milagro de la pierna». Es la primera representación del milagro en cuanto intervención actual: primero, la extirpación del miembro donado; luego, su implante en el receptor. Y el lombardo Girolamo de Cremona (1450-1485), de la escuela de Andrea Mantenga (1431-1506), plasmó el acontecimiento en un antifonario (c 1474) que hoy se conserva en la Sociedad de Anticuarios londinense (**fig. 4**). Y al norte de la Toscana, en la Emilia Romaña, en el Museo Nacional de Parma, se encuentra el trabajo de Giovanni Battista Tinti (1558-1604).



**Figura 4.** Girolamo da Cremona, *Society of Antiquaries*, Londres.



**Figura 5.** Anónimo, *Württembergische Landesmuseum*, Stuttgart.

Florencia exportó el tema a toda Europa. En la iglesia de San Miguel, en Munich, en un relicario (c 1200) dedicado a los dos Santos, alguien decoró, siglos después (c 1400), sus puertas con representaciones, en cuatro paneles bien conservados, de los milagros de la serpiente y de la pierna. En la *Österreichische Galerie*, en Viena, existe un maravilloso tríptico, un anónimo del siglo xv, que recoge una variante técnica: un trasplante homoplástico intercalar; el cirujano solo reemplazó el muslo. Y del mismo siglo, otro anónimo, esta vez sueco, en el *Wurt Landesmusem* de Stuttgart, incluye un detalle técnico: la manipulación de un torniquete por uno de los santos, mientras que el otro realiza el trasplante (**fig. 5**). Y en el siglo XVII,





**Figura 6.** Maestro de Los Balbeses, *The Wellcome Trust Library*, Londres.

Ambrosius Francken el Viejo (1544-1618) pintó una espléndida tabla que se conserva en el *Musée Royal des Beaux Arts*, en la belga Antwerpen.

¿Y en España? La representación (c 1495) del milagro, inicialmente atribuida a Alonso de Sedano, que trabajó en Burgos (c 1490-1520), pero actualmente adjudicada al maestro de Los Balbeses (Andrés Sánchez de Oña, a quién se ubica en Burgos c 1484-1510), presta especial atención al detalle quirúrgico; los dos Santos participan en la operación y dos ángeles colaboran en ella: uno ilumina la escena y, el otro, recoge el miembro amputado. Este cuadro se encuentra en el *Wellcome Institute* de Londres (**fig. 6**). Más próximo y con el mismo detalle técnico, esta vez la sutura del injerto, es la obra de Pedro de Berruete (1450-1503) que se conserva en la Colegiata de Covarrubias, villa de la que los Santos son patronos (**fig. 7**). También el Museo del Prado alberga un cuadro sobre el tema, el de Fernando del Rincón (finales siglo xv-1517) que incluye al donante, y en el que se recuerda el milagro de la serpiente (**fig. 8**). Cierran nuestra riqueza pictórica sobre el tema un trabajo de

Manuel Álvarez (1727-1797), localizado en el Museo Nacional de Escultura de Valladolid, y un cuadro de un discípulo de Felipe Bigarny (1480-1542) en el altar dedicado a los Santos en la Catedral de Palencia. Fuera nuevamente de nuestro entorno próximo y lejos en el tiempo, el tema ha sido recuperado en el pasado siglo; André Durand (n. 1947) pintó *The Miracle of Cosmas and Damian*, en 1997 (**fig. 9**).

También la literatura se ocupó del tema. Douglas B. Price se refiere a 48 leyendas; de ellas 28 en latín. Todas las historias se localizan entre los siglos VII y XV, y fueron escritas antes del siglo XVI, a excepción de una publicada en el siglo XVII. Los escritos suelen describir casos de regeneración del miembro. El primer milagro de esta naturaleza fue escrito c 1110, por Guibert de Nogent (1053-1124); en él, la Virgen



**Figura 7.** Pedro Berruete, Colegiata de Covarrubias, Burgos.





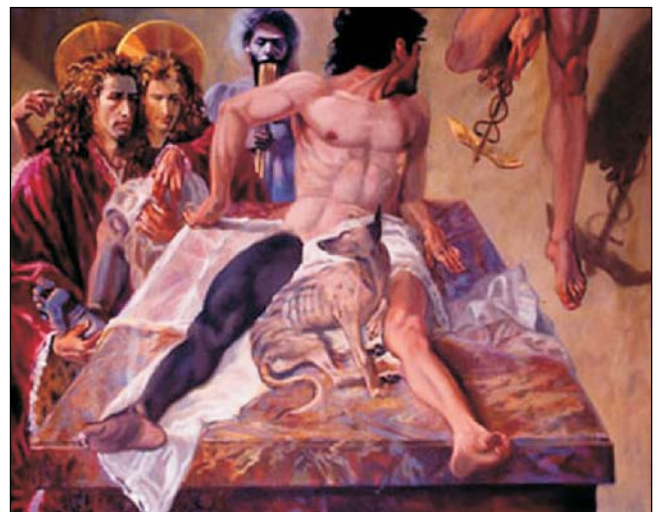
**Figura 8.** Fernando del Rincón, Museo del Prado, Madrid.

María y San Hipólito promueven, a lo largo de todo un año, la restauración progresiva de la pierna perdida por Pedro, un boyero. En otra historia, a causa de una dolencia en su pierna derecha, Miguel Juan Pellicero sufrió la amputación de su extremidad en el Hospital General de Zaragoza en enero de 1638. La pierna amputada fue enterrada en el cementerio del hospital. Una noche, Miguel soñó que estaba en la capilla de la Virgen del Pilar. Despertó con ambas piernas, y todos reconocieron la “nueva” como la que le había sido amputada; así lo escribió el padre Francisco (1598-1680) en 1662.

## LAS BASES BIOLÓGICAS DEL TRASPLANTE

El bombardeo de las ciudades durante la Segunda Guerra Mundial causó numerosas víctimas con quemaduras extensas. La aplicación de homoinjertos cutáneos fracasó estrepitosamente debido al rechazo de la piel injertada. El «Comité para las heridas de guerra» del Consejo Médico Inglés encargó a un joven zoólogo educado en Oxford, llamado Peter Medawar, investigar el problema del rechazo de los homoinjertos

y como evitarlo. Medawar trabajó primero en la Unidad de quemados del *Glasgow Infirmary*, con Thomas Gibson. En su primer artículo —ahora integrante del *canon* científico-médico—, publicado en colaboración con Gibson en 1943, Medawar escribió en la Introducción: «Los injertos de piel han sido practicados por los cirujanos europeos durante poco menos de un siglo, habiendo sido ahora reconocido como un método para tratar lesiones extensas superficiales para las que el proceso autónomo de reparación es demasiado peligroso y demasiado lento. Cuando, como a veces sucede, un paciente ha perdido más piel de la que es factible reemplazar por el método al uso de injerto libre autoplástico, el cirujano puede elegir entre dos alternativas. Puede adoptar el recurso de injertar varios pellizcos cutáneos o pequeños islotes discoideos de piel —un *pinch grafting*— autoplástico, que consigue multiplicar por dos o por tres la extensión cubierta por un trozo de piel, o se puede decidir por utilizar piel de un familiar del paciente o de un donante voluntario. La desventaja del primer método es que la nueva piel es de pobre calidad y a menudo inestable; y la del segundo, que sus resultados nunca son permanentes. Es verdad que, con pocas excepciones, los investigadores no han hecho distinciones críticas entre la suerte de la piel propia y de la extraña, y que los homoinjertos cutáneos aun son ocasionalmente utilizados por los cirujanos sin conocer bien su destino. Sin embargo, se sabe que la piel extraña no puede utilizarse como un injerto permanente en el humano, excepto, sin duda, entre gemelos monocigóticos.



**Figura 9.** André Durand, *Idea Fine Art – Durand Gallery*.

Las teorías acerca de los mecanismos que subyacen en la resistencia a los injertos homoplásticos son de dos tipos generales. El primero es que la reacción es primariamente local y celular, y que las pruebas del fracaso de los homoinjertos deben encontrarse en el propio injerto o en su vecindad inmediata. Este punto de vista se basa principalmente en consideraciones histológicas, y está respaldada, junto con una teoría más detallada sobre la función especial de los linfocitos, por Loeb y sus colaboradores. La segunda, familiar a los estudiosos de los trasplantes de tumores es que la resistencia a los injertos homoplásticos es sistémica y de naturaleza primitivamente humoral, y que en una u otra forma sigue el patrón general de una reacción antígeno-anticuerpo. Este punto de vista está de acuerdo con la teoría serológica general y se basa en la idea de que las proteínas y posiblemente otros ingredientes de los tejidos injertados son lo suficientemente diferentes de los del receptor para actuar como isoantígenos. Las observaciones recogidas en el presente trabajo favorecen esta segunda hipótesis...

Resumen. 1. Se presenta la investigación controlada de la reacción de un receptor al trasplante de piel extraña. 2. El paciente presentaba una extensa zona de tejido de granulación producida por una quemadura térmica. La zona fue cubierta por 52 mini-injertos tomados de su propio muslo, y por 50 mini-homoinjertos donados por su hermano. Se tomaron biopsias de ambas clases de injertos cada vez que se cambiaron los apósitos y se examinaron histológicamente. 3. Una segunda tanda de 28 mini-injertos procedentes del hermano se trasplantaron a una parte diferente de la zona de tejido de granulación a los 15 días de la aplicación de los primeros. Muestras biópsicas de esta segunda tanda de injertos fueron examinadas en paralelo con las otras procedentes de los primeros injertos... 9. Las relaciones temporales del proceso, la ausencia de reacción celular local, y la acelerada regresión de la segunda remesa de mini-homoinjertos sugiere que la destrucción de la epidermis extraña fue llevada a cabo por un mecanismo de inmunización activa».

La segunda publicación (1944) de Medawar, esta vez en solitario y también, hoy, un clásico, fue un Informe al *War Wounds Committee* del *Medical Research Council*: «El proceso “natural” de cicatrización de las heridas es siempre necesario aunque no siempre suficiente, para asegurar una reparación fun-

cional eficiente del tejido lesionado —se lee en la Introducción—. La reparación de heridas que provocan una extensa pérdida de piel se reconocen como un problema quirúrgico; para ello, en la mayoría de los casos, el injerto de piel es una solución completamente adecuada... cuando el área de piel perdida es muy superior a la que el paciente puede regenerar por sus propios medios. No puede hacerse otra cosa, en tales casos, que injertar el área destruida con pequeños islotes discoidales o tiras, de piel. La piel de otro congénere no sirve como injerto permanente: ni el humano ni en el conejo existen pruebas de que tejido celular normal pueda sobrevivir trasplantado entre individuos genéticamente diferentes. La posibilidad de utilizar homoinjertos en la práctica clínica ha sido casi, si no del todo, universalmente desacreditada.

Aunque el “problema homoinjerto”, como puede denominarse la incompatibilidad de tejidos trasplantados, ha sido bien reconocido y más o menos directamente involucrado en cirugía, genética, serología y taxonomía zoológica, no se ha hecho intento sistematizado alguno para resolverlo. Existe una necesidad urgente para una descripción clara y bien sustentada del comportamiento de los homoinjertos, y como varía este con la cantidad de tejido trasplantado y con la experiencia previa del receptor de injertos provenientes del mismo donante. La piel es el tejido de elección porque proporciona la posibilidad de una medición cuantitativa del tiempo de supervivencia del tejido injertado bajo una serie de condiciones diferentes, y porque como nervio y hueso (y a diferencia del tejido glandular) puede ser injertado “isotópicamente” en un ambiente anatómicamente natural... Se eligió el conejo como animal de experimentación mas por su tamaño y facilidad de manejo y acceso que por alguna característica intrínseca». En la discusión del trabajo, Medawar escribía: «Las pruebas antes presentadas están en consonancia con una hipótesis, explorada principalmente por Gibson y Medawar sobre bases más especulativas, que propone que el mecanismo por el que la piel extraña es eliminada pertenece, en términos generales, a la categoría de las *reacciones inmunológicas adquiridas activamente*».

«Ocasionalmente —escribe James F. Crow— una observación al azar abre un nuevo campo en ciencia. El descubrimiento de la inmunotolerancia y el reconocimiento de lo propio y de lo extraño, pertenecen a tal categoría. El origen fue una carta escrita por



un criador de ganado, en 1944, en Maryland, al laboratorio de inmunogenética de la Universidad de Wisconsin, en la que se describía un curioso par de terneros gemelos con padres diferentes. Ray D. Owen, un investigador post-doctoral en aquel laboratorio y ya entonces interesado en los grupos sanguíneos de los gemelos bovinos, pensó que aquella era una oportunidad interesante. Aceptó estudiarlas. En las décadas de 1930 y 1940, la genética de los antígenos de las células sanguíneas era un tema de gran interés en investigación. En aquellos años se aceptaba el punto de vista de que los antígenos, dada su herencia simple, podían ser productos génicos inmediatos. Por esta razón, podían representar una puerta de entrada para desentrañar la naturaleza de aquella entidad tan elusiva que representaba el gen. Persiguiendo esta posibilidad, los nuevos tipos o grupos sanguíneos habían sido ávidamente estudiados en varias especies, incluyendo al *Homo sapiens* y al *Bos taurus*. En los primeros años de la década de 1940 se habían detectado más de 40 antígenos diferentes en el ganado. El líder mundial en tal campo era el laboratorio de inmunogenética de la Universidad de Wisconsin.

En ocasiones, existían dudas a cerca de la paternidad de los terneros, lo que podía tener repercusiones económicas. Los criadores y sus asociaciones dieron la bienvenida a los grupos sanguíneos como una prueba concluyente para identificar a los padres. Lo que había motivado la carta citada involucraba a una vaca Guernsey y a sus dos terneros. Había sido apareada con un toro de la misma clase, pero días después lo hizo con un toro Hereford que se había escapado de una granja vecina. Los colores de los terneros indicaban inexorablemente la diferente paternidad. Los análisis de sangre revelaron que la vaca presentaba, entre otros, antígeno G; el toro Guernsey antígenos S y X<sub>2</sub>, y el toro Hereford antígenos R e I'. La gran sorpresa la dieron los terneros: tenían idénticos grupos de sangre. Ello no podía explicarse; no eran gemelos idénticos. Es más, cada "gemelo" tenía antígenos de la madre y de "ambos" padres. Porqué gemelos no idénticos tenían idénticos grupos sanguíneos. Cómo podría un ternero heredar grupos sanguíneos de ambos padres. Owen dio con la solución: demostró que cada gemelo no idéntico portaba dos clases de eritrocitos.

La peculiar anatomía uterina del ganado le era familiar a Owen; una anatomía que facilita la inter-

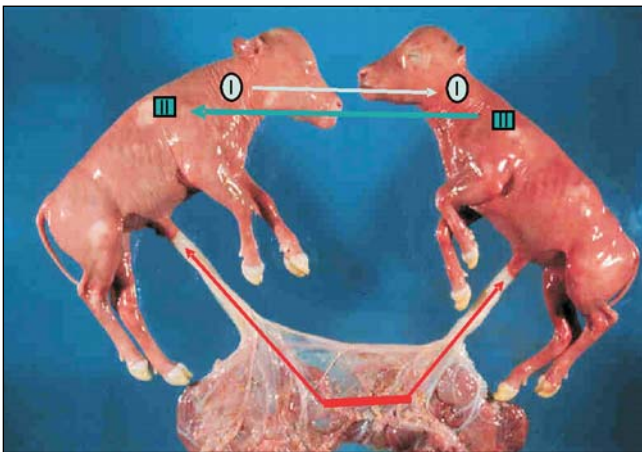
conexión entre los vasos extra-embrionarios de los gemelos. Tales anastomosis entre los vasos de cada una de placentas correspondientes a cada uno de los gemelos, proporcionan una excelente oportunidad para el intercambio de sangre entre los dos embriones. Owen, con su bagaje rural, tenía un vasto conocimiento de los "*free-martins*" —hembra de gemelos heterosexuales en el ganado—, que suelen desarrollarse como adultos estériles, intersexuados, completamente inútiles para los criadores de ganado. Muchos años antes, Frank R. Lillie, en 1916, había demostrado las interconexiones de los sistemas circulatorios de los embriones gemelos y había postulado que las hormonas del macho suprimían el desarrollo sexual normal de su hermana. La mezcla de grupos sanguíneos demostró que se intercambia algo más que hormonas. El estudio se amplió a un gran número de gemelos y, en la mayoría de las veces, se encontró que compartían idénticos grupos sanguíneos.

Una consecuencia práctica inmediata de este trabajo fue que los *free-martins* podían identificarse nada más nacer: si los recién nacidos con sexo opuesto mostraban grupos sanguíneos mixtos, consecuencia de la fusión vascular placentaria, podría predecirse que la ternera evolucionaría como un *free-martin*. El criador podría venderla como carne y evitar los gastos de criar a una ternera estéril. Durante muchos años, el laboratorio de inmunogenética de la Universidad de Wisconsin ofreció un importante apoyo para identificar *free-martins* en las diversas granjas del país.

Pronto se identificó otro hecho de la mezclanza sanguínea. El quimerismo persistía más allá de la vida máxima de los eritrocitos; el intercambio debería incluir a los eritrocitos y, también, a sus precursores, dado que el fenotipo antigénico persistía durante toda la vida del animal. Así, la mezcla sanguínea desafiaba un principio inmunológico fundamental. De ordinario, la transfusión de sangre entre individuos diferentes, con grupos sanguíneos diferentes, da lugar a una reacción transfusional, en ocasiones muy grave. En los casos apuntados, cada gemelo había sobrevivido a pesar de la transfusión masiva, *in útero*, de células en principio incompatibles entre ambos gemelos. Porqué este intercambio embrionario estaba al margen de las reglas que regulan la transfusión de sangre. Owen escribió un extenso manuscrito en el que discutía esta última cuestión y apuntaba la posibilidad de que se

tratara de una inmunotolerancia. El trabajo no fue admitido y exclusivamente se publicó (1945) una versión muy abreviada del mismo, en la que discutía la explicación del intercambio pero no las posibles implicaciones inmunológicas» (fig. 10).

Fue en 1948 cuando Medawar, quién estudiaba el comportamiento de trasplantes de piel en ratones, coincidió con Hugo Donald, de Edimburgo, interesado en estudios sobre cruzamientos animales y que estaba especialmente interesado en terneras gemelas idénticas, muy útiles en diversos experimentos; el único problema es que los gemelos idénticos en el vacuno son muy escasos. Medawar inició un ambicioso programa de experimentos de trasplante en terneras. Para su sorpresa, los injertos de piel eran aceptados por casi todos los pares de gemelos, incluyendo aquellos de



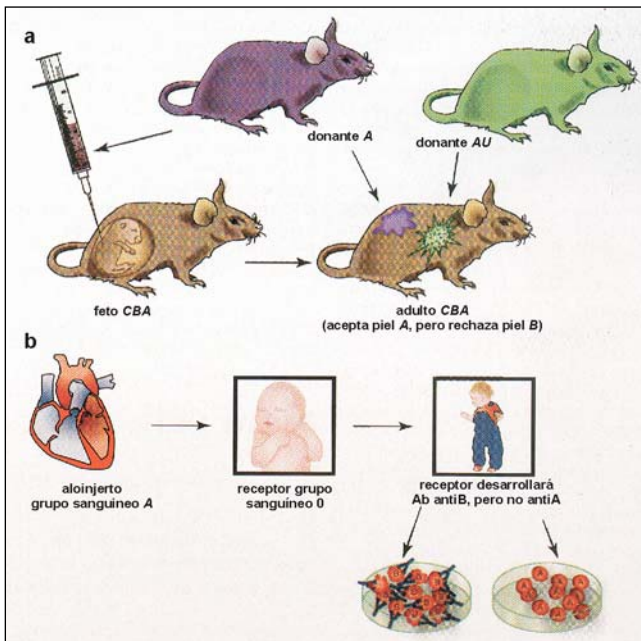
**Figura 10.** «La condición monocorial no es prueba concluyente de un origen monocigótico... En el ganado, un embarazo gemelar casi siempre resulta de la fertilización de un óvulo en cada ovario... los vasos sanguíneos de cada [embrión] se anastomosan, desarrollándose una amplia anastomosis vascular, de tal manera que cada feto puede ser profundido por el otro... existe un constante intercambio de sangre. Si ambos fetos son macho o ambos son hembra, nada irregular sucede; pero si uno es macho y el otro hembra, el sistema reproductor de la hembra será suprimido [por los andrógenos que recibe procedentes del macho]» F.R. Lillie (1916) Theory of the free-martin. *Science* **43** (1113): 611-3. Por otro lado, «se ha demostrado que hay una mezcla de dos tipos distintos de eritrocitos en [los free-martin]. Ello está de acuerdo con la hipótesis de un intercambio de células entre los fetos y que es consecuencia de anastomosis vasculares... Tales observaciones sugieren varios problemas interesantes en los campos de la genética, de la inmunología y del desarrollo» R.D. Owen (1945) Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* **102** (2651): 400-1. Estos mellizos dicigóticos son un modelo natural de tolerancia inmunológica; los alotrasplantes cruzados son plenamente aceptados.

sexo opuesto. Medawar desconocía, entonces, el trabajo de Owen.

Años después (1953), Medawar, junto con Rupert E. Billingham y Leslie B. Brent, publicaba un artículo sobre tolerancia adquirida: «Los experimentos descritos en este artículo aportan una solución —en el momento actual solo una solución de “laboratorio”— al problema de cómo hacer los homoinjertos tisulares aceptables para el huésped que debería, en condiciones normales, rechazarlos... Si, por ejemplo, un ratón fetal de una cepa (ej, CBA) es inoculado *in utero* con una suspensión de células vivas de un ratón adulto de otra cepa (ej. A), cuando crezca, el ratón CBA será parcial o completamente tolerante a los injertos cutáneos trasplantados de cualquier ratón que pertenezca a la cepa del animal donante original A [pero no de un animal perteneciente a otra cepa] (fig. 11).

Este fenómeno es el inverso exacto de la “reacción inmunológica adquirida activamente”, y que proponemos describirla como “tolerancia adquirida activamente”... La literatura de la embriología experimental es rica en pruebas que demuestran que los embriones son completamente tolerantes a los injertos de tejidos extraños... Un fenómeno exactamente comparable ha sido descrito por Owen —lo había leído en el libro de Burnet y Fenner: ver el párrafo siguiente—, quién encontró que la mayoría de los terneros mellizos dicigóticos nacen y mantienen durante bastante tiempo eritrocitos de origen dicigótico: cada ternero contiene una proporción de eritrocitos que pertenecen genéticamente a él mismo, mezclados con eritrocitos que pertenecen al linaje cigótico de su mellizo. No hay razones para dudar de que aquello sucede porque los terneros, siendo sincoriales, intercambian sangre a través de las anastomosis de sus vasos placentarios. (Esto no es una peculiaridad del ganado, puesto que se ha descrito una pareja de mellizos humanos con eritrocitos de origen dicigótico)... Más aun, hemos encontrado que la mayoría de los terneros mellizos al nacer y durante bastante más tiempo, son completamente tolerantes a los injertos cutáneos del otro».

Un tercer continente había entrado en liza. Frank Macfarlane Burnet y Frank Fenner, en Australia, desarrollaron (1949) el concepto de «propio y extraño» —*self-nonsel*f: modelo SNS— en el



**Figura 11.** (A) En los experimentos seminales de Billingham, Brent y Medawar, fetos murinos de la cepa CBA eran inyectados *in utero* con células vivas de un ratón perteneciente a una cepa genética (cepa A) completamente diferente. A las ocho semanas del nacimiento, el ratón CBA recibía un injerto de piel procedente de un donante adulto A. Los receptores no rechazan el injerto; se han hecho tolerantes. El mismo ratón CBA rechazará un injerto de piel procedente de un ratón adulto de una tercera cepa genética (AU), lo que significa que la tolerancia es específica. (B) Una serie de recién nacidos humanos fueron trasplantados con corazones ABO incompatibles. No se observó rechazo hiperagudo alguno, ni elaboraron anticuerpos contra el grupo sanguíneo del donante, pero desarrollaron concentraciones normales de anticuerpos contra los antígenos ABO no expresados por el donante. En el ejemplo presentado, un niño con grupo sanguíneo O que recibió un corazón de un donante con grupo sanguíneo A, desarrolló anticuerpos anti-B pero no anti-A (Adaptada de: J.S. Obhrai & F.G. Lakkis, fig. 1, pág. 1165).

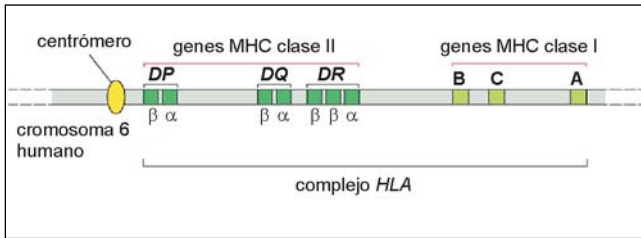
reconocimiento antigénico. En su influyente libro *The Production of Antibodies* —que leyó Medawar— incluyeron una referencia al trabajo de Owen. Fuera quien fuera el que reconociera el trabajo de Owen, lo cierto es que la explicación de la aceptación del injerto estuvo inmediatamente clara y, con ello, nació el concepto de «inmunotolerancia».

Debe incluirse un nuevo actor; esta vez en Checoslovaquia. Milan Hašek era un seguidor de Lysenko y Michurin. Impresionado por los resultados de los injertos híbridos en plantas, decidió que experimentos de parabiosis con pollos sería una manera elegante de demostrar tales resultados en animales; las

conexiones vasculares parecían una excelente oportunidad para demostrar la herencia lamarkiana. Demostró el intercambio de células sanguíneas y el fracaso de la producción de anticuerpos contra ellas. El trabajo, publicado en 1953, fue redactado en ruso e interpretado de acuerdo con la ortodoxia soviética. Dos años después, Hašek coincidió con Medawar y Brent, quienes le comentaron sus resultados en términos de inmunotolerancia. Hašek asintió y adoptó el mendelismo; llegó a ser una figura líder de la inmunología, pero fue depurado y declarado *persona non grata*. Cuando, en 1960, Medawar y Burnet recibieron el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por «su descubrimiento de la inmunotolerancia adquirida», fueron muchos quienes no entendieron cómo Owen primero y Hašek después, no habían sido incluidos en el galardón. Medawar insistió, por su parte, en la decisiva aportación de sus colaboradores Billingham y Brent.

Otro ingrediente en la larga marcha hacia la comprensión de las bases inmunológicas del trasplante fue la «enfermedad-injerto-contrahuésped» (GVHD: *graft-versus-host-disease* o *runt disease*). En ocasiones, células inmunocompetentes residentes en el órgano donado pueden provocar un reconocimiento inmunológico en sentido opuesto iniciando una GVHD. Billingham y Brent detectaron este fenómeno en el año 1957, cuando ratones adultos irradiados —inmunoblación tolerogénica— con el fin de inducir en ellos un estado de inmunotolerancia, eran infundidos con células esplénicas normales. Aunque los ratones a los que se administró médula ósea alogénica se recuperaban de la agresión por la radiación y de la anemia aplásica, morían subsecuentemente de una «enfermedad secundaria»; un síndrome consistente en diarrea, pérdida de peso, dermatitis y hepatopatía. Tales observaciones condujeron a Billingham a formular, en 1966, los requisitos para desarrollar una GVHD: «primero, el injerto debe contener células inmunocompetentes; segundo, el receptor debe ser incapaz de montar una respuesta efectiva para destruir a las células trasplantadas, y tercero, el receptor debe expresar antígenos tisulares ausentes en el injerto. De acuerdo con tales criterios, la GVHD puede desarrollarse en distintas situaciones clínicas cuando alotejidos que contienen células inmunocompetentes se transfieren a un receptor inmunocomprometido». La GVHD es la principal complicación del trasplante





**Figura 12.** El complejo principal de histocompatibilidad humano mapea en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3). La región ocupa 3.6 Mb que contienen más de 160 genes (43 genes por Mb), de los que el 40 % codifica proteínas del sistema inmunológico, incluidas las proteínas de membrana etiquetadas como antígenos leucocitarios humanos.

allogénico de médula ósea. Respecto al alotrasplante de órganos, solo el intestinal está capacitado —conlleva una importante población linfoide— para inducir esta respuesta.

## LAS BASES INMUNOLÓGICAS DEL TRASPLANTE

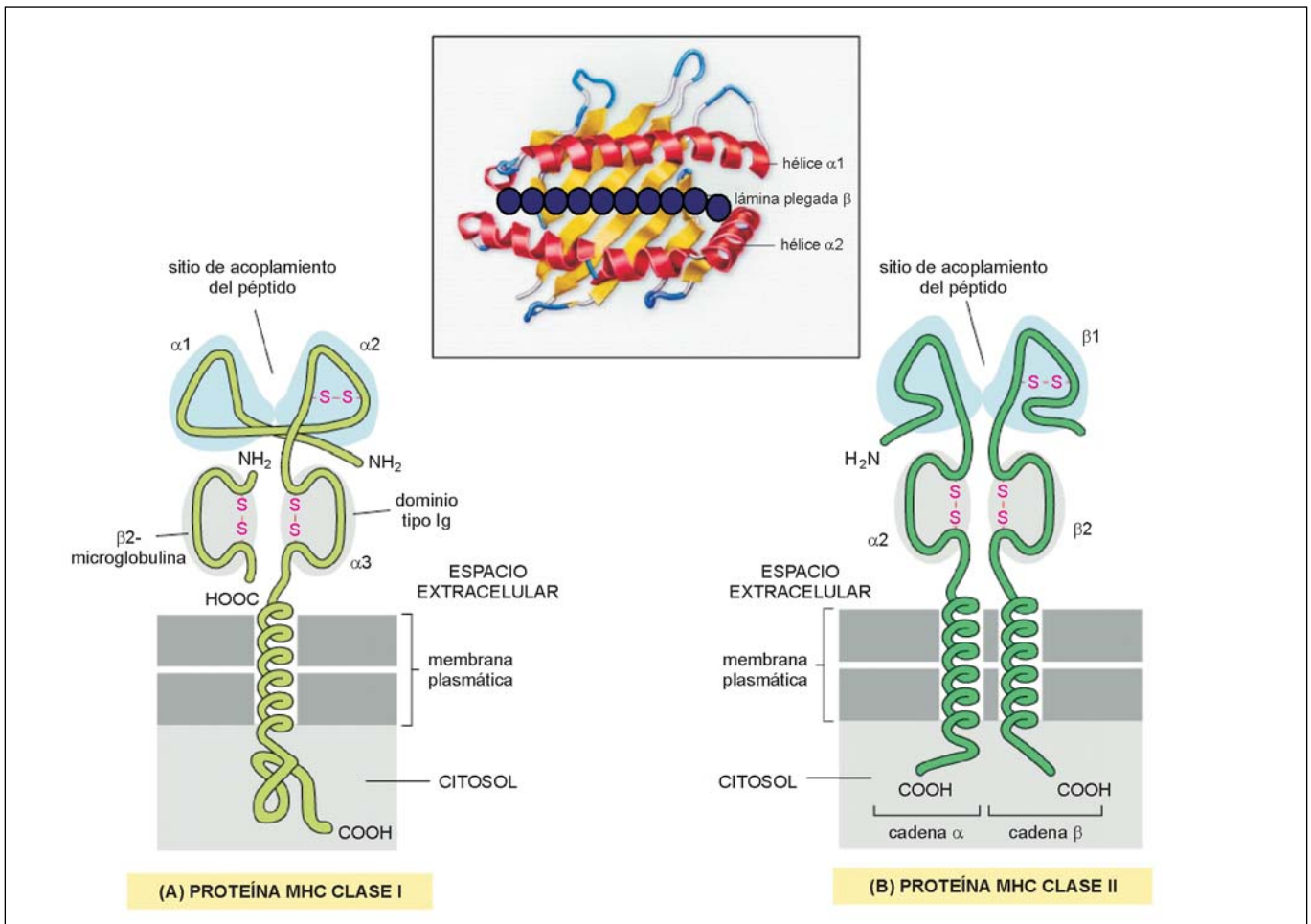
### El Complejo Principal de Histocompatibilidad.

En la raíz del rechazo de un aloinjerto está el sistema antigénico leucocitario humano (HLA: *human leukocyte antigen*), la versión humana del complejo principal de histocompatibilidad (MHC: *major histocompatibility complex*), responsable de establecer las condiciones iniciales de la respuesta inmunológica adaptativa. Los antecedentes hay que buscarlos en la identificación de los grupos sanguíneos ABO por Karl Landsteiner en el año 1901, lo que permitió tipificar antigénicamente (para los grupos ABO) la sangre y asegurar la compatibilidad de las transfusiones de sangre, el primer trasplante de tejido. También significó el descubrimiento del primer polimorfismo génico —capacidad de un gen para presentarse bajo una serie de formas alélicas— en el hombre. Más de treinta años después, en 1937, Peter A. Gorer, tras identificar el locus de un grupo sanguíneo en el ratón, demostró que ese grupo sanguíneo segregaba con las características de susceptibilidad y resistencia a un tumor trasplantable; fue el primer caso de identificación individual de un locus de histocompatibilidad. Dado que Gorer había utilizado un antisuero reactivo que había denominado antígeno II, el locus pasó a denominarse *H-2*. Pronto se comprobó la existencia de otros loci y el marcado polimorfismo de todos ellos que, por otro lado, aparecían agrupados en un com-

plejo en el que podían identificarse cinco regiones que expresaban cuatro tipos de antígenos. A esta región compleja que contiene los genes de histocompatibilidad, George D. Snell la denominó «complejo principal de histocompatibilidad» (MHC: *major histocompatibility complex*). En el año 1958, Jean Dausset trasladó tales hallazgos al humano, identificando el «complejo antigénico linfocítico» (HLA: *human lymphocyte antigen complex*), del que el primer antígeno identificado fue el denominado Mac, hoy denominado HLA-A2. Por último, Baruj Benacerraf completó el mapa del MHC, identificó las moléculas por él codificadas y estudió la especificidad de la interacción entre ellas y los linfocitos T.

El complejo HLA mapea en el brazo corto del cromosoma 6 y contiene más de doscientos genes; del orden de cuarenta de ellos codifican antígenos leucocitarios. El resto es un conjunto de genes no relacionados evolutivamente con los genes *HLA* propiamente dichos, aunque algunos lo están funcionalmente (**fig. 12**). Los genes *HLA* directamente involucrados en la respuesta inmunológica se dividen en dos clases, I y II, que son estructural y funcionalmente diferentes (**fig. 13**). Los genes de la clase I codifican la cadena polipeptídica  $\alpha$  de la molécula de clase I; la cadena  $\beta$  de la molécula de clase I está codificada por un gen ubicado en el cromosoma 15: el gen  $\beta_2$ -microglobulina. La cadena  $\alpha$  tiene cinco dominios: dos dominios de acoplamiento o de presentación peptídico o antigénica ( $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ ), un dominio tipo inmunoglobulina ( $\alpha 3$ ), la región transmembrana y la cola citoplasmática. Hay alrededor de 20 genes clase I en la región HLA: tres de ellos, *HLA-A*, *B* y *C*, los denominados «clásicos» o genes de la clase Ia son los actores principales del teatro inmunológico.

Los genes de la clase II codifican las cadenas polipeptídicas  $\alpha$  y  $\beta$  de las moléculas HLA clase II. La designación de sus loci en el cromosoma 6 consta de tres letras: la primera (D) indica la clase, la segunda (M, O, P, Q o R) la familia y la tercera (A o B) la cadena ( $\alpha$  o  $\beta$ , respectivamente). Por ejemplo, HLA-DRB especifica genes clase II de la familia R que codifican cadena  $\beta$ . Los genes individuales del sistema HLA se designan por números arábigos, y la notación para las numerosas variantes alélicas de esos genes es un número precedido por un asterisco. Por ejemplo, HLA-DRB1\*0401 se refiere a la variante alélica 0401



**Figura 13.** Moléculas MHC clases I y II. (A) La cadena de la molécula de clase I tiene tres dominios extracelulares – $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ , y  $\alpha 3$ – codificados por exones diferentes. La cadena  $\alpha$  se asocia de manera no covalente con una pequeña cadena polipeptídica,  $\beta 2$ -microglobulina, no codificada en el MHC. El dominio  $\alpha 3$  y la  $\beta 2$ -microglobulina pertenecen a la clase de las inmunoglobulinas. Mientras que la  $\beta 2$ -microglobulina es invariante, la cadena  $\alpha$  es extremadamente polimórfica, principalmente los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ . (B) En las moléculas MHC clase II, las dos cadenas,  $\alpha$  y  $\beta$ , son polimórficas, principalmente los dominios  $\alpha 1$  y  $\beta 1$ ; los dominios  $\alpha 2$  y  $\beta 2$  son de tipo inmunoglobulina. Existen, por tanto, marcadas similitudes entre las moléculas de las clases I y II. En ambas, los dos dominios más exteriores interaccionan para formar una plataforma que acopla fragmentos peptídicos –antígenos– para su presentación a células T. (C) Plataforma de presentación de una molécula MHC clase I. Una lámina  $\beta$  plegada forma el fondo del surco, cuyas paredes lo conforman  $\alpha$  hélices (Adaptada de: Bruce Albers *et al.*, *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, NY; 2002. Figure 24-49, pág. 1399).

del gen 1 que codifica cadenas  $\beta$  de una molécula de clase II perteneciente a la familia R. Cada una de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de clase II tiene cuatro dominios: el dominio de acoplamiento peptídico o de presentación del antígeno ( $\alpha 1$  o  $\beta 1$ ), el dominio inmunoglobulínico ( $\alpha 2$  o  $\beta 2$ ), la región transmembranar y la cola citoplasmática.

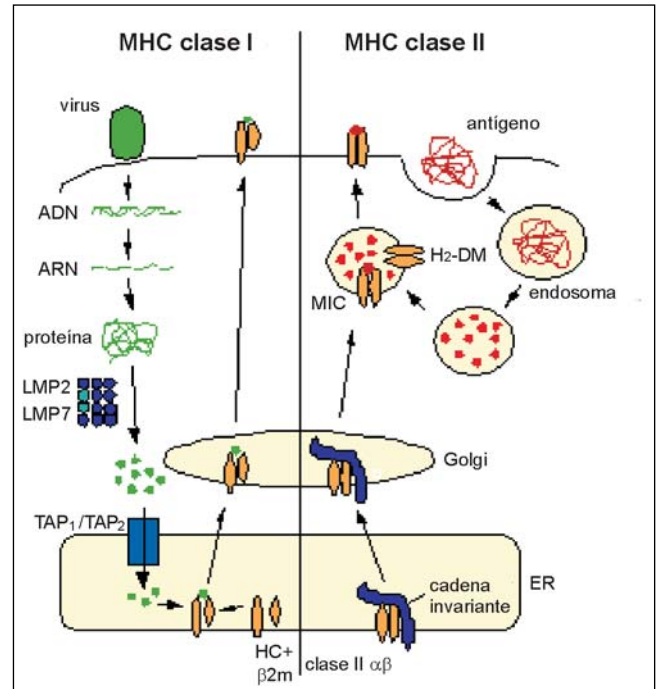
Los genes clase I se expresan en la mayoría de las células somáticas, aunque el nivel de expresión varía dependiendo del tejido. Por el contrario, los genes clase II se expresan en condiciones normales por un

subgrupo de células inmunocompetentes que incluye a las células T, macrófagos, células dendríticas y células epiteliales del timo; sin embargo, en presencia de interferón- $\gamma$  otros tipos celulares pueden expresar moléculas HLA-clase II. La función de ambas moléculas —tipos I y II— es presentar péptidos cortos (7-15 aminoácidos) a las células T, un proceso que inicia la respuesta inmuno-adaptativa.

Las células están equipadas con un envidiable sistema de limpieza y de reciclaje de sus productos de desecho. Moléculas especiales —ubiquitinas—

marcan las proteínas desechables, que son desplegadas con ayuda de otras —caperonas— para poder ser introducidas, una vez desnaturalizadas, en máquinas trituradoras —proteosomas—, que excretan sus pedazos. Estos fragmentos peptídicos que abandonan el proteosoma son degradados a aminoácidos en el citosol o son transferidos al retículo endoplásmico. Las proteínas extracelulares toman una ruta diferente de degradación. Son engullidas en pequeñas bolsas construidas mediante la invaginación de la membrana plasmática y que se cierran por coalescencia de sus bordes, dando lugar a una vesícula endocítica libre. Tal vesícula se fundirá con algún lisosoma, repleto de enzimas proteolíticas, para formar un endosoma. Las proteínas ingeridas serán degradadas en el interior del endosoma, primero a péptidos y luego y en algunas vesículas, a aminoácidos para su reciclaje. Normalmente, las proteínas recicladas son las propias del organismo; pero en las células infectadas, las proteínas originarias del patógeno entran de igual modo en las rutas de procesamiento. Con excepción de los vertebrados prognatos, ningún otro organismo parece que haga distinción entre los péptidos derivados de sus propias proteínas (lo propio, *self*) y aquellos derivados de proteínas extrañas (lo ajeno, *nonself*). Por el contrario, los vertebrados prognatos utilizan péptidos derivados de proteínas extrañas —generalmente microbianas— para marcar las células infectadas y facilitar su destrucción; una manera radical de eliminar el patógeno.

En una célula no infectada, proteosomas domésticos producen continuamente autopéptidos; algunos de ellos son captados por moléculas denominadas «transportadores asociados con el procesamiento antigénico» o TAPs (*transporters associated with antigen processing*). Tales proteínas se asocian para formar canales por los que los péptidos atraviesan la membrana para acceder al interior del retículo endoplásmico. En la apertura intraluminal del canal esperan vehículos que transportarán a los péptidos a su nuevo destino. Los vehículos son moléculas HLA-clase I. El correcto acoplamiento de las dos subunidades —cadena  $\alpha$  y  $\beta_2$ -microglobulina— manufacturadas separadamente y su correcta ubicación exigen una pléyade de caperonas moleculares: calnexina, calreticulina, p57 retículo-endoplásmica. Construida la proteína HLA-clase I, la denominada proteína acopladora de TAP o tapasina asegura el engarce correcto del



**Figura 14.** El primer paso en la vía de procesamiento peptídico, que conduce a la presentación de antígenos a las células T CD8+ restringidas a las moléculas MHC clase I, es la degradación de antígenos proteicos citosólicos por proteosomas. El proteosoma es un macrocomplejo proteico que incluye dos subunidades, LMP2 y LMP7, codificadas por genes ubicados en el locus MHC. Los péptidos resultantes viajan a través del retículo endoplásmico (RE) vehiculados por el transportador peptídico TAP. Los péptidos son entonces incorporados, de la mano de la proteína tapasina, a moléculas MHC de clase I siendo transportadas hasta la superficie celular para ser reconocidos por células T CD8+. El ensamblaje de las moléculas MHC de clase II se inicia en el RE, mediante la asociación de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de dichas moléculas con la denominada cadena invariante, que ocupará en surco de acoplamiento del péptido al heterodímero  $\alpha\beta$  para bloquear un acoplamiento prematuro de péptidos. La cadena invariante también funciona como transportador de la molécula MHC clase II hasta el compartimiento endosómico terminal o compartimiento MHC clase II (MIIC). Una vez en el MIIC, la cadena invariante es degradada secuencialmente por proteasas y hasta que un pequeño péptido terminal se mantiene asociado con la molécula MHC. Este péptido será finalmente desplazado por el factor de intercambio peptídico H2-DM. Ello permite al péptido antigénico, generado por proteólisis endolisosómica de proteínas endocitadas, acoplarse al surco de presentación de la molécula MHC clase II. Adaptada de: Luc Van Kaer, Mechanisms of antigen processing and T cell repertoire selection, Figure 1. En - visitado: febr. 2007: [www.mc.vanderbilt.edu/microbio/vankaer/research.html](http://www.mc.vanderbilt.edu/microbio/vankaer/research.html).

péptido a la molécula. Conseguida la correcta disposición del péptido sobre la región presentadora de la molécula HLA-clase I, ésta suelta amarras de la membrana interior del retículo endoplásmico para lo que se desliga de TAP, y emprende un viaje, vía aparato de

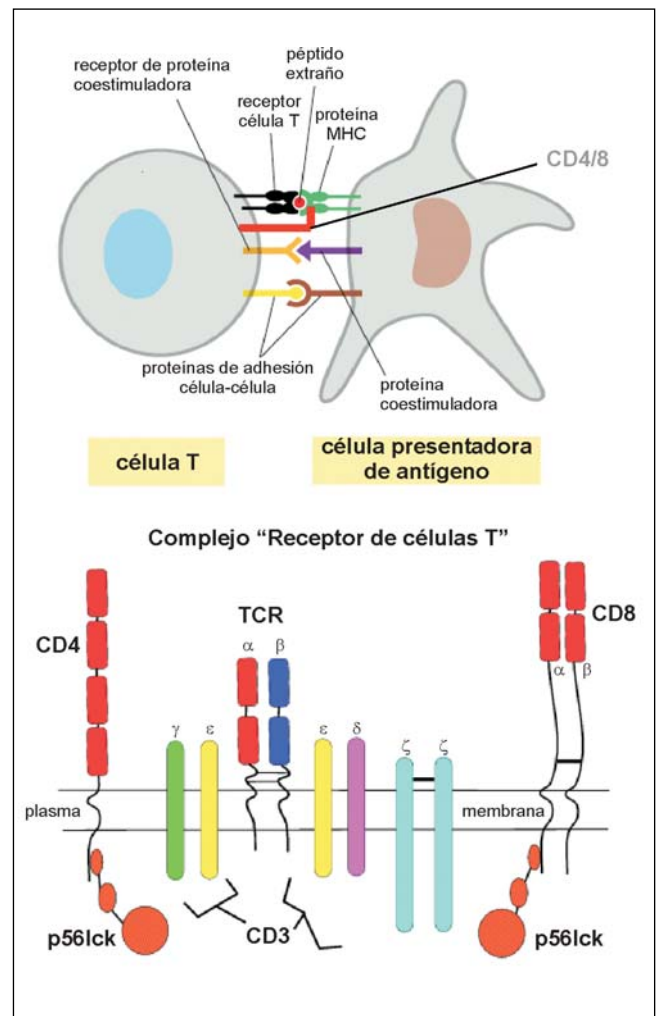


Golgi, hacia la superficie de la célula, donde ha de presentar el péptido que transporta.

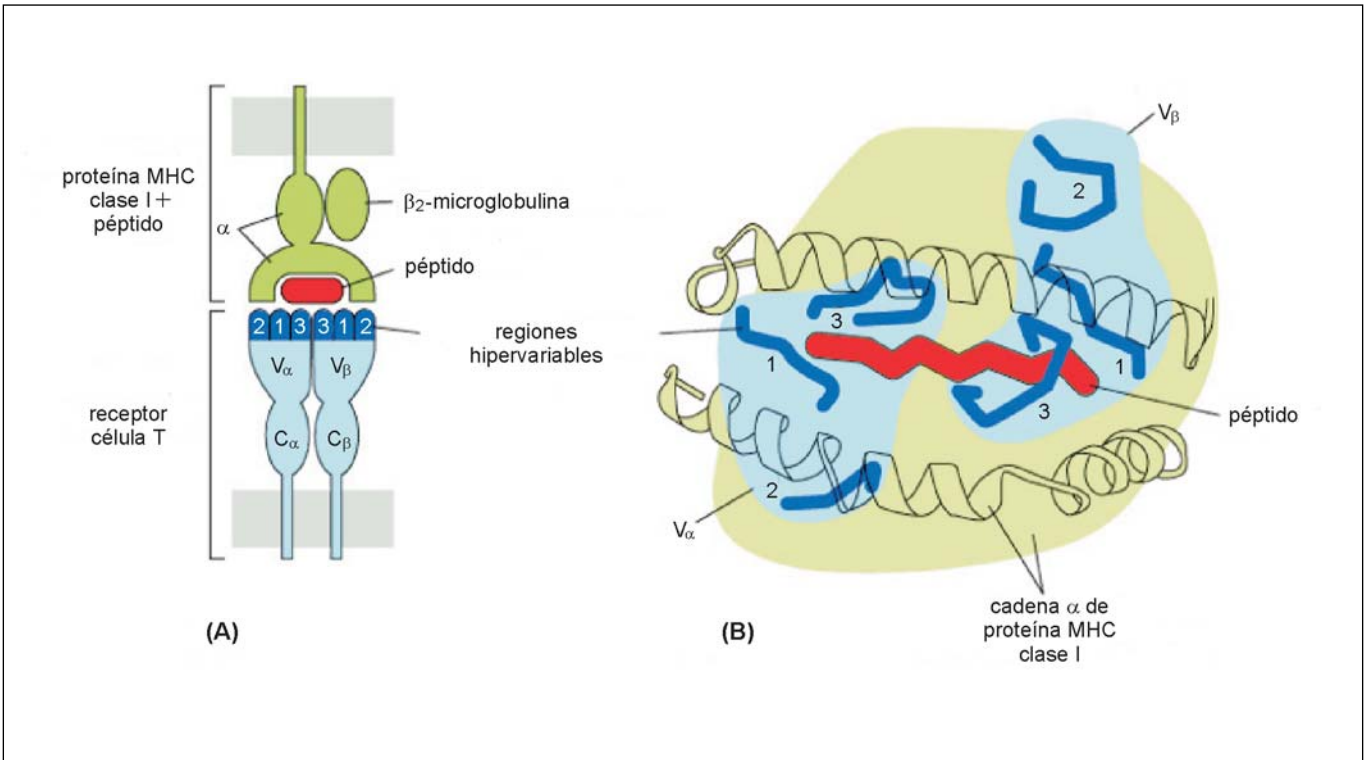
Por su parte, proteínas propias o ajenas son captadas por endocitosis o fagocitosis y secuestradas en endosomas. Las moléculas HLA-clase II, formadas en el retículo endoplásmico son transportadas, vía del aparato de Golgi, en lisosomas primarios que, fundiéndose con endosomas, formarán el denominado compartimiento MHC-clase II. En él, enzimas proteolíticas vertidas por el lisosoma degradarán las proteínas engullidas en fragmentos peptídicos. Por otro lado, moléculas HLA-DM, producidas también en el retículo endoplásmico, son igualmente vehiculadas mediante vesículas de transporte al compartimiento MHC-clase II, y donde son responsables de acoplar correctamente el correspondiente fragmento peptídico en el surco antigénico de la molécula HLA-clase II. El complejo HLA-péptido será exportado a la superficie celular (**fig. 14**).

La región o surco de presentación del péptido en una molécula HLA consta de dos partes, un suelo y dos paredes. En el suelo, la cadena  $\alpha$  de la molécula HLA clase I o las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de las moléculas de clase II forman meandros para conformar el suelo en una estructura del tipo de lámina plegada  $\beta$ . En cada una de las dos paredes la cadena se enrolla en una estructura  $\alpha$  hélice. En el surco de las moléculas HLA de clase I, los extremos de las  $\alpha$  hélices de los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  convergen estrechando el surco, mientras que en las moléculas HLA clase II el surco muestra sus extremos abiertos; en consecuencia, el surco cerrado de las moléculas de clase I acomoda péptidos más cortos que el surco abierto de las de clase II. La orientación del acoplamiento es fija: los dominios N-terminales siempre se ubican en el mismo extremo del surco, que viene definido por la orientación de las cadenas polipeptídicas de la molécula HLA, y la región C-terminal en el opuesto. Acoplado el péptido al surco de presentación en la molécula HLA, unas cadenas laterales de los aminoácidos sobresaldrán hacia el exterior del surco mientras que otras se orientarán hacia el suelo del surco, donde serán alojadas en pequeñas cavidades o receptáculos especializados. Típicamente, una molécula HLA clase I tiene seis de tales receptáculos distribuidos a todo lo largo del surco; dos de ellos —puntos de anclaje— tienen especial importancia para determinar que péptido será el presentado (**fig. 15**).

El producto de un alelo particular es capaz de presentar a cualquiera de un gran número de péptidos, generalmente miles de ellos. Los péptidos difieren en sus secuencias, pero comparten dos o tres restos aminoacídicos, lo que se denomina un motivo, que encajan perfectamente (restos de anclaje) en los receptáculos de anclaje. Los péptidos que se anclan a los diferentes productos alélicos HLA se distinguen por sus motivos. La interacción de péptidos con moléculas de la clase II se gobierna por principios similares.



**Figura 15.** La presentación del antígeno por la molécula MHC y su reconocimiento por el TCR, involucra un número considerable de moléculas: 1) los actores centrales MHC-TCR; 2) las moléculas de reconocimiento de las moléculas MHC de clase I (CD8) o de clase II (CD4); 3) moléculas coestimuladoras, 4) moléculas de adhesión celular. Por su parte, la molécula heterodimérica TCR necesita, para su transporte hasta el lugar correcto en la membrana de la célula T y su estabilidad, de una serie de pares de moléculas accesorias:  $\gamma\epsilon$ ,  $\delta\epsilon$  y  $\zeta\zeta$  (Adaptada de: Bruce Albers et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, NY; 2002. Figure 24-44, pág. 1394).



**Figura 16.** Interacción de un TCR con un péptido acoplado a una molécula MHC clase I. (A) Esquema de las regiones hipervariables  $V\alpha$  y  $V\beta$  del TCR que interactúan con el péptido acoplado al surco formado por las regiones  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  de la molécula MHC. (B) Sistema de reconocimiento del péptido por el TCR. Cada dominio hipervariable ( $V\alpha$  y  $V\beta$ ) de cada una de las cadenas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) del TCR cubren cada una de las mitades del péptido (extremos NH y COOH, respectivamente). Debe notarse que el TCR se orienta diagonalmente sobre el surco de presentación (Adaptada de: Bruce Albers *et al.*, *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, NY; 2002. Figure 24-54, pág. 1402).

El complejo surco-péptido es la estructura observada por el TCR. La posición del receptor es diagonal respecto al eje del complejo, con los dominios CDR1 y CDR2 de la cadena  $\alpha$  del TCR proyectados sobre la mitad N-terminal del péptido, y las regiones CDR1 y CDR2 de la cadena  $\beta$  del TCR proyectadas sobre la parte C-terminal del péptido. Los dominios centrales —CDR3— de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del TCR tocan las protusiones del péptido. Los dominios menos variables, CDR1 y CDR2, interactúan primariamente con los aminoácidos relativamente conservados de las  $\alpha$  hélices que forman las paredes del surco, mientras que los dominios más variables, CDR3, exploran la parte más variable del péptido. Así, los contactos relativamente conservados de los dominios CDR1 y CDR2 con las regiones también más conservadas de la molécula HLA, establecen la orientación y la configuración de la interacción, mientras que los contactos hipervariables de las regiones CDR3 con el péptido determinan la especificidad de la interacción.

El procesamiento de proteínas y la carga de péptidos en las moléculas HLA-clase I tienen lugar en todo momento en la mayor parte de las células. Siempre hay abundante material cebando la maquinaria proteosómica; ello por el desgaste, lesión o desplegamiento de las proteínas domésticas, que son continuamente degradadas e inmediatamente recambiadas. Por el contrario, el procesamiento de las proteínas extrañas que abastecen a las moléculas HLA-clase II está normalmente restringido a las células B, macrófagos y células dendríticas, que son muy eficaces engullendo material por endocitosis o por fago-citosis. La consecuencia del procesamiento proteico es que las superficies celulares llegan a estar adornadas con una impresionante cantidad de complejos péptido-molécula HLA: 100,000 a 300,000 productos de las clases I y II de cada uno de los loci HLA predominantes. Dado que cada molécula HLA presenta un péptido, cada célula no infectada expone cientos o miles de autopéptidos sobre su superficie. La mayoría de las especies peptídicas disponen de más o

menos cien copias sobre la superficie de cada célula, que expone una colección heterogénea de péptidos. Si, en metáfora, las moléculas de HLA representan los vendedores y los péptidos las mercancías, quienes son los compradores: las células T.

**El complejo receptor de las células T.** Los progenitores de los linfocitos que entran en el timo están programados para morir a menos que reciban señales que les instruyan para madurar; un programa que se desarrolla durante su viaje a través de las diferentes estructuras de la glándula: corteza, unión corticomédular y médula. Tales señales emanan de interacciones que involucran al componente epitelial del timo, y a varios tipos de moléculas, de las que dos de ellas son críticas: el receptor de las células T (TCR: *T-cell receptor*) y los correceptores CD4 y CD8. Los ligandos para ambas son los complejos HLA-péptido, pero mientras que TCR se engarza al péptido y al canal de presentación de la molécula HLA, los correceptores interactúan con el entorno del canal de presentación.

Los timocitos puberales expresan moléculas CD4 y CD8 —son CD4+CD8+—, pero la relación de esas células con moléculas HLA hace que aquellas escondan o enseñen una u otra, con lo que los timocitos maduros serán del tipo CD4+CD8- o del tipo CD4-CD8+. Que finalmente se exprese una u otra molécula está determinado por el tipo de TCR. Algunos TCRs prefieren interactuar con moléculas HLA-clase I y otros con moléculas HLA-clase II.

La molécula TCR está formada por dos cadenas polipeptídicas centrales — $\alpha$  y  $\beta$  o  $\gamma$  y  $\delta$ —, y un complejo accesorio, CD3 (**fig. 16**). Cada una de las cadenas principales tiene un dominio variable (V) y otro constante. En el dominio V el mayor grado de variabilidad aminoacídica se concentra en tres segmentos: CDR1, CDR2 y CDR3. Los nombres de estas regiones se refieren al hecho de que, en la representación tridimensional de la molécula, forman asas o cúspides que se proyectan como los nudillos de un puño para fijar al complejo HLA-péptido sobre la base de una complementariedad espacial. La capacidad del TCR para discriminar entre moléculas HLA de las clases I o II es tan refinada, que el reemplazamiento de un único aminoácido en una posición crítica en la región V $\alpha$  del receptor puede cambiar su especificidad de una clase HLA a otra.

El TCR se asocia no covalentemente a una serie de proteínas que constituyen el marcador de células T conocido como CD3, y que está involucrado en la transducción de la señal al interior del linfocito T. El CD3 es un complejo de cinco tipos de cadenas polipeptídicas invariantes, que se asocian de dos en dos, formando tres clases de dímeros:  $\gamma\epsilon$ ,  $\delta\epsilon$  y  $\zeta\zeta$  (a veces sustituido por el heterodímero  $\zeta\eta$  o por el homodímero  $\eta\eta$ ). Por tanto, el complejo TCR-CD3 puede considerarse formado por cuatro tipos de dímeros, el heterodímero TCR clonotípico ( $\alpha\beta$  o  $\gamma\delta$ ) que es el que reconoce el péptido presentado por la molécula MHC, y los tres tipos de dímeros invariantes del CD3 que se requieren para la expresión adecuada del TCR (se necesitan para que TCR llegue y se ubique en la membrana celular), para estabilizar al TCR y para la transducción intracelular de la señal que supone la unión TCR-péptido-MHC. Las cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$  del CD3 pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Todos los péptidos CD3 tienen en común un mismo tipo de secuencia en sus colas citoplasmáticas, que se denomina motivo ARAM (motivo de activación para el reconocimiento del antígeno).

Los timocitos cuyo TCR capta un complejo HLA clase I-péptido también utilizan el correceptor CD8 para estabilizar la interacción, mientras que esconden las moléculas CD4. La situación contraria sucede cuando TCR fija un complejo HLA clase II-péptido: la célula T se convierte en CD4+. La restricción de las células T maduras para expresar moléculas CD4 o CD8, pero nunca las dos, va de la mano del desarrollo de un programa específico que, finalmente, determinará la función de la célula. Generalmente, los linfocitos CD4+ serán células T asistentes (T<sub>H</sub>: *helper T cell*), que reciben señales de células B y de macrófagos, mientras que los linfocitos CD8+ se diferenciarán en células T citotóxicas capaces de eliminar células diana identificadas por la interacción de TCR y el complejo HLA clase I-péptido. Una vez que unos pocos cientos de los más de 10,000 receptores expuestos por una única célula T hayan captado un ligando, la célula T se activará para diferenciarse en una célula T citotóxica CD8+ si el ligando es una molécula clase I, o, si el ligando fue de la clase II, en una célula T asistente CD4+ que secretará diferentes citoquinas.

Las células T se seleccionan en el timo para reconocer moléculas HLA propias, pero cuando se



confrontan artificialmente —trasplante de órganos o de tejidos— con moléculas HLA alogénicas, los linfocitos T no sólo se activan sino que responden estrepitosamente: responden en un gran número, se expanden clonalmente y montan un ataque formidable que culmina con la destrucción del injerto. Los TCRs de los linfocitos del receptor reconocen tanto las alomoléculas HLA del donante sobre las células presentadoras de antígenos (APC: *antigen-presenting cell*), que han accedido al organismo receptor con el injerto —un proceso conocido como presentación directa—, como moléculas HLA del donante sobre las células presentadoras de antígenos del receptor, en un proceso conocido como presentación indirecta. En el primer caso, la mayoría de las células T también reconocen el péptido anclado a la molécula HLA alogénica. En la presentación indirecta, los péptidos son generados por la degradación de las alomoléculas HLA liberadas por el injerto.

Peter Bretscher y Melvin Cohn señalaron, en 1970, que la activación de una célula T por un antígeno requería no sólo la señal inducida por el propio antígeno presentado por una molécula HLA —señal 1—, sino otra señal accesoria —señal 2— inducida por moléculas menos específicas. Sugirieron que si el linfocito recibía exclusivamente la señal antigénica específica, no sólo no respondería sino que entraría en un estado de inactividad denominado anergia. La señal 1 depende de la interacción entre el complejo formado por la molécula HLA y el péptido por ella presentado, por parte de la célula presentadora de antígeno, y, por parte de la célula T, el complejo TCR, formado por el propio receptor y las moléculas coprincipales CD3 y CD4 o CD8. La señal secundaria depende de moléculas denominadas coestimulantes o reguladoras. Las moléculas integrantes de este sistema se ubican en el entorno de los complejos principales sobre las APCs y sobre las células T. Las principales moléculas coestimuladoras de las APCs son miembros de la familia de proteínas B7, principalmente B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86); por su parte, las células T disponen de los ligandos correspondientes: CD28 y CD152 o CTLA4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*), respectivamente. El sistema B7-CD28 regula las células T, principalmente, durante su encuentro inicial con el antígeno, mientras que otras moléculas —PD-1 (*programmed death 1*) e ICOS (*inducible costimulator*)— regulan células T experimentadas cuando interac-

cionan con sus ligandos presentes en APCs (PDL-1: *PD-1 ligand* e ICOS-L: *ICOS ligand*). CD28 y CTLA4 tienen estructuras similares pero funciones opuestas: CD28 activa a las células T y CTLA4 las inhibe.

Los acontecimientos de activación que siguen a la presentación de un péptido inmunogénico por una APC pueden esquematizarse: 1) expresión de B7, 2) presentación del péptido al TCR, 3) interacción B7-CD28 y 4) activación de la célula T que produce y libera IL-2 que provoca la expansión clonal del linfocito. La autolimitación de la activación es controlada por CTLA4, que compete con CD28 para B7.

**El fenómeno de inmunotolerancia.** Medawar reconoció las formidables barreras para conseguir inmunotolerancia en animales post-fetales: «Los resultados obtenidos en fetos murinos proporcionan una solución —en la actualidad sólo una solución de “laboratorio”— del problema de cómo hacer que homoinjertos tisulares sean inmuoaceptados aceptados por un receptor que, normalmente, los rechaza». Cincuenta años después de los experimentos de Medawar ha sido posible trasplantar, con éxito, corazones entre recién nacidos con incompatibilidad de los grupos sanguíneos ABO y, además, observar la inducción de tolerancia de las células B a esos antígenos trasplantados.

A, B y O son carbohidratos antigénicos que se expresan sobre la superficie de los eritrocitos y, también, en la de otros tipos celulares como en endotelio vascular. Las consecuencias del trasplante que viola la barrera ABO, en el adulto, son fulminantes: anticuerpos IgM preformados, dirigidos contra los antígenos ABO, se adhieren al endotelio vascular del injerto y causan un rechazo hiperagudo mediado por el sistema del complemento sérico. Un proceso irreversible que ocurre minutos o unas pocas horas tras el trasplante. Sin embargo, se conoce que títulos significativos de anticuerpos contra los antígenos ABO no se desarrollan hasta casi completar el primer año de vida; a partir de ahí, un grupo de cirujanos (Xiaohu Fan *et al.*) realizó trasplantes ABO-incompatibles en más de una decena de niños recién nacidos con enfermedades cardíacas congénitas incompatibles con su supervivencia. En caso alguno hubo rechazo hiperagudo y, más sorprendente, los niños no desarrollaron anticuerpos específicos contra el tipo ABO del órgano trasplantado pero si lo hicieron frente a los otros grupos sanguíneos: por ejemplo, receptores con grupo

O que recibieron corazones B+, no desarrollaron anticuerpos contra B, pero sí contra A (**fig. 11**).

La respuesta de anticuerpos a carbohidratos antigénicos, como los antígenos ABO, es independiente de células T; ello representa una situación completamente diferente a la de la respuesta a los antígenos leucocíticos humanos (HLA), principal diana del rechazo de injertos, que depende de la participación de células T. Se desconoce si la ausencia de respuesta de las células B, independiente de células T, es extensiva a la inmunorreactividad dependiente de éstas últimas células. Debe recordarse que mientras las células B no alcanzan la madurez hasta finales del primer año de vida, el compartimiento T alcanza la madurez en el periodo neonatal. En resumen, el éxito de la inducción de tolerancia a los antígenos ABO en niños, durante el primer año de vida, se debe a la inmadurez del compartimiento B responsable de generar anticuerpos contra los antígenos ABO. Esta explicación satisface el modelo estándar que proclama la tolerancia de los sistemas inmunológicos inmaduros, mientras que los maduros no son amigables. En cambio, el modelo no puede explicar una importante paradoja: los recién nacidos están expuestos a los antígenos ABO inmediatamente después de nacer; ello, porque tales antígenos no son exclusivos de las células humanas sino que se expresan de manera natural por las bacterias comensales de nuestro intestino. Porqué los niños no llegan a ser tolerantes a tales antígenos; es más, durante el segundo año de vida ya se han generado títulos significativos de anticuerpos contra los antígenos ABO. Ello es también la explicación del rechazo hiperagudo contra xenoinjertos; ello, porque las células de otras especies animales no concordantes expresan, sobre la superficie de sus membranas plasmáticas, antígenos de naturaleza hidrocarbonada similares. De todo ello se desprende que además de la «inmadurez» del sistema inmunológico deben existir otros parámetros que gobiernen la situación inmunológica en la infancia. Una explicación plausible es que los acontecimientos que siguen a la exposición de un antígeno dependen de la dosis, de su persistencia y de su localización: la abundancia de la dosis antigénica y la persistencia antigénica son condiciones bien establecidas en el condicionamiento de tolerancia.

En principio, la única tolerancia clínicamente comprobada fue la «obligada» entre hermanos gemelos

monocigóticos. El día 28 de enero de 1956, J.P. Merrill, J.E. Murray y H. Harrinson publicaban «Éxito en el homotrasplante renal humano entre hermanos gemelos idénticos». Tras comprobar mediante trasplantes de piel la identidad genética entre los hermanos, el día 23 de diciembre de 1954 se procedió al trasplante heterotópico del riñón izquierdo del hermano sano al que padecía un fracaso renal terminal. El resumen de la publicación dice: «Se ha realizado un homotrasplante de un riñón sano de un gemelo idéntico al otro. El homoinjerto lleva funcionando doce meses, y la función renal es aparentemente normal a pesar de que los dos riñones enfermos del receptor fueron posteriormente extirpados. Han desaparecido las secuelas de la hipertensión maligna. El trasplante de tejidos incluido el de un riñón sano parece ser un procedimiento factible en clínica entre gemelos idénticos, pero hasta la fecha el éxito de un funcionamiento permanente del homoinjerto parece limitarse a esta clase de individuos»

Cuatro años después de aquél «primer histórico», hubo dos casos de trasplante renal que iniciaron un largo replanteamiento de las bases de la tolerancia. John P. Merrill, Joseph E. Murray *et al.* en Boston y Jean Hamburger *et al.* en París realizaron, en enero y en junio de 1959, respectivamente, sendos trasplantes entre hermanos mellizos no idénticos genéticamente. Los receptores habían sido condicionados con dosis subletales de irradiación corporal total, sin infusión leucocítica. Los injertos renales funcionaron durante 20 y 26 años sin inmunosupresión postoperatoria alguna. El resultado fue inesperado, máxime cuando en los animales de experimentación ningún aloinjerto renal consiguió sobrevivir más allá de 73 días, independientemente del tratamiento inmunosupresor instaurado, o más de cien días en receptores tratados exclusivamente con irradiación corporal total. Desde entonces fueron frecuentes las publicaciones de trasplantados renales que, una vez revertida la fase de rechazo agudo, sobrevivían sin tratamiento inmunosupresor alguno entre 4 y 40 años. En 1966 se demostró que la aceptación de aloinjertos hepáticos en el cerdo ocurría sin tratamiento alguno en, aproximadamente, el 20 % de los animales. Y en clínica, receptores de aloinjertos hepáticos pueden ser vistos en consulta durante años, pero sólo ocasionalmente, con motivo de tratar repetidos pero tolerables episodios de rechazo. Se hizo evidente que, a efectos

de la supervivencia del injerto a largo plazo y a excepción de una compatibilidad HLA perfecta o casi perfecta entre donante y receptor, los avances clínicos dependerían más del desarrollo de fármacos inmunosupresores más potentes que de buscar estrechas similitudes antigénicas entre aquellos.

En relación con la explicación del fenómeno de tolerancia, Thomas E. Starzl *et al.* señalaron, en 1992, la posibilidad de que un quimerismo leucocítico del donante estuviera involucrado en la aceptación del injerto. La primera sospecha data de 1968, cuando estudios de cariotipaje de hígados procedentes de cadáveres de hombres trasplantados a mujeres, demostraron, a los cien días de la intervención, que mientras los hepatocitos mostraban cariotipos masculinos, las células derivadas de precursores hematopoyéticos, incluidas las células de Kupffer, presentaban cariotipos femeninos. El estudio de 1992 fue decisivo: técnicas de citotinción y de PCR (reacción en cadena de polimerasa) demostraron en treinta pacientes a los que se había realizado un alotrasplante renal o hepático, entre 3 y 29 años antes y que no habían requerido medicación inmunosupresora persistente, presentaban, en diferentes localizaciones de sus cuerpos, leucocitos del donante: microquimerismo. Se utilizaron como marcadores los cromosomas X e Y cuando donante y receptor fueron de distinto sexo, o los antígenos HLA específicos del donante. El estudio también demostró que precursores hematopoyéticos y células troncales son parte de la población de leucocitos pasajeros del injerto. Los autores propusieron que «la respuesta atenuada al antígeno o incluso su ausencia o tolerancia, está gobernada por la migración y la localización del antígeno. Desde este punto de vista de la regulación inmunológica, solo se necesitan dos mecanismos para explicar la alotolerancia. El primero es el agotamiento o supresión clonal inducida por la migración, intermitente y persistente del antígeno —los leucocitos del donante— a los órganos linfoides del receptor. El segundo mecanismo es la ignorancia del antígeno, que no es reconocido si se encuentra fuera del sistema inmunológico, en localizaciones privilegiadas no linfoides. Los leucocitos del donante pueden migrar retrógradamente desde los lugares protegidos a los órganos inmunocompetentes del receptor y mantener el agotamiento-supresión en la periferia. El éxito del trasplante implica ambos mecanismos. La variabilidad de los resultados en la tole-

rancia al trasplante son análogos a los diferentes destinos que suceden tras una infección como la hepatitis».

Aunque son mayoría los autores que plantean que el microquimerismo provocado por la emigración de los leucocitos pasajeros del injerto al receptor es causa y no efecto de la inmunotolerancia, existe un interés generalizado para inducir un estado robusto, farmacoindependiente y permanente de tolerancia inmunológica que podría solucionar los problemas que inciden en el campo del alotrasplante, sobre todo cuando la escasez de alodones a renovado el interés por la utilización de xenodones. La formidable barrera inmunológica que representa el xenotrasplante exigiría unos niveles inaceptablemente elevados de inmunosupresión inespecífica. Por ello, las estrategias para inducir tolerancia al trasplante tienen el potencial de mejorar las perspectivas de los alo-receptores y de abrir las puertas a una nueva era del trasplante basada en xenoinjertos.

En principio, cualquier estrategia tolerogénica debe cumplir dos objetivos: eliminar o inactivar todas las células T maduras preexistentes reactivas frente al donante (inducción de tolerancia), y eliminar o inactivar de por vida cualquier nueva célula T reactiva frente al donante (mantenimiento de la tolerancia). La inducción de tolerancia clínica es, hoy, sólo una esperanza. Sobre la base de la demostración de que células hematopoyéticas inducen tolerancia en animales inmunológicamente inmaduros, el reto es conseguir una situación similar en el adulto mediante el «acondicionamiento» del receptor. El trasplante de médula ósea en receptores convenientemente condicionados —irradiación corporal total + irradiación tímica + globulina antilinfocítica— puede conducir a dos tipos de macroquimerismo: quimerismo completo, en el que la totalidad del sistema hematopoyético del receptor es destruido y reemplazado por células donadas, con lo que se consigue una reconstitución hematopoyética prácticamente total; y quimerismo mixto, en el que la población hematopoyética del donante y del receptor coexisten en éste último. El quimerismo mixto tiene las ventajas de una mayor inmunocompetencia y de reducir la susceptibilidad a la GVHD. Conseguida la inducción, los protocolos, hoy experimentales, utilizan bloqueo de las señales coestimuladoras en la interacción MCH-TCR; ello para



silenciar a las nuevas células inmunocompetentes derivadas de progenitores encriptados que sobrevivieron a la inducción.

## LAS BASES FARMACOLÓGICAS DEL TRASPLANTE

Del trabajo de Medawar y desde un punto de vista eminentemente clínico surgió, de inmediato, una propuesta: si en el rechazo del injerto está involucrada una reacción inmunológica, deben intentarse maniobras que la supriman. La utilización de colorantes vitales, las hormonas esteroídicas y la irradiación corporal total fueron las más valoradas. Uno de los métodos mejor conocidos, pero comparativamente menos utilizado para disminuir el rechazo de injertos tumorales, era el empleo de colorantes vitales. R. J. Ludford, en los primeros años de la década de 1930, había inyectado azul tripán y rojo vital y también coloides inorgánicos, antes de proceder al implante de un tumor alogénico en el ratón. La teoría indicaba que los colorantes y coloides saturaban el sistema reticuloendotelial que se creía responsable de la reacción de rechazo del injerto. Tales intentos fracasaron. W. J. Dempster *et al.* publicaron, en 1950, sus resultados sobre prolongación de la supervivencia de injertos cutáneos mediante la irradiación —rayos X— corporal total del receptor. Estos investigadores se basaron en trabajos previos, algunos publicados en el año 1915, que demostraban que tal estrategia suprimía la producción de anticuerpos contra bacterias. Dosis de 250 r, aplicadas a conejos inmediatamente antes del injerto, prolongaban significativamente la supervivencia de aloinjertos de piel. Inmediatamente después, y sobre la base de que la cortisona amortigua la respuesta inflamatoria, inhibe todos los elementos del tejido de granulación retardando, con ello, la cicatrización de las heridas, disminuye la concentración de anticuerpos circulantes y modifica las reacciones de sensibilidad, se utilizaron como inmunosupresores aunque con resultados inciertos. En 1952 se demostró que la irradiación X y la cortisona parecían ser sinérgicas respecto a sus efectos inmunodepresores, condicionando en el receptor un estado tolerogénico significativo en el animal de laboratorio; ello mejoraba la aceptación del injerto, pero provocaba en el receptor una situación de desventaja frente a otras agresiones, fundamentalmente infecciones, que concluía, las más

de las veces, en la muerte de aquel. En 1955, Joan M. Main y Richmond T. Prehn publicaban «Éxito de los homoinjertos de piel tras la administración de dosis elevadas de radiación X y de médula ósea homóloga» en el ratón.

Mientras tanto, en la clínica, las experiencias del grupo de David M. Hume en el Hospital Peter Bent Brigham, en Boston, respecto al homotrasplante renal no eran muy halagüeñas. En 1955 publicó el resultado de nueve casos; cuatro de ellos se mantuvieron funcionando entre 37 y 180 días. En el resumen y conclusiones del trabajo puede leerse: «... 11. Los corticoides no parece que ejerzan efecto beneficioso alguno sobre la supervivencia del trasplante renal en humanos. 12. De acuerdo con el estado actual de nuestro conocimiento, los homotrasplantes renales no parece que estén justificados en el tratamiento de la enfermedad humana. 13. Estamos convencidos de que esta experiencia sirve para indicar ciertas diferencias importantes entre las especies animales respecto a la respuesta al homoinjerto renal». Sin embargo, se siguieron intentado alotrasplantes preconditionando al receptor mediante irradiación corporal total, sola o combinada con prednisona (**tablas I y II**).

Relata Roy Calne que, en 1958, asistió a una conferencia dictada por el Profesor Peter Medawar sobre tolerancia inmunológica: «Su presentación magistral, con sus fotografías de pollos blancos con alas negras y de ratones negros con injertos de piel blanca, tenían a atónito al auditorio. Cuando terminó, un estudiante le preguntó si preveía alguna aplicación clínica de su trabajo. “Absolutamente ninguna”, replicó». Aquel mismo año cambiaron las tornas. Robert Schwartz, trabajando con William Dameshek, en Boston, investigaron el efecto de la 6-mercaptopurina (6-MP) sobre la respuesta inmunológica; ello, sobre la base de que los linfocitos inmunoblásticos formados durante la respuesta inmunológica semejan linfocitos leucémicos. Schwartz demostró que cuando se administra 6-MP a conejos durante varios días y comenzado la administración en el momento de la inyección de un antígeno extraño, los animales son incapaces de desarrollar una respuesta de anticuerpos contra el antígeno. Estudió la influencia de la dosis y de la cinética, y demostró que la 6-MP es más eficaz cuando el tratamiento se inicia a la vez que la administración del antígeno. También demostró que los animales se

TABLE I  
En el laboratorio: 1940s-1959

- Técnica quirúrgica  
- (A Carrel, 1902-08)
- El rechazo de injertos es una reacción inmunológica dependiente de las células  
- (PB Medawar, 1944).
- Inmunotolerancia fetal  
- (RD Owen, 1945).
- Inmunotolerancia adquirida neonatal  
- (RE Billingham et al, 1953).
- Inmunotolerancia adquirida adulta  
- (JM Main et al, 1955).
- Enfermedad "injerto contra huesped (GVHD)"  
- (RE Billingham et al, 1957).
- Determinantes antigénicos específicos (MHC/HLA) dictan el porvenir del injerto  
- (PA Gorer, 1937; J Dausset, 1958)
- Inmunosupresión no mielotóxica farmacológica  
- (RA Schwartz & WP Damescheck, 1959).

hacían tolerantes a un antígeno particular mientras que mantenían la capacidad de reaccionar frente a otros antígenos: «Injertos de tejidos y de órganos intercambiados entre individuos genéticamente diferentes serán finalmente destruidos por el receptor. Se acepta que la destrucción del tejido extraño (reacción al homoinjerto) se lleva a cabo por anticuerpos producidos por el receptor en respuesta a los antígenos presentes en el injerto. Si la formación de esos anticuerpos pudiera prevenirse, el injerto sobreviviría durante un largo periodo de tiempo. Tal efecto se ha conseguido tras la exposición de animales de experimentación o del hombre a altas dosis de irradiación corporal total con rayos X. Recientemente se ha encontrado que un antimetabolito, la 6-MP, tiene efectos definidos sobre la producción de anticuerpos. Este análogo de adenina bloquea la formación de anticuerpos en conejos inyectados repetidamente con albúmina sérica bovina. La 6-MP induce un estado semejante a la inmunotolerancia provocado por un efecto químico directo sobre los tejidos productores de anticuerpos. Ello sugirió que la 6-MP retrasa o previene el rechazo del homoinjerto... El antimetabolito 6-MP no es la solución definitiva al problema de la reacción al homoinjerto. Su toxicidad

en el humano y sus efectos limitados en el conejo cuestionan su aplicación inmediata a la problemática del trasplante de tejidos entre humanos. Sin embargo, ofrece un camino para posteriores estudios, sobre todo porque los efectos de este agente químico son estrechamente comparables con los obtenidos mediante irradiación corporal total».

El trabajo de Schwartz estimuló la búsqueda de nuevos agentes y de combinaciones sinérgicas de fármacos, y mostró que la inmunosupresión era mayor a dosis elevadas de antígeno y del fármaco. Roy Calne, entonces un joven cirujano británico, estudió, en 1960, el efecto de la 6-MP sobre el rechazo de injertos renales en el perro. Obtuvo una supervivencia de 44 días de un alotrasplante renal aleatorio en perro, mediante una dosis diaria del fármaco; una supervivencia considerablemente mayor que la de 9-10 días de los trasplantes controles. La experiencia tuvo su réplica en EE. UU., aquel mismo año, de la mano de Charles Zukoski y David Hume. Cuando Calne consultó con Gertrude B. Elion y George H. Hitchings sobre compuestos relacionados con la 6-MP que pudiera investigar en trasplante, le sugirieron que la azatioprina, un derivado de aquella, podía tener ventajas; un compuesto que fue ensayado en perros por Calne y por Murray. El primer éxito clínico de un alotrasplante renal entre donante y receptor no relacionados fue publicado por Murray, Merrill *et al.*, en el año 1962, con un protocolo de inmunosupresión a base de azatioprina y prednisona (los corticoides se habían utilizado para tratar el rechazo agudo). La tasa de supervivencia de los pacientes trasplantados con un riñón procedente de cadáver alcanzó el 60% al año de la cirugía. Por fin había llegado a la clínica una alternativa real a la diálisis para el tratamiento del fracaso renal terminal. La llamada era de la azatioprina perduró hasta los primeros años de la década de 1980 y catapultó los esfuerzos iniciales de los trasplantes de hígado, de corazón y de páncreas (tabla III).

En la búsqueda de nuevos fármacos primaron tres criterios esenciales de seguridad clínica: especificidad para los inmunocitos, débil efecto frente a las respuestas de memoria y mínimos efectos colaterales. El primer fármaco de la nueva generación se hizo esperar hasta 1979: ciclosporina A. Esta molécula fue el resultado del rastreo de antibióticos antifúngicos, aunque llamó rápidamente la atención de los investi-

TABLA II  
En la clínica: 1940s-1959

año	lugar	cirujano	órgano	procedencia	función
1936	Kiev	Voronoy	riñón	cadáver	0
1947	Boston	D Hume	riñón*	cadáver	3 d.
1951	Paris	R Küss C Dubost	riñón (6)	cadáver (guillotina)	<1 s.
1951-2	Boston	D Hume	riñón (9)#	cadáver	<5 m.
1953	Paris	J Hambuerger	riñón	vivo	3 s.
1954 23 dic.	Boston	E Murray JH Harrison	riñón	vivo (gemelo)	25 a.

\* fosa antecubital. Retirado tras funcionar 48 h.

# algún paciente de la serie recibió cortisona

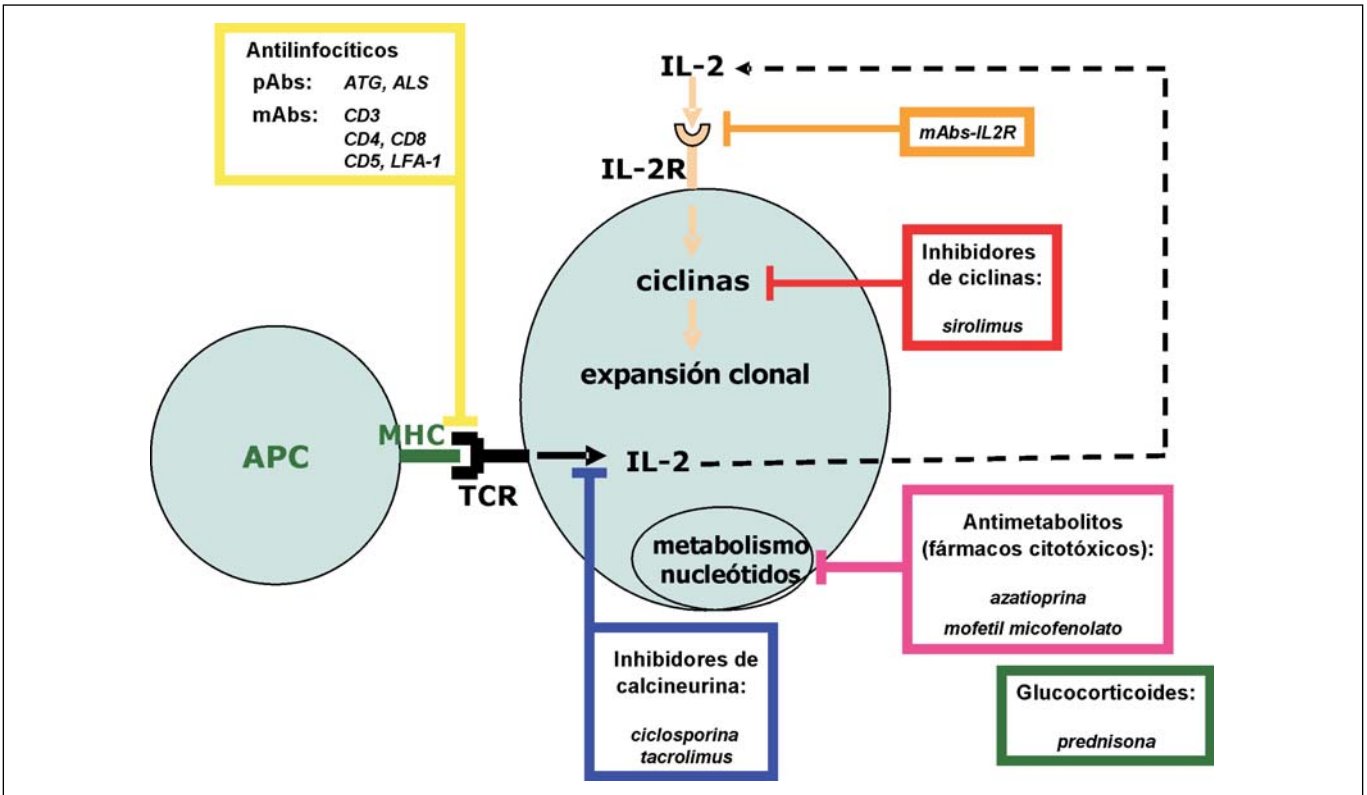
§ Irradiación corporal total

gadores por su efecto inmunodepresor en los animales de laboratorio. Este péptido de once aminoácidos inhibe la vía de la calcineurina que conduce a la activación de los linfocitos T provocada por la interacción del complejo HLA-péptido y sus moléculas asociadas, con el receptor antigénico de la célula T. De hecho, la vía de la calcineurina se descubrió con motivo del estudio del mecanismo de acción del fármaco: la ciclosporina es un ligando de la ciclofilina, que es el componente de la secuencia de señales, desencadenada por la interacción mencionada, inmediatamente anterior a la calcineurina. En la década de 1990 se incorporaron a la clínica otros dos compuestos antifúngicos: sirolimus (rapamicina) y tracolimus (FK

506). Estos dos fármacos, dos macrólidos, se unen a la misma molécula citosólica intermediaria —proteína de acoplamiento de FK—, pero cada uno de los complejos formados tiene por diana a terceras moléculas diferentes: sirolimus interactúa con TOR (*target of rapamycin*), y tracolimus lo hace, al igual que ciclosporina, con calcineurina. La inhibición de TOR bloquea la entrada de la célula T activada por IL-2 en la fase G1 de replicación. En términos funcionales, la inhibición de la vía de la calcineurina previene la producción de factores de crecimiento, especialmente interleuquina-2 (IL-2), y el bloqueo de la vía TOR impide la respuesta celular de expansión clonal al estímulo de IL-2.

TABLA III  
"Primeros históricos"  
supervivencia de injerto y receptor > 1 año

órgano	ciudad	fecha	1 st trans. (en España)	cirujano (en España)
Riñón Riñón	Boston Barcelona	24-01-1959	1954 [1965]	JE Murray [JM Gil-Vernet, A Caralps]
Hígado Hígado	Denver Barcelona	23-07-1967	1964 [1984]	TE Starzl [C Margarit, E Jaurrieta]
Corazón	Cape Town	2-01-1968	1967	CN Barnard
Médula ósea	Minneapolis	24-08-1968	1959	RA Good
Páncreas	Minneapolis	3-06-1969	1966	RC Lillehei



**Figura 17.** Fármacos inmunosupresores: Anticuerpos poli y monoclonales (actúan sobre componentes del receptor de células T o del receptor de IL-2), inhibidores de calcineurina, inhibidores de ciclinas, antimetabolitos y corticoides.

Otra adquisición reciente en el armamento inmunosupresor es el mofetil micofenolato que, *in vivo*, es convertido en ácido micofenólico. Esta sustancia, que es un producto natural de los hongos *Penicilium*, tiene un mecanismo de acción sobre el metabolismo de las purinas similar al de la azatioprina. Inhibe la proliferación de linfocitos T y B, y los miocitos arteriales; el resto de las células es bastante resistente al fármaco porque disponen de vías alternativas para la síntesis de ácidos nucleotídicos. El mofetil micofenolato es bastante menos tóxico para la médula hematopoyética que la azatioprina.

Y diferentes anticuerpos, que engloban dos grupos principales. Los anticuerpos policlonales —globulina antilinfocítica, timoglobulina y globulina antitimocítica— que se dirigen contra diferentes componentes del TCR (por ej. CD2, CD3, CD4 o CD8), pero también reconocen células B, monocitos, plaquetas y granulocitos. Los anticuerpos policlonales son útiles en la inducción pero poco efectivos en el tratamiento del rechazo agudo. El segundo tipo de anticuerpos son los monoclonales, que suelen utilizarse como primera

línea en el tratamiento del rechazo agudo o en aquellos brotes resistentes a corticoides. El más utilizado ha sido el OKT3, que reconoce células T y actúa contra la cadena ε no polimórfica del complejo CD3 del TCR. Por su parte, los anticuerpos contra el receptor de IL-2 de los linfocitos T han mostrado su eficacia en la prevención del rechazo del injerto. Otra incorporación son diversas moléculas de fusión, solubles, que intentan remedar las funciones de moléculas coestimulantes negativas como CTLA4 (fig. 17).

### LA CADENA CLÍNICA DEL TRASPLANTE

El éxito técnico del trasplante de órganos ha evolucionado en paralelo con un contexto quirúrgico que permite obtener varios órganos de un mismo donante y, más aún, conseguir dos componentes trasplantables a partir de un órgano impar: el hígado. Una técnica similar permite hoy la donación *in vivo* de un segmento hepático. Junto a los avances quirúrgicos, los ambiciosos programas de donación de órganos no hubieran sido posibles sin el compromiso de otros



muchos profesionales. Este proceso de donación acarrea una secuencia de acciones técnicas y jurídicas.

La mayor parte de los órganos para trasplante proceden de cuerpos a los que se ha diagnosticado muerte cerebral. Un diagnóstico que ha facilitado la disponibilidad de órganos viables que no han sufrido el periodo de isquemia caliente, una condición que daña al órgano cuando su extracción se realiza tras un periodo de parada cardiaca.

Médicos, sanitarios, jueces, clero, y legos admiten que una persona esta muerta cuando su cerebro está muerto, y aunque el resto de su cuerpo mantenga sus funciones fisiológicas mediante asistencia externa. La muerte cerebral es el requisito esencial para la donación de órganos para trasplante. En los adultos, la causa principal de muerte cerebral son los traumatismos cráneo-encefálicos y la hemorragia subaracnoidea. En los niños, los accidentes de tráfico y la asfixia.

La utilización generalizada de los ventiladores mecánicos, que evitan la parada respiratoria, ha transformado el curso de los trastornos neurológicos terminales; las funciones vitales pueden mantenerse artificialmente tras el cese de la función cerebral. Ello hace que el cese permanente, irreversible, de las funciones cardio-respiratorias, como criterio estándar de muerte haya sido desplazado por el criterio de muerte cerebral.

**Muerte cerebral.** En 1959, P. Mollaret y M. Goulon introdujeron el término *coma dépassé* —coma irreversible— al describir una serie de pacientes comatosos que habían perdido la consciencia, los reflejos del tronco cerebral y la respiración y cuyos electroencefalogramas eran planos. En 1967, el decano de la Facultad de Medicina de Harvard, Robert Ebert, convocó una reunión a la que asistieron médicos y cirujanos y expertos en ética y en leyes, bajo la presidencia de un anestésista, a efectos de definir las características de un cerebro que ha perdido, permanente e irreversiblemente, todas sus funciones. El Comité se decidió por los siguientes criterios: i) ausencias de percepción y de respuesta; ii) ausencias de motilidad y de respiración; iii) ausencia de reflejos, y iv) electroencefalograma plano. Años más tarde, la *Uniform Determination of Death Act* (UDDA) propuso que

muerte es: i) el cese irreversible de las funciones circulatoria y respiratoria, o, si estas se mantienen mediante asistencia mecánica, ii) el cese irreversible de todas las funciones cerebrales, incluyendo las del tronco cerebral. La UDDA proclamó que la muerte cerebral significa la muerte de la persona; toda muerte constituye una pérdida irreversible de la función cerebral. Por su parte, en el año 1995, la Academia Americana de Neurología (AAN) estableció, en relación con el diagnóstico de muerte cerebral, unos pre-requisitos y unos signos clínicos. Los pre-requisitos: i) pruebas clínicas o de neuroimagen de una catástrofe en el sistema nervioso central compatible con el diagnóstico clínico de muerte cerebral; ii) exclusión de condiciones médicas que pudieran confundir el diagnóstico (por ej. trastornos metabólicos o hidro-electrolíticos graves); iii) descarte de intoxicación o de envenenamiento, y iv) temperatura central corporal  $< 32^{\circ}$  C. Con tales condicionantes clínicos resueltos, la AAN establece tres criterios cardinales de muerte cerebral: i) coma; ii) ausencia de reflejos del tronco cerebral (pupilares, vestíbulo-oculares, corneales, faríngeos y traqueales), y iii) apnea. El diagnóstico de apnea requiere la aplicación de una metodología específica basada en que el tronco cerebral —responsable de la respiración espontánea y del control vasomotor— tiene quimiorreceptores que monitorizan el pH y la  $pCO_2$  del líquido cefalorraquídeo que, aproximadamente, reflejan los cambios en el plasma. El test de apnea ratifica el diagnóstico de muerte cerebral si la  $pCO_2$ , tras realizar unas pautas establecidas y desconectar el cuerpo del ventilador durante un tiempo determinado, supera los 60 mm Hg y no se detectan movimientos respiratorios espontáneos. Otra prueba es la demostración del cese del flujo sanguíneo cerebral —signo de cráneo hueco— mediante angiografía cerebral, imagen funcional cerebral por resonancia magnética, escáner isotópico o ultrasonografía Doppler transcraneal.

Un caso especial lo representan los recién nacidos anencefálicos quienes, desprovistos de actividad cerebral cortical, muestran respiración espontánea que requiere integridad plena del tronco cerebral. Se ha abierto un debate respecto a si la actividad troncal cerebral, por sí sola, implica la presencia de vida; un tema polémico tras la utilización de anencefálicos como donantes de órganos. La sociedad internacional no ha aceptado un diagnóstico de muerte que

**TABLA IV**  
**Trasplante de órganos: legislación básica**

- Ley 30/1979, de 27 de octubre, sobre extracción y trasplante de órganos (BOE nº 266, de 6 de noviembre de 1979).
- Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos (BOE nº 3, de 4 de enero de 2000).
- Additional Protocol to the Convention on Human Rights and Biomedicine concerning transplantation of organs and tissues of human origin. Strasbourg, 24 January, 2002 (European Treaty Series -No. 186).
- Real Decreto 176/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Estatuto del Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa (BOE nº 27, de 32 de enero de 2004).

desagregue la función troncal, con lo que no ha sancionado la obtención de órganos de anencefálicos previa a la muerte certificada de acuerdo con los estándares indicados.

Dada la creciente disminución de donantes a «corazón latiente», fundamentalmente sobre la base del descenso de accidentes de tráfico, los esfuerzos para recuperar órganos se han orientado hacia un nuevo tipo de donante: a «corazón parado» o en asistolia. Ello es, tras el diagnóstico de muerte por parada cardio-respiratoria. En estos casos, un principio de la donación es no violar la regla de la muerte del donante al iniciar medidas invasivas que intentan la recuperación del órgano antes de certificar la muerte del donante. A menos que el paciente haya sido declarado muerto, no es aceptable canular vasos sanguíneos para infundir líquidos de preservación de órganos.

En relación con la edad, superar la barrera de los ochenta años se considera una restricción absoluta para la donación de órganos. Desde el punto de vista médico, son restricciones para donar: cáncer (a excepción de tumores cerebrales primarios, de carcinomas no-melanomas de piel y de carcinoma *in situ* de cerviz), envenenamientos e infecciones (especialmente: HIV, hepatitis B y C, citomegalovirus, treponema y toxoplasma).

En el mismo año —1968— en que se establecieron los criterios de muerte cerebral se promulgó, de manera independiente y también en los EE UU, la *Uniform Anatomical Gift Acta* para facilitar la

donación de órganos. En nuestro país, la ley que regula la extracción y trasplante órganos data del año 1979, y desarrolla, en siete artículos, la cesión, extracción, conservación, intercambio y trasplante de órganos humanos para ser utilizados con fines terapéuticos. Dicha Ley fue desarrollada mediante un Real Decreto pocos meses después, y que fue actualizado en el año 2000. Estas dos referencias deben ser completadas con el Protocolo adicional a la Convención del Consejo Europeo sobre Derechos Humanos y Biomedicina referentes al trasplante de órganos y tejidos de origen humano, del año 2002, y con el Real Decreto que aprueba el Estatuto del Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa, del año 2004 (**tabla IV**).

**Conservación de órganos.** La mayoría de los órganos y células pueden tolerar 30-60 min en situación de hipoxia isquémica sin que se provoque un daño permanente; los tejidos con una tasa metabólica elevada son los menos tolerantes y, entre ellos, el corazón es particularmente vulnerable. La mayor parte de los órganos sufren daños irreversibles tras 90-120 min de isquemia normotérmica: isquemia caliente. Las células parenquimatosas y las células endoteliales vasculares son las estructuras que se afectan más precozmente.

La lesión por reperusión es una alteración añadida que contribuye al daño irreversible. La acumulación de productos terminales del metabolismo del ATP bajo condiciones anaeróbicas, como hipoxantina, pueden ser los sustratos iniciales de la lesiva cascada post-reperfusional. Cuando se restaura la circulación, el

aporte súbito de oxígeno conduce a la formación de compuestos tóxicos del tipo de los radicales libres que incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS: *reactive oxygen species*) como anión superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo ( $OH\cdot$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y también peroxinitrito ( $ONOO^-$ ). Todos ellos contribuyen, junto con mediadores químicos proinflamatorios también liberados, a las lesiones inducidas por la reperfusión. Los radicales libres causan daño celular por peroxidación de los lípidos de sus membranas, desnaturalización de proteínas como enzimas y canales iónicos y por rupturas del ADN. Además, se ha demostrado una depleción intracelular de fosfatos de alta energía que contribuye al estado celulo-pático post-reperfusional. Las rupturas mono o bicatenarias del ADN exigen la activación de la enzima reparadora del ADN, poli [ADP-ribosa] sintasa (PARS, también conocida como poli (ADP-ribosa) polimerasa, PARP, o como ADP ribosiltransferasa, ADP-RT). Una vez activada, PARS cataliza la poli (ADP ribosil)ación de las proteínas nucleares mediante la transferencia de grupos (ADP-ribosa) desde el dinucleótido adenina-nicotinamida (NAD) a las proteínas con la formación concomitante de nicotinamida. Bajo condiciones de estrés oxidante, las lesiones en el ADN provocan una excesiva activación de la enzima PARS, lo que provoca un consumo excesivo y, por lo tanto, una disminución subsiguiente de la concentración intracelular de su sustrato NAD. La nicotinamida formada cuando se activa PARS puede reciclarse a NAD en una reacción que consume ATP. Éste ciclo metabólico fútil de utilización y síntesis de NAD puede llegar a consumir las reservas celulares de ATP. Además, si la merma del NAD intracelular es lo suficientemente importante puede también contribuir al agotamiento del ATP por interferir con la función mitocondrial. El consumo extremo del ATP intracelular conduce a una grave disfunción celular y, finalmente, a la muerte de la célula. Este mecanismo de muerte celular se ha denominado «suicidio PARS».

Para evitar tales problemas se ha desarrollado una solución parcial: preservación hipotérmica (**tabla V**). El simple enfriamiento incrementa significativamente la tolerancia a la isquemia. Toda la actividad enzimática es dependiente de la temperatura: la hipotermia disminuye la actividad metabólica, cercena la demanda de oxígeno y retarda la merma de las reservas energéticas. La hipotermia no detiene el metabolismo,

TABLA V  
Tiempo de preservación clínica

• Pulmón	< 8 horas
• Corazón	< 8 h.
• Intestino	8 - < 24 h.
• Páncreas	12 - < 24 h.
• Hígado	12 - < 24 h.
• Riñón	24 - < 48 h.

meramente enlentece el reloj metabólico. El enfriamiento desde 37° C (temperatura corporal) hasta 0° C (temperatura de almacenamiento) expande la tolerancia de la mayoría de los órganos desde 1-2 h hasta cerca de 12 h. Desafortunadamente, la hipotermia no enlentece de manera uniforme todas las funciones biológicas, y produce cierta discordia entre diversos procesos metabólicos que operan coordinados a 37° C. Mientras que la hipotermia no afecta la difusión pasiva transmembrana de iones, inhibe, a partir de 10° C, los mecanismos de transporte activo (por ej. los gobernados por ATPasas  $Na^+-K^+$  y  $Mg^{2+}-Ca^{2+}$ ). La hipotermia, por sí sola, no puede prevenir el edema celular durante el almacenamiento. Todo almacenamiento de un órgano para trasplante exige, junto a la hipotermia, controlar el edema y la acidosis celulares; para ello se lava o se perfunde el órgano con soluciones especiales. El edema se impide incluyendo en la solución de lavado un soluto no permeable que proporcione una fuerza osmótica que contrarreste el edema celular. Macroiones como lactobionato (358 kDa) y gluconato (195 kDa), o moléculas no-electrolíticas como sácaro-rafinosa (505 kDa) o sucrosa (342 kDa), o quelatos de citrato y magnesio (aprox. 1000 kDa), o proteínas (70,000 kDa) o aminoácidos (histidina), pueden conseguirlo. La glucosa (180 kDa) puede permear lentamente la célula y estimular una producción indeseable de lactato y de iones hidrógeno mediante una glicolisis anaerobia. La glucosa puede ser reemplazada en la solución protectora por sucrosa, especialmente en hígado y páncreas, cuyas membranas celulares son especialmente permeables para la glucosa. El segundo requisito es el control de la acidosis intracelular, lo que puede conseguirse con un tampón eficaz: fosfato, citrato, histidina o bicarbonato.

La importancia de los dos requisitos mencionados queda probada por el hecho de que una solución con sólo dos componentes —sucrosa y tampón fosfato— es eficaz en la preservación renal y casi tan efectiva que soluciones mucho más complejas.

La composición electrolítica de las soluciones de lavado varía considerablemente. El anión cloro, libremente difusible, suele reemplazarse por otro no difusible (lactobionato, gluconato o citrato quelado). Las soluciones de lavado tenían, inicialmente, altas concentraciones de potasio (100-130 mmol/l) y bajas concentraciones de sodio (10-30 mmol/l). El potasio a tan altas concentraciones es cardiopléjico y vasoconstrictor. Las soluciones actuales, denominadas de relación Na:K inversa (Na: 130 mmol/l y K: 10-30 mmol/l) son igual de efectivas y más seguras, a la vez que mantienen bajas concentraciones de cloro. El magnesio ha sido un aditivo útil en muchas soluciones; forma quelatos impermeables con lactobionato y citrato. Por el contrario, el calcio se adiciona en concentraciones muy bajas o se elimina. Calcio y magnesio pueden precipitar en soluciones inestables. El calcio es fuertemente quelado por lactobionato (y citrato).

Los diferentes componentes que influyen en la efectividad de las soluciones de preservación fueron brillante y aleatoriamente combinadas por Belzer, Southard *et al.* en la Universidad de Wisconsin, quienes fabricaron una solución (solución UW) que contiene elementos no difusibles a través de las membranas (rafinosa, lactobionato), tampones ácido-básicos (fosfato), inhibidores y eliminadores de radicales libres (glutation, alopurinol), precursores energéticos (adenosina) agentes vasoactivos y hormonas (esteroides, insulina). Esta compleja solución (13 componentes) se ha mostrado más eficaz que otras (Collins, Euro-Collins, citrato isotónico y tampón fosfato), pudiendo ser utilizada como solución de lavado o como solución de perfusión. No todos sus componentes tienen igual valor; en particular, puede omitirse el almidón en la solución para lavado hipotérmico y posterior almacenamiento en frío. Las elevadas concentraciones de potasio son peligrosas, habiéndose demostrado que relaciones Na:K inversas no disminuyen la eficacia de la solución (solución UW modificada). Otros aditivos como el tampón histidina pueden mejorar la preservación, y el polisacárido

rafinosa puede ser reemplazado por sucrosa. El lactobionato es el componente más efectivo y más importante de la solución UW.

**Compatibilidad antigénica.** Una de las cuestiones más debatidas en trasplante clínico se refiere a la importancia de la compatibilidad antigénica HLA entre donante y receptor. Aunque sin resolver, las bases de partida están razonablemente establecidas. En primer lugar, los órganos y tejidos pueden intercambiarse con plena seguridad entre hermanos gemelos monocigóticos; ello, sin rechazo y sin necesidad de inmunosupresión, pues ambos expresan idénticos antígenos de trasplante. Segundo, se han demostrado las ventajas de la compatibilidad antigénica HLA entre receptor y donante vivo de riñones; ello, en términos de frecuencia de episodios de rechazo y de la supervivencia del injerto a largo plazo. Tercero, la supervivencia de riñones provenientes de cadáveres varía de acuerdo con el grado de compatibilidad antigénica HLA entre donante y receptor. Todos estos datos apoyan la importancia del estudio de la compatibilidad antigénica entre donante y receptor. La discusión surge entre quienes defienden el beneficio obtenido por el estudio parcial de compatibilidad antigénica, y aquellos quienes consideran que ese beneficio es muy pequeño en comparación con las desventajas.

«En abril de 1964, cuando muchos otros centros estaban luchando para desarrollar sus programas de trasplante renal, nosotros —escribe Thomas E. Starzl en su autobiografía (1992)— suspendimos el nuestro durante seis meses para realizar un intenso estudio de la histocompatibilidad. Las conclusiones de este estudio sobre las ventajas de los programas de compatibilidad hística condujeron a una discusión que, 27 años después, aún no se ha resuelto... Mi informe causó furor. Preparé mi conferencia recogiendo la información de que disponíamos sobre el tipaje de los tejidos de nuestros pacientes desde el inicio de nuestro programa en Colorado, en 1962, hasta el momento. Al revisar los datos, el grado de compatibilidad no parecía ser un determinante importante de la evolución en los casos de donantes no relacionados con el receptor... la histocompatibilidad no tenía tanta importancia como habíamos previsto en 1964. Estábamos desalentados, pero publicamos estos resultados en 1970... Aunque Paul I. Terasaki fue uno de los firmantes del artículo, no estaba totalmente convencido de los resultados...



[tras] recoger información de 1200 casos de trasplantes de cadáveres de otros centros... se convenció de que nuestras conclusiones originales eran válidas». Terasaki, que puso a punto la técnicas de tipaje —método de microgota de citotoxinas séricas humanas— y que defendió en la primera Conferencia sobre histocompatibilidad tisular, en junio de 1964, la conveniencia de determinar los antígenos hísticos —logró universalizar la prueba—, vería clausurar su laboratorio de histocompatibilidad en la Universidad de California–Los Angeles, en el año 1970.

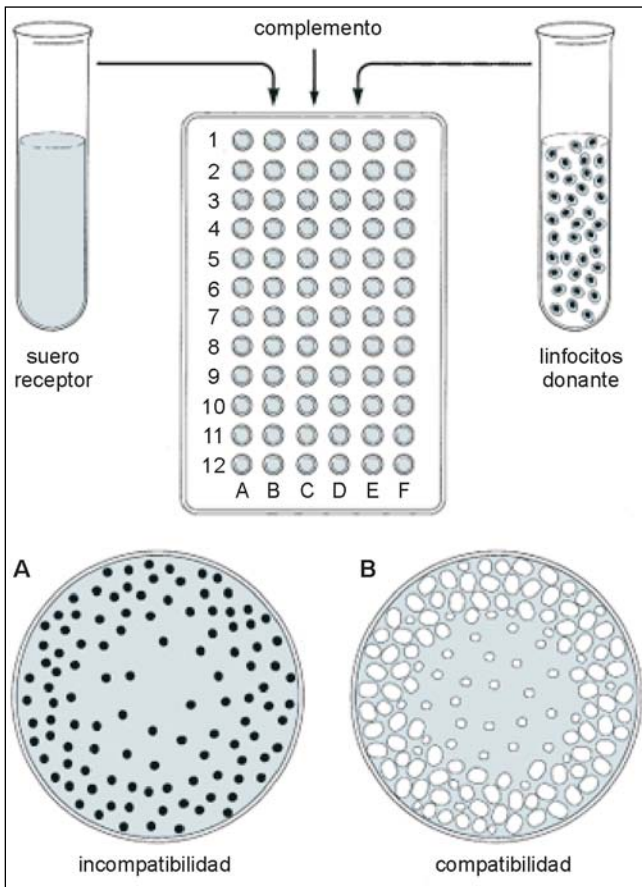
A pesar de su nombre —antígenos principales de histocompatibilidad— no representan el factor dominante en el éxito de un trasplante, que depende de las medidas inmunosupresoras. En una tasa de éxito global cercana al 90 %, a penas hay un 10 % de diferencia en la tasa de supervivencia durante el primer año entre un alotrasplante renal compatible y otro incompatible. Dos consideraciones: así como el estudio de compatibilidad antigénica HLA es discutible en el caso de órganos sólidos, es obligado en el caso del trasplante de médula ósea; y segunda, así como la discusión no está cerrada en el caso del trasplante renal, la búsqueda de la compatibilidad plena HLA ha quedado descartada en otros órganos como hígado, páncreas o corazón. El porqué de la disparidad de respuestas se desconoce.

Los protocolos clínicos actuales determinan un número limitado de variables y parámetros para ofrecer órganos antigénicamente tipificados —compatibles— a posibles receptores. En primer lugar, la compatibilidad ABO es obligada para el posible éxito del trasplante. Las reglas biológicas son las mismas que las que rigen la transfusión de la sangre. Dado que los antígenos ABO de los hematíes se expresan en la mayoría de las células tisulares, los injertos incompatibles ABO sufren un rechazo hiperagudo. Sin embargo, el factor *rhesus* se expresa sólo en los hematíes y por tanto no se requiere su compatibilidad para el éxito del trasplante.

La mayoría de los laboratorios utilizan técnicas serológicas o anticuerpos monoclonales para la tipificación antigénica y definir la compatibilidad HLA entre donante y receptor. Los principales *loci* rastreados son las moléculas de clase I HLA-A y HLA-B,

y la molécula de clase II HLA-DR. Para una persona normal, completamente heterocigótica, esto resulta en un estudio, rastreo o tipaje de seis antígenos y, de acuerdo con ello, la compatibilidad antigénica HLA «completa» entre donante y receptor se refiere como «compatibilidad entre seis antígenos» (*six-antigen match*) o «incompatibilidad entre ningún antígeno» (*zero-antigen mismatch*). Los laboratorios han incorporado técnicas basadas en PCR que permiten catalogar *loci* adicionales como HLA-DP y HLA-DQ, y caracterizar individualmente las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ . Sin embargo, dada la enorme heterogeneidad HLA y dada la escasez de órganos disponibles, los avances técnicos en tipificación antigénica HLA no aportan beneficios adicionales a los resultados clínicos.

Una prueba importante para la compatibilidad del injerto es el denominado emparejamiento cruzado directo, que determina si existen, en el suero del receptor, anticuerpos preformados que reaccionen con antígenos presentes sobre la superficie de los linfocitos —obtenidos a partir de un ganglio linfático periférico— del potencial donante cadáver. Una prueba positiva significa que existen tales anticuerpos y que el injerto será víctima de un rechazo hiperagudo. Tales anticuerpos, de la clase IgG, pueden ser consecuencia de embarazos múltiples, transfusiones de sangre, trasplantes previos o de infecciones virales. La prueba es importante en alotrasplantes de riñón, páncreas, pulmón y corazón, mientras que los aloinjertos hepáticos resisten el rechazo hiperagudo. Las razones de esta resistencia se desconocen, pero algunos la relacionan con la gran masa tisular hepática que puede absorber anticuerpo y complemento y todavía preservar suficiente masa celular funcional. La prueba requiere un par de horas. Otra técnica de compatibilidad utilizada en trasplantes entre personas emparentadas vivas es el cultivo o reacción de linfocitos mezclados, obtenidos de la sangre de receptor y de donante, siendo éstas últimas irradiadas para prevenir la mitosis. Las células de receptor que reconocen al antígeno del donante, se activan y proliferan rápidamente. Tras tres o cinco días de cultivo se mide el grado de proliferación mediante la incorporación de radionucleótidos en las células. Desafortunadamente, la correlación entre el resultado de la prueba y el resultado clínico no es muy convincente; además, al consumir varios días no es útil en donaciones de cadáveres (**fig. 18**).

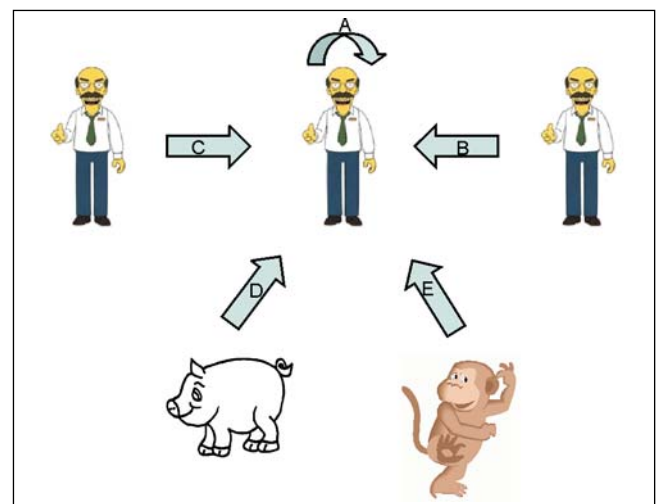


**Figura 18.** Prueba de compatibilidad tisular mediante estudio de linfotoxicidad. Incubación de suero del receptor con linfocitos del donante y complemento (C'), en microplacas. Si hay anticuerpos (Abs) linfocitotóxicos específicos contra las células del donante en el suero del receptor, la fijación del C' sobre las células del donante, en presencia de los Abs, resulta en lisis de tales células. Ello es detectado por la adición de un colorante que penetra en las células a través de las membranas dañadas; lo que se señala como prueba positiva (A) o incompatibilidad donante-receptor. Si no existen Abs, las células permanecen viables y no captan el colorante; ello resulta en una prueba negativa (B) que denota compatibilidad.

**El caso especial del xenotrasplante.** El trasplante de órganos humanos representa uno de los éxitos indiscutibles de la medicina en las décadas finales del siglo XX. Los porcentajes de pacientes que sobreviven 1, 5 y 10 años tras un alotrasplante alcanzan, aproximadamente, el 85 %, 65 % y 50 %, respectivamente. Si embargo, tal éxito hace que el número de posibles receptores incremente año tras año, lo que ha provocado una crisis en la disponibilidad de donantes. El número de pacientes que esperan un órgano, su órgano, se triplicó entre 1990 y 1999; pero el número de donantes ni siquiera se duplicó. A pesar de los esfuerzos educativos que apelan al altruismo, la

donación de órganos de cadáveres se mantiene estable; sin embargo, ha incrementado discretamente la donación *in vivo*. Dada la penuria de órganos disponibles para trasplantar en las sociedades Occidentales, existe un interés creciente para abordar otras fuentes de órganos; en particular, el xenotrasplante está siendo investigado en varios centros con el objetivo de utilizar al cerdo como donante. «Xeno», en griego, significa extraño, foráneo. De acuerdo con la propuesta original de Calne, las combinaciones donante-receptor en que las que el receptor rechaza un órgano de una especie diferente de manera rápida y violenta (hiperaguda), se denominan discordantes; aquellas combinaciones en las que el órgano es rechazado con un tiempo similar a lo que ocurre en un alotrasplante, se denominan concordantes. La diferencia radica en la concentración de anticuerpos preformados en la sangre del receptor contra la especie donante, que es muy mayor entre especies discordantes (fig. 19).

Los intentos clínicos de utilizar tejidos de procedencia animal se remontan al siglo XVII, cuando se practicaron transfusiones de sangre de animales a humanos en Inglaterra y en Francia. En el siglo XIX se



**Figura 19.** Barreras genéticas al injerto o trasplante de órganos. (A) Autoinjerto o injerto autógeno: intercambio de tejidos en el mismo individuo. (B) Isoinjerto o injerto singénico: entre individuos genéticamente idénticos (por ej. entre hermanos gemelos genéticamente idénticos o entre clones). (C) Aloinjerto u homoinjerto: entre individuos de la misma especie no idénticos genéticamente. (D) Xenoinjerto o heteroinjerto discordante: entre individuos de especies diferentes evolutivamente distantes. (E) Xenoinjerto o heteroinjerto concordante: entre individuos de especies diferentes evolutivamente próximas.

realizaron trasplantes de piel, y el siglo pasado contempló trasplantes de órganos. Los intentos más notables corrieron a cargo de K. Reemtsma *et al.* quienes, entre los años 1963 y 1964, trasplantaron una serie de riñones de chimpancés en humanos. La supervivencia de los pacientes osciló entre 11 días y dos meses, a excepción de uno de ellos que vivió nueve meses y que falleció, se pensó, a causa de un desequilibrio hidro-electrolítico dado que no se demostró lesión anatomopatológica alguna en el injerto (el paciente fue tratado, exclusivamente, con prednisona y azatioprina). Reemtsma demostró que el episodio de rechazo agudo puede controlarse incrementando las dosis de corticoides. El primer xenotrasplante cardíaco realizado a un humano tuvo lugar en el año 1964, pero el corazón era demasiado pequeño para asumir su función. Strazl *et al.* llevaron a cabo varios xenotrasplantes de riñones y de hígados procedentes de babuinos entre los años 1960 y 1990, sin conseguir resultados halagüeños. Por otro lado, se hicieron notables esfuerzos para trasplantar diversos tipos celulares del cerdo: células de islotes pancreáticos en pacientes diabéticos, y células neurales en pacientes con enfermedades de Parkinson o de Huntington; y se han utilizado hígados de cerdo en hemoperfusiones temporales *ex vivo* para tratar pacientes con fracaso hepático fulminante.

Aunque desde la perspectiva inmunológica los primates no humanos serían la especie concordante ideal para la donación de xenoinjertos para los humanos, una serie de razones varias ha hecho del cerdo la especie discordante elegida para formar futuras granjas de producción de órganos. Es más, algún laboratorio ha conseguido un cerdo miniatura que, por su tamaño, proporciona una serie de ventajas. También, existe una amplia experiencia con técnicas de transgénesis en el cerdo, lo que facilitará la ingeniería de su genoma a efectos de ir transformando su perfil xenogénico en otro halogénico para el hombre. Con todo, deben solventarse cuatro facetas: las barreras inmunológicas de la discordancia antigénica, las potenciales incompatibilidades fisiológicas entre ambas especies, los potenciales peligros microbiológicos y la actitud de los pacientes y de la sociedad hacia tan radical procedimiento terapéutico.

La respuesta humoral innata implica a anticuerpos denominados naturales, que existen en ausencia de una

exposición conocida al antígeno; ello, al contrario de la respuesta humoral adquirida, que requiere la previa exposición al antígeno. En alotrasplantes, sólo es necesario controlar los mecanismos inmunológicos adquiridos (con la excepción de la incompatibilidad ABO entre donante y receptor); en los xenotrasplantes discordantes ambas respuestas inmunológicas, innata y adquirida, deben ser controladas. La respuesta innata al xenoinjerto es mucho más difícil de controlar que la respuesta adquirida. Como resultado probable de la colonización microbiana —flora comensal— del tracto gastrointestinal durante las primeras semanas de vida, los humanos desarrollan anticuerpos naturales contra epítomos [galactosa  $\alpha$  (1-3) galactosa] (gal-gal) que están presentes sobre las superficies de bacterias, parásitos y virus. Tales anticuerpos naturales anti-[gal-gal] reaccionan contra epítomos homólogos ubicados sobre las superficies de las células porcinas, en especial las endoteliales de los vasos sanguíneos. El epítomo [gal-gal] muestra similitudes estructurales con el epítomo del grupo sanguíneo B humano, por lo que, de alguna manera, puede considerarse tal epítomo el grupo antigénico sanguíneo del cerdo. La unión del anticuerpo natural al epítomo [gal-gal] fija y activa complemento, lo que conduce, rápidamente, a la destrucción del injerto (rechazo hiperagudo). Un acontecimiento similar al que resulta de un alotrasplante con incompatibilidad ABO. Solventado el episodio hiperagudo —en el caso de primates injertados con órganos porcinos se logra mediante la depleción de complemento, por ej. con veneno de cobra o utilizando la forma soluble de receptor I de complemento; o mediante plasmaféresis de los anticuerpos naturales anti-[gal-gal]— otros mecanismos no bien comprendidos pueden destruir el injerto en un proceso denominado rechazo humoral agudo del xenoinjerto. Si los anticuerpos naturales que participan en el rechazo hiperagudo son de tipo IgM, en el rechazo agudo se suman anticuerpos de tipo IgG y, también, neutrófilos, macrófagos y células T. No se conocen medias efectivas para abortar el rechazo agudo, cuya signo distintivo es un cuadro de coagulación intravascular diseminada, a parte de las lesiones del injerto. El bloqueo de señales coestimuladoras de las células T —anti-cuerpos monoclonales anti-CD154— se apunta como una posible estrategia de control. El rechazo crónico, al igual que sucede con los alotrasplantes, tampoco está bien estudiado, siendo la arteriosclerosis del injerto el hecho más destacado. A efectos de abrir

las puertas al xenotrasplante cerdo-humano se ensayan protocolos de inducción de tolerancia inmunológica en el par cerdo-primate no humano, y de acuerdo con los principios antes esbozados.

Si los problemas inmunológicos quedaran solucionados podría abordarse el estudio de la función del injerto a largo plazo, lo que hoy es una gran incógnita. Pudiera haber problemas; sirva como ejemplo que la temperatura corporal normal del cerdo es de 38.5° C mientras que la del humano ronda los 37° C. Ello podría genera problemas metabólicos celulares en el órgano trasplantado. La experiencia actual señala que riñones de cerdo funcionan correctamente en el primate durante más de dos meses, y que el corazón se comporta con normalidad durante un mes. Por otro lado, la insulina porcina se usa desde hace décadas en el tratamiento de la diabetes mellitus humana, lo que hace suponer que los xenoinjertos pancreáticos cumplirán su misión; y de igual modo, no existen dudas razonables de que células productoras de dopamina implantadas en cerebros humanos seguirán produciéndola. El hígado, sin embargo, produce más de dos mil proteínas, y es posible que un injerto hepático porcino produzca muchas de ellas que difieran de las humanas; sirva de ejemplo las variaciones significativas existentes entre los factores de la coagulación de las diversas especies. Una nueva ciencia, que David Cooper *et al.* denominan «xenoincompatibilidad», está en vías de expansión. Una ciencia que entiende de inmunobiología, fisiología y bioquímica comparadas y, sobre todo, de ingeniería genética. Ingeniería genética que se ocupa de resolver, en primer lugar, la discordancia inmunológica sobre la base de, en principio, dos estrategias: noquear el gen responsable — $\alpha$  galactosil transferasa— del epítipo [gal-gal], o generar cerdos transgénicos mediante la transferencia del gen que expresa el factor desacelerador humano (hDAF: *human decay accelerating factor*), un factor que inhibe el sistema del complemento sérico.

La tercera barrera se refiere a la seguridad microbiológica. Las infecciones estándar quedan controladas por técnicas gnotobióticas. Mayor preocupación plantea la transferencia de retrovirus endógenos porcinos (PERVs). Tales retrovirus, que ocupan aproximadamente el 1 % el genoma de cada célula del cerdo, son similares a los retrovirus endógenos humanos (HERVs) que están presentes en todas las células

humanas. Aunque no existen pruebas de que los PERVs o los HERVs causen problemas de salud ni el cerdo ni el hombre, respectivamente, el problema es triple: que los PERVs se comporten agresivamente para la especie discordante, que los PERVs muten en el humano o que elementos de los PERVs recombinen con elementos de los HERVs formando nuevos virus patógenos para el humano.

Por último, la aceptación del xenotrasplante. En el año 1966, Peter Medawar apuntó que «el trasplante de órganos será asimilado en la clínica práctica ordinaria... por la razón, simple y suficiente, de que la gente prefiere vivir a morir». La misma razón puede aplicarse al trasplante si la mayoría de la gente no percibe riesgo para la salud pública. Millones de animales se sacrifican cada año por razones comestibles; parece poco probable que hubiera reservas éticas para su utilización médica. Sin embargo, hay quién ya ha apuntado que un animal transgénico con uno o más genes humanos —por ej., *hDAF*— podría acogerse a los derechos de estos. Otra faceta no menos importante es que la disponibilidad de órganos de cerdos obligaría a cambiar drásticamente los sistemas nacionales e internacionales de distribución de órganos y el concepto altruista de la donación, pues los xenoinjertos no son bienes comunes, son productos comerciales, del mismo tipo que los sistemas de asistencia mecánica circulatoria.

**Rechazo del injerto.** La amplia variedad de mecanismos efectores inmunológicos activados en el trasplante clínico se traduce en un limitado número de presentaciones anatomopatológicas definidas, y tal como define el sistema clasificatorio de Banff. Reacción hiperaguda es el resultado de la presencia en el receptor de anticuerpos preformados —contra antígenos presentes sobre la superficie de los endotelios vasculares— que invaden el injerto en el momento de la revascularización, lo que acontece en el mismo quirófano. La reacción antígeno-anticuerpo fija al complemento sérico que, activado, provoca una respuesta endotelial que induce una exuberante reacción inflamatoria que, a la vez, lesiona por un lado la pared vascular provocando hemorragia y, por otro, dispara la cascada de la coagulación sanguínea; ello concluye con edema masivo y hemorragia del órgano y trombosis intravascular que destruyen el injerto en minutos o en pocas horas. El rechazo hiperagudo



ocurre si el trasplante viola la compatibilidad ABO o si el receptor posee una titulación elevada de anticuerpos contra las moléculas HLA clase I del donante. En la actualidad, los protocolos de trasplantes obvian tal posibilidad. Aloinjertos de riñón, corazón, páncreas y pulmón son susceptibles al rechazo hiperagudo; no así el hígado, que es relativamente resistente a ello (por las razones antes mencionadas). El rechazo hiperagudo es la principal barrera al xenotrasplante.

El rechazo agudo ocurre normalmente días o semanas tras el trasplante, y raramente se presenta meses o años después. El rechazo agudo es, inicialmente, dependiente de células T y se caracteriza, microscópicamente, por un infiltrado linfocítico que se acompaña de células plasmáticas, eosinófilos y escasos mastocitos y neutrófilos. En el riñón, el infiltrado se localiza en el intersticio tubular provocando una tubulitis. Las formas particularmente graves provocan, también, una vasculitis o rechazo vascular. El rechazo celular agudo hepático es, típicamente, un infiltrado celular mixto localizado en los espacios porta con eosinófilos, disrupción del endotelio biliar y endotelitis venosa portal. El corazón muestra una miositis linfocítica intersticial, mientras que el pulmón muestra grados diversos de infiltración linfocítica peribronquiolar y perivascular. La mayor parte de los agentes inmunodepresores está dirigida contra las células T para prevenir o para tratar el rechazo agudo.

Tras meses o años de un trasplante puede desarrollarse un rechazo crónico. Se caracteriza por la pérdida de la estructura histológica normal, fibrosis y aterosclerosis. El rechazo crónico renal muestra fibrosis intersticial, pérdida túbulo-glomerular y obliteración vascular. El rechazo crónico hepático se caracteriza por fibrosis portal y desaparición de conductos biliares (ductopenia o síndrome de evanescencia de conductos biliares). La aterosclerosis acelerada del injerto es la manifestación cardinal del trasplante cardíaco, y la bronquiolitis obliterante indica rechazo crónico pulmonar. El rechazo crónico es la causa principal de pérdida del injerto. El problema subyacente para su prevención y tratamiento es que representa la vía patológica final de una serie de insultos. Así, brotes repetidos de rechazo agudo, la toxicidad de los diferentes fármacos utilizados, infecciones recurrentes (por ej. neumonías en el trasplante de pulmón o colangitis en el hepático), obstrucción

crónica (por ej. uréter, conductos biliares o conducto pancreático), daño isquémico grave del injerto durante las maniobras de implantación, donantes en condiciones no óptimas o rebeldía del receptor con la pauta inmunosupresora, contribuyen a la patología del rechazo crónico. Prevenir el rechazo crónico es controlar todos los problemas citados. Sin embargo, un hecho común a todos los tipos de rechazo crónico es la aterosclerosis y obliteración del injerto que, invariablemente, expresa ciertas citoquinas y moléculas de adhesión como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e ICAM-1.

Una situación especial es la GVHD que, en su forma aguda, puede ocurrir en unos pocos días o tan tarde como pasados dos meses del trasplante. La forma crónica puede presentarse tan precozmente como a los 40-50 días de la intervención, solapándose con la forma aguda. El tiempo de comienzo es, por tanto, un criterio arbitrario para el diagnóstico, que debe basarse en los hallazgos clínicos, histológicos e inmunológicos. La característica patológica de la GVHD es la lesión epitelial de los órganos diana y que suele ser de naturaleza apoptótica. En la piel, la epidermis y los folículos pilosos son destruidos; en el hígado, se destruyen los canalículos biliares; la destrucción de las criptas intestinales resulta en ulceraciones sangrantes de la mucosa; y en el pulmón alternan infiltrados densos de células mononucleares alrededor de los vasos pulmonares y de los bronquiolos, y neumonitis aguda compuesta por una mezcla de infiltrados inflamatorios en una matriz de fibrina, que afectan los espacios intersticiales y alveolares. Un hecho histopatológico prominente de la GVHD aguda es la disparidad entre la severidad de la destrucción tisular y la escasez de infiltrados linfocíticos.

**Inmunosupresión.** A pesar del conocimiento acumulado sobre la regulación inmunológica los regímenes inmunosupresores actuales en trasplante clínico están basados en protocolos empíricos que utilizan agentes como azatioprina y corticoides desarrollados en la década de los años 1960, ciclosporina A desarrollada en la década de 1970 y micofenolato y tacrolimus desarrollados en los años 1980 y 1990. Nuevos fármacos están en diferentes fases de ensayo clínico en espera de su aprobación clínica definitiva. Los protocolos de inmunosupresión varían de un centro a otro y, dentro de cada uno de ellos, dependiendo del órgano trasplantado.

TABLA VI  
Complicaciones post-trasplante: Infección

Fiebre	Post-operatorio inmediato	30-90 días	> 6 meses
	Infección operatoria Bacteriemia catéter central Infección tracto urinario Neumonía	CMV EBV Infecciones oportunistas* Neumonía ( <i>P. Carinii</i> ) Toxoplasmosis Listeriosis Criptococosis Candidiasis Enterococos resistentes a vancomicina <i>Torulopsis glabrata</i> (Infección tracto urinario)#	Infecciones comunes HSV/HZV**

El principio clave de la inmunosupresión es *inducir* al paciente con dosis elevadas de fármacos en el momento del injerto para prevenir el rechazo. Los fármacos se reducen rápidamente para conseguir, en días o en semanas, las concentraciones mínimas eficaces de *mantenimiento*. El seguimiento es constante —bioquímica clínica y biopsias del injerto— a efectos de detectar el rechazo lo más precozmente posible. Los regímenes de inducción descanan en tres o cuatro fármacos (micofenolato, corticoides, ciclosporina o tacrolimus y anticuerpos policlonales), mientras que los de mantenimiento manejan dos o tres de esos fármacos.

El tratamiento del primer brote de rechazo y los rebotes moderados suelen controlarse con pulsos de corticoides, mientras que aquellos resistentes a los corticoides, los muy agresivos o los rechazos secundarios se tratan con anticuerpos monoclonales, especialmente OKT3. Cuando se inyecta por primera vez OKT3 a un paciente se desencadena, entre 30 min y 4 h, un síndrome citoquínico —fiebre, escalofríos, mialgias, altralgias y edemas— debido a que la interacción del monoclonal con su ligando activa a las células T. Ello provoca la liberación masiva de citoquinas proinflamatorias. Una vez activadas, las células T pierden sus antígenos de superficie —CD3, CD4 y CD8— en un proceso denominado modulación antigénica, que resulta en células T desnudas refractarias a la estimulación antigénica posterior porque carecen de receptores, lo que las convierte, por tanto, en anérgicas.

En resumen, antimetabolitos, glucocorticoides e inhibidores de calcineurina son universalmente uti-

lizados tanto para la inducción como para el mantenimiento, y cualquiera de ellos puede administrarse de manera crónica. El cuatro grupo principal de agentes inmunosupresores son los anticuerpos, que suelen administrarse durante cortos periodos de tiempo debido a su extremada potencia y a que la respuesta anti-inmunoglobulínica del receptor limita su eficacia. Por su parte y de acuerdo con su propuesta de tolerancia —tolerancia e inmunosupresión no son términos equivalentes—, Starzl insiste en replantear la estrategia inmunosupresora, lo que denomina inmunosupresión tolerogénica: pretratamiento del receptor y mínima inmunosupresión post-trasplante. La discusión está abierta.

**Complicaciones en el receptor trasplantado.** El índice terapéutico de la inmunosupresión es muy bajo; ello resulta en numerosos efectos adversos que son parte integrante del curso clínico de los receptores trasplantados. Las complicaciones post-trasplante pueden dividirse en dos categorías: las complicaciones específicas de cada órgano trasplantado, y aquellas comunes a todos los trasplantes y que suelen relacionarse con el contexto de inmunosupresión. Las complicaciones específicas se relacionan con complicaciones quirúrgicas a corto o largo plazo (por ej. linfocèle, dehiscencia de suturas ductales y/o vasculares, estenosis y trombosis), disfunciones secundarias al periodo isquémico (por ej. aquinesia ventricular, edema pulmonar post-reperusión, bronquiolitis obliterante) y aquellas relacionadas con el rechazo del injerto. Los signos de alarma del rechazo agudo son inespecíficos (cuadro pseudogripal, hipertensión

arterial, palpitaciones, edema, disnea y dolor referido al lugar del implante) e incluso no se manifiesta clínicamente; el rechazo crónico remeda la enfermedad original. En cualquier caso, son obligatorias la estrecha vigilancia clínica y las biopsias seriadas.

Además, el paciente trasplantado es vulnerable a la infección, enfermedad cardiovascular, cánceres, enfermedad metabólica ósea y complicaciones hematológicas. La complicación más frecuente es la infección (**tabla VI**). Cuanto más potente y eficaz es la inmunosupresión, disminuye la capacidad del receptor para resistir a las infecciones. Los receptores de aloinjertos son susceptibles a infecciones bacterianas comunes (por ej. del tracto urinario, neumonía o infección de la herida operatoria) y a infecciones causadas por microorganismos atípicos y oportunistas de cualquier tipo. La inmunosupresión también mitiga la respuesta inflamatoria a la infección, por lo que la sintomatología, en ocasiones, queda enmascarada. Todo ello hace de la prevención y profilaxis de la infección un imperativo del tratamiento del trasplantado. Los citomegalovirus (CMV) tienen especial importancia. Los CMVs, miembros de la familia herpesvirus, pueden infectar cualquier célula del organismo y producir efectos citopáticos. La infección por CMV de personas inmunocompetentes es, con frecuencia, clínicamente inaparente y resulta en la persistencia del genoma viral en los linfocitos del paciente de por vida. El resultado es que los leucocitos pasajeros del injerto transfieren el virus al receptor. La prueba de haber padecido una infección por CMV es la presencia de títulos elevados de IgG anti-CMV en suero; y el 70% de la población es CMV-seropositiva. Cuando un receptor CMV-seropositivo es trasplantado e inmunosuprimido, sus propios genomas virales se re-expresarán y reactivarán la enfermedad que se pondrá de manifiesto, aproximadamente, a las seis semanas del trasplante: fiebre, mialgias, artralgias, leucopenia, elevación moderada de las enzimas hepáticas y malestar abdominal inespecífico. Más grave es la situación que ocurre cuando un receptor CMV-seronegativo recibe un órgano de un donante CMV-seropositivo, lo que ocurre en un 10-30 % de las ocasiones. El receptor tiene un riesgo, prácticamente del 100 % de ser infectado, y un riesgo >70 % de contraer una enfermedad clínicamente significativa que, incluso, ponga su vida en peligro: encefalitis, hepatitis, pneumonitis y gastroenteropatía necrotizante. La profilaxis se basa en

un protocolo que incluye aciclovir, ganciclovir y globulina iperinmune anti-CMV.

Otra complicación de los alorreceptores son los cánceres, aunque el incremento en la incidencia se restringe a unos pocos tipos histológicos. Los fármacos inmunosupresores no son directamente tumorigénicos ni transformantes, pero inhiben a las células encargadas de reconocer y destruir aquellas transformadas. Los carcinomas de células escamosas en las áreas cutáneas expuestas son los más frecuentes. Son tumores poco o nada agresivos o invasivos, por lo que su tratamiento es la simple excisión local. Evitar o protegerse de la radiación ultravioleta es la medida profiláctica más efectiva. Los linfomas son otros tumores relativamente frecuentes en los receptores, presentando una incidencia entre 10-100 veces superior a los controles. Normalmente son linfomas no Hodgkin de células B y se relacionan, frecuentemente, a transformación maligna inducida por virus de Epstein-Barr (EBV). En personas inmunocompetentes, el virus infecta células B induciendo la proliferación policlonal de las células infectadas. La infección es controlada por células T citotóxicas CD8+ que matan a las células B infectadas. En pacientes inmunodeprimidos la respuesta inmunológica mediada por células T está comprometida, permitiendo que continúe la proliferación policlonal dirigida por el EBV; ello favorece la aparición de mutaciones en algunos clones, con lo que una expansión policlonal en principio benigna se transforma en una proliferación oligoclonal agresiva. Alguno de estos clones puede acumular mutaciones, llegando a convertirse en un linfoma monoclonal. En este estadio, el linfoma puede haber perdido los antígenos viales y hacerse invisible para el control inmunológico. La incidencia de linfomas está directamente relacionada con la cuantía de inmunosupresión recibida. La quimioterapia convencional para los linfomas suele ser ineficaz en estos tumores. Otros tumores con una mayor incidencia en receptores trasplantados son el sarcoma de Kaposi, causado por un herpesvirus tipo 8, y el carcinoma cervical, provocado por un papilomavirus. No se ha detectado incremento en las incidencias de cánceres de mama, de pulmón o de colon, ni en la incidencia de recidivas de tumores previamente extirpados, aunque se recomienda una espera de dos años para trasplantar a un receptor al que se le haya practicado una resección curativa.

TABLA VII Efectos colaterales de los inhibidores de calcineurina		
Factor	Ciclosporina A	tracolumus (FK 506)
Nefrotoxicidad	++ (hipertensión)	++
Neurotoxicidad	+	+
Diabetogenicidad	+	+
Hepatotroficidad	+++	++++
Efectos cosméticos		
hirsutismo	+++	0
hiperplasia gingival	++	0
brutalización facial	+	0
ginecomastia	+	0
Otros efectos		
↑colesterol	++	0
↑ácido úrico	++	+?

Los fármacos inmunosupresores tienen especial relevancia por sus efectos secundarios (**tabla VII**), en particular por su participación en el desarrollo y progresión de enfermedad vascular arteriosclerótica. Desde finales de los años 1970, el fracaso orgánico por rechazo y la infección han perdido protagonismo en la morbilidad y mortalidad del trasplante de órganos; sin embargo, las diversas manifestaciones de la enfermedad aterosclerótica han ganado protagonismo. De hecho, la enfermedad coronaria es la causa principal de mortalidad en la población con trasplantes renal o cardíaco, siendo numerosos los factores que a ello contribuyen. Los glucocorticoides alteran el perfil lipídico y favorecen un cuadro de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, a lo que contribuye la



**Figura 20.** Los pioneros. (A) Los cirujanos: Alexis Carrel (1873-1944); David Hume(1917-1973) y Christian N. Barnard (1922-2001); Joseph E. Murray (n 1920), y Thomas Starzl (n 1926). (B) Los inmunólogos: Peter B. Medawar (1915-1987), Peter A. Gorer (1907-1961), George D. Snell (1903-1996), Jean Dausset (n 1916) y Baruj Benacerraf (n 1920). (C) Los farmacólogos: George H. Hitchings (1905-1998) y Gertrude B. Elion (1918-1999), y el cirujano Roy Y. Calne (n 1930) quién introdujo los inmunosupresores en clínica humana.



ciclosporina. Los glucocorticoides también provocan osteoporosis, y, en los niños, acné y retraso del crecimiento. La ciclosporina provoca hiperplasia gingival y, también, causa hipertensión; esto último por un doble mecanismo: induce la liberación de endotelina por el endotelio vascular e interfiere con la función renal alterando la hemodinámica glomerular y la producción de prostaglandinas. La administración prolongada de ciclosporina puede conducir a daño renal permanente que exige diálisis. Sirolimus y tacrolimus comparten los mismos efectos tóxicos de la ciclosporina, aunque atenuados: hipercolesterolemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial e insuficiencia renal; condición, ésta última, que contribuye a la hipertensión y a la dislipemia. Todo ello contribuye al desarrollo de aterosclerosis de los vasos coronarios, cerebrales, renales y periféricos. El control de este síndrome metabólico es uno de los objetivos básicos del cuidado del trasplantado. Los inhibidores de calcineurina pueden inducir temblor

Debe ponerse especial atención en controlar la glucemia, la función renal y la presión arterial. Los elevados niveles de estrógenos y de progesterona que se alcanzan durante el embarazo interfieren el metabolismo de la ciclosporina. Uno de los beneficios del trasplante de órganos es la restauración potencial de la función reproductora. Con excepción del mofetil micofenolato, el resto de los fármacos inmunosupresores no son teratogénicos. Si se desea evitar el embarazo, son preferibles las barreras contraceptivas a los anticonceptivos orales, aunque estos últimos no están contraindicados.

En el primer capítulo de *El hombre puzzle*, Thomas E. Starzl escribe: «Todo paciente que recibe órganos de otro [o de otros], tanto si es uno o son varios, se convierte en un puzzle. No se trata solamente de que una persona adquiera un hígado o un corazón nuevos; el resto del organismo debe sufrir una profunda adaptación antes de aceptar el nuevo órgano. Además, también cambia la forma de pensar y de ver el mundo. Es imprescindible saber cómo se adaptará física y mentalmente cada paciente. Muchos fallecen en el intento. Algunos descubren un mundo mucho mejor del que hasta entonces habían conocido. Otros se sumergen en un estado en el que su vulnerabilidad se vuelve en su contra, con una agresividad que nunca hubieran imaginado». Si los puzzles son los protago-

nistas de esta historia, un puñado de exploradores, de pioneros, la hicieron posible: Alexis Carrel, Peter Medawar, David Hume o Roy Y. Calne, son buena muestra (**fig. 20**).

---

## BIBLIOGRAFÍA

- Hugh Auchincloss & David H. Sachs (1998) Xenogenic transplantation. *Annual Review of Immunology* **16**: 433-70.
- Fritz H. Bach (1998) Xenotransplantation: problems and prospects. *Annual Review of Medicine* **49**: 301-10.
- The Banff working classification of kidney transplant pathology (1993) International standardization of criteria for the histological diagnosis of renal allograft rejection. *Kidney International* **44**: 411-22,
- Christian N. Barnard (1967) A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *South Africa Medical Journal* **47**: 1271-4.
- Baruj Benacerraf (1980) Nobel Lecture: *The role of MHC gene products in immune regulation and its relevance to alloreactivity*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Rupert E. Billingham (1966) The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lectures 1966-1967*. **62**: 21-78.
- Rupert E. Billingham & Leslie B. Brent (1957) A simple method for inducing tolerance of skin homografts in mice. *Transplantation Bulletin* **4**: 67-71.
- Rupert E. Billingham, Leslie B. Brent & Peter B. Medawar (1953) "Actively acquired tolerance" of foreign cells. *Nature* **172** (4379): 603-6.
- Leslie Brent (2003) The 50<sup>th</sup> anniversary of the discovery of immunologic tolerance. *The New England Journal of Medicine* **349** (14): 1381-3.
- Peter Bretscher & Levin Cohn (1970) A theory of self-nonsel self discrimination. *Science* **169**: 1042-9.
- Frank M. Burnet & Frank Fenner (1949) *The Production of Antibodies*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Frank M. Burnet (1960) Nobel Lecture: *Immunological recognition of self*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Matthew E. Call & Kai W. Wucherpfennig (2005)

The T Cell receptor: Critical role of the membrane environment in receptor assembly and function. *Annual Review of Immunology* **23**: 101-25.

- Jack A. Cannon & William P. Longmire (1952) Studies of successful skin homografts in the chicken. Description of a method of grafting and its application as a technic of investigation. *Annals of Surgery* **155**: 60-8.
- Roy Y. Calne (1960) The rejection of renal homografts: inhibition in dogs by 6-mercaptopurine. *The Lancet* **i**: 417-8.
- Roy Y. Calne (1982) The initial study of the immunosuppressive effects of 6-mercaptopurine and azathioprine in organ transplantation and a few words on Cyclosporin A. *World Journal of Surgery* **6**: 637-40.
- Charles B. Carpenter (2000) Improving the success of organ transplantation (Editorial). *The New England Journal of Medicine* **342** (9): 647-8.
- Alexis Carrel (1902) La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. *Lyon Medicale* **98**: 859.
- Alexis Carrel (1912) Nobel Lecture: *Suture of blood-vessels and transplantation of organs*. En: <http://Nobelprize.org>.
- David K. C. Cooper, Bernd Gollackner & David H. Sachs (2002) Will the pig solve the transplantation backlog? *Annual Review of Medicine* **53**: 133-47.
- James F. Crow (1996) A Golden anniversary: cattle twins and immune tolerance. *Genetics* **144**: 855-9.
- Jean Dausset (1958) Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematologica* **20**: 156-66.
- Jean Dausset (1980) Nobel Lecture: *The Major Histocompatibility Complex in man – Past, present, and future concepts*. En: <http://Nobelprize.org>.
- William J. Dempster, B. Lennox & J. W. Boag (1950) Prolongation of survival of skin homotransplants in the rabbit by irradiation of the host. *British Journal of Experimental Pathology* **31**: 670-9.
- Gertrude B. Elion (1988) Nobel Lecture: *The purine path to chemotherapy*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Xiaohu Fan, Andrew Ang, Stacey M Pollock-BarZiv, Anne I Dipchand, Phillip Ruiz, Gregory Wilson, Jeffrey L Platt & Lori J West (2004) Donor-specific B-cell tolerance after ABO-incompatible infant heart transplantation *Nature Medicine* **10** (11): 1227-33.
- James L. M. Ferrara & H. Joachim Deeg (1991) Graft-versus-host disease. *The New England Journal of Medicine* **324** (10): 667-74.
- James L. M. Ferrara, Kenneth R. Cooke, Luying Pan & Werner Krenger (1996) The immunopatho-physiology of acute graft-versus-host-disease. *Stem Cells* **14**: 473-89.
- Thomas Gibson & Peter B. Medawar (1943) The fate of skin homografts in man. *Journal of Anatomy* **77**, 299-314.
- Peter A. Gorer (1937) The genetic and antigenic basis of tumor transplantation. *Journal of Pathological Bacteriology* **44**: 691-7.
- Carl G. Groth, Leslie B. Brent, Roy Y. Calne, Jean B. Dausset, Robert A. Good, Joseph E. Murray, Norman E. Shumway, Robert S. Schwartz, Thomas E. Starzl, Paul I. Terasaki, E. Donnall Thomas & Jon J. van Rood (2000) Historic landmarks in clinical transplantation: Conclusions from the Consensus Conference at the University of California, Los Angeles. *World Journal of Surgery* **24**: 834-43.
- J. Hamburger, S. Vaysse, J. Crosnier, M. Tubiana, C. M. Lalanne, B. Antoine, J. Auvert, P. Soulier, J. Dormont, C. Salmon, M. Maisonnnet & J. L. Amiel (1959) Transplantation d'un rein entre jumeaux non monozygotes après irradiation du Receveur. Bon fonctionnement au quatrième mois. *Presse Medicale* **67**: 1771-6.
- David M. Hume, John P. Merrill, Benjamin F. Miller & George W. Thorn (1955) Experiences with renal homotransplantations in the human: report of nine cases. *Journal of Clinical Investigation* **34**: 327-82.
- Julie R. Ingelfinger & Robert S. Schwatz (2005) Immunosuppression. *The New England Journal of Medicine* **353** (8): 836-8.
- B. D. Kahan (1983) Cosmas and Damian revisited. *Transplantation Proceedings* **15** (4, suppl. 1): 2211-6.
- N Kashiwagi, K A Porter, I Penn, L Brettschneider, Thomas E. Starzl (1969) Studies of homograft sex and of gamma globulin phenotypes after orthotopic homotransplantation of the human liver. *Surgical Forum* **20**: 374-6.
- Jan Klein & Akie Sato (2000) The HLA system (2 parts). *The New England Journal of Medicine* **343** (10): 702-9, y **343** (11): 782-6.
- Karl Landsteiner (1930) Nobel Lecture: *On individual differences in human blood*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Arthur Lehrman (1994) The miracle of St. Cosmas

- and St. Damian. *Plastic and Reconstructive Surgery* **94** (1): 218-21.
- Frank R. Lillie (1916) The theory of the free-martin. *Science* **45**: 611-3.
  - R. J. Ludford (1931) Resistance to growth of transplantable tumors. I. Influence of vital staining on induced resistance; y II. Influence of dyestuffs and colloids on natural resistance. *British Journal of Experimental Pathology* **12**: 45-9, y 108-13.
  - Joan M. Main & Richmond T. Prehn (1955) Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow. *Journal of National Cancer Institute* **15**: 1023-9.
  - Peter B. Medawar (1944) The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *Journal Anatomy* **78**: 176-199.
  - Peter Medawar (1960) Nobel Lecture: *Immunological tolerance*. En: <http://Nobelprize.org>.
  - John P. Merrill, Joseph E. Murray, Hartwell Harrinson & Warre R. Guild (1956) Successful homotransplantations of the human kidney between identical twins. *JAMA* **160** (4): 277-282.
  - John P. Merrill, Joseph E. Murray, Hartwell Harrinson, E A. Friedman, J B. Dealy & G W. Dammin (1960) Successful homotransplantations of the kidney between non identical twins. *The New England Journal of Medicine* **262**: 1251.
  - K. K. Mittal, M. R. Mickey, D. P. Singal & P. I. Terasaki (1968) Serotyping for homotransplantations. XVIII: Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. *Transplantation* **6** (8): 913-27.
  - P Mollaret & M Goulon (1959) Le coma dépassé. *Rev Neurol* **101**(1):3-15.
  - Francis D. Moore (1964) *Give and Take: The Development of Tissue Transplantation*. W. B. Saunders, Philadelphia.
  - Peter J. Morris (2004) Transplantation – A medical miracle of the 20<sup>th</sup> Century. *The New England Journal of Medicine* **351** (26): 2678-80.
  - Peter J. Morris & William C. Wood, eds. (2000) *Oxford Textbook of Surgery*, 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, Oxford. Section 16: Transplantation - 16.1 Hugh Auchinclos, *Basic transplantation immunology*, pág. 609-24; 16.2 Francis L. Delmonico, *Organ procurement*, pág. 625-44; 16.3 Vernon Marshall et al., *Organ and tissue preservation for transplantation*, pág. 645-60; 16.4 Peter J. Morris, *Immunosuppression*, pág. 661-70.
  - Michael W. Mulholland, Keith D. Lillemoe, Gerard M. Doherty, Ronald V. Maier & Gilbert R. Upchurch, eds. (2006) *Greenfield's Surgery. Scientific Principles and Practice*, 4<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Section B: Transplantation – Chap. 35 Jonathan S. Bromberg et al., *Transplant immunology*, pág. 531-62; Chap. 36 Robert M. Merion, *Organ preservation*, pág. 563-80.
  - Joseph E. Murray (1990) Nobel Lecture: *The first successful organ transplants in man*. En: <http://Nobelprize.org>.
  - Joseph E Murray, John P Merrill, J. Hartwell Harrinson (1955) Renal homotransplantations in identical twins. *Surgical Forum* **6**: 432-.
  - Joseph E Murray, John P Merrill, Hartwell Harrinson, R. E. Wilson, Gustave J. Dammin, James B. Dealy, Guy W. Alexandre & J. Hartwell Harrinson (1962) Kidney transplantation in modified recipients. *Annals of Surgery* **156** (3): 337-55.
  - Joseph E Murray, John P Merrill, Hartwell Harrinson, R. E. Wilson & Gustave J. Dammin (1963) Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *The New England Journal of Medicine* **268**: 1315-23.
  - Jeffrey A. Norton, R. Randal Bollinger, Alfred E. Chang, Stephen F. Lowry, Sean J. Mulvihill, Harvey I. Pass & Robert W. Thompson, eds (2000) *Surgery. Basic Science and Clinical Evidence*. Springer-Verlag, Inc., New York. Section 6: Transplantation – 61 Thomas E. Starzl, *A history of clinical transplantation*, pág 1379-402; 62 Allan D. Kirk, *Immunology of transplantation*, pág. 1403-28; 63 J. Richard Thistlethwaite et al., *Rejection*, pág. 1429-36; 64 J. E. Tuttle-Newhall et al., *Principles of organ preservation*, pág. 1437-48.
  - Novartis Transplant: John D. Pirsch & Carlos A. G. Machado, *Clinical symposia*. En: <http://www.novartis-transplant.com> (Visitado: 19/07/2004; 20/2/2007, no disponible).
  - Jagdeep S. Obhrai & Fadi G. Lakkis (2004) Transplantation tolerance: babies take the first step. *Nature Medicine* **10** (11): 1165-6.
  - Ray D. Owen (1945) Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* **102**: 400-1.
  - Cristobal Pera (2006) *Pensar desde el cuerpo. Ensayo sobre la corporeidad humana*. Triacastela, Madrid.

- Carol J. Phelps, Chihiro Koike, Todd D. Vaught, Jeremy Boone, Kevin D. Wells, Shu-Hung Chen, Suyapa Ball, Susan M. Specht, Irina A. Polejaeva, Jeff A. Monahan, Pete M. Jobst, Sugandha B. Sharma, Ashley E. Lamborn, Amy S. Garst, Marilyn Moore, Anthony J. Demetris, William A. Rudert, Rita Bottino, Suzanne Bertera, Massimo Trucco, Thomas E. Starzl, Yifan Dai & David L. Ayares (2003) Production of  $\alpha$ 1,3-galactosyltransferase deficient pigs. *Science* **299**: 411-4.
- Douglas B. Price (1976) Miraculous restoration of lost body parts: relationship to the phantom limb phenomenon and to limb-burial superstition and practices. En: Wayland D. Hand, ed. *American folk medicine. A Symposium: UCLA Conference on American Folk Medicine, 1973*. University of California Press, Berkeley; pág. 49-71.
- Keith Reemtsma, Brian H. McCracken, Jorgen U. Schlegel, Maurice A. Pearl, C. W. Pearce, C. W. DeWitt, P. E. Smith, R. L. Hewitt, R. L. Flinner & O. Creech (1964) Renal heterotransplantation in man. *Annals of Surgery* **160**:384-410.
- E. Rinaldi (1987) The first homoplastic limb transplant according to the legend of Saint Cosmas and Damian. *Italian Journal of Orthopedics and Traumatology* **13** (3): 393-406.
- Markus G. Rudolph, Robyn L. Stanfield & Ian A. Wilson (2006) How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. *Annual Review of Immunology* **24**: 419-66.
- Robert Schwartz, Janice Stack & William Dameshek (1958) Effect of 6-mercaptopurine on antibody production. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* **99**: 164-7.
- Robert Schwartz & William Dameshek (1959) Drug-induced immunological tolerance. *Nature* **183** (4676): 1682-3.
- Robert Schwartz & William Dameshek – with the technical assistance of Janice Donovan (1960) The effects of 6-mercaptopurine on homograft reactions. *Journal of Clinical Investigation* **39**: 952-8.
- Lesley A. Sharp (2000) The commodification of the body and its parts. *Annuals Review of Anthropology* **29**: 287-328.
- George D. Snell (1980) Nobel Lecture: *Studies in histocompatibility*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Gérard Socié (2005) Graft-versus host disease – From bench to the bedside (Editorial). *New England Journal of Medicine* **353** (13): 1396-7.
- Thomas E. Starzl (1992) *The Puzzle People. Memoirs of a Transplant Surgeon*. University of Pittsburgh Press, Pittsburgh, Pa., USA. Traducción española («El Hombre Puzzle. Memorias de un cirujano de trasplantes») de Ramón Estruch Riba, para J. R. Prous Editores S. A., Barcelona, 1994.
- Thomas E. Starzl (2000) History of clinical transplantation. *World Journal of Surgery* **24**: 759-82.
- Thomas E. Starzl (2004) Chimerism and tolerance in transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101** (Suppl. 2): 14607-14.
- Thomas E. Starzl & Anthony J. Demetris (1998) Transplantation tolerance, microchimerism, and the two-way paradigm. *Theoretical Medicine and Bioethics* **19**: 441-55.
- Thomas E. Starzl, Anthony J. Demetris, Noriko Murase, Suzanne Ildstad, Camillo Ricordi & Massimo Trucco (1992) Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *The Lancet* **339**: 1579-82.
- Thomas E. Starzl, Noriko Murase, Kareem Abu-Elmagd, Edward A. Gray, Ron Shapiro, Bijan Eghtesad, Robert J. Corry, Mark L. Jordan, Paulo Fontes, Tim Gayowski, Geoffrey Bond, Velma P. Scantlebury, Santosh Potdar, Parmjeet Randhawa, Tong Wu, Adriana Zeevi, Michael A. Nalesnik, Jennifer Woodward, Amadeo Marcos, Massimo Trucco, Anthony J. Demetris & John J. Fung (2003) Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *The Lancet* **361**: 1502-10.
- Thomas E. Starzl, K. A. Porter, G. Andres, C. G. Halgrimson, R. Hurwitz, G. Giles, P. I. Terasaki, I. Penn, G. T. Schroter, J. Lilly, S. G. Starkie & C. W. Putnam (1970) Long-term survival after renal transplantation in humans: With special reference to histocompatibility matching, thymectomy, homograft glomerulonephritis, heterologous ALG, and recipient malignancy. *Annals of Surgery* **172**: 437-72.
- Thomas E. Starzl & Rolf M. Zinkernagel (1998) Antigen localization and migration in immunity and tolerance. *The New England Journal of Medicine* **339** (26): 1905-13.
- Thomas E. Starzl & Rolf M. Zinkernagel (2001) Transplantation tolerance from a historical perspective. *Nature Reviews Immunology* **1**: 233-9.
- Paul I. Terasaki, Domenico Bernoco, Min Sik Park, Gungor Ozturk & Yuichi Iwaki (1978) Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C, and -D antigens: The Philip Levine Award Lecture. *American Journal of Clinical Pathology* **69** (2): 103-20.

- Paul I. Terasaki & John D. McClelland (1964) Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* **204**: 998-1000.
- Nicholas L. Tilney (2003) *Transplant. From Myth to Reality*. Yale University Press, New Haven.
- Helene W. Toolan (1953) Conditioning of the host. *Journal of National Cancer Institute* **14**: 745-61.
- Herman Waldmann (1999) Transplantation tolerance – where do we stand? *Nature Medicine* **5** (11): 1245-8.
- Thomas Wekerle & Megan Sykes (2001) Mixed chimerism and transplantation tolerance. *Annual Review of Medicine* **52**: 353-70.
- Eelco F. M. Wijdicks (2001) The diagnosis of brain death. *The New England Journal of Medicine* **344** (16): 1215-21.
- Kathryn Wood & David H. Sachs (1996) Chimerism and transplantation tolerance: cause and effect. *Immunology Today* **17** (12): 584-8.
- Rolf M. Zinkernagel (1996) Nobel Lecture: *Cellular immune recognition and the biological role of major transplantation antigens*. En: <http://Nobelprize.org>.
- Charles F. Zukoski, H M. Lee & David M. Hume (1960) The prolongation of functional survival of canine renal homografts by 7-Mercaptopurine. *Surgical Forum* **11**: 470-2.
- Artículo de revision o libro.