



## Semana de Congresos y Jornadas Nacionales 2017

*"Por un niño sano en un mundo mejor"*

24, 25, 26, 27 y 28 de abril de 2017

Panamericano Buenos Aires Hotel & Resort – Carlos Pellegrini 551 – Ciudad de Buenos Aires

EXE Hotel Colón – Carlos Pellegrini 507 - Ciudad de Buenos Aires



### MESA REDONDA

**Trasplante Hepático:  
lecciones adquiridas con la experiencia**

# Inmunotolerancia: ¿es el futuro?

*Carolina Rumbo, MD*

*Hepatóloga y Gastroenteróloga Infantil*

*Instituto de Trasplante Multiorgánico- FUNDACIÓN FAVALORO*

[crumbo@ffavaloro.org](mailto:crumbo@ffavaloro.org)



# Inmunotolerancia

Tolerancia operacional: sobrevida del injerto con función e histología normal en huésped inmuno-competente como resultado de retirar inmunosupresión en forma completa.



# Inmunotolerancia: ventajas

Minimización y suspensión de IS especialmente atractivo en Tx hepático:

- Órgano sólido inmuno-regulatorio (alto número de CPA, céls de hematopoyesis extramedular)
- Match D-R poca importancia HLA
- RCA (sin importar severidad) no pone en peligro la vida
- RCA habitualmente revertido totalmente con medicación
- El injerto se recupera del RCA sin fibrosis significativa, alteración estructural importante o pérdida de función.

- **La Tolerancia Inmune Natural no está definida genéticamente.**
- **Se adquiere durante el desarrollo fetal y postnatal**
- **Depende de mecanismos llevados a cabo en órganos centrales (timo y MO) y en la perifería (bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide intestinal)**

# Céls T regulatorias

- Se definen por su capacidad funcional de suprimir la respuesta inmune.
- Ejemplo clásico: marcadores CD4, CD25, FOXP3.
- Por proceso natural se generan en el TIMO
- Adaptativas o inducidas: provienen de CélsT CD4CD25- que adquieren perfil particular.



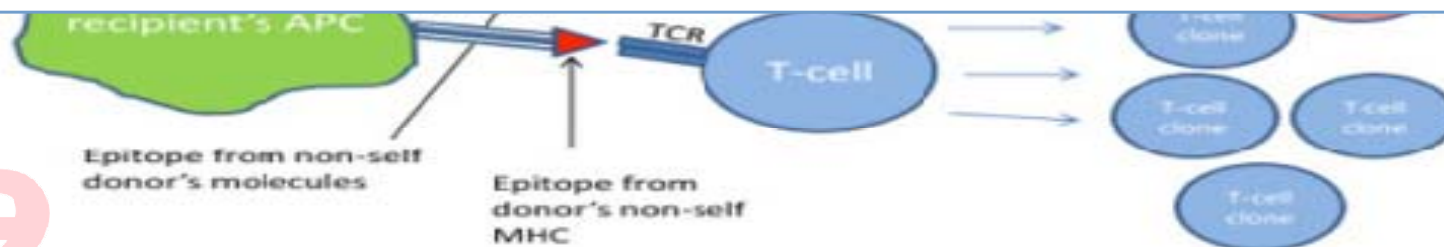
# FOXP3 el gen maestro de células reguladoras

- El gen **FOXP3** humano está localizado en la región cromosómica Xp11.23. Es expresado principalmente en tejidos linfoides como **timo, bazo y ganglios linfáticos y células CD4+CD25.**
- Identificado en ratones en 1959 y en el humano en 2001.
- Su deficiencia está asociada a **trastornos autoinmunes y linfoproliferativos severos.** Ej (en humanos) síndrome IPEX= inmunodisregulación poliendocrinopatía y endocrinopatía ligada al X .

# Trasplante: Rechazo

En ausencia de Células Treg, **Células T efectoras** reconocen aloantígenos presentados por **Células Presentadoras de Antígenos (APC)** directamente

**Células T reguladoras** inhiben la función de APC.  
Secretan TGF- $\beta$ , IL10 y adenosina  
que inhibe las Células T efectoras  
Causando **anergia o tolerancia**  
hacia el injerto



# Inmunotolerancia en TX

- 1era evidencia 1970, TOLERANCIA OPERATIVA POR no adherencia
- Reportes anecdóticos de suspensión IS con TO por embarazo, infección, PTLD o no adherencia.



*Tzakis AD et al, J Pediatr Surg. 1994*  
*Starzl TE et al, Hepatology. 1993*  
*Ramos HC et al, Transplantation 1995*



# Tolerancia en TX: Experiencia Mundial

Centro/ # PAC	ADULTO/ PEDS	CAD / DVR	INMUNOSUP	Años post tx- suspensión	Tolerancia
Pittsburgh/ 95	Ambos	CAD	TAC/CICLO+ AZA	8,4	19%
Londres/ 18	Adultos	CAD	TAC/CICLO+ AZA	7	28%
Kyoto/ 115	Ped	DVR	TAC	>2	42%
Murcia/ 9	Adultos	CAD	CICLO	5,1	33%
Roma/ 34 (HCV)	Adultos	CAD	CICLO	5,3	23%
New Orleans/ 18	Adultos	CAD	TAC	>0,5	6%
Miami/ 104	Adultos	CAD	TAC O CICLO	4	23%
Barcelona/ 102	Adultos	CAD	TAC O CICLO	7,9	40%

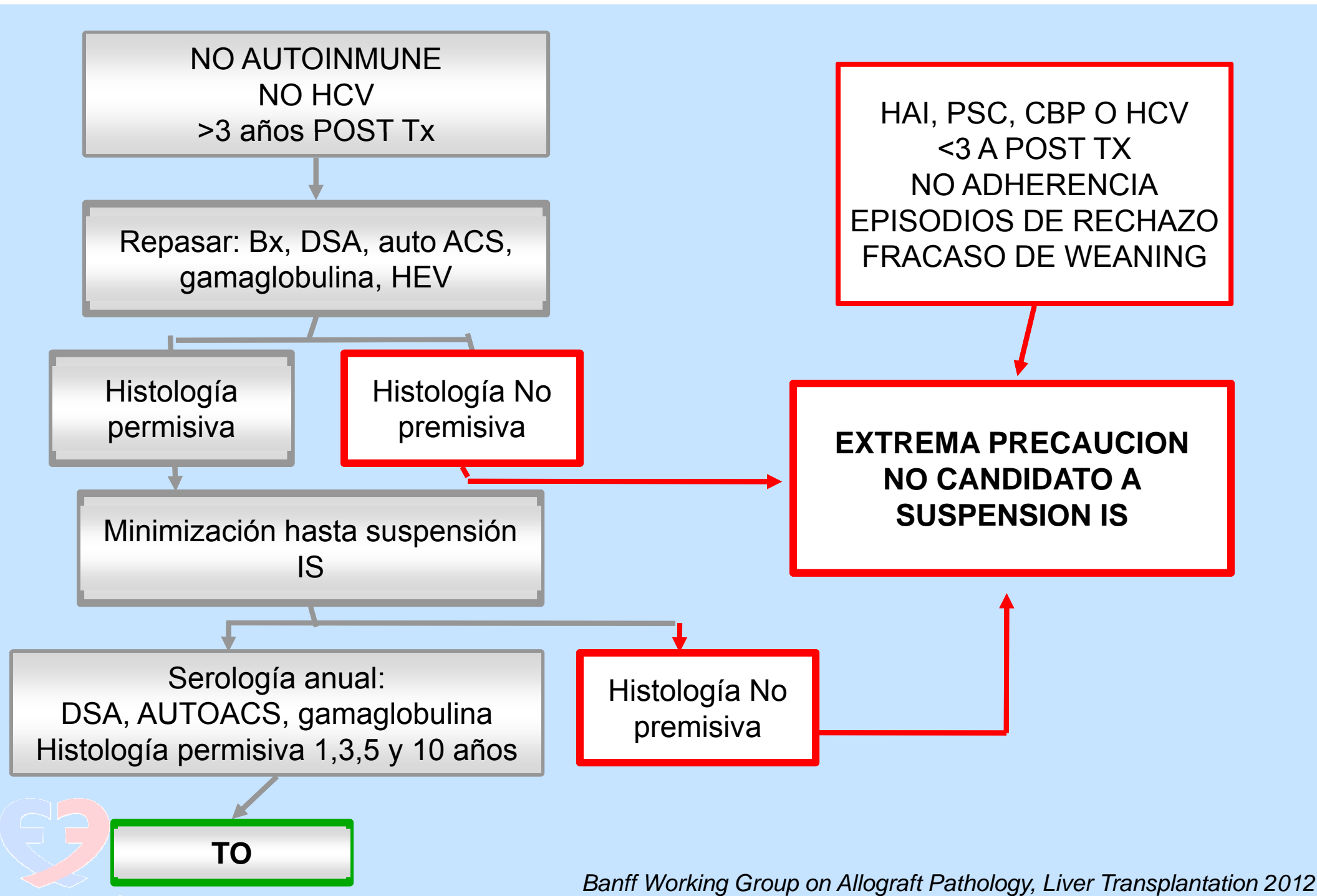
# Tolerancia, Experiencia Mundial: rasgos de pacientes tolerantes

- Inmunofenotipo en sangre periférica por citometría de flujo:
  - > cantidad de Linf T= CD4+ CD25<sup>HIGH</sup> FOXP3
  - Céls dendríticas “regulatorias” (DC2 o CD11c)
  - Céls B CD19+
- Inmunosupresión Tolerogénica inducción c Timoglobulina alentuzumab y mantenimiento c inhibidores mTOR
- Sin embargo aún no hay guías o herramientas predictivas de tolerancia disponibles para uso clínico



# Camino a la Tolerancia: alertas histológicas

Compartimiento	Hallazgo
<b>Inflamación Portal y actividad de Interfase</b>	Si aumentado (especialmente si comparado c bx pre), no reducir IS
<b>Inflamación perivenular y centrozonal</b>	Sólo se admite MINIMA inflamación Alerta si aumento respecto a bx previas
<b>Alteración conductos biliares</b>	Ductopenia sin otra explicación (estenosis), cambios en céls epiteliales de ductos
<b>Fibrosis</b>	Si aumenta en bx consecutivas. Inicio o aumento de fibrosis perivenular. Sólo se admite F LEVE para descenso IS
<b>Arterias</b>	Cualquier evidencia de arteriopatía obliterativa o células espumosas



# Tolerancia: importancia de monitoreo histológico

- Desde 2003 realizan Bx de protocolo 1, 2, 5, 10 años
- Criterios histológicos:
  - Rechazo agudo y crónico= Criterios de BANFF
  - Fibrosis (Tricrómico de Masson)= criterio de Ishak modificado
  - Ductopenia Tinción de citoqueratina 7
- Resultados
  - TOL sin hallazgos histológicos de RCA o crónico

# Tolerancia: importancia del monitoreo histológico

**Probablemente la fibrosis en TOL sea inmuno-mediada**

Considerar:

Error de muestreo

Poco tiempo de seguimiento

Bajo número de pacientes

# Herramientas para Tolerancia

- Establecer **quimerismo** donante-receptor usando células **precursoras linfoides y mieloides del donante**.
- Quiescencia inmunológica **temprana** (supresión de cél T efectoras alloreactivas y mediadores de inflamación) **terapia de inducción potente y minimización de daño por isquemia y reperfusión**.
- **Inactivación** de los clones inmunoreactivos por **agotamiento** usando **inmunosupresión reducida o drogas de mantenimiento inductores de tolerancia**.
- **Expandir céls T reguladoras** (CD4+, CD25, FOXP3) y **céls dendríticas inmaduras para favorecer la inmunoregulación sobre la reactividad**.

# Herramientas para Tolerancia: Quimerismo

- Macroquimerismo: técnicas mieloablativas + Tx céls madre hematopoyéticas + Tx órgano sólido conjunto o sucesivo mismo donante
- Alto riesgo de GVHD
- Solo justificado con indicación oncohematológica
- 10 casos de niños con tx simultáneo o sucesivo hígado/céls madre DVR (hepatoblastoma c MTS/ FHF+ aplasia medular) condicionamiento= 8 mieloablación y 2 irradiación
- Quimerismo completo y estable 8/10.





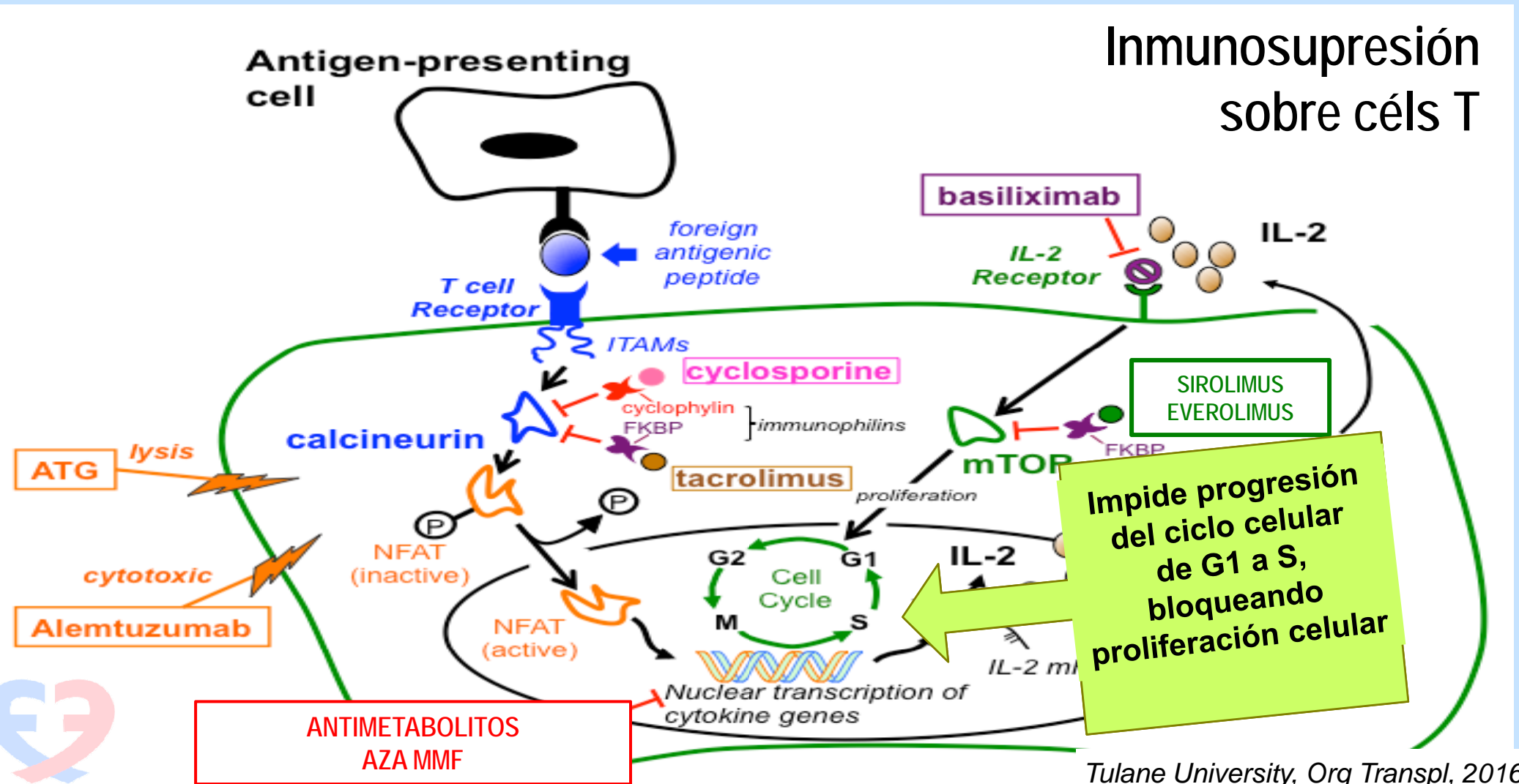
# Herramientas para Tolerancia

- Isquemia /reperfusión
  - Induce elaboración de citoquinas proinflamatorias (TNF $\alpha$ )→ promueve la presentación de aloantígenos e inhibe la inmunoregulación
- Reducción de daño I/R
  - Precondicionamiento del donante
  - Administración de citoquinas
  - Precondicionamiento isquémico
  - Administración de antioxidantes



# Herramientas para Tolerancia

## Selección de Inmunosupresión



# Herramientas para Tolerancia

## Selección de Inmunosupresión Inhibidores mTOR

- Suprimen las céls T aloreactivas, **(in vitro)** aumentan la generación de céls Treg.
- Inhibe maduración céls dendríticas, inhibe la endocitosis de antígenos e impide la formación de CPA.
- Las Cels Dendríticas inmaduras promueven la expansión de céls Treg CD4=CD25<sup>HIGH</sup> FOXP3+.
- En cultivos celulares, la adición de Ciclosporina A, Tacrolimus, Daclizumab, o acs monoclonales anti-CD25, inhiben en un 70-90% la transcripción de FOXP3, efecto no observado adicionando Rapamicina.

*Segundo DS et al, Transplantation 2006; 82: 550-555*

*Hendrikx TK et al, Transpl Int 2009; 22: 884-891*

# Herramientas para Tolerancia

## Uso de Biomarcadores

- **Patente inmunológica** permite detectar pacientes pro **tolerantes**, **monitorear** la persistencia de la hiporespuesta o anergia del receptor hacia antígenos del injerto **antes, durante y post suspensión de inmunosupresión.**
- Permitiría **disminuir** el núm. de **intentos frustrados** de suspensión y el núm. de **rechazos.**
- **Campo en amplio desarrollo**, no existe único biomarcador que pueda reflejar los procesos del sistema inmune en TX. Se requiere de panel de biomarcadores. Varios identificados en estudios individuales, requieren de validación.

# Perspectivas Futuras

## Diferentes enfoques en desarrollo:

- Terapias celulares basadas en generar TO a través de cultivar e infundir Cels Treg (TO periférica).
- Infusión de cels madre mesenquimatosas.
- Uso de moléculas derivadas de microorganismos para evitar la respuesta inmune hacia el injerto, ej péptido *Sj16* derivado de *Schistosoma japonicum*- parásito- mostró (*in vitro e in vivo*) capacidad para inducir multiplicación de Cels Treg CD4CD25 vía IFN e IL10.

*Moreau A et al, Transplant Res 2012*

*Casiraghi et al, Curr Opin Organ Transplant 2013*

*Sun HJ et al, Parasite Immunol 2012*

# Inmunotolerancia: es el f-

Protocolos de intervención

momento del traspl

e inmunol

presión

(y mantenimiento) y

biomarcadores para monitoreo

post suspensión anticipando pérdida de

tolerancia

**Aun hay largo camino por recorrer!**





## Semana de Congresos y Jornadas Nacionales 2017

*"Por un niño sano en un mundo mejor"*

24, 25, 26, 27 y 28 de abril de 2017

Panamericano Buenos Aires Hotel & Resort – Carlos Pellegrini 551 – Ciudad de Buenos Aires

EXE Hotel Colón – Carlos Pellegrini 507 - Ciudad de Buenos Aires



### MESA REDONDA

# Muchas gracias por su atención!

*Carolina Rumbo, MD*

*Hepatóloga y Gastroenteróloga Infantil*

*Instituto de Trasplante Multiorgánico- FUNDACIÓN FAVALORO*

[crumbo@ffavaloro.org](mailto:crumbo@ffavaloro.org)



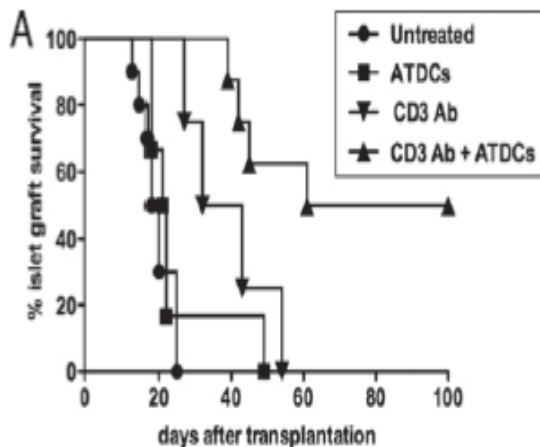
# Perspectivas en desarrollo

- Cultivo e infusión de céls Treg en el Tx
  - Dosis óptima de cels Treg
  - Es igual la pureza y estabilidad de las céls Treg en cultivo e in vivo
  - T reg pueden tener rol en enf virales y cáncer, cuidadoso screening del receptor
  - Monitoreo y seguimiento cercano con screening autoinmune, histología para asegurar que la OT perdure



# Perspectivas Futuras

- Expansión de céls dendríticas + bloqueo inmune Acs CD3
  - Céls dendríticas inducen hiporeactividad de céls T contra aloantígenos y favorecen la expansión periférica de céls Treg (FOXP3).
  - Acs anti CD3 **fase 1 Inducción** eliminación por apoptosis y señal de acs cel T efectoras, con preservación de Cels T reg y **fase 2 de Reconstitución** Inmune expansion de cel T reg especificas, que llevan a mantener en el tiempo la anergia.
  - Protocolo experimental en ratas: CDA de MO receptor, cultivadas x 8 días
  - TX islotes pancreáticos mismatch +1 infusion CDA+ CD3acs/día x 5 días (empezando en día -1).



Group	Mean survival
Untreated	19.6 ± 0.9
ATDCs	24.9 ± 4.5
CD3 Ab	38.9 ± 6.1
CD3 Ab + ATDCs	77.4 ± 10.7

ns  
p=0,0025  
p=0,028  
p<0.0001