AC&T CIENTÍFICA®

O Papel dos Mediadores Inflamatórios na Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro

The Role of Inflammatory Mediators in Graft-Versus-Host-Disease

José Augusto Gonçalves Aleixo[1]; Claudio Luiz Castro Gomes de Amorim[2]

Resumo

Uma das principais complicações após o transplante alogênico de medula óssea é a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). Este quadro patológico surge em decorrência de células imunocompetentes, da medula enxertada, atacarem diferentes tecidos do receptor, aumentando os índices de morbidade e mortalidade em indivíduos transplantados.

Atualmente sabe-se que diferentes componentes imunológicos participam tanto da forma aguda quanto da forma crônica da patologia. O estudo a seguir tem por finalidade descrever o papel dos mediadores inflamatórios na patogênese da DECH.

Abstract

One of the maim complications after allogeneic bone marrow transplantation is graft-versus-host disease (GVHD). This pathological picture emerges because of immunocompetent cells, bone graft, attack different tissues of the recipient, increasing the morbidity and mortality in transplanted patients.

Currently it is known that different immune components involved in both the acute and the chronic form of the disease. The following study aims to describe the role of inflammatory mediators in the pathogenesis of GVHD.

Palavras-chave: DECH, Citocinas, Imunopatologia

[1]Pós.graduando em Hematologia e Banco de Sangue – AC&T – São José do Rio Preto e Biomédico do laboratório de análises Clínicas – Biolab – Bauru
[2]Acadêmico do curso de Medicina da Universidade do Oeste do Paraná - UNIOESTE

Correspondência para:
José Augusto Gonçalves Aleixo
Av. Paranoá, 298 – Portal do Lago
17400-000 - Garça - SP
Tel. (14) 3471-1870/9636-1590
E-mail: joseaugustoaleixo@yahoo.com.br

Introdução

Uma das principais complicações após o transplante de medula óssea (TMO) alogênico é a DECH, sendo esta a principal causa de morbidade e mortalidade após este tipo de procedimento.

A DECH é descrita como uma reação, especialmente, de monócitos e linfócitos T, provenientes do enxerto, contra diferentes tecidos do organismo do receptor, resultando em manifestações diversas de acordo com o tecido acometido. Além das células envolvidas, destacam-se também, as citocinas inflamatórias, as quais são liberadas durante o regime de condicionamento.

Os mediadores inflamatórios envolvidos na DECH atuam na ativação de células T, provenientes do doador, estas por sua vez produzem diferentes citocinas, induzindo a ação de linfócitos T efetores, linfócitos NK (Natural Killer) e fagócitos mononucleares, levando ao processo de lesão tecidual nos casos de DECH aguda (DECH-A).

Diferentemente da DECH-A, a DECH crônica (DECH-C) envolve processos mais complexos, os quais compreendem a auto-imunidade, onde células T auto-reativas geram citocinas, diferentes das geradas na DECH-A, que atuam diretamente na sensibilização de linfócitos B e consequentemente na produção de anticorpo auto-reativos.

Histórico

O TMO despertou maior interesse dos pesquisadores, principalmente, após o uso das armas atômicas de Hiroshima e Nagasaki, devido ao efeito da irradiação na população. (VIGORITO, 1998).

Jacobson, em 1949, descobriu um efeito de proteção do tecido hematopoiético presente no baço, após uma irradiação letal feita em ratos, posteriormente, em 1952, Lorenz demonstrou que a proteção, anteriormente observada, poderia também ser conferida com infusão endovenosa de medula óssea, possibilitando o repovoamento da medula irradiada. (ARANHA, 2002).

Em 1960, Thomas introduziu o conceito de rejeição de órgãos, tornando evidente o fato da irradiação não eliminar, por completamente, o sistema imunológico do receptor, possibilitando que linfócitos residuais possam rejeitar o enxerto.

Thomas ainda contribuiu com as pesquisas na área do TMO, em 1962, após observar, por várias vezes, o surgimento de uma síndrome secundária tanto em modelos animais quanto em

humanos, somente após a “pega” do enxerto. Está síndrome caracterizava-se por perda de peso, diarréia e lesões em pele e fígado, este fato induziu o pesquisador a acreditar que tais manifestações se tratassem de uma reação do enxerto contra o hospedeiro.

A reação descrita por Thomas se tornou concreta ao ser observado certa infiltração linfocitária nos tecidos acometidos e também devido ao aumento do tecido linfóide no enxerto. Após os estudos de Thomas, Billigham definiu três cristérios PA a presença da DECH, os quais foram:

- O enxerto deve possuir células imunocompetentes
- O receptor apresenta antígenos reconhecidos como não próprios pelas células imunocompetentes da medula óssea, dando origem a uma síndrome secundária ao TMO.
- O receptor é incapaz de elaborar uma resposta imune com potencial para destruir as células do enxerto. (FERRARA, 1991).

Diversas foram as tentativas feitas para aliviar os efeitos do enxerto contra o hospedeiro, porém, o uso do Metotrexate (MTX) no período pós TMO, promoveu melhora não somente na “pega” do enxerto, mas também na diminuição da freqüência da DECH.

Com o advento da biologia molecular, a descoberta dos antígenos HLA do complexo principal de histocompatibilidade e o uso do MTX, os efeitos da DECH foram muito reduzidos a partir da década de 70 e a cada ano são ainda mais amenizados devido a adição de complementos terapêuticos como esteróides, globulina antitimocítica e imunossupressores como a ciclosporina (CSPA). (ARANHA, 2002).

Hoje em dia a toxicidade do TMO apresenta-se muito mais baixa, devido a melhor seleção dos candidatos, melhora na sensibilidade das metodologias de tipagem HLA e compatibilidade (PERRY,1996), contribuindo para redução da morbidade e mortalidade pós transplante.

Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda (DECH-A)

A DECH-A ocorre nos primeiros 100 dias após o TMO, especialmente entre os dias +20 e +40. Os principais alvos são o fígado, intestino e a pele. As lesões se encontram principalmente nos tecidos epiteliais dos órgãos acometidos. (FERRARA, 1991; ARAI, 2000).

Os principais sintomas são descritos a seguir na tabela 1, de acordo com o órgão acometido.

Tabela 1: Principais Sintomas Clínicos da DECH-A de Acordo com o Órgão Acometido.

Órgão Acometido	Sintomas Clínicos
Pele	Dermatite, RASH Cutâneo Maculopapular Eritematoso, Eritrodermia Bolhosa e Descamação.
Fígado	Destruição Hepatocelular gerando Déficit na conjugação de bilirrubinas, Icterícia, Aumento das Transaminases e da Fosfatase Alcalina.

Intestino	Interites com Diarréia, Dor Abdominal e Síndrome do Íleo Paralítico.

A prevalência de DECH-A varia entre 30% e 60%, de acordo com o grau de histocompatibilidade entre receptor e doador, grau de parentesco do doador, quantidade de células T presentes no enxerto, idade, sexo, gestações prévias do receptor e o regime de condicionamento em que o receptor foi submetido. (WEISDORF, 1991).

Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Crônica (DECH-C)

A DECH-C tem como característica o aparecimento após o centésimo dia do transplante alogênico de medula óssea, aparentado ou não. Histologicamente possui padrões de fibrose, as quais ocorrem especialmente no fígado, pele, pulmões e no trato gastrintestinal (TGI). Além da fibrose, ainda observa-se certo grau de imunodeficiência e presença de anticorpos auto-reativos.

A prevalência da DECH-C varia entre 60% e 80% dos pacientes submetidos aos TMO com sobrevida maior que 100 dias após o procedimento. Alguns fatores como desenvolvimento de DECH-A, incompatibilidade HLA quanto aos antígenos menores, quantidade de células T no enxerto, nível de imunossupressão e a presença de lesões teciduais decorrentes de radioterapia, quimioterapia ou até mesmo infecção por citomegalovírus, podem aumentar, substancialmente, o risco de desenvolvimento de DECH-C (SULLIVAN, 1991; SHERER, 1998).

A DECH-C é decorrente de uma desregulação dos linfócitos B e T, desta forma assemelha-se a uma síndrome auto-imune, especialmente do tecido conjuntivo, onde linfócitos T CD4+ pós tímicos produzem mediadores químicos que induzem a resposta auto-reativa de padrão Th2.

O desenvolvimento fisiopatológico da DECH-C não é muito bem compreendido, porém, sabe-se que a mesma ocorre por dois caminhos, os quais são:

- Alo-Reatividade (Antígenos menores do sistema HLA)
- Auto-Reatividade (Presença de Auto-Anticorpos). (VOGELSANG, 2001).

Pressupõe-se que o processo fisiopatológico da DECH-C envolva a perda da sensibilidade imunológica, levando a perda da capacidade de seleção negativa, o que coloca na circulação linfócitos T CD4+ Auxiliares (T. Helper/Th), o que acabam sensibilizando mais células e consequentemente originam uma resposta imune efetora contra as células do próprio organismo dirigindo a elas anticorpos auto-reativos.

Papel dos Mediadores Inflamatórios na Imunopatologia da DECH

Uma pessoa é imunologicamente diferente de outra a expressão de proteínas de superfície celular especificas, estas proteínas são codificadas pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC), o qual em humanos é denominado de antígenos leucocitários humanos (HLA).

O HLA possui antígenos que podem induzir dois tipos de reações imunológicas, sendo um do hospedeiro contra o enxerto, ocasionado a rejeição do enxerto, e outro do enxerto contra o hospedeiro ocasionando a DECH.

No caso da DECH-A os linfócitos T CD4 + (helper/Th) do enxerto assumem grande importância no surgimento do quadro. Os linfócitos Th podem induzir a dois tipos de respostas imunológicas, iniciando uma resposta celular (padrão Th1) ou humoral (padrão Th2). Os padrões de respostas imunes apresentam regulação cruzada, onde uma célula possui a capacidade de regular outro tipo celular. (ABBAS, 1966).

O padrão de respostas imunológicas Th1 caracteriza fisiopatologicamente, A DECH- A. O processo imunopalógico envolvido nesta doença se divide em duas fases (Aferente: onde há apresentação antigênica, ativação e proliferação de células T. Eferente: onde ocorre a resposta imune propriamente dita) as quais se encontram divididas em três etapas, as quais são descritas na tabela 2.

Tabela 2: Etapas do Processo de Surgimento da DECH-A.

Etapas	Processo
Condicionamento do Paciente	O regime de condicionamento ocasiona inflamação e ativação do tecido de receptor, resultando na secreção de IL-1, IL-6 e TNF- α. Estas citocinas aumentam a expressão de antígenos HLA, das moléculas de adesão (Selectinas, ILam, VCam) e também de moléculas coestimuladoras que atuam no reconhecimento antigênico tanto primário quanto secundário. Os mediadores liberados, ainda atuam como indutores da apoptose de células endoteliais, provocando lesões vasculares, principalmente no TGI, o que facilita o contato com lipopolissacarídeos (LPS), que por sua vez provocam o aumento da lesão já existente induzindo ainda mais a produção de IL-6 e TNF- α.
Ativação de Linfócitos T do Doador	A proliferação de linfócitos T auxiliares (TH1) e liberação de IL-2 e INF- γ induzem a expansão e ativação clonal de mais linfócitos Th1, e ainda de células T citotóxicas, linfócitos NK e fagócitos mononucleares, liberando IL-1 e TNF-α. Estes acontecimentos iniciam um sinal estimulatório para linfócitos T, porém, este sinal é dependente de um outro proveniente de diferentes ligantes, sendo os principais os Antígenos B7 das células apresentadoras de antígeno (CAA) e os receptores CD-28 e CTLA-4 das próprias células T. Ao final da estimulação de linfócitos T do enxerto há elaboração de resposta imunológica com padrão TH1, culminando na produção de IL-2 e INF-γ, originando as manifestações clínicas da DECH-A.

Ação dos Fagócitos Mononucleares	O INF-γ e o LPS promovem ativação dos fagócitos mononucleares. O LPS ainda atua na estimulação de queratócitos, fibroblastos e macrófagos do tecido conjuntivo ocasionando a produção de IL-1, TNF-α e Óxido Nítrico (ON). Estes mediadores, por sua vez, ocasionam dano tecidual e produção de mais IL-1 além de IL-6 e IL-8, as quais são responsáveis por desnutrição, febre e demais manifestações de caráter inflamatório da DECH-A, enquanto o ON contribui para a imunossupressão.

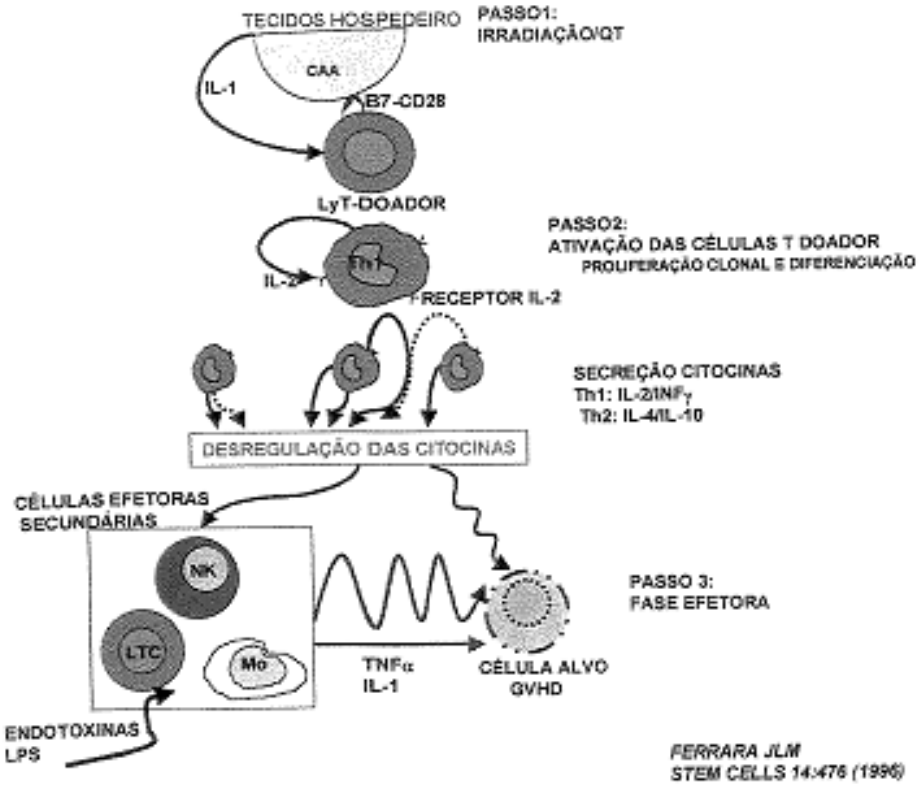

Figura 1: Esquema fisiopatológico da DECH-A.

O processo fisiopatológico envolvido na DECH-C não é inteiramente conhecido, porém, diversos estudos elucidam o seu envolvimento com a auto-imunidade, dessa forma é possível concluir que a resposta imunológica desta patologia se desenvolva com um padrão do tipo Th2, onde há predomínio da liberação de IL-4 e IL-5. (ABBAS, 1966)

A fisiologia de desenvolvimento da DECH-C associa-se a atrofia tímica o que tem como resultado a depleção do número de linfócitos bem como a perda da capacidade de seleção clonal negativa de células T auto-reativas, o que por sua vez origina uma desregulação funcional dos linfócitos B culminando na produção de auto-anticorpos contra antígenos tanto superficiais quanto intracelulares ocasionando destruição das células alvo.

Além da estimulação do sistema imune alguns mediadores provenientes deste padrão de resposta imunológica, como a IL-4, TNF- α e INF-γ, também atuam na produção de colágeno por estimulação de fibroblastos. A imunopatologia da DECH-C, além do padrão de resposta imunológica

Th2, ainda possui o padrão Th3, onde estes linfócitos produzem a citocina TGF-β1, a qual tem a capacidade estimulatória para a produção de matriz extracelular que juntamente com o colágeno, produzido por fibroblastos, originam lesões fibrosas características da DECH-C.

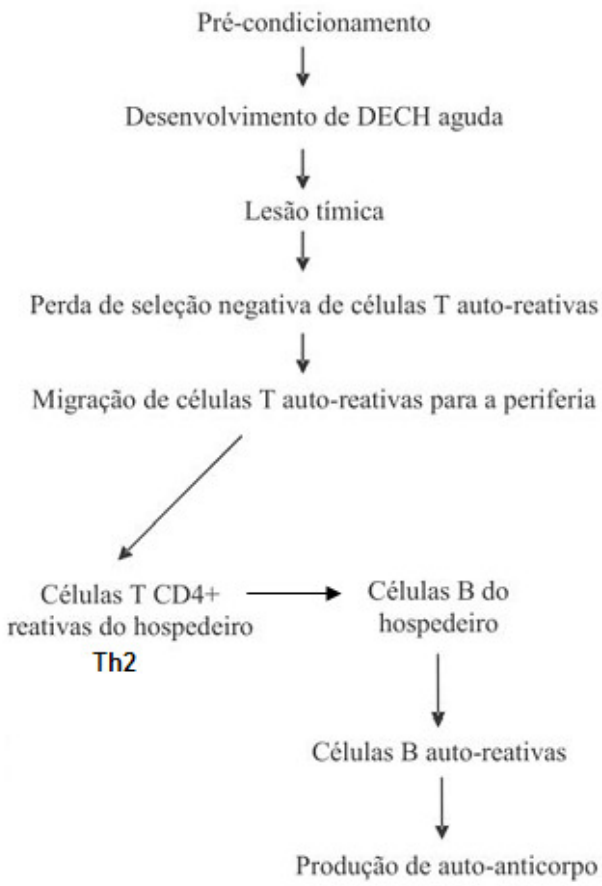

Figura 2:Patofisiologia da DECH-C em transplantes de células progenitoras hematopoéticas.
(aptada de Ywasaki, 2004).

Diversos autores, através de modelos animais, evidenciaram a atuação de algumas citocinas, como a IL- 12 e a IL-18, no estabelecimento da DECH-C. Nestes experimentos ficou demonstrado que a IL-12 atua na proliferação de células T CD8+ promovendo "agudização" da DECH-C, enquanto a IL-18 tem efeito profilático da DECH-C, pois atua na diminuição numérica de linfócitos T CD4+, com isso há redução da estimulação de linfócitos B e conseqüente redução da produção de auto-anticorpos. (VIA, 1994; OKAMOTO, 2000). Tanto na DECH-A quanto na DECH-C as substâncias que atuam como mediadores inflamatórios agem de modo muito importante na comunicação celular exercendo um papel principal no controle das respostas imunológicas. Seu modo de ação ocorre pelo estabelecimento de ligações com receptores específicos de membrana celular, passando suas informações para citoplasma das células que estão ligados. O efeito de uma determinada citocina é decorrente de múltiplos fatores, como o tipo celular em que o mediador está ligado; o ambiente tecidual em que a célula e o mediador se encontram; presença de outras citocinas; ação de fatores de transcrição; indução ou inibição de genes codificantes; presença de outras vias de sinalização celular.

Associada a DECH e a rejeição do enxerto, já foram descritos alguns mediadores imunoestimulatórios, regulatórios e inflamatórios, como é o caso da IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α. INF-γ e TGF-β1, indicando que estas substâncias podem ocasionar DECH, por diferentes maneiras, em pacientes submetidos ao TMO.

A produção de citocinas está sob controle genético. Recentemente foram descobertos polimorfismos no DNA de região promotora, codificadora e de íntrons que podem afetar a transcrição

ocasionando variações na produção de citocinas de pessoa para pessoa (TURNER, 1997; FISHMAN, 1998; PRAVICA, 1999), dessa forma um individuo pode ser capaz de sintetizar diferentes concentrações de mediadores, de acordo com sua herança genética, predispondo-o ou não ao desenvolvimento da DECH.

Os processos imunopatológicos do estabelecimento da DECH, no período pós TMO, podem ser mais bem compreendidos através de um paralelo entre a definição do perfil genético do paciente e sua produção de citocinas, possibilitando ao profissional médico uma visão dos possíveis riscos de complicação e adequação da terapia de imunossupressão de modo individualizado.

Conclusão

Uma das complicações mais rotineiras decorrentes do TMO alogênico é a DECH. Esta doença se caracteriza pela ação de células T, proveniente do doador, presentes no enxerto reconhecerem os antígenos do receptor como não próprios, desencadeando um processo imunológico efetor contra o receptor o que resulta em lesões de pele, fígado e TGI as quais são muito debilitantes e influem diretamente nos resultados terapêuticos podendo comprometer o prognóstico do paciente.

Por tratar-se de um desequilíbrio imunológico tanto as células, quanto os mediadores químicos que compõe o sistema imune encontram-se envolvidos no estabelecimento da doença. As citocinas possuem um papel de extrema importância na fisiopatologia da DECH, estas substâncias atuam como sinalizadores celulares que permitem a ativação, proliferação e demais atividades não só de células do sistema imune como também de células de outros sistemas, possibilitando uma ação sistêmica que resultará no surgimento das manifestações referentes a esta doença.

Como tentativa de amenizar os efeitos da DECH, no prognóstico do paciente, é imprescindível o conhecimento das citocinas atuantes e suas funções de acordo com os padrões de respostas imunológicas em cada tipo de DECH, possibilitando a intervenção precoce e terapêutica imussupressora individualizada, de acordo com a capacidade genética de síntese de citocinas de cada paciente, reduzindo os índices de morbidade e mortalidade do pós-transplante pela DECH.

Referências Bibliográficas

1. ABBAS A.K., MURPHY K.M., SHER A. – Functional diversity of T lynphocytes. Nature 1996. acute graft-versus-host-disease. Stem Cell 1996.
2. ARAI S., VOGELSANG G.B. – Management of graft-versus-host disease. Blood Reviews 2000.
3. ARANHA, F.J.P. - A influência dos monócitos na doença do enxerto versus hospedeiro e evolução do transplante alogênico de medula óssea/ Francisco José Penteado Aranha. – Campinas, SP, 2002.
4. BURT R., DEEG J., LOTHAN S.T., SANTOS G.- Bone Marrow Transplantation, Seattle, RG Landes Company; 1998.
5. CARRERAS E., BRUNET S., RORIVA M., SIERRA J., Urbano-Ispizua - Á., Manual de Trasplante Hemopoyético 1998, Ediciones Antares –Espanã.
6. FERRARA J.L.M., DEEG H.J. – Mechanisms of disease. N. Engl J Med 1991.

7. FISHMAN D., FAULDS G., JEFFRY R. *et al.* – The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and na association with systemic-onset juvenile chronic arthristis. J Clin Invest. 1998
8. IWASAKI T. – Recent advances in the treatment of graft-versus-host disease. Clin Med Res 2004.
9. OKAMOTO I., KOHNO K. TANIMOTO T. *et al.* – IL-8 prevents the development of chronic graft-versus-host disease in mice. J Immunol. 2002.
10. PERRY A.R., LINCH D.C. – The history of boné-marrow transplantation. Blood Reviews. 1996.
11. PRAVICA V., ASDERAKIS A., PERREY C. *et al.* – In vitro production of IFN-gamma correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN-gamma gene. Eur J Immunogenet. 1999.
12. ROITT, I. *et al.* - Imunologia. São Paulo: Editora Manole LTDA, 1999. 5ª ed.
13. SHERER Y., SHOENFELD Y. – Autoimmune diseases and auto-immunity post-bone-marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 1998.
14. SULLIVAN K., AGURA E., ANASETTI C., APPELBAUM F., BAGDER C., BEARMAN S. ERICKSON K., FLOWERS M., HANSEN J., LOUGHRAN T., *et al.* – Chronics graft versus host disease in other late complication of boné marrow transplantation. Sem Hematol. 1991.
15. TURNER D.M., WILLIAMS D.M. SANKARAN D. *et al.* – Na investigation of polymorphism in the interleukine-10 gene promoter. Eur J Immunogenet. 1997.
16. VIA C.S., RUS V., GATELY M.K. FINKELMAN F.D., *et al.* – IL-12 stimulates the development of acute graft-versus-host disease in mice that normally would develop chronic, autoimmune graft-versus-host disease. J Immunol. 1994.
17. VIGORITO A.C., AZEVEDO W.M., MARQUES J.F., AZEVEDO A.M., EID K.A., ARANHA F.J., LORAND-METZE I., OLIVEIRA G.B., CORREA M.E., REIS A.R., MIRANDA E.C., DE SOUZA C.A. - Estudo randomizado comparativo do transplante alogênico de medula óssea e célula progenitora periférica, mobilizada por G-CSF, não manipulada, em neoplasias hematológicas. Bone Marrow Transplant. 1998.
18. Visentainer JEL, Lieber SR, Persoli LBL *et al.* Relationship between cytokine gene polymorphisms and graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in a Brazilian population Cytoquine. 2005.
19. VOGELSANG G.B. – How I treat chronic graft-versus-host disease. Blood 2001.
20. WEISDORF D., HAKKE R., BLAZAR B., MILLER W., MCGLAVE P.,RAMSAY N., KERSEY J., FILIPOVICH A. – Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor boné marrow transplantation. Transplantation 1991.