

Do transplante de medula à terapia biológica complexa

From bone marrow transplantation to complex biological therapy

Luciana Cavalheiro Marti¹, Luiz Vicente Rizzo¹

RESUMO

As principais complicações após o transplante de medula óssea estão relacionadas a infecções oportunistas e doença do enxerto contra hospedeiro. Atualmente, existe muito conhecimento sendo adicionado ao campo de transplante de medula óssea e novas terapias foram propostas no sentido de superar essas complicações. Por trás dessas novas terapias, como a transferência adotiva de células T ou a infusão com células-tronco mesenquimais, existe um desenvolvimento significativo de pesquisa na área básica que corroborou esses avanços clínicos. Muito desse conhecimento foi derivado do desenvolvimento de modelos animais e trabalho intenso em laboratório, que possibilitou testar e confirmar tais hipóteses. Por isso, não existem dúvidas de que a pesquisa básica é necessária como suporte para o melhor desempenho da clínica.

Descritores: Transplante de medula óssea; Terapia biológica

ABSTRACT

The major complications after bone marrow transplant are related to opportunistic infections or to graft-versus-host disease. Today, there is a wealth of information associated with bone marrow transplantation and new treatment approaches have been proposed to overcome these complications. Behind these new therapies, such as adoptive transfer of T cells or mesenchymal stem cell infusions, there is significant basic research to support these clinical advances. Most of this knowledge has derived from the development of animal models and intense laboratory work to test and confirm hypotheses. There is no doubt that basic research is still necessary to better understand the basis for clinical outcome improvements.

Keywords: Bone marrow transplantation; Biological therapy

INTRODUÇÃO

Várias novas abordagens para diminuir infecção após ablação de medula óssea e subsequente transplante de medula óssea, assim como doença do enxerto contra hospedeiro têm sido propostas com excelente resultado clínico^(1,2). Na linha de frente, para combater infecções,

temos a terapia com a transferência adotiva de linfócitos T, que é baseada no isolamento e expansão de linfócitos T primados contra alguns vírus específicos ou uma expansão mais ampla de linfócitos T com repertório variado, o que já foi proposto com diferentes graus de sucesso^(3,4).

Ainda assim, há vários detalhes necessários para se estabelecerem tais protocolos de tratamento. Primeiro, é necessário compreender a biologia do vírus de interesse e as proteínas que devem ser usadas para o desenvolvimento de peptídeos imunogênicos derivados de vírus. É comum usar uma biblioteca de peptídeos e selecioná-los a partir da sequência inteira da proteína escolhida. Depois, investiga-se quais serão capazes de deflagrar resposta imunológica nos linfócitos T.

A maioria desses peptídeos, também conhecidos como epítomos, devem ser compartilhados entre as diferentes subespécies de vírus, o que implica que os linfócitos T que reconhecem esses epítomos devem se reconhecer e se proteger de múltiplos sorotipos de vírus, mas sempre levando em desconsideração os fenótipos HLA. É importante identificar ambos epítomos relacionados aos linfócitos T CD8 e CD4, isto é, epítomos restritos a classe I e classe II HLA que cobrem a variedade de alelos na população⁽⁵⁾.

Há também importante informação que precisa ser evidenciada a respeito do *priming* de linfócitos T, especificamente sobre as células apresentadoras de antígeno (APC). O equilíbrio entre a imunidade e a tolerância é amplamente determinado pelas condições de apresentação de antígenos. A distribuição, localização, dose e persistência do antígeno e o estado de ativação das APC são considerados como tendo função muito importante na imunidade⁽⁶⁾.

Geralmente, a exposição sistêmica e contínua de linfócitos T a antígenos na ausência de coestimulação leva à tolerização dos linfócitos T. Enquanto, algumas linhagens do vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV) podem causar rápidas e intensas infecções em órgãos

¹ Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein - IIEPAE - São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: Luciana Cavalheiro Marti - Avenida Albert Einstein, 627 - Morumbi - CEP 05651-901 - São Paulo (SP), Brasil - Tel.: (11) 2151-1353 - e-mail: lmarti@einstein.br

Data de submissão: 29/1/2011 / Data de aceite: 12/4/2011

linfoides levando à exaustão das respostas CTL antivirais, a lenta replicação das linhagens de LCMV pode induzir imunidade duradoura⁽⁷⁾.

Entretanto, o tipo e nível de coestimulação recebida durante o primeiro encontro entre antígenos e linfócitos T são fatores determinantes do desfecho da resposta imune. Isso depende principalmente do estado de ativação das APC que apresentarão o peptídeo antigênico aos linfócitos T. O estado coestimulatório das APC é promovido pelos linfócitos Th CD4, principalmente as interações entre CD40L sobre os linfócitos Th e o CD40 sobre as APC⁽⁸⁾.

Além da ligação CD40/CD40L, a interação entre as células dendríticas e linfócitos T resulta no aumento de pares de receptor-ligante da superfamília TNF, incluindo CD137L, CD95L, CD27, CD30, RANK-L ou de citocina de ativação induzida relacionada ao TNF (TRANCE), linfotóxina, ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF, e membros da superfamília TNFR, incluindo CD137 e RANK^(9, 10).

A interação desses pares de receptores-ligantes induz a sinalização a jusante via moléculas adaptadoras associadas ao TNFR. Essa sinalização aumenta a expressão de moléculas de adesão e coestimulatórias, aumenta as interações celulares entre células dendríticas e linfócitos T, regula a sobrevivência das APC e linfócitos T, e leva à produção de citocinas relacionadas à estimulação dos linfócitos T, tais como IL-12, IL-1, e IL-6, e/ou redução das citocinas inibitórias, como a IL-10. O resultado é a intensificação e manutenção da resposta imune subsequente⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

A compreensão do papel de linfócitos T CD4 e CD8 durante infecção viral em relação aos estudos antivirais evidencia a necessidade do auxílio de células CD4 difere de acordo com o tipo viral, mas frequentemente, a defesa contra patógenos intracelulares envolve anticorpos neutralizantes e respostas CTL, ambas dependentes de linfócitos T CD4+⁽¹⁵⁾.

Por outro lado, as infusões de células-tronco mesenquimais (CTM) objetivam modular respostas imunes exacerbadas, como as alorresposta. A alorresposta pode ser dividida em dois componentes. O primeiro é o alorreconhecimento, relacionado ao reconhecimento de antígenos expressos na superfície de células de origem não-*self*, por parte dos linfócitos. A segunda parte relaciona-se com os mecanismos imunológicos efetores gerados por esse processo de reconhecimento. Linfócitos T reconhecem esses antígenos diretamente ou após serem processados como antígenos convencionais pelas APC, o que tem sido chamado de apresentação indireta⁽¹⁶⁾.

Linfócitos T CD4+ têm papel importantíssimo na coordenação da resposta imune a aloantígenos secretando citocinas para, entre outras coisas, atrair células

efetoras, tais como linfócitos T CD8+, e serem capazes de interagir com linfócitos B que secretarão anticorpos alorreativos altamente específicos.

Também importantes são as CTM que aparentemente agem sobre as células imunológicas de várias formas; alguns autores demonstraram seu impacto sobre os linfócitos T⁽¹⁷⁻²¹⁾, e outros o impacto sobre as células dendríticas⁽²²⁻²⁵⁾. A maioria dos estudos descreve CTM humanas como MHC classe I positivo e MHC classe II negativo; entretanto, as evidências são conflitantes.

Os dados conflitantes com esses achados podem representar diferentes linhagens de células-tronco ou, talvez, essa expressão diferencial se refere a diferenças biológicas entre os doadores, não excluindo a possibilidade de isso ser o resultado de transferência de célula para célula⁽²⁶⁾. A expressão de MHC classe I por CTM é importante porque tal expressão protege a CTM dos mecanismos de depleção das células NK. Por exemplo, a principal função de células NK e *NK-like* é destruir células tumorais que apresentam a diminuição da expressão de classe I⁽²⁷⁾.

HLA-G é uma proteína *MHC-like*, conhecida por proteger aloenxertos fetais contra rejeição mediada por NK. Já foi comprovado que essa proteína se liga aos dois mais importantes receptores inibidores de NK: KIR1 e KIR2, e inibe a destruição por NK^(28, 29). Entretanto, ainda não foram publicados estudos sobre a expressão de HLA-G pelas CTM.

Recentemente, dados controversos foram publicados a respeito da capacidade imunomoduladora da CTM, e Waterman et al. sugeriram a existência de dois fenótipos de CTM como uma explicação para isso, uma CTM-1 pró-inflamatória ou um fenótipo CTM-2 imunossupressor. Esses fenótipos seriam gerados após estímulo por um receptor *toll-like* específico (TLRs), significando que a CTM *TLR4-primed*, ou a CTM1, expressam mediadores pró-inflamatórios, enquanto a CTM *TLR3-primed* ou a CTM2, expressa principalmente mediadores de imunossupressão⁽³⁰⁾.

Terapia biológica complexa ainda representa um campo aberto para pesquisas, e o mecanismo de ação preciso pelo qual essas terapias agem no sistema imunológico ainda não está completamente compreendido. Os tratamentos baseados no uso de células combinado a outros produtos biológicos, tais como citocinas solúveis, receptores de citocinas e anticorpos monoclonais humanizados – apesar de altamente eficientes em alguns pacientes – ainda necessitam de estudos mais aprofundados e de longo termo tanto em seres humanos como em modelos animais para auxiliarem o desenvolvimento de tratamentos personalizados com ganhos tanto clínicos quanto econômicos.

REFERÊNCIAS

1. Moon JH, Kim SN, Kang BW, Chae YS, Kim JG, Ahn JS, et al. Early onset of acute GVHD indicates worse outcome in terms of severity of chronic GVHD compared with late onset. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(10):1540-5.
2. Reddy SM, Winston DJ, Territo MC, Schiller GJ. CMV central nervous system disease in stem-cell transplant recipients: an increasing complication of drug-resistant CMV infection and protracted immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(6):979-84.
3. Leen AM. T-cell therapy: the next generation. *Expert Rev Hematol.* 2010;3(2):123-5.
4. Davis CC, Marti LC, Sempowski GD, Jeyaraj DA, Szabolcs P. Interleukin-7 permits Th1/Tc1 maturation and promotes ex vivo expansion of cord blood T cells: a critical step toward adoptive immunotherapy after cord blood transplantation. *Cancer Res.* 2010;70(13):5249-58.
5. Hertz T, Nolan D, James I, John M, Gaudieri S, Phillips E, et al. Mapping the landscape of host-pathogen coevolution: HLA class I binding and its relationship with evolutionary conservation in human and viral proteins. *J Virol.* 2011;85(3):1310-21.
6. Garza KM, Chan SM, Suri R, Nguyen LT, Odermatt B, Schoenberger SP, et al. Role of antigen-presenting cells in mediating tolerance and autoimmunity. *J Exp Med.* 2000;191(11):2021-7.
7. Moskophidis D, Lechner F, Pircher H-P, Zinkernagel RM. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T cells. *Nature.* 1993;362(6422):758-61.
8. Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI, Offringa R, Melief CJ. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature.* 1998; 393(6684):480-3.
9. Green EA, Flavell RA. TRANCE-RANK, a new signal pathway involved in lymphocyte development and T cell activation. *J Exp Med.* 1999; 189(7):1017-20.
10. Yu Q, Gu JX, Kovacs C, Freedman J, Thomas EK, Ostrowski MA. Cooperation of TNF family members CD40 ligand, receptor activator of NF- κ B ligand, and TNF- α in the activation of dendritic cells and the expansion of viral specific CD8 $^{+}$ T cell memory responses in HIV-1-infected and HIV-1-uninfected individuals. *J Immunol.* 2003;170(4):1797-805.
11. Roy M, Aruffo A, Ledbetter J, Linsley P, Kehry M, Noelle R. Studies on the interdependence of gp39 and B7 expression and function during antigen-specific immune responses. *Eur J Immunol.* 1995;25(2):596-603.
12. Cella M, Scheidegger D, Palmer-Lehmann K, Lane P, Lanzavecchia A, Alber G. Ligation of CD40 on dendritic cells triggers production of high levels of interleukin-12 and enhances T cell stimulatory capacity: T-T help via APC activation. *J Exp Med.* 1996;184(2):747-52.
13. Koch F, Stanzl U, Jennewein P, Janke K, Heuffer C, Kampgen E, Romani E, Schuler G. High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD40 molecules and downregulation by IL-4 and IL-10. *J Exp Med.* 1996;184(2):741-6.
14. Chen AI, McAdam AJ, Buhlmann JE, Scott S, Lupher ML, Greenfield JE, et al. Ox40-ligand has a critical costimulatory role in dendritic cell:T cell interactions. *Immunity.* 1999 ;11(6):689-98.
15. Nakanishi Y, Lu B, Gerard C, Iwasaki A. CD8(+) T lymphocyte mobilization to virus-infected tissue requires CD4(+) T-cell help. *Nature.* 2009;462(7272):510-3.
16. Hernandez-Fuentes MP, Baker RJ, Lechler RI. The alloresponse. *Rev Immunogenet.* 1999;1(3):282-96.
17. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood.* 2002;99(10):3838-43.
18. Rasmusson I, Ringdén O, Sundberg B, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation.* 2003;76(8):1208-13.
19. Benvenuto F, Ferrari S, Gerdoni E, Gualandi F, Frassoni F, Pistoia V, et al. Human mesenchymal stem cells promote survival of T cells in a quiescent state. *Stem Cells.* 2007;25(7):1753-60.
20. Karlsson H, Samarasinghe S, Ball LM, Sundberg B, Lankester AC, Dazzi F, et al. Mesenchymal stem cells exert differential effects on alloantigen and virus-specific T-cell responses. *Blood.* 2008;112(3):532-41.
21. Tolar J, Hippen KL, Blazar BR. Immune regulatory cells in umbilical cord blood: T regulatory cells and mesenchymal stromal cells. *Br J Haematol.* 2009;147(2):200-6.
22. Zhang W, Ge W, Li C, You S, Liao L, Han Q, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Stem Cells Dev.* 2004;13(3):263-71.
23. Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, Moretta L. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood.* 2009;113(26):6576-83.
24. Li YP, Paczesny S, Lauret E, Poirault S, Bordigoni P, Mekhloufi F, et al. Human mesenchymal stem cells license adult CD34 $^{+}$ hematopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the Notch pathway. *J Immunol.* 2008;180(3):1598-608.
25. Huang Y, Chen P, Zhang CB, Ko GJ, Ruiz M, Fiorina P, et al. Kidney-derived mesenchymal stromal cells modulate dendritic cell function to suppress alloimmune responses and delay allograft rejection. *Transplantation.* 2010;90(12):1307-11.
26. Carlin LM, Eleme K, McCann FE, Davis DM. Intercellular transfer and supramolecular organization of human leukocyte antigen C at inhibitory natural killer cell immune synapses. *J Exp Med.* 2001;194(10):1507-17.
27. Ruggeri L, Capanni M, Martelli MF, Velardi A. Cellular therapy: exploiting NK cell alloreactivity in transplantation. *Curr Opin Hematol.* 2001; 8(6):355-9.
28. Parham P. Killer cell immunoglobulin-like receptor diversity:balancing signals in the natural killer cell response. *Immunol Lett.* 2004;92(1-2):11-3.
29. Ristic V, Liang S, Zhang W, Wu J, Horuzsko A.: Tolerization of dendritic cells by HLA-G. *Eur J Immunol.* 2005 ;35(4):1133-42.
30. Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, Betancourt AM. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One.* 2010;5(4):e10088.