

XENOTRASPLANTE

*A.L.M. de Francisco; M. Arias
Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Valdecilla. Santander
Departamento de Medicina. Universidad de Cantabria*

25. 000 americanos reúnen los criterios restrictivos para ser incluidos en una lista de espera de trasplante de corazón. Fallecerán la mayoría porque solamente se realizan 2000 trasplantes cardíacos al año en los Estados Unidos

En Enero de 1993, más de 3000 médicos se reunían frente al Hospital Universitario de Pittsburg en Pennsylvania, con la finalidad de protestar por la muerte de dos pacientes que habían sido trasplantados con hígados de mandril en junio de 1992 y Enero de 1993. Su protesta se basaba en el carácter experimental de esta cirugía que precisaba de una excesiva inmunosupresión, incluso en animales cercanos al hombre (primates), con la aparición de infecciones que llevaban a la muerte. Esta protesta sitúa el xenotrasplante en el conflicto ético que enfrenta a partidarios y defensores de una técnica que terminará por imponerse. El propósito de este trabajo es actualizar los conocimientos sobre este apasionante tema.

HISTORIA DEL XENOTRASPLANTE CLINICO

Los intentos iniciales datan de 1906, año en que Jaboulay conecto el riñón de un cerdo al pliegue del codo de un ser humano, con fracaso al tercer día (1) Unger en 1910(2) y Neuhof en 1923(3) lo intentaron con riñones de cabra y oveja.

En 1964 se activa el programa de xenotrasplante clínico con riñones, corazones e hígados. Reemtsa(4) realiza 12 xenotrasplantes renales de chimpancés con supervivencias de los pacientes desde 11 días hasta 2 meses. Un paciente con supervivencia de casi 9 meses, falleció por trastornos electrolíticos sin presentar rechazo. Entre 1964 y 1966 se continúa por diferentes grupos el xenotrasplante renal utilizando mandril (7 casos) o chimpancé (7 casos) con supervivencias máximas de 4 meses en un caso, peores siempre con el mandril(5) Hay que hacer notar que la inmunosupresión era la de la etapa preciclosporina.

Hardy en 1964(6) realizó el primer xenotrasplante de corazón de chimpancé con fracaso a las 2 horas por incompatibilidad anatómica. Los posteriores intentos se siguieron asimismo de fracasos inmediatos: Ross en 1968(7) Marion en 1969(8) y Barnard en 1977(9), la mayoría por rechazo vascular. En 1984, Bayley(10) realizó un trasplante de corazón de mandril en un recién nacido que duró 20 días. En 1992 Religa(11) trasplantó un corazón de cerdo con funcionamiento únicamente de 24 horas.

El xenotrasplante hepático tiene un nombre propio: Thomas Starzl. Realizó 3 trasplantes de hígado de Chimpancé en humanos entre 1966 y 1974 con función entre 1 y 14 días, y en 2 casos con mínimas lesiones en el hígado trasplantado. En 1992 y 1993 utilizando hígados de mandril realizó dos trasplantes hepáticos con supervivencias de 70 y 26 días respectivamente(12-13) En ambos casos con pocas evidencias de rechazo aunque probablemente con excesiva inmunosupresión. Finalmente Makowa en 1993 utilizó hígado de cerdo con supervivencia de 30 horas, tiempo puente en situaciones desesperadas hasta el hallazgo de un donante apropiado(14)

ANIMALES CONCORDANTES Y DISCORDANTES

Se denominan especies concordantes aquellas próximas en la escala filogenética entre las que es en teoría más posible realizar trasplantes como primates-hombre, Son discordantes aquellas alejadas en la escala filogenética como por ejemplo cerdo-hombre.

Una de las diferencias más importantes es la presencia en las especies discordantes de anticuerpos naturales preformados contra los órganos de otras especies que provocan rechazo hiperagudo. Estos xenoanticuerpos no obstante también se han evidenciado entre animales más cercanos en la escala filogenética.

Las experiencias experimentales y clínicas han demostrado que el trasplante de un órgano concordante en humanos puede tener éxito al menos durante semanas o meses. Fármacos inmunosupresores anti linfocitos B, que se encuentran todavía en experimentación como leflunomida, micofenolato mofetil o 15 deoxipergualina podrían prolongar la supervivencia en el futuro.

EL RECHAZO HIPERAGUDO

La principal barrera pues para el trasplante entre animales de especies separadas filogenéticamente es el rechazo hiperagudo. Dos componentes son esenciales en este rechazo: anticuerpos naturales presentes en cada especie y el complemento.

- Los anticuerpos naturales preformados de naturaleza IgM se dirigen contra componentes del endotelio del donante como carbohidratos y otros antígenos.

Los Ac anti alfa galactosa presentes en el hombre contra este antígeno endotelial del cerdo explican el rechazo hiperagudo (15, 16)

- El sistema del complemento se activa al unirse los Ac contra los Ag endoteliales, produciéndose C3 y C5 que son los responsables de la patogenicidad. Cuando se administra veneno de cobra que depleciona de complemento se retrasa el rechazo de minutos a 2-3 días, observando trombosis del injerto cuando existe complemento e infiltrado mononuclear en el animal deplecionado con veneno de cobra.

PREVENCIÓN DEL RECHAZO HIPERAGUDO

Existen 3 tipos de acercamiento:

1. Eliminación de los Ac preformados
2. Eliminación de los Antígenos
3. Prevenir la activación del complemento

1. Eliminación de los anticuerpos preformados de especie

Hasta el presente se han intentado diferentes técnicas:

a) Plasmaféresis. Estudios iniciales realizados con plasmaféresis en el xenotrasplante consiguieron mejorar la supervivencia del órgano con la deplección de anticuerpos (17), pero tiene algunos inconvenientes como la deplección de proteínas (como los factores de coagulación) que complican el acto quirúrgico.

b) Perfusión en órgano. Los anticuerpos del receptor se extraen al quedar bloqueados por los xenoantígenos presentes en un órgano de un animal donante por el que circula la sangre del receptor y que debe ser sacrificado. Es una técnica que produce deplección de anticuerpos y retrasa el rechazo hiperagudo en el xenotrasplante(18,19) Tiene no obstante varios inconvenientes. Deplección de complemento y factores de coagulación cuando se perfunde sangre completa, y especialmente la necesidad de sacrificar animales donantes del órgano perfundido, que puede aún ser mayor si tenemos en cuenta la necesidad de repetir extracciones de anticuerpos en el periodo postxenotrasplante.

c) Inmunoabsorción. Utilizando columnas de inmunoaféresis con proteína A de estafilococo para extracción de anticuerpos en un modelo (trasplante renal cerdo-perro Shapiro y Cols(20) consiguieron reducir la IgG e IgM caninas el 84% y 71% respectivamente pero con una reducción más moderada en el título de xenoanticuerpos presentes en la prueba cruzada. Aunque

consiguieron retrasar la aparición del rechazo hiperagudo los resultados para la serie completa fueron de una elevada morbi-mortalidad. El interés de esta técnica para su aplicación en humanos viene limitado por la menor capacidad de fijación de los anticuerpos tipo IgM que son precisamente los más estrechamente asociados con el rechazo hiperagudo en el xenotrasplante(21)

Recientemente Leventhal y en la Universidad de Minnesota (22) han presentado los estudios realizados con columnas conteniendo IgG e IgM policlona antihumana. Al pasar plasma humano y de mandril se produjo una disminución del 97% de la y cerca del 80% de la IgM. Asimismo observaron una reducción del nivel de los anticuerpos anticerdo al pasar el plasma humano y de mandril por las columnas (reducción de 54-86 veces para IgG y 9-54 veces para IgM) En estudios realizados in vivo con mandriles se repitieron los mismos hallazgos, si bien se comprobó una limitación en la capacidad adsorbente de las columnas. Los autores recomiendan una plasmaféresis inicial con la finalidad de disminuir la carga inicial de anticuerpos a neutralizar por la columna.

En dos casos de xenotrasplante renal de cerdo a mandril, los mismos autores consiguieron reducciones importantes de los xenoanticuerpos anticerdo, con prevención del rechazo hiperagudo 11 y 13 días después del trasplante. El estudio histológico de los injertos no mostró evidencia de rechazo vascular. Utilizaron únicamente columna con IgG policlona antihumana, cuando los anticuerpos anticerdo tipo IgM han sido implicados como fundamentales en el inicio del rechazo hiperagudo en el xenotrasplante de cerdo. Es posible que una transitoria deplección de complemento y la inmunosupresión asociada hayan colaborado en la supervivencia de estos xenotrasplantes. No hay estudios sobre la deplección selectiva de anticuerpos anticerdo tipo IgM.

Es importante considerar el efecto que las transfusiones pueden tener en los resultados del xenotrasplante. Parece claramente necesario utilizar sangre desprovista de anticuerpos como se ha visto recientemente en casos de trasplante de hígado de cerdo al hombre(23) Ya que con este tipo de columnas no se modifican los factores de la coagulación, podrían en el futuro ser utilizadas para ello.

Parece ser que el rechazo hiperagudo en el trasplante discordante de cerdo a primates se produce por la presencia en estos de anticuerpos preformados dirigidos contra los epítomos alfa galactosa que se encuentran en la superficie del endotelio vascular del cerdo. La subsiguiente activación del complemento desencadenaría la inmediata destrucción del injerto.

El futuro de la inmunoadsorción probablemente pasará por la utilización de columnas con alfagalactosa que fijen los anticuerpos anti alfa GAL. (24)

2. Eliminación de los Antígenos endoteliales

La mayoría de los Anticuerpos humanos naturales contra el cerdo van dirigidos fundamentalmente contra componentes alfa galactosa del endotelio del cerdo. Este componente se forma por la enzima galactosil transferasa. Se han conseguido cerdos transgénicos deficientes en dicha enzima (Knock-out) que no expresan en su endotelio el componente alfa galactosa. No se conoce aún si ello va a prevenir el rechazo hiperagudo.

3. Prevenir la activación del complemento

A) Inhibidores de la activación del complemento

- El veneno de cobra además de diversas toxinas contiene un componente que provoca un consumo masivo de C3, factor B y de los componentes del complejo de ataque a la membrana (MAC) Hasta la fecha la toxicidad que se ha observado en los roedores no ha sido significativa en los primates y se ha demostrado que la deplección de complemento con veneno de cobra junto con plasmaféresis ha tenido un efecto sinérgico en la prolongación de la supervivencia de modelos de trasplante cerdo-babuino. El uso clínico, aparte de su toxicidad, puede estar limitado porque es inmunógeno e induce anticuerpos antiveneno de cobra.

- Otro tipo de inhibidores del complemento son los receptores solubles del complemento humano tipo 1 que se ha obtenido por tecnología recombinante. La inyección de esta sustancia soluble produce una inhibición tanto de la vía clásica como de la alterna.

B) Animales transgénicos

La severidad del rechazo hiperagudo está probablemente en relación con una deficiencia del endotelio del órgano del donante para inhibir la activación de la cascada del complemento. Estos reguladores de la activación del complemento son sustancias (C1) 55 ó DAF, CD 59, CD 46) que sólo inhiben el complemento homólogo (es decir en el caso del cerdo solamente inhiben el complemento del cerdo pero no el humano)

Recientemente se han incorporado genes que expresan proteínas reguladoras del complemento humano en las células endoteliales porcinas. Inicialmente se transfectaron genes de dichas proteínas en líneas celulares endoteliales con resultados positivos en la expresión de las proteínas y en la protección de la lisis mediada por complemento humano. Estos resultados fueron la base para que varios grupos pasaran a desarrollar animales transgénicos para las proteínas reguladoras del complemento humano. White y Cols(25) inicialmente comprobaron que las células de ratones transgénicos para CD55 ó CD46, estaban protegidas de la lisis complemento humano-dependiente y posteriormente desarrollaron una línea de cerdos transgénicos para dichas proteínas. Otros autores están trabajando con resultados alentadores en la misma línea y diferentes proteínas reguladoras.

Cuando se ha conseguido en pequeños animales prevenir el rechazo hiperagudo mediante la deplección e inhibición del sistema del complemento, se ha observado que los injertos se pierden unos días después y estas pérdidas están en relación con el desarrollo de un rechazo vascular agudo retrasado. El rechazo vascular agudo se diferencia del rechazo hiperagudo en que aparece predominantemente una infiltración de células mononucleares y macrófagos, que está en relación con una activación del endotelio mediada por anticuerpos xenoreactivos. Se está haciendo cada vez más evidente que los cambios metabólicos y fisiológicos que se producen en la célula endotelial, la activación endotelial, juega un papel importante en el rechazo de los injertos vascularizados.

¿POR QUE EL CERDO?

De los 2 millones de especies animales que hay actualmente en la tierra, solamente pocas pueden ser consideradas como trasplante para el hombre debido a las diferencias anatómicas, fisiológicas, e inmunológicas.

Lógicamente desde el punto de vista inmunológico los animales más próximos al hombre son los primates, animales concordantes próximos en la escala filogenética, concretamente el chimpancé. Pero su utilización entraña dificultades irresolubles:

- Se trata de una especie protegida
- Tiene una difícil reproducción en cautividad.
- Embarazo largo y con poca descendencia.
- Rechazo social.

Otros primates también producirían problemas similares a los que habría que añadir problemas de tamaño de los órganos. Es posible no obstante que el inicio del xenotrasplante se realice con primates, mandriles, en su fase inicial, como paso obligado hacia otras especies.

Pero el futuro deberá pasar, por animales discordantes con fisiología y anatomía parecida al hombre, que lógicamente causarán más problemas de rechazo. Uno de estos animales es el cerdo por las siguientes razones:

- Se reproduce con mucha facilidad y tiene camadas abundantes.
- Similitud anatómica y fisiológica.
- Barato.

- Bien aceptado por la Sociedad ya que anualmente se sacrifican millones de cerdos para consumo alimenticio. Desde hace años muchos pacientes vienen tratándose con litros de insulina porcina, se trasplantan válvulas ó islotes de cerdo.
- La posibilidad de introducir nuevas infecciones del animal al hombre (Xenozoonosis) es menor en el cerdo que en el primate. La proximidad con éste es muy cercana y sus virus pueden infectar al hombre con la posibilidad de desarrollar enfermedades muy graves. En el caso del cerdo la distancia filogenética previene el contacto con virus patógenos. Durante muchos años el hombre ha trabajado próximo al cerdo (alimentación fundamentalmente) sin que se hallan evidenciado enfermedades virales transmisibles.

PROBLEMAS ÉTICOS

La imposibilidad de obtener órganos para trasplante ha abierto la discusión ética sobre la obtención de órganos procedentes de los animales. Para unos es una forma de hibridación del ser humano, mientras que para otros no es sino una victoria contra la enfermedad. No es propósito de este trabajo desarrollar los aspectos éticos del xenotrasplante pero existen muchos puntos de vista que habrá que considerar en el futuro:

- Los derechos de los animales.
- Los derechos de los pacientes graves con fallo de uno o más órganos vitales, en situación muy diferente a los jóvenes sanos que critican la técnica.
- Los derechos de los médicos y equipo de trasplantes.
- La ética y costumbres religiosas de cada país.
- La ética global internacional.

CRECIMIENTO DE LAS NECESIDADES. DISBALANCE DONANTES RECEPTORES

Los brillantes resultados de los trasplantes de órganos han abierto las expectativas de numerosos pacientes que anteriormente estaban condenados a la muerte, Pero si la necesidad aumenta no lo hace la oferta, de suerte que el crecimiento de la oferta está prácticamente estancado.

En Estados Unidos en Marzo de 1994 había 34.493 paciente en lista de espera para el trasplante de algún órgano sólido mientras que a finales de 198 esta cifra era de 13.115 paciente lo que representa un incremento del 263%. El crecimiento ha sido todavía más importante en el caso del trasplante hepático. En el año 1987 había 449 pacientes pendientes de un trasplante hepático y a finales de 1994 la cifra de 3.264 lo que significa un crecimiento del 727%. En contraste con el aumento de candidatos para trasplante el número de donantes disponibles creció marginalmente entre 1988 y 199 (de 4.085 a 4.514) y se ha mantenido estable desde entonces (4.531 en 1991, 4.521 en 1992, 4.849 en 1993)

Es evidente que el numero de órganos de cadáveres nunca será suficiente por lo que la llegada del xenotrasplante no está lejana.

“The problems inherent in clinical xenotransplantation remain considerable but, if they can overcome, the rewards will be enormous”. David K. C. Cooper. Reunión sobre Xenotrasplante.

Palacio de la Magdalena

Santander junio 1995

BIBLIOGRAFIA

- 1 -faboulay M. Greffe de rein au pli du code par suture de l'artere et la veine. Lyon Med: 39, 575, 1906.
- 2 -Unger I. Transplantation des vaisseaux et des organes. B. Fur. Chir: 46, 1367, 1908.
- 3 -Neuhof H. The trasplantation of tissues. Appleton, New York, 1923.
- 4 -Rerntsa K., McCracken BH., Schlegel J.U., et al. Renal heterotrasplantation in man. Ann. Surg. 160, 384, 1964.

- 5 -Starz1 T.E., Marchioro T.L., Peters G.N., et al. Renal heterotransplantation from baboon to man: experience with six cases. *Transplantation*, 2, 752, 1964.
- 6 -Hardy J.D., Kurrus F.E., Chavez C.M., et al. Heart transplantation in man: developmental studies and report of a case. *J. Am. Med. Ass.* 188, 1132,1964.
- 7 -Ross D.N. In: Experience with human heart transplantation. Shapiro, H. , eds. Butterworths, Durban, p227, 1969.
- 8 - Marion P. Les transplantations cardiaques et les transplantations hepaticues. *Lyon Med* 222, 585,1969.
9. Barnard C.N., Wolpowitz A., Losman J.G. Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for assistance of the left heart in cardiogenic shock after cardiopulmonary bypass. *S. Afr. Med. J.* 52,1035, 1977.
10. Bayley- L.L., Nehlsen Cannarella, S.L., Concepcion W, jolley W.B. Baboon tohuman cardiac xenotransplantation in a neonate. *J. Amer. Med. Assoc.* 254,3321,1985.
11. Czaplicki J., Blonska B., Religa Z. The lack of hiperacute xenogeneic heart transplant rejection in a human. *J. Heart Lung Transplant.* 11, 393, 1992.
12. Starz1 T.E., Tzakis A., Fung J.J. et al. Human liver transplantation. *Xeno.* 1,4, 1993
13. Starz1 TE, Tzakis A., Fung jj. et al. Prospects of clinical xenotransplantation. *Transplant. Proc* 26,1082, 1994,
14. Makowa L., Wu GD., Hoffman A., et al. Immunohistopathologic lesions associated with the rejection of a pig to human liver xenograft. *Transplant Proc.* 26, 1074, 1994.
15. Good A.H., Cooper D,K.C., Malcom Aj. et al. Identification of carbohydrate structure that bind human antiporcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans. *Transplant Proc* 24, 559, 1992
16. Cooper D.K.C., Good A.H., Koren E., et al. Identification of alfa galactosil and other carbohydrate epitopes that are bound by human antipig antibodies: relevance to discordant xenografting. *Transplant Immunol* 1, 198, 1993
17. Auchincloss H. Xenogeneic transplantation. *Transplantation* 46, 1988
18. Cooper D.K.C., Human P.A., Lexer G. y cols. Effects of cyclosporine and antibody absorption on pig cardiac xenograft survival in the baboon. *J Heart Transplant* 7: 238, 1988
19. Fischel RJ., Platt J.L., Matas Aj. y cols: Prolonged survival of a discordant cardiac xenograft in a rhesus monkey. *Transplant Proc* 23: 589, 1991
20. Shapiro R., Tzakis A., Scantlebury V. y cols. Immunodepletion in xenotransplantation. *J Invest Surg* 3: 39,1990
- 21.Platt J.L., Verceletti G.M., Dalmaso A.P. y cols. Transplantation of discordant xenografts: a review of progress. *Immunol Today* 11, 450, 1990.
- 22.Leventhal J.R., Jhon R., Fryer J.P., Witson J. C., Derlich J. M., Remiszewski J., Dalmaso A.P., Matas AJ., Bolman 111 R.M. Removal of baboon and human antiporcine IgG and IgM natural antibodies by immunoadsorption. *Transplantation* 59,294,1995
23. Makowa L., Wu G.D., Hoffman A. y cols. Immunohistopathologic lesions associated with the rejection of a pig to human liver xenograft. 2nd International Congress on Xenotransplantation, Cambridge UK, September 26-29, 1993
24. Cooper D.K.C., Koren E., Oriol L. Human antipig antibodies and strategies for prevention of hyperacute xenograft rejection. En prensa.
25. White D., Dunning J., Wallwork J. Transgenic pigs as potential donors for xenografts. *Nefrología* 14, SI, 7073,1994.

