

## CIRUGÍA AL DÍA

# Xenotrasplante cardíaco

Dr. RICARDO ZALAUETT S e Int. Sr. CARLOS ARAVENA L

Departamento de Enfermedades Cardiovasculares. Facultad de Medicina,  
Pontificia Universidad Católica de Chile

### INTRODUCCIÓN

El trasplante cardíaco en los últimos años ha llegado a ser el mejor tratamiento para la insuficiencia cardíaca avanzada. Decenas de miles de pacientes se beneficiarían con este procedimiento anualmente, pero menos de 3.500 personas en el mundo logran ser trasplantadas, principalmente por la escasez de órganos existente. Esto ha incentivado la búsqueda de otras alternativas terapéuticas quirúrgicas, como por ejemplo la cirugía convencional de alto riesgo, la cardiomioplastia dinámica, la ventriculectomía izquierda parcial, los dispositivos mecánicos de asistencia ventricular izquierda, los implantes celulares, etc.<sup>1-3</sup> Sin embargo, hasta ahora ninguna de estas opciones ha sido una verdadera alternativa al trasplante cardíaco. De aquí el interés en utilizar corazones de animales para reemplazar un corazón humano insuficiente, procedimiento conocido como xenotrasplante. Pero, al investigar este tipo de tratamiento han surgido distintas barreras, principalmente de tipo inmunológico y éticas, que han puesto en duda su aplicación en la clínica. A pesar de esto, últimamente se han producido avances relacionados principalmente a la intervención genética que han aumentado las posibilidades de éxito a futuro del trasplante de un corazón animal a un ser humano.

En esta revisión se efectúa una actualización de los aspectos inmunológicos y de las eventuales intervenciones inmunogenéticas relacionadas al xenotrasplante, así como una discusión acerca de la factibilidad clínica del procedimiento y los riesgos de xenosis (infección desde el xenotrasplante al receptor) aún no bien conocidas, para terminar con un análisis de las implicancias bioéticas del trasplante de un corazón animal a un hombre.

### Inmunología del xenotrasplante

La principal barrera al desarrollo del xenotrasplante, como era de esperar, ha sido el rechazo del injerto por parte del receptor, lo que ha originado una gran investigación en esta área, determinándose que el rechazo hiperagudo y el rechazo vascular agudo serían las principales limitantes para la aplicación clínica en un futuro cercano del xenotrasplante cardíaco.

El rechazo hiperagudo se produce en el instante o en los primeros minutos de trasplantado el corazón y está mediado por anticuerpos preformados que actuarían sobre el endotelio del órgano donado activando la cascada clásica del complemento. Histológicamente se observa hemorragia intersticial, trombosis intravascular, edema perivascular e infiltración de polimorfonucleares. El mecanismo detrás de este rechazo es la expresión de un disacárido,  $\alpha$  1,3 galactosa (Gal), que se expresa en todos los mamíferos, excepto en humanos y primates de alta escala evolutiva (chimpancés, mandriles, etcétera), los que al estar en contacto con este antígeno producirían anticuerpos que finalmente por medio del complemento provocarían el daño antes descrito. El hombre desarrollaría estos anticuerpos desde los primeros días de vida pues los microorganismos del tubo digestivo también expresan esta molécula Gal, por lo que desde ese momento éste está preparado para rechazar en forma hiperaguda cualquier órgano que exprese este antígeno.<sup>4</sup>

Si se evita el rechazo hiperagudo por depleción del complemento se evidencia una forma retardada de rechazo que lleva a una falla del injerto mucho más gradual, en días a semanas, el llamado rechazo vascular agudo. El mecanismo exacto de este proce-

so es desconocido y se cree que es mediado por anticuerpos sin participación del complemento en que se produciría, entre otras, una activación plaquetaria, depósitos de fibrina, activación del endotelio e infiltración por células mononucleares.<sup>4</sup>

Otro tipo de reacción de huésped contra el injerto donado es el rechazo celular agudo, el que es mediado *in vitro* principalmente por células Natural Killer y Linfocitos T (principalmente CD4). Los linfocitos T reconocerían los xeno-antígenos sobre las células endoteliales y células dendríticas, lo que produciría una gran proliferación celular y reacción citotóxica. El último tipo de reacción es el rechazo crónico, que es la vasculopatía que se produce por proliferación de la íntima que lleva a oclusión e infarto del órgano trasplantado. Poco se sabe de estos rechazos en los xenotrasplantes debido a que la escasa duración del órgano trasplantado no ha permitido observarlos en plenitud.<sup>4</sup>

### Experiencia clínica en xenotrasplante

Desde 1964 se han reportado esporádicamente en la literatura internacional xenotrasplantes cardíacos en humanos (Tabla 1). En análisis actuales de estos casos se ha observado que en ellos la barrera inmune, especialmente el rechazo hiperagudo, ha jugado un rol fundamental en su fracaso.<sup>5,6</sup>

Entre todos estos casos destaca el xenotrasplante realizado en 1984 por Leonard Bailey en la Universidad de Loma Linda, California, en una recién nacida con una hipoplasia de ventrículo izquierdo a la que se le trasplantó un corazón de mandril. En éste se realizó por primera vez una cuidadosa elección del donante animal, con exámenes de compatibilidad inmunológica como tipificación ABO y HLA, *crossmatch* de linfocitotoxicidad y cultivos mixtos de linfocitos ( la incompatibilidad ABO no pudo ser evitada debido a que el tipo O del receptor es muy poco frecuente en los mandriles) y se utilizó también por primera vez terapia inmunosupresora con ciclosporina. En el postoperatorio el injerto comenzó a fallar el día 11 y la paciente murió el día 20 postrasplante. Lo destacable de este caso, además de ser el xenotrasplante cardíaco humano con la mayor duración, fue la categórica demostración de que el corazón de un animal era capaz de soportar y mantener la circulación sanguínea en un ser humano.<sup>7</sup>

### Elección del tipo de donante animal

Las investigaciones iniciales se focalizaron en el uso de órganos de primates debido a que por su

cercanía evolutiva con el hombre se asumió que habría menos trabas inmunológicas. Sin embargo, estos presentan numerosas y variadas dificultades, pues no están disponibles en gran número, no se domestican, ni se pueden reproducir fácilmente en cautiverio, además de problemas ecológicos, por lo que no servirían como fuente primaria de órganos ni para la manipulación genética previa. En cambio, los cerdos surgen en la actualidad como una gran fuente potencial de órganos a pesar de su desventaja evolutiva, ya que se desarrollan en un corto período de tiempo, son domesticables y tienen una gran camada, además de que no existirían problemas éticos ni ecológicos o con organizaciones naturalistas puesto que la mayoría de las personas comemos cerdo, por lo que serían donantes abundantes y adecuados desde un recién nacido a un hombre de más de 100 kg.<sup>5,6</sup>

### Métodos experimentales para prolongar la sobrevida de órganos animales

Ya desde fines del siglo XX se comenzaron investigaciones con el fin de vencer las barreras que impiden el éxito del xenotrasplante. Cuatro son las líneas experimentales principales:

1. *Disminución o inhibición de anticuerpos anti-Gal*: se pueden reducir los niveles de anticuerpos anti-Gal usando columnas de inmunoafinidad extracorpórea (secuestran anticuerpos), o inyectando la forma soluble del antígeno para que neutralice los anticuerpos circulantes. Estas técnicas han demostrado ser efectivas en retrasar el rechazo hiperagudo, pero no el rechazo vascular agudo.<sup>8,9</sup>

2. *Depleción o inhibición del complemento*: la disminución de la actividad del complemento, ya

**Tabla 1**  
**XENOTRASPLANTES CARDÍACOS EN**  
**SERES HUMANOS**

Caso	Año	País	Cirujano	Donante	Sobrevida
1	1964	EEUU	Hardy	Chimpancé	2h
2	1968	RU	Ross	Cerdo	4 min
3	1968	RU	Ross	Cerdo	Cese inmediato
4	1968	EEUU	Cooley	Oveja	Cese inmediato
5	1969	Francia	Marion	Chimpancé	¿?
6	1977	Sudáfrica	Barnard	Mandril	5 h
7	1977	Sudáfrica	Barnard	Chimpancé	4 días
8	1984	EEUU	Bailey	Mandril	20 días
9	1991	Polonia	Religa	Cerdo	< 24 h
10	1996	India	Baruah	Cerdo	< 24 h

EEUU: Estados Unidos de Norteamérica. RU: Reino Unido.

sea por su depleción o inhibición, sería eficaz en prevenir el rechazo hiperagudo. Entre éstas, el veneno de cobra provocaría el consumo del factor C3 del complemento. La infusión de anticuerpos monoclonales contra el factor C5 y el uso del receptor soluble del complemento inhibiría la acción de éste, en lo que en modelos de trasplantes de cerdos a mandriles existen ya buenos resultados.<sup>10,11</sup>

3. *Ingeniería genética en cerdos*: el endotelio porcino es atacado por el complemento humano debido a que sus proteínas reguladoras del sistema del complemento no son eficaces para desactivarlo. Con ingeniería genética sobre cerdos se han hecho expresar proteínas reguladoras humanas (DAF, MCP, CD59) y se ha visto que los corazones de estos animales transgénicos no son rechazados en forma hiperaguda al ser trasplantado en un receptor como el mandril.<sup>12,13</sup> Otra estrategia promisoría es la eliminación del antígeno  $\alpha$  1,3 galactosa, por ejemplo, realizando un *knock-out* del gen de la enzima a galactosil transferasa que lo produce. Estas técnicas aún no son posible aplicarlas en cerdos y sólo se han realizado exitosamente en ratas.<sup>14</sup>

4. *Desarrollo de tolerancia inmunológica*: su objetivo es lograr que el receptor no provoque una respuesta específica contra el órgano donado. Si se logra tolerancia se debería eliminar el desarrollo de rechazo celular agudo o rechazo crónico, lo cual sería un avance importante pues este último no tiene un tratamiento efectivo. Se han formulado 2 maneras de realizarlo:

a) **Quimerismo molecular**: se ha logrado tolerancia inmune al introducir el gen de la enzima del antígeno Gal en la médula ósea a un receptor que no posee el antígeno. Luego se destruye la médula y se reintroduce el tejido autólogo con la enzima; ahora el receptor presenta el antígeno y ya no produce anticuerpos anti-Gal. Los trabajos hasta ahora muestran éxito sólo en ratas; en babuinos la expresión fue transitoria y nunca se alcanzó tolerancia.<sup>15</sup>

b) **Quimerismo de células hematopoyéticas mezcladas**: se induce tolerancia con poblaciones de células de médula ósea del donante que se mezclan con el receptor y posteriormente el órgano del mismo donante es trasplantado en el momento adecuado. Esta técnica ha dado resultados en trasplantes aloinmune entre primates no humanos, pero no ha tenido éxito en xenotrasplante propiamente tal.<sup>16</sup>

5. *Otros métodos utilizados*: aunque no son efectivos en controlar el rechazo hiperagudo, los agentes inmunosupresores (ciclosporina, esteroides, imuran y micofenolato) son utilizados junto con

ciclofosfamida intentando controlar el rechazo crónico. Su uso en conjunto con las estrategias previas ha resultado en mejoría de supervivencia de trasplantes entre cerdos y primates no humanos, pero sus principales limitantes son que el receptor tolera poco la inmunosupresión debido a las altas dosis necesarias para este fin y, por lo mismo, las complicaciones infecciosas son importantes.

## Ética

Dos grandes temas bioéticos se han planteado durante el desarrollo del xenotrasplante: los derechos de los animales y la xenosis, es decir, la infección desde el xenoinjerto al receptor. La controversia sobre los derechos de los animales se dirigió principalmente al uso de primates, pero, como se ha señalado, actualmente el cerdo sería el animal más probablemente utilizado y, ya que su consumo a nivel doméstico (alimentación) o médico (válvulas) es frecuente y permitido, este punto es cada vez menos controvertido.

Respecto a la xenosis, la preocupación sobre la transmisión de infecciones es importante y no descartable y aunque en los cerdos la infestación con parásitos o infecciones de otro tipo son controlables, la incertidumbre se mantiene debido, entre otras razones, a que se ha aislado un retrovirus endógeno porcino (PERV) que no infecta células humanas *in vitro*, pero la posibilidad de infectar *in vivo* no puede ser descartada, sobretodo si se usa terapia inmunosupresora.<sup>17,18,19</sup> Surgiría así la gran pregunta de si es lícito cambiar una enfermedad por otra, sobre todo si esta nueva enfermedad fuese transmisible a otros individuos no relacionados al trasplante, con riesgo de una epidemia o incluso una epidemia como la causada por el virus del SIDA.

## CONCLUSIONES

A pesar de los grandes avances logrados en las investigaciones del xenotrasplante cardíaco, quedan aún muchos problemas inmunológicos no resueltos, existe un riesgo potencial de xenosis y los resultados experimentales aún no son satisfactorios, lo que nos indica que pensar en un ensayo clínico en la actualidad sería demasiado prematuro. Pero, como hemos visto, sólo en la última década la investigación experimental ha avanzado a pasos agigantados, lo que nos lleva a pensar que el xenotrasplante posee un gran potencial y la investigación en esta área debe seguir siendo apoyada y si finalmente se logra vencer la barrera inmunológica, el xenotrasplante seguramente representará

la más probable solución al reemplazo cardíaco para los pacientes con insuficiencia cardíaca terminal en un futuro no muy lejano, apareciendo el cerdo como el principal y más probable "donante".

### BIBLIOGRAFÍA

- Zalaquett R: Opciones quirúrgicas alternativas al trasplante cardíaco. *Rev Chil Cardiol* 1998;17: 226-34.
- Kofidis T, Akhyaei P, Boublik J, Theodorou P, Martin U, Ruhparwar A *et al*: In vitro engineering of heart muscle: artificial myocardial tissue. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 63-9
- Morán S, Castro P, Zalaquett R, Becker P, Garayar B, Irrázaval M: Tratamiento de la Insuficiencia cardíaca avanzada mediante trasplante de corazón. *Rev Med Chile* 2001; 129: 9-17.
- Bühler L, Friedman T, Iacomini J, Cooper DK: Xenotransplantation: state of the art. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4: 416-32.
- Adams D, Chen R, Kadner A: Cardiac xenotransplantation: clinical experience and future direction. *Ann Thorac Surg* 2000; 70: 320-6.
- Cooper DK, Keogh AM: The potential rol of xenotransplantation in treating endstage cardiac disease: a summary of the report of the xenotransplantation advisory committee of the international society for heart and lung transplantation. *Current Opinion in Cardiology* 2001; 16: 105-9.
- Baley LL, Nehlsen-Cannarella S, Concepcion W, Jolley W: Baboon to human cardiac xenotransplantation in a neonate. *JAMA* 1985; 256: 3321-9.
- Simon P, Neethling FA, Taniguchi S *et al*: Intravenous infusion of gal oligosaccharides in baboons delays hyperacute rejection of porcine heart xenografts. *Transplantation* 1998; 65: 346-53.
- Taniguchi S, Neethling FA, Korchagina EY *et al*: In vivo immunoabsorption of anti-pig antibodies in baboons using a specific gal  $\alpha$  1,3 gal column. *Transplantation* 1996; 62: 1379-84.
- Kobayashi T, Taniguchi S, Neethling FA *et al*: Delayed xenograft rejection of pig-to-baboon cardiac transplants after cobra venom factor therapy. *Transplantation* 1997; 64: 1255-61.
- Leventhal JR, Dalmasso AP, Cromwell JW *et al*: Prolongation of cardiac xenograft survival by depletion of complement. *Transplantation* 1993; 55: 857-65.
- Schmoeckel M, Bhatti FNK, Zaidi A *et al*: Orthotopic heart transplantation in a transgenic pig-to-primate model. *Transplantation* 1998; 65: 1570-7 .
- Schuurman HJ, Pino G, Phillips MJ *et al*: Incidence of hyperacute rejection in pig to primate transplantation using organs from HDAF-transgenic donors. *Transplantation* 2002; 73: 1146-51.
- Tearle RG, Tange MJ, Zannettino ZL *et al*: The  $\alpha$  1,3 galactosyl transferase knock-out mouse. *Transplantation* 1996; 61: 13-9
- Bracy JL: Inhibition of xenoreactive natural antibody production by retroviral gene therapy. *Science* 1998; 281: 1845-7.
- Appel JZ, Newman D, Awwad M *et al*: Activation of human endothelial cells by mobilized porcine leukocytes in vitro. *Transplantation* 2002; 73: 1302-9.
- Heneine W, Tibell A, Switzer WM *et al*: No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts. *Lancet* 1998; 352: 693.
- Martin U, Kiessig V, Blusch JH *et al*: Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells. *Lancet* 1998 ; 352: 692-4.
- Chapman LE and Bloom ET: Clinical xenotransplantation. *JAMA* 2001; 285: 2304-6.