Xenotrasplante: ¿Qué ha cambiado en 15 años?

G. Ramis^{1,2}, L. Martínez-Alarcón^{2,3}, A. Muñoz^{1,2}, P. Ramírez^{2,4}

¹ Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria de Murcia ² Instituto Murciando de Investigación Biosanitaria (IMIB), Murcia ³ UDICA, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia ⁴ Servicio de Cirugía, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia

INTRODUCCIÓN

"El concepto de xenotrasplante o, lo que es lo mismo, el trasplante de órganos entre distintas especies no es algo nuevo. De hecho, los primeros trasplantes que se intentaron en cirugía humana se hicieron con órganos de especies animales". Así comenzaba el artículo publicado en el número 53 de la revista *Anaporc* el 20 de octubre 2008, por lo que cuando lean estas palabras se estarán cumpliendo 15 años exactos de ese artículo... y seguimos hablando de xenotrasplante. Después de un periodo en el que esta técnica experimental parecía morir, resurge con un ímpetu increíble, y todo gracias a un solo factor: LOS CERDOS. Efectivamente, los cerdos que se han generado para xenotrasplante son los responsables del éxito que ha tenido en los últimos dos años.

Porque xenotrasplante renace gracias a que, por fin, las experiencias que se han estado haciendo casi 30 años en modelos animales han saltado al humano con éxito. Y en este artículo vamos a repasar esos éxitos, repasando que ha cambiado durante estos 15 años para llegar hasta este punto.

PUNTO DE PARTIDA

Hace 15 años hacíamos referencia a que los cerdos que se tenían que usar como donantes eran animales modificados genéticamente y que se habían "humanizado" en algunos aspectos para evitar los distintos fenómenos indeseables que surgen en todo trasplante. Porque, al fin y al cabo, un trasplante es cambiar una enfermedad mortal por una enfermedad grave, ya que el trasplantado tendrá que estar inmunosuprimido el resto de su vida. Y si los órganos eran de origen animal mucho más gravemente. Hace 15 años nos conformábamos con animales que apenas tenían dos o tres modificaciones genéticas, incluyendo los transgenes de proteínas de regulación del complemento o la H-transferasa que hacía que el principal antígeno implicado en el rechazo hiperagudo, el α-gal (en realidad α-1-3-galactosa) se convirtiera en un grupo B (del grupo ABO) mediante la adición de una Fucosa. Y con esto ya se consiguieron hitos como seis meses de supervivencia en riñones, tres meses en corazón u ocho días de hígado en modelo cerdo-babuino o cerdo-macaco.

Y a partir de ahí, ¿cómo seguimos? Solo tengamos en cuenta algún dato interesante: desde los ocho días de supervivencia en babuino de un hígado de cerdo con una proteína reguladora de complemento



Figura 1. Portada de USA Today comunicando la experiencia de xenotrasplante realizado en la Universidad de Alabama en Birmingham, en octubre de 2021.

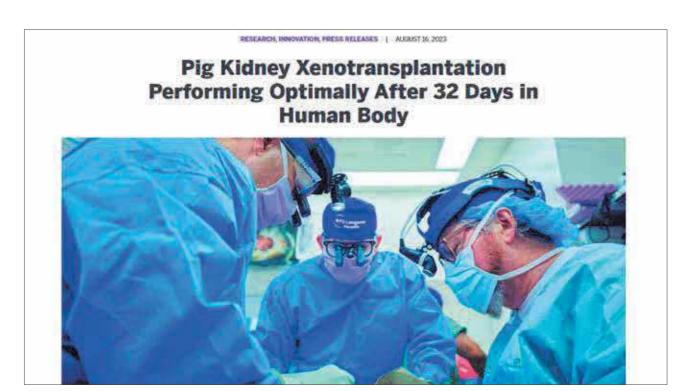


Figura 2. Portada de la web de la NYU anunciado la supervivencia de 32 días de un riñón de cerdo en un cadáver.

humano (CD55), conseguido por el equipo de Murcia hasta que se superó ese registro hasta los 25 días en el centro Starzl en Estados Unidos, pasaron casi 18 años. Esto solo sirva como ejemplo claro de que el camino no ha sido fácil y, de hecho, ha implicado a muchos equipos de investigación. Por cierto, en España sólo ha permanecido investigando en xenotrasplante de forma mantenida hasta hoy el equipo de la Universidad de Murcia y el Hospital Virgen de la Arrixaca.

Y DE REPENTE, EL XENOTRASPLANTE REVIVE

Después de años en los que xenotrasplante queda como una técnica meramente experimental y pasa desapercibida para la mayoría de la comunidad científica, y no digamos para la sociedad en general, a finales de 2021 se produce un verdadero terremoto en este campo de la ciencia. Se produce una comunicación científica por una vía poco convencional: los medios de masas digitales, comenzando por USA Today y de ahí, saltando a toda la prensa mundial: se ha hecho el primer xenotrasplante renal en modelo humano desde los años 90. La Universidad de Alabama en Birmingham (UA) ha hecho un xenotrasplante de riñón utilizando un donante cadáver pero en el sentido inverso; una familia dona el cuerpo de un paciente en muerte cerebral, no para que le extraigan los órganos, sino para que se le implante un riñón de cerdo en posición heterotópica (en la ingle) y ver si el órgano funciona y cual es su verdadero rendimiento en un humano.

Curiosamente, un poco antes la Universidad de Nueva York (NYU) ya hizo dos xenotrasplantes renales, pero hay que reconocer que esta experiencia tuvo poco impacto. A raíz de la visibilidad que obtiene la experiencia de la UA se conocen las

experiencias de la NYU. Hoy ya han aprendido y en junio de 2023 comunican la supervivencia de un riñón de cerdo mantenido en funcionamiento durante 32 días en un cadáver mantenido artificialmente (Figura 2).

Pero casi inmediatamente después del impacto de la UA con el riñón xenotrasplantado se produce un impacto mucho mayor y más mediático (ya tenían entrenamiento del caso del riñón). El 7 de enero de 2022 se anuncia que se ha hecho en la Universidad de Maryland el primer xenotrasplante cardiaco desde 1984. Han hecho falta 38 años para que se llegue de nuevo a poner un corazón animal en un humano (recordemos que en 1984 fue el corazón de un babuino en una niña de 20 días de edad con una supervivencia de 22 días). En este caso se trata de un paciente que no es elegible para trasplante, básicamente porque no tiene adherencia ninguna a los tratamientos. Se le ofrece un xenotrasplante como tratamiento compasivo cuando su esperanza de vida se cuenta en horas y acepta. Se le hace un xenotrasplante, aunque se mantiene la oxigenación extracorpórea mediante membrana (ECMO). Se comunica finalmente el fallecimiento del paciente el día 9 de marzo, lo que supone un verdadero hito; el paciente ha superado en dos meses su esperanza de vida gracias a un riñón de cerdo.

Resulta muy interesante ver cómo, en contra de lo que suele ocurrir, todas estas comunicaciones científicas se producen primero en los mass media y después en las revistas especializadas. Evidentemente, luego enteremos que existe un cierto interés de mercado en comunicar estas noticias de la forma más eficientemente posible. Incluso podemos encontrar una noticia de la NBC de julio de 2022 donde se comunica que el paciente no murió por causa del rechazo inmunológico sino por un

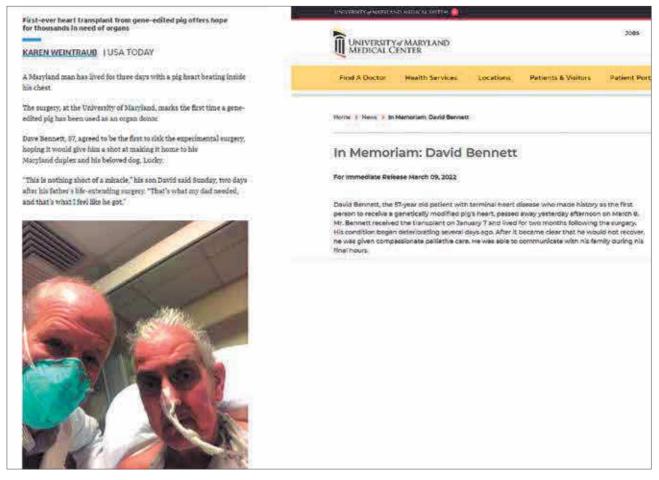


Figura 3. Noticia del xenotrasplante cardiaco en la Universidad de Maryland e In memorian de David Bennett tras su muerte dos meses después.

fallo cardiaco resultado de numerosos factores. Conviene recordar que la condición clínica del paciente era crítica cuando se produjo el xenotrasplante.

Otra comunicación interesante fue el hecho de que el paciente se infectara con un Citomegalovirus porcino, que sabemos desde hace años que influye en el resultado de los xenotrasplantes, al menos hepáticos. Se estableció un debate sobre la seguridad de los xenotrasplantes y la posibilidad de transmisión de patógenos. Pero, curiosamente, este debate prácticamente no tuvo repercusión en la sociedad, más allá de los animalistas radicales que sostienen que el xenotrasplante es ciencia basura y que llevará a la humanidad a la extinción (tiene que haber gente para todo, que le vamos a hacer). Aunque como este colectivo siempre ha tildado el xenotrasplante de lo mismo, no hay sorpresas. Lo sorprendente de verdad es que, al parecer una sociedad más madura con la idea del xenotrasplante que en los años 90, no reaccionó de forma exacerbada ante esta noticia. Y eso que se vertieron dudas sobre la posibilidad de que esta infección vírica fuera la responsable del fallo cardiaco que terminó matando a Mr. Bennett.

ARTÍFICES DEL MILAGRO: LOS CERDOS

Evidentemente, en una revista de divulgación de ciencia relacionada con los cerdos, este artículo no tendría cabida si no fuera por el hecho de que los verdaderos artífices de este milagro científico son LOS CERDOS. En aquel artículo de hace 15 años escribimos en las conclusiones "Sin duda, el principal campo en el que hay que profundizar es en la modificación genética del cerdo donante, para que cada vez sea más fácil superar no solo las barreras inmunológicas, sino también las fisiológicas". No había adivinación en estas palabras: había experiencia de 15 años en la materia. Sabíamos que había que modificar los cerdos mucho más para mejorar el rendimiento. ¿Donde llegamos desde ese punto de partida tan precario del que hablamos antes? Pues a tener cerdos hasta con 10 modificaciones genéticas.

Las principales modificaciones han sido de dos tipos: el silenciamiento de genes o *Knock-out* (KO) y la transgénesis o *knock-in* (KI). Lo primero será evitar que se expresen genes del cerdo que producen antígenos de superficie y que son los detonantes de parte del rechazo inmunológico. Lo segundo será introducir genes humanos que ayuden en algunas de las facetas del rechazo inmunológico o no, o en las incompatibilidades fisiológicas. Haremos un resumen de las principales modificaciones hoy disponibles por bloque de modo de acción en la *tabla 1*.

Es fácil ver cómo se ha progresado de los cerdos con una KO de hace 20 años; los GTKO que reducían la expresión del antígeno α-gal y hoy ya tenemos cerdos con cuatro KO para cuatro antígenos de superficie que sabemos están involucrados en rechazo hiperagudo y vascular agudo. Seguimos usando la estrategia de tener animales con proteínas reguladoras de complemento humanas (CD46, CD55 y CD59) dado que las proteínas reguladoras de complemento de cerdo no son capaces de regular el complemento humano. Por tanto, poner un órgano que no va a ser capaz de defenderse del complemento del receptor no tiene sentido. Estas proteínas están ampliamente probadas como eficaces en los últimos 30 años.

Una de las alteraciones más frecuentes después de un xenotrasplante, especialmente hepático, son las alteraciones de la coagulación. Por eso se han desarrollado diversas estrategias de KI, incluyendo trombomodulina, hTFPI o hCD39. Estos genes ayudan a superar los fenómenos de hipo o hipercoagulación que se observan en los xenotrasplantes en modelo animal.

Hay otro gran grupo de genes implicados en el rechazo hiperagudo que se pueden modificar genéticamente. Hablamos de genes como hCD47 crítico en la activación de macrófagos, hA20 gen antiapoptótico o hHO1 o hemoxogenasa 1 que protege al injerto durante la fase de isquemia de

la acción de las especies oxígenos reactivas como los óxidos, superóxido o peróxidos.

Todos estos genes van a hacer el milagro de conseguir que el órgano de un cerdo sobreviva al rechazo hiperagudo, al vascular agudo e incluso al celular crónico y que además funcione. Existe una controversia sobre cuantos genes modificados conviene acumular en un cerdo y no existe un consenso. Un ejemplo: la mayor supervivencia de un hígado en modelo animales ha conseguido con animales GTKO/CD46, es decir muy sencillos comparados con los GGTA1 KO/β4GalNT2 KO/ CMAH KO/ GHR KO/hCD55/hCD46/hTBM/hEPCR/ hCD47/hHO1 que se usaron en las experiencias de riñón en la UA o de corazón en la Universidad de Maryland (no se asusten... son solo las siglas de los genes modificados; los encontraran en la *Tabla 1*). Hay otro gen que se ha tenido que modificar, por ejemplo, en el caso del corazón: el que codifica para receptores de hormona de crecimiento. La razón es sencilla: el corazón de un cerdo está preparado para crecer hasta poder suministrar a un animal de más de 500 Kg. Y no es esperable que un humano pueda albergar en su caja torácica semejante órgano por lo que hay que evitar el crecimiento sin control de dicho corazón.

Pero otra pregunta es: ¿quién tiene estos cerdos? Básicamente ahora mismo hay tres fuentes de cerdos transgénicos: dos privadas (Revivicor y eGenesis) y una pública que es un consorcio alemán de universidades y centros de investigación (oficialmente denominado con el sencillo nombre de The german xenotransplantation research cluster "biology of xenogeneic cell, tissue and organ



Figura 4. Comunicación de las causas de la muerte de David Bennett a través de NBC news.



ABREVIATURA	GEN	FUNCIÓN	REFERENCIA
GTKO	α1,3 galactosiltransferasa KO (GTKO ο GGTA1 KO)	Deleción del epítopo aGal	Phelps et al., 2003
СМАН КО	CMP-N- acetilgalatosaminiltransferasa	Deleción del epítopo	Deug-Nam et al., 2013
84GalNT2 KO	KO β-1,4N-	Neu5Gc	Estrada et al., 2015
Neu5Gc KO (CMAH)	acetilgalactosamuniltransferasa KO Acido N-glicolilneuramínico	Deleción del epítopo SDa	Burlak et al., 2014
hCD46 (MCP)		Deleción de CMAH, la enzima responsible de la síntesis de Neu5Gc	Diamond et al., 2001
hCD55 (DAF)	Transgén para la proteína del cofactor de membrana humana	Inactivación del factor	Coozi and White, 1995
hCD59 (MAC-IP)	Transgén para el factor de aceleración de la desactivación humano Transgén para la proteína inhibidora del complejo de ataque C5b-9 humano	del complemento C3b y C4b Aceleración de la desintegración del complemento Inhibición del complejo de ataque de membrana del complemento C5b-9	Fodor et al., 1994
ALTERACIONES			
DE COAGULACIÓN	T	Activación de la	Determine at al. 2000
hTBM hTFPI	Transgén para trombomodulina humana Transgén para inhibidor del	proteína C Antagonizar la	Petersen et al., 2009 Lin et al., 2010
hCD39	factor de la vía tisular humano Transgén para la	función del factor tisular	Wheeler et al, 2012
ASGR1 KO	ectonucleosidasa trifosfato difosfohidrolasa-1 humana Asiaglycoprotein receptor 1	Anticoagulante y antiinflamatorio Disminuye la fagocitosis de plaquetas humanas por las células endoteliales sinusoidales porcinas	Paris et al., 2015
REGULACIÓN DE INFLAMACIÓN			
hA20	Transgén para el alfa facto de necrosis tumoral inducido por proteína 3 humano	Inhibición de la activación de NF-kppa B y de la apoptosis	Oropeza et al., 2009
hCD47	Transgén para la proteína	mediada por TNF Regulación de la	Tena et al., 2014
CTLA4-Ig	asociada a integrina humano Transgén para la proteína 4	activación de macrófagos y la	Wang et al., 2015
CITA-DN	inmunoglobulina asociada a linfocitos T citotóxicos	fagocitosis Inhibición de la coestimulación de	Hara et al., 2013
hHO1	Transgén para hemo-oxigenasa 1 humana	células T a través de CD86/CD804. Supresión de la activación de las células T Antiapoptosis, citoprotección antiinflamatoria	Petersen et al., 2011
RIESGO INFECCIOSO			
Inactivación de PERV	Inactivación del retrovirus	Xenozoonosis	Niu et al., 2017

Tabla 1. Modificaciones genéticas probadas en cerdos donantes de xenotrasplante.

Figura 5. Imágenes de embriones de cerdo conteniendo riñones con hasta un 50% de células humanas.

transplantation – from bench to bedside"). Las privadas son compañías norteamericanas que están verdaderamente interesadas en aue se comuniquen los éxitos obtenidos con sus cerdos (¿ahora ya saben por qué se usaron USA Today y otro mass media para comunicar los xenotrasplantes renales y cardiaco?). De ellas, Revivicor es la que ha suministrado los cerdos de todas las experiencias documentadas en Estados Unidos. No se conocen aún resultados con eGenesis o con el consorcio alemán en humanos, aunque no deberían tardar mucho en producirse.

Y ESPAÑA, ¿DÓNDE ESTÁ?

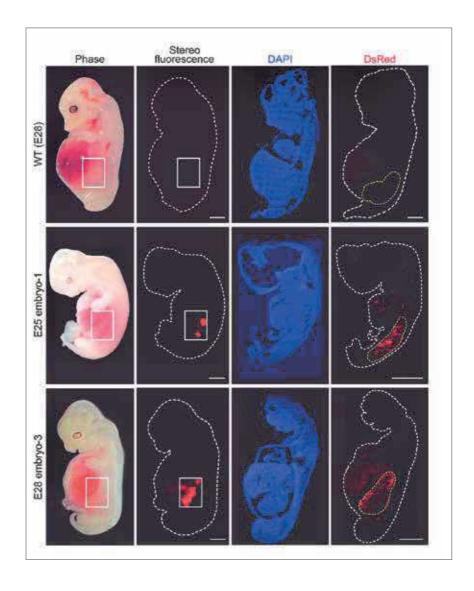
Curiosamente, aunque no se investigue muy activamente en España, hay nombres españoles relacionados con el xenotrasplante, como puede ser Juan Carlos Ispizua, que es catedrático en el Instituto Salk de Estudios Biológicos en La Jolla, California, y catedrático extraordinario en la Universidad Católica de Murcia, o Miguel A. Esteban, de quien hemos tenido conocimiento recientemente como investigador

integrado en un equipo chino que ha conseguido crear órganos humanizados en embriones de cerdo a partir de células pluropotenciales humanas. Ambos trabajan en alternativas para producir órganos humanizados en embriones de cerdo.

En cuanto a equipos de investigación, nominalmente sólo queda el equipo de xenotrasplante de la Universidad de Murcia-Hospital Virgen de la Arrixaca que tiene la experiencia y la capacidad para abordar xenotrasplantes hepáticos merced a la actividad desarrollada durante los últimos 25 años en ámbito de la cirugía, la inmunología, la biología molecular o la creación de quimeras.

CONCLUSIONES

Al contrario de lo que dice el tango, en xenotrasplante 15 años han sido toda una era y el avance conseguido parece increíble. Hacer saltar el xenotrasplante de los modelos animales a la mesa de quirófano ha sido un avance estratosférico hacia delante. Y ya no solo hablamos de córneas o de islotes pancreáticos protegidos por membrana. Hablamos de órgano sólido, hablamos de riñón, de



corazón y del único grande que falta por ensayar: el hígado. Y quizás en ese aspecto, Murcia tenga algo que decir más antes que después.

Pero, aunque todos saben que soy un amante convencido y declarado del xenotrasplante, quiero terminar con una reflexión filosófica: No le dejemos la responsabilidad de paliar la carencia de órganos sólo a mi especie favorita, el cerdo. Los xenotrasplantes no son, en absoluto, la solución a dicha carencia. Eso sólo lo podemos solucionar nosotros: así que, háganse un favor y donen sus órganos y accedan a la donación de los órganos de sus familiares cuando fallezcan. Y así, junto con el xenotrasplante, paliaremos la carencia de órganos y evitaremos que no menos de 50 personas mueran al año en España esperando un hígado.

Y con xenotrasplante, una vez más el cerdo saldrá en auxilio de la especie humana... como lleva haciendo los últimos 7.000 años: quitándonos el hambre.

Le debemos agradecimiento eterno. Y hora más ya que, potencialmente, le pueden salvar la vida el día que menos se lo esperen. ■