

## Últimos avances en el campo del trasplante de islotes de Langerhans

J. Arias Díaz, E. Vara\* y J.L. Balibrea

Departamento de Cirugía. Hospital Clínico San Carlos. \*Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid.

### Resumen

Las complicaciones tardías de la diabetes constituyen un importante problema de salud pública y hoy día está demostrado que se deben a que el tratamiento habitual con insulina inyectada proporciona un control inadecuado de la glucemia. En pacientes con diabetes tipo I, se puede conseguir un buen control glucémico mediante la terapia intensiva con insulina o mediante un trasplante de páncreas. La terapia intensiva con insulina no logra normalizar las cifras de hemoglobina glucosilada y presenta un riesgo considerable de crisis de hipoglucemia. El trasplante de páncreas proporciona un control metabólico excelente y, aunque sus resultados han mejorado espectacularmente durante la última década, continúa siendo un procedimiento invasivo y con una morbilidad significativa. El trasplante de islotes aislados representa la alternativa más lógica para el tratamiento de estos pacientes. En un estudio reciente, que utiliza un innovador régimen inmunosupresor, el trasplante de islotes se acompañó de una morbilidad irrelevante y logró en todos los pacientes un buen control metabólico con normalización de la hemoglobina glucosilada e independencia de la insulina mantenidas.

**Palabras clave:** Diabetes. Trasplante de islotes. Trasplante celular.

(*Cir Esp* 2001; 70: 310-313)

### UPDATE IN CLINICAL ISLET TRANSPLANTATION

The long-term complications of insulin-dependent diabetes mellitus have become a major health care problem, and it is now clear that they arise from inadequate homeostatic control of blood glucose by injected replacement insulin. In patients with type I diabetes, glycemic control can be achieved with intensive insulin therapy and pancreatic transplantation. Intensive insulin therapy does not normalize glycosylated hemoglobin values and may cause severe hypoglycemia. Pancreatic transplantation provides excellent glycemic control, and although the outcome of the procedure has improved dramatically over the past decade, it remains an invasive procedure with a substantial risk of morbidity. Transplantation of pancreatic islets is arguably the most logical approach to restoring metabolic homeostasis in people with diabetes. In a recent trial, using an improved immunosuppressive regimen, islet transplantation has been associated with a minimal risk of morbidity and uniformly resulted in good metabolic control, with normalization of glycosylated hemoglobin values and sustained freedom from the need for exogenous insulin.

**Key words:** Diabetes. Islet transplantation. Cell transplantation.

### Introducción

Hasta fechas muy recientes, el trasplante de islotes se restringía a pacientes diabéticos que requerían un trasplante renal. Como estos pacientes ya deben recibir inmunosupresión para evitar el rechazo del injerto renal, el

trasplante de islotes supondría un mínimo riesgo adicional.

De acuerdo con los últimos datos del Registro Internacional de Trasplantes de Islotes, en los trasplantes llevados a cabo de modo simultáneo, o después de un trasplante renal desde 1990 a 1997, se consiguió una función insular (péptido C  $\geq$  0,5 ng/ml) durante períodos superiores a un mes en el 68% de los casos e independencia a la insulina en el 14%. Durante dicho período, la mayoría de los trasplantes de islotes se hicieron bajo protocolos de inmunosupresión que incluían esteroides. Los corticoides son eficaces para evitar el rechazo, pero tienen un importante poder diabetogénico intrínseco. Ello ha permitido explicar en parte los malos resultados en

Correspondencia: J. Arias Díaz.  
Servicio de Cirugía II. Hospital Clínico San Carlos.  
Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid.  
Correo electrónico: javardi@wanadoo.es

Aceptado para su publicación en junio de 2001.

cuanto a independencia a la insulina a pesar del relativamente elevado porcentaje de casos con función insular.

Sin embargo, en el año 2000, Shapiro et al, de la Universidad de Alberta (Edmonton, Canadá), han publicado excelentes resultados<sup>1</sup> en una serie de trasplantes de islotes solitarios (sin riñón) en pacientes con diabetes tipo I que presentaban función renal normal. En los 7 casos publicados se obtuvo independencia a la insulina durante al menos un año tras el trasplante. Tras estos esperanzadores resultados, diversos centros han modificado sus protocolos de acuerdo a las directrices seguidas por el grupo de Alberta, que excluye de su protocolo de inmunosupresión el uso de corticoides.

Estos nuevos protocolos libres de esteroides han sido posibles gracias a la introducción del sirolimus (Rapamicina<sup>7</sup>), un nuevo inmunosupresor de gran potencia. Asimismo, la baja incidencia de efectos indeseables de los nuevos protocolos de inmunosupresión hace aparentemente aceptable el trasplante de islotes para pacientes que no requieran trasplante renal. Sin embargo, estos resultados necesitan ser confirmados por otros centros antes de que el nuevo enfoque pueda recomendarse sin restricciones a un número mayor de pacientes diabéticos.

En el protocolo actual se han adoptado modificaciones introducidas por el grupo de Lille (Francia)<sup>2</sup>. Los islotes son inyectados intraportalmente de forma inmediata tras el aislamiento. Dependiendo del peso del receptor y del número de islotes aislados del páncreas donante, puede ser necesaria una segunda o tercera inyección de otros tantos donantes, con el fin de alcanzar una masa insular suficiente para obtener la independencia a la insulina.

El protocolo descrito, de trasplante sólo de islotes a pacientes con diabetes tipo I sin insuficiencia renal, se encuentra actualmente bajo un estudio multicéntrico internacional dirigido por el Immune Tolerance Network ([www.immunetolerance.com](http://www.immunetolerance.com)). En dicho estudio participan tres centros europeos: Giessen, Milán y Génova. Está previsto trasplantar a 4 pacientes en cada centro. Las razones que aducen los promotores para admitir sólo 40 pacientes en total son:

1. Es un número suficiente, desde el punto de vista estadístico, para confirmar los resultados de la Universidad de Alberta.

2. Cada trasplante tiene un coste aproximado de 100.000 dólares, y para este ensayo inicial están previstos 4 millones de dólares, además de 1 millón para gastos científicos adicionales. Se trata de una inversión importante para una etapa tan temprana de una terapia experimental.

3. Hay escasez de injertos pancreáticos disponibles para aislamiento de islotes.

De modo independiente, con varias modificaciones al régimen inmunosupresor, el protocolo de Edmonton está siendo aplicado en diversos centros para el trasplante de islotes simultáneamente o tras el trasplante renal.

Cada vez está más claro que estos trasplantes benefician a los pacientes diabéticos tipo I con mal control glucémico. Incluso los trasplantes con función parcial pueden normalizar el metabolismo de lípidos y proteínas en

estos pacientes<sup>3</sup>, lo que demuestra la importancia de los islotes para el control metabólico sistémico y sugiere que los islotes pueden reducir la repercusión de las complicaciones tardías de la diabetes. De hecho, en enero de 2001, Fiorina et al presentaron la primera evidencia de que los injertos insulares pueden tener un efecto protector sobre las complicaciones cardiovasculares de la diabetes<sup>4</sup>.

### Potenciales enfoques alternativos para el trasplante de islotes: estado actual

Es obvio que la demanda para el trasplante de islotes excede con mucho la oferta actual de donantes de páncreas. Además, los riesgos potenciales de los protocolos de inmunosupresión restringen el trasplante de islotes a pacientes con diabetes inestable y/o complicaciones rápidamente evolutivas, en los cuales los beneficios potenciales superen los riesgos.

Los esfuerzos investigadores se dirigen actualmente a procedimientos alternativos para eludir tanto la escasez de donantes como la necesidad de inmunosupresión. Dichas alternativas incluirían el establecimiento de líneas de células beta productoras de insulina, la diferenciación de células ductales y células madre hacia células beta, el inmunoaislamiento (encapsulación de los islotes), el xenotrasplante y la inducción de tolerancia específica en el receptor.

#### *Neogénesis celular. Líneas celulares beta humanas productoras de insulina. Células madre*

Una línea celular beta podría representar un suministro ilimitado de células productoras de insulina. Uno de los mayores obstáculos para su consecución es el hecho de que las células beta son difíciles de mantener y no crecen en cultivo.

Diversos grupos en los EE.UU. y Europa están intentando crear una línea celular beta mediante la introducción de genes en células beta adultas humanas para inducir su proliferación<sup>5,6</sup>. La principal dificultad reside en preservar la capacidad única que poseen las células beta para producir insulina de acuerdo con los valores de glucosa. Las células precursoras de las ductales pancreáticas también se consideran candidatas para la creación de una línea celular que pudiese ser usada para el trasplante. El grupo de Lille ha encontrado que, bajo condiciones específicas de cultivo, algunas células del ducto pancreático presentan una capacidad para diferenciarse en células productoras de insulina<sup>7,8</sup>.

Las células madre embrionarias tienen capacidad para diferenciarse en cultivo hacia diversas líneas celulares. Recientemente, el grupo de Bernat Soria, en Alicante, ha derivado con éxito, a partir de células madre embrionarias de ratón, una línea celular secretora de insulina capaz de normalizar la glucemia cuando se trasplanta a ratones diabéticos<sup>9</sup>. Por desgracia, además de las consideraciones éticas, el uso de células madre embrionarias humanas se enfrenta a diversos problemas legales y políticos, pues en muchos países está prohibido su uso en

experimentación<sup>10</sup>. Con ocasión del Congreso Mundial de la Sociedad de Trasplante celebrado en 1999 en Roma, el Papa Juan Pablo Segundo se proclamó a favor de las donaciones de órganos y del trasplante, pero en contra de cualquier investigación que implique embriones o células embrionarias humanas. Así pues, el campo de las células madre embrionarias se enfrenta a un futuro muy incierto.

En cualquier caso, las líneas celulares sometidas a ingeniería genética, una vez preparadas para el trasplante, pueden aún sufrir rechazo inmune. El grupo de Thorens, en Lausana (Suiza), está trabajando en mejorar la resistencia de las células beta al rechazo. Este grupo ha desarrollado una línea celular murina productora de insulina (betaTC-tet) que ha sido modificada para soportar las duras condiciones que conlleva el trasplante, como la hipoxia, la elevada densidad celular y la exposición a estímulos inflamatorios<sup>11,12</sup>.

### *Inmunoaislamiento*

El principio en que se basa la encapsulación es que las células secretoras de insulina, aisladas en un medio ambiente artificial pueden estar protegidas de los mecanismos destructores del sistema inmune del receptor.

Los principales problemas a resolver en el campo de la encapsulación son:

- Selección de una fuente ilimitada de células beta.
- Prevención de la muerte celular dentro del dispositivo de encapsulación la debida al déficit de O<sub>2</sub> y nutrientes.
- Selección de un material biocompatible.

Con fines de inmunoaislamiento, la microencapsulación parece ser la técnica más prometedora. Rodeados por una membrana artificial, pero selectivamente permeable, los islotes pueden liberar insulina y responder a la glucosa. Los materiales biocompatibles más comunes son el alginato, con una membrana externa de polilisina, y el polimetileno guanidina<sup>13,14</sup>. Hasta ahora, la mayoría de los grupos de investigación que trabajan en el campo de la encapsulación han conseguido independencia a la insulina en modelos de grandes y pequeños animales tras la inyección de los islotes bioencapsulados en la cavidad abdominal. Debido a que la localización intraabdominal conllevaría un bajo aporte de oxígeno y nutrientes<sup>15</sup>, y a que la liberación de insulina desde la cavidad peritoneal es lenta<sup>16</sup>, se está investigando la posibilidad de inyectar estas microcápsulas directamente por vía intraportal.

### *Inmunotolerancia*

Independientemente de los importantes avances que se están llevando a cabo en el terreno de los fármacos inmunosupresores, resulta evidente que la inmunosupresión es, por principio, inespecífica y, como tal, presenta una serie de riesgos bien conocidos (infecciones, tumores, etc.). Todos los investigadores están de acuerdo en que lo ideal sería lograr una inmunosupresión específica para los antígenos del injerto, es decir, un estado de tole-

rancia inmunológica; gran parte de la investigación actual en trasplantes ha tomado dicha dirección.

En este sentido, está adquiriendo un importante protagonismo la glándula tímica. Se sabe que en animales fetales y neonatales el timo ejerce un papel importante destruyendo los linfocitos autorreactivos (teoría de la selección clonal de Burnett), y se ha encontrado que el timo de animales adultos puede conservar esta propiedad, y que puede ser aprovechada para inducir tolerancia a injertos<sup>17</sup>. En un estudio previo, nuestro grupo evaluó las posibilidades de usar este enfoque en el trasplante de islotes en humanos<sup>18</sup>.

### *Xenotrasplante de islotes*

La posibilidad de utilizar animales solucionaría el problema de la limitada disponibilidad de islotes para el trasplante. El principal candidato es el cerdo, debido a su proximidad con los humanos desde el punto de vista anatómico y fisiológico. La primera serie de 10 xenotrasplantes de islotes procedentes de fetos de cerdo a humanos fue llevada a cabo en Estocolmo a principios de los noventa<sup>19</sup>. Sin embargo, la función insular fue transitoria. Los tejidos y células xenotrasplantados desencadenan una potente respuesta inmune. En caso del xenoinjerto de un órgano vascularizado, la existencia de anticuerpos preformados contra la íntima de los vasos del cerdo ocasiona un grave rechazo hiperagudo que puede destruir el órgano en minutos a horas. Los islotes xenotrasplantados pueden, sin embargo, ser menos sensibles al rechazo hiperagudo, ya que los islotes son separados de los vasos del donante durante el aislamiento. Con el fin de reducir la reactividad contra los tejidos del cerdo, actualmente se está intentando integrar genes humanos en los animales donantes.

Si finalmente se encuentra que el xenotrasplante es una técnica viable, aún quedarán por superar los problemas éticos y el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas a los humanos. Ya ha sido observada la transmisión de retrovirus endógenos porcinos (PERV) desde líneas celulares y linfocitos porcinos a células humanas *in vitro*<sup>20</sup>. La reciente epidemia de encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas) parece haber incrementado las reservas previas en contra del xenotrasplante. De todos modos, estos problemas deben analizarse teniendo en cuenta que ninguno de los 160 pacientes descritos en la bibliografía que han sido injertados con tejidos porcinos han desarrollado jamás infección alguna<sup>21</sup>.

### **Conclusión**

El hecho de que el trasplante de islotes es útil y puede ser llevado a cabo con éxito se puede considerar hoy día demostrado. Aunque sigue siendo necesaria la inmunosupresión para evitar tanto el rechazo como la recidiva de la diabetes, los protocolos inmunosupresores están demostrando cada vez mayor eficacia y menos efectos secundarios, pudiendo considerarse ya razonablemente seguros.

Actualmente varios centros en todo el mundo están ofreciendo el trasplante de islotes a un limitado número

de pacientes con diabetes tipo I inestable. Los pacientes sin complicaciones renales y con buen control metabólico no pueden ser considerados aún candidatos a trasplante de islotes debido a que no está claro que el beneficio supere los riesgos que de momento persisten.

Para estos pacientes que aún no son candidatos, está claro que es necesario seguir investigando y encontrar soluciones que permitan prescindir de la inmunosupresión, y para todos los pacientes será necesario finalmente encontrar una fuente ilimitada de células secretoras de insulina.

## Bibliografía

- Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GI et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343: 230-238.
- Pattou F, Vantyghem MC, Noel C, Kerr-Conte J, Gmyr V, Martinache I et al. Sequential intraportal islet allografts in immunosuppressed type I diabetic patients: preliminary results. *Transplant Proc* 2000; 32: 391-392.
- Luzi L, Perseghin G, Brendel M, Terruzzi I, Battezzati A, Eckhard M et al. Metabolic effects of restoring partial beta-cell function after islet allotransplantation in type I diabetic patients. *Diabetes* 2001; 50: 277-282.
- Fiorina P, Maffi P, Bertuzzi F, Di Carlo V, Pozza G, Secchi A et al. Long term islet function could improve actuarial survival and cardiovascular outcome in uremic IDDM kidney transplanted patients. *Acta Diabetologica* 2001; 37: 151.
- De La Tour D, Halvorsen T, Demeterco C, Tyrberg B, Itkin-Ansari P, Loy M et al. Beta-cell differentiation from a human pancreatic cell line in vitro and in vivo. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 476-483.
- Salmon P, Oberholzer J, Occhiodoro T, Morel P, Lou J, Trono D. Reversible immortalization of human primary cells by lentivector-mediated transfer of specific genes. *Mol Ther* 2000; 2: 404-414.
- Gmyr V, Kerr-Conte J, Belaich S, Vandewalle B, Leteurtre E, Vantyghem MC et al. Adult human cytokeratin 19-positive cells re-express insulin promoter factor 1 in vitro: further evidence for pluripotent pancreatic stem cells in humans. *Diabetes* 2000; 49: 1671-1680.
- Kerr-Conte J, Pattou F, Lecomte-Houcke M, Xia Y, Boilly B, Proye C et al. Ductal cyst formation in collagen-embedded adult human islet preparations. A means to the reproduction of nesidioblastosis in vitro. *Diabetes* 1996; 45: 1108-1114.
- Soria B, Roche E, Berna G, León-Quinto T, Reig JA, Martín F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 2000; 49: 157-162.
- Lenoir N. Europe confronts the embryonic stem cell research challenge. *Science* 2000; 287: 1425-1427.
- Dupraz P, Cottet S, Hamburger F, Dolci W, Felley-Bosco E, Thorens B. Dominant negative MyD88 proteins inhibit interleukin-1 beta/interferon-gamma-mediated induction of nuclear factor kappa B-dependent nitrite production and apoptosis in beta cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 37672-37678.
- Dupraz P, Rinsch C, Pralong WF, Rolland E, Zufferey R, Trono D et al. Lentivirus-mediated Bcl-2 expression in betaTC-tet cells improves resistance to hypoxia and cytokine-induced apoptosis while preserving in vitro and in vivo control of insulin secretion. *Gene Ther* 1999; 6: 1160-1169.
- Bartkowiak A, Canaple L, Ceausoglu I, Nurdin N, Renken A, Rindisbacher L et al. New multicomponent capsules for immunoisolation. *Ann NY Acad Sci* 1999; 875: 135-145.
- De Vos P, Van Straaten JF, Nieuwenhuizen AG, De Groot M, Ploeg RJ, De Haan BJ et al. Why do microencapsulated islet grafts fail in the absence of fibrotic overgrowth? *Diabetes* 1999; 48: 1381-1388.
- Zekorn TD, Horcher A, Siebers U, Federlin K, Bretzel RG. Synergistic effect of microencapsulation and immunoalteration on islet allograft survival in bioartificial pancreas. *J Mol Med* 1999; 77: 193-198.
- De Vos P, Vegter D, De Haan BJ, Strubbe JH, Bruggink JE, Van Schilfgaarde R. Kinetics of intraperitoneally infused insulin in rats. Functional implications for the bioartificial pancreas. *Diabetes* 1996; 45: 1102-1107.
- Remuzzi G, Rossini M, Imberti O, Perico N. Kidney graft survival in rats without immunosuppressants after intrathymic glomerular transplantation. *Lancet* 1991; 337: 750-752.
- Arias Díaz J, Vara E, Balibrea JL, García C, Marañés A, Díaz A et al. CT-guided fine needle approach for intrathymic islet transplantation in diabetic patients. *Pancreas* 1996; 12: 100-104.
- Groth CG, Korsgren O, Tibell A, Tollemar J, Moller E, Bolinder J et al. Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients. *Lancet* 1994; 344: 1402-1404.
- Bach FH, Fishman JA, Daniels N, Proimos J, Anderson B, Carpenter CB et al. Uncertainty in xenotransplantation: individual benefit versus collective risk. *Nat Med* 1998; 4: 141-144.
- Paradis K, Langford G, Long Z, Heneine W, Sandstrom P, Switzer WM et al. Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science* 1999; 285: 1236-1241.