

Editorial

El trasplante de islotes de páncreas como terapia en la diabetes tipo 1

E. MONTANYA

Servei d'Endocrinologia i Nutrició. CSUB-Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

El trasplante de islotes es una de las alternativas más atractivas para la curación de la diabetes mellitus en un futuro, que desde hace años parece próximo, pero que hasta el momento no ha sido capaz de concretarse. Frente al trasplante de páncreas, el de islotes ofrece ventajas comprobadas, como la mínima morbilidad del procedimiento, su realización en régimen ambulatorio y la facilidad para llevar a cabo repetidos trasplantes. Como objetivo de más largo alcance, el trasplante de islotes pretende soslayar la necesidad de tratamiento inmunosupresor, y para ello se han diseñado estrategias basadas en el uso de métodos físicos, como la encapsulación de los islotes o en la modificación de las características inmunogénicas de los islotes trasplantados. Al evitar el riesgo asociado al tratamiento inmunosupresor, sería clínica y éticamente aceptable llevar a cabo el trasplante en fases iniciales de la enfermedad para restaurar la normoglicemia desde el diagnóstico de la diabetes, mucho antes de la aparición de las complicaciones.

Sin embargo, desde que en 1972 se consiguió curar la diabetes en animales de experimentación mediante el trasplante de islotes¹, las frustraciones acumuladas por investigadores, médicos y pacientes al intentar trasladar estos resultados a los pacientes con diabetes han sido innumerables, generando a menudo el desánimo y escepticismo respecto a las posibilidades reales de este trasplante como tratamiento de la diabetes. Los trasplantes realizados en los años setenta y ochenta fracasaron de forma sistemática, y no fue hasta 1990 cuando diversos grupos lograron por primera vez que pacientes con diabetes tipo 1 pudieran suspender el tratamiento con insulina y mantener la normoglicemia tras un trasplante de islotes². El entusiasmo inicial que estos resultados generaron se vio pronto atemperado al comprobar la pronta reaparición de la hiperglicemia en los escasos trasplantes con éxito. De los pacientes trasplantados en la década de los noventa, tan sólo el 12% alcanzaron en algún momento la independencia a la insulina, y únicamente el 8% la mantuvieron durante más de un año³. Esta situación se ha visto modificada radicalmente en el año 2000 con la obtención y mantenimiento de la independencia a la insulina en el 100% en los pacientes trasplantados mediante el ya conocido popularmente como "protocolo de Edmonton"⁴.

¿En qué es distinto el protocolo de Edmonton de los tras-

plantes de islotes realizados previamente? La descripción original de Shapiro et al⁴ incluyó a 7 pacientes con diabetes tipo 1 de larga evolución que presentaban un mal control metabólico, con hipoglicemias graves repetidas o inestabilidad metabólica importante, de forma que el riesgo global del trasplante más inmunosupresión se consideró menor que el de la persistencia de la falta de control de la diabetes. Los islotes fueron trasplantados mediante embolización portal percutánea transhepática, y el mismo día del trasplante se suspendió el tratamiento con insulina y los pacientes fueron dados de alta del hospital. Se pueden destacar varios aspectos del protocolo de Edmonton que pueden haber contribuido al éxito obtenido y que, al mismo tiempo, nos aproximan a buena parte de los problemas a que se enfrenta el trasplante de islotes. Respecto al proceso de aislamiento de los islotes previo al trasplante se evitó el uso de productos que pudieran contener xenoproteínas con la intención de reducir la destrucción inmediata tras el trasplante; asimismo, se minimizó el tiempo de isquemia fría trasplantando los islotes inmediatamente después del aislamiento. Por su parte, en la pauta inmunosupresora se prescindió de los glucocorticoides y se incluyó sirolimus, tacrolimus y un anticuerpo monoclonal frente al receptor de la interleucina-2 (daclizumab) para evitar los efectos diabetogénicos de los glucocorticoides e intentar mejorar la protección de los islotes frente al alrechazo y a la reaparición del proceso autoinmune. Finalmente, los pacientes recibieron un elevado número de islotes en cada trasplante, más de 4.000 islotes equivalente por kilogramo de peso. En caso de detectar glucemias superiores a 200 mg/dl en las semanas posteriores al trasplante, los pacientes recibieron un nuevo trasplante de islotes. Como resultado de esta aproximación, el tratamiento con insulina pudo ser suspendido en todos los pacientes, aunque para lograr la independencia a la insulina, 6 pacientes requirieron una segunda infusión de islotes entre 14 y 70 días tras el trasplante inicial, y otro paciente aún precisó un tercer trasplante. En el momento de publicar los resultados todos los pacientes permanecían normoglicémicos y libres de tratamiento con insulina, e informaciones posteriores procedentes del mismo grupo indican la obtención de resultados similares en los siguientes pacientes trasplantados.

Ante estos resultados, ¿qué expectativas es razonable mantener en estos momentos? En primer lugar, es preciso confirmar que los resultados de Edmonton son reproducibles. Para ello, se ha diseñado un estudio multicéntrico internacional con la participación de 10 grupos, el propio centro de Edmonton, 6 centros en los Estados Unidos y 3 centros europeos, con tres objetivos principales: a) confirmar los resultados en una población más amplia de pacientes; b) determinar los riesgos del tratamiento inmunosupresor a largo plazo, y c) contribuir a investigar las causas del desarrollo de la diabetes y del rechazo o aceptación del trasplante de

Palabras clave: Trasplante de islotes pancreáticos. Diabetes mellitus tipo 1.

Key words: Islet transplantation. Type 1 diabetes mellitus.

Correspondencia: Dr. E. Montanya.
Servei d'Endocrinologia (13-2). CSUB-Hospital de Bellvitge.
Feixa Llarga, s/n. 08907 L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

islotos. A la espera de los resultados del estudio multicéntrico, la evolución de los pacientes trasplantados a lo largo del año 2000 nos permitirá una primera estimación sobre la supervivencia del trasplante, que había sido muy breve en los escasos pacientes que habían conseguido la independencia a la insulina antes del estudio de Edmonton.

¿Cuáles son las principales dificultades a que se enfrenta el trasplante de islotos y qué perspectivas de futuro existen? Como ha sido señalado recientemente, los motivos del lento progreso del trasplante de islotos incluyen limitaciones de carácter científico y técnico, pero van más allá de ellas⁵. Entre estas dificultades cabe destacar el propio proceso de aislamiento de islotos, la limitada disponibilidad de órganos y la pérdida de islotos tras el trasplante, ya sea por el fracaso primario del trasplante, por rechazo o por recurrencia del proceso autoinmune. Respecto al proceso de aislamiento, los primeros métodos eran, sobre todo, mecánicos y no permitían obtener un número mínimamente adecuado de islotos a partir de un único páncreas. La descripción por Ricordi, en 1988, de un método semiautomático de aislamiento⁶ supuso un gran avance, y su aceptación generalizada dio lugar a los primeros trasplantes con éxito a que nos hemos referido al inicio de la década de los noventa. Posteriormente, la sustitución de la colagenasa por la liberasa como enzima para la digestión del páncreas exocrino ha permitido un mayor rendimiento y reproducibilidad del aislamiento, y una mejor preservación de los islotos⁷. Pese a ello, el número de islotos obtenido en el proceso de aislamiento es aún sensiblemente inferior al que contiene el páncreas del donante. Asimismo, el proceso de aislamiento, al no estar automatizado, mantiene aún un significativo componente artesanal, presenta una importante variabilidad en resultados, tanto en número como en pureza y calidad de los islotos, y no está exento de toxicidad sobre las células beta.

La cuestión de la toxicidad de la inmunosupresión es particularmente relevante. A diferencia del trasplante de órganos vitales como el corazón o el hígado, para los que no existe terapia sustitutiva, el trasplante de islotos debe competir en seguridad con el tratamiento con insulina, y la relación beneficio-riesgo del binomio trasplante-inmunosupresión debe demostrar su superioridad a la de mantener el tratamiento con insulina. Mientras no existan datos concluyentes que indiquen que el riesgo del tratamiento inmunosupresor es asumible, el número de pacientes candidatos al trasplante será forzosamente mínimo, limitándose a aquellos pacientes que precisen tratamiento inmunosupresor por la presencia de otro trasplante —en general, pacientes con nefropatía diabética que reciban un trasplante renal— o, como en los pacientes de Edmonton, a situaciones de mal control metabólico con inestabilidad metabólica grave. No menos importante es el aspecto de la toxicidad del tratamiento inmunosupresor sobre los islotos trasplantados, y cuya reducción parece haber contribuido de forma importante al éxito del protocolo usado en Edmonton. Un beneficio adicional de disponer de resultados positivos de forma reproducible será la posibilidad de introducir modificaciones en el tratamiento inmunosupresor que faciliten la investigación de las causas del rechazo o aceptación del trasplante.

Los resultados de Edmonton sitúan en primer plano un problema largamente anticipado: la enorme desproporción entre el número de donantes y el de potenciales receptores. En España, que tiene la tasa más alta de donación de órganos del mundo (33,9 por millón de habitantes), se producen unas 1.350 donaciones por año (ONT). Sin entrar a considerar cuántos de estos órganos serían válidos para la obtención de islotos, ni la posible indicación del trasplante en la

diabetes tipo 2, es a todas luces imposible hacer frente a los alrededor de 100.000 pacientes con diabetes tipo 1 y ni tan sólo a los cerca de 2.000 nuevos pacientes que cada año se diagnostican entre la población menor de 30 años en España. La desproporción es aún más grave si se considera que, en las condiciones actuales, se necesita más de un páncreas para obtener suficientes islotos para trasplantar un único paciente. Aun contando con una optimización de los recursos existentes a través de un mayor aprovechamiento de órganos, un mejor rendimiento del proceso de aislamiento y una reducción del número de islotos preciso para obtener la curación de los pacientes, será preciso disponer de fuentes alternativas de células productoras de insulina, islotos o no, para que el trasplante pueda ser a escala global el tratamiento de la diabetes. Éste es, sin duda, uno de los grandes retos a que se enfrenta la investigación sobre la diabetes y del que depende, en gran medida, el futuro de la terapia celular de la diabetes.

¿Qué opciones se plantean para resolver la falta de islotos para el trasplante? El xenotrasplante permitiría recurrir a otras especies para incrementar el número de islotos disponibles de forma prácticamente ilimitada. El cerdo es el potencial donante que ha suscitado mayor interés, no sólo en el caso del trasplante de islotos, y cabe recordar que la insulina porcina ha sido usada durante años sin problemas en el tratamiento de la diabetes. El xenotrasplante se enfrenta al reto de superar el problema del rechazo, y al riesgo de la transmisión de zoonosis de la especie donante a los humanos. La generación de animales transgénicos, diseñados para ser fuente de órganos para el trasplante en humanos, podría permitir la disposición de una fuente ilimitada de islotos y, al mismo tiempo, resolver o paliar el problema del rechazo⁸. Alternativamente, los sistemas de encapsulación de islotos podrían tener su principal aplicación en el xenotrasplante. El riesgo de la transmisión de zoonosis ha llevado a la instauración de moratorias para el xenotrasplante en algunos países. Este riesgo podría estar incrementado por el uso de tratamientos inmunosupresores que podrían facilitar la infección o, en caso de proteger a los islotos mediante encapsulación, por la dificultad de acceder a la fuente de la zoonosis. La reciente demostración de que islotos de cerdo producían retrovirus porcinos endógenos (PERV) que fueron capaces de infectar células humanas en cultivo, así como la detección tras el trasplante de estos islotos de la expresión del virus e infección de diversos tejidos del receptor inmunodeprimido, han añadido una nota más de preocupación⁹.

Una vía alternativa para superar el déficit de islotos es la generación de células productoras de insulina mediante la estimulación de la replicación de los islotos, la creación de líneas celulares, o la inducción de diferenciación a partir de células madre, campos en los que se han producido avances muy significativos en los últimos años. Aunque la capacidad de crecimiento de los islotos adultos es limitada, ha sido posible inducir su proliferación *in vitro*¹⁰. Sin embargo, el incremento de la proliferación se ha visto hasta el momento inevitablemente acompañado de la desdiferenciación de las células beta humanas que pierden la capacidad de producir insulina. El ducto pancreático se considera la fuente de células precursoras de los islotos y, recientemente, se ha conseguido demostrar que es posible expandir *in vitro* tejido del ducto pancreático humano, para a continuación dirigir su diferenciación hacia islotos pancreáticos¹¹. Las posibilidades que ofrecen las técnicas de bioingeniería para la generación de células productoras de insulina son múltiples, ya sea para inducir la diferenciación de islotos a partir de

células madre, estimular la replicación de las células beta o crear líneas celulares productoras de insulina a partir de células beta o de células no endocrinas. Diferentes revisiones han analizado estas posibilidades de forma exhaustiva^{12,13}. Recientemente, Soria et al han conseguido dirigir la diferenciación de células madre embrionarias a células productoras de insulina, que fueron capaces de normalizar la glucemia al ser trasplantadas a ratones diabéticos¹⁴, y se trabaja activamente en la posibilidad de que las células adultas puedan tener un similar potencial de diferenciación que las células madre embrionarias. Asimismo, diferentes estrategias de ingeniería genética orientadas a modificar la supervivencia de los islotes o su función podrán tener su aplicación en el trasplante. No es posible predecir cuáles de estas aproximaciones demostrarán ser efectivas, pero es indudable que el obstáculo de la limitada disponibilidad de tejido trasplantable será vencido en un futuro que puede no ser lejano.

A más corto plazo, es importante lograr una optimización de las diversas etapas del proceso de trasplante que permita obtener el máximo rendimiento de los órganos disponibles. Para ello, es preciso aumentar el rendimiento del método de aislamiento para obtener el máximo número de islotes y reducir su toxicidad a fin de incrementar la viabilidad de estos islotes. Asimismo, es esencial reducir la pérdida de islotes que se produce tras el trasplante. Un campo de actuación obvio es la mejoría de la inmunosupresión, tanto en relación a la protección de los islotes trasplantados frente al rechazo, como a la recurrencia del proceso autoinmune, y a la propia toxicidad de los inmunosupresores frente a los islotes. Por otra parte, ciertos datos experimentales indican que en los primeros días del trasplante se produce una importante muerte de islotes, por un mecanismo que incluye necrosis y apoptosis¹⁵. Algunas estrategias orientadas a reducir esta pérdida inicial podrían permitir obtener la normoglucemia con un menor número de islotes. De forma experimental, diversas actuaciones, como evitar la hiperglucemia del receptor en el trasplante¹⁶, han demostrado ser efectivas para reducir el número de islotes preciso para obtener la normoglucemia. La aplicación de éstas y otras estrategias, como las modificaciones del protocolo de Edmonton, permitirán determinar su validez para optimizar el resultado del trasplante de islotes en humanos.

Algunos de los aspectos no exclusivamente científicos que han dificultado el desarrollo del trasplante de islotes fueron revisados recientemente⁵. Una cuestión que quizá no ha sido comprendida por completo son las especiales necesidades de infraestructura y recursos humanos, imprescindibles para establecer un programa de trasplante de islotes con garantías de éxito clínico. Por lo que respecta a infraestructura, es preciso contar con un laboratorio especializado en islotes pancreáticos, en el que pueda llevarse a cabo la digestión del páncreas y la purificación de los islotes, además de poder valorar la viabilidad y la función de los islotes aislados. Este aspecto es relevante, ya que la calidad de las preparaciones de islotes obtenidas —que condicionarán las posibilidades de éxito del trasplante— es variable, incluso dentro de un mismo laboratorio. Las condiciones del laboratorio deben garantizar que los islotes obtenidos cumplan las garantías de esterilidad y falta de toxicidad exigidas para los tratamientos en humanos, lo que eleva de forma significativa el coste de la instalación. También es importante contar en el laboratorio con la presencia de personal técnico e investigador cualificado, con un buen conocimiento de la fisiología del islote pancreático y capaz de realizar el procesamiento y el análisis de los islotes. Esta infraestructura de

material y personal es ajena a la mayoría de servicios clínicos hospitalarios, y ha limitado de forma importante el número de centros con capacidad para realizar trasplantes de islotes. Por otra parte, la inversión necesaria para crear esta infraestructura no puede proceder de los grupos de investigación en islotes pancreáticos, y deben ser las autoridades sanitarias junto con los centros asistenciales donde se realicen trasplantes quienes afronten la inversión necesaria. Sin un planteamiento en este sentido, es difícil que el éxito del modelo español en trasplantes se haga extensivo al trasplante de islotes. Podría, así, mantenerse la actual paradoja de que España, líder en programas de trasplante y con una investigación experimental en islotes pancreáticos de reconocido prestigio internacional —dos requisitos imprescindibles para afrontar con garantías de éxito el trasplante de islotes— siguiera sin disponer del programa de trasplante de islotes que el desarrollo sanitario y científico de nuestro país reclama.

Nos hallamos probablemente ante el inicio de una nueva etapa en la que, aun con las limitaciones indicadas, el trasplante de islotes puede pasar a formar parte de las alternativas reales de tratamiento de la diabetes. Los prometedores avances realizados en otros campos, como la inmunosupresión y la generación de células productoras de insulina, permiten augurar que la terapia celular será el tratamiento de la diabetes en el siglo XXI.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ballinger WF, Lacy PE. Transplantation of intact pancreatic islets in rats. *Surgery* 1972; 72: 175-186.
2. Sharp DW, Lacy PE, Santiago JV, McCullough CS, Weida LG, Falqui L et al. Insulin independence after islet transplantation into type 1 diabetic patient. *Diabetes* 1990; 39: 515-518.
3. Brendel M, Hering B, Schulz A, Bretzel R. International Islet Transplant Registry report. Giessen: University of Giessen, 1999; 1-20.
4. Shapiro AMJ, Lakey JRT, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL 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.
5. Weir GC, Bonner-Weir S. Scientific and political impediments to successful islet transplantation. *Diabetes* 1997; 46: 1247-1256.
6. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988; 37: 413-420.
7. Linetsky E, Bottino R, Lehman R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. Improved human islet isolation using a new enzyme blend, Liberase. *Diabetes* 1997; 46: 1120-1123.
8. Cozzi E, White DJG. The generation of transgenic pigs as potential organ donors for humans. *Nature Medicine* 1995; 1: 964-966.
9. Van der Laan LJW, Lockey C, Griffith BC, Frasier FS, Wilson CA, Onions DE et al. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. *Nature* 2000; 407: 90-94.
10. Beattie GM, Itkin-Ansari P, Cirulli V, Leibowitz G, López AD, Bossie S et al. Sustained proliferation of PDX-1⁺ cells derived from human islets. *Diabetes* 1999; 48: 1013-1019.
11. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song K, Sharma A et al. *In vitro* cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *PNAS* 2000; 97: 7999-8004.
12. Efrat S. Prospects for gene therapy of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 41: 1401-1409.
13. Soria B, Andreu E, Berná G, Fuentes E, Gil A, León-Quinto T et al. Engineering pancreatic islets. *Pfugers Arch-Eur J Physiol* 2000; 440: 1-18.
14. Soria B, Roche E, Berná G, León-Quinto T, Reig JA, Martín F. Insulin secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-diabetic mice. *Diabetes* 2000; 49: 157-162.
15. Biarnés M, Montolio M, Raurell M, Nacher V, Soler J, Montanya E. Hyperglycemia and beta cell death in syngeneically transplanted islets. *Diabetes*.
16. Merino JF, Nacher V, Raurell M, Aranda O, Soler J, Montanya E. Improved outcome of islet transplantation in insulin-treated diabetic mice: effects on beta-cell mass and function. *Diabetologia* 1997; 40: 1004-1010.