



Avances en xenotrasplante de órganos ¿estamos próximas a una realidad clínica?

P. Ramírez*, J. Yélamos** y P. Parrilla***

*Profesor Titular de Cirugía. Médico Adjunto de Cirugía. **Investigador del FIS, adscrito a la Unidad de Trasplantes. ***Catedrático de Cirugía. Jefe de Departamento de Cirugía. Departamento de Cirugía. Unidad de Trasplantes. Hospital Universitario Virgen Arrixaca. Murcia.

INTRODUCCIÓN

El principal objetivo de la investigación en xenotrasplante de órganos es su potencial aplicación clínica. Esta posibilidad no es una idea nueva. Ha sido un sueño muy antiguo durante muchos años, y en la historia de la medicina existen numerosas evidencias en este sentido. La historia del xenotrasplante, podemos dividirla en cuatro períodos:

a) La *prehistoria*, que abarcaría desde las primeras civilizaciones arcaicas hasta finales del siglo XIX. Es una época de absoluta oscuridad desde el punto de vista científico.

b) La *primera mitad del siglo XX*, ampliada hasta la década de los sesenta. Los primeros trasplantes clínicos que se hacen a primeros de siglos¹ son xenotrasplantes. Inmediatamente se superan las barreras técnicas². Los trasplantes se hacen sin complicaciones vasculares, pero los órganos no funcionan (barrera biológica). Se hacen decenas de xenotrasplantes, sobre todo de riñón pero también de corazón e hígado, usando diferentes animales como donantes. Son los órganos procedentes de primates los que funcionan en algunos casos incluso varios meses (riñón de chimpanzee 9 meses)³.

Durante este período se estudia intensamente la barrera biológica responsable de que los órganos trasplantados no funcionen y se describe el fenómeno del segundo injerto y del rechazo⁴. Se demuestra que el rechazo es tanto más intenso cuanto más distantes filogenéticamente es la especie animal usada como donante⁵, debido al rechazo hiperagudo, donde los órganos se necrosan inmediatamente por acción del complemento activado por xenoanticuerpos naturales⁶.

c) En la historia de los xenotrasplantes clínicos y preclínicos (usando el mono como receptor) existe un período de casi silencio absoluto (1970-1990) coincidente con la consolidación y éxito de los programas clínicos de alotrasplantes.

d) En la *última década* del siglo que acaba de terminar, los médicos y los investigadores en el área de trasplantes comienzan a pensar nuevamente en el xenotrasplante como una posibilidad, debido fundamentalmente a dos razones:

1.º El aumento extraordinario de la demanda de órganos, con un importante aumento de pacientes y de pacientes fallecidos en lista de espera para trasplante, tanto en USA⁷, donde fallecen 15 pacientes todos los días en lista de espera de trasplante⁸, como en Europa, incluida España, a pesar de que en nuestro país hemos alcanzado y mantenido desde 1994 la tasa más elevada del mundo de donación de órganos y trasplantes por millón de habitantes^{9,10}, por encima de EE.UU. y de todos los países de la Unión Europea.

2.º Los nuevos avances de las ciencias biomédicas, sobre todo en los campos de la inmunología y la genética, con el desarrollo de la tecnología transgénica, han posibilitado vencer la barrera del rechazo hiperagudo¹¹.

En este sentido no cabe duda que al, menos teóricamente, el poder disponer de órganos animales para trasplante solucionaría el problema de la escasez de órganos. La mayoría de grupos de investigación en xenotrasplante están de acuerdo en que la fuente ideal son los órganos de cerdos, modificados genéticamente para evitar el rechazo¹¹, y actualmente ya son al menos cuatro empresas de biotecnología las que han conseguido producir cerdos transgénicos que expresan en su endotelio inhibidores fisiológicos del complemento humano, con lo que se ha conseguido prevenir el rechazo hiperagudo de manera reproducible cuando los órganos de estos cerdos se trasplantan en primates.

En esta revisión, y bajo nuestra perspectiva personal, trataremos de contestar a la pregunta: ¿esta-

Correspondencia: Dr. Pablo Ramírez
Servicio de Cirugía
Unidad de Trasplantes
Hospital Universitario Virgen Arrixaca
30120 El Palmar. Murcia
E-mail: ramirezp@fcu.um.es

mos actualmente en condiciones de comenzar ensayos clínicos de xenotrasplante de órganos?

BARRERAS QUE SE DEBEN SUPERAR PARA QUE LOS XENOTRASPLANTES PUEDAN ALCANZAR UNA REALIDAD CLÍNICA

Para que los xenotrasplantes de órganos puedan llegar a ser una realidad clínica, se deben superar consistentemente tres barreras: a) La barrera inmunológica: ¿está ya superado el xenorrechazo? b) La barrera fisiológica (¿los órganos porcinos, el riñón, el corazón o el hígado, asumen correctamente las funciones de los órganos humanos?), y c) ¿cuál es el riesgo real de transmisión de infecciones interespecie, del cerdo al hombre, actuando el órgano porcino trasplantado como vector de transmisión?

Barreras inmunológicas

Para poder aceptar el xenotrasplante como una realidad clínica desde el punto de vista inmunológica, la condición necesaria que el xenorrechazo pudiera modularse y transformarse a un «allorejection-type», que los clínicos saben controlar rutinariamente. Existen identificados al menos 4 tipos de xenorrechazo: a) el rechazo hiperagudo; b) el rechazo vascular agudo retardado; c) el rechazo celular y d) el rechazo crónico.

a) Rechazo hiperagudo. La interacción de los xenoanticuerpos naturales del receptor de los xenoantígenos (con predominio de a-gal) del endotelio vascular del donante, induce la activación del complemento, que es responsable del daño endotelial y finalmente de los fenómenos de trombosis y hemorragia que necrosan en minutos el órgano xenotrasplantado⁶.

Los avances en la tecnología transgénica^{12,13} han resuelto por completo el rechazo hiperagudo. Trasplantando órganos de cerdos transgénicos para proteínas reguladoras del complemento (MCP, CD55, CD59, etc.)^{11,14} a primates no humanos, se ha demostrado que se previene el rechazo hiperagudo, tanto en el caso de xenotrasplante de riñón¹⁵, de corazón¹⁶ o de hígado¹⁷.

b) Rechazo vascular agudo retardado. El control del rechazo hiperagudo ha permitido conocer un tipo de xenorrechazo, conocido como rechazo vascular agudo retardado, de mecanismo aún no bien conocido, con un componente humoral y otro componente celular (macrófagos, células NK, etc.)^{12,18,19}. En los ensayos preclínicos (de cerdos transgénicos a primates) el control de este tipo de rechazo exige

administrar una inmunosupresión muy potente (ciclofosfamida, altas dosis de ciclosporina o FK506, altas dosis de esteroides, altas dosis de azatioprina o mofetil micofenolato, etc.), que finalmente condiciona el fallecimiento del animal como consecuencia directa (toxicidad) o indirecta (infecciones) de la misma.

c) y d) Como consecuencia de que algunos monos trasplantados con riñones transgénicos han sobrevivido varios meses (supervivencia máxima de 100 días), ha sido posible observar fenómenos de rechazo celular e incluso, recientemente, de rechazo crónico en estos injertos. Esta ha sido una importante ventana de investigación que se abre por primera vez de cara a plantear la realidad clínica de los xenotrasplantes²⁰.

Barreras fisiológicas

Los ensayos preclínicos de órganos porcinos transgénicos para proteínas reguladoras de complemento han obtenido sobrevivencias máximas superiores a dos meses para riñón²⁰, 30 días para corazón¹⁶ y 8 días para hígado¹⁷. Estas sobrevivencias han permitido estudiar la compatibilidad fisiológica de estos órganos porcinos trasplantados en los monos durante estos períodos de tiempo.

Los datos disponibles de fisiología renal a largo plazo son esperanzadores. En la amplia serie de riñones transgénicos trasplantados en monos, en Cambridge, los riñones funcionan adecuadamente, manteniendo niveles normales de creatinina y el equilibrio ácido-básico y hidroelectrolítico²⁰. Sin embargo, los receptores necesitan aporte de eritropoyetina humana para mantener normales las cifras de hemoglobina, y existe así mismo una tendencia a una hipofosfatemia e hipoalbuminemia, sin albuminuria.

Los trasplantes ortotópicos de eyección y la hemodinámica de estos animales se mantiene correctamente mientras que los corazones no son rechazados¹⁶.

A nivel de xenotrasplante hepático con cerdos transgénicos, se ha realizado recientemente una experiencia pionera a nivel mundial en la Unidad de Investigación del Hospital Virgen de la Arrixaca¹⁷, y en ella se ha demostrado en el modelo de cerdo transgénico h-DAF a babuino que el hígado porcino sintetiza factores de coagulación funcionalmente compatibles con el primate, proporcionando una hemostasia normal al babuino al menos durante 8 días. Además, los monos trasplantados con estos hígados transgénicos se mantienen despiertos, conscientes y con alimentación oral durante este período de tiempo. En este centro, además, se ha acumulado la serie

más importante a nivel mundial de xenotrasplante ortotópico de hígado en el modelo preclínico de cerdo a babuino.

Barreras infecciosas: xenozoonosis

Existen dos tipos de infecciones que potencialmente se podrían transmitir: a) las vehiculizadas por los gérmenes específicos porcinos, y b) las que utilizarían el órgano porcino como vector (retrovirus porcinos).

a) Hoy día, el desarrollo biotecnológico en el área de la producción porcina asegura el nacimiento de lechones completamente libres de patógenos específicos (*condiciones SPF*, Specific Pathogen Free). Para ello es necesario disponer de instalaciones de bioseguridad (grado P3) y tener experiencia en técnicas de obtención de lechones por histerectomía y nutrición artificial, como ha reportado recientemente el grupo de genética y producción porcinas de la Universidad de Murcia²¹. Estas condiciones de bioseguridad están recogidas en las *recomendaciones del documento de Consenso elaborado por la Subcomisión Nacional de Xenotrasplantes en 1999*, bajo la presidencia del Dr. Rafael Matesanz²², y que se pueden consultar en la web de la ONT.

b) En 1997 se demostró *in vitro* que retrovirus endógenos porcinos, incorporados durante millones de años en el genoma porcino, podían transfectar linfocitos humanos mantenidos en cultivos celulares²³. Este hecho potenció la investigación en cirología porcina, habiéndose descrito hasta el momento 4 tipos de retrovirus porcinos, favoreciendo además que los protocolos de investigación en xenotrasplantes se enriquecieran de las medidas de bioseguridad para prevenir los riesgos de xenozoonosis en los ensayos preclínicos. Muy pronto, en 1999, Paridis y cols.²⁴, publicaron en *Science* los resultados del seguimiento a largo plazo de más de 160 pacientes que habían mantenido contacto con tejidos vivos porcinos, incluyendo pacientes sometidos a perfusión extracorpórea con hígados y hepatocitos. En ningún caso se pudo demostrar la infección en humanos por estos retrovirus, y sólo en 23 pacientes se confirmó microquimerismo a (presencia de células porcinas en los receptores), sin ninguna significación clínica o patológica.

En este campo, las aportaciones están siendo en la actualidad muy numerosas. Cabe destacar la demostración en un modelo de ratón completamente inmunocompetente (SCID mouse)²⁵, la transfección e incluso infección de tejido linfóide en algunos experimentos, por retrovirus inoculados por vía intravenosa a dosis altas. Aunque los expertos conside-

ran que se trata más bien de un modelo *in vitro* que *in vivo*, es una demostración que apoya la necesidad de establecer las máximas precauciones de bioseguridad en la investigación de xenotrasplantes. Por otro lado, nuevos trabajos clínicos de xenotrasplante con tejidos o con órganos perfundidos confirman la no inefectividad *in vivo* de los pacientes por retrovirus porcinos²⁶. En la web de la Food and Drug Administration (fda.gov/ceber/gdlns/zooxeno.pdf) americana se pueden consultar las *guías para monitorizar el riesgo de infecciones en ensayos clínicos de xenotrasplante en fase I*.

XENOTRASPLANTE CLÍNICO

El xenotrasplante de *células porcinas* para la enfermedad de Parkinson y para la diabetes son ya una realidad clínica. Actualmente se están realizando diversos ensayos clínicos en fase II con islotes pancreáticos porcinos en diabéticos tipo I²⁷, habiéndose comunicado su eficacia para el control del metabolismo de la glucosa, aunque no existen todavía datos sobre los resultados a largo plazo.

También se han realizado varios ensayos clínicos con *perfusión extracorpórea* de hígados porcinos, transgénicos²⁸ y no modificados genéticamente²⁹, en pacientes con fallo hepático fulminante o con hepatopatía terminal, pero con pobres resultados en cuanto al funcionalismo hepático.

Con respecto a xenotrasplante clínico con órganos sólidos, después de la experiencia reportada por Reemtsma en los años sesenta, sólo se han realizado 3 experimentos exitosos usando el babuino como donante. En 1985, Bailey³⁰ trasplantó un corazón de babuino a un recién nacido y sobrevivió tres semanas. En 1993, Starlz³¹ trasplantó dos hígados, también de babuinos, a sendos pacientes, que sobrevivieron 70 y 26 días, falleciendo ambos por sepsis, secundaria a la intensa inmunosupresión. Sólo existe una referencia de xenotrasplante hepático porcino, con un hígado no transgénico, que Makowka³² realizó en 1993 a un paciente con hepatitis fulminante. Falleció por rechazo hiperagudo, ya que no se actuó para inhibir el complemento³³.

Hasta la fecha no se ha comunicado *ningún xenotrasplante clínico con órganos porcinos transgénicos*. La razón de ello es porque existe unanimidad entre los grupos que investiga en xenotrasplantes de órganos en que todavía las barreras inmunológicas, tal y como han sido expuestas, no se han superado todavía³⁴. Todos los esfuerzos están orientados actualmente a estudiar los mecanismos del rechazo vascular agudo retardado para sí poder diseñar estrategias que lo prevengan con efectividad.

Por tanto, esta unanimidad fundamenta el pensamiento de que los xenotrasplantes de órganos, con indicaciones electivas y permanentes, aunque podrían estar en las esquinas, como dice Sir Soy Calne, puede ser una esquina muy larga («Clinical xenotransplantation is just around the corner, but it may be a vergh long corner»). Sin embargo, algunos autores se cuestionan si podrían utilizarse en situaciones de urgencia, como órgano puente hasta que aparezca un órgano humano. Estas situaciones de extrema urgencia no se dan en la insuficiencia renal, ya que existe la hemodiálisis como tratamiento sustitutivo. Si se dan por el contrario en pacientes con fracaso ventricular, pero actualmente existen novedosos mecanismos de soporte ventricular mecánico, incluidos los balones de contrapulsación o los corazones artificiales, que permiten la llegada a tiempo del corazón para ser trasplantado. Y finalmente, también se dan en situaciones de fallo hepático fulminante, ya sea por hepatitis fulminante o por necesidad de un retrasplante urgente. En estas situaciones se han ensayado diversos procedimientos, tales como el soporte extracorpóreo de hepatocitos o la perfusión extracorpórea de hígados porcinos, pero con pobres resultados. Es aquí donde puede tener lugar el xenotrasplante hepático, ortotópico o heterotópico con un hígado porcino transgénico. Puede dar margen a que el paciente espere en buena situación el hígado humano definitivo. Incluso, si se hiciera en posición heterotópica, a los vasos ilíacos (trasplante auxiliar), como recientemente ha reportado Margarit³⁵ con un alotrasplante en un caso de hepatitis fulminante tóxica, podría dar tiempo a que el hígado nativo se recuperase, y de esa manera, tras retirar el injerto en un segundo tiempo, evitar los efectos adversos de la inmunosupresión de por vida.

Hace unos días, vivimos una situación trágica en nuestro hospital. Desde un comarcal nos refirieron un paciente de 37 años, que tras cirugía laparoscópica por colelitiasis no complicada, presentó una gangrena hepática por ligadura de la arteria hepática. Entró en código urgente de trasplante hepático. La situación tóxica obligó a dejarlo anhepático al día siguiente, y en esta situación estuvo esperando el hígado 18 horas. Cuando el hígado donante llegó a nuestro hospital, el paciente hacía dos horas que había fallecido. Entendemos como en una situación similar, Makowka intentó el xenotrasplante con un hígado porcino aunque no fuera transgénico³². Sin duda que un trasplante con un hígado porcino transgénico hubiera podido salvar la vida de nuestro paciente. Afortunadamente, estas situaciones son poco frecuentes, pero son la que nos van a obligar a dar el salto a la clínica y poder así investigar que ocurre en estas situaciones, tal y como enfatiza una re-

ciente editorial del Lancet: «Xenotransplantation: Time to leave the laboratory»³⁶.

LÍNEAS ACTUALES Y FUTURAS

Se trabaja intensamente en conocer los mecanismos íntimos de las vertientes humoral y celular del rechazo vascular agudo retardado. Recientemente se ha conseguido disminuir el componente humoral mediante la administración de agentes antitrombóticos³⁷, con el uso de cerdos deficientes del antígeno gal obtenidos mediante la tecnología de microinyección o de transferencia nuclear¹⁴, y utilizando nuevos agentes farmacológicos o anticuerpos monoclonales frente a células B (ej. Anti CD30) o células T (bloqueando la interacción B7 entre los antígenos leucocitarios porcinos y el complejo mayor de histocompatibilidad). Recientemente nuestro grupo de trabajo ha descrito que los clones gamma-delta pueden jugar un papel importante en el xenorechazo¹⁸, por lo que actuaciones con manipulaciones genéticas para inducir apoptosis en el sistema FAS-FASLigando o el uso de inhibidores farmacológicos del sistema PARP³⁸ podrían ser útiles en controlar esta vía de activación.

Uno de los campos de máximo interés en la investigación de xenorechazo es el de la tolerancia inmunológica³⁹. El uso de diferentes estrategias, incluidas la administración de anticuerpos monoclonales para depleccionar poblaciones linfocitarias o dirigidos frente a diferentes moléculas coestimuladoras, podrían en un futuro inmediato reducir la necesidad de administrar altas dosis de inmunosupresión para el control del xenorechazo.

Recientemente, la Unidad de Nefrología y Trasplante Renal de la Clínica Mayo ha comenzado un protocolo clínico de trasplante renal de donante vivo en pacientes hiperinmunizados (más de 20 casos, datos no publicados), en donde ha conseguido controlar el rechazo humoral, utilizando un protocolo de inmunosupresión que incluye plasmaféresis repetidas y administración de anticuerpos monoclonales antiCD20, que depleccionan linfocitos B. La tasa de rechazo es del 25% pero en ningún caso se ha perdido el injerto. Falta conocer los resultados del seguimiento a largo plazo. Este ensayo clínico está realmente proporcionando una información muy importante de cara al manejo de la inmunosupresión que sería necesaria en un ensayo clínico de xenotrasplante renal.

Finalmente, la solución de las incompatibilidades fisiológicas del xenotrasplante renal²⁰ o hepático⁴⁰ vendrán necesariamente de la mano de la tecnolo-

gía transgénica. La introducción de un transgen que codifique para la eritropoyetina humana evitaría la administración exógena de eritropoyetina para mantener los niveles de hemoglobina. A nivel del xenotrasplante hepático, habría que detectar las incompatibilidades metabólicas, posiblemente en dos sentidos fundamentalmente; a) a nivel de interacciones de hormonas humanas y receptores porcinos (ej. insulina humana y receptor porcino de la insulina humana); b) a nivel de la compatibilidad de las proteínas porcinas para ejercer su función adecuadamente en ambiente porcino. Es necesario por tanto detectar y priorizar estas incompatibilidades para solucionarlas con manipulación transgénica...

Parece obvio, por tanto, que la vía que puede convertir en realidad clínica el xenotrasplante de órganos ha de pasar posiblemente por la generación de animales politransgénicos, que expresen simultáneamente el número de proteínas necesarias para «humanizar» el hígado donante y permitir así tanto su aceptación inmunológica como su correcto funcionamiento desde el punto de vista fisiológico. Con la metodología existente en este momento es posible la microinyección de una mezcla equimolar de diferentes construcciones genéticas que codifican para diferentes proteínas¹³. De esta forma se puede generar una línea politransgénica para dichas proteínas que podrían cruzarse con otras líneas politransgénicas para incrementar en poco tiempo el número de transgenes presentes en el animal. Igualmente, otros avances recientemente incorporados del área de la reproducción porcina, que simplifican extraordinariamente el implante de embriones transgénicos, o en el área de la clonación (ya se han conseguido clonar cerdos transgénicos), influirán decisivamente en reducir significativamente la velocidad de la reacción para la obtención de cerdos politransgénicos cada vez más «humanizados».

BIBLIOGRAFÍA

1. Jabouly M: Kidney grafts in the antecubital fossa by arterial and venous anastomosis. *Lyon Med* 107: 575-592, 1906.
2. Carrel A: The operative technique for vascular anastomoses and transplantation of viscera. *Lyon Med* 98: 859-73, 1902.
3. Reemtsma K, McCracken BH, Schiegel JV, Pearl M: Heterotransplantation of the kidney: two clinical experiences. *Science* 143: 700-702, 1964.
4. Medawar PB: The behavior and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 78: 176-199, 1944.
5. Calne RY: Organ transplantation between widely disparate species. *Trans Proc* 2: 550-554, 1970.
6. Ramírez P, Chávez R, Majado M, Munitiz V, Hernández Q, Loba M y cols.: Study of xenograft rejection in a model of liver xenotransplantation from unmodified pig to primate. *Transplant Proc* 31 (7): 2814-247, 1999.
7. Web de la UNOS: www.unos.org.
8. Grant D, Mendicino M, Levy G: Xenotransplantation: Just around the corner? *Surgery* 210 (3): 243-247, 2001.
9. Matesanz R, Miranda B: Need for liver transplantation. *Lancet* 28: 346 (8983): 1168-9, 1995.
10. Web de la ONT: www.Msc.es/ont/esp/home.htm.
11. White DJ, Yannoutsos N: Production of pigs transgenic for human DAF to overcome complement-mediated hyperacute xenograft rejection in man. *Res Immunol* 147 (2): 88-94, 1996.
12. Yélamos J, Ramírez P, Parrilla P: Animales modificados genéticamente como donantes de órganos en xenotrasplante. *Medicina Clínica* 114: 342-348, 2000.
13. Yélamos J, Klix N, Goyenechea B, Lozano F, Chui YL, González-Fernández A y cols.: Targeting of non. Ig sequences in place of the V segment by somatic hypermutation. *Nature* 376: 225-229, 1995.
14. Cowan PJ, Aminian A, Barlow H, Brown AA, Chen CG y cols.: Renal xenografts from triple-transgenic pigs are not hyperacutely rejected by cause coagulopathy in non-immunosuppressed baboons. *Transplantation* 69 (12): 2504-15, 2000.
15. Zaidi A, Achmoeckel M, Bhatti F, Waterworth P, Tolan M, Cozzi E y cols.: Life-supporting pit-to-primate renal xenotransplantation using genetically modified donors. *Transplantation* 65 (12): 1584-1590, 1998.
16. Schmoeckel M, Bhatti FN, Zaidi A, Cozzi E, Waterworth PD, Tolan MJ y cols.: Orthotopic heart transplantation in a transgenic pit-to-primate model. *Transplantation* 65 (12): 1570-1577, 1998.
17. Ramírez P, Chávez R, Majado M, Munitiz V, Muñoz A y cols.: Life-supporting human complement regulator decay acceleratin factor transgenic pig liver xenograft maintains the metabolic function and coagulation in the nonhuman primate for up to 8 days. *Transplantation* 70 (7): 989-98, 2000.
18. Rodríguez-Gago M, De Heredia A, Ramírez P, Parrilla P, Aparicio P, Yélamos J: Human anti-porcine gammadelta T cells xenoreactivity is inhibited by human Fas L expression on porcine endothelial cells. *Transplantation* 2001 (en prensa).
19. Loss M, Schmidtko J, Przemeczek M, Kunz R, Arends H y cols.: A primate model for discordant pig to primate kidney xenotransplantation without hyperacute graft rejection. *Invest Surg* 14 (1): 21-9, 2000.
20. Cozzi E, Bhatti F, Schmoeckel M, Chávez G, Smith KG y cols.: Long-term survival of nonhuman primates receiving life-supporting transgenic porcine kidney xenografts. *Transplantation* 70 (1): 15-21, 2000.
21. Muñoz A, Pallarés FJ, Ramis G, Martínez JS, Munitiz V, Ramírez P y cols.: Surgical Procedure for Specific Pathogen Free piglet production by modified terminal hysterectomy. *Transplant Proc* 31: 2627-8, 1999.
22. Matesanz R, Miranda B: Recommendations of the National Committee of Xenotransplantation. Ministerio de Sanidad (Spain), Madrid, 1999.
23. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA: Zoonosis in xenotransplantation. *Curr Opin Immunol* 10: 539-42, 1998.
24. Paridis K, Langford G, Long Z, Heneine W, Sandstrom P, Switzer WM y cols.: Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science* 285: 1236, 1999.
25. Van der Laan LJ, Lockey C, Griffeth BC, Fraiser FS, Wilson CA y cols.: Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. *Nature* 407 (6800): 27, 29-30, 2000.
26. Switzer WM, Michler RE, Shanmugam V, Matthews A, Husain AI y cols.: Lack of cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus infection to nonhuman primate recipients of porcine cells, tissues, or organs. *Transplantation* 71 (7): 959-65, 2001.

27. Reinholt FP, Hultenby K, Tibell A, Korsgren O, Groth CG: Survival of fetal porcine pancreatic islet tissue transplanted to a diabetic patient: findings by ultrastructural immunocytochemistry. *Xenotransplantation* 5 (3): 222-5, 1998.
28. Levy MF, Crippin J, Sutton S, Netto G, McCormack J, Curiel T y cols.: Liver allotransplantation after extracorporeal hepatic support with transgenic (hCD55/hCD59) porcine livers: clinical results and lack of pig-to-human transmission of the porcine endogenous retrovirus. *Transplantation* 69 (2): 272-280, 2000.
29. Stockmann HB, Hiemstra CA, Marquet RL, Ijzermans JN: Extracorporeal perfusion for the treatment of acute liver failure. *Ann Surg* 231 (4): 460-70, 2000.
30. Bailey LL, Nehlsen-Cannarella SL, Concepción W, Jolle WB: Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate. *JAMA* 254: 3321-3329, 1985.
31. Starlz TE, Fung J, Tzakis A, Todo S, Demetris AJ, Marino JR y cols.: Baboon-to-human liver transplantation. *Lancet* 341: 65-71, 1993.
32. Makowka L, Wu GD, Hoffman A, Podesta L, Sher L y cols.: Immunohistopathologic lesions associated with rejection of a pig-to-human liver xenograft. *Transplant Proc* 26 (3): 1074-5, 1994.
33. Ramírez P, Yélamos J, Parrilla P: Hepatic xenotransplantation with benefit from strategies aimed to reduce complement activation. *Liver Transplantation* 7: 562-563, 2001.
34. Samstein B, Platt JL: Physiologic immunologic hurdles to xenotransplantation. *Am Soc Nephrol* 12 (1): 182-193, 2001.
35. Margarit C, Bilbao I, Charco R, Lázaro JL, Hidalgo E y cols.: Auxiliary heterotopic liver transplantation with portal arteria- lization for fulminant hepatic failure. *Liver Transplantation* 6 (6): 805-9, 2000.
36. Xenotrasplantation: Time to leave the laboratory. Editorial. *The Lancet* 354 (9191): 1657, 1999.
37. Fiorante P, Banz Y, Mohacsí PJ, Kappeler A, Wuillemin WA y cols.: Low molecular weight dextran sulfate prevents complement activation and delays hyperacute rejection in pig-to-human xenotrasplantation models. *Xenotrasplantation* 8 (10): 24-35, 2001.
38. Cayuela ML, Carrillo A, Ramírez P, Parrilla P, Yélamos J: Genomics instability in a PARP-1 cell line expressing PARP-1 DNA binding domains. *Biochem Biophys Res Commun* 285 (2): 289-294, 2001.
39. Rodríguez-Barbosa JI, Zhao Y, Barth R, Zhao G, Scott Arn J y cols.: Enhanced CD4 reconstitution by grafting neonatal porcine tissue in alternative locations is associated with donor-specific tolerance and suppression of pre-existing xenoreactive antibodies. *Transplantation* 72 (8): 2000.
40. Ramírez P, Munitiz V, Parrilla P y cols.: Changes in the protein and lipid profile after liver xenotransplantation from pig to baboon. IV Congress of the International Xenotrasplantation Association. Chicago, 2001.