

# Podemos transplantar órgãos de porcos em humanos?



**Gustavo Torres<sup>1</sup>, Michelle S. Araujo<sup>1</sup>, André P. Poor<sup>1</sup>, Ligiane Leme<sup>1</sup>, Nicolle de S. B. Santos<sup>1</sup>, Valéria V. Chida<sup>1</sup>, Ângela May Suzuki<sup>1</sup>, Tulio T. Yoshinaga<sup>1</sup>, Giovanna C. Tolezano<sup>1</sup>, André Costa<sup>1</sup>, Deibs Barbosa<sup>1</sup>, Evelyn L. Ribeiro<sup>1</sup>, Taina da S. Bicalho<sup>1</sup>, Karina A. de O. Braga<sup>2</sup>, Vinícius Eduardo Pimentel<sup>1</sup>, Luciano de A. Brito<sup>1</sup>, Luiz C. de C. Júnior<sup>1</sup>, Mayana Zatz<sup>1</sup>, Silvano M. A. Raia<sup>1</sup>, Ernesto Goulart<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Estudos sobre o Genoma Humano e Células Tronco, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 05508-900, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Pesquisa em Cirurgia Torácica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Autor para correspondência – [gustavotsouza@hotmail.com](mailto:gustavotsouza@hotmail.com)

**Palavras-chave:** xenotransplante, transplante, edição gênica, CRISPR, clonagem

As ferramentas de edição gênica, como CRISPR/Cas9, e o aprimoramento da técnica de clonagem, impulsionaram o desenvolvimento de biotecnologias que envolvem a produção de células e animais geneticamente modificados com finalidade terapêutica. Dentre essas biotecnologias, se destaca o xenotransplante, que é o transplante de órgãos, células ou tecidos provenientes de espécies não humanas para se tratar doenças dos humanos. Por meio da produção de órgãos e tecidos a partir de animais transgênicos, pretende-se suprir a alta demanda de órgãos para humanos que aguardam em uma longa fila de espera. Apesar de se tratar de um sonho antigo da medicina, tal abordagem se mostra desafiadora, uma vez que se busca conseguir driblar a resposta imunológica desencadeada no receptor, em decorrência do transplante do novo órgão, para se obter o sucesso desejado. O artigo aborda as principais etapas que envolvem a realização da técnica de xenotransplante, com foco na espécie suína, e os desafios enfrentados para a sua aplicação no Brasil.

## 1. Por que usar órgãos de suínos em transplantes?

Para iniciar nosso entendimento sobre o tema, é importante conceituar o tema central desse artigo, o xenotransplante. Xenotransplante é definido como o transplante de órgãos, células ou tecidos provenientes de espécies não humanas para tratamento de condições médicas em humanos. Um dos grandes objetivos a ser alcançado com o xenotransplante é a redução das filas de espera para o transplante de órgãos. Em dados de 2023, cerca de 41 mil pessoas esperam por um transplante no Brasil, sendo os rins, fígado e coração os órgãos com maior demanda na lista de espera. Apesar de existir uma oferta de órgãos para transplante, o número ofertado ainda está muito aquém da alta demanda que tende a crescer à medida que a expectativa de vida da população aumenta, resultando em um crescimento significativo de pacientes com doenças crônicas e falência de órgãos.

Uma das alternativas estudadas para solucionar a falta de órgãos para transplante é a utilização de porcos geneticamente modificados como fonte. Os suínos apresentam grande similaridade anatômica, fisiológica e genética em relação aos seres humanos. Tais características, aliadas à facilidade de reprodução,

manejo e criação, tornam os suínos excelentes modelos experimentais em pesquisas da área biomédica, sendo uma espécie de grande interesse para fins de transplante de órgãos. Nos últimos 30 anos, com o avanço de técnicas de biologia molecular e reprodução assistida, a produção de suínos geneticamente modificados alavancou as pesquisas relacionadas à investigação de doenças humanas, à realização de testes pré-clínicos e à produção de novos produtos terapêuticos como células e órgãos destinados ao xenotransplante. No entanto, muitos desafios ainda devem ser superados para tornar essa técnica uma realidade.

## 2. Desafios imunológicos relacionados ao xenotransplante

Os desafios imunológicos associados ao xenotransplante são significativos, permeando as barreiras das rejeições de órgãos, assim como ocorre em **alotransplantes**. Existem três tipos de rejeições possíveis: hiperaguda e aguda, que serão abordadas neste texto, e a rejeição crônica, que não será discutida. Nesse contexto, os xenoantígenos, moléculas presentes nos órgãos do doador, desempenham um papel crucial no desencadeamento das respostas imunológicas.

**Alotransplante** - transplante realizado entre indivíduos da mesma espécie.

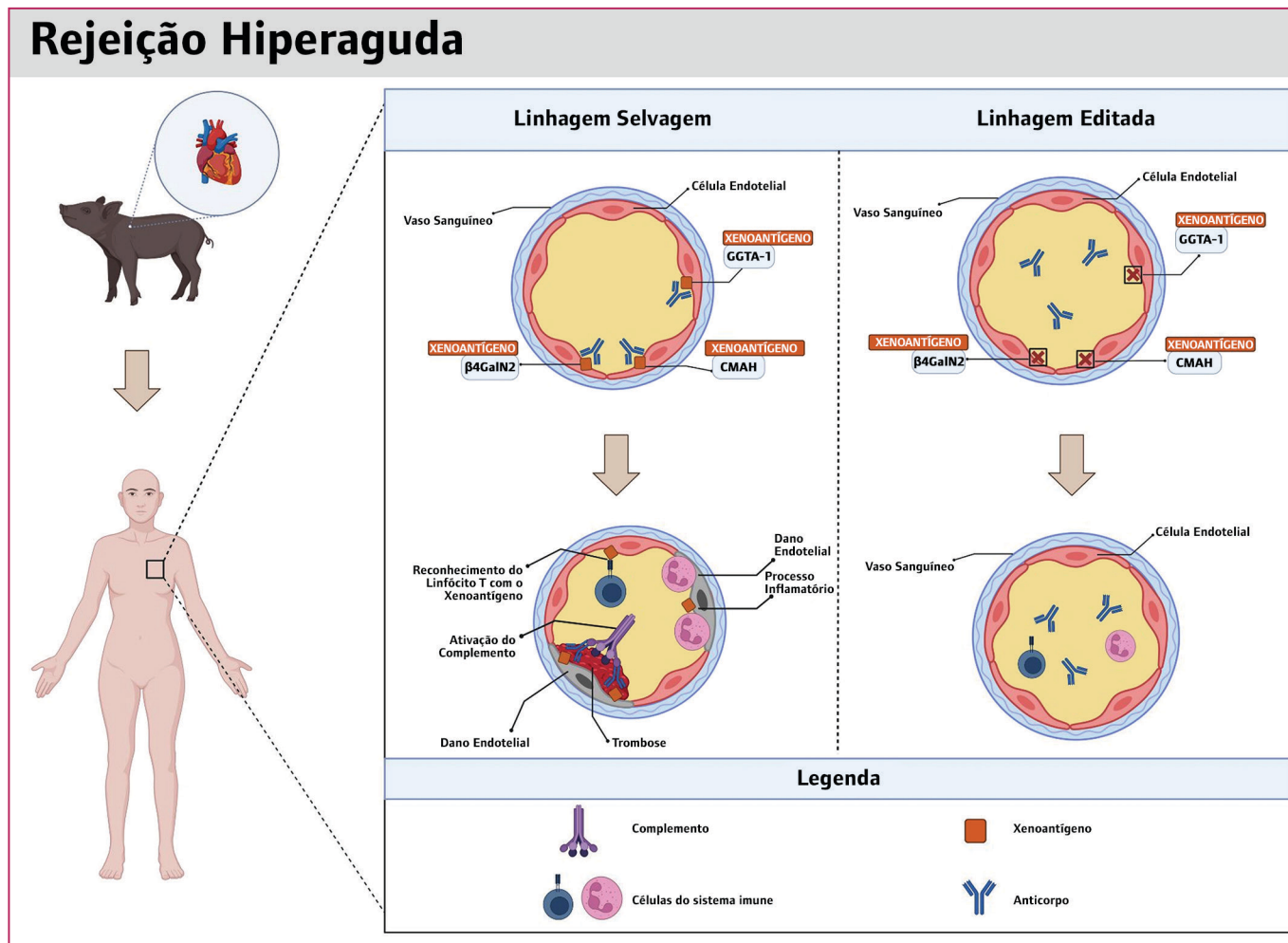
A rejeição hiperaguda é caracterizada pela rápida destruição do órgão transplantado, geralmente ocorrendo minutos após o procedimento. Esse fenômeno é desencadeado pela presença de anticorpos preexistentes, principalmente contra xenoantígenos específicos, como  $\beta 4\text{GalIN2}$ , CMAH e GGTA-1. Esses **antígenos** são reconhecidos pelo

sistema imunológico humano como estranhos, desencadeando uma cascata de eventos que culminam na ativação do sistema **complemento** e destruição do órgão transplantado. A Figura 1 resume os conceitos relacionados à rejeição hiperaguda e os alvos de edição gênica de interesse para o xenotransplante.

**Proteínas do complemento**

- proteínas presentes no sangue que, quando ativadas, desencadeiam inflamação e destruição celular.

**Antígeno** - molécula ou parte de molécula capaz de gerar resposta imunológica.



**Figura 1.**

Imagem esquemática demonstrando a presença de xenoantígenos responsáveis por estimular a resposta imunológica que gera a rejeição hiperaguda após o xenotransplante. A edição gênica permite que deixem de ser expressos os xenoantígenos, reduzindo o risco ou a magnitude da rejeição hiperaguda.

A resposta imunológica aguda, embora mais lenta que a hiperaguda, representa um desafio significativo. Os xenoantígenos desencadeiam **respostas humorais**, envolvendo a produção de anticorpos, especialmente linfócitos e neutrófilos, dois tipos de células imunológicas. Os linfócitos reconhecem

diretamente os xenoantígenos presentes nas células do órgão transplantado, desencadeando uma resposta celular específica. Simultaneamente, os anticorpos produzidos contra os xenoantígenos podem ativar o sistema complemento, levando à destruição do órgão.

**Resposta humoral** - resposta imunológica que ocorre pela produção de anticorpos, principalmente.

Recentes pesquisas científicas têm se concentrado no uso de técnicas de inserção de genes e de **nocaute** para mitigar essas rejeições. A inserção, que envolve a introdução genômica e expressão de um gene específico, e o nocaute, que elimina completamente a expressão do gene, são estratégias eficazes para modular a presença de xenoantígenos nos órgãos doados. No caso de  $\beta$ 4GalN2, CMAH e GGTA-1, a manipulação genética pode reduzir significativamente a resposta imunológica adversa.

A ausência ou a redução desses xenoantígenos minimiza a ativação do sistema imune e a sua ligação aos anticorpos, proporcionando uma janela de oportunidade para o sucesso do xenotransplante. Essa abordagem inovadora não apenas visa mitigar as respostas hiperaguda e aguda, mas também abre caminho para uma tolerância imunológica mais ampla em relação aos órgãos xenotransplantados.

Em síntese, a compreensão dos mecanismos imunológicos subjacentes às rejeições hiperaguda e aguda em xenotransplantes é crucial para o avanço dessa técnica. Os esforços atuais na manipulação genética, especialmente na inserção gênica e nocaute de genes como  $\beta$ 4GalN2, CMAH e GGTA-1, apresentam perspectivas promissoras para superar os desafios imunológicos associados ao xenotransplante e proporcionar uma fonte mais ampla e sustentável de órgãos para transplante em humanos.

### 3. A Genética do Xenotransplante

A engenharia genética desempenha um papel crucial no xenotransplante, permitindo a superação das barreiras imunológicas que dificultam a compatibilidade entre órgãos de suínos e humanos. A modificação genética envolve o nocaute de genes suínos relacionados com a produção dos xenoantígenos e a inserção de genes humanos, tornando os órgãos suínos mais compatíveis com o sistema imunológico humano.

A tecnologia de edição genômica, também conhecida como edição gênica, representa um avanço crucial no campo da genética molecular. Essa técnica possibilita a realização de modificações precisas e direcionadas em sequências de bases do DNA de organismos, mediante a indução de quebras cromossômicas em locais predefinidos. Para o sucesso da edição gênica, dois requisitos essenciais devem ser atendidos: a capacidade de reconhecer uma sequência-alvo no genoma e a habilidade de cortar o DNA, em dupla fita, no local identificado. Isso se tornou possível com o uso do sistema CRISPR-Cas9, que inclui uma **endonuclease** guiada por RNA. O direcionamento da quebra cromossômica é obtido por meio do pareamento entre pequenas sequências de material genético (guias de RNA) e o DNA do genoma de interesse, simplificando substancialmente os experimentos de edição genômica. Detalhes sobre o sistema CRISPR-Cas foram descritos anteriormente na *Genética na Escola*, v.12, n.2, 2017. Por meio da modificação genética, é possível nocautear genes específicos dos doadores e criar porcos com órgãos que compartilham maior semelhança com o de humanos em termos de fisiologia. Essa abordagem visa superar as barreiras imunológicas que prejudicam a compatibilidade entre órgãos de suínos e humanos no contexto do xenotransplante.

### 4. Seleção de genes suínos a serem nocauteados

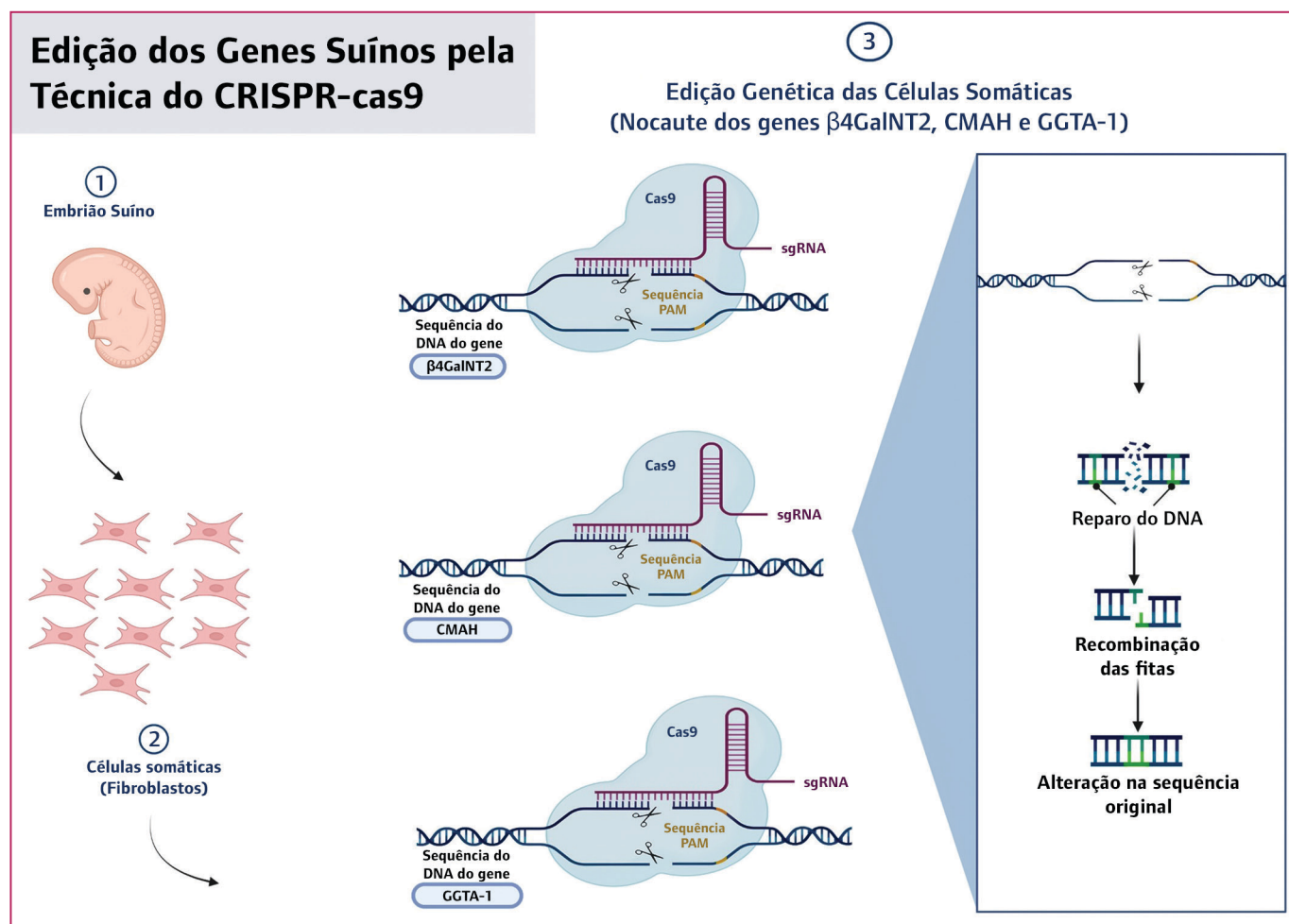
A rejeição hiperaguda está intimamente relacionada a galactose- $\alpha$ 1,3-galactose ( $\alpha$ -Gal), um epítipo de carboidrato encontrado em proteínas e lipídios de porcos, e que são sintetizados pela enzima  $\alpha$ 1,3-galactosiltransferase, também conhecida como GGTA1. Além disso, outros antígenos não relacionados ao  $\alpha$ -Gal também foram identificados como barreiras ao xenotransplante. Entre esses antígenos estão o

**Genes nocauteados** - genes cuja função biológica é perdida por conta de um processo de modificação genética induzida em laboratório.

**Endonucleases** - enzimas capazes de cortar o DNA.

ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc) e o antígeno do grupo sanguíneo, presente nos glóbulos vermelhos dos suínos, que são produzidos pela enzima CMAH e pela enzima  $\beta$ 1,4-N-acetil-galactosaminiltransferase 2 ( $\beta$ 4GalNT2), respectivamente. A ausência funcional de CMAH em seres humanos resulta na falta de Neu5Gc, enquanto porcos o produzem. A eliminação desses antígenos não relacionados ao  $\alpha$ -Gal é fundamental para aumentar a sobrevivência do xenotransplante. Portanto, a necessidade de nocaute dos três genes de interesse que sintetizam as enzimas acima citadas,  $\beta$ 4GalNT2, CMAH e GGT-1, é evidente para superar as barreiras imunológicas no xenotransplante e alcançar o sucesso na sobrevivência do enxerto, ou seja, o órgão ou o tecido transplantado.

A rejeição celular de xenotransplantes é um desafio que afeta tanto os órgãos inteiros quanto os enxertos celulares. Essa forma de rejeição pode ocorrer dias a semanas após o transplante e envolve respostas imunes inatas e adaptativas. A resposta imune inata é a que reconhece padrões gerais em corpos estranhos (não específica), enquanto a resposta imune adaptativa é especializada e reconhece fragmentos específicos de patógenos e tecidos de fora do corpo do indivíduo. A prevenção da rejeição imunológica é um campo em constante evolução e a manipulação genética de porcos, como o nocaute dos genes  $\beta$ 4GalNT2, CMAH e GGTA1, desempenha um papel crucial na busca por uma solução bem-sucedida para o xenotransplante de órgãos suínos em seres humanos. A Figura 2 apresenta um resumo da técnica de edição gênica e indica os genes a serem nocauteados.



**Figura 2.** Representação esquemática da técnica de edição gênica empregada para produção dos suínos geneticamente modificados. O corte da enzima Cas9, previamente descrita, necessita da presença de uma curta sequência de reconhecimento denominada, sequência PAM.

## 5. Seleção de genes humanos a serem introduzidos

A inserção de genes humanos em suínos destinados ao xenotransplante é fator crucial na busca pela eficácia desse procedimento. Diversos genes desempenham papéis essenciais na regulação da resposta imunológica e coagulação, influenciando diretamente a viabilidade dos xenoenxertos. A regulação da coagulação é outro aspecto crítico a ser considerado, uma vez que a coagulação desregulada pode resultar em diminuição de plaquetas e hemorragias nos xenoenxertos. A introdução de genes como *hTBM*, *hEP-CR*, *hTFPI* e *CD39* em suínos doadores têm o potencial de controlar efetivamente a coagulação anormal. Em resumo, a inserção de genes humanos em suínos destinados ao xenotransplante é uma estratégia vital para superar os desafios imunológicos e coagulatorios inerentes a esse procedimento. A compreensão desses aspectos genéticos e imunológicos é essencial para o avanço contínuo do xenotransplante como uma opção viável no campo da medicina.

## 6. O Código Genético Universal

O Código Genético Universal desempenha um papel fundamental no contexto do xenotransplante, considerando que a universalidade da genética define a possibilidade de produzir proteínas humanas em suínos. Esse código, conhecido como o conjunto de regras que define a correspondência entre os 20 aminoácidos em proteínas e grupos de três bases (códon) no RNAm, é um elemento central na capacidade de inserir genes humanos em suínos e garantir a produção correta de proteínas humanas. Embora existam exceções ao código genético universal, essas va-

riações são poucas. A busca pela produção de proteínas humanas em suínos é guiada pela compreensão da universalidade desse código, que remonta a um ancestral comum na evolução. A manipulação do código, juntamente com outras técnicas de engenharia genética, desempenha um papel crucial na superação dos desafios imunológicos e coagulatorios inerentes ao xenotransplante. Essa interação entre a genética básica e a aplicação prática na medicina é um exemplo vívido de como a ciência e a tecnologia avançam juntas para melhorar a vida humana.

## 7. Transferência nuclear de célula somática (SCNT)

A clonagem por transferência nuclear de célula somática é a biotecnologia que envolve a transferência do núcleo (DNA) de uma célula diploide para um ovócito em metáfase II enucleado (que teve seu material genético retirado). Após a introdução do novo núcleo ao ovócito enucleado pela técnica de **micromanipulação**, o ovócito com o novo núcleo passa pelos processos de fusão elétrica e ativação química para reiniciar o ciclo do desenvolvimento celular e gerar um zigoto.

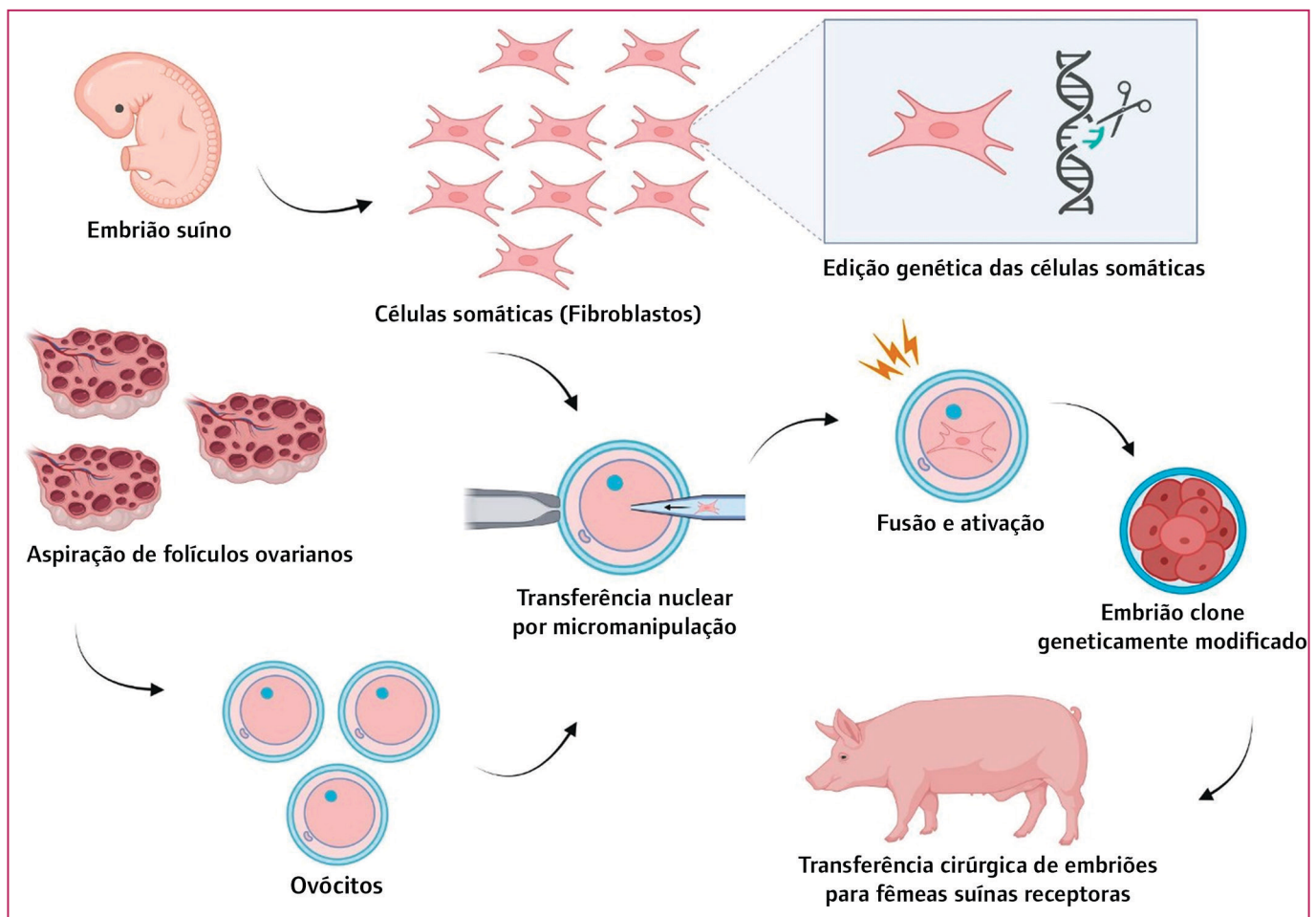
**Micromanipulação** - técnica que permite a manipulação de estruturas microscópicas como ovócitos e embriões.

Na perspectiva do xenotransplante, esta técnica é utilizada para gerar embriões de porcos clonados e geneticamente modificados, pois é possível produzir um indivíduo geneticamente idêntico ao doador da célula somática. Geralmente, células somáticas de origem fetal (p. ex. fibroblastos) são utilizadas como doadoras de núcleo para produção de embriões clones. Previamente à transferência dessas células aos ovócitos são realizadas modificações genéticas em seu DNA, as quais, no caso do xenotransplante, têm como objetivo tornar os órgãos dos suínos doadores mais compatíveis com organismo humano, minimizando a ocorrência dos processos de rejeição. Existem diversas técnicas de edição genética que podem ser utilizadas para essa finalidade, porém a mais frequente é a do CRISPR/Cas9.

Paralelamente à edição das células somáticas, ovários suínos são coletados em abatedouros para aspiração folicular e captação de ovócitos que serão utilizados para a produção *in vitro* dos embriões clones. Os ovócitos aspirados são selecionados e maturados *in vitro* em meios de cultura apropriados, até alcançarem o estágio de metáfase II. Em seguida, ocorre o processo de micromanipulação, reconstruindo os ovócitos individualmente com a célula modificada de interesse, sendo cultivados *in vitro* por 1 ou 2 dias, quando então são avaliados e selecionados quanto ao desenvolvimento, visualizando o processo da clivagem.

Os embriões gerados são transferidos cirurgicamente para o trato reprodutivo de uma fêmea suína receptora previamente sincronizada, para que o útero esteja no momento adequado à concepção dos embriões até o nascimento. Após o nascimento, deve-se realizar a **genotipagem** dos leitões para assegurar que possuam a mesma característica genética das células doadoras de núcleo geneticamente editadas e que não apresentem modificações genéticas inespecíficas. A Figura 3 sintetiza as etapas que envolvem a produção dos suínos clones geneticamente editados a partir da técnica de transferência nuclear de célula somática.

**Genotipagem** - conjunto de técnicas laboratoriais necessárias para determinar a sequência de nucleotídeos em uma determinada região do DNA.



**Figura 3.** Desenho esquemático das etapas de produção de suínos geneticamente modificados utilizando a técnica de CRISPR/Cas9.

## 8. Peculiaridades da espécie suína para fins de xenotransplante

Atualmente existem diversas linhagens de suínos disponíveis para pesquisa, sendo as

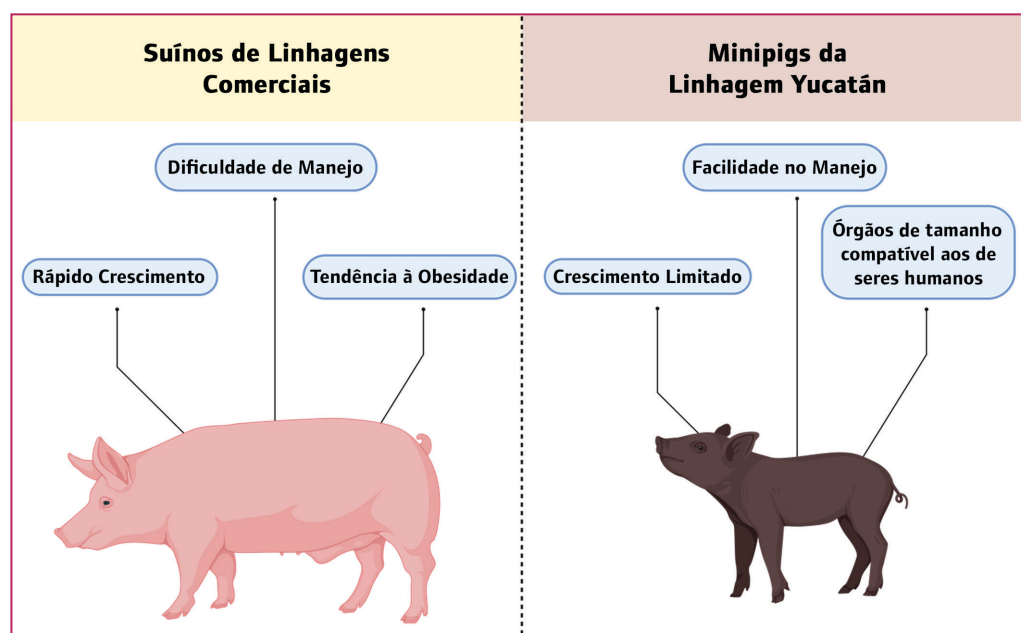
de característica mini as mais utilizadas devido à facilidade de manejo, em decorrência do tamanho reduzido dos animais. No entanto, no Brasil, país considerado o 4º maior produtor mundial de suínos, as linhagens de suínos comerciais da cadeia produtiva de carne como a Landrace, Large White ou a cruz de ambos, ainda são as mais utilizadas na pesquisa nacional apesar do seu grande tamanho, podendo alcançar 300 kg.

O uso de linhagens de suínos geneticamente selecionadas para o mercado de produção de carne implica em algumas restrições quanto à sua utilização em pesquisas, a começar pelo seu tamanho exagerado. Geralmente, os suínos de linhagens comerciais utilizados em pesquisa são selecionados de acordo com o peso vivo (entre 30 a 40 kg), o que corresponde a 2 – 3 meses de idade. Essa seleção visa facilitar procedimentos de coleta de amostras e manejo dos animais devido a limitações de espaço e de equipamentos laboratoriais e cirúrgicos que não comportam animais tão grandes, além de resguardar a segurança dos técnicos e pesquisadores que lidam diretamente com os animais. O rápido crescimento e a tendência à obesidade também são outros fatores que podem limitar o uso de linhagens suínas comerciais em pesquisas biomédicas de longo prazo.

Os suínos são animais dóceis, inteligentes, de fácil manejo, que gostam de ser mantidos em grupos e de interagir com humanos. Apresentam ciclo estral não sazonal a cada 21 dias, de período gestacional relativamente curto (duração de 3 meses, 3 semanas e 3 dias), com ninhadas numerosas a depender da linhagem (média de 15 leitões nascidos/porca de linhagens comerciais e de 6 leitões/porca quando provenientes de linhagens *minipig*). Tais características favorecem a sua produção e manutenção em biotérios.

Por serem animais onívoros, os suínos são alimentados com uma dieta composta de proteínas de origem animal e/ou vegetal. Quando criados para fins de xenotransplante, a dieta deve ser composta apenas de proteínas de origem vegetal, para evitar a contaminação cruzada por microrganismos provenientes de outras espécies animais (p. ex. príons que causam a encefalomielite espongiiforme em várias espécies animais, incluindo suínos e humanos) e que podem ser transmitidos pela ração produzida com proteína de origem animal contaminada.

Em se tratando de pesquisas voltadas ao xenotransplante, *minipigs* da linhagem Yucatán têm sido bastante utilizados por apresentarem crescimento limitado e órgãos com tamanho compatível aos de humanos, principalmente o coração. Diferente do observado para órgãos abdominais, os quais dispõem de espaço suficiente na cavidade abdominal que suporta o crescimento adicional de um determinado órgão (p. ex. os rins), o coração está anatomicamente posicionado no interior da caixa torácica e, portanto, possui limitações no caso de crescimento excessivo, devido à restrição de expansão do gradil costal. Neste caso, é imprescindível a utilização de suínos com tamanho cardíaco compatível com o de humanos para a finalidade de xenotransplante cardíaco.



**Figura 4.** Representação esquemática das diferenças entre as linhagens comerciais de suínos e a linhagem Yucatán, promissora para o xenotransplante.



O Brasil não possui rebanhos de *minipigs* de linhagens padronizadas como a Yucatán para fins de pesquisa, tornando a importação necessária. Os entraves burocráticos e financeiros relacionados à importação de animais vivos, aliados à facilidade de obtenção de suínos de granjas comerciais, têm limitado a utilização de *minipigs* em pesquisas brasileiras apesar de suas vantagens. Uma alternativa à falta de *minipigs* para pesquisas relacionadas aos xenotransplantes é a realização da deleção do gene receptor do hormônio de crescimento em suínos das linhagens comerciais convencionais, o que resulta na produção de suínos de tamanho reduzido. Alguns trabalhos demonstram a viabilidade desta técnica, porém ela tem potencial de acarretar outros problemas fisiológicos aos animais, uma vez que esse hormônio participa de diversas vias metabólicas importantes para o adequado funcionamento orgânico.

## 9. Obtenção de animais livres de patógenos

Além do tamanho, outro aspecto a ser considerado na seleção de suínos para xenotransplante é o seu *status* sanitário. A recomendação do FDA, órgão regulatório americano que estabelece as diretrizes para xenotransplante nos Estados Unidos, recomenda o uso de fêmeas suínas *Specific Pathogen-Free* (SPF – livre de patógenos específicos) como matrizes receptoras de embriões para produção dos suínos *Designated Pathogen-Free* (DPF – livre de patógenos designados) geneticamente modificados doadores de órgãos. A diferença entre suínos considerados SPF e DPF está na quantidade de patógenos que deve ser monitorada para prevenir a contaminação dos animais e, conseqüentemente, dos órgãos que serão destinados ao transplante. A lista de patógenos a ser monitorada para suínos DPF é muito mais ampla em relação aos suínos SPF; sendo os DPF animais livres, portanto, de uma lista de patógenos definidos em diretrizes como sendo relevantes para a transmissão para humanos. Isto significa que os animais previamente selecionados para a

pesquisa (as matrizes SPF que serão receptoras dos embriões suínos geneticamente modificados produzidos em laboratório) devem ser provenientes de estabelecimentos que possuam controle sanitário rigoroso, principalmente para microrganismos considerados de risco zoonótico (transmissão de animais para humanos e vice-versa).

Vários patógenos têm sido identificados como sendo cruciais para a manutenção dos animais em *status* DPF com finalidade de xenotransplante nos Estados Unidos. No entanto, vale salientar que os órgãos regulatórios brasileiros ainda não estabeleceram as diretrizes que devem nortear a produção de suínos geneticamente modificados para a prática de xenotransplantes no Brasil. Todavia, é de se esperar que além daqueles patógenos controlados em granjas de reprodutores de suínos certificados (GRSC), consideradas de maior nível de biossegurança dentro da cadeia de produção de suínos para consumo humano, outros microrganismos de potencial risco zoonótico devem ser considerados para evitar a transmissão destes aos humanos receptores de transplantes de órgãos ou aos profissionais cuidadores dos animais nos biotérios. Entre eles, alguns vírus são considerados mais problemáticos devido à infecção evidenciada em testes de xenotransplante ou ao seu potencial zoonótico e de difícil controle, como o citomegalovírus suíno, vírus da hepatite E, vírus da Influenza suína, rotavírus, herpesvírus e o retrovírus endógeno suíno.

Uma das formas mais eficazes de se gerar rebanhos livres de patógenos (SPF ou DPF), ou de restabelecimento do status sanitário do rebanho em casos de contaminação, é a realização de cirurgias de cesariana seguida do aleitamento artificial dos leitões com **sucedâneos** controlados microbiologicamente. Devido à conformação placentária dos suínos, que não permite o contato direto entre o sangue fetal e o sangue materno, há a manutenção de uma barreira fisiológica que dificulta a transmissão vertical de patógenos, ou seja, a contaminação da futura prole a partir da mãe. Apesar de alguns patógenos apresentarem o potencial de causar

**Sucedâneos** – porcas utilizadas como substitutas na amamentação.

infecção transplacentária, como o circovírus suíno tipo 2, o parvovírus suíno e sorovares de *Leptospira*, a realização de cesarianas, associada à separação dos neonatos da matriz suína (porca que deu à luz) e à criação destes em um ambiente controlado, ainda é um método eficaz para produzir suínos livres

de patógenos. Tais exigências requerem que os animais sejam criados em um ambiente controlado, protegido por barreiras físicas, químicas e operacionais que minimizem o risco biológico de contaminação. Estes biotérios suínos são também denominados de *pig facilities*.



## 10. Produção de suínos SPF/DPF em *pig facilities*

*Pig facilities* são biotérios com nível de segurança 2 (NB2), os quais produzem e mantêm suínos com finalidade de pesquisas. Essas estruturas possuem escritório, almoxarifado, centros cirúrgicos e laboratórios equipados de acordo com a sua finalidade, setores de recepção, quarentena, necrópsia, área hospitalar, maternidade, creche, crescimento e reprodução de animais. Vestiários equipados com armários e chuveiros para higiene pessoal são instalados antes da entrada da área

de alojamento dos animais para evitar que funcionários e pesquisadores levem contaminantes para o interior da *facility*. Todo o estabelecimento possui monitoramento por câmeras e sistema automatizado de temperatura, umidade, renovação do ar ambiente, tratamento de água e dejetos. Protocolos e procedimentos operacionais padrões, incluindo planos de enriquecimento ambiental e bem-estar dos animais, além de treinamentos periódicos de funcionários e pesquisadores, devem ser implantados e rigorosamente revisados para assegurar a biossegurança e a qualidade de vida dos animais. Todos os materiais devem ser inspecionados e higienizados previamente à sua entrada na *facility*, incluindo a ração dos animais. Em se tratam

do da alimentação, recomenda-se o fornecimento de ração própria para suínos, livre de produtos de origem animal para prevenir a contaminação (especialmente por príons), submetida ao procedimento de gama irradiação, que previne a contaminação pelos demais microrganismos. Esses processos são importantes para manter o alto nível sanitário do ambiente e dos animais, porém resultam em um elevado custo de manutenção das unidades de criação.

O Brasil será o primeiro país da América Latina a possuir *pig facilities* NB2 para xenotransplante. Estão sendo construídas duas unidades na Universidade de São Paulo, Campus São Paulo, sendo uma com capacidade para manutenção de até 10 animais e outra com capacidade para 30 animais. Ambas as *facilities* possuem estrutura para produção de suínos em ciclo completo (reprodução, nascimento, crescimento e manutenção até o momento da retirada dos órgãos), com posicionamento estratégico que favorece a logística de entrega dos órgãos aos hospitais que realizam transplantes no estado de São Paulo. Todos esses procedimentos de geração e manutenção de animais livres de patógenos são complexos e implicam no treinamento prévio de toda a equipe que atuará dentro das *pig facilities*, de modo a garantir a saúde e o bem-estar dos suínos para fins de xenotransplante.

## 11. Conclusão

A produção de suínos para xenotransplante é um campo multidisciplinar que envolve profissionais das áreas da genética, da biologia molecular, imunologia e da medicina humana e veterinária. Os aspectos éticos e legais que norteiam a sua prática devem sempre ser levados em consideração.

A rejeição hiperaguda, aguda e crônica de xenotransplantes ainda é uma das principais barreiras a serem superadas para tornar esta técnica uma realidade clínica. A engenharia genética tem sido a ferramenta empregada para superar esse entrave e aumentar a compatibilidade dos órgãos suínos com o sistema imunológico humano. A deleção de genes suínos desencadeadores de resposta

imunológica e a inserção de genes humanos que ampliam a compatibilidade dos órgãos suínos ao organismo humano podem ser a chave para viabilizar a prática clínica desta técnica nos próximos anos. Existem também questões éticas e legais que devem ser levadas em consideração, principalmente em relação ao uso de animais para transplante em humanos e aspectos como segurança, consentimento e acompanhamento a longo prazo dos pacientes transplantados. A regulamentação em torno do xenotransplante é complexa, podendo variar de país para país. No Brasil, ainda não há uma legislação específica que regulamente a prática e sua elaboração deverá envolver, além dos poderes públicos competentes, pesquisadores da área e outros membros da sociedade civil, como representantes de organizações com fins de proteção aos animais.

Por fim, a produção de suínos e órgãos para xenotransplante é um esforço colaborativo que procura resolver a escassez de órgãos para transplante em humanos. Ainda que muitos desafios científicos, técnicos e éticos tenham que ser superados, os avanços recentes nas pesquisas têm nos aproximado cada vez mais da realidade de diminuir a fila de espera para transplantes.

## Para saber mais

CARRIER, A. N. et al. Xenotransplantation: A New Era. *Frontiers in Immunology*, v. 13, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.900594>>. Acesso em: 31/10/2023.

COWAN, P. J.; HAWTHORNE, W. J.; NOTTLE, M. B. Xenogeneic transplantation and tolerance in the era of CRISPR-Cas9. *Current Opinion in Organ Transplantation*, v. 24, n. 1, p. 5–11, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000589>>. Acesso em: 31/10/2023.

SOUZA, T. A. J. de; PEREIRA, T. C. O impacto na sociedade da tecnologia de edição gênica com base no sistema CRISPR-Cas9. *Genética na Escola* 12, 124–131 (2017).

SNT - SISTEMA NACIONAL DE TRANSPLANTES / MINISTÉRIO DA SAÚDE. Lista de espera e transplantes realizados no Brasil no ano corrente, 2023. Disponível em <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saes/snt>>. Acesso em: 31/10/2023.