

Stanisław Surma, Marcin Adamczak

Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

# Ksenotransplantacja nerki

## Kidney xenotransplantation

### ABSTRACT

Xenotransplantology is a branch of medical science dealing with organ transplantation between organisms of different species. Constantly increasing demand of organs, among others of the kidneys, for transplantation makes diligently seek for alternative methods of their obtaining. At present, organs for transplantation come from living humans or deceased donors (allografts). For many years, xenotransplantation have been attempted. Until recently such attempts were subject to a very high risk of

failure due to hyperacute xenograft rejection. With the development of genetic engineering techniques, such modified xenograft donors (mainly pigs) the risk of hyperacute xenograft rejection was reduced and the survival time of the organ obtained from pig and transplanted to baboon was increased. This article aims to summarize the current state of knowledge on xenotransplantation of kidneys obtained from pigs.

Forum Nefrol 2019, vol 12, no 2, 114–124

**Key words:** xenotransplantation, kidney transplantation, hyperacute transplant rejection

### WSTĘP

„Historia uczy nas, że metody lecznicze niepojęte wczoraj, dzisiaj ledwie osiągalne, jutro staną się rutynowymi”.

*Thomas E. Starzl, 1982 [1].*

Transplantacja nerki jest najskuteczniejszą metodą leczenia nerkozastępczego. Dane Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2015 roku wskazują że do krajów, w których dokonuje się największej liczby transplantacji nerek, tj. > 55 na milion mieszkańców, należą Hiszpania, Holandia oraz Stany Zjednoczone. Według tych samych danych w Polsce przeszczepia się rocznie 35 nerek na milion mieszkańców.

Transplantacja nerek wydłuża życie chorego (u chorego w wieku 18–34 lat, z 7 lat w programie hemodializ, do 18 lat po przeszczepieniu nerki) i zmniejsza koszty leczenia (w Stanach Zjednoczonych z 39 000 USD/rok w programie hemodializ do 16 600 USD/rok w 1. roku po przeszczepieniu nerki) [2, 3].

Stale zwiększająca się liczba chorych oczekujących na transplantację nerki w porównaniu z liczbą potencjalnych dawców sprawia, że poszukuje się innych rozwiązań niż przeszczep od dawcy ludzkiego zmarłego lub żywego. Wśród metod, w których pokłada się nadzieje na przyszłość, są ksenotransplantacje. Ksenotransplantacją jest każda procedura, która obejmuje transplantację, implantację lub infuzję ludzkiemu biorcy żywych komórek, tkanek czy organów pochodzących od zwierząt, a także ludzkich płynów ustrojowych, komórek, tkanek lub narządów, które weszły w kontakt *ex vivo* ze zwierzęcymi komórkami, tkankami czy narządami.

### HISTORIA KSENOTRANSPLANTACJI

Pierwsze dane dotyczące prób przeszczepienia człowiekowi narządu od gatunku innego niż człowiek pochodzą z 1667 roku, kiedy to Jean-Baptiste Denis dokonał pierwszej ksenotransfuzji krwi jagnięcia 15-letniemu chłopcu [2]. Ten pierwszy udokumentowany zabieg

►► Ksenotransplantacja jest każdą procedurą, która obejmuje transplantację, implantację lub infuzję ludzkiemu biorcy żywych komórek, tkanek czy organów pochodzących od zwierząt, a także ludzkich płynów ustrojowych, komórek, tkanek lub narządów, które weszły w kontakt *ex vivo* ze zwierzęcymi komórkami, tkankami czy narządami ◀◀

#### Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Marcin Adamczak  
Katedra i Klinika Nefrologii,  
Transplantologii i Chorób  
Wewnętrznych  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. Francuska 20–24, 40–027 Katowice  
tel.: 32 255 26 95  
e-mail: madamczak1@op.pl

**Tabela 1.** Historia ksenotransplantacji nerki

Rok	Autorzy	Gatunek dawcy	Liczba chorych	Czas przeżycia narządów	Piśmiennictwo
1905	Princeteau	Królik	1	16 dni	[7]
1906	Jaboulay	Świnia Koza	1 1	3 dni 3 dni	[8] [8]
1910	Unger	Makak	1	32 godziny	[9]
1923	Neuhof	Koza	1	9 dni	[10]
1963	Hitchcock i wsp.	Pawian	1	4 dni	[11]
1963	Reemtsma i wsp.	Makak królewski	1	63 dni	[12–14]
1964	Reemtsma i wsp.	Szympanś	1	9 miesięcy	[12]
1964	Reemtsma i wsp.	Szympanś	12	63–270 dni	[15]
1964	Starzl i wsp.	Pawian	6	19–98 dni	[16]
1964	Hume	Szympanś	1	1 dzień	[17]
1964	Traeger i wsp.	Szympanś	3	< 49 dni	[18]
1966	Cortesini i wsp.	Szympanś	1	31 dni	[19]

ksenotransplantacji zapoczątkował próby przeszczepiania innych komórek, tkanek czy narządów. W 1682 roku wykonano pierwszy przeszczep tkanek, uzupełniając ubytek czaszki rosyjskiego arystokraty fragmentem czaszki psa. Mimo sukcesu zabiegu taki sposób postępowania spotkał się z krytyką ze strony Kościoła katolickiego i licznymi zarzutami natury etycznej [4]. Kolejną próbą ksenotransplantacji, podjętą w 1906 roku przez Mathieu Jaboulaya, było przeszczepienie człowiekowi nerek pochodzących od kozy i świni. Badacz ten jako pierwszy opisał nadostre odrzucenie ksenoprzeszczepu [4]. Lata 60. XX wieku przyniosły kolejne próby ksenoprzeszczepów; przeszczepiano m.in. skórę żab osobom po oparzeniach, a także jądra małp, nerki i serca szympansów [4]. W 1963 roku w Stanach Zjednoczonych miały miejsce dwie operacje z wykorzystaniem naczelnych jako dawców. W Denver Thomas Starzl przeszczepił 6 pacjentom nerki pochodzące od pawianów. Chorzy przeżyli od 19 do 98 dni [5]. W tym samym roku Keith Reemtsma z Nowego Orleanu dokonał 13 przeszczepień nerek pobranych od szympansów. Dwanaście nerek utraciło swoją czynność w czasie pierwszych 2 miesięcy od zabiegu. U 1 chorego nerka funkcjonowała aż przez 9 miesięcy [5]. W latach 1969–1974 rozpoczęto próby ksenotransplantacji wątroby. Troje dzieci otrzymało wątrobę od szympansów — najdłuższy okres przeżycia po zabiegu wynosił zaledwie 2 tygodnie. Pawian stał się dawcą serca w przeszczepie dokonanym w 1977 roku w Republice Południowej Afryki. Chora, 28-letnia kobieta, zmarła w 6. godzinie po wykonaniu zabiegu. Ten sam zespół lekarzy po raz kolejny dokonał

próby przeszczepienia serca od pawiana, tym razem 60-letniemu mężczyźnie, który zmarł 4 dni po zabiegu. W 1984 roku w Kalifornii dokonano próby przeszczepienia niemowlęciu serca pochodzącego od pawiana. Biorca zmarł po 20 dniach [5]. W tym miejscu warto wspomnieć, że w latach 80. XX wieku zespół prof. Zbigniewa Religi dokonał próby przeszczepienia serca pochodzącego od świni dorosłemu mężczyźnie. Pacjent zmarł krótko po zabiegu [6]. W roku 1992 dokonano nieudanego przeszczepienia wątroby, której dawcą był pawian. Pacjent przeżył jedynie 71 dni. Rok później podjęto jeszcze próbę przeszczepu szpiku kostnego i nerki od pawiana, co również okazało się niepowodzeniem, ponieważ biorca po przeszczepie przeżył jedynie 26 dni [5]. Wybrane przykłady ksenotransplantacji nerek wymieniono w tabeli 1.

Przedstawione powyżej próby ksenotransplantacji kończyły się niepowodzeniem. W miarę rozwoju biologii molekularnej zaczęto badać czynniki patogenetyczne uczestniczące w odrzucaniu ksenoprzeszczepów. Dopiero zastosowanie metod inżynierii genetycznej umożliwiło na tyle daleko idącą ingerencję w genom potencjalnych dawców narządów do ksenoprzeszczepów, że wznowiono doświadczenia na zwierzętach.

## **CELOWOŚĆ I POTENCJALNE ZALETY KSENOTRANSPLANTACJI NERKI**

Czynnikiem ograniczającym dostępność transplantacji nerek jest brak narządów. W Stanach Zjednoczonych w 2015 roku było 124 000 oczekujących na przeszczepienie nerki. Odbyło się 16 291 zabiegów transplantacji tego

▶▶ Źródłem organów do ksenotransplantacji u człowieka najprawdopodobniej będzie świnia ◀◀

narządu, a 4761 potencjalnych biorców nerki zmarło przed jej przeszczepieniem. W tym samym roku w Stanach Zjednoczonych czas oczekiwania na przeszczepienie nerki od osoby zmarłej wynosił około 5 lat (na uwagę zasługuje fakt ujemnej korelacji pomiędzy czasem dializoterapii i przeżyciem nerki przeszczepionej). U około 15% chorych przed przeszczepieniem nerki istniała konieczność przeprowadzenia zabiegów odczulających (desensytyzacja) [2]. Według danych Poltransplantu w Polsce na koniec 2018 roku na przeszczepienie nerki oczekiwało 1196 osób, natomiast dawców tego narządu w roku 2018 było 500. Optymalną metodą leczenia nerkozastępczego jest przeszczepienie nerki w okresie przeddializacyjnym od dawcy żywego. Rosnące zapotrzebowanie na przeszczepianie nerek, stały niedobór narządów do transplantacji i wydłużająca się lista oczekujących powodują, że większość nerek jest przeszczepiana w okresie dializoterapii biorców. W Polsce jedynie 7% wszystkich przeszczepień nerek stanowią transplantacje w okresie przeddializacyjnym. Jeszcze mniej narządów pochodzi od żywych dawców — około 2% [20]. Ksenotransplantacje mogą umożliwić zwiększenie liczby przeszczepianych nerek poprzez eliminację problemu małej dostępności tych narządów. Pozyskiwanie nerek od innych gatunków (np. świń) pozwoli zyskać nieograniczony (skrócenie czasu oczekiwania jedynie do czasu niezbędnego do wykonania badań kwalifikacyjnych) i ciągły dostęp do narządów (możliwość rozwoju programu przeszczepień przed rozpoczęciem dializoterapii; możliwość leczenia chorych bez dostępu naczyniowego do hemodializ). Ponadto można przypuszczać, że narządy pozyskiwane od zwierząt będą się cechowały wysoką jakością, porównywalną do nerek pobranych od dawców żywych [2].

▶▶ Główną przyczyną odrzucania ksenoprzeszczepów nerek pochodzących od świń jest odrzucenie nadostre, spowodowane występowaniem naturalnych przeciwciał rozpoznających epitopy zawierające jako końcową część cząsteczkę galaktozo- $\alpha$ 1,3-galaktozę ( $\alpha$ Gal) ◀◀

### WYBÓR GATUNKU BĘDĄCEGO POTENCJALNYM ŹRÓDŁEM ORGANÓW DO KSENOTRANSPLANTACJI

Od 1992 roku stopniowo zaczęto odchodzić od wykorzystywania naczelnymi jako dawców narządów w ksenotransplantologii. Narządy wewnętrzne szympanсів (*Pan troglodytes*) i pawianów (*Papio species*), mimo podobieństwa anatomicznego i fizjologicznego do organów ludzkich, są zbyt małe. Niewielkie rozmiary narządów sprawiły, że np. serce można było wykorzystać tylko do ksenoprzeszczepów u dzieci. Dodatkowymi utrudnieniami związanymi z wy-

korzystywaniem naczelnymi jako dawców był fakt, że są one trudne w hodowli. Cechują się małą płodnością, wydają na świat zazwyczaj jednego potomka, późno osiągają dojrzałość płciową i charakteryzują się długim czasem ciąży. Kolejnym utrudnieniem jest mała różnica filogenetyczna pomiędzy człowiekiem i małpami naczelnymi, która stanowi istotne zagrożenie, ponieważ wirusy pawianów i szympansov, do których zalicza się w szczególności pawiani endogenny retrowirus (BaEV, *baboon endogenous virus*), małpi wirus niedoboru odporności (SIV, *simian immunodeficiency virus*), małpi wirus T-limfotropowy (STLV, *simian T-lymphotropic virus*), wirus atakujący układ oddechowy (RSV, *respiratory syncytial virus*), wirus Shope'a (SFV, *Shope fibroma virus*) oraz wirus SV40 (*simian virus 40*), mogą być niebezpieczne również dla ludzi. W związku z wymienionymi ograniczeniami potencjalnych dawców narządów do ksenoprzeszczepów zaczęto poszukiwać wśród zwierząt dalej spokrewnionych filogenetycznie. Stwierdzono, że najwięcej korzystnych cech umożliwiających wykorzystanie ich w celu przeszczepienia narządów człowiekowi wykazują świnie. Głównymi zaletami świń jako dawców nerek są mały koszt hodowli, duży potencjał rozrodczy oraz doświadczenia z tym gatunkiem w zakresie inżynierii genetycznej. Ponadto świnie cechują się zbliżonymi do człowieka parametrami anatomicznymi i fizjologicznymi (tab. 2). Mają podobną osmolarność moczu, filtrację kłębuszkową i przepływ krwi przez nerki. Podobny jest też rzut minutowy serca i ciśnienie tętnicze. Ich znaczny dystans filogenetyczny w stosunku do człowieka zmniejsza ryzyko przeniesienia zakażeń wirusowych i nowotworów [4, 21].

### ASPEKTY IMMUNOLOGICZNE KSENOTRANSPLANTACJI NEREK POZYSKIWANYCH OD ŚWIŃ

#### ODRZUCENIE NADOSTRE

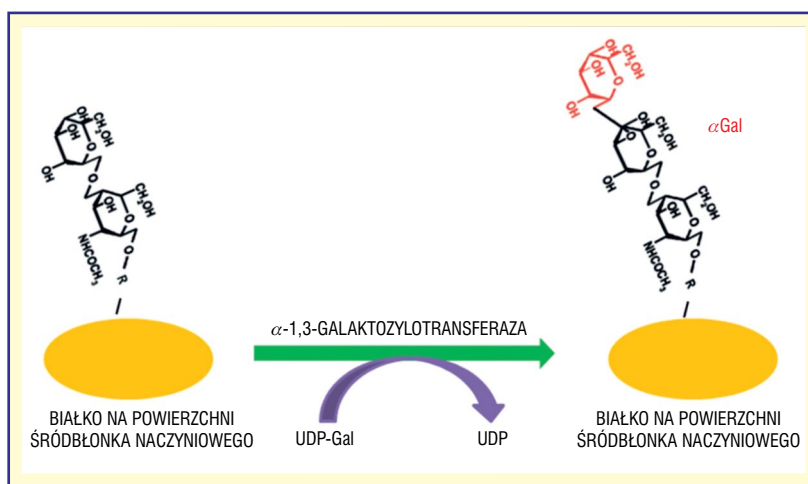
Główną przyczyną odrzucania ksenoprzeszczepów nerek pochodzących od świń oraz małp Starego Świata (wąskonosych, tj. małp człekokształtnych i makakowatych) jest odrzucenie nadostre, spowodowane występowaniem naturalnych przeciwciał rozpoznających epitopy zawierające jako końcową część cząsteczkę galaktozo- $\alpha$ 1,3-galaktozę ( $\alpha$ Gal), powodujących pobudzenie układu dopełniacza. Glikan  $\alpha$ Gal występuje w bardzo wielu glikoproteinach i glikolipidach śród błonka zwierząt. Człowiek i małpy Starego Świata utraciły zdolność wytwarzania glikanu  $\alpha$ Gal [22].

**Tabela 2.** Porównanie świni i pawiana pod względem cech istotnych przy wyborze gatunku odpowiedniego do ksenotransplantacji. Na podstawie [21]

	Świnia	Pawian
Dostępność	Duża	Mała
Potencjał hodowlany	Duży	Mały
Wiek osiągnięcia dojrzałości płciowej	4–8 miesięcy	3–5 lat
Czas trwania ciąży	114 ± 2 dni	173–193 dni
Liczba potomstwa	5–12 osobników	1–2 osobniki
Wzrost	Szybki (wielkość organów dorosłego człowieka w ciągu 6 miesięcy)	Wolny (do osiągnięcia maksymalnej wielkości narządów potrzeba 9 lat)
Rozmiar nerki	Odpowiedni	Zbyt mały
Koszty utrzymania hodowli	Małe	Duże
Podobieństwo anatomiczne do człowieka	Umiarkowanie bliskie	Bliskie
Podobieństwo fizjologiczne do człowieka	Umiarkowanie bliskie	Bliskie
Podobieństwo immunologiczne do człowieka	Odległe	Bliskie
Znajomość typowania tkanek	Znaczna	Ograniczona
Doświadczenia w zakresie inżynierii genetycznej	Znaczne	Brak
Ryzyko przeniesienia zakażenia wraz z przeszczepianą nerką	Małe	Duże
Dostępność zwierząt wolnych od patogenów	Tak	Nie

Wytwarzanie  $\alpha$ Gal jest uwarunkowane aktywnością enzymu  $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy ( $\alpha$ 1,3 GT). Enzym ten katalizuje przeniesienie reszty galaktozy z UDP-Gal na N-acetylogalaktozaminę występującą w glikosfingolipidach lub glikoproteinach, wytwarzając epitop rozpoznawany przez ludzkie przeciwciała anty- $\alpha$ Gal (ryc. 1). Brak aktywności  $\alpha$ 1,3 GT u człowieka i małp Starego Świata jest spowodowany inaktywującą mutacją genu tego enzymu [22–24].

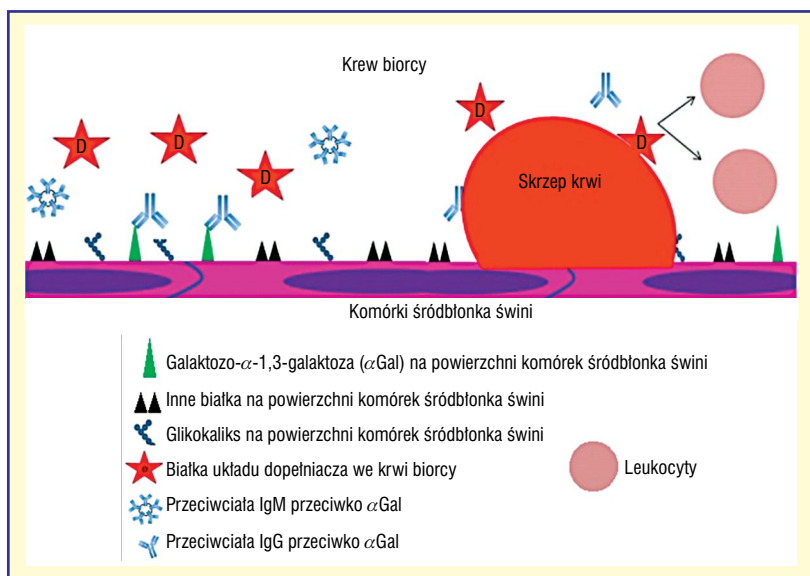
Organizmy, u których nie występuje glikan  $\alpha$ Gal, wytwarzają swoiste przeciwciała przeciwko temu dwucukrowi. U człowieka przeciwciała anty- $\alpha$ Gal powstają w okresie noworodkowym w wyniku reakcji skierowanej przeciw antygenom  $\alpha$ Gal bakterii kolonizujących przewód pokarmowy, w których ekspresji ulega gen kodujący  $\alpha$ 1,3 GT [23]. Wykazano, że u ludzi około 80% przeciwciał skierowanych przeciwko wszystkim antygenom świni jest skierowanych przeciwko antygenowi  $\alpha$ Gal. Stanowią one ok. 1% frakcji IgG oraz ok. 4% frakcji IgM [24, 25]. Niewystępowanie  $\alpha$ Gal u człowieka jest prawdopodobnie spowodowane reakcją obronną, powstałą na drodze ewolucji w efekcie występowania  $\alpha$ Gal na powierzchni licznych patogenów. Wykazano, że przeciwciała przeciwko  $\alpha$ Gal wiążą się z lipopolisacharydami bakterii *Escherichia*, *Neisseria*, *Klebsiella* i *Salmonella*, a także z glikolipidami i glikoproteinami pierwotniaków *Trypanosoma*, *Leishmania* i *Plasmodium*. Przeciwciała prze-



**Rycina 1.** Powstawanie epitopu  $\alpha$ Gal przy udziale  $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy

ciwko  $\alpha$ Gal mogą uczestniczyć w obronie przeciwko wymienionym patogenom.

Po przeszczepieniu nerki świni człowiekowi obecne przeciwciała przeciwko  $\alpha$ Gal przy udziale dopełniacza uszkadzają komórki śródbłonna nerki (ryc. 2) [24]. Poza  $\alpha$ Gal na powierzchni śródbłonna występują również inne antygeny, które mogą uczestniczyć w nadostrym odrzucaniu przeszczepu ksenogenicznego. Należą do nich kwas N-glikoloneuramidowy (Neu5Gc) oraz Sd (produkt  $\beta$ 1,4N acetylogalaktozoaminotransferazy;  $\beta$ 4GalNT2) [26].



Rycina 2. Mechanizm nadostrego odrzucenia przeszczepu ksenogenicznego

Głównym czynnikiem prowadzącym do nadostrego odrzucenia ksenoprzeszczepu jest pobudzenie układu dopełniacza przez przeciwciała anty- $\alpha$ Gal. Przyłączenie przeciwciał anty- $\alpha$ Gal do antygenów  $\alpha$ Gal na powierzchni śródbłonka naczyniowego powoduje uruchomienie kaskady reakcji enzymatycznych, w wyniku których powstają anafilatoksyny C3a i C3b o właściwościach chemotaktycznych. Dochodzi do przyciągania granulocytów, monocytów i mastocytów, które w miejscu inicjacji reakcji ulegają degranulacji. Wydzielone cytokiny prozapalne zwiększają przepuszczalność naczyń krwionośnych, prowadząc do obrzęku. Powstające produkty układu dopełniacza C3b i C4b ułatwiają fagocytozę. Końcowym etapem działania układu dopełniacza jest utworzenie kompleksu atakującego błonę (MAC, *membrane attack complex*). Działanie tego kompleksu prowadzi do dezintegracji i lizy komórek śródbłonka naczyń. Uszkodzone komórki śródbłonka tracą ze swojej powierzchni siarczan heparanu, który wykazuje właściwości antyagregacyjne. Dochodzi do zwiększenia ekspresji selektyny P, czynnika von Willebrandta, czynnika aktywującego trombocyty (PAF, *platelet-activating factor*), inhibitora aktywacji plazminogenu 1 (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*) i prostacykliny. Wszystkie te procesy prowadzą do powstania skrzepu krwi [27]. W reakcji nadostrego odrzucenia dochodzi zatem do wewnątrznaczyniowego (włośniczki i drobne tętniczki) odkładania immuno-

▶▶W reakcji nadostrego odrzucenia dochodzi zatem do wewnątrznaczyniowego (włośniczki i drobne tętniczki) odkładania immunoglobulin i składników dopełniacza, agregacji płytek krwi, pobudzenia układu krzepnięcia oraz powstawania nacieków leukocytarnych◀◀

globulin i składników dopełniacza, agregacji płytek krwi, pobudzenia układu krzepnięcia oraz powstawania nacieków leukocytarnych (ryc. 2) [2].

### OSTRE ODRZUCENIE NACZYNIOWE

W sytuacji, gdy wyczerpie się układ dopełniacza lub zostanie on farmakologicznie zablokowany, może dojść do rozwoju ostrego odrzucenia naczyniowego. Występuje ono zwykle po upływie kilku godzin od ksenoprzeszczepienia. W patogenezie odrzucenia naczyniowego uczestniczą przeciwciała [28]. Istotną rolę w jego przebiegu przypisuje się ponadto komórkom NK (*natural killers*) i makrofagom [29]. Podczas ostrego odrzucenia naczyniowego dochodzi do aktywacji płytek krwi, wydzielania chemokin i cytokin, rekrutacji komórek NK oraz monocytów i makrofagów. Komórki NK i monocyty przenikają do przestrzeni śródmiąższowej narządu. Dzięki wydzielaniu czynnika martwicy nowotworu (TNF $\alpha$ , *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) i interferonu  $\gamma$  (INF $\gamma$ ) zwiększają ekspresję genów dla cytokin i chemokin, co prowadzi do zwiększenia przylegania płytek krwi do powierzchni komórek śródbłonka, czego konsekwencją jest powstanie zakrzepów przyściennych [30]. Ostre odrzucenie naczyniowe wiąże się więc z cytotoksycznymi właściwościami komórek NK, makrofagów i zmianami zakrzepowymi w tętnicach.

### OSTRE ODRZUCENIE KOMÓRKOWE

W patogenezie ostrego odrzucenia komórkowego ksenoprzeszczepu uczestniczy pośrednia prezentacja antygenów. Zjawisko to występuje w ciągu kilku dni od przeszczepienia narządu. Najczęściej obserwuje się upośledzoną odpowiedź ze strony limfocytów T CD8+, natomiast prawidłową ze strony limfocytów T CD4+ rozpoznających antygeny zgodności tkankowej II klasy [MHC (*major histocompatibility complex*) II klasy]. Brak możliwości rozpoznania MHC I klasy przez komórki NK jest dla tych komórek sygnałem do aktywacji. W tym typie odrzucenia główną rolę odgrywiają jednak limfocyty T CD4+. Podczas ostrego odrzucenia komórkowego dochodzi do powstawania nacieków komórek jednojądrzastych w śródmiąższu tkanek [31].

### ODRZUCENIE PRZEWLEKŁE

Ten typ odrzucenia w ksenoprzeszczepach jest obserwowany rzadko ze względu na dominującą rolę odrzucenia nadostrego i ostrego naczyniowego [27].

**Tabela 3.** Modyfikacje genetyczne świni ze zmniejszonym ryzykiem nadostrego odrzucenia nerki podczas ksenotransplantacji [43]

<b>Antygen galaktozo-<math>\alpha</math>-1,3-galaktozowy lub inny antygen utracony przez człowieka w procesie ewolucji</b>
Inaktywacja genu $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy (GTKO)
Inaktywacja genu hydroksylazy kwasu cytydino-monofosforano-N-acetylneuraminowego (NeuGcKO)
Inaktywacja genu $\beta$ -1,4-N-acetylogalaktozaminotransferazy ( $\beta$ 4GalNT2)
<b>Regulacja układu dopełniacza</b>
Zwiększenie ekspresji CD46 (błonowy kofaktor białkowy, MCP)
Zwiększenie ekspresji CD55 (błonowy czynnik przyspieszający rozkład, DAF)
Zwiększenie ekspresji CD59 (protektyna)

## **HAMOWANIE ODRZUCENIA KSENOPRZESZCZEPU**

W celu zmniejszenia ryzyka odrzucenia ksenoprzeszczepu opracowano następujące metody: hamowanie aktywności lub usuwanie przeciwciał biorcy, zmniejszenie aktywności układu dopełniacza, modyfikacja genetyczna dawcy, leki immunosupresyjne, zmniejszenie aktywności układu krzepnięcia oraz hamowanie pobudzenia komórek śródbłonna naczyniowego.

## **HAMOWANIE AKTYWNOŚCI LUB USUWANIE PRZECIWCIAŁ BIORCY**

Badaniom poddano liczne metody, dzięki którym próbowano obniżyć stężenia przeciwciał biorcy w osoczu (głównie przeciwciał anty- $\alpha$ Gal). Plazmafereza zmniejsza ryzyko nadostrego odrzucenia, jej efekt natomiast jest krótkotrwały [32, 33]. Chromatografia powinowactwa z wykorzystaniem białka A (pochodzącego ze *Staphylococcus species*) lub przeciwciał monoklonalnych przeciwko ludzkim immunoglobulinom IgG i IgM [34] oraz perfuzja osocza przez ksenogeniczny narząd, szczególnie nerkę, zmniejsza stężenie przeciwciał w osoczu [35]. Zastosowanie rycyny A w połączeniu z syntetycznym antygenem Gal pozwala na wyeliminowanie specyficznych względem tego antygeny limfocytów B. Koniugat rycyny A i antygeny Gal prowadzi do zniszczenia limfocytów B [36]. Efektem wprowadzenia do organizmu biorcy naturalnych lub syntetycznych antygenów Gal w połączeniu z polilizyną jest 90-procentowe zmniejszenie stężenia ksenoprzeciwciał w osoczu anty- $\alpha$ Gal [37]. Spośród innych metod prowadzących do obniżenia stężenia przeciwciał anty- $\alpha$ Gal w osoczu próbowano wykorzystać splenektomię, naświetlanie narządów chłonnych promieniowaniem  $\gamma$ , zastosowanie przeciwciał antyidiotypowych skierowanych przeciwko ksenospecyficznym immunoglobulinom (IgG, IgM) oraz leki hamujące działanie limfocytów B [38, 39].

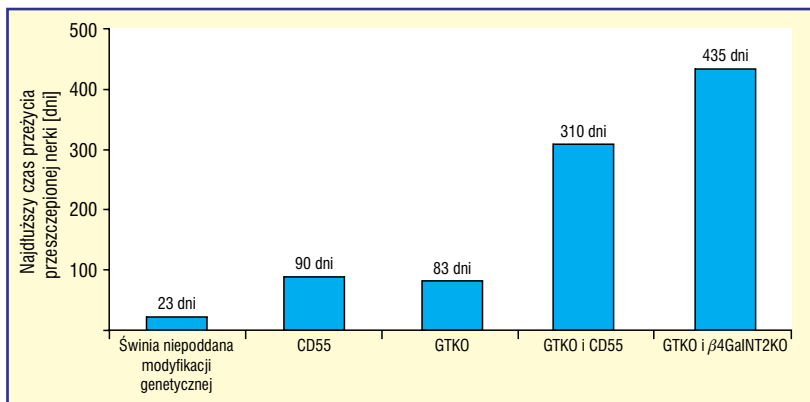
## **ZMNIEJSZANIE AKTYWNOŚCI UKŁADU DOPEŁNIACZA**

Układ dopełniacza uczestniczy w patogenezie nadostrego odrzucenia przeszczepu. Dlatego też opracowano metody zmniejszenia jego aktywności, których celem jest zmniejszenie ryzyka odrzucenia. Pierwsza z nich polega na wprowadzeniu do organizmu biorcy białek, które unieczynnją występujące we krwi składowe dopełniacza. Druga natomiast (omówiona w dalszej części artykułu) polega na manipulacji genetycznej genomem dawcy poprzez wprowadzenie genów kodujących inhibitory układu dopełniacza. Do egzogennych białek hamujących aktywność układu dopełniacza należą: jad kobry, rozpuszczalny receptor dopełniacza typu I (sCR1), inhibitor C1, mesylan nafamostat (FUT-175), K-76, przeciwciała przeciwko składowym C5 i C8 i duże dawki IgG [40–42]. Zmniejszenie aktywności układu dopełniacza nie chroni przed wystąpieniem ostrego odrzucenia naczyniowego.

## **MODYFIKACJE GENETYCZNE ŚWIŃ**

Wyniki doświadczeń na zwierzętach pozwoliły ustalić, które białka dawcy należy poddać modyfikacji genetycznej przy zastosowaniu metod inżynierii genetycznej, aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia nadostrego odrzucenia ksenoprzeszczepu (tab. 3).

Usunięcie genów kodujących białka enzymatyczne uczestniczące w tworzeniu takich antygenów, jak:  $\alpha$ Gal (galaktozo-1,3-galaktoza), Neu5Gc (kwas N-glikoloneuramidowy), Sd (produkt  $\beta$ -1,4-N-acetylogalaktozaminotransferazy —  $\beta$ 4GalNT2), prowadzi do zmniejszenia wiązania przeciwciał ludzkich z komórkami śródbłonna naczyniowego świni. W takiej sytuacji zmniejszone zostaje ryzyko nadostrego odrzucenia [2]. Dzięki przeprowadzeniu powyższych modyfikacji genetycznych ksenoprzeszczepianie nerek od świń pawianom (a docelowo człowiekowi) nie jest ograniczone ryzykiem wystąpienia nadostrego odrzucenia



**Rycina 3.** Najdłuższy czas przeżycia przeszczepionej nerki świni w organizmie pawiana w zależności od przeprowadzonej modyfikacji genetycznej świni; CD55 (błonowy czynnik przyspieszający rozkład, DAF) — zwiększenie ekspresji genu, inaktywacja genu  $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy (GTKO), inaktywacja genu  $\beta$ -1,4-N-acetylogalaktozoaminotransferazy ( $\beta$ 4GalNT2KO) [44]

►► Modyfikacje genetyczne świni zmniejszają ryzyko nadostrego odrzucenia ksenotransplantu nerki i wydłużają istotnie czas jego przeżycia ◀◀

zależnego od przeciwciał [2]. Jak zaprezentowano na rycinie 3, modyfikacje genetyczne poszczególnych enzymów i białek znacznie wydłużają czas przeżycia przeszczepionej nerki świni w organizmie pawiana [44]. Wśród zmodyfikowanych genów były: gen CD55 wprowadzony do genomu świni w 2006 roku, gen  $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy usunięty z genomu świni w 2007 roku (świnia GTKO) oraz gen  $\beta$ -1,4-N-acetylogalaktozoaminotransferazy, który został usunięty z genomu świni w 2017 roku (świnia  $\beta$ 4GalNT2KO). Wykazano, że powyższe modyfikacje genetyczne w znaczny sposób wydłużyły czas przeżycia nerki przeszczepionej. Jak przedstawiono na rycinie 3, modyfikacja w obrębie dwóch powyższych genów (tj. genu  $\alpha$ -1,3-galaktozylotransferazy oraz genu  $\beta$ -1,4-N-acetylogalaktozoaminotransferazy) spowodowała wydłużenie przeżycia nerki przeszczepionej do 412 dni [44].

W opracowywaniu metod zmniejszających ryzyko nadostrego odrzucenia ksenoprzeszczepu wykorzystano również fakt, że świnia ma podobne do ludzkich białka hamujące aktywność dopełniacza, lecz o zmniejszonej ekspresji. Efektem zmniejszenia aktywności dopełniacza jest redukcja ryzyka odrzucenia ksenoprzeszczepu. Do genomu świni wprowadzono geny kodujące białka mające istotne znaczenie w hamowaniu aktywności układu dopełniacza: CD46, CD55, CD59 [21]. Białko CD46 jest błonowym kofaktorem białkowym (MCP, *membrane cofactor protein*), który zapobiega wytwarzaniu konwertaz C3/C5. Białko CD55 to błonowy czynnik przyspieszający rozkład (DAF, *decay-accelerating factor*), pobudzający rozkład konwertaz C3/C5. Białka CD46 i CD55 poprzez nasilenie rozkładu konwertaz C3/C5 zmniejszają aktywność układu dopełniacza. Protektyna,

czyli CD59, poprzez wiązanie C8 i C9 hamuje polimeryzację czynnika C9, blokując działanie kompleksu atakującego błonę (MAC), który uczestniczy w końcowym efekcie działania układu dopełniacza, czyli lizy komórek. Skuteczność zwiększenia ekspresji czynnika CD46 potwierdzono w badaniu, w którym świńskie serce poddane manipulacji genetycznej przeszczepiono pawianowi w próbie badanej, natomiast w próbie kontrolnej przeszczepiono pawianowi serce niezmodyfikowane. Odrzucenie przeszczepu w pierwszym przypadku nastąpiło po 23 dniach, natomiast w drugim — po 90 minutach [45]. W kolejnych doświadczeniach wykazano, że zwiększenie ekspresji czynnika CD59 nie chroni całkowicie przed nadostrem odrzuceniem, natomiast w połączeniu ze zwiększeniem ekspresji czynnika CD55 chroni przed takim odrzuceniem [46, 47].

### LEKI IMMUNOSUPRESYJNE

Powstawanie swoistych przeciwciał anty- $\alpha$ Gal i innych uczestniczących w procesie odrzucenia jest uwarunkowane przez zjawisko kostymulacji. Limfocyt B, który rozpoznał epitop  $\alpha$ Gal, prezentuje go limfocytowi pomocniczemu (Th CD4<sup>+</sup>). Aktywowany limfocyt T pomocniczy pobudza jedynie limfocyt B, który rozpoznaje antygen zawierający epitop (np.  $\alpha$ Gal), rozpoznawany również przez receptor limfocytów T (TCR) „kostymulującego” limfocytu T pomocniczego. Oprócz bezpośredniej kostymulacji limfocyt B ulega także parakrynnemu pobudzeniu przez interleukiny 2, 4, 5 i 6. W procesie kostymulacji ze strony limfocytu B bierze udział cząsteczka CD40, natomiast ze strony limfocytu Th — cząsteczka CD154 (CD40L). Oddziaływanie CD40 z CD154 umożliwia zmianę klas przeciwciał wytwarzanych przez limfocyt B. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych anty-CD40 oraz anty-CD154 prowadzi do zahamowania kostymulacji (ryc. 4) i tym samym do różnicowania limfocytów B, w wyniku czego nie będą one wytwarzały swoistych przeciwciał, np. anty- $\alpha$ Gal. Wiąże się to ze zmniejszeniem ryzyka odrzucenia ksenoprzeszczepu. Wyniki badań na zwierzętach wykazały, że stosowanie przeciwciał anty-CD154 prowadzi do zwiększonego ryzyka powikłań zakrzepowych [21, 48]. Zwiększenia takiego ryzyka nie wykazano w przypadku przeciwciał anty-CD40.

Eksperti przewidują, że pozostałe zasady leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu nerki od świni zmodyfikowanej genetycznie (np. GTKO i  $\beta$ 4GalNT2KO) będą podobne jak w przypadku allotransplantacji [21].

## HAMOWANIE UKŁADU KRZEPNIĘCIA

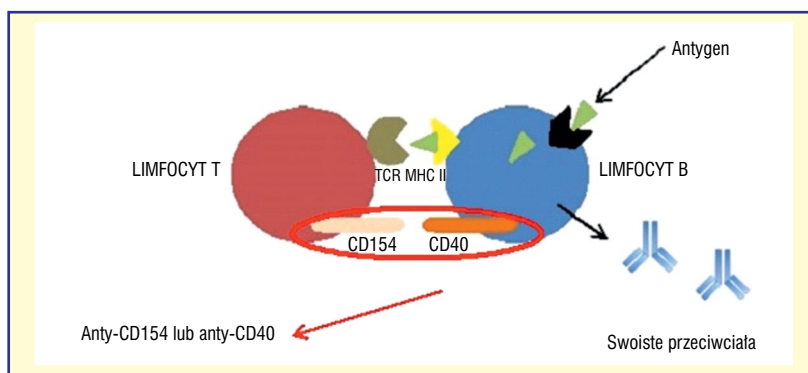
Jedną z przyczyn niepowodzenia ksenoprzeszczenia jest wykrzepianie krwi w przeszczepionym narządzie. Częściowo sytuacja ta jest spowodowana różnicami międzygatunkowymi w budowie białek układu krzepnięcia. Świńska trombomodulina oraz świński czynnik von Willebrandta różnią się od ich ludzkich odpowiedników. Dlatego też rozważa się wprowadzanie do genomu świń ludzkich genów kodujących te białka, co zmniejszałoby ryzyko utraty narządu z powodu wykrzepiania krwi podczas nadostrego odrzucenia narządu [49].

## HAMOWANIE POBUDZENIA KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO

W przebiegu odrzucenia ksenoprzeszczepu biorą udział liczne białka adhezyjne, które ulegają wzmożonej ekspresji na powierzchni śródbłonna naczyniowego, ułatwiając przyleganie neutrofilów i limfocytów i tym samym prowadząc do rozwoju reakcji zapalnej. Adhezję leukocytów można zablokować poprzez zastosowanie przeciwciał monoklonalnych przeciwko E-selektynie, A-selektynie oraz  $\beta 2$ -integrynie. Efektem zastosowania tych przeciwciał jest zmniejszenie ryzyka odrzucenia naczyniowego przeszczepu [50].

## ASPEKTY FIZJOLOGICZNE KSENOTRANSPLANTACJI NEREK POZYSKIWANYCH OD ŚWIŃ

Molekularne różnice w zakresie czynników krzepnięcia pomiędzy człowiekiem i świnia mogą powodować zwiększone ryzyko powikłań zakrzepowych. Można im zapobiegać, wprowadzając do genomu świni geny trombomoduliny człowieka i/lub receptora białka C człowieka. Trombomodulina (CD141) hamuje krzepnięcie krwi poprzez wiązanie się z trombiną i aktywację białka C. Białko C po związaniu z receptorem na powierzchni śródbłonna naczyniowego powoduje degradację aktywnego czynnika V (przy współdziałaniu heparyny) i aktywnego czynnika VIII (przy współdziałaniu białka S) [21]. Ksenotransplantacja pobudza rozwój stanu zapalnego, którego następstwem może być uszkodzenie nerki przeszczepionej. Można mu będzie zapobiegać, stosując tocilizumab (antagonistę receptora IL-6) lub etanercept (antagonistę receptora TNF $\alpha$ ) [21]. Erytropoetyna (EPO) świni może nie pobudzać erytropoezy u człowieka, ponieważ różni



Rycina 4. Miejsce działania przeciwciał monoklonalnych anty-CD154 i anty-CD40

się w 18% od ludzkiej EPO [21]. Dlatego też u chorych po ksenotransplantacji niezbędne może być stosowanie środków pobudzających erytropoezę [21].

## BEZPIECZEŃSTWO KSENOTRANSPLANTACJI NEREK POZYSKIWANYCH OD ŚWIŃ

Przeszczepiona nerka od świni jest potencjalnym zagrożeniem dla organizmu człowieka, ponieważ może zawierać patogeny, takie jak bakterie, grzyby, wirusy oraz pasożyty mogące być przyczyną zakażenia człowieka. Odpowiednie zabiegi hodowlane (hodowla w warunkach braku kontaktu z patogenami, szczepienia, porody przy pomocy cięcia cesarskiego, leki przeciwbakteryjne, przeciwwobacze i przeciwwirusowe) pozwalają na wyeliminowanie większości patogenów. Wśród patogenów które udało się wyeliminować poprzez wymienione powyżej zabiegi są bakterie: *Brucella suis*, *Leptospira subspecies*, *Listeria monocytogenes*, *Nontuberculous mycobacteria* (włączając *Mycobacterium bovis*), *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Salmonella subspecies*, *Shigella*, *Stool enteric pathogens* (*Yersinia*, *Campylobacter*); grzyby: *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*; wirusy: świński adenowirus, *Encephalomyocarditis*, wirus zapalenia wątroby typu E, świński wirus grypy, świński cytomegalowirus, świński *circovirus* (typu 1, 2), świński limfotropowy herpeswirus, świński wirus atakujący układ rozrodczy i oddechowy, świński parwowirus, wirus pseudowścieklizny i wścieklizny; oraz pasożyty: *Ascaris suum*, *Cryptosporidium/Mikrosporidium subspecies*, *Echinococcus subspecies*, *Giardia subspecies*, *Isospora species*, *Strongyloides*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Trypanosoma subspecies* [51].



▶▶Odpowiednie zabiegi hodowlane i modyfikacje genetyczne pozwalają na wyeliminowanie patogenów mogących być przyczyną zoonoz◀◀

Istotnymi patogenami, potencjalnie ograniczającymi bezpieczeństwo ksenotransplantacji, są występujące w organizmie świń endogenne retrowirusy świńskie (PERV, *porcine endogene retroviren*). Wirusy te są zintegrowane z genomem świni. PERV A i PERV B występują u wszystkich świń, natomiast PERV C — u niektórych. Znaczenie endogennych wirusów świńskich w patogenezie chorób świń jest niejasne (podejrzewa się ich udział w nowotworzeniu lub zmniejszeniu odporności). Wykazano, że *in vitro* PERV A i PERV B mogą zakażać komórki ludzkie i mogą być przenoszone pomiędzy komórkami organizmu człowieka. Niemniej jednak nie zaobserwowano przeniesienia endogennych wirusów świńskich podczas transplantacji nerki ze świni do małpy, jak również podczas transplantacji komórek wysp trzustki ze świni do człowieka [52, 53]. Ponieważ wirusy te są wbudowane w genom świni, nie można ich usunąć poprzez opisane powyżej zabiegi hodowlane. W ostatnich latach do usunięcia endogennych wirusów świńskich z genomu wykorzystano metodę CRISPR-Cas9, pozwalającą na precyzyjną edycję genów [54]. W metodzie CRISPR-Cas9 kluczową rolę odgrywa enzym Cas9, odkryty w komórkach *Escherichia coli*. Modyfikację genomu przy pomocy CRISPR-Cas9 przeprowadza się w kilku etapach. Najpierw odcinek DNA, który ma zostać poddany modyfikacji, należy oznaczyć za pomocą fragmentu RNA połączonego z Cas9. Przyłączony RNA umożliwia enzymowi Cas9 aktywację, w wyniku której dochodzi do precyzyjnego wycięcia konkretnego odcinka DNA, np. odcinka zawierającego geny endogennych wirusów świńskich. Przy wykorzystaniu metody CRISPR-Cas9 usunięto sekwencje endogennych wirusów świńskich z genomu komórek somatycznych, a następnie przy pomocy metody transportu jądrowego komórek somatycznych wytworzono embryony pozbawione endogennych wirusów świńskich i otrzymano dorosłe osobniki wolne od tych wirusów. Hodowla osobników pozbawionych endogennych

wirusów świńskich w połączeniu z izolacją od innych osobników zapewnia otrzymywanie potomstwa, które również nie będzie miało tych wirusów w swoim genomie [55]. W ten sposób rozwiązany został istotny problem dotyczący bezpieczeństwa ksenoprzeszczepów pochodzenia świńskiego.

### KRYTERIA KWALIFIKACJI CHORYCH DO BADANIA KLINICZNEGO NAD KSENOTRANSPLANTACJĄ NERKI

Biorąc pod uwagę stanowisko amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*), ksenotransplantację można rozważać u chorych z poważnym lub zagrażającym życiu schorzeniem, gdy odpowiednia i bezpieczna metoda leczenia nie jest dostępna. Eksperci sugerują, że kandydatami na uczestników badania klinicznego nad ksenotransplantacją nerki mogą być chorzy w programie hemodializ cechujący się trudnościami z dostępem naczyniowym, chorzy z szybkim nawrotem kłębuszkowego zapalenia nerek w nerce przeszczepionej, m.in. segmentalnym stwardnieniem kłębuszków nerkowych (FSGS, *focal segmental glomerulosclerosis*) oraz chorzy z wysoką immunizacją oczekujący długo na allotransplantację nerki [21].

### PODSUMOWANIE

W odniesieniu do przedstawionych w niniejszej pracy danych pochodzących z doświadczeń na zwierzętach można stwierdzić, że:

1. Źródłem organów do ksenotransplantacji u człowieka najprawdopodobniej będzie świnia.
2. Modyfikacje genetyczne świni zmniejszają ryzyko nadostrego odrzucenia ksenotransplantatu nerki i wydłużają istotnie czas jego przeżycia.
3. Odpowiednie zabiegi hodowlane i modyfikacje genetyczne pozwalają na wyeliminowanie patogenów mogących być przyczyną zoonoz.

## STRESZCZENIE

Ksenotransplantologia to dziedzina nauk medycznych zajmująca się badaniami nad możliwością przeszczepiania narządów pomiędzy organizmami należącymi do różnych gatunków. Stale rosnące zapotrzebowanie na narządy do transplantacji, m.in. nerki, sprawia że usilnie poszukuje się alternatywnych metod ich pozyskiwania. Obecnie narządy do przeszczepiania pochodzą od dawców ludzkich żywych lub zmarłych (allop przeszczepy). Od wielu lat próbuje się przeszczepiać narządy pobrane od innych gatunków. Do niedawna próby takie kończyły się niepowodzeniem z powodu nadostrego odrzu-

cenia ksenoprzeszczepu. W miarę rozwoju technik inżynierii genetycznej wytworzono tak zmodyfikowanych dawców ksenoprzeszczepów (głównie świnię), że ryzyko nadostrego odrzucenia ksenoprzeszczepu uległo zmniejszeniu, a czas przeżycia narządu pozyskanego od świni i przeszczepionego pawianowi uległ wydłużeniu. Niniejszy artykuł ma na celu podsumowanie aktualnego stanu wiedzy na temat ksenotransplantacji nerek pozyskiwanych od świń.

**Forum Nefrol 2019, tom 12, nr 2, 114–124**

**Słowa kluczowe: ksenotransplantologia, przeszczepianie nerek, nadostre odrzucenie przeszczepu**

1. <http://www.starzl.pitt.edu/>.
2. Wijkstrom M., Iwase H., Paris W. i wsp. Renal xenotransplantation: experimental progress and clinical prospects. *Kidney Int.* 2017; 91: 790S–796S.
3. Smith J.M., Schnitzler M.A., Gustafson S.K. i wsp. Cost implications of new national allocation policy for deceased donor kidneys in the United States. *Transplantation* 2016; 100: 879S–885S.
4. Smorąg Z., Słomski R., Jura J., Lipiński D., Skrzyszowska M. Transgeniczne świnię jako dawcy tkanek i narządów do transplantacji u ludzi. *Przeg. Hod.* 2011; 11: 1S–4S.
5. Deschamps J.Y., Roux F.A., Saï P., Gouin E. History of xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2005; 12: 91–109.
6. Łęski T. Serce prosto od świni. *Wiedza i Życie* 1999; 1: 52.
7. Princeteau L. Greffe rénale. *J. Med. Bordeaux* 1905; 26: 549–555.
8. Jaboulay M. Greffe de reins au pli du coude par soudures artérielles et veineuses. *Lyon Med.* 1906; 107: 575–577.
9. Unger E. Nierentransplantation. *Berlin Klin. Wochenschr.* 1910; 47: 573–578.
10. Neuhof H. The transplantation of tissues. *New York: Appleton* 1923.
11. Hitchcock C.R., Kiser J.C., Telander R.L., Seljeskog E.L. Baboon renal grafts. *JAMA* 1964; 189: 934–937.
12. Reemtsma K., McCracken B.H., Schlegel J.U., Pearl M. Heterotransplantation of the kidney: two clinical experiences. *Science* 1964; 143: 700–702.
13. Reemtsma K. Xenotransplantation — a brief history of clinical experience: 1900–1965. W: Cooper D.K.C., Kemp E., Reemtsma K. (red.). *The transplantation of organs and tissues between species.* Berlin: Springer Verlag 1991: 9.
14. Reemtsma K. Xenotransplantation: a historical perspective. *ILAR J.* 1995; 37: 9–12.
15. Reemtsma K., McCracken B.H., Schlegel J.U. i wsp. Renal heterotransplantation in man. *Ann. Surg.* 1964; 160: 384–410.
16. Starzl T.E., Marchino T.L., Peters G.N. i wsp. Renal heterotransplantation from baboon-to-man: experience with six cases. *Transplantation* 1964; 2: 752–776.
17. Hume D.M. Discussion of Reemtsma paper. *Ann. Surg.* 1964; 160: 384.
18. Traeger J., Fries D., Perrin J. Hétérotransplantation chez l'homme. Premier résultats. *Proceedings of the European Dialysis and Transplant Association* 1965: 214.
19. Cortesini R., Casciani C., Cucchiara G. Heterotransplantation in primates: current state of affairs. W: Balner H. (red.). *Infection and immunosuppression in subhuman primates.* Copenhagen: Munksgaard 1969: 239.
20. Godlewska-Wieczorek R., Durlik M. Metody leczenia nerkozastępczego a wyniki przeszczepiania nerek. *Forum Nefrol.* 2011; 4: 26–32.
21. Cooper D.K.C., Iwase H., Wang L. Bringing home the bacon: update on the state of kidney xenotransplantation. *Blood Purif.* 2018; 45: 254–259.
22. Suchanowska A., Czerwiński M. Dlaczego u człowieka i małp wąskonosych nie ma epitopu Gala1-3Gal, którego obecność u zwierząt jest związana z odrzucaniem ksenoprzeszczepów u ludzi? *Post. Hig. Med. Dosw.* 2009; 63: 250–257.
23. Galili U., Mandrell R.E., Hamadeh R.M., Shohet S.B., Griffiss J.M. Interaction between human natural anti-alpha-galactosyl immunoglobulin G and bacteria of the human flora. *Infect Immun.* 1988; 56: 1730–1737.
24. Good A.H., Cooper D.K., Malcolm A.J. Identification of carbohydrate structures that bind human antiporcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans. *Transplant. Proc.* 1992; 24: 559–562.
25. McMorro I.M., Comrack C.A., Sachs D.H., DerSimonian H. Heterogeneity of human anti-pig natural antibodies cross-reactive with the Gal(alpha1,3)Galactose epitope. *Transplantation* 1997; 64: 501–510.
26. Byrne G.W., Du Z., Stalboerger P., Kogelberg H., McGregor C.G. Cloning and expression of porcine  $\beta$ 1,4 N-acetylgalactosaminyl transferase encoding a new xenoreactive antigen. *Xenotransplantation* 2014; 21: 543–544.
27. Jasiński A., Słomski R., Szalata M., Lipiński D. Transplantacja narządów — wyzwanie dla biotechnologii. *Biotechnologia* 2006; 1: 7–28.
28. Sato K., Takigami K., Miyatake T. i wsp. Suppression of delayed xenograft rejection by specific depletion of elicited antibodies of the IgM isotype. *Transplantation* 1999; 68: 844–854.
29. Pearse M.J., Witort E., Mottram P. Anti-Gal antibody-mediated allograft rejection in alpha1,3-galactosyltransferase gene knockout mice: a model of delayed xenograft rejection. *Transplantation* 1998; 66, 748–754.
30. Buhler L., Friedman T., Iacomini J., Cooper D.K. Xenotransplantation state of the art — update 1999. *Front. Biosci.* 1999; 4: 416–432.

## Piśmiennictwo

31. Friedman T., Smith R.N., Colvin R.B., Iacomini J. A critical role for human CD4+ T-cells in rejection of porcine islet cell xenografts. *Diabetes* 1999; 48: 2340–2348.
32. Suga H., Ishida H., Kimikawa M. i wsp. Prolongation of cardiac xenograft function after reduction of natural antibodies using double filtration plasmapheresis. *ASAIO Trans.* 1991; 37: 433–434.
33. Taniguchi S., Kitamura S., Kawachi K. Effects of double-filtration plasmapheresis and a platelet-activating factor antagonist on the prolongation of xenograft survival. *Heart Lung. Transplant.* 1992; 11: 1200–1208.
34. Kroshus T.J., Dalmasso A.P., Leventhal J.R. i wsp. Antibody removal by column immunoabsorption prevents tissue injury in an ex vivo model of pig-to-human xenograft hyperacute rejection. *J. Surg. Res.* 1995; 59: 43–50.
35. Azimzadeh A., Meyer C., Watier H. i wsp. Removal of primate xenoreactive natural antibodies by extracorporeal perfusion of pig kidneys and livers. *Transpl. Immunol.* 1998; 6: 13–22.
36. Tanemura M., Ogawa H., Yin D.P. i wsp. Elimination of anti-Gal B cells by alpha-Gal ricin1. *Transplantation* 2002; 73: 1859–1868.
37. Katopodis A.G., Warner R.G., Duthaler R.O. i wsp. Removal of anti-Galalpha1,3Gal xenoantibodies with an injectable polymer. *J. Clin. Invest.* 2002; 110: 1869–1877.
38. Asano M., Gundry S.R., Izutani H. i wsp. Baboons undergoing orthotopic concordant cardiac xenotransplantation surviving more than 300 days: effect of immunosuppressive regimen. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2003; 125: 60–69.
39. Koren E., Milotic F., Neethling F.A. i wsp. Monoclonal anti-idiotypic antibodies neutralize cytotoxic effects of anti-alphaGal antibodies. *Transplantation* 1996; 62: 837–843.
40. Makrides S.C. Therapeutic inhibition of the complement system. *Pharmacol. Rev.* 1998; 50: 59–87.
41. Li Q., Nacion K., Bu H., Lin F. The complement inhibitor FUT-175 suppresses T cell autoreactivity in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Amer. J. Pathol.* 2009; 175: 661–667.
42. Larghi E.L., Operto M.A., Torres R., Kaufman T.S. New inhibitors of the complement system inspired in K76-COOH. A SAR study of filifolinol derivatives through modifications of the C3' position. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009; 19: 6172–6175.
43. Ekser B., Li P., Cooper D.K.C. Xenotransplantation: past, present, and future. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2017; 22: 513–521.
44. Wang L., Cooper D.K.C., Burdorf L., Wang Y., Iwase H. Overcoming coagulation dysregulation in pig solid organ transplantation in nonhuman primates: recent progress. *Transplantation* 2018; 102: 1050–1058.
45. Diamond L.E., Quinn C.M., Martin M.J. i wsp. A human CD46 transgenic pig model system for the study of discordant xenotransplantation. *Transplantation* 2001; 71: 132–142.
46. Diamond L.E., McCurry K.R., Martin M.J. i wsp. Characterization of transgenic pigs expressing functional active human CD59 on cardiac endothelium. *Transplantation* 1996; 61: 1241–1249.
47. Chen R.H., Naficy S., Logan J.S., Diamond L.E., Adams D.H. Hearts from transgenic pigs constructed with CD59/DAF genomic clones demonstrate improved survival in primates. *Xenotransplantation* 1999; 6: 194–200.
48. Samy K.P., Butler J.R., Li P., Cooper D.K.C., Ekser B. The role of costimulation blockade in solid organ and islet xenotransplantation. *J. Immunol. Res.* 2017; Article ID 8415205.
49. Siegel J.B., Grey S.T., Lesnikoski B.A. i wsp. Xenogeneic endothelial cells activate human prothrombin. *Transplantation* 1997; 64: 888–896.
50. Robinson L.A., Tu L., Steeber D.A. i wsp. The role of adhesion molecules in human leukocyte attachment to porcine vascular endothelium: implications for xenotransplantation. *J. Immunol.* 1998; 161: 6931–6938.
51. Fishman J.A. Infectious disease risks in xenotransplantation. *Am. J. Transplant.* 2018; 18: 1857–1864.
52. Denner J. Recent progress in xenotransplantation, with emphasis on virological safety. *Ann. Transplant.* 2016; 21: 717–727.
53. Łopata K., Wojdas E., Nowak R., Łopata P., Mazurek U. Porcine endogenous retrovirus (PERV) — molecular structure and replication strategy in the context of retroviral infection risk of human cells. *Front Microbiol.* 2018; 9: 730.
54. Niu D., Wei H.J., Lin L. i wsp. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 2017; 357: 1303–1307.
55. Danner J. Advances in organ transplant from pigs. *Science* 2017; 357: 1238–1239.