

7. PRZESZCZEPY KSENOGENICZNE

7.1. Problemy kliniczne

Wzrastające w klinice ludzkiej zapotrzebowanie na narządy do przeszczepienia, szczególnie nerki, i jednocześnie coraz częściej dyskutowane problemy moralne i prawne dotyczące dawców narządów, spowodowały szybki rozwój badań nad możliwościami przeszczepiania narządów między osobnikami różnych gatunków. W przypadku człowieka dotyczy to szczególnie przeszczepów narządowych od małp człekokształtnych, jak pawiany, szympanse i rezusy.

W warunkach klinicznych wykonywano przeszczepy nerek, wątroby i serca od małp. U ludzi ze śpiączką wątrobową w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby stosowano okresowe podłączanie do krążenia wątroby świni, cielęcia lub małpy. Przeszczepiono także skórę świni i psa na rany oparzeniowe, a także tętnice i zastawki sercowe wołu i świni ludziom z chorobami tętnic i serca.

W 1963 r. Hitchcock i wsp. (22) oraz Reemtsma i wsp. (50) wykonali u ludzi serię przeszczepów nerek od pawiana, rezusa oraz szympansa. Czas przeżycia tych przeszczepów, mimo stosowanych środków immunosupresyjnych, jak imuran, prednison, aktynomycyna oraz miejscowe napromienianie promieniami X, wyniósł zaledwie od 7 dni do 9 miesięcy, przy czym przeciętny czas przeżycia utrzymywał się poniżej 2 miesięcy.

Starzl i wsp. (57) przeszczepiali ludziom nerki pawiana, stosując środki immunosupresyjne także w postaci imuranu, prednisonu, aktynomycyny C oraz miejscowego naświetlania przeszczepu. Czasy przeżycia przeszczepu wahały się w granicach 19—60 dni. Inni autorzy wykonali pojedyncze przeszczepy nerek od szympansa z przeżyciem do 50 dni. We wszystkich przypadkach przeszczepy ulegały odrzuceniu mimo intensywnego leczenia immunosupresyjnego. Czynność przeszczepionych nerek ksenogenicznych nie była nigdy prawidłowa. Mocz był zawsze hipo- lub izoosmotyczny, a współczynnik oczyszczania kreatyniny endogennej dochodził jedynie do 60 ml/min. Zwracała uwagę wybitnie nasilona i długo utrzymująca się diureza, co tłumaczono między innymi niereagowaniem nerki małpiej na ludzki hormon antydiuretyczny. Fizjologiczna czynność nerek u małp człekokształtnych jest w zasadzie taka sama, jak u człowieka. Wykazano, iż stosunek wydzielanej kreatyniny do inuliny jest u małp prawie taki sam, jak u ludzi, podobnie wygląda oczyszczanie z PAH-u. Różnice mogą dotyczyć jedynie ilości i składu wydalanych aminokwasów. Tak więc jedynie problemy immunologiczne leżą u podłoża zahamowania czynności przeszczepu.

Zmiany mikroskopowe w przeszczepach ksenogenicznych serca były znacznie bardziej nasilone niż w przeszczepach allogenicznych, przy czym największe obserwowano w nerkach rezusów, mniejsze u pawianów, stosunkowo najmniejsze u szympansov. W przeszczepach odrzucanych nadostro dominowały zmiany w naczyniach. Było to nagromadzenie agregatów płytkowych w naczyniach włosowatych i uszkodzenie komórek śródbłonna. Większe naczynia

zamknięte były złoгами włókniaka i płytek krwi, a ich ściany wykazywały obraz martwicy włóknikowej. Nie obserwowano nacieków drobnokomórkowych w tkance przeszczepu, tak jak to się widzi w przeszczepach allogenicznych. W przypadkach ostrego odrzucania, trwającego 2 miesiące, nerki były obrzmiałe, z krwawymi wybroczynami pod torebką i drobnymi, rozszanymi zawałami. Tętnice płatowe były zamknięte złoгами włókniaka i płytek. W tętniczkach dominował obrzęk śródbłonnków oraz zwłóknienie i zgrubienie błony wewnętrznej. Nabłonek kanalików ulegał martwicy. W tkance przeszczepu dominowały nacieki drobnokomórkowe.

Przeszczepom ksenogenicznym nerek u ludzi towarzyszył odczyn humoralny biorcy (5, 23). W przypadku przeszczepu od pawiana z niezgodnymi grupami krwi AB0 miano przeciwciał anti-A lub anti-B zmniejszało się u biorcy gwałtownie, co tłumaczono absorpcją ich w przeszczepie. Niezależnie od izoprzeciwciał biorcy posiadali krążące hemaglutyniny przeciwko antygenom krwinek czerwonych pawiana, rezusa i szympansa. Natychmiast po przeszczepieniu miana tych przeciwciał w surowicy obniżały się, by wzrosnąć ponad wyjściowy poziom po kilku dniach (53). Obserwowano także w okresie odrzucania wzrost miana limfocytotoksyn przeciwko leukocytom dawców.

Z innych narządów przeszczepiono człowiekowi serce od szympansa (18) oraz w dwu przypadkach wątrobę szympansa dzieciom z atreją dróg żółciowych (12). U jednego z biorców wątrobę podłączono najpierw do krążenia dwie nerki dawcy w celu wyabsorbowania krążących u biorcy preformowanych przeciwciał ksenogenicznych. Nerki uległy nadostremu odrzuceniu, przy czym obniżeniu uległo miano hemaglutynin przeciw erytrocytom dawcy oraz miano leukoaglutynin i limfocytotoksyn. W godzinę po rewaskularyzacji wątroby zmniejszyła się aktywność dopełniacza w surowicy z 33 do 16 j/ml oraz do 0 w 16 godz. później. Znacznemu obniżeniu uległo stężenie C'1q, C'4, C'3 i C'5. Spadła znacznie liczba płytek i leukocytów we krwi obwodowej oraz stężenie fibrynogenu. Biorca przeżył jedną dobę. W drugim przypadku biorca przeżył 8 dni przy leczeniu ALS, imuranem i prednisonem i zmarł z powodu posocznicy. Sekcyjnie stwierdzono rozsianą, ogniskową martwicę wątroby.

Za metodę leczenia za pomocą przeszczepów ksenogenicznych należy uznać także podłączenie wątroby świni lub cielęcia (9, 41) do krążenia chorych ze śpiączką wątrobową w przebiegu ostrego wirusowego zapalenia wątroby. Celem tej metody jest podtrzymanie funkcji ustroju, normalnie regulowanej przez wątrobę, do chwili podjęcia czynności przez regenerującą tkankę wątrobową. Przeszczep czasowy ksenogeniczny w układzie człowiek—świnia lub człowiek—cielę nie funkcjonuje jednak dłużej niż 2—4 godz. Już w pierwszych minutach po rewaskularyzacji stwierdza się zatrzymanie w ksenogenicznej wątrobie znacznej liczby płytek krwi i leukocytów, aktywność dopełniacza we krwi wypływającej z wątroby, mierzona metodą 50% hemolizy, jest znacznie obniżona; podobnie obniżeniu ulegają miana hemaglutynin, hemolizyn i limfoaglutynin przeciw antygenom erytrocytów i leukocytów dawcy. Wewnątrz przeszczepu rozpoczyna się proces śródnaczyniowego, nieenzymatycznego krzepnięcia. Uszkodzeniu ulega ultrastruktura sinusoidów wątroby. Czynność wątroby ksenogenicznej ulega zahamowaniu, wzrasta opór naczyniowy i ustaje wydzielanie żółci (20, 21). W układzie człowiek—pawian udaje się utrzymać czynność wątroby do 15—16* godz.

Innym aktualnym zagadnieniem klinicznym jest zbadanie możliwości przeszczepiania człowiekowi narządów od małp. Ze względu na stosunkowo najbliższe pokrewieństwo antygenowe przeszczepianie narządów od małp człokokształtnych wydaje się w przyszłości najbardziej prawdopodobne. Locus AB0

(H) jest to u człowieka także *locus* zgodności tkankowej. Dlatego też ewentualnych dawców przeszczepów ksenogenicznych należy szukać wśród osobników o stosunkowo najmniejszych różnicach w układzie AB0. Wiener i wsp. (58) określali antygeny AB0, MN, Rh i Lewis u szympanów, orangutanów, gibbonów i goryli oraz pawianów. Stwierdzili, że 12% szympanów ma grupę 0, a 88% grupę A. Orangutany mają grupy AB, A i B. Pawiany natomiast grupę A i AB, lecz nie 0. Znalaziono także specyficzny dla szympana antygen na erytrocytach, którego nie było na leukocytach szympana ani na erytrocytach goryli, orangutana czy człowieka. Po przeszczepieniu nerki od szympana do człowieka obserwowano szybki wzrost miana przeciwciał przeciwko temu antygenowi i czyniono go odpowiedzialnym za odrzucenie przeszczepu.

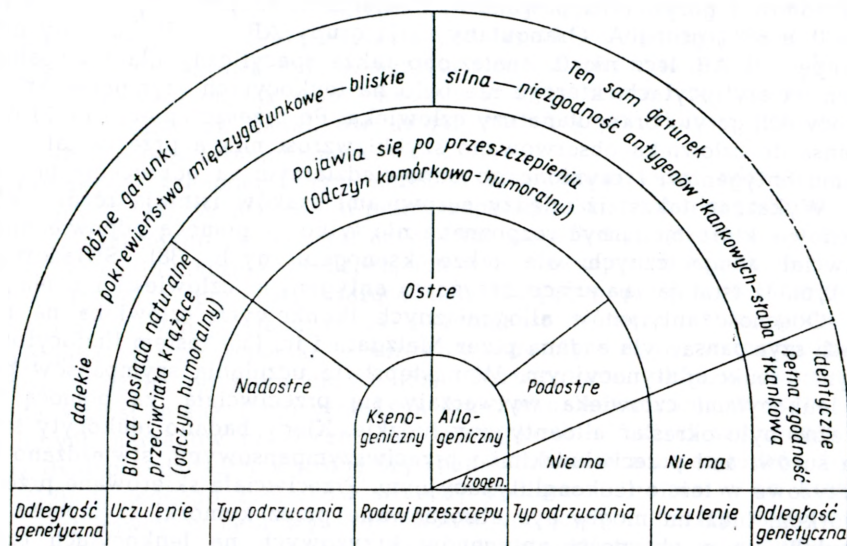
Wykazano także, iż między surowicami ssaków istnieją różnice alloantygenuowe, które mogą być rozpoznane nie tylko za pomocą odpowiednich przeciwciał allogenicznych, ale także ksenogenicznych (38). Świadczyłoby to o tym, iż istnieją reagujące krzyżowo antygeny u człowieka i u małp.

Obecność antygenów allogenicznych tkankowych człowieka na leukocytach szympana była badana przez Metzgara i in. (36) testem limfocytotoksycznym i leukoaglutynacyjnym. W następstwie uczulania szympanów płytkami i leukocytami człowieka wytwarzały się przeciwciała, za pomocą których można było określać alloantygeny ludzkie. Kiedy badano leukocyty szympana surowicami przeciwludzkimi i przeciwszympanowymi, stwierdzano reakcje krzyżowe w teście leukoaglutynacyjnym. Przeciwciała skierowane przeciw komórkom ludzkim mogły być absorbowane przez komórki szympana. Świadczyłoby to o obecności antygenów krzyżowych na leukocytach człowieka i szympana. Badając antygeny zgodności tkankowej wykazano, iż wiele z antygenów HL-A znajduje się u małp i to tym więcej, im bliżej człowieka znajdują się one ewolucyjnie. Najbardziej zbliżone pod tym względem do człowieka są szympanse, najbardziej oddalone rezusy.

7.2. Przeszczepianie między gatunkami bliskimi i odległymi

7.2.1. Przeszczepy narządowe między osobnikami różnych gatunków w ramach tego samego rzędu

Przy przeszczepianiu między różnymi gatunkami, ale w ramach tego samego rzędu, chodzi o wymianę narządów czy tkanek między osobnikami *Carnivora* lub *Rodentia*, *Ungulata*, *Primates* czy *Equines*. Dokładniej zaś o przeszczepianie między np.: 1) psem, kotem, lisem lub 2) królikiem, szczurem, myszą, świnką morską lub 3) owcą, świnią, kozą lub 4) człowiekiem, szympansem, pawianem lub 5) koniem, osłem, zebra. Przeszczepy w poszczególnych rzędach zachowują się pod względem immunobiologicznym, czynnościowym i morfologicznym, podobnie jak przeszczepy allogeniczne między osobnikami o dużej niezgodności antygenów transplantacyjnych. W niektórych kombinacjach dawcy i biorcy, jak np. królik—szczur lub szczur—mysz lub królik—mysz, przeszczepy skóry mogą przyjmować się bez immunosupresji, ulegać waskularyzacji, by być odrzucane dopiero po kilku dniach. W obrazach anatomicopatologicznych takich odrzucanych przeszczepów ksenogenicznych widoczne są w pierwszym rzędzie nacieki okrągłokomórkowe, przy czym zmiany te rozwijają się szybciej i są bardziej intensywne niż w przeszczepach allogenicznych. Przeszczepy ksenogeniczne narządowe w ramach tego samego rzędu



Ryc. 7.1. Rodzaj odrzucania przeszczepu w zależności od różnic genetycznych biorcy i dawcy. Przy znacznych różnicach między gatunkami lub rzędami biorca posiada krążące naturalne przeciwciała ksenogeniczne, które wydają się być odpowiedzialne za proces nadostrego odrzucenia w ciągu kilku minut po rewaskularyzacji. Jeśli różnice genetyczne są stosunkowo niewielkie, wówczas po przeszczepieniu rozwija się odpowiedź komórkowo-humoralna, odrzucanie ma charakter ostry, bardziej gwałtowny niż w przypadkach przeszczepu allogenicznego. W przypadku przeszczepu w ramach tego samego gatunku, a więc przeszczepu allogenicznego, rozwija się głównie odczyn komórkowy, a znacznie słabiej humoralny, co zależy również od stopnia zgodności antygenów transplantacyjnych dawcy i biorcy (wg Landa).

zachowują się podobnie, jak przeszczepy skóry. Przeszczepy nerek owcy kozie przeżywają przeciętnie 11,3 dni w porównaniu z 14,8 dni w przypadku przeszczepów allogenicznych. Przeszczepy serca lisa psu przeżywają do 13 dni, a nerki lisa psu 6—7 dni.

7.2.2. Przeszczepy narządowe między osobnikami dwu rzędów

Przeszczepy między osobnikami należącymi do dwu różnych rzędów z reguły ulegają nadostremu odrzuceniu, szczególnie jeśli dotyczy to narządów unaczynionych, jak wątroba, nerki czy serce. Podstawowe przykłady przeszczepów między rzędami to np. przeszczepy od owcy do psa, od psa do świni, czy od świni do człowieka. Przeszczepy skóry przeżywają w tych układach do kilku dni, jednak nigdy nie ulegają waskularyzacji. Przeszczepy narządowe ulegają odrzuceniu w ciągu kilku minut do kilkudziesięciu godzin. W obrazach anatomopatologicznych obserwuje się rozpoczynające się zmiany martwicze bez nacieków okrągłokomórkowych. Zachowanie się przeszczepów narządowych u osobników różnych rzędów badano na modelu przeszczepu nerki świni psu. W około 10 min. po rewaskularyzacji nerka taka przyjmuje zabarwienie ciemnoczerwone, przepływ krwi zmniejsza się, by ustać po 20 min. Nerka ulega obrzękowi i zmianom krwotocznym. Czasy przeżycia

przeszczepów między osobnikami różnych rzędów wahają się od kilku minut do kilkudziesięciu godzin, w pojedynczych układach do kilku dni. I tak przeszczep nerki świni psu przeżywa do 20 min. (12), wątroby świni psu również do 20 min. (12), nerki i wątroby królika psu 5—7 min. (42), wątroby świni reżusowi lub szympansowi 8—12 godzin (2), wątroby świni człowiekowi 2—6 godz. (41), nerki szczura kotu 74 min., nerki szczura owcy 47 min., nerki szczura świni 87 min. (26).

7.3. Odrzucanie przeszczepów ksenogenicznych

7.3.1. Charakter odpowiedzi na przeszczep ksenogeniczny

Zasadniczym pytaniem, na które poszukuje się odpowiedzi, jest to, czy reakcja ustroju biorcy na przeszczep ksenogeniczny jest z natury immunologiczna. Charakter bowiem procesów metabolicznych, zapotrzebowanie na substancje odżywcze, struktura chemiczna hormonów oraz substancji troficznych i odpowiednich receptorów komórek mogą być różne u biorcy i u dawcy — tym przede wszystkim determinowane jest przeżycie przeszczepu. Także flora bakteryjna saprofitująca w narządzie i niepatogenna dla dawcy może być patogenna dla biorcy. Istnieje jednak szereg dowodów na to, że odpowiedź biorcy na przeszczep ksenogeniczny jest przede wszystkim natury immunologicznej.

Jeśli podawać biorcy przez dłuższy czas surowicę antylimfocytarną, wówczas może on przyjąć przeszczep od osobnika odległego nawet gatunku. Wykazano, iż przy przewlekłym podawaniu ALS myszom przyjmują one przeszczepy skóry od szczurów, świnek morskich, królika czy człowieka. Przeszczepy takie przeżywają nawet miesiące i zachowują swoją strukturę morfologiczną. Także leki i metody postępowania mające na celu utrudnienie rozpoznania przez biorcę obcych antygenów oraz hamujące mechanizm efektorowy przedłużają przeżycie przeszczepów ksenogenicznych. Innym dowodem immunologicznego charakteru odrzucania przeszczepów międzygatunkowych jest zdolność przeniesienia uczulenia za pomocą surowicy przeciwko antygenom dawcy lub za pomocą uczulonych komórek. Wykazano np., iż można znacznie przyspieszyć odrzucenie przeszczepu nerki od owcy do kozy, podając kozie-biorcy surowicę od innych kóz uczulanych na antygeny owcy. Taka surowica nie miała oczywiście specyficzności narządowej, niemniej jednak technikami autoradiograficznymi wykazano zatrzymywanie immunoglobulin w narządzie ksenogenicznym (48). Przy przeszczepach skóry szczura myszy leczonej ALS uzyskiwano ich odrzucenie po podaniu surowicy króliczej przeciwszczurzej. Udało się także przenieść uczulenie na przeszczep skóry chomika szczurowi za pomocą komórek węzłów chłonnych innego szczura drenującego okolicę przeszczepu.

7.3.2. Rola naturalnych przeciwciał ksenogenicznych

Mechanizm nadostrego odrzucania przeszczepów ksenogenicznych jest jeszcze daleki od wyjaśnienia. Wyraźne różnice w szybkości i charakterze procesu odrzucania obserwuje się w przypadkach przeszczepu między osobnikami bardzo odległymi genetycznie w porównaniu z osobnikami zbliżonymi genetycznie. W przypadku znacznych różnic genetycznych narząd ze znaczną ilością mocnych substancji antygenowych przeszczepiony zostaje biorcy naturalnie

uczulonemu, posiadającemu krążące przeciwciała ksenogeniczne. Dominuje tu odczyn humoralny. Dowodem na to jest szybkość reakcji, typowe zmiany histopatologiczne w naczyniach, bez nacieków komórkowych w tkance, oraz uwidocznienie złożeń immunoglobulin związanych ze strukturami przeszczepu.

W przypadku gatunków spokrewnionych z chwilą przeszczepienia dominuje reakcja komórkowa niehumoralna, preformowanych przeciwciał jest mało lub są one słabe, nie dochodzi więc do tak szybko rozwijającego się procesu, jak w przypadku przeszczepu między odległymi gatunkami. Pozostaje wciąż sprawą otwartą, czy krążące preformowane przeciwciała są genetycznie uwarunkowanymi, reagującymi krzyżowo przeciwciałami gatunkowospecyficznymi, czy też mogą być następstwem uczulenia ustroju w rozwoju osobniczym na antygeny bakteryjne z otaczającego go świata lub na antygeny substancji pokarmowych. Wiadomo, iż struktury antygenowe, które odgrywają rolę w odpowiedzi biorcy na przeszczep, są szeroko rozpowszechnione w naturze. Szczególnie antygeny paciorkowców A mogą wpływać na odczyn ustroju biorcy na przeszczep allogeniczny i ksenogeniczny, ponieważ mogą reagować krzyżowo z antygenami transplantacyjnymi. Tak więc biorca przeszczepu może być uczulony bakteriami na determinanty antygenowe i odrzucać nadostro przeszczep (49).

Czy antygeny bakteryjne mogą krzyżowo uczulać przyszłego biorcę na antygeny przeszczepu ksenogenicznego, badano na jałowo hodowanych zwierzętach. Wiadomo, iż te ostatnie mają mniej tkanki chłonnej węzłów, śledziony i innych narządów. Poza tym wytwarzanie przeciwciał humoralnych przeciw bakteriom, obcogatunkowym białkom i erytrocytom jest u tych zwierząt opóźnione. Wykazano, iż jałowo hodowane myszy odrzucają przeszczepy skóry szczura w tym samym czasie, co myszy hodowane w normalnych warunkach, mimo iż stykały się one z antygenami bakteryjnymi oraz mają mniej tkanki chłonnej (56). Myszy te odrzucają poza tym przeszczepy ksenogeniczne szybciej niż allogeniczne.

Immunizacja zwierząt drogą pokarmową pozostaje kwestią nie rozwiązaną. Nie ma dotychczas opracowanej diety całkowicie nieantygenowej. Podawanie zwierzętom hodowanym jałowo nawet najmniej antygenowych diet powoduje zawsze odpowiedź w postaci stopniowego wzrostu poziomu IgG i zwiększenia liczby leukocytów (59).

Spośród preformowanych krążących przeciwciał ksenogenicznych należy wymienić hemaglutyniny i hemolizyny, leukoaglutyniny oraz limfocytotoksyny (5, 14, 21, 40, 47). Miana tych przeciwciał są różne w zależności od odległości genetycznej między gatunkami. Dane ilościowe dotyczące ksenohemaglutynin u różnych gatunków przedstawiono w tab. 7.1. Dotychczas nie udowodniono, aby szybkość odrzucania przeszczepu ksenogenicznego była zależna od wysokości miana naturalnych ksenohemaglutynin w surowicy biorcy. Jednakże w przypadkach, w których miana były zdecydowanie niskie, czas przeżycia przeszczepu wydłużał się. I tak przeszczep nerki kota psu przeżywał 15—24 godz., a lisa psu nawet 6—7 dni, gdy dla porównania przeszczep nerki świni przeżywał u psa zaledwie kilkanaście minut.

Rolę naturalnych przeciwciał ksenogenicznych w odrzucaniu przeszczepów ksenogenicznych badano także w warunkach *in vitro*, hodując leukocyty świni z dodatkiem surowicy psa lub człowieka (46). Silne, zależne od dopełniacza przeciwciała cytotoksyczne surowicy psa powodowały lizę leukocytów świni, jej erytrocytów oraz płytek w ciągu kilku minut. Jeśli hodowla prowadzona

była w surowicy zdekompetyowanej, wówczas leukocyty świni mnożyły się, jednak w znacznie mniejszej liczbie.

Na potwierdzenie roli przeciwciał ksenogenicznych w odrzucaniu przeszczepu międzygatunkowego należy przytoczyć doświadczenia, w których fragmenty skóry inkubowane w surowicy innego gatunku i zwracane dawcy ulegały gwałtownemu odrzuceniu. Wyabsorbowane przez tkankę przeciwciała ksenogeniczne wyzwały mechanizm efektorowy, który niszczył własną tkankę (1).

Tabela 7.1.

Miana naturalnych ksenohemaglutynin w surowicy człowieka, psa, konia, szczura, świni i owcy przeciw antygenom erytrocytów tych gatunków (wg 14). Wartości liczbowe przedstawione jako ujemny \log_2 z miana

Surowica	Erytrocyty							
	świni	owcy	konia	królika	szczura	kota	lisa	psa
Psa	8,2	3,4	6,2	6,4	7,0	3,2	0	0
Człowieka	9,2	4,6	6,8	9,6	8,8	6,8	6,8	7,4
Konia	3,0	0	0	3,7	7,5	1,7	4,6	3,7
Szczura	0,2	0	0	0	0	0	0	0
Świni	0	4,0	7,8	8,0	9,2	5,6	4,2	4,8
Owcy	5,0	0	7,4	7,2	5,8	4,2	4,6	4,6
Królika	3,8	2,0	3,2	0	6,6	4,4		4,2
Kota	6,4	1,6	4,2	5,8	6,2	0	3,2	2,4

Badano zachowanie się mieszanych hodowli limfocytów człowieka, szympansa, pawiana, kozy, owcy, świni i psa oraz wpływ przeciwciał blokujących na MLR (55). Odpowiedź limfocytów człowieka w hodowli z komórkami ksenogenicznymi była taka sama, jak z komórkami allogenicznymi. Czas największego pobudzenia był jednakowy przy pobudzaniu limfocytami kseno- i allogenicznymi, również jednakowe liczby tych komórek powodowały podobną ilościowo reakcję. Stwierdzono jednak znaczne różnice w zachowaniu się limfocytów od różnych ludzi, hodowanych z limfocytami ksenogenicznymi. Okazało się, iż dodawane do hodowli surowice od dawców limfocytów stymulujących hamowały ksenogeniczną mieszaną hodowlę limfocytów. Absorbowanie surowicy erytrocytami dawcy limfocytów-respondentów zapobiegało procesowi hamowania.

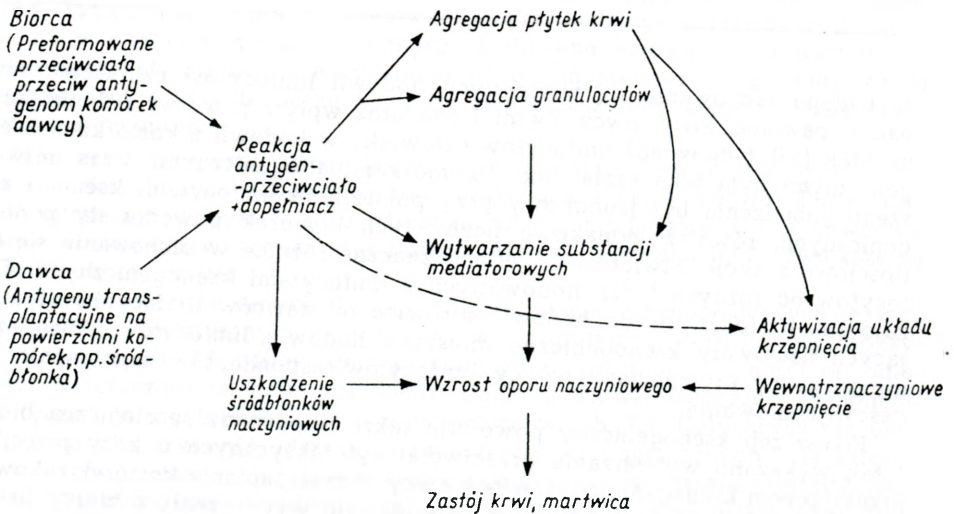
Przeszczep ksenogeniczny powoduje także odpowiedź serologiczną biorcy. I tak wykazano wytwarzanie przeciwciał cytotoksycznych u kozy przeciwko przeszczepom ksenogenicznym nerek owcy. Przeszczepianie komórek rakowych myszy człowiekowi z nowotworem powodowało wytworzenie u biorcy heterofilnych przeciwciał przeciw erytrocytom barana. U ludzi, którzy otrzymali przeszczepy nerek od szympansa, dochodziło do szybkiego wytwarzania przeciwciał ksenogenicznych. Po 8—10 dniach pojawiały się cytotoksyny, a także przeciwciała anty-ABO, jeśli istniała niezgodność w tym zakresie między dawcą i biorcą. Po przeszczepieniu psom nerek lisa obserwowano już od 4 dnia wyraźny wzrost miana hemaglutynin przeciw krwinkom czerwonym lisa (4). Wynika z tego, iż przeszczepy ksenogeniczne powodują wytwarzanie

u biorcy całego spektrum przeciwciał, nawet w przypadku bliskiego pokrewieństwa genetycznego.

Dla badania roli preformowanych przeciwciał w odrzucaniu przeszczepów najlepszy jest model przeszczepu nerki od świni do psa, gdzie przeciwciała jest jedynym mediatorem w procesie odrzucania. Do badania odpowiedzi humoralnej i komórkowej w przeszczepie ksenogenicznym najbardziej nadaje się model przeszczepu od świni do owcy. W modelu tym można wyeliminować odczyn komórkowy, podając biorcy przed przeszczepieniem ALS. Nadaje się on wówczas do studiowania ostrego odrzucania typu humoralnego w układzie międzygatunkowym. Do obserwowania odczynu komórkowego w przeszczepie ksenogenicznym najdogodniejszy okazał się model przeszczepu od owcy do kozy.

7.3.3. Obraz procesu odrzucania

Ogromna większość ksenogenicznych przeszczepów narządowych ulega nadostremu odrzuceniu (ryc. 7.2). Dla obserwacji tego procesu najbardziej nadaje się model przeszczepu od świni do psa. W tym układzie przeszczep ulega odrzuceniu w ciągu kilku do kilkunastu minut. Kryterium odrzucenia stanowi całkowite ustanie przepływu krwi przez narząd, co najlepiej jest badać, nacinając fragment narządu i obserwując sączenie krwi z przeciętej powierzchni. W badaniu mikroskopowym odrzucanego przeszczepu ksenogenicznego jest



Ryc. 7.2. Schemat obrazujący poszczególne elementy mechanizmu odrzucania ksenogenicznych przeszczepów narządowych.

widoczne uszkodzenie komórek śródbłonek, nagromadzenie agregatów płytkowych, leukocytów oraz niekiedy złożeń fibrynogenu w świetle naczyń włosowatych. Nie stwierdza się natomiast nacieków komórkowych w tkance.

Badając miano naturalnych przeciwciał ksenogenicznych we krwi dopływającej do przeszczepu i odpływającej z niego, stwierdza się wyraźne obniżenie miana preformowanych ksenohemaglutynin, hemolizyn, leukoaglutynin

i leukocytotoksyn przeciwko antygenom erytrocytów i leukocytów dawcy. Podobnie obniża się we krwi opuszczającej przeszczep aktywność dopełniacza (12, 44, 51). Nie stwierdza się natomiast w przeszczepie zatrzymywania przeciwciał przeciwnarządowych, np. w przeszczepie nerki przeciwciał przeciwnerkowych itp.

Badanie układu krzepnięcia krwi przepływającej przez przeszczep ksenogeniczny wykazuje nieznaczne obniżenie stężenia czynnika V i VIII, fibrynogenu oraz przedłużenie czasu trombinowego (12, 30, 51). We krwi żyłnej przeszczepu pojawiają się produkty rozpadu fibrynogeny. Czas lizy skrzepu krwi żyłnej w euglobulinach może się skracać, aczkolwiek w przypadku przeszczepu ksenogenicznego wątroby obserwowano początkowo zahamowanie fibrynolizy (12, 30). Badając czas krzepnięcia pełnej krwi w silikonowanych probówkach, stwierdzono, iż był on zawsze znacznie wydłużony, co świadczy przeciw aktywacji układu krzepnięcia przez kontakt (10).

7.3.4. Badania mechanizmu odrzucania przeszczepów ksenogenicznych

W celu zrozumienia mechanizmu nadostrego odrzucania przeszczepu ksenogenicznego należałoby odpowiedzieć na następujące pytania: jaką drogą reakcja immunologiczna, rozwijająca się wewnątrz układu naczyniowego, prowadzi do uszkodzenia naczyń włosowatych, czy zmiany struktury ścian tych naczyń zależą tylko od reakcji immunologicznej, czy rozwijające się gwałtownie w przeszczepie niedokrwienie jest przyczyną zmian struktur naczyń, czy zmiany w mikrokrążeniu są następstwem niespecyficznego odpowiedzi w postaci agregacji płytek, leukocytów, wydzielania substancji naczynioaktywnych i zapalnych oraz aktywacji układu krzepnięcia. Aby znaleźć odpowiedź na te pytania, należałoby rozdzielić efektorowe mechanizmy humoralne od komórkowych, a także zmiany strukturalne od czynnościowych. Dla tego celu najbardziej nadaje się model izolowanego narządu ksenogenicznego, perfundowanego *in vitro* krwią osobników innego gatunku, przy czym z perfuzatu można kolejno eliminować elementy komórkowe i humoralne (15, 27, 28, 39). Ksenoperfuzja *in vitro* wykazała, iż preformowane przeciwciała ksenogeniczne oraz dopełniacz odgrywają podstawową rolę w procesie odrzucania. Perfuzja nerki świni zawieszonymi w roztworze albuminy komórkami krwi psa, jak erytrocyty, leukocyty, płytki, nie powodowała odrzucenia. Natomiast odrzucenie pojawiało się przy perfuzji osoczem. Podobny przebieg miała perfuzja zawieszoną komórek w gamma- oraz alfa- i beta-globulinie psa. Dekomplementacja osocza podgrzewaniem lub za pomocą EDTA zapobiegała całkowicie odrzuceniu narządu. Absorpcja przeciwciał ksenogenicznych oraz częściowo dopełniacza — za pomocą perfundowania przez nerkę, a szczególnie wątrobę dawcy, czy też erytrocytami lub antygenem narządowym dawcy — przedłużała czas przepływu przez izolowany narząd ksenogeniczny.

W badaniach *in vivo* wykazano, iż w leukopenii biorcy, wywołanej przewlekłym podawaniem nitrogranulogenu, przeżycie przeszczepu ksenogenicznego jest przedłużone. Obniżenie poziomu dopełniacza za pomocą jadu kobry również przedłuża czas przeżycia przeszczepu (33, 34). Rola agregatów płytkowych w zamknięciu włosowatych naczyń krwionośnych nie jest jasna. Zatrzymanie płytek krwi w długotrwale niedokrwionym przeszczepie allogenicznym może być również duże, jak w ksenogenicznym, jednakże nigdy nie dochodzi do ustania przepływu krwi. Podawanie biorcom preparatów przeciw agregacji płytek nie przedłuża przeżycia przeszczepu.

Zagadnienie, czy wewnątrznaczyniowe krzepnięcie jest odpowiedzialne za ustanie przepływu krwi przez odrzucony przeszczep ksenogeniczny, badano podając biorcom leki przeciw krzepnięciu oraz środki defibrylujące. Wykazano, iż heparyna, błękit toluidyny, arwin oraz jad żmii malajskiej nie przedłużają przeżycia przeszczepu i pomimo podawania dużych dawek tych leków przepływ krwi ustaje w sposób nieodwracalny (19, 30, 31, 37). Dla porównania należy wspomnieć, iż w przypadkach przeszczepów allogenicznych podawano do krwi dopływającej trombinę, wywołując wewnątrznaczyniowe krzepnięcie w narządzie; przepływ zmniejszył się, a po zaprzestaniu podawania trombiny stopniowo, po kilkudziesięciu minutach powracał, do prawie normalnych wartości (30).

7.4. Metody osłabiania reakcji odrzucania przeszczepu ksenogenicznego

7.4.1. Stosowanie leków immunosupresyjnych

Niektóre leki immunosupresyjne przedłużają przeżycie przeszczepów ksenogenicznych skóry, zwłaszcza w przypadku bliskości gatunkowej dawcy i biorcy. Nie są one jednak skuteczne przy przeszczepianiu narządów ksenogenicznych. I tak, uzyskano przedłużenie przeżycia przeszczepów ksenogenicznych skóry szczura myszy po subletalnym napromienianiu biorcy promieniami X, podawaniem wysokich dawek kortyzonu, natulanu, czyli chlorowodoru prokarbazyny (3), L-asparaginazy (10), surowicy antylimfocytarnej (25).

Subletalne napromienianie biorcy nerek w układzie królik—pies nie przyniosło przedłużenia przeżycia przeszczepu. Podobnie nie stwierdzono przedłużenia czasu przeżycia ksenogenicznego przeszczepu narządowego pod wpływem sterydów, imuranu, 6-merkaptopuryny lub samej surowicy antylimfocytarnej. W przypadku bliskości gatunkowej biorcy i dawcy uzyskano po stosowaniu ALS niewielkie przedłużenie czynności przeszczepu ksenogenicznego nerki od pawiana do makaka (8), serca od kozy do cielęcia (7) i nerki od świni do kozy (13).

W celu zapobieżenia agregacji płytek krwi w nadostrym odrzucaniu, odkładaniu włókniaka, reakcji naczynioskurczowej i działaniu mediatorów anafilaksji stosowano szereg preparatów chemicznych, jak środki antyserotoninowe, rezerpinę, peryaktin, dalej trasyłol i inhibitor trypsyny z soi, środki antyhistaminowe (benadryl), środki fibrynolityczne (streptokinaza) oraz chloropromazynę i dibenzylinę. Nie uzyskano jednak nigdy przedłużenia przeżycia przeszczepu.

7.4.2. Deplecja przeciwciał i dopełniacza

Obniżenie poziomu dopełniacza w surowicy za pomocą jadu kobry przedłużało przeżycie nerek królika lub świni przeszczepionych psu (11, 37). Podobnie działało się po częściowej dekomplementacji lub zahamowaniu aktywności dopełniacza podawaniem biorcy podchlorynu sodu (54) lub bezpośrednio do tętnicy przeszczepu cytrynianu sodu (24).

Obniżenie miana preformowanych przeciwciał ksenogenicznych dokonywano, podając biorcy przed przeszczepieniem dożylnie homogenat nerki dawcy (11), cienie krwinek czerwonych dawcy (29) oraz pełną krew dawcy (43).

Tą drogą obniżano na kilkanaście godzin przede wszystkim miano ksenohemaglutynin, ale jednocześnie także na 2—3 godz. stężenie dopełniacza. Przeszczepy ksenogeniczne nerek lub wątroby świni albo królika psu z obniżonymi mianami przeciwciał przeżywały kilkanaście razy dłużej. Obniżenie miana preformowanych przeciwciał oraz dopełniacza dokonywano także za pomocą absorpcji w licznych wstępnych przeszczepach ksenogenicznych (np. nerek), po których następował właściwy przeszczep. Podobnej absorpcji przeciwciał dokonywano za pomocą wątroby dawcy (12, 37). Wykonany po absorpcji przeszczep przeżywał z reguły kilkakrotnie dłużej.

Inny sposób usuwania przeciwciał i dopełniacza polegał na wykonywaniu selektywnej plazmaferezy metodą elektroforetyczną (35, 54). W ciągu 2—5 godz. usuwano 0—85% preformowanych przeciwciał. Niedoskonałość metody polega na tym, iż biorca może uzupełnić ilość krążącej globuliny z zapasów ustrojowych i w ciągu 5 godz. można usunąć nawet 400% krążącej gamma-globuliny. Niemniej jednak przy użyciu tej metody udawało się przedłużyć przeżycie przeszczepów ksenogenicznych.

Próby wywoływania zjawiska enhancement u biorców ksenogenicznych przeszczepów narządowych za pomocą podawania biorcy w sposób przewlekły antygenów wątroby dawcy powodowało niekiedy niewielkie przedłużenie przeżycia przeszczepu (16, 17, 45).

Piśmiennictwo

1. Brautbar C., Nelken D., Boss J. H.: *Transplantation*, 1969, 8, 121. — 2. Calne R. Y., Davis D. R., Penna J. R.: *Lancet*, 1970, 1, 103, — 3. Cerilli G. J., Gideon L.: *Surg. Forum*, 1969, 20, 284. — 4. Chaussy C., Hammer C., Scheel J., Eisenberger F., Land W.: *Res. Exp. Med.*, 1972, 157, 257. — 5. Dewitt C. W., Huser H. J., Moor-Jankowski J., Shulman N. R., Weiner A. S.: *Bibl. Hematol.*, 1965, 23, 213. — 6. DeWitt C. W.: *Transpl. Proc.*, 1970, 2, 468. — 7. Donawick W. J., Shaifer C. F., Dodd D. C., Buchanan J. W., Fregin G. F.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 551. — 8. Dubernard J. M., Bonneau M., Bomel J., Blitz M., Latour M.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 545. — 9. Eiseman B., Liem D. S., Rafucci F.: *Ann. Surg.*, 1965, 162, 329. — 10. Etheredge E. E., Shons A., Harris N., Najarian J. S.: *Transplantation*, 1971, 11, 353.

11. Gewurz H., Clark D. S., Finstad J., Kelly W. D.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1966, 129, 673. — 12. Giles G. H., Boehmig H. J., Amemiya H., Halgrimson C. G., Starzl T. E.: *Transpl. Proc.*, 1970, 2, 506. — 13. Gunnarsson A., Moberg A. W., Gewurz H., Perper R. J., Najarian J. S.: *Surg. Forum*, 1969, 20, 263. — 14. Hammer C.: kontakt osobisty — 15. Hammer C., Chaussy C., Krebs G., v. Scheel J., Brendel W.: *Res. Exp. Med.*, 1973, 160, 32. — 16. Hammer C., Land W., Brendel W.: *Res. Exp. Med.*, 1973, 159, 239. — 17. Hammer C., Land W., Pilstricker K., Brendel W.: *Res. Exp. Med.*, 1972, 159, 124. — 18. Hardy J. D., Chavez C. M., Kurrus F. D., Neely W. A., Eraslan S.: *J. A. M. A.*, 1964, 188, 1132. — 19. Hawkins E., Mammen E., Rosenberg J. C.: *J. Surg. Res.*, 1971, 11, 492. — 20. Hickman R., Parker J. R., Saunders S. J., Terblanche J.: *Transplantation*, 1972, 13, 195.

21. Hickman R., Saunders S. J., Goodwin N. E., Terblanche J.: *J. Surg. Res.*, 1971, 11, 519. — 22. Hitchcock C. R., Kiser J. C., Tealnder R. L., Seljoskog E. L.: *J.A.M.A.*, 1964, 189, 934. — 23. Kirkpatrick C. H., Wilson W. E. C.: W książce: *Experience in renal transplantation*. Th. E. Starzl (ed.). Saunders, Philadelphia 1964, 284. — 24. Kux M., Boehmig H. J., Amemiya H., Torisu M., Starzl T. E.: *Surgery*, 1971, 70, 103. — 25. Lance E. M., Medawar P. B.: *Lancet*, 1968, 1, 1174. — 26. Lang W., Correll J., Pielsticker K., Brendel W.: *Res. Exp. Med.*, 1973, 159, 276. — 27. Land W., Schilling A., Aldenhoff R., Lamerz R., Pielsticker K., Mandler N., Brendel W.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 888. — 28. Linn B. S., Jensen J. A., Pardo V., Davies D., Franklin L.: *Transpl. Proc.*

1971, 3, 527. — 29. Linn B. S., Jensen J. A., Portal P., Snyder G. B.: *J. Surg. Res.*, 1968, 8, 211. — 30. Łukasiewicz H., Z. Olszewski W.: *Act. Med. Pol.*, 1973, 14, 123.

31. MacDonald A. S., Bell W. R., Busch G. J., Ghose T., Chan C. C., Falvey C. F., Merrill J. P.: *Transplantation*, 1972, 13, 146. — 32. McKenzie I. F. C., Stocker J., Ting A., Morris P. J.: *Lancet*, 1968, 2, 386. — 33. Mejia-Laguna J. E., Martinez-Palomo A., Biro C. E., Chavez B.: *Amer. J. Path.*, 1972, 69, 71. — 34. Mejia-Laguna J. E., Martinez-Palomo A., Lopez-Soriano F.: *Immunology*, 1971, 21, 879. — 35. Merkel F. K., Bier M., Beavers C. D., Merriman W. G., Wilson C., Starzl T. E.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 534. — 36. Metzgar R. S., Seigler H. F.: *Transpl. Proc.*, 1970, 2, 463. — 37. Moberg A. W., Shons A. R., Gewurz H., Mozes M., Najarian J. S.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 534. — 38. Moor-Jankowski J., Brown K. S.: *Exp. Med. Surg.*, 1963, 21, 147. — 39. Mozes M. F., Gewurz H., Gunnarsson A., Moberg A. W., Westberg N. G., Jetzer T., Najarian J. S.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 531. — 40. Nayak R., Sirsi M.: *Ind. J. Exp. Biol.*, 1972, 10, 362.

41. Nielubowicz J., Kassur B., Orłowski T., Olszewski W., Rowiński W., Polański J., Łukasiewicz H.: *Acta. Med. Pol.*, 1973, 14, 71. — 42. Olszewski W.: *Act. Med. Pol.*, 1973, 14, 107. — 43. Olszewski W., Łukasiewicz H., Nielubowicz J.: *Acta Med. Pol.*, 1973, 14, 83. — 44. Olszewski W., Łukasiewicz H.: *Acta Med. Pol.*, 1973, 14, 113. — 45. Owen E. R.: *Transpl. Proc.*, 1971, 3, 562. — 46. Palutke M., Kihn R., Rosenberg J. C.: *Europ. Surg. Res.*, 1972, 4, 1. — 47. Perper R. J., Najarian J. S.: *Transplantation*, 1966, 4, 377. — 48. Perper R. J., Najarian J. S.: *Transplantation*, 1967, 5, 514. — 49. Rapaport F. T.: *Transpl. Proc.*, 1970, 2, 447. — 50. Reemtsma K., McCracken B. H., Schlegel J. U., Pearl M. A.: *Ann. Surg.*, 1964, 160, 384.

51. Rosenberg J. C., Broersma R. J., Bullemer E. F., Mammen E. F., Lenaghan R., Rosenberg B. F.: *Transplantation*, 1969, 8, 152. — 52. Rosenberg J. C., Hawkins E., Recitor F.: *Transplantation*, 1971, 11, 151. — 53. Rowlands D. T., Kirkpatrick C. H., Vatter A. E., Wilson W. E. C.: *Amer. J. Path.*, 1967, 50, 605. — 54. Shons A. R., Bier M., Jetzer T., Najarian J. S.: *Surgery*, 1973, 73, 28. — 55. Shons A. R., Kromrey C., Najarian J. S.: *Cell. Immunol.*, 1973, 6, 420. — 56. Smith C. S., Pilgrim I., Steinmuller D.: *Transplantation*, 1972, 13, 38. — 57. Starzl T. E., Marchioro T. L., Peters G. N., Kirkpatrick C. H.: *Transplantation*, 1964, 2, 752. — 58. Wiener A. S., Moor-Jankowski J.: *Science*, 1963, 142, 67. — 59. Wostman B. S., Pleasants J. R., Bealmear P., Kincade P. W.: *Immunology*, 1970, 19, 443.