

PERSPECTIVE TERAPEUTICE ÎN TRANSPLANTUL DE ORGANE (XENOGREFELE)

D. Alexianu, R. Matei***

REZUMAT

Discrepanța între numărul în creștere al pacienților necesitând transplant de organe și numărul redus al donatorilor a atras atenția asupra unei surse potențial inepuizabilă: animalele. Principalele obstacole sunt: rejețul de organ (în principal rejețul supraacut dar și rejețul întârziat și rejețul acut vascular), problema apariției unor noi maladii, problema etică.

Există două strategii majore pentru depășirea problemei rejețului: obținerea animalelor transgenice și inducerea toleranței prin manipularea sistemului imun al primitorului. Un pas important a fost făcut prin obținerea porcilor transgenici (ale căror celule exprimă regulatorii de complement umani), depășindu-se astfel problema rejețului supraacut.

Problema transmiterii unor boli specifice animalelor a fost îndelung discutată și a condus la elaborarea unor norme care să permită creșterea acestora în medii sterile. Posibilitatea transmiterii unor agenți patogeni ca retrovirusurile este în continuare cercetată.

Cuvinte cheie: xenotransplant, rejeț supraacut, animale transgenice, imunosupresie, animale „germ-free“

ABSTRACT

Therapeutical perspectives in transplantation (The xenotransplantation)

The critical shortage of donor organs has led scientists to investigate the use of animal organ for transplantation into humans. The greatest practical obstacles are: the process of rejection (hyperacute rejection in particular but also delayed xenograft rejection and acute vascular rejection), the likelihood of animal diseases being transmitted to man and the ethical problem.

There are two main strategies being investigated to overcome xenograft rejection: obtaining transgenic animals and inducing tolerance by manipulation of immune system of recipient. A major step was obtaining transgenic pigs (bred to express humans regulators of complement) and by this resolving the hyperacute rejection problem.

Concerns about animal diseases being transmitted to man conducted to protocols which will allow pigs to be bred free of known pig pathogens. The potential transmission of retroviruses continue to be researched.

Key words: xenotransplant, hyperacute rejection, transgenic animals, immunosuppression, germ-free animals.

Definiție

Prin xenotransplant se înțelege transplantul de organe, țesuturi sau celule de la o specie la alta.

Motivație

Transplantul de organe este la momentul actual tratamentul de elecție al unor maladii grave, cu evoluție inexorabilă spre deces. Performanțele tehnice în continuă îmbunătățire au dus la creșterea necesarului de organe cu 15% în fiecare an, depășind net disponibilul. Numărul mic al donatorilor a îndreptat atenția asupra xenotransplantului, care potențial, ar satisface cererile miilor de persoane de pe listele de așteptare.

Scurt istoric

Transformări ale omului în animale sau viceversa au fost imaginate și descrise în diferite opere literare ca, de exemplu „Metamorfoza“ lui Kafka, „Rinocerii“ lui Eugen Ionescu, „Ferma animalelor“ a lui Orwell și Odiseea lui Homer unde Circe face un amestec de miere, brânză și vin care îi transformă pe cei ce o consumă în porci.

Primele studii științifice au apărut în 1963 - 1964 și au privit transplantul renal babuin - om (K. Reemtsma, C. Hitchcock, T.E. Starzl). Reușind să treacă de rejețul supraacut, aceste grefe au funcționat între 6 și 60 de zile, cauza decesului fiind rejețul umoral xenospecific având principală consecință leziuni endoteliale ocluzive cu ischemie distală.

Întrucât la acea oră nu existau mijloace de control al nivelului de anticorpi, studiile pe om au fost abandonate pentru aproape 30 de ani.

În 1992 și 1993 doi pacienți cu insuficiență hepatică în stadiul terminal (purători HBV) au beneficiat de transplant hepatic, fiind imunogrupesați cu ciclofosfamida, prednison, FK 506 și prostaglandina E. Supraviețuirea a fost de 26 respectiv 70 de zile; cauza deceselor - rejeț umoral forma lentă (caracteristică de altfel transplantului hepatic - mai rezistent) și complicații infecțioase (anevrism micotic rupt, peritonită). Se evidențiază o problemă valabilă și astăzi: insuficientul control al imunității umorale cu supresia practic totală a imunității celulare.

Primele încercări au folosit specii apropiate întrucât apariția rejețului supraacut este mult mai rară. Studii ulterioare (T.E. Starzl, L. Makowka, D.V. Cramer) au arătat că diferența între rejețul supraacut (apărut la transplantul între specii îndepărtate: porc-câine, cobai-șobolan, porc-om) și cel subacut (babuin-om, șoarece-șobolan, capră-oaie) era doar

*Dr. D. Alexianu, medic primar Spitalul Clinic de Urgență

**Dr. R. Matei, medic stagiar

de intensitate (minute -> zile). Din motive economice interesul s-a îndreptat spre animale mai ușor de întreținut și înmulțit - porcii.

Principalele dificultăți

Rejetul

Rejetul umoral reprezintă o clasă de sindroame cu activare a complementului, asociate frecvent (dar nu întotdeauna) cu anticorpi anti-grefă preformați (de exemplu aglutininele ABO) și care duc la alterarea endoteliului vascular și coagulopatie locală (sau chiar sistemică), excluzând organul din circulație în câteva minute în cazul formei supraacute.

Rejetul supraacut a fost observat cu mai bine de 30 de ani în urmă în cazul grefelor neconcordante în sistem ABO (Starzl 1964), apoi legat de prezența altor anticorpi citotoxici (Terasaki 1965), ca în 1969 să fie raportat în absența unor titruri crescute de imunoglobuline. Se făcea astfel distincția între activarea complementului pe cale clasică și activarea pe calea alternativă.

Rejetul supraacut nu poate fi împiedicat de imunosupresoarele clasice (acestea inhibă însă puternic limfocitele T și infiltratul celular).

În lipsa reacției supra/subacute apar reacții întârziate constând în infiltrat celular cu limfocite și neutrofile, activarea imunității celulare, selecție și activare clone secretante anticorpi specifici anti-graft.

Strategii în depășirea rejetului

Există două strategii majore: obținerea unor animale transgenice și inducerea toleranței prin manipularea sistemului imun al primitorului.

Echipe din Marea Britanie (Imutran/Novartis, S.U.A. (Alexion, Connecticut, Nextran - New Jersey), Japonia și Australia dezvoltă tehnologii de manipulare genică al organismului donor pentru ca acesta să nu fie recunoscut ca străin de către organismul uman.

Cu doi ani în urmă firma Imutran - Novartis prezenta date ce susțineau depășirea rejetului supraacut. Era descris un studiu efectuat pe 10 cazuri de transplant cardiac porc transgenic - maimuța și terapie imunosupresoare. În nici unul din cazuri nu apăruse rejetul supraacut, 2 supraviețuind mai mult de 60 de zile (anterior cercetătorii de la Nextran raportaseră supraviețuiri de 30 de ore). Toate maimuțele din grupul de control (care primiseră imunosupresoare și inimi de porci obișnuiți) respinseseră grefa în mai puțin de o oră.

Modificările genetice permit exprimarea regulatorilor de complement umani (exemplu: DAF = Decay Accelerating Factor. MCP = Membrane Cofactor Protein) pe membranele celulelor porcine. Tehnica folosită este injecția de material genetic uman în oul fertilizat.

Alte centre din Statele Unite (Biotransplant - Boston, Massachusetts) sau Japonia privesc problema prin prisma inducerii toleranței:

- Supresia secreției de anticorpi:
 - splenectomie și limfocit T supresoare
 - combinații cu efect supresor pe imunitatea celulară și umorală (ciclosporina, Fk 506, leflunomide etc.)
- Depleție anticorpi - plasmafereză
- Inhibiția cascadei complementului:
 - veninuri modificate de șarpe
 - receptori de complement T, recombiinați

K76

- Inhibiția răspunsului inflamator:
 - PAF, prostaglandine
- Modificare graft:
 - blocare cu fragmente de anticorpi F(ab)₂ a situsurilor antigenice

polimeri sulfonici sintetici anticomplement

● Obținerea unor organisme cu linii celulare mixte (așa numitele „himeră”). A fost semnalată creșterea toleranței și timpului de funcționare a grefelor în cazul apariției unor populații celulare mixte (leucocite colonii BFU - eritrocite, granulocitare, megacariocitare). Această apariție poate fi spontană (mai rar) sau datorată iradierii limfatice și transplantului de măduvă osoasă de la același donor.

Problema incompatibilității metabolice

Ficatul transplantat produce proteine specifice donorului (albumină, complement, factori ai coagulării etc.). Se pare că aceste modificări sunt compatibile cu viața.

Problema apariției unor noi maladii

Cromozomii mamiferelor poartă retrovirusuri caracteristice speciei și mediului, transmise din generație în generație fără consecințe morbide. Studii recente de laborator arată posibilitatea trecerii lor de la celule porcine la cele umane.

O piedică majoră în realizarea xenotransplantului pe scară largă este cererea, extrem de justificată - a Centrului pentru controlul bolilor din Atlanta (Georgia), care susține prezentarea unor dovezi absolute că nu va fi posibilă răspândirea unor microorganisme ca HIV sau Treponema pallidum în populație prin xenogrefe.

S-au adus deja dovezi asupra prezenței, de exemplu: în membrana virusului HIV a unor inhibitori ai proteinelor protectoare față de agenții litici, față de complementul CD46, CD55, CD59. Unii cercetători susțin xenogrefele prin „proba timpului” 50 de ani de utilizare a vaccinurilor vii obținute din țesuturi de la primat sau om, în care nu s-a putut stabili răspândirea unui flagel.

În susținerea inhibiției proteinelor din membrana virală vin și observațiile făcute pe o perioadă de peste 50 de ani, precum imunomodularea cu diferite produse ca extract de miocard, vaccinuri polimicrobiene (polidin), Contastim, OKT436 etc., cu rezultate notabile în inhibarea creșterii neoplazice.

Problema etică

Problema xenogrefelor nu are numai valențe tehnice ci și o încărcătură etică, deontologică și socială deosebită. Interesul populației medicale și nemedicale pentru această problemă a suscitat numeroase dezbateri concretizate în decizia de a supune comunității internaționale un moratoriu prin care să se stabilească necesitatea folosirii organelor de la alte specii în grefele umane. Această posibilitate a fost deja acceptată de către unele instituții acreditate ca UK Department of Health's Advisory Group, Institute of Medicine (USA) sau UK Nuffield Council on Bioethics.

BIBLIOGRAFIE

1. Demetris, Murase A.J., Fujisaki N. & Starzl T.E.: Hemaolymphoid cell trafficking, microchimerism and GVHD

reactions after liver, bone marrow and heart transplantation, *Transplantation proceedings* 1993, 25, 3337 - 3344

2. **Demetris, Murase A.J., Rao & Starzl T.E.:** The role of passenger leukocytes in rejection and „tolerance“ after solid organs transplantation, *Rejection and Tolerance, Vol. 25*, 325 - 392

3. **Kawauchi M., Nakajima J.:** Ontogeny of hyperacute rejection against pig heart: a pig-to-primate heart transplant study, *Transplantation Proceeding* 1998, 30, 79 - 80

4. **Mikata S., Miyagawa S.:** New approach to prevent complement activation on xenografts: effects of surface-bound form of human C4b binding protein, *Transplantation Proceeding* 1998, 30, 65 - 66

5. **Starzl T.E. et al.:** The biological basis of and strategies for clinical xenotransplantation, *Immunological Reviews* 1994,

nr. 141

6. **Setoyama H., Inoue K. et al.:** The potential of anticomplement synthetic sulfonic polymers for xenotransplantation, *Transplantation Proceedings* 1998, 30, 67 - 70

7. **Tolan M.J., Friend P.J. et al.:** Life supporting transgenic kidney transplant in a pig-to primate model, *Book of abstracts XVI International Congress of the Transplantation Society* 25 - 30 aug 1996

8. **White D.J.G.:** Transgenic pig organs: are they concordant for human transplantation?, *Xeno* 1996, 4: 50 - 54

9. **Yagi T., Satoh S., Kanazawa A.:** Extracorporeal xenoperfusion of the pig liver as a liver assist device: effects of prostaglandin E1 and soluble complement receptor type 1, *Transplantation Proceedings*, 1998, 30, 74 - 75

ZILELE MEDICALE PRAHOVENE

În zilele de 4 - 6 noiembrie 1999 a avut loc la Sinaia manifestarea organizată de AMR filiala Prahova, Direcția de Sănătate Publică Prahova, Spitalul Județean Ploiești și patronată de Societățile de Cardiologie, Chirurgie și Medicină Internă.

Președinții de onoare ai manifestării au fost Prof. Dr. Dan Georgescu și Prof. Dr. Cornel Dragomirescu.

Conferința s-a desfășurat pe două sesiuni:

- a) boala cardiacă ischemică, evaluare neinvazivă a ischemiei și disfuncției ventriculare;
- b) procedee de diagnostic și tratament internaționale în bolile digestive.

Pe lângă aceste sesiuni ultima zi a fost rezervată unor conferințe și comunicări, prezentarea unor produse medicamentoase, postere ș.a.

În cadrul celor două sesiuni au fost prezentate o serie de conferințe și comunicări asupra unor aspecte moderne de diagnostic și tratament.

Din materialul vast ținem să remarcăm câteva aspecte mai sugestive: „Evaluarea neinvazivă a ischemiei și disfuncției ventriculare post-infarkt“, conferință prezentată de Prof. Dr. Dan Georgescu și Conf. Dr. Gheorghită Aron; Aportul explorării radioizotopice în evaluarea severității bolii coronariene și în decizia terapeutică prezentată de Prof. Dr. R. Căpăleanu; Tehnici de evaluare a eficienței revascularizației miocardice chirurgicale Dr. G. Cristian, Conf. Dr. I. Țintoiu, Dr. M. Pătruț, Dr. Al. Popa, Dr. V. Găleanu, Dr. M. Iacob, Dr. Florina Pinte, Dr. M. Butușină; Ecografia endoscopică; Prof. Dr. Al. Oproiu, D. Pițigoi; Tratamentul endoscopic al hemoragiilor digestive superioare: Prof. Dr. V. Stoica.

Prin numeroasele aspecte expuse în diversele conferințe și comunicări, prin experiența autorilor în domenii de mare actualitate, manifestarea a avut un aport deosebit în îmbunătățirea actului medical în aspectele cele mai importante ale medicinei moderne.

Redacția