

## FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

**Xénotransplantation**

DEHOUX J.-P., GIANELLO P.

Unité de Chirurgie expérimentale – Faculté de Médecine, Université catholique de Louvain  
Avenue Hippocrate, 55/70 – B-1200 Bruxelles, Belgique

Correspondance : Dr DEHOUX J.P. – E-mail : dehoux@chex.ucl.ac.be

**RESUME :** Le nombre insuffisant d'organes disponibles pour la transplantation est devenu le principal obstacle au développement de cette technique. La xénotransplantation, transplantation d'organes entre espèces différentes (notamment du porc vers l'homme), pourrait résoudre cette pénurie si les barrières immunologiques, physiologiques, infectieuses et éthiques étaient surmontées. Quand un organe de porc est transplanté chez un homme ou chez un primate, un processus, le rejet suraigu, se développe extrêmement rapidement suite à la présence d'anticorps préformés anti-porcine (essentiellement anti-galactosyl) chez le receveur qui vont se fixer sur l'endothélium porcine, activer la voie classique du complément et mener à la destruction de la greffe. Actuellement, ce rejet est facilement maîtrisé, mais le retour ou la persistance des anticorps anti-porcine conduit à l'apparition d'un rejet vasculaire aigu de la xénotransplantation au bout de plusieurs jours à plusieurs semaines. Ce rejet constitue actuellement le principal obstacle à une xénotransplantation clinique. La disponibilité prochaine d'organes de porcs transgéniques dont le gène de la galactosyl-transférase a été inactivé est très attendue, mais savoir si le rejet vasculaire aigu pourra être surmonté demeure une grande inconnue

**POURQUOI LA XENOTRANSPLANTATION ?**

La transplantation d'organes a été une des avancées médicales les plus spectaculaires de la fin du vingtième siècle. En 1977, avec la découverte de la cyclosporine, les taux de survie pour tous les organes transplantés augmentaient remarquablement. En 1980, les transplantations de foie et de cœur étaient considérées comme le meilleur traitement pour les malades atteints de défaillance terminale d'un organe indispensable à la vie. Actuellement, plus de 85 % des patients subissant une greffe rénale, hépatique ou cardiaque survivent au-delà de 5 ans (Gonwa, 2000).

Le succès de la transplantation a cependant conduit dès le milieu des années 80 à une pénurie de greffes disponibles et à une augmentation du nombre de personnes sur liste d'attente d'un organe transplantable. Aux États-Unis, le nombre de personnes sur cette liste a plus que triplé entre

1990 et 1999 (de 21914 à 72110 malades) alors que, durant le même intervalle, seules 6000 greffes ont été réalisées. En Europe, le même phénomène est observé et cette situation critique conduit à l'augmentation du taux de décès des patients en liste d'attente de foie ou de cœur (Hammer *et al.*, 1998).

Pour résoudre cette pénurie d'organe, des efforts importants ont été faits pour augmenter le nombre de donneurs (cadavériques et vivants) via des campagnes de sensibilisation auprès du public. Ces efforts n'ont néanmoins pas permis d'augmenter substantiellement le nombre de donations au cours de ces dernières années. Le développement d'organes artificiels pourrait aider également à combler cette pénurie mais les avancées dans ce domaine progressent lentement. Une autre solution visant à pallier le manque d'organes pourrait être la xénotransplantation.

La **xénotransplantation** se définit

comme la transplantation d'organes ou de tissus entre espèces différentes (le mot grec «*xeno*» signifie ce qui est étranger) alors que la transplantation entre individus de même espèce est appelée **allogreffe**. C'est vers le milieu des années 1980, que le manque d'organes allogéniques a réveillé l'intérêt des cliniciens et des chercheurs pour la xénotransplantation. Le rapide développement de la transgénèse animale, notamment porcine, a contribué à l'obtention de certains progrès spectaculaires à partir de 1993 (Reemtsma, 1989; White et Nicholson, 1999).

**LES PREMIÈRES TENTATIVES HISTORIQUES CHEZ L'HOMME**

Le concept de transplanter des organes d'origine animale chez l'homme n'est pas nouveau. Ange, sirène, centaure, faune et autres chimères, l'homme a toujours rêvé de

s'attribuer certains attributs du bestiaire. Les premières tentatives cliniques remontent au début du 17<sup>ème</sup> siècle, quand des essais de transfusions de sang d'origine animale furent réalisés chez l'homme en France et en Angleterre. Au 19<sup>ème</sup> siècle, des tissus (la peau surtout) de plusieurs espèces animales furent transplantés chez l'homme. En 1894, un adolescent de 15 ans reçut notamment des fragments de pancréas ovin. Des essais de transplantations d'organes vascularisés furent tentés au cours du 20<sup>ème</sup> siècle. Quarante-six organes provenant de primates et 8 d'autres espèces animales ont été transplantés à des patients (tableau I). En 1906, les premières anastomoses vasculaires d'un rein de porc et de chèvre furent réalisées avec succès mais les organes ont été rejetés rapidement. En 1910, les reins d'un singe furent transplantés chez un patient qui décéda 32 heures après la greffe. Après quelques autres essais infructueux, l'intérêt pour la xénogreffe déclina face à la puissance des rejets xénogéniques observés (Hancock, 2000).

Avec la découverte de produits immunosuppresseurs (azathioprine et stéroïdes) dans les années 1950, l'intérêt pour la xénotransplantation se manifesta à nouveau. Les résultats les plus nets furent obtenus par Reemtsma et collaborateurs en 1964 (Reemtsma, 1989). Ils transplantèrent une série de reins de chimpanzé chez des patients. La plus longue survie observée, et encore inégalée, fut obtenue chez un malade qui survécut 9 mois. Il décéda d'une maladie intercurrente non diagnostiquée avec une fonction rénale normale. La première transplantation cardiaque fut réalisée chez l'homme en 1964 avec un cœur de chimpanzé. Dans une autre série d'essais, Starzl et collaborateurs (Starzl *et al.*, 1964; Bailey *et al.*; 1985) entreprirent de transplanter des reins et des foies de babouins chez des patients. La plus longue survie observée fut 60 jours. Ces tentatives prouvèrent que des organes de chimpanzés et de babouins (et dans une moindre mesure ceux des autres espèces de singes) fonctionnaient un certain temps après transplantation chez l'homme, alors que les xénogreffes d'autres mammifères (porc, chèvre et mouton) étaient violemment et rapidement rejetées en dépit d'une immunosuppression très élevée (incluant l'azathioprine, des stéroïdes, de l'actinomycine C et une

**Tableau I** : Xénotransplantation clinique d'organes vascularisés (d'après Hancock, 2000)

Organe-Donneur	n	Survie
<b>Rein</b>		
Primate	30	1 jour - 9 mois
Autres (porc, chèvre, mouton)	3	3 – 9 jours
<b>Cœur</b>		
Primate	5	< 1 – 20 jours
Autres (mouton et porc)	4	< 1 jour
<b>Foie</b>		
Primate	11	1 – 70 jours
Porc	1	< 2 jours

irradiation locale) (Makowka *et al.*, 1994; Makowka et Cramer, 1994).

Des tentatives de transplantations d'îlots pancréatiques porcins chez des patients diabétiques et de neurones porcins chez des personnes atteintes de maladies de Parkinson et d'Huntington furent réalisés. Chez un patient diabétique traité, le C-peptide fut détecté dans son urine pendant 289 jours. Chez un autre patient, les cellules nerveuses porcines transplantées ont survécu plus de 8 mois. Des foies artificiels, combinant des hépatocytes porcins et un système de perfusion extracorporelle, furent utilisés avec succès, notamment chez un patient souffrant d'une défaillance hépatique fulminante (Rozga *et al.*, 1993; Deacon *et al.*, 1997).

### POURQUOI LE PORC ?

D'un point de vue théorique, le choix d'un grand singe (chimpanzé ou gorille) comme donneur d'organe pour l'homme s'avère être le plus logique compte tenu de la proximité des espèces au niveau phylogénique. Cependant, les grands singes appartiennent à des espèces menacées d'extinction et les rares exemplaires disponibles le sont pour la recherche sur le SIDA ou l'hépatite. D'autres espèces de singes (babouins ou macaques) ont également retenu l'attention des chercheurs, mais toutes ces espèces se reproduisent très mal en captivité, ont des longues périodes de gestation, peu de jeunes par portée et sont trop petits pour fournir des organes de taille valable pour des patients adultes. En outre, leur utilisation

soulève de nombreuses objections d'un point de vue éthique et présente un risque infectieux trop important pour le malade, pour son entourage, voire même pour la société (Fryer *et al.*, 1995).

Une alternative serait de s'adresser à une espèce animale plus éloignée de l'homme. Par sa marge de croissance, sa capacité de reproduction et son coût, le porc se présente comme le candidat le plus intéressant comme donneur d'organes pour l'homme. Il possède des caractéristiques anatomiques et physiologiques proches de celles de l'homme. Son élevage est bien établi, des animaux sans pathogène spécifique et des animaux transgéniques peuvent être produits. Son utilisation fait aussi l'objet d'un débat éthique mais réunit le plus grand consensus (White et Nicholson, 1999).

Malheureusement, ces nombreux avantages sont contrebalancés par plusieurs obstacles: (a) le risque de zoonose; (b) les barrières immunologiques; (c) les possibles incompatibilités physiologiques entre les deux espèces et (d) l'attitude du malade et de la société face à cette technique.

### LE RISQUE INFECTIEUX

Le porc peut être porteur de bactéries, de virus et de parasites potentiellement transmissibles lors d'une xénotransplantation (tableau II). Une telle maladie se définit comme un xéno-zoonose, la transmission d'un pathogène animal sous des circonstances naturelles caractérisant une zoonose (Michaels, 1998; Langat et Mwenda, 2001).

**Tableau II** : Virus porcins capables de provoquer une zénozoonose (Patience *et al.*, 1998).

Adénovirus porcine*
Cytomégalovirus porcine*
Rotavirus porcine*
Rétrovirus endogènes et exogènes porcins
Maladie d'Aujesky*
Encéphalite japonaise
Encéphalomyocardite
Stomatite vésiculeuse
Maladie vésiculeuse
Fièvre aphteuse
Rage
Influenza porcine**
Parainfluenza-1 porcine

\* Virus en théorie non transmissible à l'homme

\*\* De récentes données suggèrent que les grandes épidémies de grippe, dont la grippe espagnole de 1918, seraient d'origine porcine.

Une attention particulière est adressée aux risques posés par les rétrovirus endogènes porcins. Au moins trois types de ces rétrovirus peuvent infecter des lignées de cellules humaines *in vitro* en co-culture (Stoye *et al.*, 1998; Blusch *et al.*, 2002). A ce jour, les recherches entreprises chez des personnes professionnellement exposées ou chez des patients ayant subi des perfusions rénales extracorporelles, des perfusions hépatiques, des greffes de peau ou d'autres procédures utilisant du tissu porcine n'ont pas permis de détecter d'anticorps anti-rétrovirus ou d'ADN rétroviral. L'élimination de ces agents viraux est difficile voire impossible à éradiquer d'un organisme selon les méthodes habituelles d'obtention d'animaux libres de pathogènes.

Dans un contexte d'encéphalopathie spongiforme, de SIDA ou de fièvre d'Ebola, le risque encouru par le malade doit être également rapproché de celui encouru par les proches et par le public. Ces risques potentiels ont imposé un moratoire préconisant la surveillance précise de tous les patients dont la circulation sanguine a été directement mise en contact avec du tissu porcine. Le risque infectieux doit néanmoins être apprécié aussi avec réalisme compte tenu du bénéfice qu'apporterait une xénotransplantation clinique à large échelle,

**Tableau III** : Rejets xénogéniques (*durée et acteurs du rejet*)

<b>Xénotransplantation</b>	<b>Rejet</b>	<b>Rejet</b>	<b>Rejet cellulaire</b>	<b>Rejet chronique</b>
<b>Discordante</b>	→ <b>suraigu</b>	<b>Vasculaire aigu</b>	<b>aigu</b>	
(porc-à-homme, porc-à-singe)				
<b>Xénotransplantation</b>	<b>Rejet</b>	<b>Rejet cellulaire</b>	<b>Rejet chronique</b>	
<b>Concordante</b>	→ <b>Vasculaire aigu</b>	<b>aigu</b>		
(singe-à-homme)				
	<i>Minutes/heures</i>	<i>Jours</i>	<i>Semaines</i>	<i>Mois/Années</i>
	<i>C + Ac</i>	<i>C + Ac +</i>	<i>Lymphocytes T</i>	<i>Ac + MA/NK +</i>
		<i>NK/MA</i>		<i>Lymphocytes T</i>

C: complément, Ac: anticorps, NK: natural killer, MA: macrophage.

rappelons que 6000 à 10000 malades meurent tous les ans, faute de transplant, en Europe et aux USA.

### LES BARRIERES IMMUNOLOGIQUES

La classification en vigueur oppose les xénotransplantations entre espèces éloignées et celles entre espèces proches au regard du rejet qui se produit après la transplantation (Calne, 1970; Makowka et Cramer, 1994).

Une xénotransplantation dite **concordante**, comme dans les modèles primate ou singe-à-homme, sera rejetée en plusieurs jours (de manière aiguë) vu l'absence (ou la faible présence) dans le sérum du receveur d'anticorps naturels (ou préformés) contre les antigènes du donneur.

La présence dans le sérum du receveur d'anticorps naturels contre les antigènes du donneur définit une xénotransplantation **discordante**, comme dans le modèle porc-à-homme ou porc-à-singe. Le rejet de l'organe survient en règle générale dans les minutes qui suivent la revascularisation de la greffe (rejet suraigu).

Une réponse humorale innée implique l'existence d'anticorps naturels (ou préformés) existant en absence de toute exposition connue de l'antigène, alors que la réponse humorale acquise résulte d'une exposition à l'antigène (comme dans les

jours suivants une transplantation). En allotransplantation ou en xénotransplantation concordante, seules les mécanismes immunitaires acquis sont à maîtriser (exception faite de l'incompatibilité des groupes sanguins ABO entre le couple donneur/receveur), tandis que dans les xénotransplantations discordantes, les réponses innées et acquises doivent être inhibées (Platt, 1994).

Plusieurs étapes sont décrites pour différencier les barrières immunologiques xénogéniques (tableau III). La phase initiale nommée **rejet suraigu** a lieu dans les minutes et les heures qui suivent la transplantation. Si ce processus est évité, un **rejet vasculaire aigu** est observé dans les jours suivants. Comme dans toute transplantation, une composante immunitaire cellulaire est attendue dans un **rejet cellulaire aigu** tandis qu'un **rejet chronique** peut avoir lieu plus tardivement.

#### Le rejet suraigu

La première barrière immunologique observée lors d'une xénotransplantation discordante est le rejet suraigu. Trois acteurs principaux sont impliqués dans ce mécanisme: (a) les anticorps naturels; (b) l'endothélium porcine et (c) l'activation de la voie classique du complément (Platt, 2002).

Comme résultat probable de la colonisation microbienne du tractus

**Tableau IV :** Distribution de l'épitope galactosyl dans le règne animal.

<b>Primates</b>	<b>Homme</b>	<b>Absence d'épitopes Gal</b> <b>Présence d'anticorps anti-Gal</b>	
	<b>Grands singes</b> Chimpanzé et Bonobo 5 MA Gorille 7 MA Orang-outan 19 MA Gibbon 20 MA		
	<b>Singes du Vieux Continent</b> (Catarhiniens) 20-30 MA Macaque, Babouin		<b>Inactivation de l'<math>\alpha</math> (1-3) GT</b>
	<b>Singes du Nouveau Monde</b> (Platyrhiniens) 30-40 MA <b>Prosimiens</b> (Lémuriens) 60-70 MA		
<b>Mammifères</b>	Porcs Rongeurs	<b>Présence d'épitopes Gal</b> <b>Pas d'anticorps anti-Gal</b>	
<b>Vertébrés non mammifères</b>	Crocodiles Serpents	<b>Présence d'<math>\alpha</math> (1-3) GT</b>	
	Batraciens		
	Oiseaux		

MA: millions d'années

Il y a environ 35 millions d'années, après la séparation des continents, un facteur évolutif (vraisemblablement un agent infectieux) endémique à l'Afrique et à l'Asie a permis la sélection de primates capables de produire de hauts titres d'anticorps anti-Gal (Galili *et al.*, 1987).

digestif dans les premières semaines de vie, l'enfant et le jeune singe développent des anticorps naturels contre l'épitope galactosyl galactose  $\alpha$  (1-3) galactose (Gal) présent sur de nombreux bactéries, virus et parasites. Ces anticorps naturels anti-Gal, essentiellement des IgM, réagissent également avec les épitopes Gal présents sur la surface de l'endothélium porcine. Suite à cette fixation anticorps/antigène, la voie classique du complément est activée, conduit à la formation du complexe d'attaque membranaire (C5b-C9) et à la rétraction des cellules endothéliales, processus qui permet l'adhésion et l'activation des plaquettes. L'organe est détruit très rapidement. L'implication de la voie alterne d'activation reste controversée (Galili *et al.*, 1987; Galili *et al.*, 1988; Alwayn *et al.*, 1999; Cramer, 2000). Le rejet suraigu est caractérisé par des thromboses vasculaires, de la congestion, des ruptures de l'endothélium vasculaire, des hémorragies interstitielles et de l'œdème. La fuite de sang et de liquide par la paroi capillaire est suivie par la nécrose des cellules endothéliales.

La réponse « anticorps naturels » est

T-indépendante et serait due à la stimulation directe d'une sous-population de lymphocytes B (B-1a/B-1b) présente dans les ganglions lymphatiques, la rate et le long du tractus digestif. Plusieurs isotypes constituent les anticorps naturels anti-porcins. Les IgM sont préférentiellement impliquées dans la survenue du rejet suraigu (Dehoux *et al.*, 2000). Le rôle des IgG et des IgA naturels anti-Gal reste controversé dans ce processus (Cooper, 1998).

L'épitope galactosyl, apparenté aux antigènes du groupe sanguin humain B, est responsable de la fixation de près de 90 % de tous les anticorps anti-porcins. Cet épitope est synthétisé par une enzyme, l' $\alpha$ 1,3-galactosyltransférase ( $\alpha$ 1,3GT), présente chez les mammifères inférieurs et les singes du Nouveau Monde (Amérique du sud), mais absente chez les singes du Vieux Continent (Asie et Afrique) et chez l'homme (tableau IV). Ces derniers utilisent l'1,2-fucosyltransférase pour former l'antigène H, précurseur des groupes sanguins humains A et B (Good *et al.*, 1992).

Dans le modèle expérimental porc-à-singe, plusieurs méthodes thérapeu-

**Tableau V :** Stratégies thérapeutiques pour la prévention du rejet suraigu d'une xéno greffe discordante.

**Modifications chez le receveur**

- Elimination des anticorps préformés anti-porcine par plasmaphérese, par perfusion d'organes, par colonne d'immunoabsorption, par utilisation d'anticorps monoclonaux ou par mise en contact avec des résidus saccharidiques (sous forme soluble ou sous forme de colonne).
- Inhibition de l'activation du complément par injection d'inhibiteurs solubles comme le facteur de venin de cobra ou le récepteur soluble du complément.

**Modifications chez le donneur**

- Porc transgénique exprimant des protéines régulatrices du complément
- Porc exprimant le transgène de l' $\alpha$ -1,3 fucosyl transférase humaine
- Porc cloné invalidant l'expression du gène de l' $\alpha$ -1,3 galactosyl transférase.

tiques existent pour prévenir l'apparition de ce rejet suraigu (tableau V) (Lambrigts *et al.*, 1998a; Dehoux *et al.*, 2000). Ces méthodes incluent l'immunoabsorption des anticorps naturels anti-Gal de la circulation du receveur, l'inhibition du complément et l'utilisation d'organes de porc transgéniques pour des protéines régulatrices du complément (Alexandre *et al.*, 1989; Cooper *et al.*, 1993; Leventhal *et al.*, 1994; Pruitt *et al.*, 1994). Quand l'ensemble de ces procédés thérapeutiques est combiné avec une puissante immunosuppression, un rein ou un cœur de porc transplanté chez un singe peut survivre pendant plusieurs semaines.

La transgénèse est une méthode largement utilisée depuis plusieurs années. Cette technique consiste à transférer un fragment d'ADN étranger dans le génome d'un embryon pour obtenir son expression permanente dans l'organisme et sa transmission aux générations suivantes.

Les premières applications de cette méthode ont permis l'obtention de porcs transgéniques dont les organes exprimaient des protéines régulatrices du complément humain. A la surface

de la plupart des cellules de l'organisme, des protéines telles que le CD35 (CR1), CD46 (MCP pour *membrane cofactor protein*), CD55 (DAF pour *decay accelerating factor*), CD59 (*protectin*) et le HRF (*homologous restriction factor*), inhibent le complément autologue et sont spécifiques d'espèces (figure 1). Des porcs transgéniques exprimant les protéines humaines CD55 (*hDAF*), CD46 ou CD59 ont été produits et leurs organes utilisés dans le modèle porc-à-singe (Atkinson *et al.*, 1991; Carrington *et al.*, 1995; Platt et Logan, 1996; Cozzi *et al.*, 1997; Schmoekel *et al.*, 1997). Grâce à l'utilisation de plusieurs de ces méthodes, l'apparition du rejet suraigu est relativement facilement prévenue.

### Le rejet vasculaire aigu

Si le rejet suraigu est évité, la greffe subit inévitablement un rejet retardé, le rejet vasculaire aigu, au bout de quelques jours à quelques semaines. Malgré un lourd arsenal thérapeutique immunosuppresseur, une importante production d'anticorps IgG anti-Gal (plus de 100 fois le taux du pré-transplant) (Dehoux *et al.*, 2002) et anti-porc (autres que le galactosyl) est observée ainsi qu'une participation cellulaire impliquant les *natural killers* (NK), les macrophages, les neutrophiles et quelques lymphocytes

(Seebach et Waneck, 1997). L'implication du complément dans ce processus reste débattue (Korsgren, 1997; Platt *et al.*, 1998). La fixation de ces anticorps acquis anti-porc d'isotype IgG sur l'endothélium porc entraîne des phénomènes de cytotoxicité cellulaire médiée par ces anticorps (ADCC) qui aboutissent à la destruction de cet endothélium. Cette fixation induit également l'activation des cellules endothéliales qui vont concourir à la formation d'un état de pré-coagulation menant à l'extension du processus thrombotique. Les cellules endothéliales activées expriment *de novo* des molécules d'adhérence (sélectine E, sélectine P, ICAM 1, 2 et 3, ...) qui attirent les cellules immunitaires.

Histologiquement, des thromboses vasculaires avec extravasation sanguine, de l'œdème interstitiel et de la nécrose sont observées.

Actuellement, ce processus représente le principal obstacle à la xéno-transplantation clinique d'un organe vascularisé porc. Aucun traitement actuel tolérable ne permet d'éviter ce rejet. Dans le modèle porc-à-singe, des reins de porc ont maintenu en vie des babouins ou des macaques pendant 75 jours tandis que des cœurs ont fonctionné pendant 99 jours.

De nombreux travaux visent à supprimer l'activité des lymphocytes B responsables de la production de ces

anticorps IgG anti-Gal, essentiellement en utilisant un traitement associant des anticorps monoclonaux et une irradiation totale.

Tout récemment le gène codant pour la Galactosyl transférase a été invalidé par la technique de recombinaison homologue dans des cellules porcines en culture. Le noyau de ces dernières a été ensuite transféré dans un ovocyte porc préalablement énucléé afin de recréer un embryon. Plusieurs porcelets hétérozygotes sont nés en décembre 2001 et l'arrivée prochaine de porcs homozygotes est attendue impatientement (Phelps *et al.*, 2003). La disparition de l'antigène Gal de la surface des cellules porcines est devenue un enjeu essentiel pour l'avenir de la xénotransplantation. L'utilisation d'organes issus de tels animaux devrait vraisemblablement faire progresser considérablement les travaux visant à améliorer la survie des xéno greffes en facilitant la prévention des rejets suraigu et aigu. Ce ne sera certainement pas la fin de l'histoire car de nombreux résultats expérimentaux laissent en effet penser que des réponses humorales et cellulaires induites contre d'autres antigènes porcins devront être prévenues.

L'absence d'épitopes Gal pourrait également accroître théoriquement le risque de transmission, à partir de ces organes dépourvus de galactosyl-transférase, de rétrovirus endogènes (PERV). En effet, les virus n'exprimeront plus ces épitopes et ne seront plus éliminés via les anticorps naturels anti-Gal qui joueraient un rôle essentiel de défense contre les zoonoses (Ashton Chess et Blancho, 2002; Lai *et al.*, 2002).

### Le rejet cellulaire

Alors que la composante cellulaire du précédent rejet (NK, neutrophile et macrophage) concernait plutôt la réponse cellulaire innée, le rejet cellulaire implique la réponse acquise dont les acteurs principaux sont les lymphocytes T.

La reconnaissance des antigènes par les lymphocytes s'opère de manière directe ou indirecte. La reconnaissance directe définit l'apprêtement et la présentation des antigènes étrangers par les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) du donneur aux lymphocytes du receveur alors que la reconnaissance indirecte implique

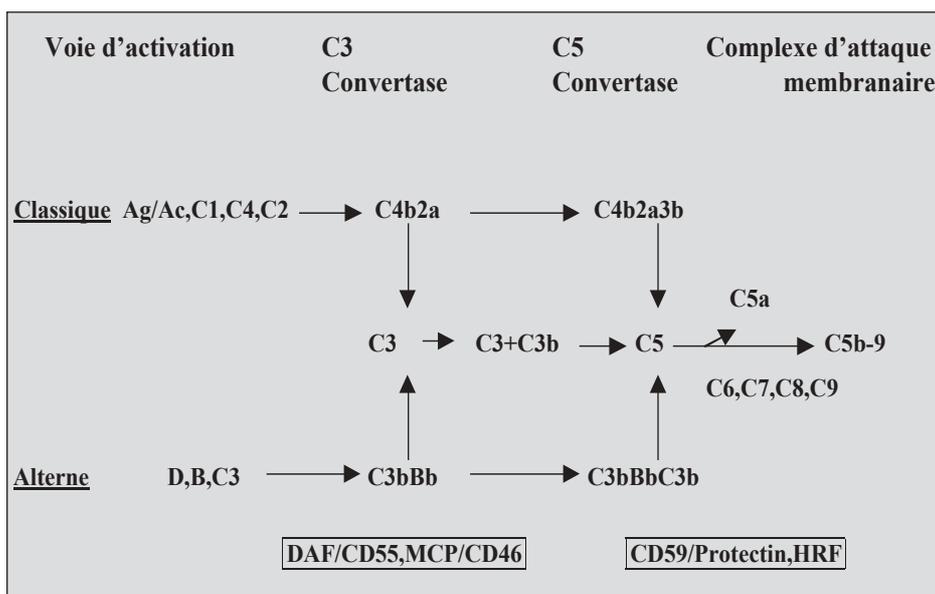


Figure 1 : Voies d'activation classique et alterne du complément.

Le CD55 (DAF) ainsi que le CD46 (MCP) inhibent les convertases C3 et C5 des deux voies d'activation tandis que le CD59 (*protectin*) et le HRF (*homologous restriction factor*) empêchent la formation du complexe d'attaque membranaire (Mollnes et Fiene, 2002).

Ag : antigène, Ac : anticorp

Tableau VI : Utilisation d'organes de porc transgénique chez les singes

Auteurs (années)	Receveur	Organe porcin	Protocole et transgène	Survie de la greffe
Cozzi Waterworth <i>et al.</i> , 1997	Cynomolgus	Cœur	hCD55 CsA+CyP+CS	6-62 jours
Lin <i>et al.</i> , 1998b	Babouin	Cœur	hCD59/hCD55 IA+CsA+CS+MTX	<29 jours
Daggett <i>et al.</i> , 1997	Babouin	Poumon	hCD55/hCD59 hCD55/hCD59+IA	<4 hrs <24 hrs
Zaidi <i>et al.</i> , 1998b	Cynomolgus	Rein	hCD55/CsA+CyP+CS	6-35 jours
Bhatti <i>et al.</i> , 1998; Vial <i>et al.</i> ,	Babouin	Cœur	hCD55/CsA+CyP+CS hCD55/CsA+CyP+CS+SP	3 mois
Ramirez <i>et al.</i> , 2002	Babouin	Foie	hCD55	4-8 jours
Cozzi <i>et al.</i> , 2000; 2001	Cynomolgus	Rein	hCD55/SP+CsA+CyP+CS	50-78 jours
Cowan <i>et al.</i> , 2002	Babouin	Rein	hCD55/HT/CD59	5 jours

CsA: Cyclosporine, CyP: Cyclophosphamide, MTX: Méthotrexate, CS: Corticostéroïdes, AZA: Azathioprine, L: Léflunomide, MMF: Mycophénolate de Mofetil, SP: Splénectomie, IA: Immunoabsorption, HT: H/fucosyl-transférase

que l'apprêtement et la présentation de l'antigène soient faites par les CPA du receveur. De nombreuses études ont montré que la réponse cellulaire lymphocytaire xénogénique semblait être plus importante que la réponse allogénique et ce, pour plusieurs raisons: (i) le nombre d'antigènes présentés pourrait être plus important en xénotransplantation; (ii) la présentation indirecte semble favorisée et (iii) les mécanismes régulateurs via les cytokines pourraient être moins efficaces.

La question sera de savoir si la prévention du rejet xénogénique cellulaire exigera des stratégies thérapeutiques différentes que celles utilisées avec succès en allotransplantation (Birmele *et al.*, 1996; Cunningham, 2000).

### Le rejet chronique

Le rejet chronique, comme l'athérosclérose de la greffe, est très mal connu même en allotransplantation et les données sont quasi inexistantes en xénotransplantation vu les durées de survie des xéno greffes. Il semble évident que si les formes précoces de rejet sont évitées, l'incidence du rejet chronique augmentera avec l'obtention de survie plus longue des xéno greffes (Morris, 1999).

### L'induction de la tolérance

En allotransplantation, il est maintenant possible d'induire un état de tolérance des lymphocytes T par plusieurs protocoles incluant le recours aux irradiations localisées, aux traitements immunosuppresseurs et à l'installation d'un chimérisme hématopoïétique suite à la transplantation de moelle osseuse du donneur avant la transplantation de l'organe vascularisé (Sachs et Sablinski, 1995; Powelson *et al.*, 1996; Sablinski *et al.*, 1997; Bartholomew *et al.*, 1997; Kawai *et al.*, 1999). Ce même protocole a été tenté sans succès en xénotransplantation. Dans ce modèle, il faut aussi induire une tolérance des lymphocytes B, étant donné la présence des anticorps anti-galactosyl produits dans un système T-indépendant (Sharabi *et al.*, 1990; Aksentijevich *et al.* 1991). Si la production de ces anticorps pouvait être inhibée, par exemple, par une élimination temporaire des plasmocytes, alors la transplantation d'organes de porcs exprimant l'antigène galactosyl pourrait induire une élimination des lymphocytes B réagissant avec cet antigène.

Des essais d'induction de tolérance des lymphocytes T ont été tentés en greffant du tissu thymique porcin

sous la capsule rénale de l'organe vascularisé à greffer chez le receveur. Bien que cette technique soit concluante dans le modèle porc-à-souris ou en allotransplantation, elle n'a donné que des résultats partiels en xénotransplantation du fait de l'action des anticorps anti-gal (Lambrigts *et al.*, 1998b; Zhao *et al.*, 2000; LaMattina *et al.*, 2002).

### L'accommodation

L'élimination temporaire des anticorps naturels du système ABO des groupes sanguins humains chez certains patients a permis dans un système ABO incompatible, à une allo greffe rénale de survivre chez des patients pendant une longue période malgré le retour des anticorps naturels (Alexandre *et al.*, 1991). Le mécanisme précis de ce phénomène nommé accommodation, est encore inconnu. Dans le modèle discordant (hamster-à-rat), l'activation de gènes protecteurs anti-apoptotiques ainsi qu'une réponse immunitaire Th2 ont été constatées. L'accommodation n'a pas encore été observée dans le modèle porc-à-singe, mais l'induction de ce phénomène pourrait représenter un moyen original de prévention des rejets suraigu et vasculaire aigu (Lin *et al.*, 1998a).

## LES BARRIERES PHYSIOLOGIQUES

Si les obstacles immunologiques sont évités et qu'une longue survie d'organes de porc est obtenue chez le singe, des études détaillées de la fonction de ces organes pourront être réalisées. La question étant de savoir si un organe de porc peut être physiologiquement compatible sur une longue période. Plusieurs différences anatomiques et physiologiques existent entre l'homme et le porc. La température corporelle du porc étant légèrement plus élevée que celle de l'homme, le métabolisme des cellules porcines pourrait être moins efficace. Néanmoins, malgré ces différences, les reins de porcs ont permis à des singes de rester en vie pendant plusieurs mois. Un cœur orthotopique a fonctionné pendant plus d'un mois. Il y a donc des raisons de croire que ces organes pourront fonctionner adéquatement chez l'homme (tableau VI) (Zaidi *et al.*, 1998a). Par contre, le foie (et le poumon) devrait être un organe difficile à transplanter en raison de problèmes de compatibilités physiologiques, cet organe produit plus de 2000 protéines dont certaines pourraient ne pas fonctionner adéquatement chez l'homme (par exemple, certains facteurs de coagulation).

Comme l'insuline porcine a été utilisée pendant des années avec succès chez l'homme, on peut s'attendre à ce que les îlots pancréatiques porcins transplantés produisent une insuline compatible. Les cellules productrices de dopamine implantées dans les cerveaux humains devraient également produire une substance efficace chez les patients. Savoir si l'hormone de croissance humaine aura une action sur les organes porcins transplantés chez un enfant est une question importante.

Une nouvelle discipline, la xénoincompatibilité, pourrait trouver son nouveau champ d'activité dans les nombreuses différences identifiées. Certaines de ces incompatibilités sont déjà résolues par l'utilisation de porcs transgéniques, comme c'est le cas pour les protéines régulatrices du complément. Des modifications génétiques pour l'obtention chez le porc de protéines humaines utiles dans la cascade de la coagulation pourraient être une autre application.

## L'ACCEPTATION DE LA XENOTRANSPLANTATION

Bien que les organes des primates puissent convenir de la même manière qu'une allogreffe en recourant aux immunosuppresseurs modernes, le rejet d'une xéno greffe concordante s'apparentant à celui d'une allogreffe, des raisons éthiques limiteraient leur utilisation. Avec plus de 100 millions de porcs abattus chaque année aux USA pour l'alimentation humaine, les raisons éthiques évoquées pour les grands singes n'ont plus le même impact. Cependant, certains arguments sont à prendre en considération dès qu'il s'agit d'utiliser des animaux porteurs de gènes de protéines humaines.

Le public acceptera-t-il l'idée de recevoir un organe porcine? Les valvules sont déjà utilisées depuis de nombreuses années sans soulever de problèmes en général. L'insuline porcine a été injectée à des millions de diabétiques. A la question de savoir si vous seriez prêt à accepter une xéno greffe, le public répond nettement oui à 51 % à la possibilité de recevoir un organe porcine contre 20 % de réponses positives si un organe de singe était proposé. Le pourcentage de réponses positives passait à plus de 65 % chez les personnes sur liste d'attente.

Si la xéno transplantation devient une réalité clinique, le fait de donner à un patient un organe de porc préférentiellement à une allogreffe donnera lieu à d'importants débats éthiques dès les premiers essais. Face aux risques infectieux possibles les patients xéno transplantés devront être soumis à une longue surveillance.

## CONCLUSIONS

De nombreux obstacles à une xéno transplantation clinique existent. Quoique les résultats actuels indiquent que nous sommes encore loin de transplanter des organes porcins aux patients, ils représentent une avancée spectaculaire. N'oublions pas qu'il y a quinze ans, les survies moyennes d'organes porcins transplantés s'évaluaient en minutes et en heures plutôt qu'en semaines. Les rapides développements dans le domaine biotechnologique laissent entrevoir des solutions possibles pour prévenir les rejets immunologiques. Les premiers résultats concernant les

porcs transgéniques dont le gène de la galactosyl-transférase a été inactivé sont attendus avec impatience. Si les obstacles immunologiques sont surmontés un jour par l'obtention d'organes fonctionnels de porcs *knock-out* ou par la découverte d'un agent pharmacologique ou biologique capable d'empêcher la production d'anticorps naturels, l'opportunité d'étudier les incompatibilités physiologiques potentielles sera envisageable bien qu'elles ne soient pas considérées gênantes actuellement dans le cas d'une xéno transplantation de rein ou de cœur. Le problème infectieux pourrait être résolu par la démonstration d'une absence d'infections trans-spécifiques au cours d'études bien contrôlées et/ou par l'identification d'une lignée de porcs incapables de transmettre des rétrovirus endogènes aux cellules humaines. La xéno transplantation clinique serait une avancée importante dans le traitement des malades atteints de défaillance terminale d'un organe indispensable à la vie et dans le traitement de nombreux problèmes de déficiences cellulaires, trouvant la solution à la principale limite de développement de la transplantation aujourd'hui. Ces avancées se feront certainement par étapes. Les premiers essais concernant les greffes cellulaires pour le traitement de la maladie de Parkinson et le diabète ont déjà débuté (Tollemar *et al.*, 1992a; 1992b; Tibell *et al.*, 1994; Deacon *et al.*, 1997). Des foies et des hépatocytes de porcs sont également déjà utilisés dans des appareillages *ex vivo* pour soigner les malades atteints d'hépatite fulminante (Rozga *et al.*, 1993). L'étape suivante sera l'utilisation de xéno greffes comme moyen d'attente une allogreffe. Les données de ces premiers organes utilisés comme « ponts » seront essentielles (Makowka *et al.*, 1993). Les xéno greffes seront vraisemblablement préalablement utilisées chez les patients qui ne peuvent pas recevoir d'allogreffe pour de nombreuses raisons (anticorps, récidives, âge). Finalement, on pourrait envisager que la xéno transplantation remplace l'allogreffe. La plupart des questions à propos de la xéno transplantation ne pourront être réglées que par l'expérience.

## Xenotransplantation

### SUMMARY

The increasing shortage of human organs for purposes of transplantation has become the critical limiting factor in the number of transplants performed each year. *Xenotransplantation* –the transplantation of organs between species, namely the pig

to human– could provide a solution if immunologic and other physiological, infectious or ethical problems could be solved. When a pig organ is transplanted into a primate, hyperacute rejection, induced by natural anti-pig antibody and mediated by complement develops rapidly. This immediate problem can now be overcome, but the return or the persistence of anti-pig

antibody leads to acute vascular xenograft rejection, which leads to destruction of the organ within days or weeks. The preliminary results from transgenic galactosyltransferase knock out gene are awaited and whether it will be possible to prevent this rejection process remains unknown.

---

### BIBLIOGRAPHIE

- AKSENTIJEVICH I., SHARABI Y., SUNDT T.M., SACHS D.H., SYKES M. Humoral tolerance in mixed xenogeneic chimeras prepared by a nonmyeloablative conditioning regimen. *Transplant. Proc.*, 1991, **23**, 880-882.
- ALEXANDRE G.P.J., GIANELLO P., LATINNE D., CARLIER M., DEWAELE A., VAN OBBERGH L. Plasmapheresis and splenectomy in experimental renal xenotransplantation. *Xenograft*, 1989, **25**, 259-266.
- ALEXANDRE G.P.J., LATINNE D., GIANELLO P., SQUIFFLET J.P. Preformed cytotoxic antibodies and ABO-incompatible grafts. *Clin. Transplant.*, 1991, **5**, 583-594.
- ALWAYN I.P.J., BASKER M., BUHLER L., COOPER D.K.C. The problem of anti-pig antibodies in pig-to-primate xenografting: current and novel methods of depletion and/or suppression of production of anti-pig antibodies. *Xenotransplantation*, 1999, **6**, 157-168.
- ASHTON CHESS J., BLANCHO G. A breakthrough in xenotransplantation: generation of pigs knock-out for galactosyl transferase. *Med. Sci.*, 2002, **18**, 526-527.
- ATKINSON J.P., OGLESBY T.J., WHITE D., ADAMS E.A., LISZEWSKI M.K. Separation of self from non-self in the complement system: a role for membrane cofactor protein and decay accelerating factor. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, **86** : Suppl 1, 27-30.
- BAILEY L.L., NEHLSSEN CANNARELLA S.L., CONCEPCION W., JOLLEY W.B. Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate. *J. Am. Med. Assoc.*, 1985, **254**, 3321-3329.
- BARTHOLOMEW A.M., COSIMI A.B., SACHS D.H., BAILIN M., BOSKOVIC S., COLVIN R., HONG H., JOHNSON M., KIMIKAWA M., LEGUERN A., MEEHAN S., SABLINSKI T., WEE S.L., POWELSON J. A study of tolerance in a concordant xenograft model. *Transplant. Proc.*, 1997, **29**, 923-924.
- BHATTI F.N., ZAIDI A., SCHMOECKEL M., COZZI E., CHAVEZ G., WALLWORK J., WHITE D.J., FRIEND P.J. Survival of life-supporting HDAF transgenic kidneys in primates is enhanced by splenectomy. *Transplant. Proc.*, 1998, **30**, 2467-2467.
- BIRMELE B., THIBAUT G., NIVET H., GRUEL Y., BARDOS P., LEBRANCHU Y. Human lymphocyte adhesion to xenogeneic porcine endothelial cells: modulation by human TNF-alpha and involvement of VLA-4 and LFA-1. *Transpl. Immunol.*, 1996, **4**, 265-270.
- BLUSCH J.H., PATIENCE C., MARTIN U. Pig endogenous retroviruses and xenotransplantation. *Xenotransplantation.*, 2002, **9**, 242-251.
- CALNE R.Y. Organ transplantation between widely disparate species. *Transplant. Proc.*, 1970, **2**, 550-556.
- CARRINGTON C.A., RICHARDS A.C., COZZI E., LANGFORD G., YANNOUTSOS N., WHITE D.J. Expression of human DAF and MCP on pig endothelial cells protects from human complement. *Transplant. Proc.*, 1995, **27**, 321-323.
- COOPER D.K., GOOD A.H., YE Y., KOREN E., ORIOL R., IPPOLITO R.M., MALCOLM A.J., NEETHLING F.A., ROMANO E., ZUHDI N. Specific intravenous carbohydrate therapy: a new approach to the inhibition of antibody-mediated rejection following ABO-incompatible allografting and discordant xenografting. *Transplant. Proc.*, 1993, **25**, 377-378.
- COOPER D.K. Xenoantigens and xenoantibodies. *Xenotransplantation.*, 1998, **5**, 6-17.
- COWAN P.J., AMINIAN A., BARLOW H., BROWN A.A., CHEN C.G., FISICARO N., FRANCIS D.M., GOODMAN D.J., HAN W., KUREK M., NOTTLE M.B., PEARSE M.J., SALVARIS E., SHINKEL T.A., STAINSBY G., STEWART A.B., D'APICE A.J. Renal xenografts from triple-transgenic pigs are not hyperacutely rejected but cause coagulopathy in non-immunosuppressed baboons. *Transplantation*, 2002, **69**, 2504-2515.
- COZZI E., TUCKER A.W., LANGFORD G.A., PINO CHAVEZ G., WRIGHT L., O'CONNELL M.J., YOUNG V.J., LANCASTER R., MCLAUGHLIN M., HUNT K.,

- BORDIN M.C., WHITE D.J. Characterization of pigs transgenic for human decay-accelerating factor. *Transplantation*, 1997, **64**, 1383-1392.
- COZZI E., BHATTI F., SCHMOECKEL M., CHAVEZ G., SMITH K.G., ZAIDI A., BRADLEY J.R., THIRU S., GODDARD M., VIAL C., OSTLIE D., WALLWORK J., WHITE D.J., FRIEND P.J. Long-term survival of nonhuman primates receiving life-supporting transgenic porcine kidney xenografts. *Transplantation*, 2000, **70**, 15-21.
- COZZI E., BHATTI F., SCHMOECKEL M., CHAVEZ G., SMITH K.G., ZAIDI A., BRADLEY J.R., THIRU S., GODDARD M., VIAL C., OSTLIE D., WALLWORK J., WHITE D.J., FRIEND P.J. Long-term survival of nonhuman primates receiving life-supporting transgenic porcine kidney xenografts. *Transplantation*, 2001, **70**, 15-21.
- CRAMER D.V. Natural antibodies and the host immune responses to xenografts. *Xenotransplantation*, 2000, **7**, 83-92.
- CUNNINGHAM A. Future developments in transplantation. Cellular aspects of xenotransplantation. *Transplant Immunol.*, 2000, **2**, 160-168.
- DAGGETT C.W., YEATMAN M., LODGE A.J., CHEN E.P., VAN TRIGT P., BYRNE G.W., LOGAN J.S., LAWSON J.H., PLATT J.L., DAVIS R.D. Swine lungs expressing human complement-regulatory proteins are protected against acute pulmonary dysfunction in a human plasma perfusion model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1997, **113**, 390-398.
- DEACON T., SCHUMACHER J., DINSMORE J., THOMAS C., PALMER P., KOTT S., EDGE A., PENNEY D., KASSISSIEH S., DEMPSEY P., ISACSON O. Histological evidence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease. *Nat. Med.*, 1997, **3**, 350-353.
- DEHOUX J.P., HORI S., TALPE S., BAZIN H., LATINNE D., SOARES M.P., GIANELLO P. Specific depletion of preformed IgM natural antibodies by administration of anti-IgM monoclonal antibody suppresses hyperacute rejection of pig to baboon renal xenografts. *Transplantation*, 2000, **70**, 935-946.
- DEHOUX J.P., DE LA PARRA B., LATINNE D., BAZIN H., GIANELLO P. Characterization of baboon anti-porcine IgG antibodies during acute vascular rejection of porcine kidney xenograft. *Xenotransplantation*, 2002, **9**, 338-349.
- FRYER J.P., LEVENTHAL J.R., MATAS A.J. The emergence of xenotransplantation. *Transplant Immunol.*, 1995, **3**, 21-31.
- GALILI U., CLARK M.R., SHOHET S.B., BUEHLER J., MACHER B.A. Evolutionary relationship between the natural anti-Gal antibody and the Gal alpha 1----3Gal epitope in primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1987, **84**, 1369-1373.
- GALILI U., SHOHET S.B., KOBRIN E., STULTS C.L., MACHER B.A. Man, apes, and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells. *J. Biol. Chem.*, 1988, **263**, 17755-17762.
- GONWA T.A. *Transplantation*. Am. J. Kidney Dis., 2000, **35** : Suppl 1, S153-S159.
- GOOD A.H., COOPER D.K., MALCOLM A.J., IPPOLITO R.M., KOREN E., NEETHLING F.A., YE Y., ZUHDI N., LAMONTAGNE L.R. Identification of carbohydrate structures that bind human anti-porcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans. *Transplant. Proc.*, 1992, **24**, 559-562.
- HAMMER C., LINKE R., WAGNER F., DIEFENBECK M. Organs from animals for man. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1998, **116**, 5-21.
- HANCOCK W.W. Xenotransplantation: is this the future. *Sem. Nephrol.*, 2000, **20**, 217-229.
- KAWAI T., SACHS D.H., COSIMI A.B. Tolerance to vascularized organ allografts in large-animal models. *Curr. Opin. Immunol.*, 1999, **11**, 516-520.
- KORSGREN O. Acute cellular rejection. *Xenotransplantation*, 1997, **4**, 11-19.
- LAI L.X., KOLBER SIMONDS D., PARK K.W., CHEONG H.T., GREENSTEIN J.L., IM G.S., SAMUEL M., BONK A., RIEKE A., DAY B.N., MURPHY C.N., CARTER D.B., HAWLEY R.J., PRATHER R.S. Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer coning. *Science*, 2002, **295**, 1089-1092.
- LAMATTINA J. C., KUMAGAI N., BARTH R. N., YAMAMOTO S., KITAMURA H., MORAN S. G., MEZRICH J. D., SACHS D.H., YAMADA K. Vascularized thymic lobe transplantation in miniature swine: I. Vascularized thymic lobe allografts support thymopoiesis. *Transplantation*. 2002, **73**: 826-831.
- LAMBRIGTS D., MENARD M. T., ALEXANDRE G. P., FRANSSSEN C., MEURISSE M., VAN-CALSTER P., COIGNOUL F., MAWULAWDE K, CHOO J. K., YAMADA K, ERHORN A. E., SLISZ J. K., CHIOTELIS P., ARETZ H. T., SACHS D.H., MADSEN J.C. Creation of the "thymoheart" allograft: implantation of autologous thymus into the heart prior to procurement. *Transplantation*, 1998a, **66**, 810-814.
- LAMBRIGTS D., SACHS D.H., COOPER D.K.C. Discordant organ xenotransplantation in primates. World experience and current status. *Transplantation*, 1998b, **66**, 547-561.
- LANGAT D.K., MWENDA J.M. Potential risks of viral infections in xenotransplantation. *Acta Trop.*, 2001, **76**, 147-158.
- LEVENTHAL J.R., SAKIYALAK P., WITSON J., SIMONE P., MATAS A.J., BOLMAN R.M., DALMASSO A.P. The synergistic effect of combined antibody and complement depletion on discordant cardiac xenograft survival in nonhuman primates. *Transplantation*, 1994, **57**, 974-978.
- LIN S.S., WEIDNER B.C., BYRNE G.W., DIAMOND L.E., LAWSON J.H., HOOPES C.W., DANIELS L.J., DAGGETT C.W., PARKER W., HARLAND R.C., DAVIS R.D., BOLLINGER R.R., LOGAN J.S., PLATT J.L. The role of antibodies in acute vascular rejection of pig-to- baboon cardiac transplants. *J. Clin. Invest.*, 1998a, **101**, 1745-1756.

- LIN Y., GOEBELS J., XIA G., JI P., VANDEPUTTE M., WAER M. Induction of specific transplantation tolerance across xenogeneic barriers in the T-independent immune compartment. *Nat. Med.*, 1998b, **4**, 173-180.
- MAKOWKA L., CRAMER D.V., HOFFMAN A. Pig liver xenografting as a temporary bridge for human allografting. *Graft*, 1993, **1**, 27-29.
- MAKOWKA L., CRAMER D.V. The pathogenesis of xenograft rejection. *Clin. Transplant.*, 1994, **8**, 145-154.
- MAKOWKA L., WU G.D., HOFFMAN A., PODESTA L., SHER L., TUSO P.J., BREDI M., CHAPMAN F.A., COSENZA C., YASUNAGA C. Immunohistopathologic lesions associated with the rejection of a pig-to-human liver xenograft. *Transplant. Proc.*, 1994, **26**, 1074-1075.
- MICHAELS M.G. Xenotransplant-associated infections. *Lab. Anim. Sci.*, 1998, **48**, 228-232.
- MOLLNES T.E., FIANE A.E. Role of complement in xenotransplantation. *Allergy*, 2002, **57** : Suppl. **72**, 75-78.
- MORRIS P.J. *Xenotransplantation. Br. Med. Bull.*, 1999, **55**, 446-459.
- PATIENCE C., TAKEUCHI Y., WEISS R.A. Zoonosis in xenotransplantation. *Curr. Opin. Immunol.*, 1998, **10**, 539-542.
- PHELPS C. J., KOIKE C., VAUGHT T. D., BOONE J., WELLS K. D., CHEN S. H., BALL S., SPECHT S. M., POLEJAEVA I. A., MONAHAN J. A., JOBST P. M., SHARMA S. B., LAMBORN A. E., GARST A. S., MOORE M., DEMETRIS A. J., RUDERT W. A., BOTTINO R., BERTERA S., TRUCCO M., STARZL T. E., DAI Y., AYARES D. L. Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. *Science*, 2003, **299**, 411-414.
- PLATT J.L. A perspective on Xenograft Rejection and Accomodation. *Immunol. Rev.*, 1994, **141**, 127-149.
- PLATT J.L., LOGAN J.S. Use of transgenic animals in xenotransplantation. *Transplant. Rev.*, 1996, **10**, 69-77.
- PLATT J.L., LIN S.S., MCGREGOR C.G.A. Acute vascular rejection. *Xenotransplantation*, 1998, **5**, 169-175.
- PLATT J.L. Understanding the mechanism of hyperacute rejection. *Graft*, 2002, **4**, 8-9.
- POWELSON J., BAILIN M., BARTHOLOMEW A., BOSKEBICK S., COLVIN R., HONG H.Z., JOHNSON M., KIMIKAWA M., SABLINSKI T., WEE S.L., SACHS D., COSIMI A.B. A mixed chimerism approach to renal transplantation between concordant nonhuman primate species. *Transplant. Proc.*, 1996, **28**, 761-761.
- PRUITT S.K., KIRK A.D., BOLLINGER R.R., MARSH H.C., COLLINS B.H., LEVIN J.L., MAULT J.R., HEINLE J.S., IBRAHIM S., RUDOLPH A.R. The effect of soluble complement receptor type 1 on hyperacute rejection of porcine xenografts. *Transplantation*, 1994, **57**, 363-370.
- RAMIREZ P., CHAVEZ R., MAJADO M., MUNITIZ V., MUNOZ A., HERNANDEZ Q., PALENCIANO C.G., PINO CHAVEZ G., LOBA M., MINGUELA A., YELAMOS J., GAGO M.R., VIZCAINO A.S., ASENSI H., CAYUELA M.G., SEGURA B., MARIN F., RUBIO A., FUENTE T., ROBLES R., BUENO F.S., SANSANO T., ACOSTA F., RODRIGUEZ J.M., NAVARRO F., CABEZUELO J., COZZI E., WHITE D.J., CALNE R.Y., PARRILLA P. Life-supporting human complement regulator decay accelerating factor transgenic pig liver xenograft maintains the metabolic function and coagulation in the nonhuman primate for up to 8 days. *Transplantation*, 2002, **70**, 989-998.
- REEMTMA K. Xenotransplantation: a personal history. *Xenograft*, 1989, **25**, 7-16.
- ROZGA J., WILLIAMS F., RO M.S., NEUZIL D.F., GIORGIO T.D., BACKFISCH G., MOSCIONI A.D., HAKIM R., DEMETRIOU A.A. Development of a bioartificial liver: properties and function of a hollow-fiber module inoculated with liver cells. *Hepatology*, 1993, **17**, 258-265.
- SABLINSKI T., GIANELLO P.R., BAILIN M., BERGEN K.S., EMERY D.W., FISHMAN J.A., FOLEY A., HATCH T., HAWLEY R.J., KOZLOWSKI T., LORF T., MEEHAN S., MONROY R., POWELSON J.A., COLVIN R.B., COSIMI A.B., SACHS D.H. Pig to monkey bone marrow and kidney xenotransplantation. *Surgery*, 1997, **121**, 381-391.
- SACHS D.H., SABLINSKI T. Tolerance across discordant xenogeneic barriers. *Xenotransplantation*, 1995, **2**, 234-239.
- SCHMOECKEL M., BHATTI F.N., ZAIDI A., COZZI E., PINO CHAVEZ G., DUNNING J.J., WALLWORK J., WHITE D.J. *Xenotransplantation of pig organs transgenic for human DAF: an update. Transplant. Proc.*, 1997, **29**, 3157-3158.
- SEEBACH J.D., WANECK G.L. Natural killer cells in xenotransplantation. *Xenotransplantation*, 1997, **4**, 201-211.
- SHARABI Y., AKSENTIJEVICH I., SUNDT T.M.3., SACHS D.H., SYKES M. Specific tolerance induction across a xenogeneic barrier: production of mixed rat/mouse lymphohematopoietic chimeras using a nonlethal preparative regimen. *J. Exp. Med.*, 1990, **172**, 195-202.
- STARZL T.E., MARCHIORO T.L., PETERS G., KIRKPATRICK C.H., WILSON W.E.C., PORTER K.A. Renal heterotransplantation from baboon to man: experience with 6 cases. *Transplantation*, 1964, **2**, 752-776.
- STOYE J.P., LE TISSIER P., TAKEUCHI Y., PATIENCE C., WEISS R.A. Endogenous retroviruses: a potential problem for xenotransplantation? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, **862**, 67-74.
- TIBELL A., GROTH C.G., MOLLER E., KORSGREN O., ANDERSSON A., HELLERSTROM C. Pig-to-human islet transplantation in eight patients. *Transplant. Proc.*, 1994, **26**, 762-763.
- TOLLEMAR J., GROTH C.G., KORSGREN O., ANDERSSON A., BLOMBACK M., OLSSON P. Injection of xenogeneic endocrine pancreatic tissue into the portal vein--effects on coagulation, liver function, and hepatic hemodynamics. A study in the pig-to-dog model. *Transplantation*, 1992a, **53**, 139-142.

- TOLLEMAR J., GROTH C.G., KORSGREN O., ANDERSSON A., BLOMBACK M., OLSSON P. *Transplantation* of discordant xenogeneic endocrine pancreatic cell clusters into the liver: effects on coagulation, liver function, and hepatic hemodynamics. A safety study in the pig to dog model. *Transplant. Proc.*, 1992b, **24**, 665-666.
- VIAL C.M., OSTLIE D.J., BHATTI F.N., COZZI E., GODDARD M., CHAVEZ G.P., WALLWORK J., WHITE D.J., DUNNING J.J. Life supporting function for over one month of a transgenic porcine heart in a baboon. *J. Heart Lung Transplant.*, 2000, **224-229**.
- VIAL C.M., OSTLIE D.J., BHATTI F.N., COZZI E., GODDARD M., CHAVEZ G.P., WALLWORK J., WHITE D.J., DUNNING J.J. Life supporting function for over one month of a transgenic porcine heart in a baboon. *J. Heart Lung Transplant.*, 2001, 224-229.
- WATERWORTH P.D., COZZI E., TOLAN M.J., LANGFORD G., BRAIDLEY P., CHAVEZ G., DUNNING J., WALLWORK J., WHITE D. Pig-to-primate cardiac xenotransplantation and cyclophosphamide therapy. *Transplant. Proc.*, 1997, **29**, 899-900.
- WHITE S.A., NICHOLSON M.L. Xenotransplantation. *Br. J. Surg.*, 1999, **86**, 1499-1514.
- ZAIDI A., BHATTI F., SCHMOECKEL M., COZZI E., CHAVEZ G., WALLWORK J., WHITE D., FRIEND P. Kidneys from HDAF transgenic pigs are physiologically compatible with primates. *Transplantation Proc.*, 1998a, **30**, 2465-2466.
- ZAIDI A., SCHMOECKEL M., BHATTI F., WATERWORTH P., TOLAN M., COZZI E., CHAVEZ G., LANGFORD G., THIRU S., WALLWORK J., WHITE D., FRIEND P. Life-supporting pig-to-primate renal xenotransplantation using genetically modified donors. *Transplantation*, 1998b, **65**, 1584-1590.
- ZHAO Y., RODRIGUEZ-BARBOSA J. I., SWENSON K., BARTH R. N., SHIMIZU A., ARN J. S., SACHS D. H., SYKES M. The induction of specific pig skin graft tolerance by grafting with neonatal pig thymus in thymectomized mice. *Transplantation*, 2000, **69**, 1447-1451.