

MALWINA KŁOS I MAREK MALESZEWSKI 

Autor korespondencyjny/corresponding author: ma.maleszewski@uw.edu.pl

Zakład Embriologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, Polska

Department of Embryology, Faculty of Biology, University of Warsaw, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warsaw, Poland

Zwierzęta modyfikowane genetycznie jako źródła organów do ksenotransplantacji

Genetically modified animals as sources of organs for xenotransplantation

DOI: <https://doi.org/10.12775/KOSMOS.2025.004>

Abstrakt

Celem niniejszego artykułu jest przegląd danych literaturowych oraz podsumowanie aktualnego stanu wiedzy na temat zwierząt, które mogą stanowić potencjalne źródło narządów do ksenotransplantacji. Ksenotransplantacja, rozumiana jako przeszczepianie tkanek lub narządów pomiędzy przedstawicielami różnych gatunków była przedmiotem badań od wielu lat. Pomimo rozważania innych gatunków jako potencjalnych dawców obecnie największe zainteresowanie budzi świnia (*Sus domesticus*), choć genetycznie różna od człowieka, wykazuje wiele cech sprzyjających temu zastosowaniu. Aby zminimalizować ryzyko odpowiedzi immunologicznej biorcy i odrzutu przeszczepu, stosuje się modyfikacje genetyczne zwierząt. Rozwój techniki genetyki molekularnej umożliwił szybkie i precyzyjne uzyskiwanie zmodyfikowanych zwierząt, których narządy są bardziej kompatybilne z ludzkim układem immunologicznym. Ksenotransplantacja postrzegana jest jako jedno z potencjalnych rozwiązań narastającego problemu niedoboru narządów do przeszczepów, związanego ze starzeniem się społeczeństw oraz wzrostem populacji. Praca ta analizuje zalety i ograniczenia ksenotransplantacji uwzględniając zarówno aspekty techniczne jak i etyczne. Przedstawiono dotychczasowy rozwój tej dziedziny, w tym historie badań, potencjalne komplikacje związane z ksenoprzeszczepami, szczególnie dotyczące modyfikacji zwierząt oraz omówiono najnowsze osiągnięcia, w tym przeprowadzone już eksperymentalne przeszczepy u ludzi.

Słowa kluczowe: ksenotransplantacja, transplantacje serca, transplantacja nerek, zwierzęta modyfikowane genetycznie, świnia, odrzucenie przeszczepu

Abstract

The aim of this article is to review the literature and summarize the current state of knowledge on animals that may serve as potential sources of organs for xenotransplantation. Xenotransplantation, understood as the transplantation of tissues or organs between individuals of different species, has been the subject of research for many years. Although various species have been considered as potential donors, the pig (*Sus domesticus*) currently garners the most interest. Despite its genetic differences from humans, it possesses many traits that favor its use in this context. To minimize the risk of immune response and graft rejection, genetic modifications of donor animals are applied. The development of molecular genetics techniques has enabled the rapid and precise creation of genetically modified animals whose organs are more compatible with the human immune system. Xenotransplantation is viewed as a potential solution to the growing problem of organ shortages for transplantation, which is associated with aging populations and population growth. This paper analyzes the advantages and limitations of xenotransplantation, taking into account both technical and ethical aspects. It presents the historical development of the field, potential complications related to xenografts, details concerning animal modifications, and discusses the latest advances, including experimental transplants already conducted in humans.

Keywords: xenotransplantation, heart transplantation, kidney transplantation, genetically modified animals, pig, graft rejection

WPROWADZENIE

Niedobór narządów do przeszczepów stanowi obecnie jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny co skłania do poszukiwania alternatywnych rozwiązań w zakresie transplantologii. Jednym z takich podejść jest ksenotransplantacja, definiowana jako procedura polegająca na przeszczepianiu, implantacji lub infuzji żywych komórek, tkanek bądź narządów pochodzenia zwierzęcego do ludzkiego biorcy. Definicja ksenotransplantacji obejmuje również przypadki, w których ludzkie płyny ustrojowe, komórki, tkanki lub narządy, miały kontakt *ex vivo* z żywymi komórkami, tkankami, płynami bądź narządami zwierzęcymi. Ponadto w zakres ksenotransplantacji wchodzi biomateriały pochodzenia zwierzęcego, takie jak zastawki serca, naczynia krwionośne czy ścięgna pozyskane od zwierząt innych niż człowiek (Fishman i in. 2012).

Ksenotransplantacja może odegrać istotną rolę w rozwiązywaniu problemu niedoboru narządów do przeszczepów, oferując niemal nieograniczony dostęp do odpowiednich organów i tkanek, dostosowanych do indywidualnych potrzeb pacjentów. Szczególnie istotne jest to w przypadku niemowląt oraz małych dzieci, które wymagają narządu o mniejszych rozmiarach.

Niedobór dawców narządów będzie się prawdopodobnie nasilał w związku z postępującym starzeniem się populacji w wielu krajach, co dodatkowo podkreśla znaczenie alternatywnych rozwiązań, takich jak ksenotransplantacja (Cleveland i in. 2023).

Ksenotransplantacja mogłaby również przyczynić się do rozwiązania niektórych etycznych dylematów związanych z tradycyjną transplantologią. Przykładowo, umożliwiłaby udzielanie pomocy osobom starszym lub pacjentom z niskimi szansami na wyzdrowienie, którzy w obecnym systemie są często uznawani za zbyt ryzykownych kandydatów do przeszczepów. Dzięki możliwości pozyskiwania narządów od zwierząt, każdy pacjent wymagający transplantacji mógłby potencjalnie otrzymać odpowiedni organ, niezależnie od prognozy zdrowotnej (Kupiec-Weglinski 2022).

Warto podkreślić, że niektóre schorzenia, takie jak ostre niewydolności narządów wymagają natychmiastowego przeszczepu. Obecnie brak jest urządzeń zdolnych do długotrwałego podtrzymywania funkcji takich organów jak wątroba, co czyni interwencję chirurgiczną jedyną możliwością ratunku. Ksenotransplantacja niewątpliwie mogłaby znacząco skrócić czas oczekiwania na odpowiedni narząd, zmniejszając ryzyko, że pacjent nie doczeka przeszczepu

lub ograniczając czas hospitalizacji i związane z nim obciążenia dla pacjenta i systemu opieki zdrowotnej (Patel i in. 2017).

Dodatkowo ksenotransplantacja mogłaby zrewolucjonizować leczenie przewlekłych schorzeń, takich jak cukrzyca czy niewydolność nerek, eliminując konieczność długotrwałego stosowania terapii zastępczych, jak dializa czy codzienne podawanie leków. Dzięki zastosowaniu narządów pochodzenia zwierzęcego, pacjenci mogliby uniezależnić się od czasochłonnych procedur medycznych oraz rygorystycznych diet, co znacząco wpłynęłoby na poprawę jakości ich życia i umożliwiło większą swobodę w codziennym funkcjonowaniu (Matsumoto i in. 2025).

Jedną z kluczowych zalet ksenotransplantacji jest możliwość pozyskiwania narządów wolnych od defektów charakterystycznych dla organów pobranych od zmarłych dawców. Narządy te często wykazują zmiany związane z procesami metabolicznymi, histopatologicznymi i hormonalnymi, które zachodzą w organizmie po śmierci mózgu. W warunkach niedoboru organów, lekarze zmuszeni są często do wykorzystania narządów o obniżonej jakości, co może negatywnie wpływać na wyniki leczenia. Ksenotransplantacja stanowiłaby rozwiązanie tego problemu, zapewniając dostęp do organów o wysokiej i przewidywalnej jakości, zwiększając tym szanse na powodzenie transplantacji (Sykes i Sachs 2019).

Ksenotransplantacja może również przyczynić się do zmniejszenia ryzyka przenoszenia chorób, gdyż narządy zwierzęce mogłyby być poddane bardziej szczegółowym i kontrolowanym badaniom przed przeszczepem. W przeciwieństwie do organów ludzkich, które ze względu na ograniczony czas ich przydatności do transplantacji muszą być szybko przenoszone do ciała biorcy, narządy pochodzące od zwierząt mogą być dokładniej analizowane pod kątem obecności pasożytów, mikroorganizmów czy innych potencjalnych patogenów. Dzięki temu procedura transplantacji mogłaby być bezpieczniejsza dla pacjenta i obciążona mniejszym ryzykiem powikłań infekcyjnych (Fishman 2019).

Ksenotransplantacja mogłaby również skutecznie rozwiązać problemy związane z niezgodnością antygenów ludzkich leukocytów (HLA/MHC), które często stanowią istotną przeszkodę w znalezieniu odpowiedniego dawcy. Co więcej, w sytuacji odrzucenia narządu pochodzenia zwierzęcego, pacjent nadal miałby możliwość poddania się standardowej transplantacji od ludzkiego dawcy, co zwiększałoby jego szanse na skuteczne leczenie. Dodatkową korzyścią jest możliwość eliminacji niezgodności w układzie grup krwi AB0, co znacząco ułatwiłoby dopasowanie organów i zwiększyłoby dostępność przeszczepów (Cooper i in. 2015; Smood i in. 2019).

Ksenotransplantacja niesie ze sobą również istotne korzyści społeczne. Zapewnianie większej dostępności narządów oraz skrócenie czasu hospitalizacji i leczenia mogłoby prowadzić do znacznego obniżenia kosztów ponoszonych przez pacjentów, a także zmniejszenie obciążeń finansowych dla systemu publicznej opieki zdrowotnej. Ponadto upowszechnienie tej metody mogłoby skutecznie ograniczyć problem nielegalnego handlu narządami, ponieważ ksenotransplantacja stałaby się bardziej przystępnym i opłacalnym rozwiązaniem, eliminując tym samym ekonomiczne motywacje stojące za tym procederem (Vasudev i Cooper 2025).

HISTORIA KSENOTRANSPLANTACJI

Już w czasach starożytnych pojawiały się koncepcje przeszczepiania organów i części ciała, a wokół tego tematu narosło wiele legend o rzekomo udanych operacjach. Jedną z najwcześniejszych takich opowieści dotyczy Sushruty, indyjskiego chirurga, który miał wykonywać przeszczepy fragmentów skóry w celu rekonstrukcji utraconego nosa (Ray, P i in. 1980). Podobne wzmianki pojawiają się w zapisach dotyczących Hua-To, chińskiego chirurga żyjącego w II wieku n.e., któremu przypisywano zdolność zastępowania chorych narządów zdrowymi (Kuss i Bourget 1992). W Europie znana jest legenda o dwóch rzymskich lekarzach, Kosmie i Damianie, późniejszych świętych Kościoła katolickiego i prawosławnego, którym przypisy-

wano dokonanie amputacji nogi i zastąpienie jej kończyną zmarłego mężczyzny (Rinaldi 1987). Choć historie te odzwierciedlają odwieczne dążenie do ratowania zdrowia i życia za pomocą przeszczepów, wydaje się mało prawdopodobne, aby którakolwiek z opisanych operacji zakończyła się sukcesem, zważywszy na ograniczenia wiedzy medycznej i technologiczne możliwości tamtych czasów.

Idea ksenotransplantacji pojawiła się znacznie później niż koncepcje przeszczepiania narządów ludzkich. Jednymi z pierwszych pionierów w tej dziedzinie byli nadworny lekarz króla Ludwika XIV Jean-Baptiste Denisi i chirurg Paul Emmeraz, którzy w roku 1667 postanowili przetoczyć krew jagnięcia 15-letniemu chłopcu cierpiącemu na gorączkę i znacznie wykrwawionemu po zabiegach upuszczania krwi. Według ówczesnych relacji pacjent został wyleczony co zachęciło lekarzy do kolejnych eksperymentów (Farr 1980). W jednym z nich pacjentowi cierpiącemu na chorobę psychiczną również przetoczono krew jagnięcia mając nadzieję na poprawę jego stanu. Niestety po trzeciej transfuzji pacjent zmarł (Deschamps i in. 2005).

W następnych latach i wiekach podejmowano liczne próby transfuzji krwi zwierzęcej do człowieka, z których część miała zakończyć się sukcesem a inne niepowodzeniem. Przełomowe badania na początku XIX wieku przeprowadził szkocki lekarz – John Henry Leacock, który w doświadczeniach prowadzonych na zwierzętach wykazał, że dawca i biorca powinni należeć do tego samego gatunku, sugerując możliwość transfuzji międzyludzkiej (McLaughlin 1959). Mimo istotności tych obserwacji wnioski z nich płynące nie zostały wówczas powszechnie uznane, a transfuzje krwi zwierzęcej kontynuowano przez kolejne dziesięciolecia. Eksperymenty z przeszczepami obejmowały także inne tkanki niż krew. Na przykład w XVII wieku odnotowano przypadek naprawy ludzkiej czaszki za pomocą kości psa (Haeseker 1991) a jeszcze wcześniej, w 1501 r. podobną procedurę przeprowadził pewien irański chirurg (Cope 1967).

Eksperymenty na zwierzętach dostarczyły cennych wniosków dotyczących przeszczepów

międzygatunkowych. W roku 1804 włoski lekarz Giuseppe Baronio przeszczepił skórę z jednej owcy na drugą a także wykazał, że przeszczepy międzygatunkowe, na przykład między krową a kłaczą są niemożliwe (Kuss i Bourget 1992). W 1863 r. francuski lekarz Paul Bert opublikował rozprawę doktorską, w której udowodnił możliwość autotransplantacji wykazując, że ogon szczura przeszczepiony pod skórę tego samego zwierzęcia może przeżyć. Jednocześnie stwierdził, że krzyżowe połączenie układów krążenia krwi między dwoma osobnikami należącymi do różnych gatunków prowadzi do ich śmierci, co miało miejsce w jego eksperymencie na szczurach i świniach. Na tej podstawie Bert zalecił aby unikać transplantacji międzygatunkowej u ludzi (Keys 1973).

Mimo tych ostrzeżeń, sporadyczne próby ksenotransplantacji u ludzi nadal były kontynuowane. W 1893 r. Williams przeszczepił dziecku choremu na cukrzycę fragmenty trzustki owcy. Przez trzy dni obserwowano spadek zawartości cukru w moczu jednak ostatecznie dziecko zmarło (Deschamps i in. 2005). Te eksperymenty, choć zwykle zakończone niepowodzeniem, przyczyniły się do rozwoju wiedzy w zakresie ksenotransplantacji i wyznaczyły kierunki dalszych badań.

Interesującym przypadkiem w historii transplantologii były eksperymenty z przeszczepami jąder. Jednym z pionierów w tej dziedzinie był pracujący w USA a także we Francji i Wielkiej Brytanii lekarz Charles-Edouard Brown-Séquard, który w 1889 r. wstrzyknął sobie podskórnie wodny ekstrakt uzyskany z rozgniecionych jąder kawii domowej oraz psa. Sugerowano, że zabieg ten przyczynił się do poprawy jego sprawności fizycznej (Schultheiss i in. 1997). Kolejnym prekursorem był francuski chirurg pochodzenia rosyjskiego Serge Voronoff, który od roku 1920 przeprowadzał przeszczepy fragmentów jąder małp człekokształtnych do moszny mężczyzn (Augier i in. 1996). Według doniesień zabiegi te miały być skuteczne, a w ciągu dekady wykonano je u 500 pacjentów. Voronoff stosował podobne zabiegi u kobiet, przeszczepiając fragmenty jajników, co miało na celu łagodzenie objawów menopauzy. Do momentu

jego śmierci w 1951 r. tkanki małp przeszczepiono łącznie około dwóm tysiącom pacjentów (Deschamps i in. 2005). Współczesne badania sugerują, że sukces jego terapii mógł być związany z właściwościami immunosupresyjnymi komórek Sertolego, które występują w jądrach i mogą chronić przeszczepione tkanki przed odrzuceniem przez układ immunologiczny biorcy (Kaur i in. 2015).

Nerka jest narządem stosunkowo łatwym do przeszczepiania ze względu na jej prostą budowę naczyniową (ma jedną tętnicę) oraz możliwość szybkiej oceny jej funkcji na podstawie produkcji moczu. Z tego powodu większość współczesnych eksperymentów w zakresie transplantologii skupiała się właśnie na tym organie. Jednym z najbardziej znanych przypadków był przeszczep wykonany w 1906 r. przez Mathieu Jaboulaya, który po udoskonaleniu techniki zespolenia naczyniowego przeszczepił nerkę świni do zgięcia łokciowego kobiety. W innym eksperymencie zastosował tę samą metodę, przeszczepiając nerkę kozy. W obu przypadkach wynik był identyczny – doszło do zakrzepicy, co wymagało usunięcia przeszczepionych narządów (Deschamps i in. 2005).

Wielu uważa, że były to pierwsze rzeczywiste eksperymenty z zakresu ksenotransplantacji. Po kilku podobnych próbach w różnych krajach, dalsze eksperymenty zostały jednak wstrzymane. Powodem było zrozumienie mechanizmów immunologicznego odrzucania przeszczepionych narządów przez organizm biorcy, co uznano za przeszkodę nie do pokonania w ówczesnych warunkach wiedzy i technologii.

Ponowne zainteresowanie ksenotransplantacją nastąpiło w latach 60. W 1961 r. Gorer zaproponował zastąpienie używanego do tej pory terminu „heterotransplantacja” określeniem „ksenotransplantacja” w odniesieniu do przeszczepów wykonywanych między osobnikami należącymi do dwóch różnych gatunków (Gorer i in. 1961).

W 1968 r. brytyjski chirurg Calne przeprowadził ksenotransplantację wątroby ze świni do pawiana (Calne i in. 1968). Rok później Bertoye i Marion podjęli próbę przeszczepienia wątroby pawiana kobiecie, która po operacji przeży-

ła ponad 4 miesiące (Deschamps i in. 2005). Podobna procedura została przeprowadzona w 1971 r. przez Pouyeta i Berarda, jednak ich dwie pacjentki zmarły po dwóch dniach od operacji (Pouyet i Berard 1971).

Jednym z bardziej znanych przypadków była próba przeszczepu serca małpy człękokształtnej u dwóch pacjentów w 1977 r., przeprowadzona przez Barnarda. Pierwsza pacjentka zmarła po pięciu godzinach z powodu odrzucenia nadostrego, natomiast drugi pacjent zmarł po czterech dniach mimo zastosowanej immunosupresji (Barnard i in. 1977). Te przypadki stanowią ważny etap w historii ksenotransplantacji, mimo że wskazały na istotne trudności związane z odrzucaniem przeszczepionych narządów oraz ograniczenia ówczesnych metod immunosupresyjnych.

Prawdziwym przełomem w transplantologii było odkrycie cyklosporyny w 1976 r. przez Borela. Cyklosporyna będąca silnym lekiem immunosupresyjnym, znacząco zmniejszyła ryzyko odrzucania przeszczepów (Borel i in. 1976). To odkrycie umożliwiło rozwój rutynowych transplantacji między ludźmi, które dzięki skutecznej immunosupresji stały się coraz bardziej powszechne i efektywne.

Jednym z najbardziej medialnych przypadków ksenotransplantacji była operacja przeprowadzona 26 października 1984 r. na niemowlęciu znanym jako Baby Fae. Bailey dokonał wówczas przeszczepu serca pawiana u dwunastodniowej dziewczynki, wcześniaka z zespołem niedorozwoju lewego serca (ang.: *hypoplastic left heart syndrome* – HLHS) (Bailey i in. 1985). Pomimo niezgodności w układzie AB0, wszystkie inne kluczowe czynniki sprzyjały powodzeniu zabiegu. Pacjentka, będąc immunologicznie niedojrzała, została poddana terapii immunosupresyjnej cyklosporyną, a serce pawiana było odpowiedniej wielkości i wstępnie wykazywało słabą odpowiedź immunologiczną u biorcy. Po operacji serce funkcjonowało prawidłowo przez jedenaście dni jednak w końcu wskutek odrzucenia przeszczepu dziecko zmarło (Bailey i in. 1985).

Chociaż wydarzenie to mogło sugerować koniec eksperymentów z ksenotransplantacją,

temat powrócił kilka lat później dzięki Starzłowi, zainspirowanemu wprowadzeniem nowego leku immunosupresyjnego takrolimusu (Warty i in. 1988). Starzl w 1992 r. przeprowadził przeszczep wątroby pawiana u pacjenta, który przeżył aż siedemdziesiąt dni (Starzl i in. 1993). Rok później Starzl przeszczepił wątrobę pawiana 62-letniemu mężczyźnie, jednak pacjent nigdy nie odzyskał przytomności i zmarł dwadzieścia sześć dni po operacji (Starzl i in. 1994).

W 1992 r. Zbigniew Religa przeszczepił serce świni mężczyźnie, jednak pacjent zmarł po dwudziestu trzech godzinach, co przypisano niewystarczającej wielkości przeszczepionego serca (Czaplicki i in. 1992). W 1996 r. Baruah dokonał przeszczepu serca świni u 32-letniego mężczyzny z ubytkiem przegrody międzykomorowej. Pacjent przeżył siedem dni, ale zmarł z powodu wstrząsu septycznego (Deschamps i in. 2005). Mimo to hinduski chirurg kontynuował badania. Cztery lata później podał ponad pół litra krwi świni 22-letniemu pacjentowi cierpiącemu na ciężką anemię. Cztery tygodnie później pacjent został wypisany ze szpitala, a wyniki badań wykazały obecność komórek krwi pochodzenia zwierzęcego w jego krwioobiegu (Deschamps i in. 2005).

PRZYCZYNY ODRZUCENIA PRZESZCZEPU

Uwzględniając współczesny stan wiedzy na temat mechanizmów odrzucenia przeszczepów, opisy osiągnięć badaczy z wcześniejszych epok budzą tym większe wątpliwości. Proces odrzutu przeszczepu może zachodzić w wyniku czterech odrębnych zjawisk, które wzajemnie ze sobą oddziałują, tworząc złożoną sieć interakcji.

Pierwszym rodzajem odrzutu przeszczepu jest odrzucenie nadostre (ang.: *Hyperacute Graft Rejection* – HAR), które należy do mechanizmów humoralnych. Występuje ono od kilku minut do kilku godzin po przeszczepieniu, a jego przyczyną są przeciwciała naturalnie obecne w krwioobiegu biorcy (Cooper i in. 1988). Przeciwciała te rozpoznają i wiążą się z ksenoantigenami ekspresowanymi na komórkach śródbłonna przeszczepionego narządu. Kluczowym antygenem uznawanym za inicjatora tego pro-

cesu jest α -Gal (galaktoza- α 1,3-galaktoza), produkowany przez enzym galaktozylotransferazę (GGTA1), który występuje u świń ale nie u ludzi ani u małej Starego Świata (Galili i in. 1988).

W krwi człowieka około 1% krążących przeciwciał skierowanych jest przeciwko epitopom α -Gal, które pojawiają się już w okresie noworodkowym (Galili 1993). Wiązanie tych przeciwciał z α -Gal inicjuje kaskadę aktywacji białek dopełniacza, prowadzącą do dalszej aktywacji komórek układu odpornościowego. W efekcie dochodzi do uszkodzenia komórek śródbłonna oraz naczyń krwionośnych, co ostatecznie skutkuje odrzuceniem przeszczepu w wyniku zakrzepicy. Proces ten jest wynikiem współdziałania przeciwciał i końcowych produktów dopełniacza oraz krwotoku (Schuurman i in. 2003).

Dowiedziano, że można uniknąć odrzutu nadostrego poprzez usunięcie przeciwciał i zahamowanie aktywacji dopełniacza u biorcy za pomocą plazmaferezy, czyli procedury separacji osocza od niepożądanych składników krwi (Kobayashi i in. 1997). Zastosowanie tej metody pozwala na wydłużenie przeżycia przeszczepu nawet do tygodnia.

Niestety, po powrocie poziomu przeciwciał do wartości wyjściowych dochodzi do niewydolności przeszczepu i wystąpienia kolejnego mechanizmu – ostrego humoralnego odrzucenia ksenograftu (ang.: *Humoral Xenograft Rejection* – AHXR) określanego również jako „ostre odrzucenie naczyńiowe” lub „opóźnione odrzucenie ksenograftu”. Proces ten obejmuje zarówno odpowiedź humoralną, związaną z obecnością przeciwciał jak i odpowiedź komórkową, w której biorą udział limfocyty T, makrofagi oraz inne komórki układu odpornościowego, a także towarzyszący stan zapalny (Gollackner i in. 2004). Podobnie jak w przypadku odrzutu nadostrego (HAR) efektem końcowym są krwotoki i zakrzepica, dodatkowo z nasilonym odkładaniem się immunoglobulin i płytek krwi w obrębie naczyń (Chen i in. 2005).

Odrzucenie komórkowe przeszczepu (ang.: *Cellular Xenograft Rejection*) jest trzecim rodzajem odrzucenia, pojawiającym się zwykle później niż HAR i AHXR. Zazwyczaj występuje po kilku tygodniach od transplantacji. Mechanizm

ten jest wynikiem aktywacji komórek układu odpornościowego, takich jak komórki NK (*natural killer*), makrofagi, neutrofile, komórki dendrytyczne oraz limfocyty T i B (Zhou i in. 2022).

Dysregulacja procesu krzepnięcia również stanowi jedną z głównych przeszkód w eliminacji ryzyka odrzucenia przeszczepu. Zaburzenia te prowadzą do rozwoju mikroangiopatii zakrzepowej, której cechą charakterystyczną jest odkładanie fibryny oraz agregacja płytek krwi. W konsekwencji dochodzi do zakrzepicy naczyń krwionośnych przeszczepu, co skutkuje niedokrwieniem i wtórnym uszkodzeniem narządu (Bühler i in. 2000).

Kontrola procesu krzepnięcia, szczególnie w kontekście ksenotransplantacji, jest niezwykle trudna ze względu na jego złożoność. Fizjologiczne krzepnięcie przebiega w sposób ciągły, jednak pozostaje w równowadze dzięki działaniu antykoagulantów (Furie i Furie 2008). W przypadku ksenotransplantacji aktywowane przeciwciała oraz komórki śródbłónka prowadzą do zmiany fenotypu śródbłónka z przeciwzakrzepowego na prozakrzepowy (Pierson i in. 2009).

Kluczowym elementem tego procesu jest uwalnianie czynnika tkankowego (ang.: *Tissue factor* – TF), który aktywuje kaskadę krzepnięcia, prowadząc do aktywacji trombiny. Trombina z kolei katalizuje tworzenie nierozpuszczalnej fibryny, co przyczynia się do powstawania zakrzepów (Furie i Furie 2008). Dodatkowo, infiltracja uszkodzonej tkanki przez komórki układu odpornościowego nasila uszkodzenia przeszczepionego narządu (Pierson i in. 2009). Warto również podkreślić, że różnice na poziomie molekularnym między organizmem ludzkim a świnia, takie jak odmienna struktura trombiny oraz nieskuteczna dezaktywacja czynnika TF dodatkowo pogłębiają problem (Cowan i d'Apice 2009; Roussel i in. 2008).

GENETYCZNE MODYFIKACJE DAWCÓW ZWIERZĘCYCH

Ze względu na liczne bariery immunologiczne i złożoność procesu ksenotransplantacji konieczne jest opracowanie zróżnicowanych strategii dla różnych form odrzucania oraz ich

integracja w spójny system, minimalizujący ryzyko odrzucenia przeszczepu. Kluczowym rozwiązaniem w tym zakresie jest hodowla genetycznie zmodyfikowanych świń, co pozwala na eliminację wielu czynników odpowiedzialnych za niepowodzenie transplantacji. Postęp w dziedzinie ksenotransplantacji w dużej mierze wynika z rozwoju zaawansowanych technik inżynierii genetycznej, takich jak CRISPR/Cas9, które umożliwiają precyzyjne modyfikacje genetyczne zwierząt. Dzięki tym narzędziom możliwe jest dostosowanie genotypu dawców do wymagań immunologicznych biorców, co znacząco zwiększa szanse na powodzenie transplantacji (Eisson i in. 2022).

Zwierzęta uznawane za najbardziej odpowiednich dawców narządów dla ludzi to naczelnne inne niż człowiek (ang.: *Non-human Primates* – NHP). Wynika to z ich bliskiego pokrewieństwa filogenetycznego z ludźmi. Jednakże wykorzystanie NHP napotyka na szereg istotnych przeszkód. Po pierwsze, ze względu na ich wysoką inteligencję i bliskie pokrewieństwo z ludźmi, takie praktyki budzą poważne kontrowersje etyczne. Po drugie koszty utrzymania hodowli naczelnych są znacznie wyższe w porównaniu do innych gatunków, a ich niska wydajność reprodukcyjna stanowi dodatkowe ograniczenie. Ponadto młode wymagają długiego okresu opieki – np. u szympanсів trwa on co najmniej rok.

Kolejną barierą jest trudność wprowadzania modyfikacji genetycznych u naczelnych oraz ryzyko związane z bezpieczeństwem biologicznym. NHP dzielą z ludźmi liczne choroby zakaźne, co zwiększa ryzyko przeniesienia zarówno znanych patogenów, jak i nowych, potencjalnie groźnych wirusów. Najbardziej znanym przykładem takiej zoonozy jest choroba AIDS, którą wywołuje wirus HIV. Jedną z teorii jego pochodzenia wskazuje na przeniesienie wirusa z szympanсів na ludzi w wyniku kontaktu krwi podczas polowań (Daar 1997).

Ze względu na wyżej omówione zagrożenia, NHP obecnie nie są uważane za preferowanych dawców narządów dla ludzi. Niemniej jednak odgrywają ważną rolę w badaniach nad ksenotransplantacją, będąc biorcami organów

od potencjalnych dawców dla człowieka, takich jak świnie. Do tego celu w ostatnim czasie najczęściej używane są pawiany.

W ostatnich kilkunastu latach świnie zyskały status najczęściej wykorzystywanych zwierząt w ksenotransplantacjach. Uważa się je za najlepszych potencjalnych dawców ze względu na ich stosunkowo bliskie pokrewieństwo z ludźmi. Ich hodowla jest relatywnie łatwa, a proces rozrodczy bardzo efektywny – mioty są liczne, a młode szybko dojrzewają i mogą zostać oddzielone od matki już po około pięciu tygodniach (Meier i in. 2021). Istotną zaletą jest również wielkość narządów świni, która w ciągu około sześciu miesięcy osiąga rozmiary zbliżone do ludzkich (Cooper i in. 2018). Ponadto zwierzęta te wykazują znaczące podobieństwo fizjologiczne do człowieka np. w kwestii przebudowy kości czy funkcjonowania nerek (Hansen-Estruch i in. 2022).

Choć świnie są uznawane za stosunkowo bezpieczne pod względem przenoszenia chorób odzwierzęcych, nie są jednak całkowicie pozbawione tego ryzyka, co stanowi kluczowy obszar badań w kontekście ich wykorzystania w ksenotransplantacji. Największe obawy budziły dotychczas retrowirusy endogenne (PERV, ang.: *Porcine Endogenous Retroviruses*). Są one zintegrowane z genomem świni w wielu kopiach, a ich liczba różni się w zależności od ras świń i narządów, wahając się od 1 do ponad 100 ((Fiebig i in. 2018; Tönjes i Niebert 2003). Dotychczas opisano trzy typy zakaźnych PERV: PERV-A, PERV-B i PERV-C (Ericsson i in. 2001). Różnią się one powinowactwem do odmiennych receptorów i zakresem gospodarzy. PERV-A i PERV-B występują u wszystkich ras świń, podczas gdy PERV-C ogranicza się do wybranych ras (Blusch i in. 2002). W warunkach *in vitro* wykazano, że typy A i B mogą zakażać ludzkie komórki, jednak doniesienia wskazują, że ich zdolność do infekowania jest ograniczona w przypadku niektórych typów komórek z powodu braku funkcjonalnego receptora na większości ich powierzchni (Denner 2021).

Dotychczas nie odnotowano przypadków zakażenia wirusami PERV u ludzi, ani u naczel-

nych. Jednak badania wykazały, że rekombinowany wirus PERV-A/C charakteryzuje się zwiększoną zdolnością do infekowania komórek ludzkich (Denner 2008). W związku z tym Międzynarodowe Stowarzyszenie Ksenotransplantacji zaleca, aby świnie wykorzystywane jako dawcy narządów były wolne od PERV-C (Hawthorne i in. 2019).

Dezaktywację PERV można osiągnąć poprzez zastosowanie interferencyjnego RNA lub precyzyjnych modyfikacji genetycznych z wykorzystaniem technologii CRISPR/Cas9 (Ramsoondar i in. 2009; Yang i in. 2015). Yang i współpracownicy wykazali, że modyfikacje te skutecznie zmniejszają transmisję PERV do komórek ludzkich *in vitro* (Yang i in. 2015). Dwa lata później z powodzeniem inaktywowano wszystkie PERV w pierwotnej linii komórkowej świń i wyhodowano zdrowe zwierzęta pozbawione PERV przy użyciu transferu jądra komórki somatycznej (ang.: *Somatic cell nuclear transfer* – SCNT) (Niu i in. 2017), co potencjalnie eliminuje ryzyko zakażenia PERV w ksenotransplantacji.

Mimo tych osiągnięć nadal istnieją obawy dotyczące podatności zmodyfikowanych genetycznie świń na ponowne zakażenie. Ostatnie badania wykazały, że linia komórkowa PK15 z inaktywowanymi za pomocą CRISPR/Cas9 genami PERV nadal produkowała uszkodzone, niezakaźne cząsteczki wirusowe, a modyfikacje chroniły komórki przed reinfekcją (Godehardt i in. 2020; Mueller i in. 2004a). Jednak obserwacje te trwały maksymalnie 55 dni, co pozostawia otwarte pytania dotyczące długoterminowej ochrony. Stałe monitorowanie zwierząt z inaktywacją PERV pozostaje niezbędne, aby zapewnić pełne bezpieczeństwo biorcom ksenotransplantantów.

Potencjalnym zagrożeniem dla biorców ksenotransplantantów są też cztery rodziny herpeswirusów, z których najważniejszym jest wirus cytomegalii świń (ang.: *Porcine Cytomegalovirus* – PCMV). Badania wykazały, że PCMV może być przenoszony ze świń na naczelne podczas ksenotransplantacji, powodując chorobę w przeszczepionym narządzie oraz obecność wirusowego DNA w tkankach biorcy (Mueller

i in. 2004b). Autorzy tych badań wskazują jednak, że wirus ten nie wywołuje choroby systemowej u biorców. W odróżnieniu od PERV, zarażeniu PCMV można zapobiec poprzez wczesne odstawienie prosiąt od mleka matki (Mueller i in. 2004a).

Kolejne trzy rodziny wirusów mogących budzić obawy zakażenia to wirusy limfotropowe świń (ang.: *Porcine lymphotropic herpesviruses* – PLHV-1, PLHV-2 i PLHV-3). Spośród nich jedynie PHLV-1 może powodować zespół limfoproliferacyjny, podobny do potransplantacyjnej limfoproliferacyjnej choroby u świń po przeszczepie szpiku kostnego. Nie zaobserwowano jednak takich powikłań po ksenotransplantacji u naczelnych (Mueller i in. 2004a). Niestety, brak badań klinicznych uniemożliwia dokładną ocenę ryzyka zakażenia tymi wirusami. W przypadku wprowadzenia ksenotransplantacji jako standardowej metody konieczne będzie ustanowienie krajowego jak i międzynarodowego systemu nadzoru nad chorobami potencjalnie przenoszonymi na ludzi.

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej informacje, świnię jako gatunek – dawca oraz model ksenotransplantacyjny oparty na badaniach z wykorzystywaniem świń jako dawców i naczelnych innych niż człowiek jako biorców (obecnie najczęściej to pawiany) wydają się najbardziej obiecującym punktem wyjścia dla dalszych badań, które docelowo mają prowadzić do zastosowań klinicznych u ludzi. Należy jednak podkreślić, że skuteczna realizacja takich prób wymaga zaawansowanych modyfikacji genetycznych zwierząt dawców, ponieważ samo modulowanie odpowiedzi immunologicznej biorcy nie zapewni zadowalających rezultatów.

Podjeżdza się, że kluczowym czynnikiem odpowiedzialnym za odrzucenie ksenotransplantantów jest opisany powyżej antygen α -Gal produkowany przez enzym galaktozylotransferazę (GGTA1), który występuje w świń ale nie u ludzi ani u małp Starego Świata (Galili i in. 1988). Zatem przełomowym osiągnięciem w dziedzinie ksenotransplantacji było wyhodowanie świń z wyłączonym genem GGTA1, które w rezultacie nie miały α -Gal na powierzchni komórek. Badania wykazały, iż ta mutacja sku-

tecznie zapobiega hiperostremu odrzucaniu przeszczepów serca i nerek u naczelnych (Byrne i in. 2008; Chen i in. 2005).

Okazało się, że przeszczepienie nerek i serc świń z wyłączonym tylko genem GGTA1 (ang.: *Galactosyltransferase gene knockout* – GTKO) do pawianów prowadziło do szybkiego odrzucenia przeszczepów wywołanego mechanizmami zależnymi od przeciwciał, zwykle w ciągu kilku dni (Byrne i in. 2008; Chen i in. 2005). Wyniki tych badań wskazują, że antygeny inne niż α -Gal są odpowiedzialne za reakcję odrzucenia humoralnego (AHXR), stanowiąc dodatkową barierę dla ksenotransplantacji narządów od świń GTKO do ludzi.

Lepsze wyniki osiągnięto dzięki zastosowaniu bardziej zaawansowanych modyfikacji genetycznych, takich jak podwójny nokaut (*double knock out* – DKO) i potrójny nokaut (*triple knock out* – TKO). Na przykład w badaniu dotyczącym komórek pochodzących od świń pozbawionych GGTA1 oraz enzymu CMAH (ang.: *Cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase*) syntetyzującego kwas N-glikoneuraminowy (świnie GGTA1/CMAH DKO) wykazano, że wiązały one mniej ludzkich przeciwciał w porównaniu z komórkami świń GTKO, a także obserwowano zmniejszone zużycie ludzkich płytek krwi (Butler i in. 2016). Co więcej wykazano, że inaktywacja genu B4GalNT2 (ang.: *Beta-1,4 N-acetylgalactosaminyltransferase 2*), kodującego enzym odpowiedzialny za pojawianie się na powierzchni komórek świni N-acetylolaktozoaminy w jeszcze większym stopniu redukuje wiązanie ludzkich przeciwciał przez te komórki (Zhang i in. 2018).

Kolejne modyfikacje genetyczne również wykazały korzystne efekty w kontekście ksenotransplantacji. Na przykład aby zmniejszyć fagocytozę komórek świńskich przez ludzkie makrofagi, zaleca się wywołanie ekspresji ludzkiego genu CD47 (hCD47) w komórkach świń transgenicznych (Ide i in. 2007). Ta modyfikacja nie tylko ogranicza aktywność cytotoksyczną makrofagów, ale także zmniejsza produkcję prozapalnych cytokin, takich jak TNF- α oraz redukuje naciekanie przeszczepu przez limfocyty T (Yan i in. 2018). W innych badaniach wykazano,

że ekspresja ludzkiego CD47 (hCD47) znacząco wydłużała przeżycie u pawianów przeszczepów skóry świń transgenicznych (Tena i in. 2014). Powyższe wyniki wskazują, że stosowanie świń transgenicznych niosących w swoim genomie szereg ludzkich genów może znacząco poprawić efektywność i bezpieczeństwo ksenotransplantacji.

Ze względu na kluczową rolę limfocytów T w mechanizmach odrzucania przeszczepu, wiele badań skoncentrowało się na opracowaniu strategii zahamowania ich aktywności. Jedno z badań wykazało, że komórki nerwowe świń ekspresyjających ludzki gen CTLA4-Ig (ang.: *Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4*) ograniczały proliferację ludzkich limfocytów T (Martin i in. 2005). Ekspresja tego genu przyczyniała się do wydłużenia przeżycia modelowych przeszczepów skóry u szczurów oraz neuronów u małp (Wang i in. 2015).

Alternatywnym podejściem do kontrolowania aktywności limfocytów T jest eliminacja antygenów SLA klasy I (antygeny leukocytów świń), co ogranicza prezentację antygenów i tym samym spowalnia oraz osłabia odpowiedź limfocytów (Reyes i in. 2014). Dodatkowo podstawowa modyfikacja genetyczna polegająca na eliminacji antygenów α -Gal również wykazuje zdolność do redukowania odpowiedzi limfocytów T (Reyes i in. 2014). Biorąc pod uwagę różnorodność dostępnych strategii modulowania aktywności limfocytów T można przypuszczać, że w przyszłości uda się całkowicie wyeliminować ich wpływ na proces odrzucania przeszczepu.

Kilka kolejnych modyfikacji genetycznych może także wyeliminować problem dysregulacji krzepnięcia w kontekście ksenotransplantacji. Wydaje się, że barierę tę można przezwyciężyć dzięki wprowadzeniu do dawców zwierzęcych ludzkich genów i wywołaniu w nich ekspresji ludzkich białek odpowiedzialnych za regulację procesu krzepnięcia, takich jak TBM (ang.: *thrombomodulin*), EPCR (ang.: *Endothelial protein C receptor*), TFPI (ang.: *Tissue factor pathway inhibitor*) oraz CD39.

Badania wykazały, że ekspresja ludzkiego TBM (hTBM) w komórkach śródbłonka świń

istotnie hamuje aktywność protrombiny, wydłuża czas krzepnięcia osocza oraz redukuje zdolność płytek krwi do agregacji (Iwase i in. 2014; Miwa i in. 2010). Przeszczepienie serca świni z tą modyfikacją genetyczną pawianom skutkowało znacznym wydłużeniem przeżycia przeszczepu (Mohiuddin i in. 2016; Singh i in. 2019). Analogicznie, ekspresja ludzkiego receptora EPCR (hEPCR) w komórkach świni również prowadzi do ograniczenia agregacji płytek krwi, co sugeruje jej potencjalną rolę w modulacji procesów krzepnięcia (Iwase i in. 2014).

Uzyskane wyniki podkreślają kluczowe znaczenie modyfikacji genetycznych układu krzepnięcia w poprawie skuteczności ksenotransplantacji oraz redukcji ryzyka powikłań zakrzepowych. Istotną rolę w tym procesie może również odgrywać wprowadzenie ludzkiego genu hTEPI na miejsce jego odpowiednika u świni. Może to stanowić strategię eliminacji niezgodności pomiędzy ludzkim czynnikiem tkankowym (ang.: *Tissue Factor* – TF) aktywującym zewnątrzpo pochodny szlak kaskady krzepnięcia krwi, a świńskim TEPI. Badania *in vitro* wykazały, że ekspresja hTEPI skutecznie hamuje aktywność TF, co wskazuje jej potencjalną przydatność w ograniczaniu niepożądanego aktywacji kaskady krzepnięcia (Lin i in. 2010).

Kolejnym istotnym białkiem w regulacji układu krzepnięcia jest CD39, które katalizuje degradację pozakomórkowego ATP, ADP i AMP, ograniczając tym samym ryzyko powstawania zakrzepów. Badania wykazały, że ekspresja ludzkiego CD39 w przeszczepionym sercu świni zapewnia ochronę przed niedokrwieniem, co podkreśla jego rolę w zwiększeniu przeżywalności przeszczepów (Wheeler i in. 2012).

Interesującym przypadkiem w kontekście modulacji układu krzepnięcia są świni z niedoborem czynnika von Willebranda (vWF). Jest to wielkocząsteczkowe białko syntetyzowane przez komórki śródbłonka, megakariocyty oraz płytki krwi, które odgrywa kluczową rolę w adhezji płytek krwi do uszkodzonych naczyń oraz chroni czynnik VIII przed proteolityczną degradacją przez aktywowane białko C. Badania wykazały, że mutacja prowadząca do niedoboru vWF przyczynia się do wydłużenia czasu

przeżycia przeszczepionych płuc świni u pawiana oraz znacząco redukuje spadek liczby płytek krwi po transplantacji (Cantu i in. 2007; Lau i in. 2003). Ponadto sugeruje się, że w przypadku przeszczepów płuc kluczową rolę w regulacji krzepnięcia odgrywają białka takie jak EPCR i CD39, podczas gdy wpływ TMB i TEPI jest mniej istotny (Harris i in. 2015). Obserwacje te wskazują, że skuteczna kontrola procesu krzepnięcia może wymagać dostosowania strategii modyfikacji genetycznych w zależności od rodzaju przeszczepianego narządu.

Spośród wszystkich narządów badanych w kontekście ksenotransplantacji nerka wydaje się być najbardziej odpowiednim kandydatem, ponieważ w przypadku komplikacji można ją stosunkowo łatwo usunąć, a immunosupresję przerwać, umożliwiając biorcy powrót do dializoterapii (Cowan i in. 2014; Meier i in. 2021). Funkcje nerek u ludzi i świń są zasadniczo podobne, obejmując usuwanie kreatyniny i innych produktów przemiany materii oraz regulację objętości przepływu krwi (Ekser i in. 2012; Iwase i in. 2018). Istnieją jednak istotne różnice w homeostazie elektrolitowej. U świń obserwuje się wyższe poziomy potasu, fosforu i wapnia, natomiast albumina i całkowita zawartość białek są niższe w porównaniu z ludźmi i innymi naczelnymi (Iwase i in. 2018). Różnice te obejmują również skład morfotyczny krwi – świni mają większą liczbę krwinek czerwonych, białych oraz płytek krwi, a ogólny poziom hemoglobiny jest u nich niższy. Ciśnienie krwi u świń oraz naczelnych innych niż człowiek jest również niższe w porównaniu z ludźmi, co może mieć znaczenie dla funkcji przeszczepionej nerki (Iwase i in. 2018).

Istotnym ograniczeniem w ksenotransplantacji nerek jest odmienna budowa molekularna erytropoetyny świńskiej. Ze względu na różnice w sekwencji aminokwasów, ludzki receptor nie rozpoznaje świńskiej erytropoetyny, co prowadzi do zahamowania erytropoezy i rozwojem niedokrwistości u biorcy (Iwase i in. 2018). Rozwiązaniem tego problemu jest podawanie rekombinowanej ludzkiej erytropoetyny, która pozwala przywrócić prawidłowy poziom hematokrytu. Alternatywną i bardziej efektywną

metodą mogłaby być modyfikacja genetyczna świń, umożliwiająca produkcję ludzkiej erytropoetyny, co wyeliminowałoby konieczność podawania tego białka egzogennie (Park i in. 2006).

Dotychczasowe próby przeszczepu nerek świń do małp często prowadziły do poważnych powikłań, takich jak odwodnienie i hipowolemia (Iwase i in. 2018). Hipowolemia, czyli stan, w którym objętość płynu w łożysku naczyniowym jest zbyt mała w stosunku do jego pojemności, uniemożliwia prawidłowe funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego i stanowi poważną przeszkodę w adaptacji przeszczepionego narządu. Powikłaniom tym towarzyszył wzrost stężenia kreatyniny w surowicy, co wskazuje na brak skutecznego usuwania tego metabolitu przez przeszczepioną nerkę (Iwase i in. 2018).

Z drugiej strony inne badania sugerują, że w bardziej stabilnych warunkach hemodynamicznych przeszczepione nerki świni mogą skutecznie usuwać kreatyninę (Hirose i in. 2021). Te różnice w wynikach podkreślają znaczenie dalszych badań nad optymalizacją zarówno procesu przeszczepu, jak i jego późniejszego monitorowania, aby zwiększyć szanse na pomyślną adaptację przeszczepionych nerek w modelu ksenotransplantacyjnym.

PRZYKŁADY WSPÓŁCZESNYCH KSENOTRANSPLANTACJI

W 2021 r. media doniosły o przeprowadzeniu eksperymentalnej ksenotransplantacji nerki świni do organizmu człowieka. Przeszczepiony narząd pochodził od świni modyfikowanej genetycznie w celu wyciszenia genu kodującego enzym α -1,3-galaktozyłotransferazę. Nerkę podłączono poza jamą brzuszną do naczyń krwionośnych w okolicy udowej pacjenta ze stwierdzoną śmiercią mózgową, którego narządy nie kwalifikowały się do standardowej donacji. Zgodnie z relacją lekarza prowadzącego nerka niemal natychmiast rozpoczęła produkcję moczu, skutecznie oczyszczając krew z kreatyniny i przez 54 godziny eksperymentu nie wykazywała objawów ostrego odrzucenia. Warto podkreślić, że w tradycyjnych przeszczepach nerek często obserwuje się pewien okres opóźnienia przed

rozpoczęciem prawidłowego funkcjonowania narządu. Niemniej jednak nie ustalono czy przeszczepiona nerka była zdolna do podtrzymania życia, ponieważ pacjent zachował własne nerki (Cooper 2021).

W 2022 r. opublikowano wyniki kolejnego badania dotyczącego ksenotransplantacji, przeprowadzonego na pacjencie ze stwierdzoną śmiercią mózgową. Dawcą narządu była świnia z 10 modyfikacjami genetycznymi, obejmującymi m.in. usunięcie genu α -1,3-galaktozylotransferazy oraz receptora hormonu wzrostu, wprowadzenie ludzkich genów kodujących białka przeciwzakrzepowe i inhibitory dopełniacza. Zwierzę zostało również pozbawione ekspresji antygenów krwi, co uczyniło je uniwersalnym dawcą a zastosowany schemat immunosupresji odpowiadał standardowym protokołom transplantacyjnym (Porrett i in. 2022).

Jedna z przeszczepionych nerek podjęła produkcję moczu już po 23 minutach od podłączenia do układu krążenia pacjenta. W trakcie trwania badania, które zakończono po 77 godzinach z powodu rozwinięcia niewydolności wielonarządowej, nie zaobserwowano jednoznacznych oznak odrzucenia nadostrego. Po zakończeniu eksperymentu stwierdzono, że przeszczepione nerki były dobrze ukrwione, zachowywały prawidłowy turgor i mogłyby potencjalnie podtrzymywać życie (Porrett i in. 2022). Wciąż jednak nie wiadomo, ile nerek świńskich byłoby wymagane do pełnego zastąpienia funkcji narządów ludzkich. Badanie wykazało również ekspresję ludzkich genów w przeszczepionym narządzie, co sugeruje, że zastosowane modyfikacje genetyczne były wystarczające, aby zapobiec odrzuceniu nadostremu. Zauważono także brak problemów z SLA (słabą aktywacją dopełniacza), które wcześniej stanowiły istotne wyzwanie w kontekście ksenotransplantacji. Zespół badaczy potwierdził brak takiej reakcji immunologicznej w teście krzyżowym wykonanym przed operacją (Porrett i in. 2022). Co więcej, nerka świni wykazała zdolność do funkcjonowania w warunkach wyższego ciśnienia krwi, charakterystycznego dla ludzkiego organizmu, a w trakcie badań nie wykryto obecności wirusów pochodzenia świńskiego. Wyniki eksperymentu są zatem bardzo

obietujące, jednak konieczne są dalsze badania, szczególnie długoterminowe, w celu pełniejszego zrozumienia potencjału ksenotransplantacji w praktyce klinicznej.

W 2024 r. przeprowadzono pionierską operację u 54-letniej pacjentki cierpiącej na niewydolność serca oraz nerek. Procedura składała się z dwóch etapów. W pierwszym etapie wszczepiono pacjentce mechaniczne wspomaganie krążenia lewokomorowego LVAD (ang.: *Left ventricular assist device*) w celu poprawy funkcji serca. Następnie dokonano transplantacji genetycznie zmodyfikowanej nerki pozbawionej ekspresji genu GGTA1, co miało na celu zmniejszenie ryzyka odrzucenia immunologicznego. Aby dodatkowo zwiększyć tolerancję immunologiczną, pod torebkę nerkową wszczepiono fragment grasicy, który miał indukować mechanizmy tolerancji immunologicznej. Pomimo zastosowania zaawansowanych technologii stan pacjentki pozostawał niestabilny. Nawet przy wsparciu LVAD, zespół medyczny nie zdołał odstawić leków wazopresyjnych, niezbędnych do utrzymania prawidłowego ciśnienia krwi. W konsekwencji przeszczepiona nerka uległa niewydolności i została usunięta po 47 dniach. Miesiąc po tym pacjentka zmarła (<https://nyulangone.org>).

Wyniki tego przypadku podkreślają zarówno potencjał, jak i wyzwania związane z zastosowaniem zaawansowanych metod wspomaganie krążenia oraz ksenotransplantacji w leczeniu niewydolności wielonarządowej. W szczególności wskazują na konieczność dalszych badań nad interakcjami między wspomaganie mechanicznym a funkcją przeszczepionych narządów, co może mieć kluczowe znaczenie dla optymalizacji przyszłych strategii terapeutycznych.

W 2024 r. przeprowadzono również przeszczep genetycznie zmodyfikowanej nerki świni u 62-letniego pacjenta, cierpiącego na niewydolność nerek. Transplantowany narząd pochodził od świni, której genom zmodyfikowano w 69 miejscach. Modyfikacje te obejmowały zarówno usunięcie genów odpowiedzialnych za niekorzystne reakcje immunologiczne, jak i wprowadzenie ludzkich genów mających na celu zwiększenie zgodności biologicznej z organizmem biorcy. Dr Kawai, który kierował pro-

cedurą poinformował, że przeszczepiona nerka była zbliżona wielkością do ludzkiej i niemal natychmiast po zespoleniu z układem naczyniowym pacjenta zaczęła produkcję moczu (<https://www.massgeneral.org/news/press-release/>). Zabieg ten stanowi kolejny znaczący krok w rozwoju ksenotransplantacji, demonstrując potencjał zaawansowanych modyfikacji genetycznych w eliminacji barier immunologicznych i funkcjonalnych, które dotychczas ograniczały zastosowanie narządów pochodzenia zwierzęcego w leczeniu ludzi.

Ponadto obecnie Amerykańska Agencja Żywności i leków (FDA) zatwierdziła badania, w których weźmie udział sześć osób w wieku od 55 do 70 lat, które nie kwalifikują się do standardowych przeszczepów. Osoby te będą obserwowane i badane regularnie przez sześć miesięcy po otrzymaniu zmodyfikowanej nerki świni co ma na celu przetestowanie bezpieczeństwa i skuteczności ksenotransplantatów (Mallapaty i Kozlov 2025).

Serce jest narządem, którego ksenotransplantacja napotyka istotne przeszkody związane z wyższym średnim ciśnieniem tętniczym (MAP) oraz większym systemowym oporem naczyniowym (SVR), obserwowanymi u naczelników (Goerlich i in. 2023). Parametry te mogą przyczyniać się do szkodliwego przerostu przeszczepionego serca świni, co stanowi kluczowe wyzwanie w kontekście jego funkcjonalności (Fernández-Ruiz 2019). Badania wskazują jednak, że stosowanie przeszczepów z wyłączonym receptorem hormonu wzrostu (GHR), może skutecznie zapobiegać temu niepożądanemu zjawisku. Dzięki tej modyfikacji genetycznej wyeliminowano konieczność stosowania leków w celu przeciwdziałania przerostowi serca, co upraszcza terapię pooperacyjną (Goerlich i in. 2023). Mimo to różnice w ciśnieniu tętniczym między gatunkami muszą być uwzględnione nawet w przy zastosowaniu narządów z modyfikacją *knock out* (Meier i in. 2021). Biorcy takich przeszczepów prawdopodobnie będą wymagać ścisłej kontroli ciśnienia krwi, aby zminimalizować ryzyko niepowodzenia transplantacji oraz zapewnić optymalne warunki pracy przeszczepionego narządu.

W 2022 r. badacze z University of Maryland Medical Center w Stanach Zjednoczonych dokonali przeszczepu serca pacjentowi z niewydolnością tego narządu w stadium końcowym. Pacjent nie kwalifikował się ani do standardowego przeszczepu ani do zastosowania urządzenia wspomagającego pracę serca. W celu immunosupresji zastosowano przeciwciała monoklonalne anty-CD40 i anty-CD20 oraz króliczą immunoglobulinę antytymocytarną (RATG). Pacjent przeżył 61 dni, a przyczyną zgonu była niewydolność wielonarządowa. Stwierdzono, że zgon nie był związany z przeszczepionym narządem. Przeszczepione serce nie wykazywało oznak odrzucenia nadostrego i funkcjonowało prawidłowo przez znaczący czas (Griffith i in. 2022). Jest to jeden z najdłuższych okresów przeżycia człowieka po przeszczepie narządu pochodzącego od świni, podczas którego organ pełnił funkcję podtrzymującą życie. Co istotne, w historii transplantologii odnotowano przypadki przeszczepów między ludźmi, w których czas przeżycia pacjenta był krótszy – np. wynosił 18 dni (Brink i Hassoulas 2009).

W 2023 r. w tym samym ośrodku z USA Lawrence Faucette, 58-letni pacjent z zaawansowaną niewydolnością serca, jako drugi na świecie otrzymał przeszczep genetycznie zmodyfikowanego serca świni. Początkowo przeszczep funkcjonował dobrze, jednak po 40 dniach pojawiły się oznaki odrzutu, co skłoniło Faucette'a do rezygnacji z dalszego leczenia, pacjent wkrótce potem zmarł. Analiza tego przypadku dostarczyła jednak cennych informacji na temat wyzwań związanych z odrzucaniem przeszczepów odzwierzęcych, co ma kluczowe znaczenie dla przyszłości ksenotransplantacji (Griffith i in. 2025). Wyniki tych przełomowego badania podkreślają postęp w dziedzinie ksenotransplantacji oraz wskazują na potencjalną skuteczność zastosowanych strategii immunosupresyjnych.

ETYCZNE I SPOŁECZNE ASPEKTY KSENOTRANSPLANTACJI

Ksenotransplantacja jako innowacyjna metoda leczenia niesie ze sobą szereg dylematów etycznych, które mogą budzić kontrowersje. Jed-

nym z najważniejszych problemów jest kwestia wykorzystywania zwierząt oraz ich dobrostanu. Dla części społeczeństwa, w szczególności osób unikających produktów odzwierzęcych, może to stanowić istotny problem moralny. W tym kontekście warto podkreślić, że wiele ssaków, w tym świnie, odczuwa ból i stres w sposób zbliżony do ludzi, co sprawia, że ich wykorzystywanie do celów medycznych bywa postrzegane jako nieetyczne. Dodatkowo, przeszkody natury religijnej mogą wpłynąć na odbiór społeczny ksenotransplantacji. W islamie i w judaizmie świnie są uznawane za zwierzęta nieczyste, natomiast w hinduizmie krowy zajmują szczególną, czcigodną pozycję. Tego rodzaju przekonania religijne mogą prowadzić do odrzucenia ksenotransplantacji przez osoby wyznające te religie, a w niektórych przypadkach nawet do jej zakazu w określonych państwach (Andrade i in. 2024; Rollin 2020).

Pomimo tych wątpliwości etycznych i kulturowych, istotnym pytaniem pozostaje, czy ratowanie zdrowia i życia ludzkiego mogłoby stanowić wyjątek od tych norm. Odpowiedź na to pytanie może być różna w zależności od kontekstu społecznego, indywidualnych przekonań oraz systemów wartości, jednak podjęcie tej dyskusji jest kluczowe dla dalszego rozwoju ksenotransplantacji (Hurst i in. 2025).

Rozważania na temat ksenotransplantacji nie mogą pomijać potencjalnego wpływu tej technologii na skalę hodowli zwierząt. Szacuje się, że obecnie na świecie każdego roku jest zabijanych około 70 miliardów zwierząt, z czego ponad 50 miliardów przeznaczają się na produkcję mięsa i skór (<https://czarnaowca.org/download/ebook-pozagatunek.pdf>). Nawet przy założeniu, że narząd odzwierzęcy byłby dostępny dla każdego pacjenta wymagającego przeszczepu, liczba zwierząt hodowanych w tym celu stanowiłaby niewielki odsetek ogólnej liczby zwierząt hodowlanych. Ponadto można założyć, że pozostałe części zwierząt mogłyby zostać wykorzystane do celów spożywczych, co powinno być bezpieczne dzięki rygorystycznym warunkom hodowli i badaniom kontrolnym.

Istnieją jednak wyzwania związane z zapewnieniem dobrostanu zwierząt przeznaczonych

do ksenotransplantacji. Przykładowo świnie jako zwierzęta stadne wymagają kontaktu z innymi osobnikami, co sprzyja ich naturalnemu rozwojowi. Jednak w celu minimalizacji ryzyka zakażeń i przenoszenia patogenów na biorców przeszczepów, konieczne jest hodowanie zwierząt w warunkach sterylnych, biologicznie izolowanych. Takie środowisko ogranicza ich swobodę ruchu oraz kontakt społeczny, co jest sprzeczne z ich naturalnymi potrzebami i instynktami. Dylemat ten rodzi pytanie, czy należy priorytetowo traktować dobrostan zwierząt, czy pacjentów, których życie można uratować dzięki ksenotransplantacji. Możliwe jednak, że postępy technologiczne, takie jak inżynieria genetyczna, mogłyby pozwolić na eliminację ryzyka przenoszenia wirusów (np. PERV), co mogłoby umożliwić bardziej humanitarne warunki hodowli. Dzięki temu zwierzęta miałyby możliwość interakcji społecznych, co minimalizuje naruszenie ich dobrostanu, a jednocześnie spełnia wymagania medyczne (Galvao i Grinberg 2023).

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY NA PRZYSZŁOŚĆ

Genetycznie zmodyfikowane zwierzęta jako źródło organów do ksenotransplantacji stanowią jedno z najbardziej obiecujących rozwiązań w odpowiedzi na globalny niedobór narządów do przeszczepów. Ksenotransplantacja, czyli przeszczepianie narządów i tkanek między gatunkami, ma długą i złożoną historię sięgającą początków II wieku n.e. Początkowe próby przeszczepów narządów zwierzęcych, były ograniczone przez brak wiedzy o mechanizmach immunologicznych odrzucania przeszczepu. Dopiero rozwój współczesnych technologii, takich jak CRISPR/Cas9, umożliwił precyzyjną modyfikację genomu zwierząt, co znacząco zredukowało ryzyko odrzutu przez ludzki układ odpornościowy oraz ograniczyło potencjalne zagrożenia związane z transmisją międzygatunkowych patogenów.

W ksenotransplantacji najczęściej wykorzystuje się świnie, głównie ze względu na ich anatomiczne i fizjologiczne podobieństwo do człowieka. Poprzez wprowadzenie ludzkich genów

oraz usunięcie genów odpowiedzialnych za immunogenność, udało się znacznie zmniejszyć ryzyko immunologicznego odrzucenia narządów, a także transmisji wirusów endogennych, takich jak PERV. Pionierskie zabiegi, takie jak przeszczepy zmodyfikowanych genetycznie serca czy nerek, być może będą kamieniem milowym w transplantologii i w przyszłości dadzą nadzieję tysiącom pacjentów oczekujących na przeszczep. Jednak aby ksenotransplantacja mogła stać się zabiegiem rutynowym, przed badaczami stoi ciągle wiele wyzwań. Kluczowe obszary wymagające dalszych badań to minimalizacja ryzyka infekcji zoonotycznych, doskonalenie metod modyfikacji genetycznych oraz rozwianie wątpliwości społecznych i etycznych dotyczących wykorzystywania zwierząt.

Podsumowując, rozwój ksenotransplantacji oparty na genetycznie zmodyfikowanych zwierzętach ma szansę rewolucjonizować współczesną medycynę transplantacyjną. Spodziewać się można, że dzięki kolejnym operacjom klinicznym, ta innowacyjna metoda może stać się realną nadzieją na ratowanie życia tysięcy pacjentów na całym świecie.

OŚWIADCZENIA AUTORÓW

Wszyscy autorzy deklarują wkład w powstawanie artykułu, zaakceptowali kolejność autorów i ostateczną wersję artykułu.

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

BIBLIOGRAFIA

- Andrade G., AboHamza E., Elsanitil Y., Ayoub A., Bedewy D., 2024. Moral approval of xenotransplantation in Egypt: associations with religion, attitudes towards animals and demographic factors. *BMC Med. Ethics* 25, 19. <https://doi.org/10.1186/s12910-024-01013-3>
- Augier F., Salf E., Nottet J. B., 1996. [Dr. Samuel Serge Voronoff (1866-1951) or „the quest for eternal youth”]. *Hist. Sci. Medicales* 30, 163–71.
- Bailey L. L., Nehlsen-Cannarella S. L., Conception W., Jolley W. B., 1985. Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate. *JAMA* 254, 3321–29.
- Barnard C. N., Wolpowitz A., Losman J. G., 1977. Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for assistance of the left heart in cardiogenic shock after cardiopulmonary bypass. *South Afr. Med. J. Suid-Afr. Tydskr. Vir Geneeskde.* 52, 1035–38.
- Blusch J. H., Patience C., Martin U., 2002. Pig endogenous retroviruses and xenotransplantation. *Xenotransplantation* 9, 242–51. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3089.2002.01110.x>
- Borel J. F., Feurer C., Gubler H. U., Stähelin H., 1976. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 6, 468–75. <https://doi.org/10.1007/BF01973261>
- Brink J. G., Hassoulas J., 2009. The first human heart transplant and further advances in cardiac transplantation at Groote Schuur Hospital and the University of Cape Town – with reference to : the operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *Cardiovasc. J. Afr.* 20, 31–35.
- Bühler L., Basker M., Alwayn I. P., Goepfert C., Kitamura H., i in., 2000. Coagulation and thrombotic disorders associated with pig organ and hematopoietic cell transplantation in nonhuman primates. *Transplantation* 70, 1323–31. <https://doi.org/10.1097/00007890-200011150-00010>
- Butler J. R., Paris L. L., Blankenship R. L., Sidner R. A., Martens G. R., i in., 2016. Silencing Porcine CMAH and GGTA1 Genes Significantly Reduces Xenogeneic Consumption of Human Platelets by Porcine Livers. *Transplantation* 100, 571–76. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001071>
- Byrne G. W., Stalboerger P. G., Davila E., Heppelmann C. J., Gazi M. H., i in., 2008. Proteomic identification of non-Gal antibody targets after pig-to-primate cardiac xenotransplantation. *Xenotransplantation* 15, 268–76. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2008.00480.x>

- Calne R. Y., White H. J., Herbertson B. M., Millard P. R., Davis D. R., i in., 1968. Pig-to-baboon liver xenografts. *Lancet Lond. Engl.* 1, 1176–78. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(68\)91869-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(68)91869-2)
- Cantu E., Balsara K. R., Li B., Lau C., Gibson S., i in., 2007. Prolonged function of macrophage, von Willebrand factor-deficient porcine pulmonary xenografts. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 7, 66–75. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01603.x>
- Chen G., Qian H., Starzl T., Sun H., Garcia B., i in., 2005. Acute rejection is associated with antibodies to non-Gal antigens in baboons using Gal-knockout pig kidneys. *Nat. Med.* 11, 1295–98. <https://doi.org/10.1038/nm1330>
- Cleveland J. D., Mitchell C., Cooper D. K. C., Cleveland D. C., 2023. The potential of cardiac xenotransplantation for management of infants with complex congenital heart disease. *Transl. Pediatr.* 12, 2247–55. <https://doi.org/10.21037/tp-22-664>
- Cooper D. K. C., 2021. Genetically engineered pig kidney transplantation in a brain-dead human subject. *Xenotransplantation* 28, e12718. <https://doi.org/10.1111/xen.12718>
- Cooper D. K. C., Ekser B., Tector A. J., 2015. Immunobiological barriers to xenotransplantation. *Int. J. Surg. Lond. Engl.* 23, 211–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2015.06.068>
- Cooper D. K. C., Gaston R., Eckhoff D., Ladowski J., Yamamoto T., i in., 2018. Xenotransplantation-the current status and prospects. *Br. Med. Bull.* 125, 5–14. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldx043>
- Cooper D. K., Human P. A., Lexer G., Rose A. G., Rees J., i in., 1988. Effects of cyclosporine and antibody adsorption on pig cardiac xenograft survival in the baboon. *J. Heart Transplant.* 7, 238–46.
- Cope Z., 1967. Safavid Surgery. *Proc. R. Soc. Med.* 60, 107. <https://doi.org/10.1177/003591576706000156>
- Cowan P. J., Apice A. J. d', 2009. Complement activation and coagulation in xenotransplantation. *Immunol. Cell Biol.* 87, 203–8. <https://doi.org/10.1038/icb.2008.107>
- Cowan P. J., Cooper D. K. C., Apice A. J. F. d', 2014. Kidney xenotransplantation. *Kidney Int.* 85, 265–75. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.381>
- Czaplicki J., Błońska B., Religa Z., 1992. The lack of hyperacute xenogeneic heart transplant rejection in a human. *J. Heart Lung Transplant. Off. Publ. Int. Soc. Heart Transplant.* 11, 393–97.
- Daar A. S., 1997. Ethics of xenotransplantation: animal issues, consent, and likely transformation of transplant ethics. *World J. Surg.* 21, 975–82. <https://doi.org/10.1007/s002689900336>
- Denner J., 2021. Porcine Endogenous Retroviruses and Xenotransplantation, 2021. *Viruses* 13, 2156. <https://doi.org/10.3390/v13112156>
- Denner J., 2008. Recombinant porcine endogenous retroviruses (PERV-A/C): a new risk for xenotransplantation? *Arch. Virol.* 153, 1421–26. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0141-7>
- Deschamps J.-Y., Roux F. A., Saï P., Gouin E., 2005. History of xenotransplantation. *Xenotransplantation* 12, 91–109. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2004.00199.x>
- Eisensohn D. L., Hisadome Y., Yamada K., 2022. Progress in Xenotransplantation: Immunologic Barriers, Advances in Gene Editing, and Successful Tolerance Induction Strategies in Pig-To-Primate Transplantation. *Front. Immunol.* 13, 899657. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.899657>
- Ekser B., Bianchi J., Ball S., Iwase H., Walters A., i in., 2012. Comparison of hematologic, biochemical, and coagulation parameters in α 1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs, wild-type pigs, and four primate species. *Xenotransplantation* 19, 342–54. <https://doi.org/10.1111/xen.12007>
- Ericsson T., Oldmixon B., Blomberg J., Rosa M., Patience C., i in., 2001. Identification of novel porcine endogenous betaretrovirus sequences in miniature swine. *J. Vi-*

- rol. 75, 2765–70. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.6.2765-2770.2001>
- Farr A. D., 1980. The first human blood transfusion. *Med. Hist.* 24, 143–62. <https://doi.org/10.1017/s0025727300040138>
- Fernández-Ruiz I., 2019. Breakthrough in heart xenotransplantation. *Nat. Rev. Cardiol.* 16, 69. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0151-4>
- Fiebig U., Fischer K., Bähr A., Runge C., Schnieke A., i in., 2018. Porcine endogenous retroviruses: Quantification of the copy number in cell lines, pig breeds, and organs. *Xenotransplantation* 25, e12445. <https://doi.org/10.1111/xen.12445>
- Fishman J. A., 2019. Infection in xenotransplantation: opportunities and challenges. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 24, 527–34. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000682>
- Fishman J. A., Scobie L., Takeuchi Y., 2012. Xenotransplantation-associated infectious risk: a WHO consultation. *Xenotransplantation* 19, 72–81. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2012.00693.x>
- Furie B., Furie B. C., 2008. Mechanisms of thrombus formation. *N. Engl. J. Med.* 359, 938–49. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0801082>
- Galili U., 1993. Interaction of the natural anti-Gal antibody with alpha-galactosyl epitopes: a major obstacle for xenotransplantation in humans. *Immunol. Today* 14, 480–82. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90261-i](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90261-i)
- Galili U., Shohet S. B., Kobrin E., Stults C. L., Macher B. A., 1988. Man, apes, and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells. *J. Biol. Chem.* 263, 17755–62.
- Galvao F. H. F., Grinberg M., 2023. Bioethics and xenotransplantation from pig to human. *Clin. Sao Paulo Braz.* 78, 100170. <https://doi.org/10.1016/j.clinsp.2023.100170>
- Godehardt A. W., Fischer N., Rauch P., Gulich B., Boller K., i in., 2020. Characterization of porcine endogenous retrovirus particles released by the CRISPR/Cas9 inactivated cell line PK15 clone 15. *Xenotransplantation* 27, e12563. <https://doi.org/10.1111/xen.12563>
- Goerlich C. E., Griffith B., Hanna P., Hong S. N., Ayares D., i in., 2023. The growth of xenotransplanted hearts can be reduced with growth hormone receptor knockout pig donors. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 165, e69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2021.07.051>
- Gollackner B., Goh S. K., Qawi I., Buhler L., Knosalla C., i in., 2004. Acute vascular rejection of xenografts: roles of natural and elicited xenoreactive antibodies in activation of vascular endothelial cells and induction of procoagulant activity. *Transplantation* 77, 1735–41. <https://doi.org/10.1097/01.tp.00000131167.21930.b8>
- Gorer P. A., Loutit J. F., Micklem H. S., 1961. Proposed revisions of „transplantese”. *Nature* 189, 1024–25. <https://doi.org/10.1038/1891024a0>
- Griffith B. P., Goerlich C. E., Singh A. K., Rothblatt M., Lau C. L., i in., 2022. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *N. Engl. J. Med.* 387, 35–44. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2201422>
- Griffith B. P., Grazioli A., Singh A. K., Tully A., Galindo J., i in., 2025. Transplantation of a genetically modified porcine heart into a live human. *Nat. Med.* 31, 589–98. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03429-1>
- Haeseker B., 1991. Van Meekeren and his account of the transplant of bone from a dog into the skull of a soldier. *Plast. Reconstr. Surg.* 88, 173–74.
- Hansen-Estruch C., Cooper D. K. C., Judd E., 2022. Physiological aspects of pig kidney xenotransplantation and implications for management following transplant. *Xenotransplantation* 29, e12743. <https://doi.org/10.1111/xen.12743>
- Harris D. G., Quinn K. J., French B. M., Schwartz E., Kang E., i in., 2015. Meta-analysis of the independent and cumulative effects of multiple genetic modifications on pig lung xenograft performance during ex vivo perfusion with human blood. *Xenotransplantation* 22, 102–11. <https://doi.org/10.1111/xen.12149>
- Hawthorne W. J., Cowan P. J., Bühler L. H., Yi S., Bottino R., i in., 2019. Third WHO Global Consultation on Regulatory Requirements for Xenotransplantation Clinical Trials,

- Changsha, Hunan, China December 12–14, 2018: „The 2018 Changsha Communiqué” The 10-Year Anniversary of The International Consultation on Xenotransplantation. *Xenotransplantation* 26, e12513. <https://doi.org/10.1111/xen.12513>
- Hirose T., Ma D., Lassiter G., Sasaki H., Rosales I., i in., 2021. Successful Long-Term TMA- and Rejection-Free Survival of a Kidney Xenograft With Triple Xenoantigen Knockout Plus Insertion of Multiple Human Transgenes. *Am. J. Transplant.* 21, 477–477.
- Hurst D. J., Ali M., Brown S. M., Gielen J., Kashyap K., i in., 2025. Religious Perspectives Regarding the Ethical Issues Associated With Clinical Xenotransplantation. *Xenotransplantation* 32, e70036. <https://doi.org/10.1111/xen.70036>
- Ide K., Wang H., Tahara H., Liu J., Wang X., i in., 2007. Role for CD47-SIRPalpha signaling in xenograft rejection by macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 5062–66. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609661104>
- Iwase H., Ekser B., Hara H., Phelps C., Ayares D., i in., 2014. Regulation of human platelet aggregation by genetically modified pig endothelial cells and thrombin inhibition. *Xenotransplantation* 21, 72–83. <https://doi.org/10.1111/xen.12073>
- Iwase H., Klein E. C., Cooper D. K., 2018. Physiologic Aspects of Pig Kidney Transplantation in Nonhuman Primates. *Comp. Med.* 68, 332–40. <https://doi.org/10.30802/AAL-AS-CM-17-000117>
- Kaur G., Thompson L., Dufour J., 2015. Therapeutic potential of immune privileged Sertoli cells. *Anim. Reprod.* 12, 105–17.
- Keys T. E., 1973. Dr. Paul Bert (1833–1886). *Anesth. Analg.* 52, 437–38.
- Kobayashi T., Taniguchi S., Neethling F. A., Rose A. G., Hancock W. W., i in., 1997. Delayed xenograft rejection of pig-to-baboon cardiac transplants after cobra venom factor therapy. *Transplantation* 64, 1255–61. <https://doi.org/10.1097/00007890-199711150-00005>
- Kupiec-Weglinski J. W., 2022. Grand Challenges in Organ Transplantation. *Front. Transplant.* 1, 897679. <https://doi.org/10.3389/frtra.2022.897679>
- Kuss, R., Bourget, P., 1992. *An Illustrated History of Organ Transplantation: The Great Adventure of the Century*. Sandoz.
- Lau C. L., Cantu E., Gonzalez-Stawinski G. V., Holzknecht Z. E., Nichols T. C., i in., 2003. The role of antibodies and von Willebrand factor in discordant pulmonary xenotransplantation. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 3, 1065–75. <https://doi.org/10.1034/j.1600-6143.2003.00190.x>
- Lin C. C., Ezzelarab M., Hara H., Long C., Lin C. W., i in., 2010. Atorvastatin or transgenic expression of TFPI inhibits coagulation initiated by anti-nonGal IgG binding to porcine aortic endothelial cells. *J. Thromb. Haemost. JTH* 8, 2001–10. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03950.x>
- Mallapaty S., Kozlov M., 2025. The science behind the first pig-organ transplant trial in humans. *Nature* 638, 303–4. <https://doi.org/10.1038/d41586-025-00368-w>
- Martin C., Plat M., Nerrière-Daguin V., Coulon F., Uzbekova S., i in., 2005. Transgenic expression of CTLA4-Ig by fetal pig neurons for xenotransplantation. *Transgenic Res.* 14, 373–84. <https://doi.org/10.1007/s11248-004-7268-4>
- Matsumoto S., Asari S., Nanno Y., Nakamura H., Okawa T., i in., 2025. Donor pigs for clinical islet xenotransplantation: Review and future directions. *Cell Transplant.* 34, 9636897251332532. <https://doi.org/10.1177/09636897251332532>
- McLoughlin G., 1959. The British Contribution to Blood Transfusion in the 19th-Century. *Br. J. Anaesth.* 31, 503–16. <https://doi.org/10.1093/bja/31.11.503>
- Meier R. P. H., Longchamp A., Mohiuddin M., Manuel O., Vrakas G., i in., 2021. Recent progress and remaining hurdles toward clinical xenotransplantation. *Xenotransplantation* 28, e12681. <https://doi.org/10.1111/xen.12681>
- Miwa Y., Yamamoto K., Onishi A., Iwamoto M., Yazaki S., i in., 2010. Potential value of hu-

- man thrombomodulin and DAF expression for coagulation control in pig-to-human xenotransplantation. *Xenotransplantation* 17, 26–37. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2009.00555.x>
- Mohiuddin M. M., Singh A. K., Corcoran P. C., Thomas Iii M. L., Clark T., i in., 2016. Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft. *Nat. Commun.* 7, 11138. <https://doi.org/10.1038/ncomms11138>
- Mueller N. J., Kuwaki K., Dor F. J. M. F., Knosalla C., Gollackner B., i in., 2004a. Reduction of consumptive coagulopathy using porcine cytomegalovirus-free cardiac porcine grafts in pig-to-primate xenotransplantation. *Transplantation* 78, 1449–53. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000141361.68446.1f>
- Mueller N. J., Livingston C., Knosalla C., Barth R. N., Yamamoto S., i in., 2004b. Activation of porcine cytomegalovirus, but not porcine lymphotropic herpesvirus, in pig-to-baboon xenotransplantation. *J. Infect. Dis.* 189, 1628–33. <https://doi.org/10.1086/383351>
- Niu D., Wei H.-J., Lin L., George H., Wang T., i in., 2017. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 357, 1303–7. <https://doi.org/10.1126/science.aan4187>
- Park J.-K., Lee Y.-K., Lee P., Chung H.-J., Kim S., i in., 2006. Recombinant human erythropoietin produced in milk of transgenic pigs. *J. Biotechnol.* 122, 362–71. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.11.021>
- Patel M. S., Louras N., Vagefi P. A., 2017. Liver xenotransplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 22, 535–40. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000459>
- Pierson R. N., Dorling A., Ayares D., Rees M. A., Seebach J. D., i in., 2009. Current status of xenotransplantation and prospects for clinical application. *Xenotransplantation* 16, 263–80. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2009.00534.x>
- Porrett P. M., Orandi B. J., Kumar V., Houpp J., Anderson D., i in., 2022. First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 22, 1037–53. <https://doi.org/10.1111/ajt.16930>
- Pouyet M., Berard P., 1971. [2 cases of true heterotopic transplantation of the baboon liver in malignant acute hepatitis]. *Lyon Chir.* 67, 288–91.
- Ramsoondar J., Vaught T., Ball S., Mendicino M., Monahan J., i in., 2009. Production of transgenic pigs that express porcine endogenous retrovirus small interfering RNAs. *Xenotransplantation* 16, 164–80. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2009.00525.x>
- Ray, P, Gupta, NH, Roy, M, 1980. *Sushruta Samhita A Scientific Synopsis*.
- Reyes L. M., Estrada J. L., Wang Z. Y., Blosser R. J., Smith R. F., i in., 2014. Creating class I MHC-null pigs using guide RNA and the Cas9 endonuclease. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 193, 5751–57. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402059>
- Rinaldi E., 1987. The first homoplastic limb transplant according to the legend of Saint Cosmas and Saint Damian. *Ital. J. Orthop. Traumatol.* 13, 393–406.
- Rollin B. E., 2020. Ethical and Societal Issues Occasioned by Xenotransplantation. *Anim. Open Access J. MDPI* 10, 1695. <https://doi.org/10.3390/ani10091695>
- Roussel J. C., Moran C. J., Salvaris E. J., Nandurkar H. H., Apice A. J. F. d', i in., 2008. Pig thrombomodulin binds human thrombin but is a poor cofactor for activation of human protein C and TAFI. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 8, 1101–12. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02210.x>
- Schultheiss D., Denil J., Jonas U., 1997. Rejuvenation in the early 20th century. *Andrologia* 29, 351–55. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00329.x>
- Schuurman H.-J., Cheng J., Lam T., 2003. Pathology of xenograft rejection: a commentary. *Xenotransplantation* 10, 293–99. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3089.2003.02092.x>
- Singh A. K., Chan J. L., DiChiacchio L., Hardy N. L., Corcoran P. C., i in., 2019. Cardiac

- xenografts show reduced survival in the absence of transgenic human thrombomodulin expression in donor pigs. *Xenotransplantation* 26, e12465. <https://doi.org/10.1111/xen.12465>
- Smood B., Hara H., Schoel L. J., Cooper D. K. C., 2019. Genetically-engineered pigs as sources for clinical red blood cell transfusion: What pathobiological barriers need to be overcome? *Blood Rev.* 35, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.01.003>
- Starzl T. E., Fung J., Tzakis A., Todo S., Demetris A. J., i in., 1993. Baboon-to-human liver transplantation. *Lancet Lond. Engl.* 341, 65–71. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92553-6](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92553-6)
- Starzl T. E., Valdivia L. A., Murase N., Demetris A. J., Fontes P., i in., 1994. The biological basis of and strategies for clinical xenotransplantation. *Immunol. Rev.* 141, 213–44. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065x.1994.tb00879.x>
- Sykes M., Sachs D. H., 2019. Transplanting organs from pigs to humans. *Sci. Immunol.* 4, eaau6298. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6298>
- Tena A., Kurtz J., Leonard D. A., Dobrinsky J. R., Terlouw S. L., i in., 2014. Transgenic expression of human CD47 markedly increases engraftment in a murine model of pig-to-human hematopoietic cell transplantation. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 14, 2713–22. <https://doi.org/10.1111/ajt.12918>
- Tönjes R. R., Niebert M., 2003. Relative age of proviral porcine endogenous retrovirus sequences in *Sus scrofa* based on the molecular clock hypothesis. *J. Virol.* 77, 12363–68. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.22.12363-12368.2003>
- Wang Y., Yang H.-Q., Jiang W., Fan N.-N., Zhao B.-T., i in., 2015. Transgenic expression of human cytotoxic T-lymphocyte associated antigen4-immunoglobulin (hCTLA4Ig) by porcine skin for xenogeneic skin grafting. *Transgenic Res.* 24, 199–211. <https://doi.org/10.1007/s11248-014-9833-9>
- Warty V., Diven W., Cadoff E., Todo S., Starzl T., i in., 1988. FK506: a novel immunosuppressive agent. Characteristics of binding and uptake by human lymphocytes. *Transplantation* 46, 453–55. <https://doi.org/10.1097/00007890-198809000-00025>
- Wheeler D. G., Joseph M. E., Mahamud S. D., Aurand W. L., Mohler P. J., i in., 2012. Transgenic swine: expression of human CD39 protects against myocardial injury. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 52, 958–61. <https://doi.org/10.1016/j.jymcc.2012.01.002>
- Yan J.-J., Koo T. Y., Lee H.-S., Lee W.-B., Kang B., i in., 2018. Role of Human CD200 Overexpression in Pig-to-Human Xenogeneic Immune Response Compared With Human CD47 Overexpression. *Transplantation* 102, 406–16. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001966>
- Yang L., Güell M., Niu D., George H., Lesha E., i in., 2015. Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science* 350, 1101–4. <https://doi.org/10.1126/science.aad1191>
- Zhang R., Wang Y., Chen L., Wang R., Li C., i in., 2018. Reducing immunoreactivity of porcine bioprosthetic heart valves by genetically-deleting three major glycan antigens, GGTA1/β4GalNT2/CMAH. *Acta Biomater.* 72, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.03.055>
- Zhou Q., Li T., Wang K., Zhang Q., Geng Z., i in., 2022. Current status of xenotransplantation research and the strategies for preventing xenograft rejection. *Front. Immunol.* 13, 928173. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.928173>



