

1584

24

Xenotrapianto epatico: esperienza clinica

I.R. Marino, A.G. Tzakis, J.J. Fung, S. Todo, H.R. Doyle, T.E. Starzl

PREMESSE STORICHE E RAZIONALE

Il concetto di xenotrapianto, inteso come il trapianto di cellule, tessuti od organi tra specie differenti con la creazione di un organismo chimerico, è così antico da essere facilmente riconoscibile nella mitologia classica Greca e Romana. Omero, descrivendo il centauro Chirone [1], maestro di Esculapio e la Chimera [2], in realtà propose due esempi mitologici di creature xenogeniche discordanti [3]. Tuttavia, soltanto durante i primi decenni del nostro secolo è iniziato un approccio scientifico, sia sperimentale che clinico [4-9], alla questione dello xenotrapianto. I primi tentativi furono caratterizzati da completo insuccesso, principalmente perché le nozioni di fisiopatologia, immunologia ed anche di tecnica chirurgica vascolare di cui si disponeva 60-80 anni fa erano primitive rispetto alle conoscenze attuali. Di conseguenza, i primi articoli che riportano successi, almeno parziali, di xenotrapianti clinici risalgono agli anni Sessanta [10-13]. In quegli anni, l'organo che venne principalmente utilizzato per i primi trials clinici fu il rene. Infatti, la dialisi non era ancora una realtà terapeutica ed i pazienti in insufficienza renale terminale erano destinati a morte per uremia. Il trapianto di rene era, a differenza del trapianto di fegato, già ben codificato dal punto di vista tecnico ed, inoltre, si erano ottenuti diversi successi con allotrapianti clinici di rene in pazienti

immunosoppressi con antimetaboliti e steroidi [14-19]. Questi eventi, riportati dalla letteratura internazionale, determinarono immediatamente una crisi negli ambienti accademici legata alla scarsità di organi da cadavere disponibili per il trapianto. Di conseguenza lo xenotrapianto apparve chiaramente come l'unica possibile opzione terapeutica offribile su larga scala ai pazienti con patologia terminale di un organo e queste considerazioni costituirono lo stimolo ai primi tentativi clinici. I risultati iniziali di Keith Reemtsma [10] e Thomas Starzl [12] furono molto incoraggianti, con sopravvivenze di diversi mesi di pazienti, liberi da dialisi (2 mesi nell'esperienza di Starzl e sino a 9 mesi nell'esperienza di Reemtsma). Tuttavia, nel 1965 la dialisi divenne possibile sia nell'Istituzione di Reemtsma che in quella di Starzl e nello stesso tempo aumentò la disponibilità di organi da cadavere. Questi due fatti portarono all'interruzione dei rispettivi programmi clinici di xenotrapianto di rene.

Xenotrapianti clinici di cuore e di fegato furono occasionalmente tentati senza rilevanti risultati nei 20 anni successivi [21]. Negli anni Ottanta, l'affinamento delle tecniche chirurgiche e, soprattutto, l'introduzione nell'uso clinico della ciclosporina A da parte di Sir Roy Calne [19, 21], crearono sostanzialmente una seconda crisi, legata alla crescente discrepanza tra organi disponibili per trapianto ed il numero dei pazienti che avrebbero potuto beneficiare di tale opzione

terapeutica. Nel 1984 il cardiocirurgo Leonard Bailey di Loma Linda riaccese le speranze della comunità scientifica con il famoso caso di trapianto di cuore di babbuino in una neonata di 2,600 kg nota come *Baby Fae* [22]. Tuttavia il protocollo immunosoppressivo utilizzato (steroidi, ciclosporina A, azatioprina e immunoglobuline anti-timociti) si dimostrò insufficiente a controllare il rigetto umorale.

In realtà, il rigetto umorale era già riconosciuto sin dal 1965 come la principale barriera immunologica negli xenotrapianti [3, 12, 13, 20, 23, 24]. Sin da allora sono state studiate diverse tecniche con lo scopo di prevenire o di controllare il rigetto umorale, sia nell'allograpianto che nello xenotrapianto, molte delle quali sono già state discusse da noi e da altri Autori in articoli precedenti [25-30]. Tra i vari metodi adottati in passato due farmaci in particolare hanno recentemente attratto la nostra attenzione: la prostaglandina E_1 e la ciclofosfamide.

Il trattamento con prostaglandine, infatti, si è dimostrato utile nel mitigare gli eventi fisiopatologici legati al rigetto umorale in diversi protocolli sperimentali di xenotrapianto [27, 31-34]. Inoltre, Quagliata et Al. dimostrarono, già nel 1972, che la prostaglandina E possiede un'azione diretta sulla attività dei linfociti B [34]. Sebbene il fegato sia un organo tradizionalmente noto per la sua resistenza al rigetto umorale [35] esistono in letteratura diversi esempi di rigetto mediato da anticorpi in casi di allograpianto clinico di fegato [36]. Per tale ragione dall'inizio del 1992 abbiamo aggiunto la prostaglandina E_1 al nostro protocollo immunosoppressivo nell'allograpianto clinico di fegato, riuscendo ad ottenere nei pazienti caratterizzati da cross-match positivo gli stessi risultati di sopravvivenza ottenibili nei pazienti con cross-match negativo [37].

La ciclofosfamide è un agente alchilante in grado di bloccare il ciclo cellulare in fase G_2 . Tale farmaco ha avuto ampia applicazione in chemioterapia [38], tuttavia per la sua potente azione immunosoppressiva [19] è stato utilizzato come immunomodulatore e per il trattamento del rigetto sia sperimentalmente [39-46] che clinicamente [42, 47-51]. La ciclofosfamide agisce sia sui meccanismi umorali che cellulari della risposta immunitaria. Nel 1959 Stender et Al., dimostrarono la possibilità di sopprimere la produzione di anticorpi mediante l'uso di ciclofosfamide [52]. Successivamente diversi Autori [53-

55] dimostrarono l'azione del farmaco sulla immunità cellulare in vari modelli sperimentali nei quali l'animale utilizzato era il guinea-pig.

Tuttavia, allorché la ciclofosfamide venne sperimentata per il trapianto di rene o di intestino nel cane, non si ottenne un significativo miglioramento della sopravvivenza degli animali [56-58]. Probabilmente il cane non costituisce un modello valido al fine di valutare l'efficacia della ciclofosfamide nell'immunosoppressione clinica. Infatti, il farmaco venne utilizzato con successo nel trapianto clinico di midollo da Santos et Al. [59] ed in un limitato numero di trapianti renali da altri Autori [60,61]. Questi successi stimolarono il suo uso, in associazione con prednisone, immunoglobuline antilinfocitarie [47,51] ed, in alcuni casi, con l'azatioprina [47-50], in una serie più ampia di trapianti clinici di organi solidi, tra i quali anche il fegato.

Molto più recentemente, Noriko Murase et Al., a Pittsburgh, hanno sperimentato l'associazione di FK506 e ciclofosfamide nel modello di xenotrapianto cardiaco da hamster a ratto [62], ottenendo una sopravvivenza a lungo termine pari al 100% degli animali.

Il successo ottenuto in questo modello sperimentale, unito ai dati forniti dalla esperienza clinica degli anni Sessanta, hanno costituito il razionale per avviare un nuovo trial di xenotrapianto clinico presso il Pittsburgh Transplantation Institute nel 1992. Il primate selezionato come donatore è stato il babbuino *Papio cynocephalus*. Infatti, benché lo scimpanzé sia biologicamente un donatore migliore per l'uomo grazie alla minore diversità genetica, la minaccia di estinzione ne preclude la possibilità di un ampio uso scientifico. Negli Stati Uniti è autorizzato l'uso solo di 25-50 scimpanzé l'anno per scopi legati alla ricerca biologica e medica (inclusi i modelli animali per la sindrome di immunodeficienza acquisita) [63] e soltanto 70 scimpanzé potrebbero essere teoricamente disponibili sul nostro pianeta come donatori d'organi [64].

L'organo prescelto per questo trial clinico iniziale di trapianto da babbuino ad uomo è stato il fegato, data la sua relativa resistenza al rigetto umorale [35-37,65-68].

Il cocktail farmacologico utilizzato per la prevenzione ed il controllo del rigetto è stato un connubio di "vecchi" (steroidi, ciclofosfamide e prostaglandina E_1) [19] e "nuovi" farmaci immunosoppressori (FK506) [69].

SELEZIONE DEI DONATORI

I babbuini utilizzati come donatori sono stati forniti dalla South Foundation for Research and Education, San Antonio, Texas, cioè dalla stessa struttura che fornì i babbuini negli anni Sessanta per il precedente trial di xenotrapianto renale [12]. Tutti i babbuini utilizzati per la selezione dei donatori nello xenotrapianto di fegato appartenevano alla specie *Papio cynocephalus* ed erano nati negli USA presso la Southwest Foundation for Research and Education [70].

I babbuini hanno gli antigeni di gruppo A, B e AB debolmente espressi su tutte le cellule. Sono estremamente rari i babbuini di gruppo 0 [71]. Comunque, l'incompatibilità AB0 non aveva influenzato i risultati dei precedenti trials di xenotrapianto clinico [12,18]. Di conseguenza il match AB0 in caso di xenotrapianto babbuino-uomo è auspicabile ma la sua assenza non costituisce una controindicazione assoluta al trapianto. La tabella 24.1 riporta i gruppi sanguigni dei donatori e dei riceventi. Entrambi i pazienti, rispettivamente di gruppo sanguigno A e B, hanno ricevuto il fegato da donatori omogruppo. I criteri di selezione dei donatori, oltre al gruppo sanguigno, sono stati il cross-match linfocitotossico ed una completa analisi delle condizioni biochimiche, virali e batteriologiche degli animali [72]. In particolare, lo screening infettivologico è stato eseguito presso il Virus Reference Laboratory della Southwest Foundation for Research and Education, San Antonio, Texas. Tutti i potenziali donatori sono stati sottoposti a screening per i Retrovirus (STLV, HTLV, SIV, SRV-1, SRV-2, SRV-5, HV-1, HIV-2 e Foamy virus), Herpesvirus (SA-8, HSV, B-virus, rCMV, hCMV, EBV e VZV) e virus dell'epatite (HBV, HAV e HCV). Oltre a queste analisi gli animali sono stati studiati al fine di escludere tubercolosi e toxoplas-

mosi e sono stati sottoposti ad esami colturali sia del sangue che delle feci.

INTERVENTO SUL DONATORE

L'intervento sui donatori per il prelievo del fegato è stato eseguito secondo la tecnica tradizionale descritta dal nostro gruppo [73]. Gli interventi sul donatore e sul ricevente sono stati condotti contemporaneamente in due differenti sale operatorie. I tempi di ischemia fredda del fegato sono stati rispettivamente 80 min nel primo caso e 231 min nel secondo caso. La soluzione utilizzata per la preservazione degli organi è stata la stessa Wisconsin Solution usata di routine in clinica.

INTERVENTO SUL RICEVENTE

Lo xenotrapianto di fegato è stato eseguito mediante una modifica della nostra tecnica standard descritta 30 anni fa [74]. In particolare, è stato usato il by-pass veno-venoso [75] e, data la discrepanza tra il diametro dei vasi del ricevente e del donatore e le piccole dimensioni del fegato del donatore (600 cm³ e 450 cm³ rispettivamente nel primo e nel secondo caso), si è reso necessario utilizzare la tecnica piggy-back [76]. In entrambi i casi la vena sovraepatica destra del ricevente è stata suturata mentre le vene sovraepatiche media e sinistra sono state utilizzate per confezionare l'anastomosi cavale superiore. L'asse celiaco del donatore è stato anastomizzato termino-terminalmente sulla arteria epatica comune del ricevente nel primo caso, mentre nel secondo caso è stato anastomizzato termino-lateralmente sull'aorta sopraceliaca mediante in-terposizione di una carotide del donatore stesso.

Tab. 24.1. Gruppi sanguigni e dati demografici nei primi due casi di xenotrapianto clinico di fegato di babbuino (*Papio cynocephalus*).

	ABO <i>Papio c.</i>	ABO Paziente	Dati Paziente	Diagnosi	Interventi precedenti	Data trapianto	Sopravvivenza (giorni)
1	A	A	35 anni, maschio	Epatite B	Splenectomia	28/6/92	70
2	B	B	62 anni, maschio	Epatite B		10/1/93	26

Nel primo caso data la cospicua discrepanza tra la vena porta del ricevente e la vena porta del donatore, quest'ultima è stata anastomizzata termino-terminalmente sul ramo portale sinistro del ricevente mentre il destro è stato suturato. Nel secondo caso la minore discrepanza ha consentito la realizzazione di una normale anastomosi portale termino-terminale. In entrambi i casi il fegato si è riperfuso uniformemente ed ha prodotto bile al tavolo operatorio. L'anastomosi biliare è stata eseguita mediante una coledocodigiunostomia su ansa alla Roux. Nel secondo caso, al fine di disporre di un accesso diretto alla via biliare, per studiarne l'anatomia nel periodo post-operatorio e per prelevare campioni di bile, è stato introdotto nell'anastomosi biliare un cateterino del diametro di 3,5 F che fuoriusciva dalla parete addominale (Fig. 24.1).

TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA

Il protocollo immunosoppressivo è stato costituito da 4 farmaci: ciclofosfamide, FK506, me-

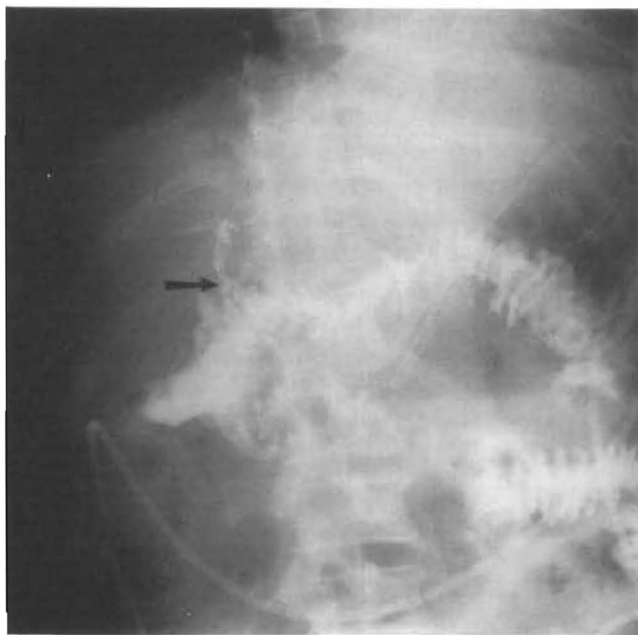


Fig. 24.1. Caso 2.

Colangiografia eseguita in 18ª giornata post-operatoria mediante iniezione di mezzo di contrasto nel cateterino percutaneo biliare posizionato il giorno dello xenotrapianto all'interno della coledoco-digiunostomia.

La freccia indica la anastomosi coledoco-digiunale su ansa alla Roux. La presenza del cateterino transanastomotico ha permesso di studiare l'anatomia biliare e di prelevare campioni di bile durante il periodo post-operatorio.

tilprednisolone e prostaglandina E1. La ciclofosfamide è stata iniziata due giorni prima del trapianto ed è stata somministrata per un totale di 56 giorni nel primo caso e di 10 giorni nel secondo caso, ad un dosaggio variabile da 0,07 a 10,6 mg/kg/die. L'FK506 è stato somministrato a partire dal giorno del trapianto con modalità di somministrazione e dosi analoghe a quelle utilizzate nell'allograpianto clinico di fegato. Analogamente sono state gestite le dosi e le modalità di somministrazione di steroidi e prostaglandina. Una dettagliata descrizione dei dosaggi dei farmaci immunosoppressori e dei livelli ematici ottenuti è stata pubblicata di recente sulle riviste *Lancet* ed *Immunology Today* [77,78].

DECORSO CLINICO

Sino ad oggi sono stati eseguiti due xenotrapianti clinici di fegato di babbuino, rispettivamente il 28 giugno 1992 ed il 10 gennaio 1993. Il primo paziente è stato estubato 17 ore dopo l'intervento ed è vissuto 70 giorni, molti dei quali con una qualità di vita relativamente normale ed in un reparto ordinario. Il secondo paziente, molto più anziano (Tab. 24.1), non ha mai recuperato un livello di coscienza tale da poter essere svezzato dal respiratore ed è vissuto 26 giorni, tutti in un reparto di terapia intensiva chirurgica. Le figure 24.2 e 24.3 descrivono l'andamento post-operatorio relativamente alla funzionalità epatica.

Durante il decorso post-operatorio il primo paziente è stato sottoposto a 5 biopsie epatiche, mentre il secondo paziente ha subito 7 biopsie. Nessuna delle biopsie di entrambi i pazienti conteneva elementi sufficienti per supportare una diagnosi di rigetto cellulare acuto secondo i criteri utilizzati di routine nell'allograpianto di fegato [77-79]. Tuttavia, l'immunofluorescenza diretta ha permesso di dimostrare in entrambi i casi la presenza di depositi endoteliali di immunoglobuline (IgG>IgA>IgM) e complemento (in particolare C1q).

Macroscopicamente si è assistito, in entrambi i casi, ad una notevole rigenerazione epatica con un significativo aumento di volume degli organi di babbuino. La figura 24.4 dimostra l'aspetto dell'organo trapiantato nel primo pa-

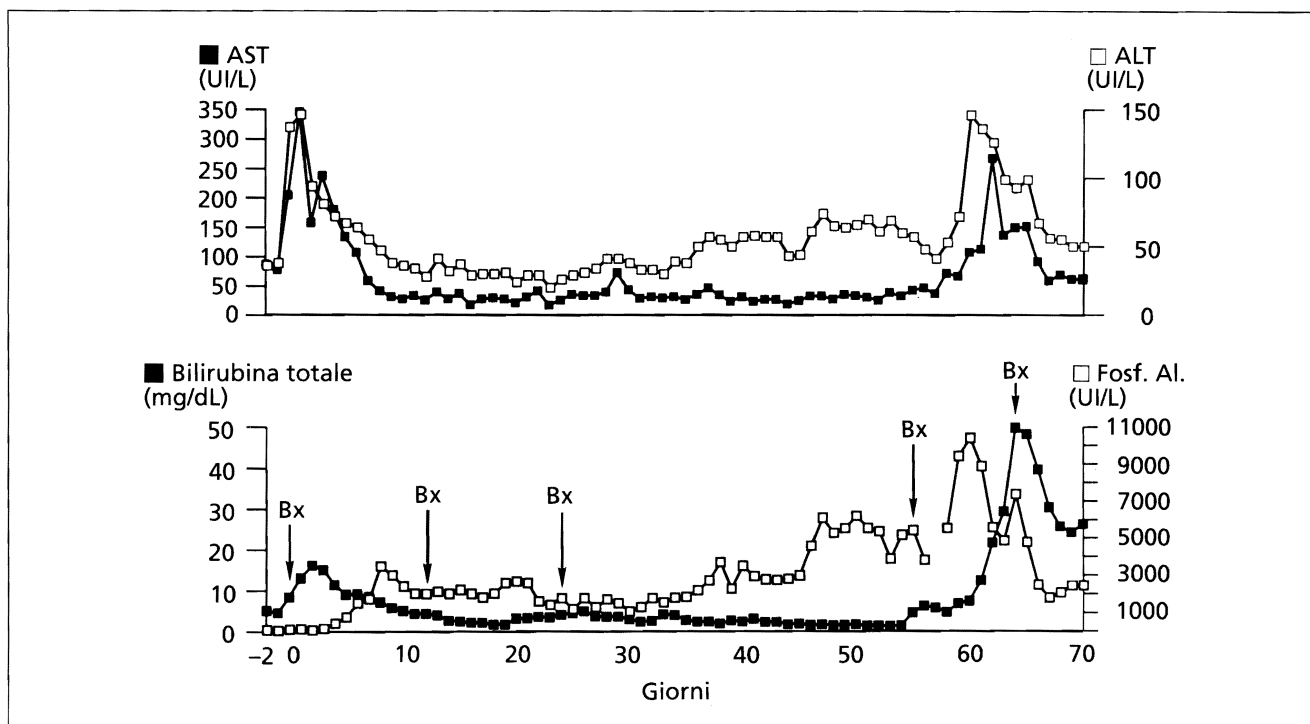


Fig. 24.2. Caso 1.

Il grafico indica i valori di alanino-aminotransferasi (ALT), di aspartato-aminotransferasi (AST), di fosfatasi alcalina (Fosf. Al.) e di bilirubina totale durante il decorso post-operatorio. Bx indica i giorni in cui sono state eseguite le biopsie epatiche.

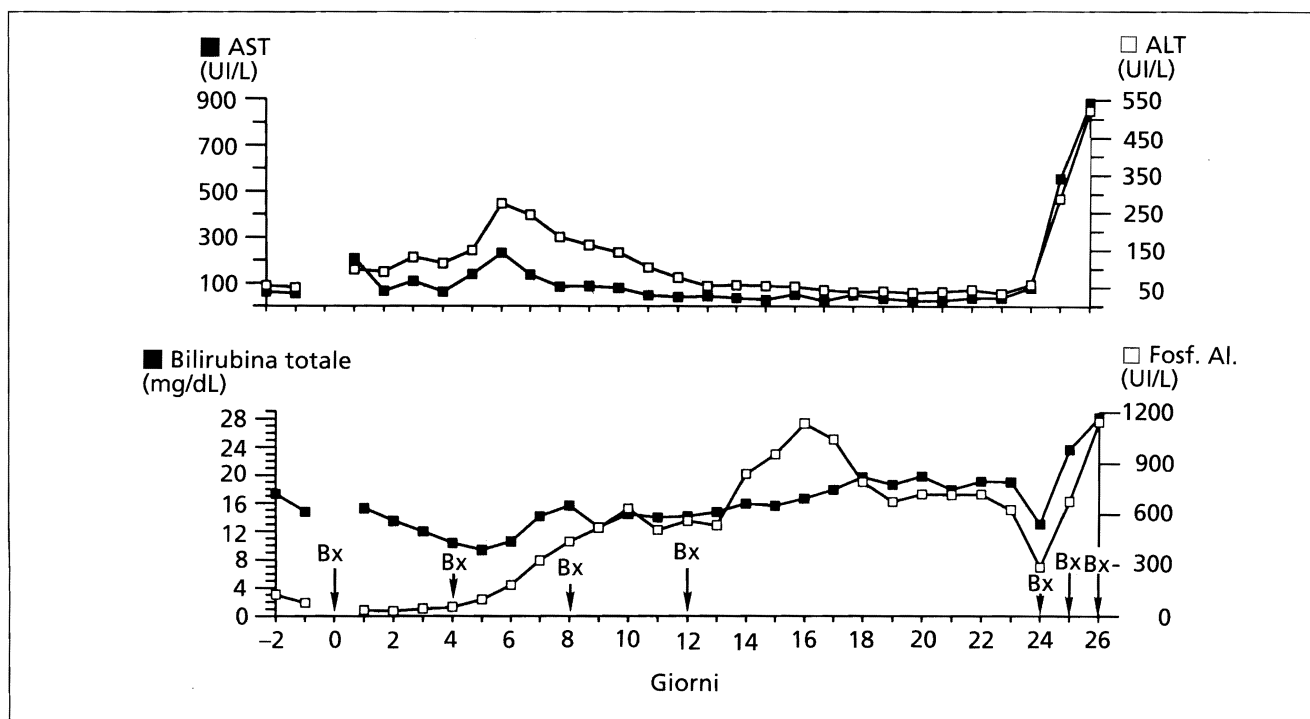


Fig. 24.3. Caso 2.

Il grafico indica i valori di alanino-aminotransferasi (ALT), di aspartato-aminotransferasi (AST), di fosfatasi alcalina (Fosf. AL.) e di bilirubina totale durante il decorso post-operatorio. Bx indica i giorni in cui sono state eseguite le biopsie epatiche.

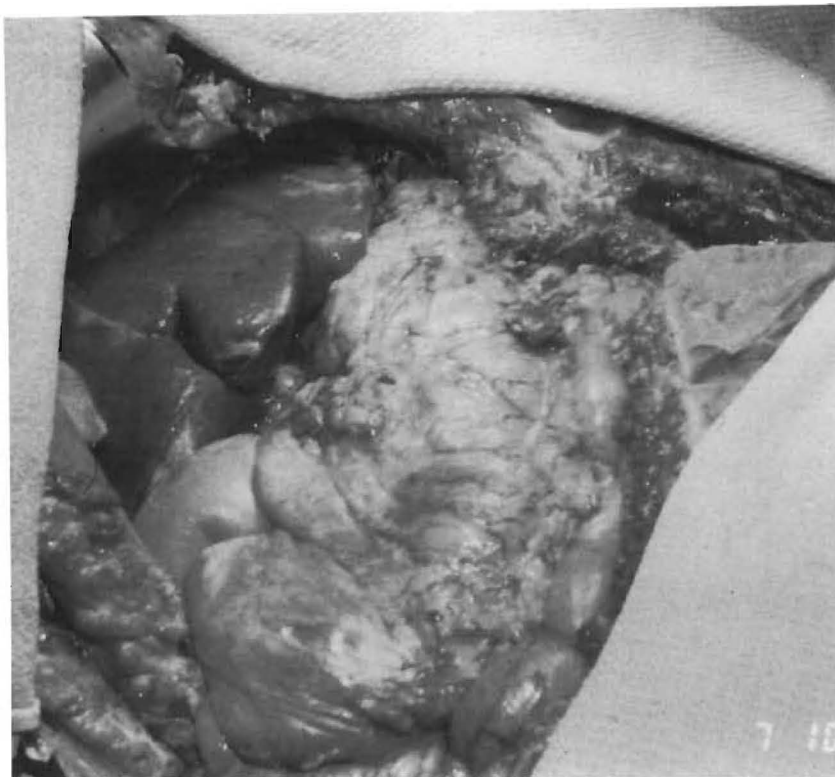


Fig. 24.4. Caso 1.

Fotografia intraoperatoria realizzata durante una laparotomia esplorativa a scopo bioptico eseguita in 12ª giornata post-operatoria.

È evidente il normale aspetto plurilobato del fegato di babuino.

ziente in occasione di una laparotomia a scopo bioptico eseguita il 10 luglio 1992, 12 giorni dopo lo xenotrapianto. È evidente il normale aspetto plurilobato del fegato di babuino ed è altresì evidente come l'organo trapiantato sia aumentato di volume rispetto alle sue dimensioni iniziali (600 cm^3). La tomografia computerizzata ha permesso il calcolo del volume del fegato trapiantato mediante i parametri da noi utilizzati di routine a questo scopo nei candidati [80].

Entrambi i fegati hanno subito una crescita volumetrica estremamente rapida, come accade normalmente nella circostanza in cui un fegato umano venga trapiantato in un ricevente con un addome di dimensioni maggiori di quelle del donatore [81]. Le figure 24.5 e 24.6 mostrano le tomografie computerizzate dei due riceventi eseguite, rispettivamente, in 26ª ed in 14ª giornata post-operatoria. Il fegato del primo paziente sottoposto a xenotrapianto è cresciuto, in 26 giorni, da un volume iniziale di 600 cm^3 ad un volume di 1.555 cm^3 , mentre il fegato del secondo paziente è cresciuto, in 14 giorni, da un volume iniziale di 450 cm^3 ad un volume di 1.741 cm^3 .

In entrambi i pazienti il rigetto cellulare e/o umorale non ha costituito un problema incontrollabile. Il cocktail farmacologico utilizzato (ciclofosfamide, FK506, metilprednisolone e prostaglandina E_1) si è dimostrato in grado di prevenire le lesioni immunitarie caratteristiche dello xenotrapianto [20]. In pratica, l'efficacia dimostrata da tali farmaci nello xenotrapianto concordante sperimentale [62, 82] è stata confermata anche nella nostra esperienza clinica. La causa di morte nel primo paziente è stata una emorragia sub-aracnoidea e cerebrale causata da una aspergillosi angioinvasiva. Il secondo paziente è morto per sepsi le cui cause sono, al momento attuale, ancora oggetto di indagine.

ANALISI DEI RISULTATI

L'ENIGMA DELLA COLESTASI

Dal punto di vista immunopatologico abbiamo dedicato particolare attenzione alla presenza di linfociti T ($CD4+ < CD8+$) ed NK nella

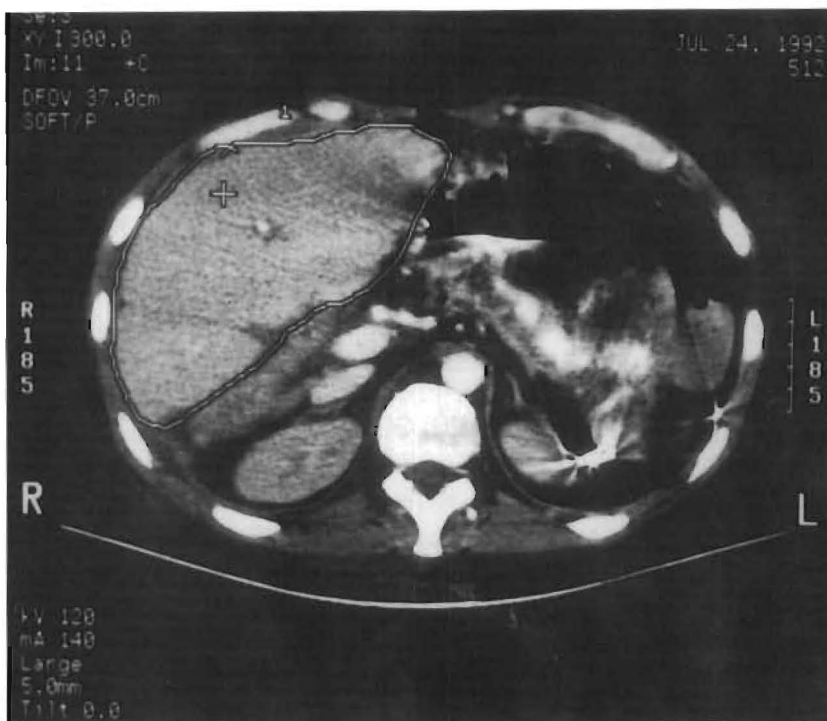


Fig. 24.5. Caso 1.
Tomografia computerizzata eseguita in 24ª giornata post-operatoria. Il fegato è aumentato da un volume iniziale di 600 cm³ a 1.555 cm³.

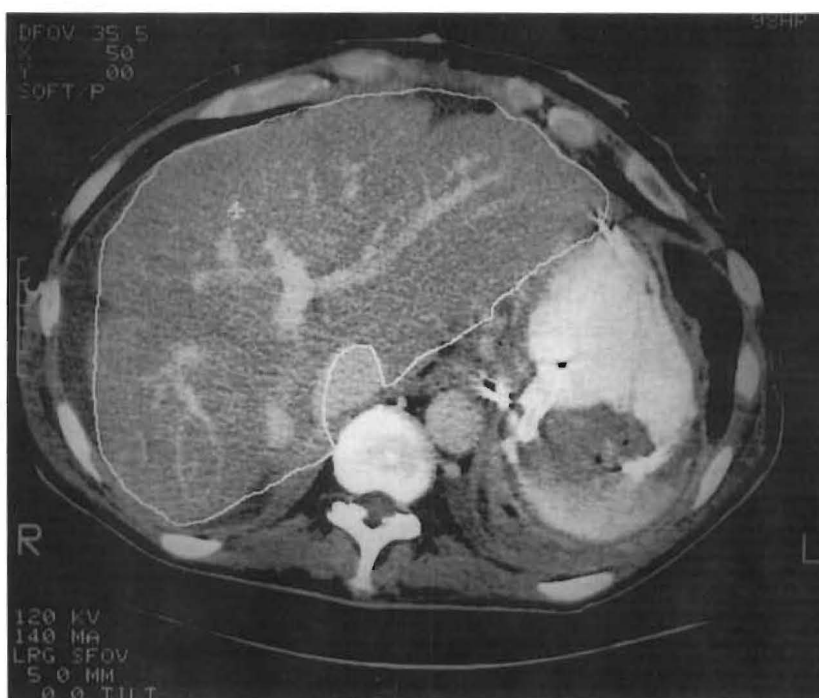


Fig. 24.6. Caso 2.
Tomografia computerizzata eseguita in 14ª giornata post-operatoria. Il fegato è aumentato da un volume iniziale di 450 cm³ a 1.741 cm³.

membrana basale dei canalicoli biliari. Questa particolare attenzione è motivata dal fatto che entrambi i pazienti hanno avuto importanti segni di colestasi intraepatica nel contesto di una architettura epatocellulare praticamente intatta. Come è evidente dalla figura 24.2, il primo paziente ha avuto una bilirubinemia normale per

buona parte del decorso post-operatorio mentre la fosfatasi alcalina è stata sempre molto elevata. Nel secondo paziente i valori di fosfatasi alcalina non sono stati così marcatamente elevati come nel primo (Fig. 24.3), pur essendo costantemente al di sopra dei limiti normali. Anche la bilirubinemia nel secondo paziente non ha mai

raggiunto un valore normale, rimanendo sempre al di sopra di 8 mg/dL. Mentre nel primo paziente è stato possibile dimostrare all'esame post-mortem la presenza di abbondante sludge biliare, possibilmente legato ad un problema di stasi, nel secondo paziente la presenza di un catetere biliare transanastomotico ha permesso di escludere la partecipazione di fattori meccanici all'eziologia dell'incremento degli enzimi canalicolari.

LA DIFFERENTE BIOLOGIA

I due casi sono stati sostanzialmente differenti dal punto di vista immunologico.

Infatti, il primo paziente era stato sottoposto a splenectomia nel 1989 a causa di un incidente motociclistico mentre il secondo paziente possedeva la milza che è stata asportata 4 giorni dopo lo xenotrapianto.

Il primo paziente era HIV positivo. Pur essendo considerato ancora immunocompetente al momento del trapianto e non avendo il suo stato subito particolari variazioni durante il decorso post-operatorio [77], è difficile sostenere se la sua condizione abbia agevolato una immunosoppressione naturale e se questa possa aver rappresentato un vantaggio. Il nostro centro tradizionalmente non rifiuta il trapianto a soggetti HIV positivi [83], tuttavia l'analisi dei parametri immunologici è evidentemente diversa nel caso di un allotrapianto.

Il secondo paziente è stato sottoposto, al termine delle anastomosi vascolari dello xenotrapianto, ad una infusione di cellule prelevate dal midollo del babbuino donatore. Questo al fine di incrementare la naturale tollerogenicità indotta da un trapianto di fegato [84]. Infatti, si ritiene che il fegato sia un organo immunologicamente avvantaggiato dalla presenza di cellule dendritiche in grado di abbandonare l'organo trapiantato e partecipare ad un traffico cellulare bidirezionale che darebbe origine ad un microchimerismo [85, 86]. L'autopsia del primo paziente ha confermato pienamente queste aspettative dimostrando la presenza di DNA di babbuino nel cuore, nei reni, nei polmoni e nei linfonodi del paziente. Tutti i campioni ematici prelevati durante il decorso post-operatorio del secondo paziente hanno dimostrato la presenza di DNA xenogenico. Gli esami tissutali atti a di-

mostrare chimerismo nel secondo paziente sono, al momento attuale, ancora in corso.

LA QUESTIONE METABOLICA

Al di là dei problemi immunologici lo xenotrapianto clinico di fegato impone importanti questioni metaboliche. Il fegato di un babbuino trapiantato in un essere umano continua a produrre proteine fenotipicamente del donatore. Questo concetto costituisce la base su cui molte anomalie congenite del metabolismo trovano nell'allotrapianto di fegato la loro risposta terapeutica [87]. Ne consegue che lo xenotrapianto di fegato crea nel ricevente un metabolismo epatico babbuino-specifico. Questo aspetto era a noi già chiaro per i precedenti studi eseguiti nel modello di xenotrapianto epatico hamster-ratto. Infatti, benché siano entrambi roditori, la distanza filogenetica tra hamster e ratto, determinata sulla base di elaborazioni genetiche e paleontologiche, è stimata tra i 15 ed i 40 milioni di anni [88]. L'analisi delle proteine della coagulazione ha dimostrato grandi differenze tra le 2 specie di roditori ed allorché il ratto subisce uno xenotrapianto di fegato di hamster il suo profilo emocoagulativo cambia radicalmente, divenendo assimilabile a quello dell'animale donatore [89]. Ciò nonostante il ricevente non soffre di alcuna diatesi emorragica.

Variazioni simili si verificano nello xenotrapianto di fegato babbuino-uomo [77-79], dove il ricevente assume lo stesso profilo emocoagulativo del babbuino pur mantenendo un normale tempo di protrombina ed una normale capacità di coagulazione [77].

Il fegato di babbuino trapiantato continua a produrre complemento specie-specifico. Questo fatto contribuisce alla protezione immunologica dello xenotrapianto, in quanto è ovvio che il complemento prodotto dal fegato di babbuino non può essere coinvolto dal rigetto del fegato dal quale è prodotto.

Benché, in via ipotetica, il fegato di babbuino potrebbe introdurre alterazioni letali nei pathways metabolici umani, la nostra esperienza ha escluso questo rischio. Abbiamo infatti osservato numerose variazioni coinvolgenti, ad esempio, il metabolismo delle purine, dell'albumina, del colesterolo e dei trigliceridi ma senza che queste determinassero particolari ostacoli al me-

tabolismo generale dell'organismo ospite. È comunque evidente che tutti questi aspetti richiedono ulteriori dettagliati approfondimenti. La questione metabolica nello xenotrapianto clinico potrebbe rivelarsi un vaso di Pandora.

CONCLUSIONI

Il follow-up di cui disponiamo oggi nello xenotrapianto clinico di fegato è ancora troppo breve per consentire affermazioni scientifiche conclusive. Occorreranno ulteriori esperienze per determinare i vantaggi e l'applicabilità su scala più larga di questa affascinante metodica terapeutica. Tuttavia, la potenziale speranza di disporre di un numero illimitato di donatori costituisce uno stimolo acutissimo a procedere in questa direzione.

Il Pittsburgh Transplant Institute ritiene che le attuali conoscenze in immunopatologia del rigetto ed i farmaci immunosoppressori di cui si dispone attualmente siano tali da giustificare il trial clinico di xenotrapianto. Muovendo da questo rationale nel novembre del 1991 abbiamo notificato al National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases of the National Institute of Health (Jay Hoofnagle, MD e Philip Gordon, MD), alla Food and Drug Administration (Ron Lieberman, MD e Gregory Burke, MD) ed al direttore del Department of Health and Human Services (Louis Sullivan, MD) la nostra intenzione a procedere con il progetto di xenotrapianto clinico di fegato. Gli 8 mesi successivi sono stati necessari per presentare le documentazioni scientifiche in nostro possesso alle competenti agenzie del governo degli USA, al Pittsburgh Institutional Review

Board (il comitato etico dell'Università di Pittsburgh) ed ai membri del Congresso degli USA. Nel marzo 1992 abbiamo, inoltre, riunito a Pittsburgh un comitato, costituito da sei eminenti chirurghi europei e statunitensi e coordinato da Keith Reemtsma della Columbia University di New York, al fine di ottenere il parere di altri esperti prima di procedere con la realizzazione del primo xenotrapianto di fegato di babbuino. Dopo aver effettuato alcune modifiche al nostro protocollo iniziale, sulla base dei suggerimenti ottenuti dai vari esperti consultati, il 28 giugno 1992 abbiamo eseguito il primo xenotrapianto ed il 10 gennaio 1993 il secondo. Durante il lungo intervallo tra il primo ed il secondo intervento, nonostante disponessimo di una autorizzazione a procedere con 4 xenotrapianti di fegato consecutivi [91], abbiamo voluto riunire nuovamente, questa volta presso la New York Academy of Medicine, il gruppo di esperti precedentemente consultato al fine di sottoporre alla loro analisi i risultati ottenuti nel primo xenotrapianto. In tale occasione abbiamo ricevuto l'invito a proseguire il trail clinico.

È evidente che un progetto di questa natura solleva problemi che lasciano il campo prettamente medico per entrare in aree di specifico interesse etico. Alcuni movimenti etici considerano tale progetto immorale [92]. Noi non riteniamo che questa sia la sede adatta per aprire una diatriba tra fautori dell'eguaglianza interspecie, una moderna forma di Jainismo [93], sostenitori della disuguaglianza interspecie e speciesisti [94]. Tuttavia riteniamo di condividere i sentimenti e l'analisi di Stephen Post [92], quando sostiene che il progetto di Pittsburgh «has successfully reminded us that the human good remains appropriately the highest good, despite the cultural inroads of anthropomorphism».

BIBLIOGRAFIA

- [1] **Omero.**: *Iliade*, Libro XI.: 832, VIII Secolo a.C.
- [2] **Omero.**: *Iliade*, Libro VI.: 175, VIII Secolo a.C.
- [3] **Calne R.Y.**: *Organ transplantation between widely disparate species*. *Transplant. Proc.* 2, 550-553; 1970.
- [4] **Ullmann E.**: *Experimentelle Nierentransplantation, vorläufige Mitteilung*. *Wien. Klin. Wochenschr.* 15, 281; 1902.
- [5] **Princeteau M.**: *Greffe renale*. *J. Med. Bordeaux*. 26, 549, 1905.
- [6] **Unger E.**: *Nierentransplantationen*. *Berlin Klin. Wehnsehr.* 47, 573-578, 1910.
- [7] **Neuhof H.**: *The Transplantation of Tissues*. Appleton and Co., New York, 1923.
- [8] **Avramovici A.**: *Les transplantations de rein*. *Lyon Chir.* 21, 734; 1924.
- [9] **Jaboulay M.**: *De reins au pli du coude par suture artérielles et veineuses*. *Lyon Med.* 107, 575-577; 1906.
- [10] **Reemtsma K., McCracken B.H., Schlegel J.V. et Al.**: *Renal heterotransplantation in man*. *Ann. Surg.* 160(3), 384-403; 1964.
- [11] **Hitchcock C.R., Kiser J.C., Telander R.L. et Al.**: *Baboon renal grafts*. *JAMA*. 189.: 934-937; 1964.

- [12] **Starzl T.E., Marchioro T.L., Peters G.N. et Al.:** *Renal Heterotransplantation from baboon to man: experience with six cases.* Transplantation, 2, 752-776; 1964.
- [13] **Traeger J., Fries D., Perrin J. et Al.:** *Heterotransplantation chez l'homme, premiers resultats.* Proceeding of the European Dialysis and Transplant Association, 2:214-228; 1965.
- [14] **Murray J.E., Merrill J.P., Harrison J.H. et Al.:** *Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy.* New England Journal of Medicine 268, 1315-1323; 1963.
- [15] **Starzl T.E., Marchioro T.L., Waddell W.R.:** *The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance.* Surgery Gynecology and Obstetrics, 117, 385-395; 1963.
- [16] **Woodruff M.F.A., Nolan B., Wilson T.I. et Al.:** *Homotransplantation of kidney in patients treated by preoperative local irradiation and postoperative administration of an antimetabolite (imuran).* Lancet, 2(No. 7309), 675-682; 1963.
- [17] **Hume D.M., Magee J.H., Kauffman M.H. Jr. et Al.:** *Renal homotransplantation in man in modified recipients.* Ann. Surg. 158, 608-644; 1963.
- [18] **Starzl T.E.:** *Experience in Renal Transplantation,* Philadelphia, PA. W.B. Saunders (Publishers) Company; 1964.
- [19] **Marino I.R., Doyle H. R.:** *Conventional Immunosuppressive Drugs.* In. *Immunosuppressive Drugs: Advance in Anti-Rejection Therapy,* Thomson A.W. and Starzl T.E. (Eds), Edward Arnold Publishers, (in stampa).
- [20] **Cooper D.K.C., Kemp E., Reemtsma K. et Al.,** (Eds): *Xenotransplantation: The Transplantation of Organs and Tissues Between Species.* Springer-Verlag Publishers; 1991.
- [21] **Calne R.Y., Rolles K., White D.J.G. et Al.:** *Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs.: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers.* Lancet 2; 1033-1036; 1979.
- [22] **Bailey L.L., Nehlsen-Cannarella S.L., Concepcion W. et Al.:** *Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate.* JAMA 254.: 3321-3329; 1985.
- [23] **Terasaki P.I., Marchioro T.L., Starzl T.E.:** *Sero-typing of human lymphocyte antigens.: Preliminary trials on long-term kidney homograft survivors,* In Russell P.S., Winn H., Amos D.B. (Eds): *Histocompatibility Testing 1965.* Washington DC, National Academy of Science, pp.: 83-96; 1965.
- [24] **Porter K.A.:** *Pathological changes in transplanted kidneys.* In Starzl T.E., *Experience in Renal Transplantation.* Philadelphia, W.B. Saunders Company, 346-357; 1964.
- [25] **Starzl T.E., Tzakis A., Makowka L. et Al.:** *The Definition of ABO Factors in Transplantation: Relation to Other Humoral Antibody States.* Transplant. Proc., Vol XIX, No. 6, pp 4492-4497; 1987.
- [26] **Council on Scientific Affairs.** *Xenografts. Review of the literature and current status.* JAMA. 254, 3353-3357; 1985.
- [27] **Makowka L., Miller C., Chapchap P. et Al.:** *Prolongation of pig-to-dog renal xenograft survival by modification of the inflammatory mediator response.* Ann. Surg. 206, 482-495; 1987.
- [28] **Shapiro R., Tzakis A.G., Scantlebury V. et Al.:** *Immunodepletion in xenotransplantation.* J. Invest. Surg. 3, 39-49; 1990.
- [29] **Marino I.R., Celli S., Ferla G. et Al.:** *Histopathological, Immunofluorescent, and Electron-Microscopic Features of Hyperacute Rejection in Discordant Renal Xenotransplantation.* In *Xenotransplantation: The Transplantation of Organs and Tissues Between Species.* Cooper D.K.C., Kemp E., Reemtsma K., White D.J.G. (Eds), Springer-Verlag Publishers, 207-230; 1991.
- [30] **Platt J.L., Bach F.H.:** *The barrier to xenotransplantation.* Transplantation, 52(6): 937-947; 1991.
- [31] **Kakita A., Blanchard J., Fortner J.G.:** *Effectiveness of Prostaglandin E1 and procabazine hydrochloride in prolonging the survival of vascularized cardiac hamster-to-rat xenograft.* Transplantation 20:439-442; 1975.
- [32] **Shaw J.R.L.:** *Role of prostaglandins in transplantation.* In Cohen M.M. (Ed). *Biological Protection with Prostaglandins.* Vol. 1 Boca Raton.: C.R.C. Press Inc., 111-128; 1985.
- [33] **Mundy A.R.:** *Prolongation of cat-to-dog renal xenograft survival with prostacyclin.* Transplantation 30:226-228; 1980.
- [34] **Quagliata F., Lawrence V.J.W., Phillips-Quagliata J.M.:** *Short Communication.: Prostaglandin E as a regulator of lymphocyte function selective action on B lymphocytes and synergy with procabazine in depression of immune responses.* Cell Immunol. 6:457- 465; 1972.
- [35] **Starzl T.E., Ishikawa M., Putnum C.W. et Al.:** *Progress in and deterrents to orthotopic liver transplantation, with special reference to survival, resistance to hyperacute rejection, and biliary duct reconstruction.* Transplant. Proc. 6:129-139; 1974.
- [36] **Marino I.R., Fung J.J., Starzl T.E.:** *Accelerated rejection of liver grafts.: The role of FK 506.* In *Accelerated rejection of liver grafts,* Gubernatis G. (Ed), R.G. Landes Company, Biomedical publishers, Austin, (in stampa).
- [37] **Takaya S., Iwaki Y., Starzl T.E.:** *Liver transplantation in positive cytotoxic crossmatch cases using FK 506, high dose steroids and prostaglandin E₁.* Transplantation (in stampa).
- [38] **Colvin M.:** *The alkylating agents.* In Chabner B.A., (Ed). *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment.* Philadelphia. WB Saunders Co. 276-308; 1982.
- [39] **Maguire H.C. Jr., Maibach H.I.:** *Specific immune tolerance to anaphylactic sensitization (egg albumin) induced in the guinea pig by cyclophosphamide (Cytoxan).* Journal of Allergy 32, 406-408; 1966.
- [40] **Berenbaum M.C.:** *Effect of cyclophosphamide on the homograft response in the guinea pig.* Transplantation 3(5), 761-673; 1965.
- [41] **Brody G.L., Jones J.W., Haines R.F.:** *Influence of cyclophosphamide on homograft rejection.* JAMA 191, 297-300; 1965.
- [42] **Fox M.:** *Studies of homotransplantation of mouse skin and human kidney.* In Fairley G.H., Simister J.M., (Eds): *Cyclophosphamide.* Baltimore, Williams and Wilkins, 136-147; 1965.
- [43] **Frisch A.W., Davies G.H.:** *Inhibition of hemagglutinin synthesis by cytoxan.* Cancer Research 25, 745-751; 1965.
- [44] **Potel J.:** *Influence of cyclophosphamide on the formation of antibodies.* In Fairley G.H., Simister J.M. (Eds): *Cyclophosphamide.* Baltimore Williams and Wilkins, 147-151; 1965.
- [45] **Marquet R., Heystek G.:** *The induction and abolition of specific immunosuppression of heart allografts in rats by use of donor blood and cyclophosphamide.* Journal of Immunology 115, 405-408; 1975.
- [46] **Rollinshoff M., Starzinski-Powitz A., Pfizenmaler K. et Al.:** *Cyclophosphamide-sensitive T lymphocytes suppress the in vivo generation of antigen specific cytotoxic T lymphocytes.* Journal of Experimental Medicine 145, 455-459; 1977.
- [47] **Starzl T.E., Halgrimson C.G., Penn I. et Al.:** *Cyclophosphamide and human organ transplantation.* Lancet 2, 70-74; 1971.

- [48] Starzl T.E., Putnam C.W., Halgrimson C.G. et Al.: Cyclophosphamide and whole organ transplantation in human beings. *Surgery Gynecology and Obstetrics* 133, 981-991; 1971.
- [49] Berlyne G.M., Danovitch G.M.: Cyclophosphamide for immunosuppression in renal transplantation. *Lancet* 2, 924-925; 1971.
- [50] Uldall R., Taylor R., Swinney J.: Cyclophosphamide in human organ transplantation. *Lancet* 2, 257-258; 1971.
- [51] Starzl T.E., Groth C.G., Putnam C.W. et Al.: Cyclophosphamide for clinical renal and hepatic transplantation. *Transplant. Proc.* 5, 511-516; 1973.
- [52] Stender H.S., Ringleb D., Strauch D. et Al.: Die beeinflussung der antikörperbildung durch zytostatika und rontgenbestrahlung. *Strahlentherapie* 43; 392-399; 1959.
- [53] Maguire H.C. Jr., Maibach H.I.: Effect of cyclophosphamide, 6-mercaptopurine, actinomycin D and vincalcoblastine on the acquisition of delayed hypersensitivity (DNCEB) contact dermatitis in guinea pigs. *Journal of Investigative Dermatology* 37, 427-431; 1961.
- [54] Turk J.L.: Studies on the mechanism of action of methotrexate and cyclophosphamide on contact sensitivity in the guinea pig. *International Archives of Allergy* 24, 191-200; 1964.
- [55] Turk J.L., Stone S.H.: Implications of the cellular changes in lymph nodes during the development and inhibition of delayed type hypersensitivity. In Amos B., Koprowski H., (Eds). *Cell Bound Antibodies*, Philadelphia Wistar Institute Press (Publishers), 51-60; 1963.
- [56] Reams G.B.: Use of cyclophosphamide in attempt to modify the canine renal homograft response. *Nature* 197, 713-714; 1963.
- [57] Zukoski C.F., Callaway J.M., Rhea W.G.: Prolongation of canine renal homograft survival by antimetabolites. *Transplantation* 1, 3, 293-295; 1963.
- [58] Preston F.W., Macalalad F., Wachowski T.J. et Al.: Survival of homografts of the intestine with and without immunosuppression. *Surgery* 60, 4, 1203-1210; 1966.
- [59] Santos G.W., Burke P.F., Sensenbrenner L.L. et Al.: In Bertelli A., Monaco A.P., (Eds): *Rationale for the use of cyclophosphamide as an immunosuppressant for marrow transplant in man*. Pharmacological Treatment In Organ and Tissue Transplantation, Amsterdam, 24-31; 1970.
- [60] Goodwin W.E., Kaufman J.J., Mims M.M. et Al.: Human renal transplantation. I. Clinical experiences with six cases of renal homotransplantation. *Journal of Urology* 89, 13-24; 1963.
- [61] Markland A.C., Anderson C.K.: Human kidney transplantation conference. *Transplantation* 2, 162-165; 1964.
- [62] Starzl T.E., Murase N., Demetris A.J. et Al.: Allograft and xenograft acceptance under FK 506 and other immunosuppressive treatment. *The New York Academy of Science*, (in stampa).
- [63] Starzl T.E.: Baboon renal and chimpanzee liver heterotransplantation. In *Xenograft* 25. Hardy M.A. (Ed). Elsevier; Amsterdam, New York, Oxford, 17-28; 1989.
- [64] Auchincloss H. Jr.: Xenogenic transplantation. *Transplantation* 46, 1; 1988.
- [65] Iwatsuki S., Iwaki Y., Kano T. et Al.: Successful liver transplantation from crossmatch-positive donors. *Transplant. Proc.* 13:286-288; 1981.
- [66] Starzl T.E., Iwatsuki S., Van Thiel D.H. et Al.: Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 2:614-636; 1982.
- [67] Takaya S., Duquesnoy R., Iwaki Y. et Al.: Positive crossmatch in primary human liver allografts under cyclosporine or FK 506 therapy. *Transplant Proc.* 23:396-399; 1991.
- [68] Takaya S., Bronsther O., Iwaki Y. et Al.: The adverse impact on liver transplantation of using positive cytotoxic crossmatch donors. *Transplantation* 53:400-406; 1992.
- [69] Starzl T.E., Thomson A.W., Todo S. et Al.: First International Congress on FK 506. *Transplantation Proc.* 23(6), 2709-3380; 1991.
- [70] Kalter S.S.: *The baboon. Microbiology, clinical, chemistry and some hematological aspects*. In *Primates in Medicine*. Vol. 8, Series Editors. Goldsmith E.I. and Morr-Jankowski J., Karger S. Publishing, Basel; 1973.
- [71] Socha W.W., Moor-Jankowski J. et Al.: Blood group of primates.: present status, theoretical implications and practical applications. A review. *J. Med. Primatol.* 13:11-40; 1984.
- [72] Michaels M., McMichael J., Brasky K. et Al.: Screening donors for xenotransplantation.: The potential for xenozoonoses. Abstract, 12th Annual Meeting of the American Society of Transplant Physicians, Chicago; 1993, inviato.
- [73] Starzl T.E., Miller C., Bronznick B. et Al.: An improved technique for multiple organ harvesting. *Surg. Gynecol. Obstet.* 165:343-348; 1987.
- [74] Starzl T.E., Marchioro T.L., Von Kaulla K.N. et Al.: Homotransplantation of the liver in humans. *Surg. Gynecol. Obstet.* 117:659-676; 1963.
- [75] Shaw B.W.Jr., Martin D.J., Marquez J.M. et Al.: Venous bypass in clinical liver transplantation. *Ann. Surg.* 200:524-534; 1984.
- [76] Tzakis A., Todo S., Starzl T.E.: Piggy-back orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava. *Ann. Surg.* 210:649-652; 1989.
- [77] Starzl T.E., Fung J.J., Tzakis A. et Al.: Baboon-to-human liver transplantation. *Lancet*, 341.: 65-71; 1993.
- [78] Tzakis A., Fung J.J., Todo S. et Al.: *Xeno Today*. Immunology Today (in stampa)
- [79] Starzl T.E.: *The Future of Xenotransplantation*. Editorial for the *Surgical Residents issue*. *Ann. Surg.* Vol. 3, No. 10, October 1992.
- [80] Van Thiel D.H., Hagle N.G., Schade R.R. et Al.: In vivo hepatic volume determination using sonography and computed tomography: Validation and a comparison of the two techniques. *Gastroenterology* 88:1812-1817; 1985.
- [81] Van Thiel D.H., Gavalier J.S., Kam I. et Al.: Rapid growth of an intact human liver transplanted into a recipient larger than the donor. *Gastroenterology* 93:1414-1419; 1987.
- [82] Hasan R.I.R., Bogaerde van den J., Wallwork J. et Al.: Evidence that long-term survival of concordant xenografts is achieved by inhibition of antispecies antibody production. *Transplantation* 54:408-413; 1992.
- [83] Tzakis A.G., Cooper M.H., Dummer J.S. et Al.: Transplantation in HIV+ patients. *Transplantation* 49(2):354-358; 1990.
- [84] Valdivia L., Demetris A.J., Fung J.J. et Al.: Successful hamster to rat liver xenotransplantation under FK 506 immunosuppression induces unresponsiveness to hamster heart and skin. *Transplantation* (in stampa).
- [85] Starzl T.E., Demetris A.J., Murase N. et Al.: Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *Lancet* 339:1579-1582; 1992
- [86] Starzl T.E., Murase N., Demetris A.J. et Al.: Drug development and testing in relation to cell migration and chimerism. *Transplant. Proc.* (in stampa)
- [87] Starzl T.E., Demetris A.J., Van Thiel D.H.: *Medical progress: liver transplantation*. *N. Engl. J. Med.* 321:1014-1022; 1989.

- [88] **Hartenberger J.L.:** *The order Rodentia: major questions on their evolutionary origin, relationships and suprafamilial systematics.* In Lockett W.P., Hartenberger J.L., (Eds). *Evolutionary Relationships Among Rodents: A Multidisciplinary analysis.* New York.: Plenum Press, 92; 1985.
- [89] **Valdivia L.A., Lewis J.H., Celli S. et Al.:** *Hamster coagulation and serum proteins in rat recipients of hamster xenografts.* Transplantation (in stampa).
- [90] **Bontempo F.A., Lewis J.H., Marino I.R. et Al.:** *Coagulation factor pattern in baboon-to-human liver transplant: Acquisition of baboon pattern by recipient.* Abstract presented at the American Society of Hematology, 34th Annual Meeting; 1992.
- [91] **Starzl T.E., Todo S., Tzakis A.G. et Al.:** *Baboon to Human Heterotransplantation.* Institutional Review Board protocol 920301. University of Pittsburgh 1992.
- [92] **Post S. G.:** *Baboon livers and the human good.* Arch. Surg. 128:131-133; 1993.
- [93] **Jaini P.S.:** *The Jaina path of purification.* Berkeley University of California Press 1979.
- [94] **Cohen C.:** *The case for the use of animals in biomedical research.* N. Eng. J. Med. 315:865-870; 1986.