

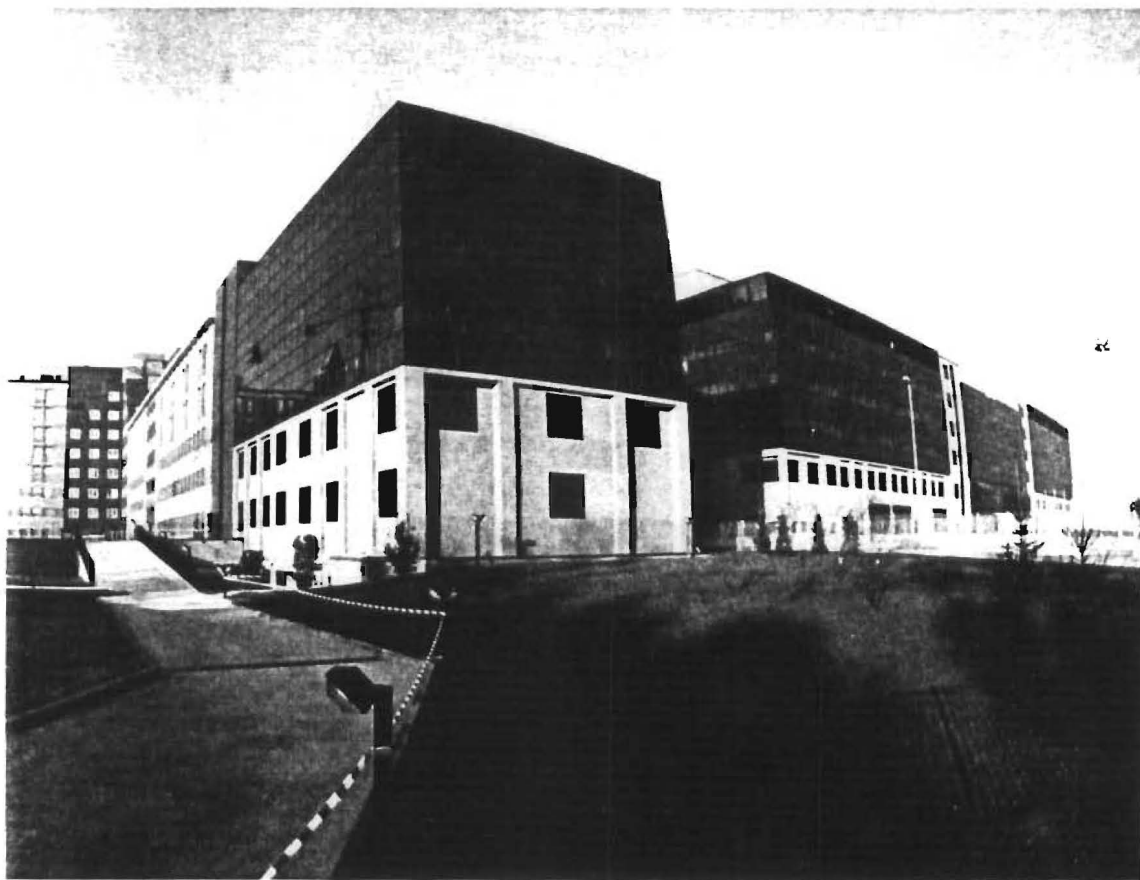
Dicembre 1995

SANARE INFIRMOS

Rivista quadrimestrale dell'Istituto Scientifico H San Raffaele

16

#1671



L'International Heart Centre del San Raffaele

Un dono di Dio nelle mani degli uomini

La rilevanza scientifica del "W Lotto"

Verso un nuovo obiettivo: il Dipartimento del Cuore

Le nuove frontiere del Centro Trapianti Multiorgano

HSR

GLI OSTACOLI ALLO XENOTRAPIANTO NON SONO INSORMONTABILI

di THOMAS E. STARZL*
e IGNAZIO R. MARINO**

Nell'immediato futuro potrebbero aprirsi nuove possibilità attraverso la produzione dei cosiddetti "animali transgenici"

Thomas E. Starzl, è il geniale chirurgo che, per primo al mondo, l'1 marzo 1963 eseguì un trapianto di fegato in un bambino. Le tappe della sua prestigiosa carriera sono segnate dalle più significative conquiste della trapiantologia epatica, delle quali è stato artefice: definizione della tecnica operatoria, prima descrizione del prelievo multiorgano da cadavere, impiego combinato di farmaci antirigetto. Lo xenotrapianto, magica prospettiva grava di enormi speranze per il futuro della trapiantologia, lo vede ancora protagonista.

In questo articolo, firmato anche da Ignazio Marino, un eccellente ricercatore italiano che è stato uno dei protagonisti dell'attività clinica di xenotrapianto epatico a Pittsburgh, vengono stressati alcuni degli enigmi di un complesso problema clinico ancora tutto da scoprire e si prospettano gli orientamenti futuri della ricerca in questo campo.

Gianfranco Ferla

I due recenti tentativi di xenotrapianto di fegato di babuino nell'uomo, eseguiti presso il Pittsburgh Transplantation Institute, non hanno avuto il successo sperato (1-3). Sebbene abbiano dimostrato alcuni fatti importanti, quali la mancata reinfezione da virus dell'epatite B e l'assenza di segni di rigetto cellulare od umorale, i dati oggi a nostra disposizione non consentono di individuare, neanche retrospettivamente, le esatte cause di successo.

Cosa non ha funzionato?

La tecnica chirurgica utilizzata è sovrapponibile a quella utilizzata nell'allograpianto di fegato (4). A causa della discrepanza delle dimensioni corporee tra i babuini utilizzati come donatori ed i pazienti trapiantati, è stato necessario eseguire il trapianto secondo la cosiddetta tecnica di *piggyback* (figura 1), inizialmente descritta nel 1968 da Calne (5) e poi diffusa da Tzakis (6). Entrambi i legati di babuino sono andati incontro ad una significativa rigenerazione che li ha portati a raggiungere, in breve tempo, un volume idoneo alle dimensioni fisiche dei riceventi (figure 2 e 3).

IL CONFRONTO TRA I DUE RICEVENTI

Il *crossmatch* linfocitotossico, convenzionale tra il siero dei riceventi ed i linfociti dei rispettivi donatori è risultato positivo

con la tecnica tradizionale, ma si è negatizzato dopo l'aggiunta di ditiotreitolo, a dimostrazione del fatto che gli anticorpi naturali presenti in questo tipo di combinazione donatore-ricevente sono per la maggior parte appartenenti alla classe delle immunoglobuline G. In entrambi i casi i donatori erano compatibili per gruppo sanguigno con i rispettivi riceventi: A ed A nel 1° caso, B e B nel 2° caso. I test in vitro, eseguiti prima dello xenotrapianto, hanno dimostrato che entrambi i pazienti erano immunocompetenti.

Tuttavia, al di là di questi aspetti comuni vi sono state importanti differenze tra i due casi. Il primo paziente (35 anni), era HIV positivo ed aveva perso la milza 3 anni prima dello xenotrapianto, a causa di un incidente stradale. Il secondo paziente era molto più anziano del primo (62 anni) ed in ben più precarie condizioni generali. Questo paziente aveva la milza al momento dello xenotrapianto ed è stato sottoposto a splenectomia in 4ª giornata postoperatoria.

DECORSO CLINICO POSTOPERATORIO

Caso n. 1

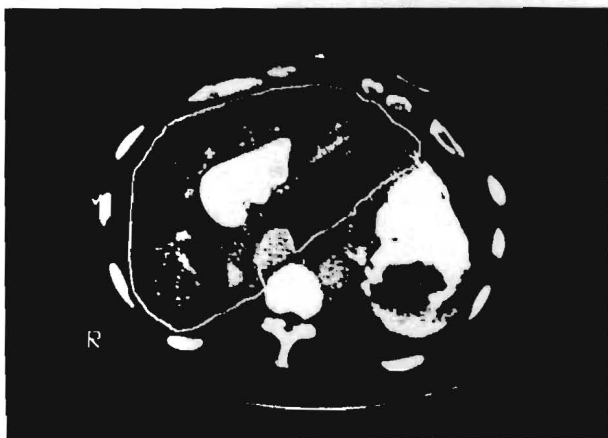
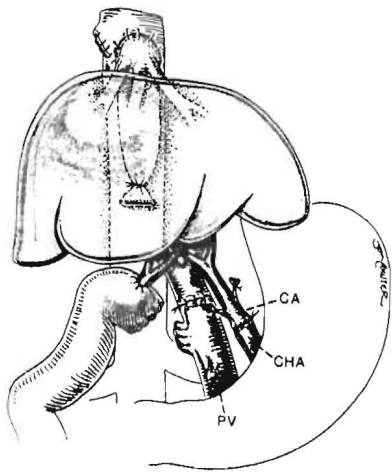
Il primo paziente, estubato 17 ore dopo l'intervento è vissuto 70 giorni, molti dei quali con una qualità di vita relativamente normale ed in un reparto ordinario, è stato in grado di assumere una alimentazione ordinaria già 5 giorni dopo il trapianto, rimanendo anitterico per la maggior parte dei 70 giorni di sopravvivenza. La fosfatasi alcalina, elevata sin dalla 3ª giornata postoperatoria, ha superato le 10.000 unità internazionali in 60ª giornata. Le transaminasi, invece, hanno subito solo una modesta elevazione (2). Il paziente divenne itterico in 55ª giornata e tale complicanza venne attribuita ad un imperfetto drenaggio dell'anastomosi biliare, anche se un colangiogramma, eseguito in 61ª giornata, non ha dimostrato alcun problema anastomotico. L'esame autoptico, tuttavia, ha evidenziato come l'intero albero biliare intraepatico fosse occupato da *sludge* con chiari segni di danno dell'epitelio biliare stesso. Tale lesione può essere, alternativamente, attribuita sia ad un evento meccanico, oppure interpretata come secondaria ad un evento immunologico.

Caso n. 2

Il secondo paziente non ha mai recuperato un livello di coscienza tale da poter essere "svezzato" dal respiratore ed è vissu-



* Professore di Chirurgia, Università di Pittsburgh, Stati Uniti.
** Professore associato di Chirurgia, Università di Pittsburgh, Stati Uniti



to 26 giorni, in un reparto di terapia intensiva chirurgica (3). Una biopsia del fegato, eseguita in 4^a giornata, ha dimostrato lo stesso quadro colestatico già rilevato nel primo paziente. La bilirubinemia preoperatoria in questo secondo paziente era 17.3 mg/dl, discese ad 8 mg/dl in 4^a giornata postoperatoria, per poi risalire sino a 28.3 mg/dl prima dell'exitus.

LA QUESTIONE METABOLICA

La colestasi sviluppatasi in entrambi i pazienti ha spinto il nostro gruppo a sospettare che un fegato di babbuino, trapiantato in un organismo umano, possa produrre una bile litogena. Tuttavia, benché tale possibilità non possa essere completamente esclusa, non crediamo che essa possa essere identificata come il principale elemento eziologico. Un altro

aspetto che ha sollevato molte perplessità è che, in entrambi i pazienti, il fegato di babbuino non è riuscito ad elevare l'albuminemia al di sopra di 2 gm/dl. Questo nonostante che altri dati, come ad esempio un normale tempo di protrombina, dimostrassero una buona funzione di sintesi epatica (2,3). I due babbuini utilizzati come donatori sono stati selezionati sulla base delle loro dimensioni corporee, senza prestare particolare attenzione né all'età (entrambi avevano più di 15 anni), né ai bassi livelli di albuminemia. Uno studio recente, compiuto su 25 babbuini alla Southwest Foundation for Research and Education a San Antonio, in Texas (la stessa istituzione che ha fornito i babbuini per i nostri xenotrapianti), ha dimostrato che l'albuminemia di questi animali è 3.5 ± 0.7 gm/dl (7). Dati simili sono stati recentemente pubblicati anche da un'altra istituzione in Ohio (8). Di conseguenza l'ipoalbuminemia dei

due donatori utilizzati a Pittsburgh non è caratteristica dei babbuini in generale e non rappresenta, quindi, un limite geneticamente determinato (7).

LE CAUSE DI MORTE

La causa di morte nel primo paziente è stata una emorragia sub-aracnoidea e ce-

rebrale causata da una aspergilosi angioinvasiva (2). Il secondo paziente è, invece, deceduto a causa di una peritonite (3). Tuttavia, la funzione epatica è stata, in entrambi i pazienti, sub-ottimale con un'inspiegabile disparità tra l'aspetto apparentemente normale delle biopsie epatiche eseguite e la non soddisfacente funzione d'organo. È possibile che questa disparità tra istologia e funzione sia attribuibile ad un incompleto controllo dei meccanismi di rigetto.

I PRECEDENTI STORICI

NEL PROBLEMA

DEL CONTROLLO DEL RIGETTO

Circa 30 anni addietro, abbiamo eseguito 6 xenotrapianti clinici di rene di babbuino ottenendo una sopravvivenza d'organo variabile tra 6 e 60 giorni, utilizzando un protocollo immunosoppressivo basato su azatioprina e prednisone (9). Nonostante i segni di rigetto cellulare, l'aspetto istologicamente più eclatante negli organi trapiantati fu la presenza di chiari segni di endotelite, presumibilmente legata ad un meccanismo umorale mediato da anticorpi. Il danno da essi provocato apparve essere responsabile delle aree necrotiche nel parenchima renale al momento dell'espianto. Alterazioni molto simili sono state riportate, nel 1984, da Bailey in un caso di xenotrapianto cardiaco in una neonata di 2.600 grammi (10).

XENOTRAPIANTI EPATICI

Nei due casi di xenotrapianto di fegato eseguiti al Pittsburgh Transplantation Institute è stato utilizzato un cocktail immunosoppressivo costituito da 4 farmaci: FK506, prednisone, prostaglandina E_1 e ciclofosfamide. Quest'ultima è stata, come gli altri tre farmaci, inizialmente somministrata per via venosa e successivamente per via orale, ad un dosaggio non miclotossico modulato sulla base della conta leucocitaria (2,3). A Noriko Murase spetta il merito di avere dimostrato l'efficacia della ciclofosfamide in associazione con l'FK506 nel controllo del rigetto in un modello di xenotrapianto cardiaco tra hamster e ratto (11). Hasan e White hanno ottenuto risultati analoghi utilizzando, nello stesso modello sperimentale, ciclosporina e ciclofosfamide (12). Tuttavia, Murase è stata anche in grado di dimostrare nel suo modello sperimentale la presenza di migrazione cellulare e di microchimerismo sistemico (1), che ritema-

mo sia un fenomeno, non solo associato, ma necessario all'accettazione di uno xenotraspianto, rappresentando il primo elemento nell'induzione del fenomeno della tolleranza (13-15). Valdivia ha, inoltre, dimostrato come, in modo del tutto simile a quanto avviene in un allotraspianto, il fegato di hamster trapiantato in un ratto accoglie cellule del ricevente trasformandosi in un organo geneticamente composito (16). L'autopsia del primo paziente ha confermato pienamente i dati sperimentali, dimostrando la presenza di DNA di babuino nel cuore, nei reni, nei polmoni e nei linfonodi (2). Il secondo paziente è stato sottoposto, al termine delle anastomosi vascolari dello xenotraspianto, ad una infusione di cellule ($5 \times 10^8/\text{kg}$) prelevate dal midollo del babuino donatore (5). Tutti i campioni ematici prelevati durante il decorso postoperatorio del secondo paziente hanno dimostrato la presenza di DNA xenogenico.

Rigetto cellulare: durante il decorso postoperatorio il primo paziente è stato sottoposto a 5 biopsie epatiche, delle quali solo una (eseguita in 12^a giornata) ha mostrato segni di lieve rigetto cellulare focale. Una biopsia eseguita nello stesso paziente in 64^a giornata, ha dimostrato un aumento della presenza di linfociti T (CD3+) e di NK (Lett-7+) sia nei sinusoidi che nell'epitelio biliare, tuttavia di intensità insufficiente per determinare una diagnosi di rigetto.

Il secondo paziente è stato, invece, sottoposto a 7 biopsie, nessuna delle quali ha dimostrato segni definiti di rigetto cellulare.

Rigetto vascolare: nessuna delle biopsie eseguite durante i due decorsi postoperatori ha dimostrato i segni di arterite, legati a rigetto vascolare, evidenziati nella nostra precedente esperienza di xenotraspianto clinico renale. Nonostante questo, l'evidenza di *sludge* biliare e la presenza di leucociti polimorfonucleati nei sinusoidi epatici, immediatamente dopo la reperfusion, potrebbero essere interpretati come segni di un processo abortito di rigetto iperacuto.

LESIONI DA ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO

Il complemento serico totale, il C₃, il C₄ ed il C₅ si sono abbassati al punto da essere praticamente indosabili durante le prime 2 settimane postoperatorie: al contra-

rio degli immunocomplessi circolanti che furono, invece, presenti in quantità significativa durante lo stesso periodo (tabella 1). Tali immunocomplessi scomparvero completamente intorno alla 10^a giornata postoperatoria, in pratica contemporaneamente alla normalizzazione del complemento. Tuttavia, 10 giorni potrebbero essere stati sufficienti per indurre un danno mediato dal complemento stesso, in maniera analoga a quanto dimostrato da Manez in casi di allotraspianto di fegato caratterizzati da *crossmatch* positivo (17). Inoltre, durante le prime due settimane è stato anche possibile evidenziare la presenza di significativi depositi di IgM ed IgG in entrambi i fegati. I depositi di IgM scomparvero quasi completamente dopo le prime due settimane, mentre depositi di IgG furono più o meno sempre rilevabili.

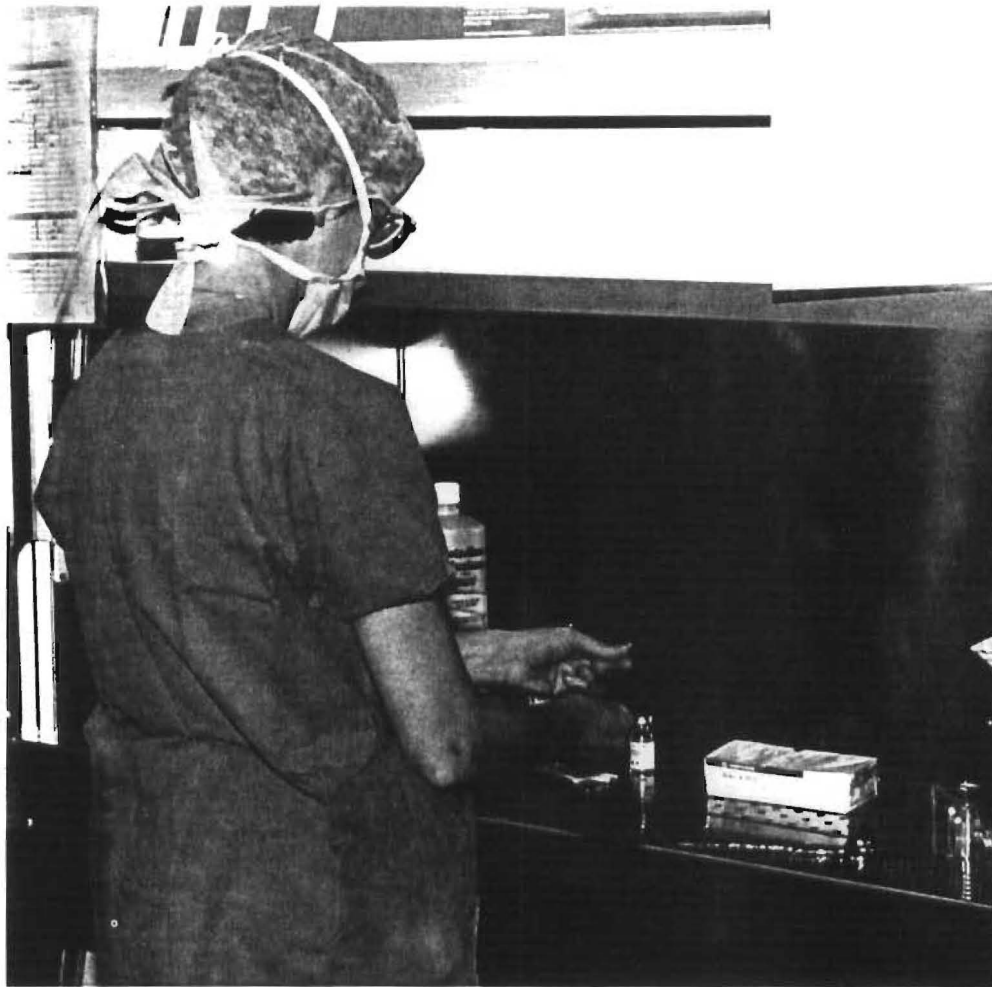
POSSIBILI RELAZIONI CON LESIONI DA RIGETTO IPERACUTO

Alla luce degli studi retrospettivi completati a Pittsburgh su entrambi gli xenotraspianti epatici, crediamo oggi di poter affermare che i due fegati di babuino hanno subito un danno acuto determinato da una forma incompleta di rigetto, del tutto simile a quella da noi descritta nel 1964 in casi di trapianti di rene in cui non venne rispettata la barriera ABO (18). Osservazioni simili vennero poi ripetute in quell'epoca assieme a Terasaki in casi di trapianto di rene in pazienti con *crossmatch* positivo (19). Tali casi rappresentano storicamente la prima descrizione di rigetto iperacuto in associazione con la presenza di anticorpi preformati. Tale concetto venne, poi, successivamente riaffermato anche da Kissmeyer-Neilsen (20). Il concetto sostenuto da queste pubblicazioni negli anni Sessanta, determinò la nascita di uno dei concetti considerati sacri nella immunologia dei trapianti, cioè l'identificazione degli anticorpi come elementi responsabili nell'innescare il rigetto iperacuto. Successivamente, commettendo un atto che poteva essere considerato come eretico rispetto alle conoscenze immunologiche degli anni Sessanta, abbiamo ridiscusso criticamente tale assioma in un articolo scritto con la collaborazione di Frank J. Dixon dello Scripps Institute di La Jolla. In particolare, affermammo che il rigetto iperacuto nel trapianto di rene si verifica attraverso l'attivazione del complemento, con un meccanismo del tutto simile a quello delle reazioni di Shwar-

Giornata Postop	CH100 (>60)	C3 (83-177)	C4 (15-45)	C5 (6-20)	Ic
Pre-Trapianto	>21	35	7	—	+
1	>21	33	3	—	+
3	>21	27	3	—	+
5	>21	27	5	—	+
7	>21	33	6	—	+
9	>21	40	8	—	—
11	21	29	6	—	—
14	43	—	—	—	—
17	55	64	17	20	—
23	66	59	15	17	—
26	61	51	15	11	+/-
28	44	40	13	14	—
33	55	58	14	15	+/-
64	55	—	—	—	—

CH100 = Complemento Serico Totale
IC = Immunocomplessi

Tab. 1



tzman e di Arthus (21, 22). In pratica, sostenemmo che, sebbene il rigetto iperacuto avvenga di solito con la partecipazione di anticorpi preformati, esso può tuttavia verificarsi anche senza la loro partecipazione. In altri termini, la nostra classificazione tra rigetto iperacuto con o senza la partecipazione di anticorpi preformati, non era altro che la distinzione tra il classico meccanismo di attivazione del complemento, nel quale è necessaria la presenza di anticorpi, ed il cosiddetto meccanismo alternativo che prescinde dalla presenza degli anticorpi stessi. Nella nostra interpretazione, poi, abbiamo sempre considerato il rigetto in modelli di xenotrapianto legato a meccanismi del tutto analoghi a quelli appena descritti (1, 23).

CONTROLLO FARMACOLOGICO DELL'ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO

Gli elementi critici nel determinare i danni cellulari legati all'attività del complemento sono il C_3 ed il C_5 , che possono essere parzialmente controllati con la somministrazione sia del veleno di cobra che del recettore solubile ricombinante (tipo I) del complemento, il quale impedisce l'amplificazione dell'azione lesiva, complemento-mediata, che avviene attraverso la frazione C_3b (24,25). Comunque, il veleno di cobra ed il recettore solubile ri-

combinante di tipo I ostacolano, per mezzo di processi differenti, sia il meccanismo classico di attivazione del complemento che quello alternativo. In pratica, possono prevenire o almeno mitigare sia le reazioni di Arthus e di Shwartzman che il danno tissutale mediato dai neutrofili.

Uno dei farmaci più promettenti per la sua azione anti-complemento è il K76, una sostanza estratta da una specie di funghi che cresce sulle isole Okinawa. Il K76 ha, infatti, il potere di bloccare l'attivazione della frazione C_5 del complemento, sia nella via classica che in quella alternativa. Ci siamo particolarmente interessati a questo farmaco dopo la pubblicazione dell'articolo di Miyagawa nel volume di aprile 1993 di *Transplantation*. In tale studio veniva riportata l'inefficacia del K76 nel prevenire il rigetto iperacuto in un modello di xenotrapianto cardiaco guinea pig-ratto (26). L'Autore riportava di aver ottenuto risultati modesti anche mediante l'uso di un altro farmaco (detto FUT) e risultati appena superiori (100 minuti di sopravvivenza) mediante l'associazione di K76 e FUT. Non convinti di tale descrizione decidemmo di procurarci una piccola quantità di K76 e di ripetere l'esperimento. Noriko Murase, pertanto, somministrò nei nostri laboratori 200 mg/kg di K76 per via venosa (anziché intraperitoneale, come nel modello descritto da Miyagawa) ottenendo una sopravvivenza media di 8 ore, rispetto agli 8 minuti del gruppo non trattato con K76. Uno dei cuori di guinea pig, xenotrapiantato in un ratto, ha addirittura continuato a pulsare per più di 24 ore. Altri esperimenti, condotti successivamente nei nostri laboratori, sul difficile modello di xenotrapianto renale maiale-cane hanno ulteriormente sottolineato la straordinaria efficacia del K76, sia somministrato da solo che in associazione al FUT. La maggior parte dei reni di maiale trapiantati nel cane ha funzionato per più di 8 ore, producendo 200 ml/hr di urina.

È evidente che il semplice controllo dell'azione lesiva del complemento per alcune ore non ha, di per sé, alcun significato rivoluzionario, tuttavia, assume estrema importanza se considerato come una tessera di un più complesso mosaico, del quale rappresenta, potenzialmente, il pezzo mancante. Se, infatti, sarà dimostrabile, in laboratorio, che l'aggiunta di questi farmaci anticomplemento al cocktail far-

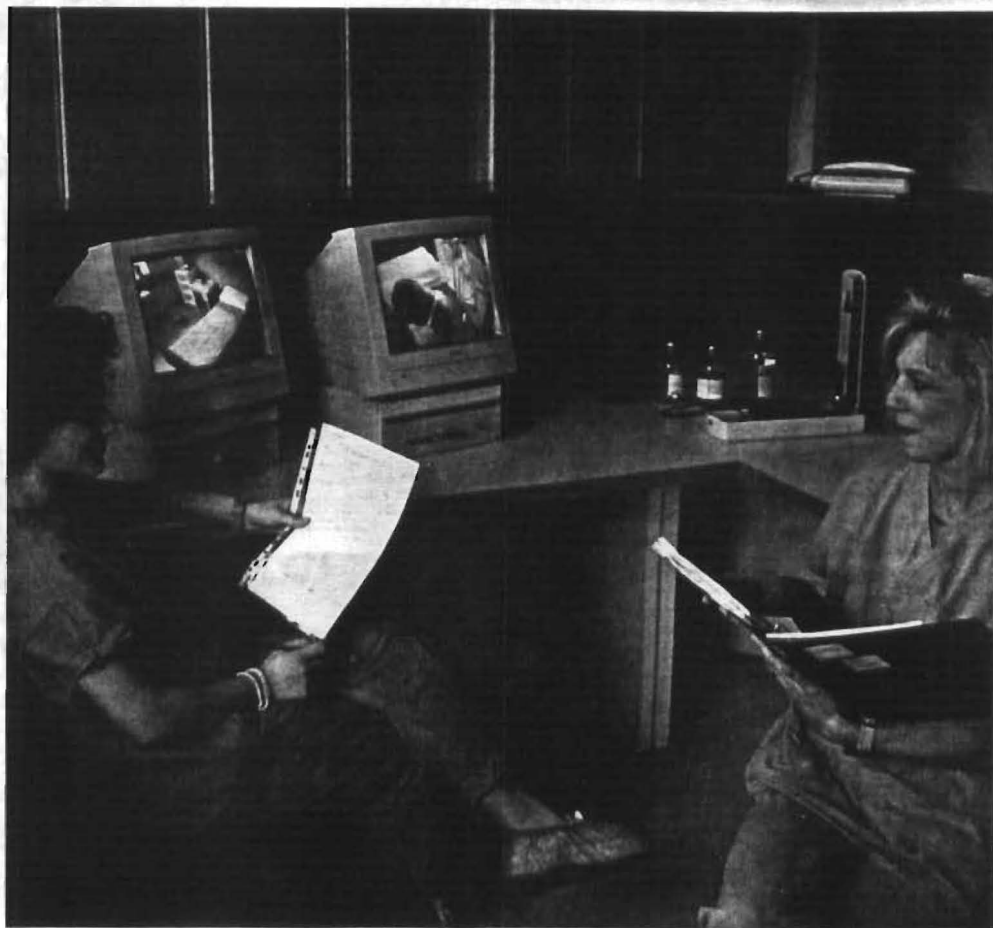
macologico da noi usato nei due recenti xenotrapianti clinici di fegato, può prevenire quelle lesioni che riteniamo alla base del fallimento dell'esperienza clinica, potremo dare una soluzione al nostro problema. Mentre scriviamo Murase, Todo e Tzakis stanno attivamente dirigendo una serie di esperimenti atti a valutare la veridicità di questa nostra ipotesi.

VARIAZIONI DEL COMPLEMENTO DOPO TRAPIANTO DI FEGATO

In realtà, è possibile che sia necessario controllare l'attivazione del complemento solo per un breve periodo, specialmente se l'organo trapianto è il fegato, che produce la maggior parte del complemento nell'organismo umano. A questo proposito è particolarmente significativo il lavoro sperimentale condotto da Valdivia il quale ha dimostrato come nel modello di xenotrapianto di fegato criceto-ratto il complemento circolante sia complemento di criceto (27). Se in tale situazione viene somministrato al ricevente 1 ml di siero anticriceto, preparato in un ratto, si scatena immediatamente un classico rigetto iperacuto. Questo avviene per azione specifica del complemento e non per un processo mediato da anticorpi anticriceto. Infatti, tale rigetto iperacuto può essere evitato con la semplice deplementizzazione (mediante riscaldamento a 56 °C per 30 minuti) del siero anticriceto.

L'esperimento di Valdivia ha importanti implicazioni cliniche e, certamente, nei prossimi casi di xenotrapianto avremo cura di utilizzare emoderivati privati del complemento.

Per concludere, i concetti espressi in questo articolo sono troppo complessi per poter essere riassunti in poche righe. Tuttavia, il messaggio che vorremo offrire al lettore è che egli ostacoli allo xenotrapianto clinico possono essere meno insormontabili di quanto si possa oggi ritenere. Il controllo dell'attivazione del complemento sembra essere quasi a portata di mano e, d'altra parte, il cocktail farmacologico da noi utilizzato nei due casi di xenotrapianto clinico del fegato è in grado di inibire il rigetto convenzionale attraverso i ben noti meccanismi cellulari e vascolari. Infine, al di là dei sistemi di controllo immunitario discussi nel nostro articolo, nuove possibilità potrebbero realizzarsi nell'immediato futuro con la produzione dei cosiddetti "animali transgenici".



Riferimenti bibliografici

- 1) T.E. Starzl, "The future xenotransplantation", in *Ann. Surg.* 216 (4): supplemental article, 1993.
- 2) T.E. Starzl, I.J. Fung, A. Tzakis, S. Todo, A.J. Demetris, I.R. Marino, H. Doyle, A. Zeevi, V. Warty, M. Michaels, S. Kusne, W.A. Rudert, M. Trucco, "Baboon to human liver transplantation", in *Lancet*, 341: 65-71, 1993.
- 3) T.E. Starzl, A. Tzakis, I.J. Fung, S. Todo, I.R. Marino, A.J. Demetris, "Human liver transplantation", in *Xeno*, 1: 4-7, 1993.
- 4) T.E. Starzl, A.J. Demetris, "Development of the replacement operation", in *Liver Transplantation*, Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago, 1989, pp. 3-42.
- 5) R.Y. Calne, R. William, "Liver transplantation in man. I. Observations on technique and organization in five cases", in *Br. Med. J.* 4: 535-540, 1968.
- 6) A. Tzakis, S. Todo, T.E. Starzl, "Orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava", in *Ann. Surg.* 210: 649-652, 1989.
- 7) T.E. Starzl, V.S. Warty, "Baboon-to-human liver transplantation. Letter to Editor", in *Lancet*, 341: 1158, 1993.
- 8) W. Vine, A. Kier, "Baboon-to-human liver transplantation. Letter to Editor", in *Lancet*, 341: 1158, 1993.
- 9) T.E. Starzl, T.L. Marchioro, G.N. Peters, C.H. Kirkpatrick, W.E.C. Wilson, K.A. Porter, D. Rifkind, D.A. Ogden, C.R. Hitchcock, W.R. Waddell, "Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases", in *Transplantation*, 2: 752-776, 1964.
- 10) L. Bailey, S. Nehlsen-Cannarella, W. Concepcion, W. Jolley, "Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate", in *JAMA*, 254: 3321-3329, 1985.
- 11) N. Murase, T.E. Starzl, A.J. Demetris, L. Valdivia, M. Tanabe, D. Cramer, L. Makowka, "Hamster to rat heart and liver xenotransplantation with FK 506 plus antiproliferative drugs", in *Transplantation*, 55: 701-708, 1993.
- 12) R.I.R. Hasan, van den I. Bogaerde, J. Wallwork, D.I.G. White, "Evidence that long-term survival of concordant xenografts is achieved by inhibition of antispecies antibody production", in *Transplantation*, 54: 408-413, 1992.
- 13) T.E. Starzl, A.J. Demetris, M. Trucco, N. Murase, C. Ricordi, S. Ildstad, H. Ramos, S. Todo, A. Tzakis, I.J. Fung, M. Nalesnik, W.A. Rudert, M. Kocova, "Cell migration, chimerism and graft acceptance", in *Lancet*, 339: 1610-1611, 1992.
- 14) T.E. Starzl, A.J. Demetris, M. Trucco, N. Murase, C. Ricordi, S. Ildstad, H. Ramos, S. Todo, A. Tzakis, I.J. Fung, M. Nalesnik, W.A. Rudert, M. Kocova, "Cell migration and chimerism after whole organ transplantation: the basis of graft acceptance", in *Hepatology*, 17 (6): 1127-1152, 1993.
- 15) T.E. Starzl, A.J. Demetris, N. Murase, A.W. Thomson, M. Trucco, C. Ricordi, "Donor cell chimerism permitted by immunosuppres-

sion drugs: a new view of organ transplantation", in *Immunol. Today*, 14: 326-332, 1993.

- 16) L.A. Valdivia, A.J. Demetris, A.M. Langer, I.J. Fung, T.E. Starzl, "Dendritic cell replacement in long-surviving liver and cardiac xenografts", in *Transplantation*, 56: 482-484, 1993.
- 17) R. Manca, M. Kobayashi, S. Takaya, O. Bronsther, D. Kramer, H. Bonet, Y. Iwaki, I.J. Fung, A.J. Demetris, T.E. Starzl, "Humoral rejection associated with antidonor lymphocytotoxic antibodies following liver transplantation", in *Transplant. Proc.* 25 (1): 888-890, 1993.
- 18) T.E. Starzl, T.L. Marchioro, I.H. Holmes, R.S. Brittain, O.H. Stonington, D.W. Talmage, W.R. Waddell, "Renal homografts in patients with major donor-recipient blood group incompatibilities", in *Surgery*, 55: 195-200, 1964.
- 19) P.I. Terasaki, T.L. Marchioro, T.E. Starzl, "Sero-typing of human lymphocyte antigens. Preliminary trials on long-term kidney homograft survivors", in *Histocompatibility Testing*, National Acad. Sci. National Res Council, Washington, D.C., pp. 83-96.
- 20) F. Kissmeyer-Neilsen, S. Olsen, V.P. Peterson, O. Fjeldborg, "Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells", in *Lancet*, II: 662-665, 1966.
- 21) T.E. Starzl, R.A. Lerner, F.I. Dixon, C.G. Groth, L. Bretschneider, P.I. Terasaki, "Shwartzman reaction after human renal transplantation", in *New. Engl. J. Med.* 278: 642-648, 1968.
- 22) T.E. Starzl, H.J. Boehmig, H. Amemiya, C.B. Wilson, F.I. Dixon, G.R. Giles, K.M. Simpson, C.G. Halgrimson, "Clotting changes, including disseminated intravascular coagulation, during rapid renal homograft rejection", in *New. Engl. J. Med.* 283: 383-390, 1970.
- 23) T.E. Starzl, A. Tzakis, L. Makowka, B. Banner, A. Demetris, G. Ramsev, R. Duquesnoy, M. Griffin, "The definition of ABO factors in transplantation. Relation to other humoral antibody states", in *Transplant. Proc.* 19: 4492-4497, 1987.
- 24) C.G. Yeh, H.C. Marsh, G.R. Carson, L. Berman, M.F. Concino, S.M. Scesnev, R.E. Kuestner, R. Skibbens, K.A. Donahue, IP SH., in "Recombinant soluble human complement receptor Type 1 inhibits inflammation in the reserved passive arthus passive reaction in rats", in *J. Immunol.* 146: 250-256, 1991.
- 25) S.K. Pruitt, R.R. Bollinger, "The effect of soluble complement receptor Type 1 on hyperacute allograft rejection", in *J. Surg. Res.* 50: 350-355, 1991.
- 26) S. Miyagawa, R. Shirakura, M. Matsumoto, H. Kitamura, T. Seya, "Prolonging discordant xenograft survival with anticomplement reagents K76COOH and FUT175", in *Transplantation*, 55: 709 713, 1993.
- 27) L.A. Valdivia, I.J. Fung, A.J. Demetris, F. Pan, M. Tsugita, T.E. Starzl, "Donor species complement after liver xenotransplantation. Mechanism of protection from hyperacute rejection", in *Transplantation*, in press.