

DOI: 10.15825/1995-1191-2025-4-133-137

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПОДХОДЫ К ПРЕОДОЛЕНИЮ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ БАРЬЕРОВ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ. КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИЯ

Д.А. Великий¹, Ю.Б. Басок¹, Н.В. Грудинин¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}, А.П. Трашков³,
А.В. Варлачев³, О.П. Шевченко^{1, 2}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российской Федерации

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российской Федерации

³ ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Российской Федерации

Увеличение количества пациентов с тяжелыми заболеваниями жизненно важных органов, а также потребности в выполнении ретрансплантаций приводит к дефициту донорских органов, который является главным сдерживающим фактором роста числа трансплантаций. Развитие технологий генной инженерии и клеточной терапии позволяет по-новому взглянуть на перспективы использования органов животных для трансплантации человеку. Повышение эффективности и безопасности данного направления требует разработки подходов к преодолению иммунологических и физиологических барьеров ксенотрансплантации. В настоящем обзоре суммированы последние данные о методах генетической модификации животных и клеточной терапии при ксенотрансплантации и перспективах ее клинического применения.

Ключевые слова: ксенотрансплантация, сверхострое отторжение, генетические модификации, клеточная терапия.

ADVANCES IN OVERCOMING IMMUNOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL BARRIERS IN XENOTRANSPLANTATION

D.A. Velikiy¹, Yu.B. Basok¹, N.V. Grudinin¹, O.E. Gichkun^{1, 2}, A.P. Trashkov³, A.V. Varlachev³, O.P. Shevchenko^{1, 2}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Kurchatov Institute, Moscow, Russian Federation

The growing number of patients with severe organ diseases, along with the increasing demand for retransplantations, has intensified the global shortage of donor organs – the primary limitation to expanding transplant programs. Advances in genetic engineering and cell therapy technologies are opening new opportunities for the use of animal organs in human transplantation. Enhancing the efficacy and safety of this approach requires overcoming significant immunological and physiological barriers inherent in xenotransplantation. This review summarizes recent progress in genetic modification of donor animals, use of cell-based therapy in xenotransplantation, and prospects for clinical application.

Keywords: xenotransplantation, hyperacute rejection, genetic modification, cell therapy.

Для корреспонденции: Великий Дмитрий Алексеевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

Corresponding author: Dmitriy Velikiy. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация органов является единственным радикальным методом лечения большого количества пациентов с заболеваниями в терминальной стадии. Совершенствование хирургических методик, постоперационного введения пациентов и схем иммуносупрессивной терапии значительно улучшило результаты трансплантаций. На сегодняшний день основным фактором, сдерживающим увеличение числа выполняемых трансплантаций, является дефицит донорских органов. Так, в 2023 году в Российской Федерации было выполнено 1817 трансплантаций почки [1], в то время как количество пациентов, получающих лечение методами гемодиализа, составило 53 874 [2].

Одним из возможных путей решения данной проблемы является использование органов животных. В середине XX века в США были выполнены первые опыты по пересадке органов приматов человеку. Результаты таких трансплантаций были неудовлетворительными, большинство пациентов погибало в течение нескольких недель после операции от отторжения. Снижение интереса к ксенотрансплантации в последующие годы было связано не только с проблемой развития отторжения, но и с возможностью передачи различных инфекций. Открытие ретровирусов и существенный риск появления рекомбинантных штаммов, патогенных для человека, привели к практически полному прекращению исследований в области трансплантации органов животных [3]. Однако развитие технологий генной инженерии и клеточной терапии позволило открыть новый взгляд на проблему ксенотрансплантации.

Несмотря на большее сходство с человеком в анатомии, физиологии и иммунной системе, человекообразные обезьяны не могут считаться оптимальным источником донорских органов. По сравнению с приматами использование свиней для ксенотрансплантации в качестве источника органов имеет ряд преимуществ, среди которых быстрое достижение репродуктивной зрелости и необходимого размера, значительно большее поголовье детенышей в одном помете, более низкая стоимость содержания. Немаловажно, что в области генной инженерии имеется определенный накопленный опыт клонирования свиней [4].

Целью настоящего обзора является анализ последних данных о методах генетической модификации животных и клеточной терапии при ксенотрансплантации и перспективах ее клинического применения.

РИСКИ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Генетические различия создают иммунологические барьеры для ксенотрансплантации. Первые опыты по пересадке органов свиньи приматам по-

терпели неудачу – в течение первых часов после реинфузии ксенотрансплантата развивалось сверхострое отторжение [5, 6], в основе которого лежит распознавание «антисвинины» антителами в крови реципиента ксеноантителей на сосудистых эндотелиальных клетках в свином трансплантате. Затем происходит активация комплемента, опосредованная антителами, приводящая к воспалению, образованию мембраноатакующего комплекса, повреждению эндотелия и активации каскада коагуляции. В результате развивается интерстициальное кровоизлияние, образование тромбов и ишемия, что в конечном итоге разрушает трансплантат [7].

Важную роль в развитии отторжения при ксенотрансплантации играют мембраноассоциированные регуляторные белки комплемента. Эти белки экспрессируются на поверхности большинства типов клеток и подавляют активацию комплемента, чтобы предотвратить повреждение здоровых клеток. Факторы коагуляции, также присутствующие в эндотелии сосудов, регулируют каскад коагуляции, способствуя антикоагулянтному состоянию в нормальных условиях. Хотя регуляторные белки комплемента и факторы регуляции коагуляции свиньи экспрессируются в ксенотрансплантате, они эффективно не взаимодействуют с компонентами комплемента и коагуляции приматов, что приводит к неконтролируемой активации комплемента и коагуляции в ксенотрансплантате [8].

Другим препятствием для проведения успешной ксенотрансплантации является риск передачи зоонозных инфекций. В связи с этим животные (свиньи), используемые в качестве доноров органов, должны выращиваться в стерильных условиях и быть проверены на наличие инфекций, опасных для человека, среди которых γ -герпесвирус, вирус свиного гриппа, цитомегаловирус свиней, гепатит Е, эндогенный ретровирус свиней (PERV – porcine endogenous retrovirus) и др. В отличие от других патогенов, PERV интегрирован в геном свиней и не может быть удален с помощью лекарственных препаратов или вакцинации [9]. Несмотря на то что на сегодняшний день не описано ни одного случая передачи PERV от свиньи человеку при ксенотрансплантации или от свиньи человекообразной обезьяне в эксперименте, инактивация генов, связанных с PERV, может оказаться перспективным подходом к исключению потенциального риска зоонозного инфицирования [10].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЖИВОТНЫХ

Большое количество исследований в области генной инженерии и клонирования животных в настоящее время направлены на повышение пригодности органов свиней для ксенотрансплантации человеку. Использование органов свиней с множественными делециями генов и человеческими трансгенными вставками должно позволить преодолеть иммуно-

логические и физиологические барьеры при ксенотрансплантации от свиньи к человеку [11].

Развитие методов генетической модификации связано с внедрением технологии CRISPR/Cas9, основанной на естественном противовирусном механизме, существующем у бактерий и адаптированном для редактирования генома млекопитающих. Система CRISPR/Cas9 создает двухцепочечные разрывы ДНК в заранее определенных местах генома, что позволяет выполнить вставку или делецию генов с последующей репарацией клеточной ДНК [12].

Другим необходимым условием для генетической модификации является возможность получения линии животных с измененным геномом. Для этого применяется технология переноса ядер измененных соматических клеток в энуклеированные ооциты животных (клонирование). Совместная методика нацеливания генов посредством гомологичной рекомбинации в культивируемых соматических клетках с последующим переносом ядра позволяет получить многочисленные наследуемые генетические изменения для ксенотрансплантации [13].

Последние годы целый ряд экспериментальных исследований был направлен на поиск оптимальных схем генетической модификации генома свиньи для снижения риска развития отторжения при ксенотрансплантации [10, 14, 15]. Одна из наиболее эффективных схем генетической модификации включала изменение десяти генов – делецию четырех антигенов свиньи и вставку шести трансгенов человека. Инактивированы при этом были следующие свиные антигены – наиболее иммуногенный основной углеводный антиген aGal (Galactose- α -1,3-galactose), дополнительные углеводные антигены СМАН и β 4GalNT2, участвующие в синтезе n-гликокалинной раминовой кислоты и сиалил-димерного антигена, а также ген рецептора гормона роста GHR, ограничивающий рост свиньи (не более 150 кг). Одновременно с этим проводилась вставка следующих генов человека – ингибиторов комплемента CD46 (мембранный кофакторный белок) и CD55 (фактор ускорения распада), ингибиторов коагуляции THBD (тромбомодулин) и EPCR (рецептор эндотелиального протеина C), а также CD47 (интегрин-ассоциированный белок, ингибитор активности Т-клеток и макрофагов) и противовоспалительного фермента НО1 (гемоксигеназа 1) [16].

Важно отметить, что перед забором органов для ксенотрансплантации необходимо проведение исследования генотипа и фенотипа животных на наличие всех предполагаемых генетических модификаций и исключение любых незапланированных изменений (вставка дополнительных/случайных копий трансгенов человека или нецелевые CRISPR/Cas9 разрывы) [17].

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

Одной из ключевых проблем ксенотрансплантации является отсутствие эффективной схемы иммуносупрессивной терапии. Перспективным подходом к улучшению результатов ксенотрансплантации может быть использование методов клеточной терапии, способных повысить эффективность трансплантации органов за счет исключения или снижения последствий длительной иммуносупрессии [18]. Известно, что мезенхимальные стromальные клетки (МСК) обладают набором уникальных свойств, в том числе иммуносупрессивным действием. Терапевтический потенциал МСК связывают с продукцией в окружающую среду многочисленных регуляторных ростовых стимулирующих факторов, экзосом, микровезикул, липопротеидов, микро-РНК, а также апоптотических телец, которые существенно усиливают восстановительные процессы в поврежденных органах, стимулируют ангиогенез и предотвращают апоптоз клеток, воспаление и формирование фиброза [19]. Дальнейшее развитие применения МСК в области трансплантологии может быть связано с их предварительной активацией. Среди подобных подходов можно выделить активацию МСК путем аутофагии [20]. Сочетанное использование методов генетической модификации животных и клеточной терапии может повысить эффективность ксеногенной трансплантации и добиться длительной выживаемости ксенотрансплантата.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

В последние годы появляется все больше данных по результатам исследований, посвященных проблеме ксенотрансплантации органов от животных (свиней) с генетическими модификациями пациентам с диагностированной смертью мозга и живым реципиентам [21]. Использование в качестве модели для ксенотрансплантации пациентов со смертью мозга, безусловно, оправдано с точки зрения минимизации рисков, связанных с клиническими испытаниями метода [22]. Однако данная модель имеет и ряд недостатков, среди которых очень короткие сроки наблюдения и наличие у реципиентов со смертью мозга нестабильной гемодинамики, что может привести к гипоперфузии, иммунным и воспалительным реакциям в ксенотрансплантате [23].

В работе T. Kawai et al. были опубликованы данные о трансплантации почки от генетически модифицированной свиньи 62-летнему пациенту с терминальной стадией хронической болезни почек. В раннем послеоперационном периоде у реципиента был диагностирован эпизод отторжения, опосредованный Т-клетками, который был купирован приемом тимоглобулина. В дальнейшем эпизодов отторжения выявлено не было. Трансплантат успешно функци-

онировал в течение двух месяцев, пока пациент не скончался от острой коронарной патологии [24].

В другом исследовании группа авторов описала результаты выполнения ксенотрансплантации сердца от свиньи с генетической коррекцией десяти генов живому реципиенту. В первые сутки после трансплантации была отмечена удовлетворительная функция ксенотрансплантата сердца, однако на 13-е сутки после операции по данным эндомиокардиальной биопсии у пациента было диагностировано острое гуморальное отторжение. Несмотря на проведение интенсивной иммуносупрессивной терапии, на 30-е сутки наступила гемодинамическая декомпенсация, потребовавшая перевода реципиента на экстракорпоральную мембранные оксигенацию, а через 10 суток была констатирована смерть пациента. Авторы связывают неудачные результаты ксенотрансплантации в данном случае с исходно очень тяжелым состоянием пациента и переливанием большого количества компонентов крови, способствовавшим развитию отторжения [25].

В исследовании K.S. Tao et al. была проведена гетеротопическая ксенотрансплантация печени генетически модифицированной свиньи пациенту со смертью мозга. Ксенотрансплантат успешно функционировал в течение 10 дней, продуцировал желчь и свиной альбумин со стабильным печеночным кровотоком. По данным исследования образцов биоптата было установлено отложение C3d и C4d, а также окрашивание IgM и IgG, что свидетельствует о ранней гуморальной активации. Несмотря на малые сроки наблюдения, нефизиологичный вид трансплантации и использование реципиента со смертью мозга, авторы предполагают возможность обеспечения временной метаболической и синтетической поддержки с помощью ксенотрансплантации, что в конечном итоге может служить мостом к возможной аллотрансплантации [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие методов генной инженерии позволило создать генетические линии животных (свиней), органы которых не вызывают реакции сверхострого отторжения при ксенотрансплантации приматам в экспериментальных исследованиях и человеку в клинической практике. Однако вследствие видовой несовместимости для долгосрочного функционирования ксенотрансплантата реципиентам требуется постоянный прием высоких доз иммуносупрессивных препаратов, что несет значительный риск развития злокачественных новообразований и инфекционных заболеваний.

Для снижения неблагоприятных последствий длительного приема иммуносупрессивных препаратов было предложено несколько стратегий индукции иммунной толерантности к аллогенному трансплан-

тату, среди которых трансплантация гемопоэтических стволовых клеток для достижения смешанного химеризма, сочетанная трансплантация солидного органа и тимуса, а также инфузия регуляторных Т-клеток. В ряде клинических исследований была показана возможность отказа и/или минимизации иммуносупрессивной терапии на фоне формирования смешанного химеризма у реципиентов почки после аллотрансплантации от HLA-несовместимых родственных доноров [27].

В настоящее время представляется перспективной разработка подходов сочетанного использования методов генетической модификации животных для снижения иммуногенности их органов и клеточной терапии для индукции иммунной толерантности к ксенотрансплантату. Данный подход позволит не только повысить эффективность и безопасность ксеногенной трансплантации, добиться длительной выживаемости ксенотрансплантата и реципиента, но и даст дополнительные представления о регуляторных механизмах, лежащих в основе реакции иммунной системы на межвидовую трансплантацию.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Трансплантология: итоги и перспективы. Том XV. 2023 год / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2024; 320. *Transplantology: results and prospects. Vol. XV. 2023 / Ed. by S.V. Gautier. M.–Tver: Triada, 2024; 320.*
2. Шилов ЕМ, Шилова ММ, Румянцева ЕИ, Батюшин ММ, Бевзенко АЮ, Бельских АН и др. Нефрологическая служба Российской Федерации 2023: Часть I. Заместительная почечная терапия. *Клиническая нефрология.* 2024; 16 (1): 5–14. *Shilov EM, Shilova MM, Rumyantseva EI, Batyushin MM, Bevzenko AYu, Belskikh AN et al. Nephrological service of the Russian Federation 2023: Part I. Renal replacement therapy. Clinical Nephrology.* 2024; 16 (1): 5–14. <https://dx.doi.org/10.18565/nephrology.2024.1.5-14>.
3. Орлова ОВ. Ксенотрансплантация органов и тканей (Первые Глобальные консультации по требованию к регулированию клинических испытаний ксеногенной трансплантации). *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2008; 6: 6–11. *Orlova OV. Xenotransplantation of organs and tissues (the First Global consultation on regulatory requirements for xenotransplantation clinical trials). Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2008; 6: 6–11.
4. Damas J, Corbo M, Kim J, Turner-Maier J, Farré M, Larkin DM et al. Evolution of the ancestral mammalian karyotype and syntenic regions. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022 Oct 4; 119 (40): e2209139119. doi: 10.1073/pnas.2209139119.

5. Cooper DK. Xenotransplantation – state of the art. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 1996 Sep 1; 1 (4): 248–265. doi: 10.2741/a130.
6. Mudur G. Indian surgeon challenges ban on xenotransplantation. *BMJ*. 1999 Jan 9; 318 (7176): 79. doi: 10.1136/bmj.318.7176.79a.
7. Hisadome Y, Eisenson DL, Santillan MR, Iwase H, Yamada K. Pretransplant Screening for Prevention of Hyperacute Graft Loss in Pig-to-primate Kidney Xenotransplantation. *Transplantation*. 2024 Aug 1; 108 (8): 1749–1759. doi: 10.1097/TP.00000000000004958.
8. Goerlich CE, Singh AK, Griffith BP, Mohiuddin MM. The immunobiology and clinical use of genetically engineered porcine hearts for cardiac xenotransplantation. *Nat Cardiovasc Res*. 2022 Aug; 1 (8): 715–726. doi: 10.1038/s44161-022-00112-x.
9. Denner J. Porcine endogenous retroviruses in xenotransplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2024 Jul 31; 39 (8): 1221–1227. doi: 10.1093/ndt/gfae023.
10. Anand RP, Layer JV, Heja D, Hirose T, Lassiter G, Firl DJ et al. Design and testing of a humanized porcine donor for xenotransplantation. *Nature*. 2023 Oct; 622 (7982): 393–401. doi: 10.1038/s41586-023-06594-4.
11. Peterson L, Yacoub MH, Ayares D, Yamada K, Eisenson D, Griffith BP et al. Physiological basis for xenotransplantation from genetically modified pigs to humans. *Physiol Rev*. 2024 Jul 1; 104 (3): 1409–1459. doi: 10.1152/physrev.00041.2023.
12. Gostimskaya I. CRISPR-Cas9: A History of Its Discovery and Ethical Considerations of Its Use in Genome Editing. *Biochemistry (Mosc)*. 2022 Aug; 87 (8): 777–788. doi: 10.1134/S0006297922080090.
13. Wang X, Qu J, Li J, He H, Liu Z, Huan Y. Epigenetic Reprogramming During Somatic Cell Nuclear Transfer: Recent Progress and Future Directions. *Front Genet*. 2020 Mar 18; 11: 205. doi: 10.3389/fgene.2020.00205.
14. Yamamoto T, Iwase H, Patel D, Jagdale A, Ayares D, Anderson D et al. Old World Monkeys are less than ideal transplantation models for testing pig organs lacking three carbohydrate antigens (Triple-Knockout). *Sci Rep*. 2020 Jun 17; 10 (1): 9771. doi: 10.1038/s41598-020-66311-3.
15. Ariyoshi Y, Takeuchi K, Pomposelli T, Ekanayake-Alper DK, Shimizu A, Boyd L et al. Antibody reactivity with new antigens revealed in multi-transgenic triple knockout pigs may cause early loss of pig kidneys in baboons. *Xenotransplantation*. 2021 Jan; 28 (1): e12642. doi: 10.1111/xen.12642.
16. Eisenson D, Hisadome Y, Santillan M, Iwase H, Chen W, Shimizu A et al. Consistent survival in consecutive cases of life-supporting porcine kidney xenotransplantation using 10GE source pigs. *Nat Commun*. 2024 Apr 18; 15 (1): 3361. doi: 10.1038/s41467-024-47679-6.
17. Mohiuddin MM, Goerlich CE, Singh AK, Zhang T, Tatarov I, Lewis B et al. Progressive genetic modifications of porcine cardiac xenografts extend survival to 9 months. *Xenotransplantation*. 2022 May; 29 (3): e12744. doi: 10.1111/xen.12744.
18. Deo D, Marchionni M, Rao P. Mesenchymal stem/stromal cells in organ transplantation. *Pharmaceutics*. 2022 Apr 4; 14 (4): 791. doi: 10.3390/pharmaceutics14040791.
19. Han Y, Yang J, Fang J, Zhou Y, Candi E, Wang J et al. The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 Mar 21; 7 (1): 92. doi: 10.1038/s41392-022-00932-0.
20. Shravage BV, Turksen K. Autophagy in stem cell maintenance and differentiation. 1st ed. Cham, Switzerland: Springer; 2022.
21. Shirini K, Ladowski JM, Meier RPH. Xenotransplantation Literature Update: January-June 2025. *Xenotransplantation*. 2025 Jul-Aug; 32 (4): e70072. doi: 10.1111/xen.70072.
22. Montgomery RA, Griesemer AD, Segev DL, Sommer P. The decedent model: A new paradigm for de-risking high stakes clinical trials like xenotransplantation. *Am J Transplant*. 2024 Apr; 24 (4): 526–532. doi: 10.1016/j.ajt.2024.01.035.
23. Cooper DKC, Kobayashi T. Xenotransplantation experiments in brain-dead human subjects – A critical appraisal. *Am J Transplant*. 2024 Apr; 24 (4): 520–525. doi: 10.1016/j.ajt.2023.12.020.
24. Kawai T, Williams WW, Elias N, Fishman JA, Crisalli K, Longchamp A et al. Xenotransplantation of a Porcine Kidney for End-Stage Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2025 May 15; 392 (19): 1933–1940. doi: 10.1056/NEJMoa2412747.
25. Griffith BP, Grazioli A, Singh AK, Tully A, Galindo J, Saharia KK et al. Transplantation of a genetically modified porcine heart into a live human. *Nat Med*. 2025 Feb; 31 (2): 589–598. doi: 10.1038/s41591-024-03429-1.
26. Tao KS, Yang ZX, Zhang X, Zhang HT, Yue SQ, Yang YL et al. Gene-modified pig-to-human liver xenotransplantation. *Nature*. 2025 May; 641 (8064): 1029–1036. doi: 10.1038/s41586-025-08799-1.
27. Podestà MA, Sykes M. Chimerism-Based Tolerance to Kidney Allografts in Humans: Novel Insights and Future Perspectives. *Front Immunol*. 2022 Jan 5; 12: 791725. doi: 10.3389/fimmu.2021.791725.

Статья поступила в редакцию 2.07.2025 г.
The article was submitted to the journal on 2.07.2025