

## **ALLOTAPIANTO SPERIMENTALE DI INSULE PANCREATICHE NEL RATTO: RUOLO DELLA IMMUNOMODULAZIONE MEDIANTE FOTOTERAPIA**

*L. Roveda, U. Prati, F. Trotta, A. De Roberto, S. Rota, P. Valsecchi, G. Bernardi,  
C. Rossella, A. Zonta*

*ISTITUTO DI CHIRURGIA EPATOPANCREATICA  
DIPARTIMENTO DI CHIRURGIA, UNIVERSITÀ DI PAVIA*

*S. Bernuzzi, P. Bergamaschi, S. Carbone, C. Del Fante, G.L. Viarengo,  
C. Perotti, L. Salvaneschi*

*SERVIZIO DI IMMUNOEMATOLOGIA E TRASFUSIONE  
IRCCS POLICLINICO SAN MATTEO, PAVIA*

### **INTRODUZIONE**

Il trapianto delle insule pancreatiche offre teoricamente numerosi vantaggi rispetto al trapianto dell'intero pancreas nel trattamento del diabete insulino dipendente. Tuttavia i risultati del trapianto di insule pancreatiche nell'uomo sono attualmente piuttosto scarsi ed il rigetto e la riattivazione del processo autoimmunitario sono riconosciuti come alcune tra le principali cause dell'insuccesso del trapianto.

La fototerapia extracorporea è una forma di terapia immunomodulante che attualmente è approvata negli USA per il trattamento dei linfomi cutanei a cellule T ed è stata adottata con risultati incoraggianti nel trattamento di numerose malattie autoimmuni.

Più recentemente la fototerapia è stata impiegata anche nei pazienti affetti da *graft versus host disease* e nel trattamento del rigetto acuto dopo trapianto di organi solidi (cuore, polmone, rene) così come nell'immunosoppressione profilattica.

Scopo di questo lavoro è valutare la capacità della fototerapia di modulare lo stato immune dopo allotrapianto di insule pancreatiche nel ratto.

### **METODI**

Ratti donatori: Wistar-Furth (W-F) (300 mg), maschi. Ratti riceventi: Lewis (L) (350 mg), maschi. Il diabete è stato indotto in ratti L mediante infusione e.v. di streptozotocina (60 mg/Kg). Le insule pancreatiche sono state ottenute da ratti W-F mediante digestione enzimatica del pancreas (collagenasi

tipo XI Sigma) e separazione su Ficoll, le insule sono state quindi impiantate sotto la capsula renale del ratto L ricevente. Dopo la comparsa del rigetto, linfociti del sangue periferico di ratto L sono stati trattati con 8-metossipsoralene (200 ng/ml) e irradiati con raggi ultravioletti A (UVA) ( $2 \text{ J/cm}^2$ ) per la “foto-inattivazione”. I linfociti fototrattati sono stati usati per “vaccinare” ratti riceventi L prima del trapianto. Il ciclo di vaccinazione è consistito in 6 somministrazioni di linfociti fotoinattivati ( $30\text{-}50 \times 10^6$  e.v.), quindi i ratti L vaccinati sono stati sottoposti al test per l’Ipersensibilità Ritardata per valutare la soppressione della risposta immunitaria. A questo scopo linfociti di ratto W-F ( $10 \times 10^6$ ) sono stati iniettati nel fianco dei ratti vaccinati e di controllo, quindi linfociti di ratto W-F ( $30\text{-}50 \times 10^6$ ) sono stati iniettati s.c. nel dorso della zampa posteriore destra nei 2 gruppi di ratti. Dopo 24 ore è stata calcolata la soppressione percentuale dell’ipersensibilità ritardata mediante la formula:  $1 - (E/P) \times 100$  (dove E e P sono stati calcolati misurando lo spessore di entrambe le zampe con un calibro e sottraendo lo spessore della zampa sinistra da quello della zampa destra).

## RISULTATI

Dopo 6 somministrazioni di linfociti fototrattati la soppressione della risposta di Ipersensibilità Ritardata è stata di circa 70%.

## DISCUSSIONE

Il meccanismo d’azione della fototerapia non è ancora del tutto chiaro e sembra che più meccanismi interagiscano tra loro. Tuttavia è evidente che i linfociti del sangue periferico siano bersaglio del trattamento con psoralene e UVA e che questo sia in grado di generare un processo di immunizzazione attiva con formazione di cloni specifici di cellule T ad azione soppressoria nei confronti delle cellule responsabili del rigetto. Questo potrebbe pertanto essere attenuato o addirittura eliminato dal momento che le cellule effettrici del rigetto sono inattivate.

Nel nostro modello sperimentale linfociti anti-insula pancreatica, responsabili del rigetto, sono stati fototrattati e, dopo reinfusione, hanno verosimilmente avviato una forma di tolleranza nei confronti del ratto donatore.

## CONCLUSIONI

La fototerapia è una terapia immunomodulante sicura e non tossica, che sembra essere molto promettente nella prevenzione e nel trattamento del rigetto dopo allotrapianto di insule pancreatiche nel ratto.