Societa' Polispecialistica Italiana
dei Giovani Chirurghi

Estratto dal volume degli

ATTI
VI CONGRESSO NAZIONALE
della
Società Polispecialistica Italiana dei Giovani Chirurghi

Università degli Studi di Milano - Palazzo Feltrinelli
Gargnano-Bs - 22-24 aprile 1993.

Casa Editrice l'Antologia
Direzione: Napoli, Via Suarez, 5 - Tel. 081/578.50.65 - 556.56.19

Università di Pavia
Dipartimento di Chirurgia, Sezione di Chirurgia Generale A
I.R.C.C.S Policlinico San Matteo - Pavia
*Dipartimento di Farmacologia
**Servizio di Anatomia Patologica
***Servizio di Anestesia e Rianimazione II

Uso dell'FK 506 dopo trapianto intestinale nel maiale: risultati preliminari.

M. SPADA S. VISCHI M. ALESSIANI M. MAESTRI
M. REGAZZI* I. IACONA* E. ARBUSTINI** P. MORBINI**
S. NOLI*** G. PELONI S. VACCARISI V. GRAMMATICO
L. PASSALIA F. VIAZZO M. MERLI A. PESSARELLI
F. FAYER D. BARBERA C. GENOVESE P. DIONIGI.

Introduzione

L'FK 506 è progressivamente entrato nella pratica clinica come farmaco di prima scelta nei trapianti di fegato, cuore e rene. Recentemente T.E. Starzl e coll. hanno riportato i risultati positivi ottenuti in 23 casi di trapianto di intestino o di fegato-intestino trattati con FK 506 (1,2). Tuttavia la favorevole casistica di Pittsburgh non ha nascosto ulteriori problemi che condizionano la qualità di vita dei pazienti trapiantati: il decorso postoperatorio è caratterizzato da prolungata degenza nei reparti di terapia intensiva e dalla frequente insorgenza di complicanze (3,4); rigetto e GVHD permangono uno spauracchio che l'FK 506 è in grado di limitare solo se utilizzato ad alte dosi con conseguenti effetti collaterali del farmaco (5-7).

Scopo dello studio è di valutare l'efficacia dell'immunosoppressione con FK 506 nel trapianto di intestino in animali di grossa taglia (maiali) e di identificare un "range" terapeutico in cui il farmaco è in grado di controllare le reazioni di rigetto o GVHD con limitati effetti collaterali.

Materiali e metodi

Sono stati utilizzati 16 suini femmina di razza Large White del peso medio di 29.3±2.5 Kg. Gli animali sono stati suddivisi in 4 gruppi sperimentali, differenziabili in base alla terapia immunosoppressiva utilizzata.

Tecnica Chirurgica

La tecnica chirurgica applicata è simile a quella descritta da Kunlin e coll. nel 1972 (8). Nel donatore, l'intestino viene perfuso in situ per via arteriosa, previo incannulamento aortico, con la University of Winsconsin Solution (UW) a 4° C (1000ml). Nel ricevente l'arteria e la vena mesenterica superiore vengono isolate, clampate e sezionate subito dopo l'origine dei vasi colici, in modo tale da preservare l'irrorazione ed il drenaggio ematico del grosso intestino. Il reimpianto del graft viene realizzato confezionando le anastomosi dell'arteria mesentrica superiore T-T e della vena omonima T-T, entrambe con monofilamenteo 6-0. La ricostruzione della continuità intestinale viene realizzata con le anastomosi intestinali digiuno-digiunale (L-L) e ileo-ileale (T-T). Il primo tratto di intestino trapiantato viene abboccato all'esterno mediante confezionamento di una digiunostomia.

Trattamento Postoperatorio

Dopo l'intervento la via venosa centrale viene mantenuta in sede per consentire il trattamento nutrizionale parenterale e la somministrazione della terapia antibiotica (cefotaxime 3 g/die EV, ampicillina 1 g/die EV) e gastroprotettiva (ranitidina 150 mg/die EV). L'animale viene gradualmente svezzato dalla nutrizione parenterale per riprendere la fisiologica alimentazione per os il più rapidamente possibile.

Immunosoppressione

Gruppo 1: (n=3), gruppo di controllo, senza immunosoppressione.
Gruppo 2: (n=4), FK 506 0.1 mg/kd/die IM.
Gruppo 3: (n=5), FK 506 0.15 mg/kd/die IM.
Gruppo 4: (n=4), FK 506 0.3 mg/kd/die IM.
Gli animali dei gruppi 2, 3 e 4 hanno inoltre ricevuto un bolo di 500 mg di metilprendnisolone dopo la riperfusione seguito da un riciclo di steroidi con dosi a scalare da 100 mg in prima giornata sino a 10 mg in sesta giornata post-operatoria e, a seguire, come dose di mantenimento.

Monitoraggio Postoperatorio

Nel periodo postoperatorio vengono monitorizzati: peso corporeo e diuresi, parametri ematologici ed ematochimici (emocromo completo, Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-, GOT, GPT, bilirubina totale e diretta, colinesterasi, albumina, proteine totali, glicemia, amilasi, azoto, creatinina, Quick, PT, PTT, fibrinogeno).

Funzionalità Intestinale con Test al Maltosio

In settima giornata post-operatoria viene somministrato in bolo, attraverso la

diguinostomia, 1 g/kg di maltosio disciolto in 25 ml di soluzione fisiologica. I livelli plasmatici di glucosio sono stati determinati ai tempi 0, +15', +30', +45', +60', +90', +120', +150' e +180'.

Morfologia Intestinale

La morfologia intestinale viene valutata con prelievi bioptici seriati effettuati dopo la riperfusione, in 7ª e 14ª giornata postoperatoria. Valutazioni istopatologiche sono state effettuate anche sul materiale autoptico prelevato al momento del decesso dell'animale da diversi organi.

Livelli Ematici di FK 506

Sono stati determinati con il metodo IMX su sangue intero (Abbot)

Risultati

Sopravvivenza

Nella nostra casistica non si sono verificati decessi intraoperatori. La sopravvivenza media è stata di 9±4 giorni per il gruppo 1, di 11±2 giorni per il gruppo 2, di 16±6 giorni per il 3 e di 9±3 giorni per il gruppo 4. La tabella 1 riassume i dati di sopravvivenza, le cause di

Tab. 1 – *Sopravvivenze, complicanze e cause di morte degli animali trapiantati. SMAT, trombosi dell'arteria mesenterica superiore; MOF, multiple organ feilure.*

	SOPRAVV.	COMPLICANZE	causa MORTE
Gruppo 1			
1	13 gg	–	rigetto
2	3 gg	peritonite	rigetto
3	11 gg	–	rigetto
Gruppo 2 **FK 506 0.1 mg/kg/die**			
1	13 gg	–	rigetto
2	9 gg	fistola enterica	rigetto
3	10 gg	–	rigetto
4	12 gg	–	rigetto
Gruppo 3 **FK 506 0.15 mg/kg/die**			
1	6 gg	polmonite	SMAT
2	19 gg	ascesso addominale	sepsi
3	19 gg	ascesso addominale	sepsi
4	16 gg	pericardite, polmonite	sepsi
5	19 gg	polmonite, pericardite	arresto cardio-resp.
Gruppo 4 **FK 506 0.3 mg/kg/die**			
1	8 gg	pancreatiche, volvolo	ileo paralitico
2	7 gg	insuff. renale, polmonite	DIC
3	7 gg	insufficienza renale	DIC
4	14 gg	insufficienza renale	MOF

morte e le eventuali complicanze postoperatorie relative alla nostra esperienza. La figura 1 mostra le curve attuariali di sopravvivenza relative ai diversi gruppi sperimentali. Non sono state evidenziate differenze significative fra i 4 gruppi di animali per quanto riguarda la durata dell'intervento, del confezionamento delle anastomosi vascolari e dei tempi di ischemia. Tutti gli animali trapiantati hanno ripreso ad alimentarsi spontaneamente dopo l'intervento per intervalli di tempo più o meno lunghi.

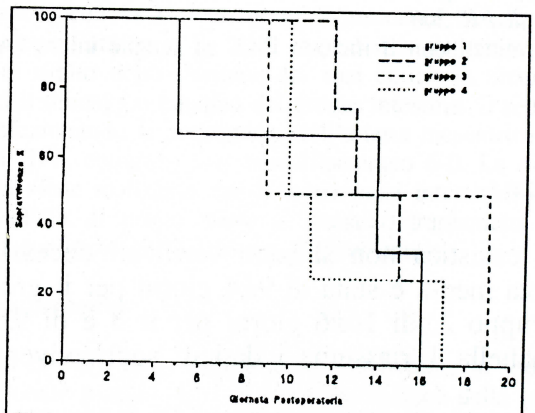

Fig. 1 - Curve attuariali di sopravvivenza dei 4 gruppi sperimentali

Decorso post-operatorio, valutazione isto-patologica e funzionale

Gruppo 1: il 100% degli animali del gruppo di controllo ha sviluppato un rigetto acuto, caratterizzato dal punto di vista clinico dalla comparsa di diarrea. All'esame autoptico l'intestino trapiantato appariva edematoso, congesto e necrotico con contenuto di carattere emorragico; lo studio istopatologico ha dimostrato la presenza di un classico quadro di rigetto acuto caratterizzato da accorciamento dei villi intestinali, perdita di cellule epiteliali sia a livello dei villi che delle cripte, cospicuo infiltrato di neutrofili, linfociti e macrofagi a livello della lamina propria, formazione di aggregati linfocitari perivasali nella sottomucosa e nel mesentere, necrosi della tonaca mucosa.

Gruppo 2: con un dosaggio di FK 506 di 0.1 mg/kg/die il 100% degli animali ha sviluppato una reazione di rigetto acuto responsabile dell'exitus. Le biopsie effettuate in 7ª giornata postoperatoria hanno

mostrato iniziali alterazioni a carico della mucosa, localizzate a livello delle cripte, mentre gli esami autopici hanno rivelato un quadro di danno intestinale sovrapponibile a quello osservato negli animali del gruppo 1.

Gruppo 3: l'andamento clinico degli animali di questo gruppo (FK 506 alla dose di 0.15 mg/kg/die) è stato caratterizzato dalla comparsa, tra la 16ª e la 19ª giornata postoperatoria, di un quadro di shock settico che ha condizionato l'exitus in 4 casi su 5. L'esame autoptico ha confermato la diagnosi clinica evidenziando la presenza di numerosi focolai settici a livello addominale, renale, polmonare e pericardiaco. La valutazione istologica dell'intestino trapiantato ha mostrato un modesto accorciamento dei villi e la presenza di scarso infiltrato polimorfonucleato a livello della lamina propria. Il tessuto linfatico del graft si presentava, in tutti i casi, iperplastico con una spiccata deplezione della componente linfocitaria comprovata dalla leucopenia periferica.

Gruppo 4: gli animali di questo gruppo hanno sviluppato, in 3 casi su 4, un quadro clinico di insufficienza renale con contrazione della diuresi sino all'anuria, progressivo aumento dell'urea e della creatinina plasmatica (Fig. 2) e iperpotassiemia. L'esame autoptico ha confermato il dato clinico evidenziando la presenza di un quadro di nefropatia tubulointerstiziale acuta con lesioni degenerativo-necrotiche dell'epitelio tubulare, edema ed infiltrati infiammatori a carico del tessuto interstiziale intertubulare. Viceversa l'intestino trapiantato era in

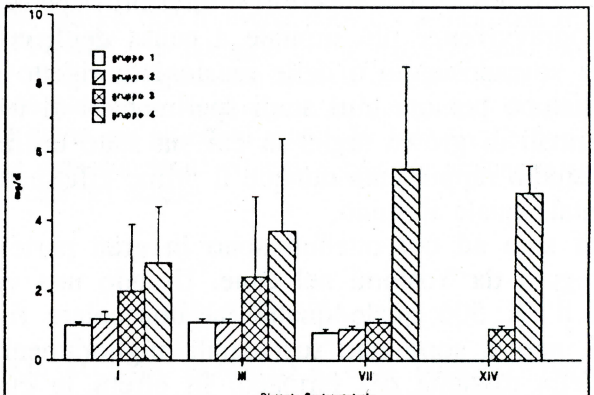

Fig. 2 - Creatininemia

buone condizioni e non mostrava significative alterazioni istologiche attribuibili a rigetto.

I risultati relativi ai test di assorbimento al maltosio sono illustrati in figura 3. Gli animali del gruppo 3 mostrano una curva di assorbi-

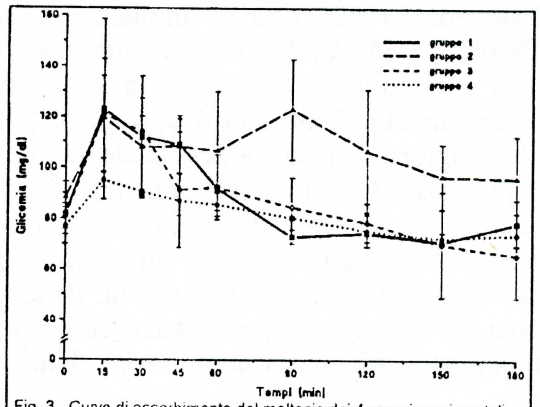

Fig. 3 - Curve di assorbimento del maltosio dei 4 gruppi sperimentali

mento che, dopo un picco iniziale a 15', si mantiene costantemente elevata per i primi 90' per poi decrescere lentamente nei successivi 60'. Negli altri gruppi il ritorno a livelli basali è molto più rapido.

Discussione

Utilizzando il cane come modello sperimentale per il trapianto di intestino tenue Yoshimi e coll. (9) hanno ottenuto una sopravvivenza media di 57 giorni con un dosaggio di FK 506 di 0.1 mg/kg/die in infusione endovenosa. Dosi superiori o inferiori rispetto a questa hanno portato a sopravvivenze più limitate a causa degli effetti tossici del farmaco nel sovradosaggio o delle reazioni di rigetto nel caso opposto. Non esistono per ora altri studi sperimentali di trapianto di intestino su animali di grossa taglia in cui sia stato utilizzato l'FK 506. Il presente studio rappresenta dunque il primo effettuato su un modello sperimentale quale il suino.

I risultati sino ad ora ottenuti sono in gran parte paragonabili a quelli conseguiti da Yoshimi nel cane. Usando una via di somministrazione dell'FK 506 quale quella intramuscolare rispetto a quella endovenosa, non ci sono stati sostanziali miglioramenti in termine di riduzione della tossicità del farmaco. In effetti le curve di cinetica hanno dimostrato che le due vie di somministrazione portano a equi-

valenza nell'andamento temporale della curva di distribuzione del farmaco. Dopo iniezione intramuscolare si ottiene un picco ematico entro la prima ora, tenendo conto che per ottenere gli stessi livelli di una infusione endovenosa, la dose per via intramuscolare dovrebbe essere di un 30-50% superiore.

Nel nostro studio una dose di 0.3 mg/kg/die IM ha determinato effetti tossici letali soprattutto a livello renale. Viceversa un dosaggio di 0.1 mg/kg/die IM si è rivelato insufficiente a controllare le reazioni di rigetto. Migliori sopravvivenze, sino ad un massimo di tre settimane, sono state ottenute con dosi di 0.15 mg/kg/die. L'esame istologico della mucosa intestinale ha rivelato modificazioni aspecifiche non sicuramente attribuibili a rigetto. La sepsi, causa finale del decesso degli animali di questo gruppo, può aver contribuito a rendere il quadro istologico confuso. L'impressione è che con questo dosaggio la reazione di rigetto avvenga più lentamente e sia soverchiata, ad un certo punto, dal fenomeno della traslocazione batterica con conseguente sepsi generalizzata ed exitus. Se questo è vero, il range terapeutico ideale dell'FK 506, in grado di controllare le reazioni di rigetto con limitati effetti tossici, dovrebbe essere compreso fra 0.15 e 0.3 mg/kg/die IM. Infatti allo stato attuale, i risultati in termini di sopravvivenza non possono essere ritenuti soddisfacenti, soprattutto se confrontati con quelli ottenuti in passato da altri ricercatori utilizzando ciclosporina ad alte dosi (10,11).

RIASSUNTO

16 maiali sono stati sottoposti a trapianto ortotopico di intestino tenue e sono stati immunosoppressi con FK 506 a diverse dosi. Gli animali non trattati e quelli che hanno ricevuto l'FK 506 a un dosaggio di 0.1 mg/kg/die sono morti rispettivamente a 9±4 e 11±2 giorni per rigetto. Elevando la dose a 0.15 mg/Kg/die il decesso è avvenuto a 16±6 giorni per sepsi mentre un dosaggio di 0.3 mg/Kg/die si è rivelato letale a 9±3 giorni per gli effetti tossici del farmaco. Le dosi sinora testate di FK 506 non si sono dimostrate efficaci a garantire prolungate sopravvivenze dopo trapianto intestinale nel maiale.

BIBLIOGRAFIA

1) TODO S, TZAKIS AG, ABU-ELMAGD K, et al. *Intestinal Transplanation in composite visceral grafts or alone*. Ann Surg 1992; 216: 223-34.

2) TODO S, TZAKIS A, REYES J, et al. *Intestinal transplanation in humans under FK 506. Transplant* Proc 1993; 25: 1198-9.
3) ABU-ELMAGD K, FUNG JJ, REYES J; et al. *Management of intestinal transplantation in humans.* Transplant Proc 1992; 24: 1243-4.
4) REYES J, ABU-ELMAGD K, TZAKIS A, ALESSIANI M, et al. *Infectious complications after human small bowel transplantation.* Transplant Proc 1992; 24: 1249-50.
5) FUNG J, ALESSIANI M, ABU-ELMAGD K, et al. *Adverse effects associated with the use of FK 506.* Transplant Proc 1991; 23: 3105-8.
6) ALESSIANI M, CILLO U, FUNG J, et al. *Advers effects of FK 506 overdosage after liver transplantation.* Transplant Proc 1993; 25: 628-34.
7) SMITH GJ, INGHAM CLARK CL, CRANE PW, LEAR PA, WOOD RFM, FABRE JW. *Ex vivo perfusion of intestinal allografts with anti-T cell monoclonal antibody/ricin A-chain conjugates for the suppression of graft versus-host disease.* Transplantation 1992 (in press).
8) KUNLIN A, HAY JM, FAGNIEZ PL, et al. *Technique de la transplantation orthotopique de l'intestin grele chez le porc.* Ann Chir 1972; 26: 505-10.
9) YOSHIMI F, NAKAMURA K, ZHU Y, et al. *Canine total orthotopic small bowel transplantation under FK 506.* Transplant Proc 1991; 23- 3240-2.
10) GRANT D, DUFF J, ZHONG R, et al. *Successful intestinal transplantation in pigs treated with cyclosporine.* Transplantation 1988; 45: 279-84.
11) KANEDO H, HANCOCK W, SCHWEIZER T. *Progress in experimental porcine small-bowel transplantation.* Arch. Surg 1989; 124: 587-92.