

Επίκαιρα άρθρα

Η μεταμόσχευση των νησιδίων του παγκρέατος ως θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη

Περίληψη

Η. Ευθυμίου

Στο άρθρο αυτό περιγράφονται τα δεδομένα της μεταμόσχευσης των νησιδίων του παγκρέατος στα πειραματόζωα και στον άνθρωπο. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται: 1) στην ανάπτυξη μεθόδου για την απομόνωση των κυττάρων των νησιδίων από το πάγκρεας των πειραματόζωων και του ανθρώπου, 2) στην πρόληψη της ακύρωσης των κυττάρων των νησιδίων που θα επιτρέψει να μη βρίσκεται ο ασθενής σε συνεχή θεραπεία ανοσοκαταστολής. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με την αλλαγή της ανοσολογικής κατάστασης των κυττάρων του δότη (immunoalteration) είτε με την απομόνωσή τους από το ανοσολογικό σύστημα του λήπτη (immunoisolation), 3) στην διαπιστωθείσα αποκατάσταση της ευγλυκαιμίας και στην αναστροφή των προέμων διαβητικών επιπλοκών, 4) στην ταχύτερη εφαρμογή της μεθόδου από τα πειραματόζωα στον άνθρωπο. Παρά τις δυσκολίες που υπάρχουν ελπίζεται βέβαια ότι η μεταμόσχευση των νησιδίων του παγκρέατος μπορεί να είναι η ιδανική θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη στο προσεχές μέλλον διότι υπάρχει αισιοδοξία ότι τα προβλήματα που υπάρχουν θα επιλυθούν σύντομα, καθώςσον προσεγγίζονται από διαφορετικές κατευθύνσεις.

Η θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη - διαίτα, υπογλυκαιμικά δισκία, ινσουλίνη - έχει ως στόχο τη διατήρηση της ευγλυκαιμίας του ασθενή και την πρόληψη ή την αναστροφή των επιπλοκών της νόσου. Σε πολλούς ασθενείς, με την πάροδο του χρόνου, εμφανίζονται επιπλοκές από την προσβολή ζωτικών οργάνων όπως καρδιά, νεφροί, οφθαλμοί, εγκέφαλος, αγγεία και νεύρα.

Για το λόγο αυτό είναι ανάγκη να εφαρμοστούν νέες θεραπευτικές μέθοδοι. Οι αντλίες χορήγησης ινσουλίνης, το τεχνητό πάγκρεας και τα συνθετικά ανάλογα της ινσουλίνης αποτελούν αντικείμενο έρευνας. Η χρήση τους περιορίζεται σε εξειδικευμένες περιπτώσεις ή βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο.

Η μεταμόσχευση των νησιδίων του παγκρέατος ως βασική μέθοδος θεραπείας του σακχαρώδη διαβήτη στον άνθρωπο έχει καλές προοπτικές. Η αισιοδοξία για τη μέθοδο αυτή προέρχεται κυρίως από δύο λόγους 1) από την εφαρμογή της μεθόδου από τα πειραματόζωα στον άνθρωπο σε σύντομο χρόνο και 2) η προ-

σέγγιση των προβλημάτων από τους ερευνητές γίνεται από διαφορετικές κατευθύνσεις¹.

Οι στόχοι της θεραπείας των διαβητικών ασθενών με τη μεταμόσχευση των νησιδίων είναι αφ' ενός η έγκαιρη επιβεβαίωση της για να προλαμβάνονται ή να αναστρέφονται οι επιπλοκές της νόσου και αφ' ετέρου η αποφυγή συνεχούς θεραπείας ανοσοκαταστολής.

Στο άρθρο που ακολουθεί περιγράφονται εν συντομία τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου στα πειραματόζωα και στον άνθρωπο.

1) σε πειραματόζωα του αυτού είδους (isograft-allograft)

2) σε πειραματόζωα διαφορετικού είδους (xenograft)

3) σε διαβητικούς ασθενείς που βρίσκονται σε μόνιμη θεραπεία ανοσοκαταστολής λόγω συνυπάρχουσας μεταμόσχευσης νεφρού.

4) σε διαβητικούς ασθενείς που δεν βρίσκονται σε θεραπεία ανοσοκαταστολής.

Οι δυσκολίες στη μεταμόσχευση των νησιδίων αφορούν αφ' ενός στην τεχνική για την απομόνωση επαρκούς αριθμού νησιδίων και αφ' ετέρου στη διατήρηση της λειτουργικότητάς τους.

Με την τεχνική της κολαγενάσης² επετεύχθη η απομόνωση των νησιδίων από το πάγκρεας των πειραματόζωων όπου υπήρχαν σημαντικές δυσχέρειες λόγω της παρουσίας μεγάλης ποσότητας κολαγόνου.

Στον άνθρωπο η εφαρμογή διαφόρων βελτιωμένων τεχνικών επιτρέπουν την απομόνωση επαρκούς αριθμού νησιδίων - ήτοι περίπου 10.000 ανά kg σωματικού βάρους του λήπτη - με υψηλό βαθμό καθαρότητας, που διατηρούν την λειτουργική τους δραστηριότητα σε *in vitro* συνθήκες. Αυτό αποδεικνύεται από την έκκριση του c-πεπτιδίου και της ινσουλίνης στο ομόλογο ερέθισμα της γλυκόζης. Στα πειραματόζωα η λειτουργική δραστηριότητα των νησιδίων αποκαθιστά την ευγλυκαιμία και προλαμβάνει ή αναστρέφει τις πρώιμες διαβητικές επιπλοκές³.

Για τη διατήρηση της λειτουργίας των νησιδίων στον λήπτη εφαρμόζονται ειδικές μέθοδοι πρόληψης της απόρριψής τους, που επηρεάζουν είτε την ανοσολογική κατάσταση των κυττάρων του δότη (immunosuppression) είτε απομονώνουν τα νησιδία από το ανοσολογικό σύστημα του λήπτη (immunoisolation)⁴. Η αντιγονικότητα των νησιδίων δεν προκαλείται μόνο από τα παρεγχυματικά κύτταρα αλλά από τα "passenger" λευκοκύτταρα ήτοι αντιγόνα που τα επικαλύπτουν. Ο

αριθμός των "passenger" λευκοκυττάρων ποικίλει ανάλογα με το είδος του πειραματόζωου π.χ. είναι δύο στο μικρό ποντίκι⁵ (mouse) και δέκα πέντε στον ποντικό (rat)⁶. Στον άνθρωπο αντιγονική δράση εκτός από τα παρεγχυματικά κύτταρα και τα "passenger" λευκοκύτταρα έχουν επίσης και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Γι' αυτό το λόγο, φυλογενετικά, όσο ανέρχεται το είδος του πειραματόζωου παράλληλα αυξάνει και η αντιγονικότητα των νησιδίων και αυτό συνδυάζεται με την ποικιλία της θεραπείας της ανοσοκαταστολής.

Η θέση εντόπισης των νησιδίων στη μεταμόσχευση επηρεάζει τη λειτουργικότητά τους⁷. Στα πειραματόζωα η περιτοναϊκή κοιλότητα, το ήπαρ, ο σπλήνας, η κάψα του νεφρού, ο θύμος αδένας και οι όρχεις είναι κατάλληλες θέσεις υποδοχής των νησιδίων ενώ ανάλογες θέσεις στον άνθρωπο είναι το ήπαρ, ο σπλήνας και ο υποδόριος ιστός γύρω από τα αγγεία.

Από τη μεταμόσχευση των νησιδίων στο ίδιο είδος πειραματόζωου διαπιστώθηκαν: Στον ποντικό η τοποθέτησή τους στην περιτοναϊκή κοιλότητα, κάτω από την κάψα του νεφρού, στους μύες του μηρού και τη πυλαία φλέβα αποκαθιστά την ευγλυκαιμία, γεγονός που δεν παρατηρείται όταν τοποθετούνται στον υποδόριο ιστό. Στο σκύλο η τοποθέτησή τους στο σπλήνα και το ήπαρ συνδυάστηκε με απώλεια της λειτουργίας του ενώ στη σκυλάκια *ráttous canipe* στις ίδιες θέσεις η λειτουργία των νησιδίων διατηρήθηκε για ένα χρόνο με πολύ καλά αποτελέσματα⁸.

Η επιτυχής μεταμόσχευση των νησιδίων στα πειραματόζωα συνοδεύεται από αναστροφή των πρώιμων διαβητικών επιπλοκών. Στη νεφροπάθεια διαπιστώθηκε ελάττωση της αναπόθεσης των ανοσοσφαιρινών και πάχυνσης του μεσαγγείου στο σπείραμα⁹. Στην αμφιβληστροειδοπάθεια τεκμηριώθηκε με φλουρουγγειογραφία η ελάττωση της διαφυγής των αγγείων του αμφιβληστροειδή. Στην αυτόνομη νευροπάθεια ελαττώθηκε η συχνότητα του μεγάλου που οφείλονταν στη βλάβη των νευρών του μεσεντερίου¹⁰.

Η πρόληψη της απόρριψης των νησιδίων εξασφαλίζεται με την αλλαγή της ανοσολογικής κατάστασης των κυττάρων του δότη - *immunosuppression* - που επιτυγχάνεται με μία από τις παρακάτω μεθόδους¹.

- *in vitro* καλλιέργεια των κυττάρων σε 24°C για 7 ημέρες

- καλλιέργεια των κυττάρων σε 95% O₂ για 7 ημέρες

- υπεριώδης ακτινοβολία

- καλλιέργεια νησιδίων που γεννήθηκαν πρόσφατα

- πολλαπλοί δότες νησιδίων
- επανασυσσώρευση νησιδίων

Το πειραματόζωο-λήπτης πριν από τη μεταμόσχευση των νησιδίων δεν υποβλήθηκε σε καμία θεραπεία εκτός από μία περίπτωση που χορηγήθηκε υπεριώδης ακτινοβολία. Μετά τη μεταμόσχευση, σε μερικές περιπτώσεις, στο πειραματόζωο-λήπτη χορηγήθηκε για σύντομο διάστημα θεραπεία με αντιλεμφοκυτταρική σφαιρίνη ή κυκλοσπορίνη ή αντισώμα εναντίον των T-λεμφοκυττάρων.

Από τις παραπάνω μεθόδους αλλαγής της ανοσολογικής κατάστασης των κυττάρων του δότη (immunomodulation) περισσότερο καθιερωμένη μετά τα αποτελέσματα της εργασίας των Opelz και Terasaki¹¹ είναι η "in vitro καλλιέργεια" των κυττάρων του δότη σε χαμηλή θερμοκρασία. Οι ερευνητές αυτοί απέδειξαν ότι τα λεμφοκύτταρα στις συνθήκες αυτές χάνουν την ικανότητά τους να διεγείρουν τα αλλογενή λεμφοκύτταρα όταν προστίθενται σε μεικτή καλλιέργεια λεμφοκυττάρων. Με τη μέθοδο αυτή ελαττώνεται η αντιγονικότητα των νησιδίων και εξασφαλίζεται η λειτουργία τους στο λήπτη.

Ενδιαφέρον εύρημα είναι επίσης ότι η αλλαγή της ανοσολογικής κατάστασης των κυττάρων του δότη επηρεάζει ευνοϊκά το ανοσολογικό σύστημα του πειραματόζωου-λήπτη στην αποδοχή των νησιδίων. Ο πιθανολογούμενος μηχανισμός της επίδρασης αυτής αποδίδεται στην παραγωγή ειδικών κατασταλτικών T-λεμφοκυττάρων (suppressor). Αυτό επιβεβαιώθηκε από πειραματικές μελέτες, όταν στη δεύτερη μεταμόσχευση των νησιδίων - χωρίς την αλλαγή της ανοσολογικής κατάστασής τους - διαπιστώθηκε στο λήπτη καλή λειτουργία τους, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε στην τρίτη διαδοχική μεταμόσχευση^{12,13}.

Άλλη μέθοδος πρόληψης της απόρριψης των κυττάρων των νησιδίων είναι η απομόνωσή τους από το ανοσολογικό σύστημα του λήπτη που επιτυγχάνεται από την τοποθέτησή τους σε εκλεκτικά διαπερατές μεμβράνες (immunoisolation).

Οι μεμβράνες αυτές κυκλοφορούν στο εμπόριο είτε ως μικροκάψουλες είτε ως κοίλες ίνες που περιβάλλουν τα αγγεία^{14,15}.

Οι μικροκάψουλες με τα περιεχόμενα νησιδια τοποθετούνται στα πειραματόζωα ενδοπεριτοναϊκά. Διατηρείται η λειτουργικότητα των νησιδίων και αποκαθίσταται η ευγλυκαιμία. Τα προβλήματα που υπάρχουν από τη χρησιμοποίη-

ση των μικροκάψουλών αυτών αφορούν την βιοσυμβατότητα και τη συγκόλληση των νησιδίων. Γι' αυτό το λόγο επαλείφονται από ειδικές ουσίες που τις καθιστούν περισσότερο αποδεκτές στα σημεία τοποθέτησής τους.

Οι κοίλες ίνες με τα περιεχόμενα νησιδια, τοποθετούνται γύρω από τα αγγεία - intravascular device - και εξασφαλίζουν έτσι την ευγλυκαιμία στα πειραματόζωα (σκύλους). Από τη χρησιμοποίησή τους διαπιστώθηκαν παρενέργειες στην πήξη του αίματος, γι' αυτό συστήνεται η παράλληλη χορήγηση ασπιρίνης. Οι προσπάθειες συνεχίζονται για την επίλυση των προβλημάτων που προκύπτουν από τη χρησιμοποίηση των μεμβρανών. Τελευταίο επίτευγμα είναι η παραγωγή της ακρυλικής κοπολυμερικής μεμβράνης, MB 500.000⁶, που εμφανίζει καλύτερη ανοχή στην υποδόρια τοποθέτηση και αποκαθιστά την ευγλυκαιμία στα πειραματόζωα-ποντικούς¹⁶.

Η μεταμόσχευση των νησιδίων σε πειραματόζωο διαφορετικού είδους (xenograft), εμφανίζει πιο σύνθετα προβλήματα που αφορούν τόσο την αλλαγή της ανοσολογικής κατάστασης των κυττάρων του δότη όσο και τη θεραπεία της ανοσοκαταστολής στο λήπτη. Επικρατέστερη μέθοδος είναι η in vitro καλλιέργεια των νησιδίων σε 24°C για 7 ημέρες, ενίοτε σε 37°C για 7 μέρες, με προσθήκη του αυξητικού παράγοντα-β μετατροπής (TGF-β, transforming growth factor-β). Η θεραπεία ανοσοκαταστολής στο πειραματόζωο-λήπτη εμφανίζει ευρύ φάσμα ήτοι χορήγηση αντιλεμφοκυτταρικής σφαιρίνης, κυκλοσπορίνης, αντισώματος για τα βοηθητικά λεμφοκύτταρα (αντί T₃, T₄) και λεμφοκινών. Από τη συνδυασμένη αυτή αγωγή εξασφαλίζεται μόνιμη επιβίωση των νησιδίων στο πειραματόζωο-λήπτη. Η συνήθης θέση εντόπισης των νησιδίων είναι η κάψα του νεφρού^{17,18,19}.

Σε διαβητικούς ασθενείς η μεταμόσχευση των νησιδίων γίνεται α) σε ασθενείς που βρίσκονται σε μόνιμη θεραπεία ανοσοκαταστολής λόγω συνυπάρχουσας μεταμόσχευσης νεφρού και β) σε ασθενείς που δεν λαμβάνουν θεραπεία ανοσοκαταστολής.

Με την τεχνολογική πρόοδο αναπτύχθηκε ειδική ημιαυτόματη μέθοδος που επιτρέπει τη λήψη μεγάλου αριθμού κυττάρων των νησιδίων (400.000-800.000) από το πάγκρεας του ανθρώπου είναι κατάλληλα για μεταμόσχευση²⁰. Τα κύτταρα των νησιδίων αυτών σε ποσοστό 90-95% έχουν υψηλό βαθμό καθαρότητας, και σε in vitro καλλιέργειες διατηρούν την ικανότητα έκκρισης

της ινσουλίνης στο ερέθισμα της γλυκόζης, όπως επίσης και μετά τη μεταμόσχευση των νησιδίων αυτών στην κάψα του νεφρού διαβητικών ποντικών επιτεύχθηκε αποκατάσταση της ευγλυκαιμίας τους.

Από τις ιστολογικές μελέτες μύσχυμάτων νεφροπαθών ασθενών με απόρριψη του μωσχέυματος διαπιστώθηκε ότι η ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος είναι ανοσολογικώς προνομιούχος διότι ενεφάνιζε τις μικρότερες βλάβες²¹. Η κλασική δε θεραπεία ανοσοκαταστολής που χρησιμοποιείται στις μεταμόσχευσεις του νεφρού ήτοι azathioprine, methyl-prednisolone, αντιλεμφοκυτταρική σφαιρίνη και κυκλοσπορίνη, μικρή βοήθεια προσέφερε στη διατήρηση της λειτουργίας των νησιδίων²².

Τα τελευταία 3 χρόνια διαβητικοί ασθενείς υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευσεις νησιδίων με αποτελέσματα μάλλον ενθαρρυντικά. Επιτυγχάνεται σήμερα μεγαλύτερη επιβίωση των νησιδίων με καλή λειτουργικότητα που εκτιμάται ως γνωστό από τη μέτρηση του c-πεπτιδίου και της ινσουλίνης σε κατάσταση νηστείας και μετά τη χορήγηση γεύματος.

Στη βιβλιογραφία²³ αναφέρεται περίπτωση ασθενούς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I που είχε υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού και βρισκόταν ήδη σε θεραπεία καταστολής με κυκλοσπορίνη. Έγινε μεταμόσχευση 800.000 νησιδίων που καλλιεργήθηκαν για 7 ημέρες σε 24°C, στην πυλαία φλέβα μέσω της ομφαλικής κάτω από συνθήκες τοπικής αναισθησίας. Στο λήπτη χορηγήθηκε για 7 μέρες αντιλεμφοβλαστική σφαιρίνη της Μινεζότα σε δόση 200 mg/Kg παράλληλα με την κυκλοσπορίνη. Αποκαταστάθηκε η ευγλυκαιμία στον ασθενή για 22 ημέρες (σάκχαρο νηστείας 115 mg/dl και μετά χορήγηση γεύματος 141 mg/dl), στη συνέχεια όμως ακολούθησε απόρριψη του μωσχέυματος.

Αναφέρονται επίσης αποτελέσματα σε επτά διαβητικούς τύπου I, από εννέα μεταμόσχευσεις νησιδίων στην πυλαία φλέβα. Τρεις ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση 10.000 νησιδίων ανά kg σωματικού βάρους. Υποβλήθηκαν σε κλαστική ανοσοκατασταλτική αγωγή ήτοι prednisone, azathioprine, κυκλοσπορίνη. Διαπιστώθηκε η λειτουργικότητα των νησιδίων με τη μέτρηση του c-πεπτιδίου, η οποία διατηρήθηκε μόνο για 2 εβδομάδες²⁴.

Σε άλλη ομάδα τριών ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I έγινε ταυτόχρονα μεταμό-

σχευση νεφρού και των νησιδίων (8.000 ανά kg σωματικού βάρους) στην πυλαία φλέβα. Σ' αυτούς τους ασθενείς διαπιστώθηκε η έκκριση του c-πεπτιδίου αλλά παράλληλα χορηγήθηκε ινσουλίνη για διατήρηση της ευγλυκαιμίας. Σε δύο ασθενείς η λειτουργικότητα των νησιδίων διήρκεσε μέχρι 10 μήνες. Επαναλήφθηκαν οι μεταμόσχευσεις με διατήρηση της λειτουργικής δραστηριότητας του C-πεπτιδίου για 6 μήνες, και συνεχή χορήγηση της ινσουλίνης σε έναν ασθενή ενώ μόνο ένας ασθενής δεν έλαβε εξωγενή ινσουλίνη²⁴.

Αναφέρεται περίπτωση ασθενούς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I που υποβλήθηκε σε μεταμόσχευση νεφρού και νησιδίων του παγκρέατος, 10.000 ανά kg σωματικού βάρους, προσφάτου προελεύσεως το ήμισυ αυτών και κρυοδιατηρημένων το υπόλοιπο ήμισυ, με διατήρηση καλής λειτουργικότητας των νησιδίων, έκκριση C-πεπτιδίου και ινσουλίνης για 3 μήνες²⁵.

Με μεγάλο ενδιαφέρον αναμένονται τα αποτελέσματα προοπτικής μελέτης από τους διακεκριμένους ερευνητές Schafr και Lacy σε διαβητικούς ασθενείς που δεν βρίσκονται σε θεραπεία ανοσοκαταστολής. Από τα ευρήματα της μελέτης αυτής θα καθορισθεί η διαδικασία του immunosuppression, η πορεία της μεταμόσχευσης και η θέση μεταμόσχευσης των νησιδίων του παγκρέατος στους διαβητικούς ασθενείς. Επιλέγονται ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση νεφρού σε ένα χρόνο. Το immunosuppression γίνεται με την in vitro καλλιέργεια των κυττάρων των νησιδίων από δότη - άνθρωπο - για 7 μέρες σε 24°C, - στη συνέχεια κρυοδιατηρούνται και επωάζονται με ανθρώπινη αντιλεμφοκυτταρική σφαιρίνη. Στο διαβητικό ασθενή (λήπτη) χορηγείται για 10 μέρες αντιλεμφοκυτταρική σφαιρίνη και κυκλοσπορίνη για 2-3 μήνες.

Σε χώρες της Ανατολικής Ευρώπης και της Άπω Ανατολής γίνονται πολλές μελέτες με ενθαρρυντικές ενδείξεις από τη χρησιμοποίηση νησιδίων από χοίρο. Τα αποτελέσματα όμως αυτά είναι αμφισβητήσιμα διότι αφενός δεν χρησιμοποιήθηκαν ομάδες ελέγχου και αφετέρου δεν επιβεβαιώθηκαν από ανάλογες εργασίες στη Δύση.

Από τα παραπάνω συνάγεται ότι η μεταμόσχευση των νησιδίων μπορεί να αποδειχθεί ιδανική θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη στο προσεχές μέλλον με τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1ον να γίνεται έγκαιρα, για να προλαμβάνονται ή να ανστρέφονται οι πρόιμες επιπλοκές της νόσου.

21. *Schump DW, Lacy PE, Santiago JW, McCullough CS, Weide JG, Falqui L, Marchetti P, Gingerich RL, Jaffe AS, Cryer PE, Anderson CB, Fine MW*. Insulin independence after islet transplantation into type 1 diabetic patient. *Diabetes* 1990; 39: 515-518.
22. *Schump DW, Lacy PE, Santiago JW, McCullough CS, Weide JG, Boyle PJ, Falqui L, Marchetti P, Ricordi C, Gingerich RL, Jaffe AS, Cryer PE, Hanto DW, Anderson CB, Fine MW*. Results of our first nine intra-portal islet allografts in type 1, insulin - dependent diabetic patients. *Transplantation* 1991; 51: 76-85.
25. *Warnock GL, Kuceman NM, Ryan E, Seelis RE, Rabenowitz A, Rajotte RV*. Normoglycemia after transplantation of freshly isolated and cryopreserved pancreatic islets in type 1 (insulin - dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1991; 34: 55-58.