

# NUOVE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE PER IL TRAPIANTO DI RENE: LA FOTOCHEMIOTERAPIA EXTRACORPOREA

**Gaspere Elios Russo, Anna Rita D'Angelo, Massimo Testorio, Fabio Mazza, Barbara Borzacca, Alessandra Cicchinelli, Guido Laudani, Ilaria Serriello, Marta Casarci, Angela Guido, Marco Cavallini**

U.O.S. Dialisi Peritoneale e Plasmaferesi - U.O.C. Nefrologia A; D.A.I. Nefrologia-Urologia, Azienda Policlinico Umberto I; I Facoltà di Medicina - Sapienza Università di Roma, Roma

## New therapeutic prospects for renal transplant: extracorporeal photochemotherapy

*Since 1960, different classes of immunosuppressive drugs have been used in the post-transplant follow-up. Each is assessed for its effectiveness in preventing rejection but also on the basis of the many side effects induced by prolonged treatment. To reduce these side effects, continuous development of knowledge and medical technology to create cutting-edge therapies in the field is necessary. One of these is extracorporeal photochemotherapy (ECP), an immunomodulatory therapy approved by the United States Food and Drug Administration in 1988 for the treatment of advanced forms of cutaneous T-cell lymphoma. ECP is a useful therapeutic tool for the development of immunomodulation supported by CD8+ clone-specific cytotoxic lymphocytes. The T cells targeted by ECP are modified by photoactivation and seem to develop marked immunogenicity with no suppression of the immune response. Recent studies suggest the possible utility of ECP in the treatment of glomerulonephritis and in countering rejection after transplantation of organs including the kidney.*

Conflict of interest: None

Financial support: The authors have received no financial support for this study or for the preparation of this article.

### KEY WORDS:

ECP,  
Photopheresis,  
Rejection,  
Immunosuppressive therapy,  
Kidney transplant

### PAROLE CHIAVE:

ECP,  
Fotoferesi,  
Rigetto,  
Terapia immunosoppressiva,  
Trapianto di rene

### Indirizzo degli Autori:

Prof. Gaspere Elios Russo  
Viale del Policlinico 155  
00161 Roma  
e-mail: gasparelios.russo@uniroma1.it

## INTRODUZIONE

Il trapianto d'organo rappresenta una delle più importanti conquiste cliniche per la cura di numerose malattie a evoluzione sfavorevole. Dal 1992 a oggi si è assistito a un'importante implementazione del trapianto di rene sia da donatore vivente che da donatore cadavere.

Tuttavia, la percentuale dei soggetti in emodialisi cronica risulta maggiore rispetto a quella dei soggetti in dialisi peritoneale o sottoposti a trapianto, in particolare nella fascia di età superiore ai 75 anni.

Il trapianto di rene ha permesso di ridurre il tasso di mortalità generale e ha aumentato la percentuale di sopravvivenza negli anni rispetto alle altre due metodiche; ciò che ha permesso la salvaguardia del

rene trapiantato, prolungando, quindi, la sopravvivenza del paziente, è stato l'avvento della terapia immunosoppressiva con l'uso di farmaci sempre nuovi. Dal 1960 a oggi, nel post-trapianto, sono state utilizzate diverse classi di immunosoppressori (corticosteroidi, inibitori della calcineurina, antimitotici, inibitori dell'mTOR, ecc.). Ciascun immunosoppressore viene valutato in base alla sua efficacia nell'impedire il rigetto ma anche sulla scorta degli effetti collaterali, non trascurabili, indotti dal trattamento prolungato. A oggi, a differenza dei trapianti di fegato, polmone, cuore e pancreas, l'indicazione terapeutica da scheda tecnica per il trapianto di rene prevede l'utilizzo di tutte le classi di immunosoppressori (Tab. I).

Gli steroidi (prednisone e metilprednisolone) bloccano diverse attività cellulari tra cui la produzione e la

TABELLA I - INDICAZIONE TERAPEUTICA SECONDO LA SCHEDA TECNICA

Classe	Farmaco	RENE	FEGATO	CUORE	POLMONE	PANCREAS
INIBITORI DELLE CALCINEURINE	Ciclosporina	+	+	+	+	+
	Tacrolimus	+	+			
ANTIMITOTICI	Azatioprina	+	+	+	+	+
	Micofenolato (mofetile)	+	+	+		
	Micofenolato (sodico)	+				
INIBITORI m-TOR	Sirolimus	+				
	Everolimus	+		+		
"BIOLOGICI"	Daclizumab	+				
	Basiliximab	+				

proliferazione di citochine (IL6, IL2, TNF, IFN $\gamma$ ), agendo più sull'immunità cellulomediata che su quella umorale. Il loro utilizzo è, purtroppo, gravato da numerosi effetti collaterali a carico dell'apparato cardiovascolare, gastrointestinale, osseo, metabolico e dermatologico.

La ciclosporina, decapeptide a struttura ciclica, legandosi alla calmodulina, inibisce la funzione della calcineurina (CsA), bloccando la produzione di citochine, in particolare dell'IL2. I suoi effetti collaterali sono: l'ipertrofia gengivale, l'ipertricosi, l'iperplasia follicolare, il tremore, l'ipertensione, la nefrotossicità, la dislipidemia, la ridotta tolleranza al glucosio e l'iperuricemia.

Il Tacrolimus (FK506), macrolide a struttura ciclica, con una potenza 10 volte maggiore rispetto alla CsA, ha un meccanismo d'azione analogo alla CsA, inibendo la calcineurina e legandosi a una proteina intracitoplasmatica (FKB-12) che forma un complesso con essa e la calmodulina. Presenta minori effetti collaterali dermatologici rispetto alla CsA, un'analogia incidenza di nefrotossicità e ipertensione e una maggiore incidenza di diabete mellito nel post-trapianto.

Il Sirolimus o Rapamicina, macrolide ciclico lipofilo, ha un meccanismo d'azione che si esplica a valle dell'attivazione linfocitaria, bloccando gli effetti dell'azione dell'IL2 con il suo recettore. In particolare, inibisce una chinasi intracitoplasmatica, l'm-TOR, che viene attivata dal legame IL2-IL2R che agisce attivando altre chinasi che agiscono a livello nucleare attivando geni che intervengono nella proliferazione cellulare. Può indurre tolleranza ed è, quindi, possibile un'associazione con gli inibitori della calcineurina; tuttavia, questo effetto sinergico incrementa notevolmente anche la

nefrotossicità di questi ultimi. Tra gli effetti collaterali: dislipidemia (maggiore del 20% di quella indotta da CsA e tacrolimus), rallentamento della guarigione di ferite chirurgiche, trombocitopenia e diarrea.

L'Azatioprina, sostanza derivata dalla 6-mercaptopurina, agisce come falso nucleotide, venendo incorporata negli acidi nucleici e interrompendo la sintesi del DNA e dell'RNA: blocca la replicazione cellulare dopo la stimolazione antigene dipendente. Gli effetti tossici sono: leucopenia, piastrinopenia, tossicità epatica e diarrea. Se assunta in concomitanza con l'allopurinolo può risultarne una grave tossicità midollare (pancitopenia) ed epatica.

Il Micofenolato Mofetile (*Cell Cept*), la cui forma attiva è l'acido micofenolico, viene somministrato nella forma esterificata con mofetile per migliorarne l'assorbimento e la biodisponibilità. Una volta assorbito, viene rapidamente trasformato in acido micofenolico, la cui successiva metabolizzazione comporta una glicoroconiugazione epatica e l'eliminazione per via urinaria, con un'emivita media di circa 16 ore. Non interferisce con i farmaci a livello metabolico. Il cibo, i chelanti a base di idrossido di alluminio e magnesio e la colestiramina possono rallentarne l'assorbimento. Il micofenolato è un inibitore specifico, potente e reversibile dell'enzima IMPDH.

Nei confronti del rigetto d'organo, il micofenolato, attraverso la riduzione di GTP, provoca anche l'inibizione della sintesi di citochine e fattori di adesione dei linfociti e inibisce la produzione di ossido nitrico (NO) indotta da citochine da parte dell'enzima iNOS, uno dei maggiori implicati nel danno d'organo durante le crisi di rigetto. Gli effetti collaterali sono soprattutto gastrointestinali e dose correlati (diarrea, nausea, vo-

mito), oltre alla depressione midollare anche severa.

L'Acido Micofenilico (Myfortic), formulazione di micofenolato sodico, viene somministrato a dosaggi minori rispetto al *Cell Cept* e presenta, rispetto ad esso, minori effetti collaterali a livello intestinale ma un'invariata tossicità midollare.

Gli Anticorpi monoclonali CD3 (Muromonab) anticorpo di origine murina diretto contro il determinante di superficie CD3, espresso da tutti i linfociti T, da un lato, blocca il primo segnale linfocitario, conseguente alla stimolazione dell'antigene, mentre dall'altro provoca la lisi della cellula. In seguito al suo uso si assiste a una pronta e quasi totale scomparsa di tutti i linfociti T.

Viene impiegato soprattutto nelle crisi di rigetto acuto resistenti agli steroidi. A seguito della massiva lisi linfocitaria, il Muromonab provoca una sindrome caratteristica, nota come sindrome da liberazione di citochine, caratterizzata da febbre, artralgie, brividi, mal di testa, vomito, mialgie, diarrea ed edema polmonare acuto. La dose è di 5 mg/kg e.v. per 7-10 giorni successivi.

Gli Anticorpi monoclonali anti IL2 *receptor* sono anticorpi monoclonali chimerici rivolti contro il recettore linfocitario dell'IL2, prodotti con la tecnologia del DNA ricombinante.

Basiliximab (Simulect) possiede le regioni costanti delle catene leggere e pesanti di origine umana, mentre le regioni variabili sono interamente murine.

Daclizumab (Zenapax) possiede una percentuale ancora minore di origine murina (10% dell'intera molecola). Entrambi sono in grado di saturare la sub unità  $\alpha$  del recettore per l'IL2 per una durata di circa 120 giorni, determinando una drastica riduzione del numero di linfociti CD25 circolanti, che perdura per 4 mesi; vengono somministrati e.v. in un solo ciclo terapeutico, subito dopo il trapianto. Vengono usati per l'induzione dell'immunosoppressione. Non hanno praticamente effetti collaterali e non determinano lisi linfocitaria.

Alla luce di quanto sopra esposto è fuori dubbio che la continua evoluzione delle conoscenze e delle tecnologie mediche diventi uno strumento di fondamentale importanza nella realizzazione di una medicina di avanguardia e proprio in questa ottica si pone la fotochemioterapia extracorporea (ECP), conosciuta anche come fotoferesi, che rappresenta una sintesi tra tecnologia, farmacologia, fisica medica e immunologia clinica volte alla realizzazione di un presidio terapeutico di grande utilità nella modulazione del sistema immunitario.

## DISCUSSIONE

Troviamo tracce della fototerapia nelle antiche civiltà. L'"elioterapia" fu introdotta dai Greci 3000 anni

fa: Erodoto, famoso medico del II secolo a.C., asseriva l'utilità dell'esposizione al sole per il beneficio della salute. Nel 1815, J.F. Cauvin, medico del XIX secolo, riferiva che la luce del sole era un agente terapeutico nel trattamento di rachitismo, scrofolosi, reumatismo, paralisi, edemi, idrope e ipotonia muscolare. Lo scienziato danese Niels Finsen, che introdusse l'uso dell'illuminazione ad arco di carbonio per il trattamento del *lupus vulgaris*, rese popolare la fototerapia. Nel 1953, Lernere et al. hanno riportato l'efficacia dell'8MOP e dell'esposizione al sole nel trattamento della vitiligine. L'utilità dell'esposizione artificiale agli UVA con l'assunzione orale di 8MOP per il trattamento della psoriasi fu proposto nel 1974 da Parrish et al. che coniarono il termine PUVA (psoralene e UVA).

La fotoferesi, o ECP, è una tecnica terapeutica extracorporea relativamente nuova e promettente che trova applicazioni in diverse situazioni patologiche come terapia immunomodulante. Nasce negli anni '80, approvata dalla *United States Food and Drug Administration* nel 1988 per il trattamento delle forme avanzate nell'ambito del trattamento dei linfomi cutanei e delle malattie autoimmuni. Trova oggi un'indicazione particolare nella gestione della *Graft versus Host Disease* (GvHD) e nel rigetto d'organo in ambito trapiantologico (1-4).

Studi preliminari evidenziano risultati promettenti nel rigetto acuto, nella sua profilassi e, in generale, nel riuscire a ottenere un controllo immunologico anche dopo la riduzione del dosaggio *standard* dei farmaci immunosoppressivi.

La ECP, dunque, è utilizzata nella terapia del linfoma cutaneo a cellule T (CTCL) e permette lo sviluppo di un'immunomodulazione sostenuta da linfociti citotossici CD8+ clone specifici. I linfociti T, bersaglio della ECP, sono modificati dall'evento di fotoattivazione (8MOP + UVA) e sviluppano una spiccata immunogenicità in assenza di una soppressione della risposta immune dell'ospite (1).

Tale metodica non determina nessuna soppressione dell'immunità e mantiene l'equilibrio tra la tolleranza e la necessaria fisiologica difesa patologica. Nella sclerodermia e nei linfomi non induce neoplasie secondarie e non aumenta l'incidenza delle infezioni.

La ECP modula il sistema immunitario attraverso una prima alterazione delle cellule presentanti l'antigene. *In vivo*, le cellule presentanti l'antigene legano e fagocitano i leucociti apoptotici indotti dalla ECP. Durante il processo di *clearance* dell'apoptosi cellulare, la funzione delle APC (cellule presentanti l'antigene) viene modulata, conducendo a cambiamenti nella secrezione delle citochine, a una diminuita stimolazione delle cellule *T effector*, a un incremento delle cellule *T suppressor* e all'induzione di cellule T regolatorie.

La ECP, ancora, determina un incremento delle cellu-

le T regolatrici (Treg) nei pazienti portatori di trapianto a differenza di quelli trattati con la sola terapia immunosoppressiva convenzionale ed è risultata essere efficace nel prevenire la GvHD nel trapianto di cuore, fegato, polmone e rene, come dimostrato dai numerosi casi riportati in letteratura (4-7).

## CONCLUSIONI

Nella nostra esperienza clinica, la ECP è risultata essere efficace nel prevenire il rigetto acuto quando la comune terapia immunosoppressiva non risultava essere efficace. Inoltre, è stato dimostrato che la ECP può determinare una riduzione della proteinuria e dei livelli di grassi nel sangue. In contrasto con i convenzionali immunosoppressori, la ECP determina una selettiva modulazione dell'attività immunosoppressiva, è estremamente ben tollerata dall'organismo e determina minimi effetti collaterali.

La fotoferesi è una terapia consolidata di primo impatto per le forme avanzate di CTCL refrattario.

Ha trovato utilizzo in numerosi centri per il trattamento della GVHD acuta e cronica e del morbo di Crohn. Nel corso degli ultimi 20 anni, la fotoferesi ha mostrato un profilo di sicurezza senza precedenti. Studi clinici hanno dimostrato che può produrre miglioramenti significativi della qualità della vita dei pazienti e può effettivamente prolungarne la vita.

Le principali cause di perdita del *graft* sono il rigetto (acuto/cronico) e la recidiva della malattia di base, entrambe con eziopatogenesi immunitaria.

La capacità immunomodulante della ECP può diventare un'alternativa valida e priva di importanti effetti collaterali nella gestione di questi pazienti. Da ciò deriva la necessità di studi randomizzati e controllati per verificarne la reale efficacia.

## RIASSUNTO

*Dal 1960 a oggi, nel post-trapianto, sono state utilizzate diverse classi di immunosoppressori (corticosteroidi, inibitori della calcineurina, antimitotici, inibitori dell'm-TOR, ecc.). Ciascuno viene valutato in base alla sua efficacia nell'impedire il rigetto ma anche sulla scorta dei numerosi effetti collaterali indotti dal trattamento prolungato.*

*Nell'ottica di ridurre sempre più tali effetti collaterali di queste terapie croniche appare evidente l'importanza di una continua evoluzione delle conoscenze e delle tecnologie mediche per la realizzazione di terapie all'avanguardia nel settore, e proprio in questa ottica si pone la fotochemioterapia extracorporea (ECP).*

*La ECP è una terapia immunomodulatoria approvata dalla United States Food and Drug Administration nel 1988 per il trattamento delle forme avanzate di linfoma cutaneo a cellule T (CTCL). La ECP è un mezzo terapeutico utile allo sviluppo di un'immunomodulazione sostenuta da linfociti citotossici CD8+ clone specifici. I linfociti T, bersaglio della ECP, sono modificati dall'evento di fotoattivazione (8MOP + UVA) e sembra sviluppino una spiccata immunogenicità in assenza di soppressione della risposta immune dell'ospite. Recenti studi ne hanno indicato una possibile utilità anche nel trattamento delle glomerulonefriti e nel contrastare il rigetto in numerosi trapianti d'organo, anche in quello renale.*

## DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

## CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori non hanno ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo e/o lo svolgimento dello studio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bladon J, Taylor PC. Extracorporeal photopheresis induces apoptosis in the lymphocytes of cutaneous T-cell lymphoma and graft-versus-host disease patients. *Br J Haematol* 1999; 107: 707-11.
2. Russo GE, Cavallini M, Centi A, Baliva G, Carraro M, Pugliese F. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of glomerulopathies with associated nephrotic syndrome. *J Nephrol* 2010; 23 (1): 85-9.
3. Jardine MJ, Bhandari S, Wyburn KR, Misra AK, McKenzie PR, Eris JM. Photopheresis therapy for problematic renal allograft rejection. *J Clin Apher* 2009; 24 (4): 161-9.
4. Baron ED, Heeger PS, Hricik DE, Schulak JA, Tary-Lehmann

- M, Stevens SR. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17 (2): 79-82.
5. Lamioni A, Carsetti R, Legato A, et al. Induction of regulatory T cells after prophylactic treatment with photopheresis in renal transplant recipients. *Transplantation* 2007; 83 (10): 1393-6.
6. Lamioni A, Parisi F, Isacchi G, et al. The immunological effects of extracorporeal photopheresis unraveled: induction of tolerogenic dendritic cells in vitro and regulatory T cells in vivo. *Transplantation* 2005; 79 (7): 846-50.
7. Dall'Amico R, Murer L, Montini G, et al. Successful treatment of recurrent rejection in renal transplant patients with photopheresis. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9 (1): 121-7.