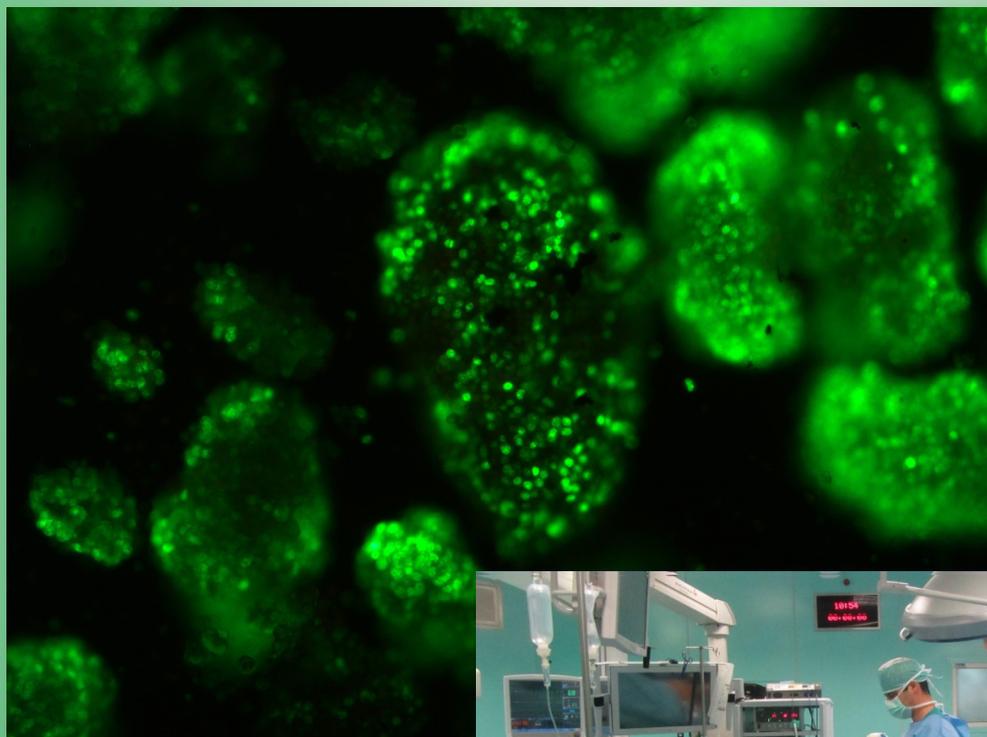


LE PROSPETTIVE FUTURE DELLA CURA DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 1



A cura del
GRUPPO DI STUDIO DIABETE TIPO 1 E TRANSIZIONE
ASSOCIAZIONE MEDICI DIABETOLOGI



LE PROSPETTIVE FUTURE DELLA CURA
DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 1

A cura del
GRUPPO DI STUDIO DIABETE TIPO 1 E TRANSIZIONE
ASSOCIAZIONE MEDICI DIABETOLOGI

GRUPPO DI STUDIO AMD DIABETE DI TIPO 1 E TRANSIZIONE

Composizione del gruppo

Coordinatore:

- Giuliana La Penna (Pescara)

Componenti:

- Federico Bertuzzi (Milano)
- Angela Girelli (Brescia)
- Laura Nigi (Siena)
- Francesca Pancani (Livorno)
- Marina Scavini (Milano)

Collaboratore esterno:

- Rita Stara (Cento, FE)

Referente CDN:

- Paola Ponzani (Chiavari, Ge)

*Dedicato a tutte le Persone
con Diabete tipo 1*

*“Nulla impedirà al sole di sorgere ancora,
nemmeno la notte più buia. Perché oltre
la nera cortina della notte c'è un'alba che
ci aspetta.”*

Khalil Gibran

Indice

Presentazione	7
PAOLO DI BARTOLO <i>Presidente AMD</i>	
Premessa	9
GIULIANA LA PENNA <i>Coordinatore Gruppo di Studio AMD Diabete Tipo 1</i>	
Il diabete instabile	11
GIULIANA LA PENNA, FEDERICO BERTUZZI, MARINA SCAVINI	
Definizione ed epidemiologia	11
Valutazione del paziente con diabete instabile	11
Presentazione clinica	11
Il diabete instabile nelle diverse fasi della vita	12
Il trattamento del diabete instabile	13
Quale trattamento insulinico?	13
Il ruolo degli infusori	14
Il trapianto di pancreas isolato	16
Il trapianto di isole pancreatiche	16
Algoritmo per il trattamento	17
Conclusioni	17
Bibliografia	18
Il trapianto nella terapia del diabete mellito di tipo 1	20
FEDERICO BERTUZZI	
Il trapianto di pancreas	20
Il trapianto di isole	21
La terapia immunosoppressiva	22
Le indicazioni al trapianto	23
Isole incapsulate	24
Il sito di impianto	24
Lo xenotrapianto	25
Bibliografia	27

Le cellule staminali nel diabete mellito di tipo 1	29
VALERIA SORDI	
Cellule staminali pluripotenti	29
Differenziazione in vitro e in vivo di cellule b: efficacia	30
Immunogenicità del Graft	30
Sicurezza della terapia cellulare con PSC	31
Conclusioni	32
Bibliografia	33
La immunoterapia	35
CATERINA FORMICHI, LAURA NIGI, FRANCESCO DOTTA	
Immunoterapia nei soggetti predisposti	36
Immunoterapia nei pazienti all'esordio clinico della malattia	38
Immunoterapia dopo anni di malattia	40
Bibliografia	41
La Voce delle associazioni	44
RITA STARA	
Appendice	45
FEDERICO BERTUZZI	
1) Lista dei centri di trapianto di pancreas attivi in Italia	45
2) Lista dei centri di trapianto di isole attivi in Italia	46
3) Consenso informato per i pazienti candidati all'allotrapianto di isole isolato in diabete instabile	47
4) Consenso informato per i pazienti candidati all'allotrapianto di isole in pazienti già in terapia immunosoppressiva	54
5) Check list per eventuale indicazione alla immunoterapia	61
6) Accertamenti relativi all'inserimento in lista di attesa per allotrapianto di isole	62

Presentazione

Quasi quotidianamente noi clinici riceviamo la domanda: “Dottore cosa c’è di nuovo, cosa bolle in pentola, riuscirò a vedere il giorno nel quale sarà finalmente disponibile una soluzione definitiva per il mio diabete?”.

Rispondere a questa domanda non è facile per chi si trova impegnato in prima linea in servizi di diabetologia territoriali o ospedalieri ove la missione è quella di offrire la migliore qualità di cura e di vita alle persone con diabete di tipo 1.

Di fronte ad una nostra esitazione nella risposta, quello che non raramente accade è che il paziente in autonomia si metta alla ricerca di una soluzione, “frugando” nel web o attraverso il passa parola, ascoltando voci e messaggi portati da amici, parenti o altre persone con diabete. Questa situazione porta le persone a perdere spesso la capacità critica di valutazione della scientificità, dell’efficacia e della sicurezza delle soluzioni trovate in autonomia. Per i nostri pazienti cadere in tranelli, trappole, vedere poi fallire le proprie aspettative e la fiducia nel domani è in queste condizioni purtroppo molto probabile.

Per questo AMD ha chiesto al gruppo Diabete di tipo 1 di fare il punto su questo tema. Abbiamo coinvolto colleghi che hanno il privilegio e il merito di operare in centri all’avanguardia nella trapiantologia, nella terapia cellulare, nello studio di “possibili” soluzioni da cellule staminali, nelle immunoterapie. Questi colleghi hanno descritto per noi clinici, ma anche per i pazienti più curiosi, cosa bolle in pentola oggi nel nostro Paese. Quali soluzioni e in quali Istituti trovare risposte attendibili.

Siamo certi che la lettura di questo “manuale” risulterà utile e piacevole. Finalmente e facilmente noi potremo dare appropriate risposte alle lecite domande ed aspettative dei nostri pazienti. Potremo accogliere i quesiti, comprendendo come questi siano legittimi, e pur consapevoli di quanto 100 anni di storia e conoscenza in tema di terapia insulinica (1921-2021) abbiano impattato straordinariamente sulla durata e sulla qualità di vita dei nostri pazienti, potremo raccontare un’altra storia, potremo rendere consapevoli i nostri pazienti degli straordinari passi fatti dalla scienza diabetologica. Potremo onestamente spiegare cosa ancora manca e in quale direzione ci muoveremo nella ricerca di una soluzione biologica. Insomma, abbiamo uno strumento in più per mantenere viva la speranza per un futuro più roseo del presente che già così rosa a noi appare.

Paolo Di Bartolo

Presidente Associazione Medici Diabetologici

Fin dall'antichità era nota una condizione in cui i pazienti erano affetti da una sete invincibile ed erano costretti ad urinare continuamente, avevano sempre fame eppure perdevano peso, e morivano inesorabilmente nell'arco di breve tempo. Il medico greco Areteo di Cappadocia fu il primo a definirla **diabete** (dalle parole dia=attraverso e bainein = passare, riferendosi alla frequente necessità di urinare) **mellito**, cioè dolce, in quanto l'urina di questi pazienti era dolce: l'assaggio dell'urina era l'unico mezzo per i medici del tempo di formulare la diagnosi di questa malattia.

Oggi anche se viviamo in un mondo continuamente trasformato dalle scoperte scientifiche, molte persone mostrano disinteresse, se non addirittura diffidenza, nei confronti della scienza. Comprendere le idee che stanno dietro alle moderne scoperte non è né facile né immediato. Eppure certe scoperte meritano di essere conosciute soprattutto quelle che hanno cambiato la vita di milioni di persone. Nel campo della medicina, un evento di enorme importanza è stata la **scoperta dell'insulina**, grazie alla quale i diabetici in tutto il mondo hanno potuto e possono condurre una vita "quasi" normale.

La terapia insulinica ha rivoluzionato il trattamento e la storia naturale del diabete mellito. Dalla scoperta dell'insulina nel 1921 ad oggi la frontiera del trattamento è stata più volte superata. Gli analoghi dell'insulina, rapidi o basali, rappresentano attualmente strumenti importanti per superare le barriere di una terapia insulinica basal-bolus ottimizzata.

La terapia insulinica a oggi rimane una pietra miliare del trattamento della patologia diabetica. Nelle ultime decadi, lo sviluppo delle tecniche farmaceutiche ha permesso di ottenere molecole sempre più efficaci e sicure, formulando insuline a breve durata di azione ("analoghi ultra-rapidi") e a lunga durata di azione ("insuline basali" o "analoghi long-acting"). Le modificazioni farmacoci-

netiche e farmacodinamiche hanno permesso di ottenere insuline con profilo di azione piatto durante la giornata, migliore riproducibilità giorno per giorno, ridotto rischio di ipoglicemie notturne e durata di azione più prolungata.

Ma nell'ultimo decennio l'avanzamento dei mezzi informatici e della tecnologia ha permesso di migliorare ulteriormente e drasticamente la qualità di vita dei pazienti affetti da T1D. Il trattamento insulinico mediante microinfusore sottocutaneo infatti (Continuous subcutaneous insulin infusion – CSII), oltre a permettere maggiore flessibilità terapeutica, è stato dimostrato essere in grado di ridurre la frequenza degli episodi di ipoglicemia grave e la progressione delle complicanze a lungo termine del diabete, rispetto alla classica terapia insulinica multi-iniettiva. La cosiddetta "sensor-augmented pump (SAP) therapy", che consiste nel posizionamento di CSII abbinato a monitoraggio in continuo della glicemia interstiziale (continuous glucose monitor – CGM), è considerata a oggi il gold standard terapeutico nel T1D ed è risultata essere in grado non solo di ridurre sia la durata che la gravità degli episodi ipoglicemici, ma, in alcuni casi, addirittura di prevenirli, sulla base dell'andamento glicemico. Oggi lo sviluppo dei sistemi di CGM sta avanzando rapidamente, perfezionando la funzionalità dei sensori, gli algoritmi e i sistemi di integrazione con la pompa insulinica, allo scopo di ottenere un sistema ad ansa chiusa e la creazione del cosiddetto pancreas artificiale, che oggi è già una realtà.

Ma per i pazienti che non raggiungono un buon controllo glicometabolico con le nuove terapie e tecnologie, o in cui insorgono a seguito di queste ultime effetti indesiderati che impattano la qualità della vita, un'ulteriore opzione terapeutica è rappresentata dal **trapianto di pancreas o di isole pancreatiche** per ripristinare la produzione di insulina.

Il sogno dei pazienti è infatti quello di non sentirsi più diabetici e il passaggio dal microinfusore

al pancreas artificiale rappresenta già la realizzazione di questo sogno. Ma al raggiungimento di tale obiettivo stanno oggi contribuendo sia la rapidissima crescita delle conoscenze sia la possibilità di utilizzare la sostituzione biologica delle betacellule per normalizzare la glicemia. Quindi dal *'pancreas artificiale'* autonomo in grado di rilasciare non solo insulina ma anche altri ormoni che regolano la glicemia, come il glucagone, alle staminali indotte, ovvero riprogrammate per differenziarsi in cellule che producono insulina e impiantate senza l'utilizzo di immunosoppressione, fino ad algoritmi e sistemi di intelligenza artificiale. Altra frontiera è la terapia genica, il cosiddetto editing genetico. Questi gli scenari futuri nella cura del diabete che saranno "a nostra disposizione" in un prossimo futuro.

Ma i Trapianti di Pancreas e di isole pancreatiche sono già oggi una realtà: negli ultimi anni

la ricerca scientifica ha portato allo sviluppo di approcci terapeutici innovativi promettenti, consentendo di avvicinarsi sempre più allo sviluppo di una cura per il diabete di tipo 1 e lo scopo del Gruppo di Studio AMD Diabete Tipo 1 è stato proprio quello di mettere a disposizione dei diabetologi e pazienti un manuale con tutte le informazioni relative alle terapie e ai Centri che nel nostro Paese sono specializzati in "trapianti di isole o di pancreas", terapia che desta tanto interesse ma soprattutto rappresenta la speranza dei nostri pazienti per un futuro migliore.

Il mio ringraziamento va a tutti gli autori ed in modo particolare agli Scienziati che con competenza, passione e dedizione si impegnano affinché i nostri pazienti possano abbandonare le terapie tradizionali per il diabete di tipo 1 e a liberare chi è affetto da questa patologia dalla schiavitù e dai problemi correlati al deficit insulinico.

Il Diabete instabile

Giuliana La Penna / UOC Endocrinologia e Malattie Metaboliche, ASL Pescara

Federico Bertuzzi / SSD Diabetologia Ospedale Niguarda, Milano

Marina Scavini / Diabetes Research Institute, IRCCS, Ospedale San Raffaele di Milano

Definizione ed epidemiologia

Spesso il diabetologo incontra nello svolgimento della sua attività clinica pazienti con diabete di tipo 1 che hanno estrema difficoltà a raggiungere e mantenere nel tempo un accettabile controllo glicemico⁽¹⁾. La maggior parte di questi casi di diabete, di difficile controllo, è dovuta a errori del paziente nell'autocontrollo, nella gestione della terapia o a una scarsa informazione ricevuta dal curante, se non addirittura a schemi di terapia insulinica non corretti⁽²⁾.

Esiste tuttavia un sottogruppo di diabetici caratterizzati da una grave instabilità dei valori glicemici con frequenti e imprevedibili episodi ipoglicemici e/o chetosi o chetoacidotici che non possono essere spiegati con errori del paziente o del diabetologo⁽³⁻⁴⁾. L'instabilità glicemica si riflette pesantemente sulla qualità di vita dei pazienti, per l'impatto sulla vita sociale, lavorativa e familiare, di frequenti eventi acuti e dei numerosi ricoveri ospedalieri, ma anche per la possibile comparsa precoce di complicanze croniche. Questa condizione clinica è stata definita "diabete instabile" (brittle diabetes per gli anglosassoni)⁽³⁻⁶⁾, un termine introdotto nel 1930 da Woodyatt. Colpisce circa 3/1000 pazienti diabetici di tipo 1, principalmente giovani donne, ma la stima precisa della percentuale di pazienti con diabete instabile è difficile, soprattutto perché i criteri diagnostici non sono univoci⁽³⁻⁵⁾.

Valutazione del paziente con diabete instabile

Nella valutazione di un diabete instabile è necessario escludere patologie che possono interferire con il controllo della glicemia, quali deficit surrenalici o ipofisari, distiroidismi, disturbi alimentari, gastroparesi e in generale altre situazioni organiche caratterizzate da stress metabolico⁽⁶⁾.

Infine, l'iter diagnostico nel caso di diabete di tipo 1 di difficile compenso dovrebbe includere il dosaggio di anticorpi anti-insulina che, legandosi rapidamente all'insulina, possono prevenire o ritardare la sua interazione con il recettore, potendo altresì provocare ipoglicemie anche gravi legate all'improvviso rilascio di importanti quantità di insulina dal pool anticorpale⁽⁷⁾. Malgrado tutte queste valutazioni e considerazioni, per un limitato sottogruppo di pazienti la grave instabilità glicemica risulta comunque inspiegabile. Alcuni tentativi di studiare in questi pazienti l'assorbimento del glucosio, la degradazione insulinica nel sito di iniezione, la secrezione di glucagone, delle catecolamine, dell'ormone della crescita e la chetogenesi non hanno portato a individuare una base patogenetica convincente^(7, 8). Tuttavia, la totale assenza di secrezione insulinica residua documentata dall'assenza di C-peptide rappresenta una costante in questo sottogruppo di pazienti, elemento in grado di spiegarne almeno alcune delle caratteristiche quali, per esempio, la facilità alla chetosi⁽⁹⁾. Sono state anche dimostrate relazioni tra diabete instabile e la giovane età⁽³⁾ o fattori psicosociali, come problemi scolastici o lavorativi⁽¹⁰⁾. Infine, una certa labilità emotiva è ritenuta interferire significativamente con il controllo dei valori glicemici⁽¹¹⁾.

In alcuni casi si è riconosciuta addirittura un'instabilità factitia, secondaria cioè a una consapevole mal gestione della propria terapia insulinica da parte del paziente⁽¹²⁾ allo scopo di ottenere maggiori attenzioni da parte del team diabetologico, dei familiari, o dell'ambiente scolastico o lavorativo.

Presentazione clinica

L'instabilità dei valori glicemici si traduce in valori glicemici a digiuno e postprandiali imprevedi-

bili e variabili, con conseguente innalzamento dei valori di emoglobina glicosilata, con valori medi riportati in letteratura di 11-14%^(6, 10). [ma non sempre perché se il paziente ha molte ipoglicemie l'HbA1c potrebbe essere falsamente non elevata...].

Le complicanze più frequenti sono rappresentate da episodi di chetoacidosi che interessano circa 6 su 10 pazienti con diabete instabile, di ipoglicemia grave 2 su 10 pazienti, e di chetoacidosi alternata con gravi crisi ipoglicemiche 2 su 10 pazienti⁽³⁾. La chetoacidosi è più frequente nei giovani, mentre le forme miste o a prevalenti eventi di ipoglicemia sono più tipiche nei pazienti anziani⁽¹³⁾. Episodi di ipoglicemia ripetuti possono condurre il paziente a non aver più percezione dell'abbassamento dei valori glicemici (ipoglicemia non avvertita o con il termine anglosassone di hypoglycemia unawareness)⁽¹⁴⁾: questa è una complicanza drammatica per il paziente che perde progressivamente la sua autonomia, con scadimento della qualità di vita. Il paziente ha paura di restare solo perché teme di avere episodi di ipoglicemia senza avvertirli e perciò senza poter attuare le manovre terapeutiche appropriate, fino al coma e anche al decesso. Sono stati effettuati studi retrospettivi sulla morbilità e mortalità di pazienti con diabete instabile. I dati riportano una tendenza in alcuni pazienti a diventare più stabili nel corso degli anni, ma si registrano anche una aumentata mortalità, un'accelerata insorgenza di complicanze microvascolari e di complicanze durante la gravidanza, insieme con una scaduta qualità di vita⁽¹⁵⁾. L'assistenza di questi pazienti è spesso molto onerosa in termini di tempo e risorse, e le loro vite sono costantemente a rischio per le complicanze acute agli estremi dello spettro glicemico. La gestione può anche essere frustrante e demoralizzante per tutte le persone coinvolte, il paziente, la famiglia e il team diabetologico. L'adozione di un approccio di squadra, che coinvolge un'ampia gamma di discipline, è essenziale per il trattamento di pazienti affetti da diabete instabile per aiutarli a raggiungere e mantenere un accettabile controllo glicemico e una accettabile qualità della vita.

Il diabete instabile nelle diverse fasi della vita

È documentato che il diabete instabile non è comune solo nelle giovani donne, ma anche negli anziani e bambini.

Susan J Benbow⁽¹³⁾ ha fornito informazioni su un gruppo di pazienti, 55, prevalentemente donne con diabete fragile e con età media di circa 74 anni, durata del diabete di 24 anni, riferendo sulla loro instabilità glicemica della durata di circa 9 anni. Questi pazienti avevano una instabilità glicemica mista, caratterizzata sia da ripetuti episodi di chetoacidosi sia da ipoglicemie ricorrenti. Le cause sono state identificate nelle cure mediche inadeguate, nelle ipoglicemie non avvertite, nella memoria deficitaria o in cause comportamentali quali depressione e volontà di omettere l'insulina. Quasi tutti erano in trattamento con insulina basal bolus o premiscelate, solo 2 con CSCII. A loro è stato somministrato un questionario e dai risultati si evince che il diabete fragile negli anziani esiste ed è problematico. Da sottolineare che 2 pazienti erano in trattamento con CSCII in quanto altri schemi di terapia insulinica avevano fallito, ma tale sistema di somministrazione insulinica è problematico negli anziani, infatti raramente usato dagli stessi. Inoltre la maggior parte aveva una forma di instabilità di tipo mista caratterizzata sia da chetoacidosi che da ipoglicemie contrariamente ai giovani con diabete instabile ove la DKA ricorrente è la forma più comune di instabilità. Inoltre gli autori hanno notato che tutti questi pazienti avevano anche altre malattie croniche e alcuni erano socialmente isolati, condizione che pesa molto nella gestione del diabete. Malattie coesistenti e fattori sociali possono pertanto influenzare cure e controllo del diabete nell'anziano e la mortalità dovuta allo scompenso è più alto negli anziani rispetto ai giovani.

Per quanto riguarda i giovani Nylander⁽¹⁷⁾ ha voluto indagare sull'associazione tra gestione e controllo del diabete nei ragazzi di età compresa tra 12 e 18 anni con una durata del diabete di oltre 2 anni. Sono stati somministrati questionari su valutazione comportamentale, deficit di attenzione, iperattività, scala di valutazione ADHD-RS e fattori di tipo demografico e i dati sono stati raccolti dal SWEDIABKIDS. Sono stati valutati problemi di gestione, HbA1c, la frequenza delle visite ambulatoriali e l'attività fisica svolta. Una gestione non corretta si associava ad una media di glicata di oltre 70 mmol (8.5%) e alla necessità pertanto di più visite ambulatoriali, alla bassa attività fisica ed era prevalente nelle ragazze. I proble-

mi di gestione comportano uno scarso controllo metabolico negli adolescenti con diabete di tipo 1, pertanto questi ragazzi devono essere particolarmente attenzionati dall'equipe diabetologica e la cura del diabete deve essere organizzata al fine di fornire un supporto adeguato.

Il trattamento del diabete instabile

Il trattamento elettivo per il diabete instabile rimane il trattamento insulinico intensivo e uno specifico percorso educativo volto all'acquisizione da parte del paziente della conoscenza dei meccanismi che regolano la glicemia e delle strategie per il suo controllo⁽⁴⁾. Il cardine dell'approccio terapeutico è rappresentato da una stretta interazione tra paziente e team diabetologico, con l'obiettivo di individuare i fattori che più significativamente influiscono sulla variabilità della glicemia e di impostare un piano terapeutico ben definito e adattato alla routine quotidiana del paziente. È fondamentale inoltre una consulenza dietetica per personalizzare la dieta alle abitudini del paziente e, considerando un possibile ruolo dei fattori emotivi nell'instabilità glicemica, una valutazione psicologica. Questi pazienti necessitano di frequenti ammissioni alle strutture diabetologiche come day hospital, ma anche, in maniera sporadica, di veri e propri ricoveri ospedalieri in reparti specialistici.

Quale trattamento insulinico?

Sono stati proposti diversi schemi di trattamento insulinico. I più utilizzati ed efficaci pongono iniezioni multiple con insuline a diversa velocità di assorbimento⁽¹⁸⁾. Dalla scoperta dell'insulina nel 1921 ad oggi, e siamo a 100 anni dalla scoperta dell'insulina, sono stati raggiunti importanti traguardi in grado di segnare una svolta non solo sulle conoscenze dei meccanismi alla base dell'insorgenza e progressione del diabete di tipo 1 (T1D) ma in particolare nelle prospettive terapeutiche del diabete. La disponibilità di nuove formulazioni insuliniche (analoghi rapidi e lenti) ottenute con tecniche avanzate quali DNA ricombinante e ingegneria biogenetica, così

come la sperimentazione di nuovi dispositivi in grado di modificare la somministrazione insulinica in modo automatico, in relazione alle esigenze istantanee del paziente, e in particolare i progressi nel campo delle cellule staminali, rappresentano nuove prospettive terapeutiche sempre più vicine e attuabili nella cura quotidiana del paziente con T1D. Nel corso degli anni si è assistito ad una ampia sostituzione delle insuline umane con insulina biosintetica umana in grado di mimare sempre più fedelmente le variazioni insuliniche riscontrate nelle 24 ore in soggetti non diabetici. Gli analoghi si differenziano dall'insulina umana per la sostituzione di residui amminoacidici della molecola dell'insulina che conferisce alla nuova molecola un più rapido o tardivo assorbimento. In particolare, gli **analoghi rapidi** si caratterizzano per un più rapido assorbimento, con inizio d'azione già dopo 5-15 minuti dalla somministrazione sottocutanea, un picco d'azione dopo 30-90 minuti e durata d'azione di sole 4-6 ore⁽¹⁹⁾. Tali caratteristiche non solo permettono di somministrare gli analoghi rapidi pochi minuti prima dei pasti ma ne garantiscono l'efficacia anche se somministrati dopo l'assunzione del pasto. L'utilizzo di analoghi rapidi inoltre è associato ad una riduzione nel numero degli episodi di ipoglicemia e a un maggior controllo dei valori di glicemia nelle ore immediatamente dopo il pasto, tuttavia con modici effetti sui livelli dell'emoglobina glicata. Nel corso degli anni, ulteriori bisogni sono emersi utilizzando gli analoghi stessi, grazie all'esperienza documentata della real life⁽²⁰⁾. A confrontare le cinetiche dell'insulina endogena con quella dell'analogo rapido, l'assorbimento dal sito d'iniezione era ancora troppo lento rispetto alla fisiologica secrezione d'insulina caratterizzata da un primo picco precoce o prima fase di secrezione insulinica (5 minuti) e un secondo picco meno pronunciato ma più prolungato. Quindi è stato auspicabile la possibilità di anticipare e incrementare la disponibilità di insulina in circolo affinché i diversi meccanismi di controllo della PPG siano garantiti. Lo scenario a questo punto si è aperto su nuove molecole come le **insuline ultrarapide** che, in base alle evidenze disponibili sembrerebbero favorire un miglior controllo della PPG. I nuovi **analoghi lenti** si caratterizzano per la loro durata d'azione e la minor variazione della quan-

tità di insulina presente in circolo nelle ore successive alla somministrazione. In particolare, gli analoghi lenti si caratterizzano per una maggiore durata d'azione, di circa 24 ore e per l'assenza di un vero e proprio picco di concentrazione plasmatica dopo la somministrazione. Inoltre studi preliminari documentano una riduzione degli episodi di ipoglicemia⁽²¹⁾, specialmente durante le ore notturne, e un effetto positivo sul peso corporeo. Tuttavia, l'utilizzo di tali analoghi non sembra influenzare i livelli dell'emoglobina glicata. Sebbene l'introduzione di nuovi analoghi rapidi e lenti appaia fornire promettenti risultati nella terapia del diabete mellito, bisogna considerare che, in alcuni pazienti, al peso psicologico di una malattia cronica e con potenziali complicanze si aggiunge l'avversione per le iniezioni, legata sia alla loro frequenza, sia al reperimento di siti diversi dove praticarle, sia al dolore o all'imbarazzo di doverla fare fuori casa. Per tali motivi la ricerca ha rivolto la propria attenzione verso la formulazione di nuove molecole insuliniche somministrabili per vie alternative e meno invasive. In particolare, la somministrazione di **insulina per via orale** rappresenta un'affascinante prospettiva in corso di valutazione negli ultimi anni. Tuttavia, ulteriori studi risultano necessari al fine di confermare la validità di tale via di somministrazione e la reale applicabilità clinica nella popolazione con diabete mellito.

Il ruolo degli infusori

In caso di difficile controllo dei valori glicemici con iniezioni sottocutanee si deve valutare la fattibilità dell'utilizzo degli infusori insulinici sottocutanei⁽²²⁾. L'infusione insulinica continua sottocutanea mediante pompa rimane il miglior approccio al controllo glicemico nello stato post-assorbitivo⁽²²⁾. È provato che l'infusione sottocutanea di insulina tramite microinfusori è in grado di migliorare il compenso glicometabolico rispetto alle iniezioni multiple: i dati riportano un miglioramento della emoglobina glicosilata e della glicemia media, per lo più nella prevenzione del fenomeno alba (iperglicemia prima della colazione), ma soprattutto una riduzione degli epi-

sodi ipoglicemici⁽²²⁾. Non vi sono sostanziali benefici invece per quei pazienti con diabete instabile caratterizzati da episodi di chetoacidosi. In ogni caso è una procedura proponibile solo a pazienti motivati e capaci di gestire con precisione la terapia, con alti costi. L'aumento della diffusione dei microinfusori è una prova sostanziale del loro successo, apprezzati soprattutto da chi chiede una grande flessibilità nella gestione della terapia.

Molto promettenti sono i microinfusori impiantabili intraperitoneali di ultima generazione⁽²³⁾. Uno studio multicentrico francese su più di 200 pazienti (EVADIAC Study Group) con un follow up medio di 1,5 anni ha dimostrato che l'infusione insulinica intraperitoneale è fattibile, gravata da pochi effetti collaterali (solo il 5% dei pazienti abbandonò la terapia) e in grado di assicurare un miglioramento del controllo metabolico e una maggior stabilità glicemica⁽²⁴⁾. Tuttavia gli infusori impiantabili sono stati abbandonati dalle aziende produttrici per problemi di liability, ovvero il rischio di cause legali in caso di malfunzionamento. Un approccio possibile è quello di utilizzare un microinfusore esterno per somministrare insulina in peritoneo attraverso un accesso intraperitoneale permanente (Diaport).

Lo sviluppo delle tecniche di infusione insulinica è stato affiancato da quello relativo ai sistemi di misurazione continua dei valori glicemici^(25, 26) i sensori per la rilevazione continua delle variazioni della concentrazione di glucosio nell'interstizio cellulare, in equilibrio con quelle plasmatiche. Nelle persone affette da diabete di tipo 1 l'uso di un dispositivo per il monitoraggio continuo del glucosio in tempo reale (rtCGM) può aiutare a migliorare il controllo della glicemia, sia che si utilizzino una pompa per insulina o iniezioni multiple giornaliere (MDI) di insulina.

I dati a 3 anni dello studio COMISAIR (Comparison of Different Treatment Modalities for Type 1 Diabetes Including Sensor-Augmented Insulin Regimens)⁽²⁷⁾, il trial più lungo con dispositivi di monitoraggio continuo del glucosio, ha mostrato che il CGM in tempo reale era superiore all'automonitoraggio glicemico, (SMBG o fingerstick, il prelievo di sangue

dal polpastrello) almeno quattro volte al giorno, nel ridurre l'emoglobina glicata (HbA1c) nei pazienti che utilizzavano tanto le pompe insuliniche quanto iniezioni giornaliere multiple di insulina, due modalità di somministrazione che hanno dato risultati tra loro molto simili. Solo il gruppo rtCGM ha avuto miglioramenti nel time in range (la percentuale di tempo che il soggetto trascorre all'interno dell'intervallo glicemico ottimale) e ha ridotto il time below range (la percentuale di tempo in ipoglicemia), inoltre meno pazienti nel gruppo rtCGM hanno manifestato episodi ipoglicemici gravi.

Il progressivo perfezionamento dei microinfusori e dei sensori continui della glicemia ha gettato le basi per lo sviluppo di un sistema integrato (closed-loop) in grado di infondere automaticamente insulina in relazione alle concentrazioni glicemiche rilevate dal sensore glicemico. Il closed-loop è, in effetti, un pancreas artificiale⁽³⁴⁾ costituito da un sensore glicemico, che rileva i livelli di glicemia e da un microinfusore di insulina che permette di somministrare in modo continuo insulina. Sulla base di tale sistema l'insulina somministrata viene calcolata automaticamente da un calcolatore in relazione alla glicemia del paziente. Oggi, questo sogno è diventato realtà.

La FDA ha recentemente autorizzato la commercializzazione dell'algoritmo di dosaggio automatico e interoperabile di insulina, il primo controller di dosaggio che può essere utilizzato con i vari dispositivi interoperabili per il diabete. La mossa è stata elogiata dagli esperti come parte di una nuova era della tecnologia del diabete.

È probabile che le ultime iterazioni di dispositivi per il diabete più diffusi – sensori più piccoli e di lunga durata per CGM, sistemi di somministrazione di insulina “più intelligenti” e strumenti avanzati di supporto decisionale che utilizzano la tecnologia dell'intelligenza artificiale – vengano implementati con maggiore frequenza con l'accelerazione del ritmo del cambiamento. La pandemia COVID-19 in corso, che ha spinto a fare affidamento quasi da un giorno all'altro sulla telemedicina per l'assistenza, è servita solo a sottolineare l'importanza della

tecnologia avanzata, secondo gli esperti; Gli endocrinologi, in particolare, ora guardano ai dispositivi per il diabete più che mai per aiutare i pazienti a gestire i livelli di glucosio e guidare il processo decisionale.

Anche il lavoro su un pancreas bionico⁽³⁵⁾ sta andando avanti. Nel dicembre 2019, la FDA ha concesso la designazione di dispositivo rivoluzionario al sistema pancreas bionico che è un dispositivo medico tascabile e indossabile progettato per controllare in modo autonomo i livelli di glucosio con un impatto sul corpo simile a una pompa per insulina. A differenza della terapia con microinfusore, tuttavia, il sistema sperimentale è progettato per consentire agli utenti di inserire solo il proprio peso corporeo affinché il pancreas bionico possa iniziare la terapia, senza la necessità di contare i carboidrati, impostare le velocità di somministrazione di insulina o somministrare bolo di insulina per pasti o correzioni.

Il pancreas bionico⁽³⁶⁾ è progettato per funzionare come tre dispositivi medici in uno. Può essere configurato come pancreas bionico solo insulina, pancreas bionico solo glucagone o pancreas bionico biormonale che utilizza insulina e glucagone.

Gli ultimi progressi, insieme al ritmo del cambiamento, hanno entusiasmato i ricercatori per ciò che potrebbe venire dopo. La tecnologia in grado di riconoscere quando una persona sta mangiando un pasto potrebbe alleviare ulteriormente il carico del diabete. A Stanford, Buckingham e Colleghi stanno conducendo uno studio pilota per esaminare se l'app Klue è efficace nel rilevare boli di pasti saltati o tardivi in pazienti con diabete di tipo 1. L'app è programmata su un Apple Watch e rileverà potenziali boli persi dal movimento della mano. Invierà avvisi di testo all'utente chiedendo se ha assunto la propria insulina.

“Sono stati fatti studi con Klue e un Apple Watch indossato sulla mano dominante, che riconoscerebbe il mangiare con circa tre gesti di movimento mano a bocca”. “Era accurato al 95% circa, con solo due o tre falsi positivi a settimana. Distingueva anche il bere dal mangiare o radersi o lavarsi i denti. Hanno riscontrato che i gesti delle mani precedevano l'aumento del glucosio di circa

12-18 minuti, quindi se questi movimenti della mano potessero attivare un bolo pre-pasto, anche prima che il glucosio aumenti, allora c'è una doppia conferma dei pasti e gli annunci dei pasti potrebbero non farlo essere necessario. Questo potrebbe portarci a un ciclo completamente chiuso”.

Le persone con diabete possono aspettarsi dispositivi che fanno ancora di più per ridurre il carico dei pazienti nei prossimi anni.

Parlare di un pancreas bionico, di un sistema di somministrazione di insulina completamente chiuso e di una medicina personalizzata con dispositivi per il diabete è eccitante, tuttavia tali progressi non saranno disponibili nell'immediato futuro, questi sono obiettivi a lungo termine e sono obiettivi meravigliosi, ciò che ci entusiasma è aumentare l'accesso ai dispositivi che già funzionano e che possano essere di aiuto anche ai pazienti con diabete instabile.

Il trapianto di pancreas isolato

L'opzione trapianto viene valutata quando le altre opzioni terapeutiche non hanno avuto successo.

I criteri di inclusione per il trapianto di pancreas isolato rappresentano un argomento controverso: come in tutti gli allotrapianti, viene richiesta una terapia immunosoppressiva che comporta una serie di effetti indesiderati, ed è inoltre un intervento di chirurgia maggiore, associato a una serie di complicanze chirurgiche quali trombosi intravascolari, infezioni e necessità di reinterventi⁽²⁸⁾. È chiaro che questo pone un profondo richiamo a un'attenta selezione dei pazienti che realmente possono beneficiare di un trapianto di pancreas isolato. Le indicazioni al trapianto di pancreas fornite dall'American Diabetes Association sono: 1) una storia di frequenti, acute e gravi complicanze metaboliche (ipoglicemia, iperglicemia, chetoacidosi) che richiedono una frequente attenzione medica; 2) problemi clinici ed emotivi con la terapia di insulina esogena così gravi da comprometterne la corretta fattività; 3) un sostanziale fallimento della terapia insulinica tradizionale nella prevenzione delle complicanze acute⁽²⁹⁾. Tra i criteri di esclusione si ricorda una riserva cardiovascolare insufficiente, una storia si-

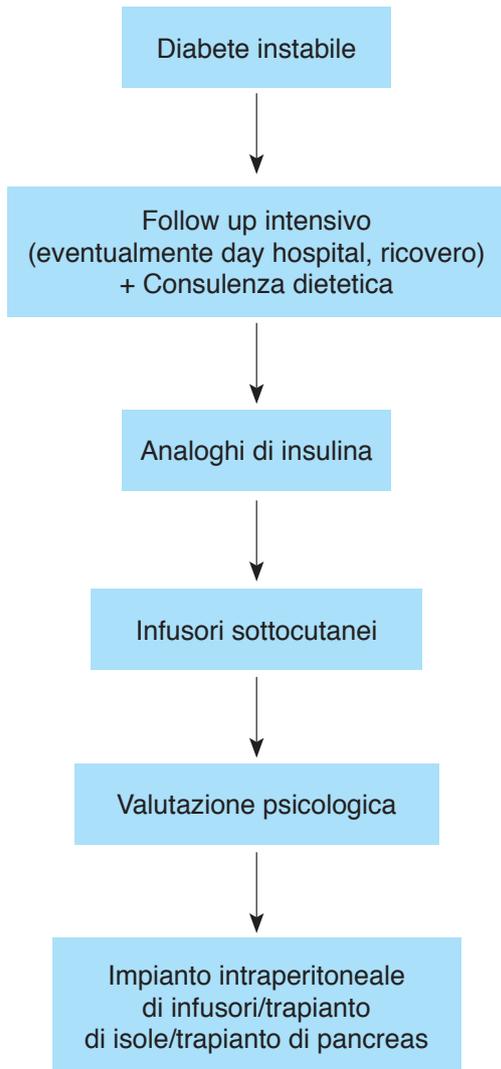
gnificativa di mancata compliance o di patologie psichiatriche, grave obesità, infezioni o neoplasie attive⁽³⁰⁾. Un paziente affetto da diabete di tipo 1 instabile che non presenti alcuno tra i criteri di esclusione, potrebbe pertanto, in casi selezionati, essere candidato a un trapianto di pancreas isolato, come ultima strategia dopo il fallimento di tutti i trattamenti convenzionali⁽³¹⁾.

Il trapianto di isole pancreatiche

L'American Diabetes Association non ritiene che per ora vi siano dimostrazioni scientifiche sufficienti per includere il trapianto di isole tra le opzioni terapeutiche, se non nell'ambito della ricerca scientifica⁽²⁹⁾. In realtà, diversi gruppi lo ritengono ormai una valida alternativa al trapianto di pancreas isolato e propongono un approccio integrato per il diabete instabile⁽³²⁾. Negli Standard Italiani per la cura del diabete mellito viene infatti indicato come opzione terapeutica alternativa al trapianto di pancreas isolato. In pazienti riceventi caratterizzati da un elevato fabbisogno insulinico e insulino-resistenza, il trapianto di pancreas potrebbe essere preferito a quello di isole, perché quest'ultimo richiederebbe una massa beta-cellulare troppo elevata. Viceversa, per pazienti con complicanze cardiovascolari o comunque con un compromesso stato generale tale da impedire un intervento di chirurgia maggiore, e nei pazienti già sottoposti a un precedente trapianto di pancreas con successiva perdita di funzione, il trapianto di isole appare più indicato. La scelta si porrebbe tra una procedura con un'aspettativa di successo elevata e duratura, ma gravata da un rischio più elevato di intervento (trapianto di pancreas) e una più semplice, gravata da minori complicanze, ripetibile, con minori aspettative di successo e durata, ma con risultati in progressivo miglioramento (trapianto di isole).

Il continuo progresso della ricerca scientifica e la disponibilità di tecniche di bioingegneria genetica rappresentano un elemento fondamentale nel trattamento dei pazienti con T1D aprendo promettenti prospettive terapeutiche per la cura quotidiana del paziente con diabete mellito.

Algoritmo per il trattamento del diabete instabile



Conclusioni

In un sottogruppo, fortunatamente numericamente limitato, di pazienti affetti da diabete di tipo 1 il controllo della glicemia risulta estremamente difficile, con frequenti episodi di chetoacidosi e ipoglicemie gravi, nonostante un attento autocontrollo da parte dei pazienti e una stretta collaborazione con il team diabetologico. La prognosi del diabete instabile, è gravata nell'immediato dalle frequenti complicanze acute e nel lungo termine dalla pressoché inesorabile comparsa delle complicanze croniche micro e macroangiopatiche. La terapia si fonda, come è ancor più che in ogni forma di diabete, sull'educazione, sul monitoraggio glicemico, sulla terapia intensiva e su una stretta interazione tra il paziente e il team diabetologico. La recente introduzione degli analoghi dell'insulina, sia ad azione ultrarapida, sia ad azione ultralenta, così come il miglioramento tecnologico dei microinfusori, e la diffusione dei sensori hanno significativamente migliorato la possibilità di trattamento nella maggioranza di questi pazienti. Esiste tuttavia una minoranza di pazienti refrattari anche a simili trattamenti, per i quali il trapianto di pancreas isolato o di isole pancreatiche è in grado di rappresentare oggi una reale opzione terapeutica con una ragionevole aspettativa di successo. L'indicazione ad un possibile trapianto deve essere condivisa tra il centro trapianti e lo specialista che ha in carico il paziente e che può certificare il grado di instabilità del diabete.

Bibliografia

1. Bertuzzi F, Verzaro R, Provenzano V, Ricordi R. Brittle Type 1 Diabetes Mellitus. *Curr. Med Chem* 14, 1739-1744, 2007
2. Morris AD, Boyle DI, McMahan AD, Greene SA, MacDonald TM, Newton RW. Adherence to insulin treatment, glycaemic control, and ketoacidosis in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 350, 1505-1510, 1997
3. Gill GV, Lucas S, Kent LA. Prevalence and characteristics of brittle diabetes in Britain. *QJM* 89, 839-843, 1996
4. Schade DS, Burge MR. Brittle diabetes: etiology and treatment. *Adv Endocrinol Metab* 6, 289-283, 1995.
5. M.C Vantighem, M. Press. Management strategies for brittle diabetes. *Am. Endocrinol*, 67, 287-296, 2006.
6. Schade DS, Drumm DA, Duckworth WC, Eaton RP. The etiology of incapacitating, brittle diabetes. *Diabetes Care* 8, 12-20, 1985
7. Schade DS, Eaton RP, Drumm DA, Duckworth WC. A clinical algorithm to determine the etiology of brittle diabetes. *Diabetes Care* 8, 5-11, 1985
8. Gill GV, Husband DJ, Walford S, Marshall SM, Home PD, Alberti KGMM. Clinical features of brittle diabetes. In: Pickup JC (Ed): *Brittle diabetes*. Blackwell Scientific, Oxford, 1985, p. 29- 40
9. Micossi P, Scavini M, Dosio F, Monti L, Piatti PM: Metabolic instability in type 1 diabetic patients. Studies on insulin absorption, hepatic production of metabolites and glucose counterregulation. *Acta Diabetol Lat* 22, 215-221, 1985
10. Tattersall R, Gregory R, Selby C, Kerr D, Heller S: Course of brittle diabetes: 12 year follow up. *BMJ* 302, 1240- 1243, 1991
11. Tattersall RB: Brittle diabetes revisited: the Third Arnold Bloom Memorial Lecture. *Diabet Med* 14, 99-110, 1997
12. Schade DS, Drumm DA, Eaton RP, Sterling WA. Factitious brittle diabetes mellitus. *Am J Med* 78, 777-784, 1985
13. Benbow SJ, Walsh A, Gill GV. Brittle diabetes in the elderly. *J R Soc Med* 94, 578-580, 2001
14. Bolli GB, Pampanelli S, Porcellati F, Fanelli CG: Recovery and prevention of hypoglycaemia unawareness in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Nutr Metab* 15, 402-409, 2002
15. Kent LA, Gill GV, Williams G: Mortality and outcome of patients with brittle diabetes and recurrent ketoacidosis. *Lancet* 344, 778-781, 1994
16. Voulgari C, Pagoni S, Paximadas S, Vinik AI, Brittleness in diabetes: easier spoken than broken. *Diabetes Technol Ther* 14, 835-848, 2012
17. Nylander C, Tindberg Y, Haas J, Swenne I, Torbjornsdotter T, Akesson K, Ortqvist E, Gustafsson J, Fernell E. Self-and parent-reported executive problems in adolescents with type 1 diabetes are associated with poor metabolic control and low physical activity, *Pediatric Diabetes*, 19, 98-105, 2018
18. Owens DR, Zinman B, Bolli GB: Insulins today and beyond. *Lancet* 358, 739-746, 2001
19. Bolli GB. Clinical strategies for controlling peaks and valleys: type 1 diabetes. *Int J Clin Pract Suppl* 129, 65- 74, 2002
20. DAFNE Study Group. Training in flexible, intensive insulin management to enable dietary freedom in people with type 1 diabetes: dose adjustment for normal eating (DAFNE) randomised controlled trial. *BMJ* 325, 746, 2002
21. Bolli GB, Porcellati F. Come trattare l'ipoglicemia e la sindrome dell'ipoglicemia unawareness. *L'Endocrinologo* 4, 187-197, 2003

22. Pickup J, Keen H: Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 25, 593-598, 2002
23. DeVries JH, Eskes SA, Snoek FJ, Pouwer F, Van Ballegooie E, Spijker AJ, Kostense PJ, Seubert M, Heine RJ: Continuous intraperitoneal insulin infusion in patients with "brittle" diabetes: favourable effects on glycaemic control and hospital stay. *Diabet Med* 19, 496-501, 2002
24. Gin H, Renard E, Melki V, Boivin S, Schaepleynck-Belicar P, Guerci B, Selam JL, Brun JM, Riveline JP, Estour B, Catargi B: EVA-DIAC Study Group: Combined improvements in implantable pump technology and insulin stability allow safe and effective long term intraperitoneal insulin delivery in type 1 diabetic patients: the EVADIAC experience. *Diabetes Metab* 29, 602-607, 2003
25. American Diabetes Association, Diabetes Technology: Standards of Medical Care in Diabetes - 2020, *Diabetes Care* 43(Suppl. 1) S77-S88, 2020.
26. Di Bartolo P, Gentile S, Grassi G, Iafusco D, Maran A. Nuove tecnologie nella cura del diabete: recenti sviluppi e prospettive future, Collana editoriale AMD, 2010.
27. Šoupal J, et al. Glycemic outcomes in adults with T1D are impacted more by continuous glucose monitoring than by insulin delivery method: 3 years of follow-up from the Comisair study. *Diabetes Care*. 43, 37-43, 2020.
28. Larsen J. Pancreas transplantation: indications and consequences. *Endocr Rev* 25, 919-946, 2004
29. ADA Position statement: pancreas transplantation in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 27, S105, 2004
30. Boggi U, Vistoli F, Gremmo F, Mosca F. Indicazioni ai trapianti di pancreas. In: Boggi U, Mosca F (Eds): *I trapianti di pancreas*. ETS, Pisa, 2001
31. Società Italiana di Diabetologia: Foglio informativo per le procedure di trapianto per la cura del diabete mellito. *Il Diabete* 14, 113-116, 2002
32. Sutherland DE, Gruessner A, Hering BJ: Beta-cell replacement therapy (pancreas and islet transplantation) for treatment of diabetes mellitus: an integrated approach. *Endocrinol Metab Clin North Am* 33, 135-148, 2004
33. Girelli A, Di Bartolo P. La terapia con microinfusore oggi: cosa considerare per una scelta appropriata dello strumento?, *Diabete-Rivista Media*, 18:102-108, 2018.
34. Nijhoff MF, de Koning EJ. Artificial pancreas or novel beta-cell replacement therapies: a race for optimal glycemic control? *Curr Diab Rep* 18, 110, 2018
35. El-Khatib FH, Balliro C, Hillard MA et al. Home use of a bihormonal bionic pancreas versus insulin pump therapy in adults with type 1 diabetes: a multicentre randomised crossover trial. *Lancet* 389, 369-380, 2017.
36. Blauw H, van Bon AC, Koops R, DeVries JH (on behalf of the PCDIAB consortium) Performance and safety of an integrated bihormonal artificial pancreas for fully automated glucose control at home. *Diabetes Obes Metab* 18, 671-677, 2016

Il trapianto nella terapia del diabete mellito di tipo 1

Federico Bertuzzi / SSD Diabetologia Ospedale Niguarda, Milano

Il trapianto di pancreas e il trapianto di isole rappresentano oggi due opzioni terapeutiche disponibili per i pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 in grado di ottimizzare il compenso glicemico senza necessità di insulina esogena. Non possono essere definiti la cura definitiva del diabete perché comunque hanno una durata limitata nel tempo e richiedono la somministrazione di farmaci immunosoppressori per evitare il rigetto e che possono essere gravati da severi effetti collaterali.

I benefici, i rischi, la durata e quindi l'indicazione al trapianto sono differenti nel caso di un trapianto di pancreas da quello di isole e nel caso di trapianto isolato o trapianto combinato con altri organi.

Il trapianto di pancreas

I primi trapianti di pancreas sono stati eseguiti più di 40 anni fa. Il trapianto di pancreas è un intervento di chirurgia maggiore a rischio di severe complicanze chirurgiche⁽¹⁾. Il pancreas è prelevato da un donatore cadavere di organi, selezionati in base a precisi criteri di inclusione ed esclusione, in modo da garantire la sicurezza della donazione senza il rischio di trasmissione di agenti infettivi o di patologie neoplastiche. L'organo prelevato viene assegnato ad un ricevente in base alla compatibilità del gruppo sanguigno, delle caratteristiche immunologiche (sistema HLA) e al tempo di permanenza in lista di attesa. In Italia tutte le procedure relative alla donazione degli organi e dei tessuti sono gestite e regolate dal Centro nazionale Trapianti su delega del Ministero della Salute (<http://www.trapianti.salute.gov.it/trapianti/homeCnt.jsp>). Il trapianto di pancreas può essere eseguito come singolo organo (in Italia circa 7% del numero di trapianti di pancreas) o più frequentemente in combinazione o dopo un al-

tro organo in caso di patologie combinate (93%): il caso più frequente è il trapianto combinato di pancreas e rene nei pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 e insufficienza renale terminale. Più di 50,000 trapianti di pancreas sono stati eseguiti nel mondo anche se negli ultimi anni il numero di trapianti di pancreas isolato è progressivamente diminuito.

L'intervento chirurgico è complesso e ci sono diverse tecniche chirurgiche. Il pancreas viene trapiantato insieme all'ansa duodenale in cui termina il dotto pancreatico. Nella tecnica di esecuzione del trapianto di pancreas le principali varianti riguardano la scelta del tipo di drenaggio venoso e di quello della secrezione esocrina. Si configurano le seguenti varianti tecniche:

- drenaggio sistemico-vescicale: la tecnica prevede il deflusso venoso del pancreas nel sistema cavale mediante anastomosi con la vena iliaca comune o esterna (drenaggio sistemico) e drenaggio pancreatico in vescica, permettendo il monitoraggio della funzione pancreatica mediante dosaggio dell'amilasuria, (oggi poco usato per problemi infiammatori vescicali).
- drenaggio sistemico-enterico: oltre al drenaggio sistemico venoso, prevede un drenaggio del pancreas esocrino nell'intestino (ileo o digiuno), riducendo la comparsa di cistiti.
- drenaggio portale-enterico: la vena pancreatica viene anastomizzata con la vena mesenterica del ricevente (drenaggio portale). Il drenaggio pancreatico avviene invece nell'intestino tramite anastomosi del moncone duodenale con la parete intestinale del ricevente. Questa tecnica permette vantaggi metabolici (normoinsulinemia vs iperinsulinemia delle tecniche con drenaggio sistemico) e immunologici con riduzione del rischio di rigetto.

L'intervento è complicato da alcune complicanze chirurgiche che portano alla necessità di un re-intervento riportato in alcuni centri fino nel

25% dei pazienti. Le principali sono: l'emoperitoneo, la pancreatite, la trombosi vascolare precoce, la fistola pancreatiche, le deiscenze anastomotiche, gli pseudoaneurismi, le infezioni intra-addominali, rare fistole arterovenose^(2, 3). Il successo del trapianto si può valutare in termini di sopravvivenza del paziente e sopravvivenza dell'organo. I dati in letteratura sono differenti a seconda che si parli di trapianto di pancreas isolato o di pancreas e rene. I tassi di sopravvivenza dei pazienti sono ormai al 96% a 1 anno e l'80% a 5 anni post-trapianto⁽³⁾. La piena funzione del pancreas definita come insulino-indipendenza è nel caso di trapianto combinato di pancreas e rene 89% ad 1 anno e 71% a 5 anni, mentre scende nel caso di pancreas isolato a 82% ad 1 anno e 58% a 5 anni. È ben noto che l'esperienza del chirurgo e del centro di trapianto hanno un ruolo molto importante nel successo del trapianto raggiungendo nei centri migliori percentuali significativamente più alte⁽⁴⁾.

La funzione del trapianto di pancreas sia isolato che combinato ha una serie di effetti positivi sul ricevente secondari al migliorato controllo glicemico⁽⁵⁾. Nel caso di trapianto di pancreas combinato è stato riportato un aumento significativo della aspettativa di vita rispetto ai pazienti rimasti in lista di attesa o che sono stati sottoposti a solo trapianto di rene. Per il trapianto combinato l'aspettativa di vita è riportata essere circa di 23 anni in caso di trapianto di pancreas e rene e di 13 anni circa quando si trapianti solo rene da donatore cadavere. In questo senso il trapianto di pancreas combinato può essere definito come trapianto salvavita. Nel caso di trapianto isolato i dati sono più controversi per cui sono necessari ulteriori studi scientifici. Numerosi sono i dati che indicano un effetto positivo sia del trapianto isolato che combinato sull'andamento delle complicanze croniche del diabete e sul metabolismo dei riceventi^(6,7). Il trapianto di pancreas, nelle sue varie accezioni, ripristina la secrezione endogena di insulina e i meccanismi della sua regolazione, normalizzando stabilmente e nel lungo periodo i valori glicemici e l'emoglobina glicata, nonché eliminando il rischio di ipoglicemie. Vengono anche ripristinati la secrezione di glucagone e, almeno in parte, il sistema della contro-regolazione insulinica. La produzione epatica di glucosio si normalizza, il profilo lipidico migliora e si hanno effetti positivi sul metabolismo proteico.

L'effetto del trapianto di pancreas sulle complicanze croniche del diabete non è semplice da definire, in quanto nei pazienti sottoposti a trapianto il danno vascolare è spesso avanzato⁽⁷⁾. Tuttavia, negli studi con follow-up sufficientemente prolungato, è stato osservato che la retinopatia tende a regredire o almeno a stabilizzarsi in una percentuale elevata di casi. Le lesioni tipiche della nefropatia diabetica (alterazioni glomerulari, ispessimento delle membrane, proliferazione dell'interstizio) possono regredire a distanza di 5-10 anni dal trapianto di pancreas, e la proteiuria si riduce significativamente e in tempi brevi dopo il trapianto. È tuttavia da tener presente che alcuni farmaci immunosoppressori (in particolare gli inibitori della calcineurina) sono nefrotossici e se non ben gestiti e mantenuti a concentrazioni ben definite possono contrastare i benefici del trapianto a livello renale. Anche la neuropatia autonoma e quella sensitivo-motoria possono migliorare dopo trapianto di pancreas.

Il trapianto di isole

Si definisce trapianto di isole la infusione per via transepatica percutanea di isole pancreatiche, le unità funzionali deputate alla produzione di insulina. Le isole vengono estratte da un pancreas di donatori d'organo selezionato con criteri meno restrittivi rispetto a quelli per un pancreas in toto. Il trapianto nel paziente rappresenta l'ultima fase di una procedura che ha inizio con l'isolamento e la purificazione delle isole pancreatiche dalla componente esocrina di un pancreas e termina con la caratterizzazione della qualità delle isole isolate⁽⁸⁾. La procedura di isolamento che permette la separazione delle isole dal restante tessuto esocrino è complessa e dura in media 8 ore. Prevede inizialmente la digestione enzimatica e meccanica del pancreas e poi la purificazione delle isole stesse separate con una centrifugazione con gradienti di densità. L'isolamento non sempre riesce ad ottenere un numero di isole sufficiente per il trapianto per cui talvolta vengono trapiantate nello stesso ricevente preparazioni di isole provenienti da due organi. L'insuccesso della procedura di recupero delle isole in genere dipende dalle caratteristiche del donatore e dalla variabile efficacia del com-

plesso enzimatico. Il trapianto viene eseguito solo se il tessuto isolato risponde ai requisiti di sterilità, di vitalità e purezza. Il numero di isole riconosciute sufficiente per il ripristino della normoglicemia nel paziente è nel range di 6000-10000 isole per kg di peso corporeo del ricevente.

Il trapianto viene eseguito in sala angiografica tramite iniezione trans-cutanea intraepatica sotto guida ecografica in anestesia locale monitorando la pressione intra-portale. Complicanze della procedura sono infrequenti: tra queste la trombosi parziale della vena porta o la emorragia da stitichio ematico all'interno della cavità peritoneale in sede di passaggio del catetere transcutaneo. Può essere osservato un incremento delle transaminasi e dei marcatori dell'attivazione della cascata coagulativa secondari ad un processo flogistico innescato dalla infusione di isole responsabile della distruzione di parte della massa beta cellulare trapiantata⁽⁹⁾.

I dati di funzione del trapianto sono progressivamente migliorati negli anni, ma differenti tra centro e centro. Il successo dipende da diversi fattori, quali il protocollo immunosoppressivo utilizzato, l'esperienza del centro. Per questo la percentuale di insulino-indipendenza è riportata variare 5 anni dopo il trapianto da circa 15 % a 50 % nei centri con maggior esperienza⁽⁹⁾. Negli ultimi anni sono stati definiti quali siano i criteri per definire un successo di un trapianto di isole considerando che anche una funzione parziale delle isole trapiantate sia in grado di ottimizzare il compenso glicemico e prevenire le ipoglicemie⁽¹⁰⁾. Secondo infatti un consensus tra i rappresentanti dei centri di trapianto di isole con maggior esperienza, la funzione del trapianto è definita: -ottimale, se il controllo glicemico è quasi normale ($HbA1c \leq 6,5\%$ [$48 \text{ mmol} / \text{mol}$]) senza grave ipoglicemia e senza terapia insulina o ipoglicemizante e con un aumento delle concentrazioni di c-peptide; -buona, se $HbA1c < 7,0\%$ senza grave ipoglicemia e con una significativa riduzione ($> 50\%$) del fabbisogno di insulina e con aumento delle concentrazioni di c-peptide; -marginale, se $HbA1c > 7,0\%$, persistenza di una grave ipoglicemia o riduzione $< 50\%$ del fabbisogno di insulina con un aumento delle concentrazioni di c-peptide; -fallito, per l'assenza di dati di funzione senza produzione clinicamente significativa di C-pepti-

de. Le funzioni ottimali e buone sono considerate esiti clinici di successo⁽¹⁰⁾. Tra le cause di fallimento si riconoscono la incostante qualità e insufficiente quantità di isole trapiantate, la risposta infiammatoria nel sito di impianto, una reazione di rigetto e la possibile riaccensione del processo di autoimmunità.

Gli effetti del trapianto di isole nei pazienti affetti da diabete di tipo 1 vanno al di là del semplice controllo glicemico. I pazienti con pieno o parziale successo della procedura hanno, innanzitutto, un netto miglioramento della loro qualità di vita, ma anche del loro metabolismo glucidico, proteico e lipidico e un rallentamento della progressione delle complicanze diabetiche⁽¹¹⁾. In caso di trapianto di isole sia combinato con il rene che isolate, la sopravvivenza del rene trapiantato, la funzione renale, quella dell'apparato cardiovascolare, e del microcircolo sono nettamente migliorate nei pazienti con funzione parziale del trapianto di isole rispetto ai pazienti in cui il trapianto è precocemente fallito (Figura 1).

La terapia immunosoppressiva

Come tutti i trapianti anche per quello di isole e di pancreas isolato è necessaria una terapia immunosoppressiva per evitare il rigetto dell'organo/tessuto trapiantato. La terapia immunosoppressiva è gravata da possibili seri effetti collaterali in relazione al tipo di farmaco usato e dalla durata della terapia. La terapia immunosoppressiva va continuata fino a quanto l'organo rimane nel ricevente. Gli effetti collaterali più frequenti dei farmaci immunosoppressori sono le infezioni sistemiche, includendo quelle opportunistiche, cioè quelle causate da patogeni (batteri, virus, funghi o protozoi) che avvengono in organismi caratterizzati proprio da un sistema immunitario compromesso. Altri effetti collaterali sono specifici in relazione al tipo di immunosoppressore, i cui più comuni sono: per il tacrolimus, sintomi neurologici (insonnia, cefalea, tremore), ipertensione, nefrotossicità; per il micofenolato, anemia e disturbi gastroenterici; per il siero anti linfocitario leucopenia, anemia, iperpiressia, e raramente shock anafilattico per la prevenzione del quale viene somministrato insieme a boli di steroidi ad alte dosi⁽¹²⁾. È noto infine che l'uso di immuno-

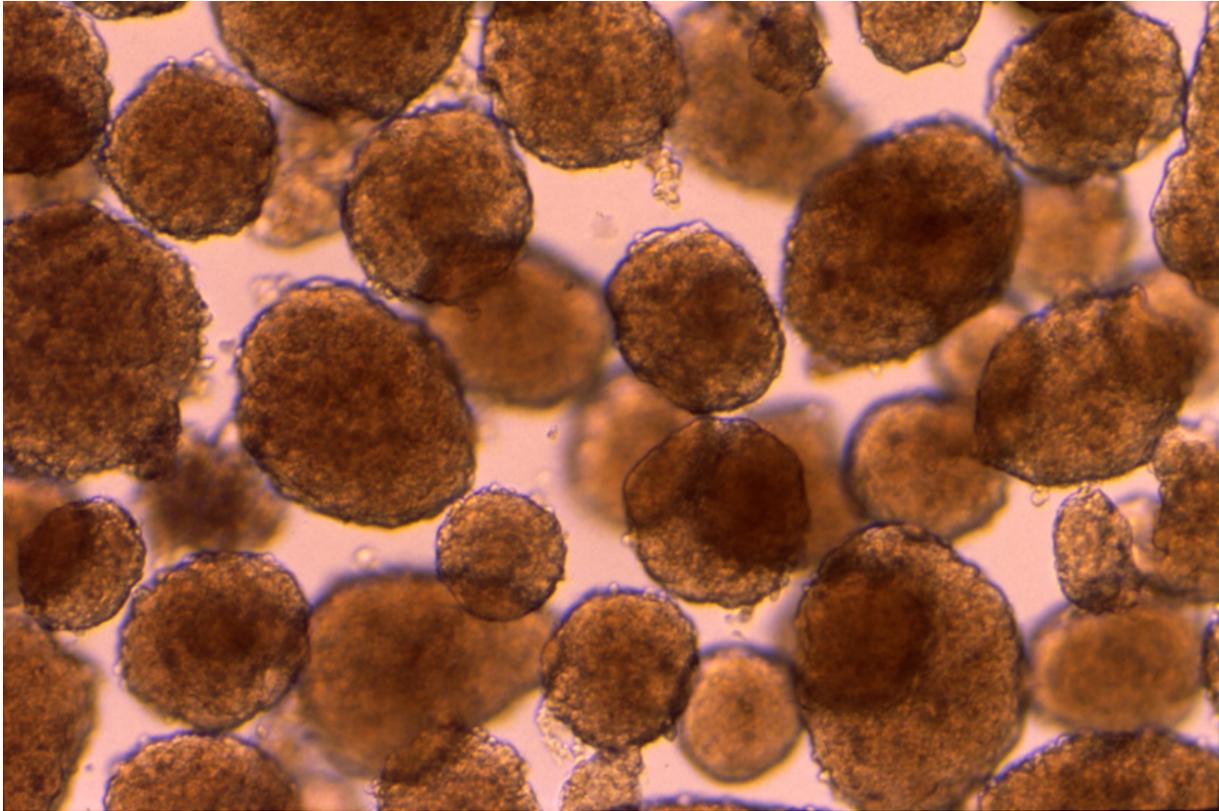


Figura 1 Isole pancreatiche umane isolate (1 cm = 10 micron).

soppressori è associato ad un incremento di rischio neoplastico, con una incidenza circa di 1% all'anno. Di queste neoplasie il 50% è rappresentato da tumori cutanei ad invasività locale.

Le indicazioni al trapianto

Le indicazioni al trapianto di pancreas e isole sono definite negli Standard Italiani di Cura del Diabete Mellito SID e AMD 2018⁽¹³⁾.

Il trapianto di pancreas e rene è consigliabile, dopo esclusione della presenza di controindicazioni, nei pazienti diabetici tipo 1 e insufficienza renale cronica (in fase di trattamento dialitico o in fase predialitica).

Il trapianto di pancreas isolato può essere consigliabile, dopo esclusione della presenza di controindicazioni e verifica di una adeguatamente conservata funzione renale, nei pazienti diabetici tipo 1 con grave instabilità glicemica e/o complicanze croniche in evoluzione.

Il trapianto di isole pancreatiche insieme o dopo un altro trapianto di organo (ad es. trapianto

di rene) o il trapianto di isole isolato può essere consigliabile in alternativa al trapianto di pancreas insieme o dopo un altro organo (più comunemente rene) quando il pancreas non è fattibile (trapianto combinato). Le indicazioni cliniche del trapianto combinato di isole rimangono pertanto le stesse del trapianto combinato di pancreas. I casi in cui il trapianto di pancreas non è fattibile includono: complicanze cardiovascolari, progressivi multipli interventi chirurgici addominali, la volontà del paziente che rifiuta un aggiuntivo intervento di chirurgia maggiore.

In pratica il trapianto di pancreas è stato pensato inizialmente come una terapia per ripristinare la normoglicemia stabile per molti anni, ma rimane un intervento chirurgico maggiore con complicanze chirurgiche anche severe che in rari casi hanno portato anche al decesso del paziente. In alternativa, il trapianto di isole è un intervento eseguito in anestesia locale con complicanze minori ma durata nel tempo ancora un po' inferiore rispetto a quello pancreatico. Il trapianto di isole potrebbe essere quindi essere proposto solo nei casi in cui

il paziente ha una compromissione generale delle condizioni cliniche ma anche nei casi in cui il paziente rifiuti un intervento di chirurgia maggiore.

Isole incapsulate

Da anni sono allo studio strategie per evitare l'uso di farmaci immunosoppressori nel trapianto di isole. Uno degli approcci più promettenti è quello che prevede l'inserimento delle isole all'interno di micro o macrocapsule che evitino la distruzione delle isole da parte del sistema immunitario del ricevente sia in termini di rigetto che di riattivazione della reazione di autoimmunità⁽¹⁴⁾. Il rivestimento deve essere in grado non solo però di evitare il contatto delle cellule del sistema immunitario con le isole ma anche di evitare che si formi una reazione di corpo estraneo all'esterno della capsula e che comunque sia garantito l'ingresso di ossigeno e nutrienti per la sopravvivenza delle isole stesse. Numerose i tipi di capsule fino ad ora proposte: le capsule studiate hanno diverse dimensioni (macro o micro capsule o capsule conformazionali che aderiscono alle isole) e diversa composizione.

In alcuni casi incorporano sostanze pro-angiogeniche o immunomodulatorie. In alcuni casi sono state a loro volta inserite all'interno di strutture (scaffold) in grado di favorire il processo di rivascolarizzazione pericapsulare.

Gli studi effettuati in diversi modelli animali hanno dimostrato che esistono diversi tipi di microcapsule in grado di proteggere con efficacia le isole pancreatiche dalla reazione di rigetto consentendo anche la possibilità di xenotrapianti. Tra le sostanze utilizzate (collagene, gelatina, acido ialuronico, fibrina, alginato, agarosio, e chitosano) la più promettente sembra essere l'alginato perché evoca una debole risposta da parte del sistema immunitario, è resistente al danno ossidativo, e forma una barriera permeabile in modo selettivo ai nutrienti e all'ossigeno. Tuttavia non è stato ancora identificato un sito ottimale dove impiantare le microcapsule, che sia ben vascolarizzato, facilmente raggiungibile e che possa contenere un ampio volume tessutale. L'utilizzo di capsule

immuno isolanti è richiesto anche nel possibile utilizzo di fonti alternative di beta cellule come cellule staminali. In questi casi infatti si richiede il loro isolamento all'interno del ricevente in modo da poterle espianare nel caso di una loro trasformazione neoplastica. I primi studi con isole incapsulate eseguiti nell'uomo non hanno dati i risultati sperati, ma il settore è in continua evoluzione.

Il sito di impianto

L'utilizzo di un sito alternativo a quello epatico sembra una delle soluzioni più promettenti per i problemi che limitano la funzione del trapianto di isole nel tempo. Un nuovo sito di impianto dovrebbe aiutare a raggiungere i seguenti obiettivi:

- Ridurre la reazione infiammatoria post trapianto: evitando il letto vascolare le isole trapiantate non attiverrebbero il processo di coagulazione che amplifica la risposta infiammatoria e riduce la vitalità delle cellule trapiantate.
- Ridurre o addirittura abrogare la necessità di una terapia immunosoppressiva: l'impianto di isole in un sito bene definito e non disperse all'interno del fegato potrebbe permettere l'utilizzo di strategie di immunomodulazione locale o di immunoisolamento mediante micro o macro capsule delle isole stesse.
- Permettere di utilizzare anche altri tipi di cellule beta (ad esempio da cellule staminali) che possano essere recuperate in caso di complicanze secondarie al loro utilizzo (quali ad esempio loro trasformazione neoplastica).

In modelli animali è stata valutata la fattibilità di trapiantare le isole nel muscolo scheletrico, nel midollo osseo, nel sottocute, nella cavità addominale, nell'omento, nella camera anteriore dell'occhio, nei testicoli, nel timo, nel tratto genitourinario, nella sottomucosa gastrica⁽¹⁵⁾. Solo alcuni di questi siti sono stati poi studiati in trial clinici di allo o autotrapianto di isole.

I dati in letteratura riportano che dopo autotrapianto nel muscolo scheletrico eseguito in pazienti dopo pancreatectomia totale si possono rilevare nei riceventi significative concentrazioni di

c-peptide circolante e ottenere una riduzione del fabbisogno insulinico. I vantaggi di questo sito includono una semplicità della procedura di trapianto eseguibile in anestesia locale praticamente priva di complicanze se non locali, una possibilità di monitoraggio del preparato trapiantato mediante biopsie o anticorpi marcati, la possibilità di trapiantare un ampio volume cellulare, la futura possibilità di impiantare capsule di isolamento o substrati che favoriscano la immunomodulazione locale o la rivascolarizzazione. Risulta ancora difficile disperdere bene le isole tra i fasci muscolari, così da evitare la loro aggregazione che impedisce una corretta ossigenazione⁽¹⁵⁾. Il sito rimane tuttavia di largo interesse considerando che diverse sono le strategie oggi oggetto di studio per migliorarne la funzione.

Gli autotrapianti di isole all'interno del midollo osseo hanno mostrato una funzione insulare fino ad un massimo follow up di 944 giorni dopo il trapianto, oltre a una riduzione parziale del fabbisogno insulinico⁽¹⁶⁾. Non è stato riportato nessun evento avverso alla procedura di trapianto. Il sito inoltre ha permesso il monitoraggio della funzione insulare mediante biopsia. Tuttavia anche in questo caso i dati di funzione del trapianto rimangono inferiori a quelli eseguiti nei trapianti

intraepatici. In caso di allotrapianto inoltre rimane da verificare se il sito sia in grado di evitare la ricorrenza dell'autoimmunità.

Un sito alternativo di attuale interesse clinico è l'omento. In passato era già stato dimostrato che isole pancreatiche all'interno di microcapsule potessero attecchire nella cavità addominale. I dati di funzione complessiva rimasero però limitati. Negli ultimi anni è stato iniziato presso la Università di Miami un trial di allotrapianto di isole poste all'interno di un gel autologo di plasma⁽¹⁷⁾. Il primo paziente trattato con questa tecnica ha ottenuto la completa insulino indipendenza. Se sarà confermata la fattibilità del trapianto di isole in omento, sarà possibile in un secondo tempo l'attivazione di protocolli che prevedano una riduzione della terapia immunosoppressiva sistemica grazie all'impiego di trattamenti di immunomodulazione locale (Figura 2).

Lo xenotrapianto

L'ipotesi di trapianto di isole di origine animale in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 è oggetto di studi scientifici da molti anni. La possibilità di utilizzare isole di origine animale

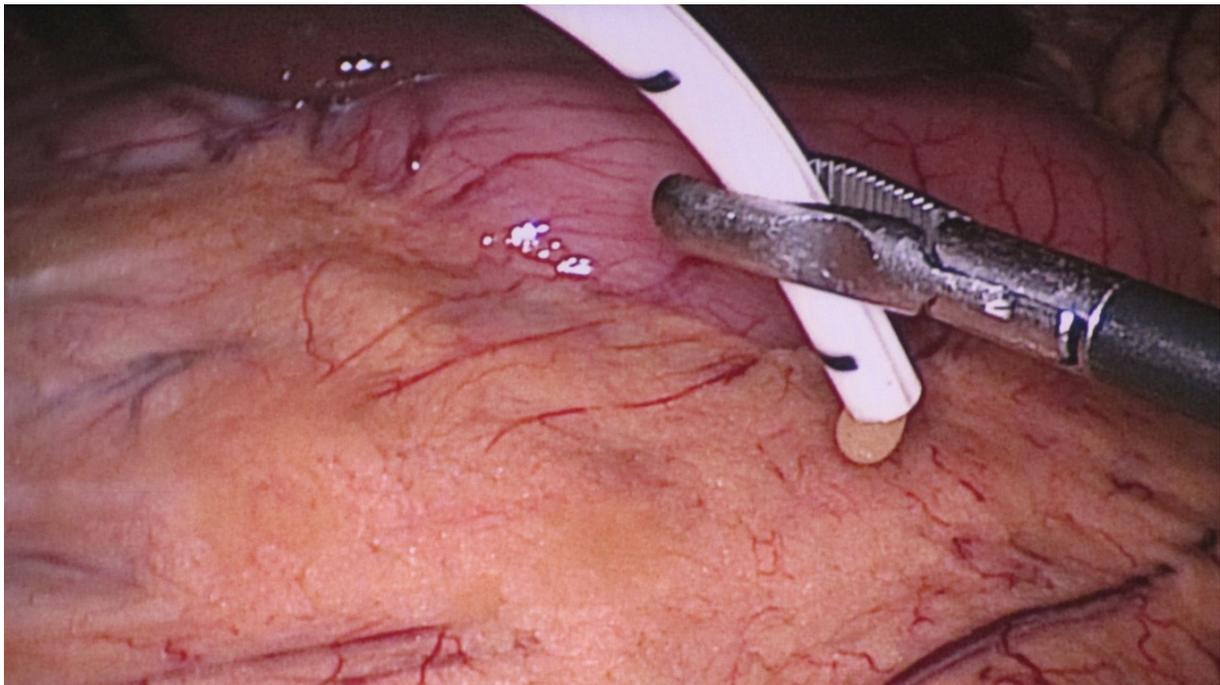


Figura 2 - Allotrapianto di isole umane in omento.

potrebbe infatti risolvere il problema della scarsità di isole pancreatiche umane secondario al limitato numero di donatori d'organo rispetto ai pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1. Permetterebbe anche di standardizzare la procedura considerando che i pancreas di animali allevati in rigide condizioni hanno ovviamente caratteristiche biologiche più riproducibili di pazienti donatori d'organo con diverse condizioni cliniche⁽¹³⁾.

Tra le diverse specie animali i maiali sono spesso stati studiati come donatori di isole per uomo perchè presentano somiglianze anatomiche con l'uomo, l'isolamento di isole suine è stato ben studiato e alcuni trapianti di isole suine hanno avuto successo non solo in roditori ma anche in primati. Sono state adottate nei suini diverse stra-

tegie di ingegneria genetica finalizzate ad inibire la reazione di rigetto, la coagulazione e la apoptosi oltre che a potenziare la secrezione insulinica⁽¹⁹⁾. Il rischio potenziale della presenza di retrovirus patogeni porcini (PERV) nelle isole è stato a lungo discusso. Anche l'uso di isole da specifici suini senza patogeni (DPF) non ha sradicato i PERV, anche se si ritiene che la loro presenza non sia un grave ostacolo all'applicazione clinica. Nessuna evidenza di trasmissione del PERV è stata trovata in pazienti con diabete di tipo 1 dopo follow-up a lungo termine nei primi trials clinici di trapianto di isole suine⁽²⁰⁾. Nonostante tutti questi studi le migliori condizioni per il successo del trapianto di isole suine nei pazienti non sono state ancora identificate in modo definitivo.

Bibliografia

1. Larsen JL. Pancreas transplantation: indications and consequences. 1) *Endocr Rev.* 2004 Dec;25(6):919-46.
2. Perez Daga JA, Perez Rodriguez R, Santoyo J. Immediate post-operative complications (I): Post-operative bleeding; vascular origin: Thrombosis pancreatitis. *World J Transplant.* 2020 Dec 28;10(12):415-421.
3. Gruessner RW, Gruessner AC. Pancreas After Islet Transplantation: A First Report of the International Pancreas Transplant Registry. *Am J Transplant.* 2016 Feb;16(2):688-93.
4. Boggi U, Vistoli F, Amorese G, Giannarelli R, Coppelli A, Mariotti R, Cantarovich D, Del Prato S, Mosca F, Marchetti P. Long-term (5 years) efficacy and safety of pancreas transplantation alone in type 1 diabetic patients. *Transplantation.* 2012 Apr 27;93(8):842-6.
5. Gruessner RW, Gruessner AC. The current state of pancreas transplantation. *Nat Rev Endocrinol.* 2013 Sep;9(9):555-62. d
6. Jenssen T1, Hartmann A, Birkeland KI. Long-term diabetes complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017 Aug;22(4):382-388.
7. Gremizzi C, Vergani A, Paloschi V, Secchi A. Impact of pancreas transplantation on type 1 diabetes-related complications. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010 Feb;15(1):119-23
8. Ricordi C, Goldstein JS, Balamurugan AN, Szot GL, Kin T, Liu C, Czarniecki CW, Barbaro B, Bridges ND, Cano J, Clarke WR, Eggerman TL, Hunsicker LG, Kaufman DB, Khan A, Lafontant DE, Linetsky E, Luo X, Markmann JF, Naji A, Korsgren O, Oberholzer J, Turgeon NA, Brandhorst D, Chen X, Friberg AS, Lei J, Wang LJ, Wilhelm JJ, Willits J, Zhang X, Hering BJ, Posselt AM, Stock PG, Shapiro AM, Chen X. National Institutes of Health-Sponsored Clinical Islet Transplantation Consortium Phase 3 Trial: Manufacture of a Complex Cellular Product at Eight Processing Facilities. *Diabetes.* 2016 Nov;65(11):3418-3428.
9. Rickels MR, Robertson RP. Pancreatic Islet Transplantation in Humans: Recent Progress and Future Directions. *Endocr Rev.* 2019 Apr 1;40(2):631-668.
10. Rickels MR, Stock PG, de Koning EJP, Piemonti L, Pratschke J, Alejandro R, Bellin MD, Berney T, Choudhary P, Johnson PR, Kandaswamy R, Kay TWH, Keymeulen B, Kudva YC, Latres E, Langer RM, Lehmann R, Ludwig B, Markmann JF, Marinac M, Odorico JS, Pattou F, Senior PA, Shaw JAM, Vantyghem MC, White S. Defining Outcomes for β -cell Replacement Therapy in the Treatment of Diabetes: A Consensus Report on the Iglis Criteria From the IPITA/EPITA Opinion Leaders Workshop. *Transplantation.* 2018 Sep;102(9):1479-1486
11. Fiorina P, Shapiro AM, Ricordi C, Secchi A. The clinical impact of islet transplantation. *Am J Transplant.* 2008 Oct;8(10):1990-7.
12. Noguchi H, Matsumoto S, Matsushita M, Kobayashi N, Tanaka K, Matsui H, Tanaka N. Immunosuppression for islet transplantation. *Acta Med Okayama.* 2006 Apr;60(2):71-6.
13. Standard di cura del diabete mellito AMD-SID 2018
14. Vaithilingam V, Bal S, Tuch BE. Encapsulated Islet Transplantation: Where Do We Stand? *Rev Diabet Stud.* 2017 Spring;14(1):51-78.
15. Stokes RA, Cheng K, Lalwani A, Swarbrick MM, Thomas HE, Loudovaris T, Kay TW, Hawthorne WJ, O'Connell PJ, Gunton JE. Transplantation sites for human and murine islets. *Diabetologia.* 2017 Oct;60(10):1961-1971

16. Maffi P, Nano R, Monti P, Melzi R, Sordi V, Mercalli A, Pellegrini S, Ponzoni M, Pecchatori J, Messina C, Nocco A, Cardillo M, Scavini M, Magistretti P, Doglioni C, Ciceri F, Bloem SJ, Roep BO, Secchi A, Piemonti L. Islet Allotransplantation in the Bone Marrow of Patients With Type 1 Diabetes: A Pilot Randomized Trial. *Transplantation*. 2019 Apr;103(4):839-851.
17. Bertuzzi F, Colussi G, Lauterio A, De Carlis L. Intramuscular islet allotransplantation in type 1 diabetes mellitus. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018 Mar;22(6):1731-1736.
18. Baidal DA, Ricordi C, Berman DM, Alvarez A, Padilla N, Ciancio G, Linetsky E, Pileggi A, Alejandro R. Bioengineering of an Intraabdominal Endocrine Pancreas. *N Engl J Med*. 2017 May 11;376(19):1887-1889.
19. Cooper DK, Matsumoto S, Abalovich A, Itoh T, Mourad NI, Gianello PR, Wolf E, Cozzi E. Progress in Clinical Encapsulated Islet Xenotransplantation. *Transplantation*. 2016 Nov;100(11):2301-2308.
20. Liu Z, Hu W, He T, Dai Y, Hara H, Bottino R, Cooper DKC, Cai Z, Mou L. Pig-to-Primate Islet Xenotransplantation: Past, Present, and Future. *Cell Transplant*. 2017 Jun 9;26(6):925-947. doi: 10.3727/096368917X694859. Epub 2017 Feb 3.
21. Heneine W, Tibell A, Switzer WM, Sandstrom P, Rosales GV, Mathews A, Korsgren O, Chapman LE, Folks TM, Groth CG. No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts. *Lancet*. 1998 Aug 29;352(9129):695-9.

Le cellule staminali nel diabete mellito di tipo 1

Valeria Sordi / Diabetes Research Institute, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy

Una cellula staminale è una cellula non specializzata in grado di replicarsi indefinitamente e di dare origine a una cellula specializzata. Negli ultimi due decenni è stata dimostrata la capacità delle cellule staminali di differenziare anche in β cellule, rendendo applicabili le strategie di rigenerazione cellulare anche per il diabete. Il diabete di tipo 1 (T1D) è a tutti gli effetti la malattia ideale per una terapia cellulare con cellule staminali, in quanto si ha la perdita di un solo tipo cellulare che non ha bisogno di essere re-impiantato nel luogo di origine per svolgere la sua funzione e di conseguenza il trapianto può essere eseguito mediante l'utilizzo di una chirurgia minimamente invasiva. L'esperienza decennale del trapianto di isole nel paziente con T1D insegna infatti che è possibile sostituire la funzione endocrina con un trapianto di cellule produttrici di insulina, che questa terapia cellulare è in grado di portare all'insulino-indipendenza e di prevenire o ritardare le complicanze e infine che le cellule produttrici di insulina possono essere trapiantate in siti extra-pancreatici, quali il fegato o il sottocute⁽¹⁾. Ad oggi i principali limiti a una vasta applicazione del trapianto nei pazienti sono la scarsità di donatori d'organo e la necessità di una terapia immunosoppressiva a vita. Di conseguenza, una fonte inesauribile di cellule produttrici di insulina, indipendente dalla donazione d'organo, costituirebbe un enorme passo avanti per il campo della terapia cellulare del T1D. L'utilizzo di cellule staminali è sempre più riconosciuto come una possibilità, per un futuro non troppo lontano, di superare i limiti del trapianto di isole e ampliare l'applicazione della terapia di sostituzione cellulare a un vasto numero di pazienti con T1D.

Cellule staminali pluripotenti

Negli ultimi anni è in corso un intenso dibattito riguardo al tipo di cellule staminali da uti-

lizzare, sulla modalità di differenziarle in cellule produttrici di insulina e sulla loro capacità di funzionare in vivo, una volta trapiantate. Di fatto, nel campo della generazione di β cellule in vitro dalle cellule staminali, i risultati più promettenti sono stati ottenuti utilizzando cellule staminali pluripotenti (PSC), sia quelle derivate dall'embrione (ESC)⁽²⁾ sia quelle indotte (iPSC), ottenute dalla riprogrammazione genica della cellula somatica adulta⁽³⁾. Le PSC sono cellule immature dal punto di vista dello sviluppo che hanno capacità di auto-rinnovamento e possiedono il potenziale per diventare praticamente qualsiasi tipo di cellula del corpo; infatti, la PSC può essere indotta a intraprendere specifici percorsi di differenziazione mediante l'esposizione a combinazioni di stimoli per attivare e/o inibire le vie di segnalazione, ad esempio quelle coinvolte nello sviluppo del pancreas umano⁽⁴⁾.

In un primo momento, gli studi pionieristici di Novocell (ora ViaCyte Inc.) si sono concentrati sulla scoperta degli stimoli in grado di differenziare in maniera efficace le ESC in cellule dell'endoderma definitivo e successivamente in cellule progenitrici pancreatiche fino ad ottenere cellule produttrici di insulina, con un rendimento di circa il 7%⁽⁵⁾. Viacyte si è poi dedicata agli studi nei modelli preclinici, dimostrando che una larga parte delle cellule progenitrici pancreatiche maturano spontaneamente in cellule β dopo il trapianto nei modelli murini⁽⁶⁾ e allo scale up del sistema⁽⁷⁾. Questi studi hanno gettato le basi per l'inizio di uno studio clinico prospettico, multicentrico, di fase 1/2 (identificativo ClinicalTrials.gov: NCT02239354) iniziato nel 2014 che prevede il trapianto di progenitori pancreatici derivati da ESC allogeneiche inserite in un dispositivo che protegge dall'attacco del sistema immunitario, in soggetti con T1D. Successivamente, nel 2017, è stata avviata una nuova sperimentazione clinica (NCT03163511), in cui si utilizza un nuovo di-

spositivo aperto che consente la vascolarizzazione diretta delle cellule progenitrici pancreatiche, ma che richiede la somministrazione di farmaci immunosoppressori. Entrambi questi studi sono in corso e forniranno presto una grande quantità di informazioni riguardanti un uso sicuro ed efficace delle cellule β derivate da cellule staminali embrionali nell'uomo.

Negli ultimi 10 anni, parallelamente alla ricerca sull'ESC, lo studio delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) è sempre più intenso. Le iPSC, cellule staminali derivate dalla riprogrammazione genetica delle cellule somatiche adulte⁽³⁾, hanno tutte le caratteristiche fenotipiche e funzionali delle ESC e sono stati riportati diversi protocolli di differenziazione in vitro di iPSC in cellule β pancreatiche con risultati incoraggianti⁽⁸⁻¹⁰⁾. La iPSC umana può essere derivata da soggetti sani ma anche da pazienti diabetici^(11, 12), pertanto questo tipo di approccio potrebbe portare a una terapia di sostituzione cellulare β autologa. L'utilizzo in clinica di cellule differenziate a partire da iPSC umane è già una realtà in altri campi⁽¹³⁾, ad esempio il primo studio clinico di trapianto di cellule epiteliali delle retina derivate da iPSC è stato avviato nel 2014 in Giappone⁽¹⁴⁾. L'efficienza di differenziazione, l'immunogenicità e la sicurezza sono ad oggi le principali sfide che i ricercatori devono affrontare per facilitare la transizione delle cellule β derivate da PSC ai pazienti con T1D⁽¹⁵⁾.

Differenziazione in vitro e in vivo di cellule β : efficacia

Come riportato, gli studi clinici di ViaCyte utilizzano progenitori pancreatici derivati da ESC, in quanto l'efficiente differenziazione in vitro in cellule β mature, paragonabili a quelle delle isole umane adulte, è ancora uno dei principali punti critici. Il processo di differenziazione delle cellule β è orchestrato dalla regolazione trascrizionale fine dei geni coinvolti nello sviluppo del pancreas, che dipende dalla linea di cellule staminali utilizzate e dal tipo, dal numero e dalla tempistica dei fattori di differenziazione amministrati. Negli ultimi 10 anni sono state apportate diverse varianti al primo protocollo ViaCyte⁽¹²⁾, usando nuove combinazioni di citochine e molecole,

come fattori di crescita dei fibroblasti, inibitori della via di Sonic hedgehog (KAAD-ciclopatina o SANT-1), acido retinoico, nicotinammide, ormoni tiroidei, inibitori di BMP, protein chinasi C attivatore (Indolactam V, PdBU), inibitori della γ -secretasi o inibitori della via del TGF β (inibitore di Alk5, Dorsomorphin o Noggin)^(9, 16-18). In due pubblicazioni fondamentali^(19, 20) è stato riportato un nuovo ed efficiente approccio per generare in vitro da PSC il 20% di cellule C-peptide positive, mono-ormonali e responsive allo stimolo con glucosio. Il trapianto di queste nuove cellule β in topi diabetici immuno-compromessi ha ripristinato la normoglicemia entro 2 (19) o 6 (20) settimane dopo l'infusione, un enorme miglioramento rispetto al periodo di 2-3 mesi richiesto per la maturazione delle cellule progenitrici pancreatiche derivate da ESC⁽⁶⁾. Risultati simili sono stati ottenuti anche mediante trapianto di cellule β derivate da iPSC^(10, 19), anche con iPSC riprogrammante da cellule di pazienti con T1D⁽¹²⁾.

La necessità di ottenere cellule insulino-positive con alta efficienza ha portato, oltre all'identificazione di nuove molecole in grado di aumentare l'efficienza di differenziazione, alla ricerca di nuovi marcatori per arricchire popolazioni selezionate di cellule. Negli ultimi anni sono stati proposti marcatori di superficie, tra cui CD142⁽²¹⁾, CD24⁽²²⁾ e DNER⁽²³⁾ come marcatori di superficie per identificare progenitori o cellule pancreatiche, ma il marcatore più recente e promettente identificato è GP2 (pancreatic secretory granule membrane major glycoprotein 2), in quanto le cellule derivate da PSC e selezionate per l'espressione di GP2 generano cellule β in modo più efficiente rispetto alla frazione GP2 negativa^(24, 25).

Immunogenicità del Graft

È chiaro che le PSC costituiscono uno strumento molto potente per la generazione di nuove cellule che producono insulina, grazie alla loro intrinseca capacità di differenziazione e ai protocolli specifici di differenziazione in cellule β , che, come abbiamo visto, sono migliorati negli ultimi anni per ottenere risultati molto promettenti. Rimangono tuttavia alcune domande che devono essere affrontate prima che queste nuove cellule β possano essere utilizzate nella terapia

cellulare nei pazienti con diabete. Una delle principali sfide è il rigetto delle cellule derivate da PSC da parte del sistema immunitario dei riceventi. Infatti, se uno dei vantaggi dell'utilizzo di iPSC rispetto alle ESC è la possibilità di utilizzare PSC riprogrammate da cellule somatiche del paziente che ha bisogno di trapianto, è anche vero che questa strategia deve affrontare 3 ostacoli principali: i) attualmente, una terapia personalizzata con iPSC autologhe richiederebbe un enorme impegno economico e di tempo, ii) il processo di riprogrammazione porta ad un carico mutazionale elevato nelle iPSC^(26, 27), che potrebbe determinare la produzione di proteine immunogeniche durante la differenziazione forzata in cellule β , iii) in pazienti diabetici, le nuove cellule β , essendo autologhe, potrebbero essere vittima di un attacco autoimmune. Pertanto, qualunque sia la fonte, allogenico o autologa, le nuove cellule β dovranno comunque essere protette da un attacco del sistema immunitario del ricevente.

La prima possibilità per proteggere il tessuto trapiantato è di prendere in prestito l'esperienza del trapianto allogenico da donatore d'organo e usare una terapia immunosoppressiva a vita⁽²⁸⁾. È probabile che, nel caso si utilizzino iPSC autologhe, la terapia immunosoppressiva, finalizzata ad evitare solo la risposta autoimmune, possa essere specificamente modulata e potenzialmente meno tossica della terapia standard. In alternativa, le nuove cellule β possono essere protette meccanicamente ponendo una barriera fisica tra loro e le cellule del sistema immunitario⁽²⁹⁾. Questo approccio di incapsulamento è stato studiato per anni anche per le isole da donatori d'organo, e può isolare una o poche isole (microincapsulamento) o tutte le cellule β trapiantate (macroincapsulamento) (vedi capitolo precedente). Tuttavia, nonostante gli innumerevoli sforzi e i risultati promettenti del trapianto di isole senza immunosoppressione, gli studi clinici con isole microincapsulate negli esseri umani fino ad oggi hanno dimostrato sicurezza, ma non efficacia a lungo termine. Recentemente, stimolati dal campo delle terapie con cellule staminali, nuovi studi hanno identificato modificazioni chimiche dell'alginato che ne aumentano la capacità e la biocompatibilità. In particolare, è stato riportato l'uso di un alginato in grado di limitare drasticamente la reazione fibrotica post-impianto, inibendo la risposta dei macrofagi tissutali^(30,31).

Un'ultima strategia per eludere il rigetto immunitario si basa sulla possibilità di modificare geneticamente le cellule in modo tale che esse non siano più riconosciute dal sistema immunitario e possano quindi evitare il rigetto post-impianto. Questo approccio è stato accelerato negli ultimi anni perché le iPSC, a differenza delle isole da donatore, possono essere efficacemente ingegnerizzate geneticamente e anche perché le nuove metodologie CRISPR / Cas9 hanno reso il targeting genetico più fattibile e specifico. Recentemente è stato dimostrato nelle PSC che la delezione del gene B2M (un costituente di tutte gli HLA polimorfici endogeni) accoppiata con l'espressione forzata di HLA-E conferisce "invisibilità" alle cellule, assicurando che esse non siano attaccate né da linfociti T che da cellule NK⁽³²⁾.

Sicurezza della terapia cellulare con PSC

Infine, anche se superassimo gli ostacoli riuscendo ad aumentare l'efficienza ed evitare il rigetto, dovremo comunque considerare il potenziale rischio di trasformazione neoplastica delle cellule derivate da PSC. Infatti, ESC e iPSC hanno un alto potenziale tumorigenico a causa della loro staminalità e maturazione incompleta durante la differenziazione in vitro che può portare a cellule pluripotenti contaminanti il prodotto cellulare finale. Inoltre, le iPSC sono cellule fortemente manipolate in vitro, sia nella fase di riprogrammazione che durante l'espansione e la differenziazione e queste fasi di manipolazione aumentano il rischio di proliferazione incontrollata ed espressione aberrante delle proteine. Infine, nel caso della creazione di cellule invisibili, non riconosciute dal sistema immunitario del ricevente, il rischio sarebbe ancor maggiore perché la cellula sarebbe istruita a eludere la risposta immunologica, proprio come una cellula tumorale.

Per limitare la tumorigenicità di queste cellule dovremmo utilizzare la tecnica di riprogrammazione più sicura e di ultima generazione (vettori non integranti il genoma, plasmidi, RNA, ...), monitorare attentamente le cellule per l'instabilità genomica (cariotipo, aCGH), selezionare solo le cellule desiderate dopo la differenziazione, eliminando le cellule pluripotenti residue contaminanti la preparazione cellulare da trapiantare, per esempio mediante selezione negativa di

PSC^(33, 34) o selezione positiva di cellule endocrine con marcatori specifici⁽²¹⁻²⁴⁾, macro-incapsulare le cellule in un dispositivo che consenta un eventuale espianto se necessario⁽²⁹⁾ e infine introdurre un gene suicida come TK o Casp9 che, quando viene somministrato un farmaco specifico, si attiva e induce la cellula al suicidio^(35, 36).

Conclusioni

Le cellule staminali pluripotenti stanno iniziando a lasciare il laboratorio e raggiungere il banco di prova degli studi clinici. La terapia cellulare con ESC è già in studi clinici per diverse patologie, tra cui lesioni del midollo spinale, morbo di Parkinson, infarto miocardico e diabete. Ad oggi, queste prime esperienze hanno mostrato un buon profilo di sicurezza, essendo l'incidenza di teratomi ben controllata in tutti i principali trials clinici e pochi, se non nessuno, gli eventi avversi segnalati. In termini di efficacia, le aspettative per il momento sono un po' ridimensionate, ma solo

con l'aumento del numero di pazienti e la raffinatezza dei protocolli inizieremo ad avere più informazioni utili. Per quanto riguarda l'iPSC, è notevole che a solo 10 anni dalla loro scoperta, i risultati del primo studio clinico sono stati riportati e gli studi clinici per una serie di patologie, tra cui il diabete, sono all'orizzonte. Nel campo della terapia cellulare del diabete di tipo 1, le iPSC hanno il potenziale per essere uno strumento dirompente. La crescente facilità nella riprogrammazione delle cellule somatiche, combinata con i primi sforzi della produzione di iPSC secondo le regole della Good Manufacturing Practice, avvicina questa tecnologia alla sua traslazione clinica. Inoltre, l'esperienza in corso con le cellule pancreatiche derivate da ESC sarà sicuramente altamente informativa per i futuri tentativi con iPSC. Rimangono da sciogliere i nodi della risposta immunitaria alle cellule trapiantate e del rischio di formazione del tumore, se vogliamo immaginare che un giorno queste cellule saranno la fonte primaria di cellule β per la sostituzione della funzione pancreatica nei pazienti con diabete (Figura 3).

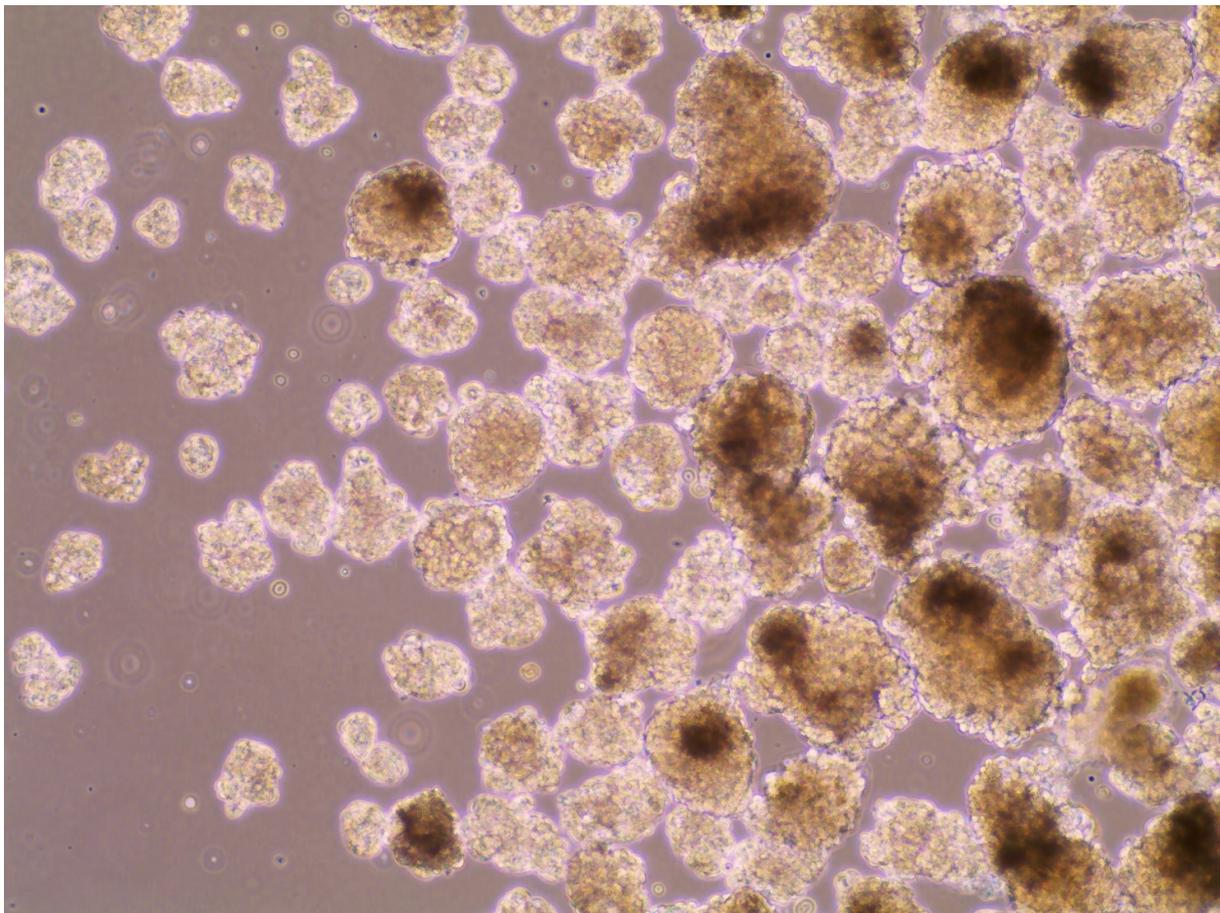


Figura 3 Cellule beta ottenute iPSC.

Bibliografia

1. Maffi P, Secchi A. Clinical results of islet transplantation. *Pharmacol Res.* 2015;98:86-91. doi:10.1016/j.phrs.2015.04.010.
2. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282(5391):1145-1147.
3. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 2007;131(5):861-872. doi:10.1016/j.cell.2007.11.019.
4. Pagliuca FW, Melton DA. How to make a functional β -cell. *Development.* 2013;140(12):2472-2483. doi:10.1242/dev.093187.
5. D'Amour KA, Bang AG, Eliazer S, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol.* 2006;24(11). doi:10.1038/nbt1259.
6. Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol.* 2008;26(4):4-3. doi:10.1038/nbt1393.
7. Schulz TC, Young HY, Agulnick AD, et al. A scalable system for production of functional pancreatic progenitors from human embryonic stem cells. *PLoS One.* 2012;7(5):e37004.
8. Tateishi K, He J, Taranova O, Liang G, D'Alessio AC, Zhang Y. Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts. *J Biol Chem.* 2008;283(46):31601-31607. doi:10.1074/jbc.M806597200.
9. Chen S, Borowiak M, Fox JL, et al. A small molecule that directs differentiation of human ESCs into the pancreatic lineage. *Nat Chem Biol.* 2009;5(4):258-265. doi:10.1038/nchembio.154.
10. Pellegrini S, Ungaro F, Mercalli A, et al. Human induced pluripotent stem cells differentiate into insulin-producing cells able to engraft in vivo. *Acta Diabetol.* 2015;52(6):1025-1035. doi:10.1007/s00592-015-0726-z.
11. Maehr R, Chen S, Snitow M, et al. Generation of pluripotent stem cells from patients with type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(37):15768-15773. doi:10.1073/pnas.0906894106.
12. Millman JR, Xie C, Dervort A Van, Gürtler M, Pagliuca FW, Melton DA. Generation of stem cell-derived b-cells from patients with type 1 diabetes. *Nat Commun.* 2016;7. doi:10.1038/ncomms11463.
13. Trounson A, DeWitt ND. Pluripotent stem cells progressing to the clinic. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(3):194-200. doi:10.1038/nrm.2016.10.
14. Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, et al. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med.* 2017;376(11):1038-1046. doi:10.1056/NEJMoa1608368.
15. Odorico J, Markmann J, Melton D, et al. Report of the Key Opinion Leaders Meeting on Stem Cell-Derived Beta Cells. *Transplantation.* April 2018;1. doi:10.1097/TP.0000000000002217.
16. Ameri J, Ståhlberg A, Pedersen J, et al. FGF2 specifies hESC-derived definitive endoderm into foregut/midgut cell lineages in a concentration-dependent manner. *Stem Cells.* 2010;28(1):45-56. doi:10.1002/stem.249.
17. Mfopou JK, Chen B, Mateizel I, Sermon K, Bouwens L. Noggin, retinoids, and fibroblast growth factor regulate hepatic or pancreatic fate of human embryonic stem cells. *Gastro-*

- enterology. 2010;138(7):2233-2245, 2245. e1-e14. doi:10.1053/j.gastro.2010.02.056.
18. Nostro MC, Sarangi F, Ogawa S, et al. Stage-specific signaling through TGF β family members and WNT regulates patterning and pancreatic specification of human pluripotent stem cells. *Development*. 2011;138(5):861-871. doi:10.1242/dev.055236.
 19. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, et al. Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro. *Cell*. 2014;159(2):428-439. doi:10.1016/j.cell.2014.09.040.
 20. Rezaia A, Bruin JE, Arora P, et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. September 2014. doi:10.1038/nbt.3033.
 21. Kelly OG, Chan MY, Martinson LA, et al. Cell-surface markers for the isolation of pancreatic cell types derived from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*. 2011;29(8):750-756.
 22. Jiang W, Sui X, Zhang D, et al. CD24: a novel surface marker for PDX1-positive pancreatic progenitors derived from human embryonic stem cells. *Stem Cells*. 2011;29(4):609-617.
 23. Hald J, Galbo T, Rescan C, et al. Pancreatic islet and progenitor cell surface markers with cell sorting potential. *Diabetologia*. 2012;55(1):154-165. doi:10.1007/s00125-011-2295-1.
 24. Cogger KE, Sinha A, Sarangi F, et al. Glycoprotein 2 is a specific cell surface marker of human pancreatic progenitors. *Nat Commun*. 2017;8(1):331. doi:10.1038/s41467-017-00561-0.
 25. Ameri J, Borup R, Prawiro C, et al. Efficient Generation of Glucose-Responsive Beta Cells from Isolated GP2 + Human Pancreatic Progenitors. *Cell Rep*. 2017;19(1):36-49. doi:10.1016/j.celrep.2017.03.032.
 26. Ji J, Ng SH, Sharma V, et al. Elevated Coding Mutation Rate During the Reprogramming of Human Somatic Cells into Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells*. 2012;30(3):435-440. doi:10.1002/stem.1011.
 27. Gore A, Li Z, Fung H-L, et al. Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011;471(7336):63-67. doi:10.1038/nature09805.
 28. Shapiro AMJ, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(5):268-277. doi:10.1038/nrendo.2016.178.
 29. Desai T, Shea LD. Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov*. December 2016. doi:10.1038/nrd.2016.232.
 30. Vegas AJ, Veisoh O, Gürtler M, et al. Long-term glycemic control using polymer-encapsulated human stem cell-derived beta cells in immune-competent mice. *Nat Med*. January 2016. doi:10.1038/nm.4030.
 31. Vegas AJ, Veisoh O, Doloff JC, et al. Combinatorial hydrogel library enables identification of materials that mitigate the foreign body response in primates. *Nat Biotechnol*. January 2016. doi:10.1038/nbt.3462.
 32. Gornalusse GG, Hirata RK, Funk SE, et al. HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells. *Nat Biotechnol*. 2017;35(8):765-772. doi:10.1038/nbt.3860.
 33. Ben-David U, Gan Q-F, Golan-Lev T, et al. Selective elimination of human pluripotent stem cells by an oleate synthesis inhibitor discovered in a high-throughput screen. *Cell Stem Cell*. 2013;12(2):167-179.
 34. Cho S-J, Kim S-Y, Park S-J, et al. Photodynamic Approach for Teratoma-Free Pluripotent Stem Cell Therapy Using CDy1 and Visible Light. *ACS Cent Sci*. 2016;2(9):604-607. doi:10.1021/acscentsci.6b00099.
 35. Greco R, Oliveira G, Stanghellini MTL, et al. Improving the safety of cell therapy with the TK-suicide gene. *Front Pharmacol*. 2015;6:95. doi:10.3389/fphar.2015.00095.
 36. Yagyu S, Hoyos V, Del Bufalo F, Brenner MK. An Inducible Caspase-9 Suicide Gene to Improve the Safety of Therapy Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Mol Ther*. 2015;23(9):1475-1485. doi:10.1038/mt.2015.100.

La immunoterapia

Caterina Formichi, Laura Nigi, Francesco Dotta / Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze; Università degli Studi di Siena

È ormai noto come il raggiungimento ed il mantenimento di uno stretto controllo glico-metabolico dopo la diagnosi di diabete mellito di tipo 1 (DM1) sia efficace nel prevenire o nel ritardare la comparsa di complicanze a lungo termine, tuttavia gli studi clinici dimostrano che l'outcome terapeutico è fortemente influenzato dalla funzione beta-cellulare residua: i soggetti con una migliore funzione beta-cellulare residua, rispondono meglio al trattamento^(1, 2). Nondimeno, il declino della funzione beta-cellulare nei pazienti con DM1 è estremamente variabile e di conseguenza non facilmente prevedibile; infatti la secrezione endogena di insulina può persistere anche dopo anni dalla diagnosi^(3, 4).

Fra i molteplici approcci terapeutici sviluppati negli ultimi decenni per arrestare o ritardare la distruzione beta-cellulare che caratterizza il DM1, l'immunoterapia è stata ed è tutt'oggi oggetto di innumerevoli ricerche. Il razionale dello sviluppo di terapie immunomodulanti è quello di riprogrammare il sistema immunitario allo scopo di impedire l'attacco nei confronti delle beta cellule e, pertanto, la massima efficacia si ottiene in soggetti a rischio, che non abbiano ancora sviluppato l'autoimmunità e le alterazioni del metabolismo glucidico. Tuttavia l'identificazione di questi soggetti è resa difficoltosa dalla mancanza di validi biomarcatori e dagli elevati costi di una tale strategia. Ad oggi, la maggior parte degli studi di intervento con farmaci immunomodulanti è stata condotta su pazienti neodiagnosticati o con positività autoanticorpale, soggetti, cioè, con una riserva beta-cellulare potenzialmente anche molto ridotta - esito di un processo autoimmune iniziato molto tempo prima⁽⁵⁾. Per tale motivo, i trials di intervento con farmaci immunoterapici non hanno ottenuto effetti significativi a lungo termine sul controllo glicemico, ma hanno permesso di evidenziare che è possibile, almeno temporaneamente, modificare il decorso della malattia^(5, 6). Negli

ultimi anni, è stato dimostrato infatti che anche a distanza di molti anni dall'esordio del DM1 il pancreas dei soggetti affetti continua a produrre insulina endogena, compatibile con la presenza di beta cellule ancora funzionali⁽³⁾ e che verosimilmente è presente una rigenerazione beta-cellulare, pur in presenza di cellule linfocitarie autoreattive⁽⁷⁾. Questi dati lasciano ipotizzare che sia possibile una terapia mirata al ripristino delle beta cellule anche a distanza di anni dall'esordio del DM1 ma, allo stesso tempo, indicano che l'insulite, ovvero la lesione istopatologica che meglio caratterizza l'attacco autoimmune nei confronti delle beta cellule, permane negli anni; pertanto si rendono necessarie strategie a lungo termine dirette contro i vari attori del sistema immunitario, responsabili del processo autoimmune⁽⁸⁾.

Attualmente, le strategie terapeutiche per il DM1 basate sull'immunoterapia possono essere classificate in due categorie: antigene-indipendenti (o non antigene-specifiche) ed antigene-dipendenti (o antigene-specifiche)^(9, 10). In considerazione della complessità del DM1, le strategie più efficaci sembrano essere quelle di combinazione di diversi approcci.

Le strategie antigene-indipendenti comprendono:

- farmaci immunosoppressori
- terapie basate su anticorpi
- strategie basate su citochine
- strategie che inducano l'incremento numerico delle cellule dendritiche tollerogeniche e delle cellule T regolatorie (Treg) policlonali.

Le strategie antigene-dipendenti includono:

- vaccini basati su autoantigeni di derivazione beta-cellulare
- approcci 'adoptive transfer'
- soppressione specifica dei cloni cellulari di cellule T autoreattive sfruttando il meccanismo di presentazione dell'antigene⁽⁸⁾.

Tra i farmaci immunosoppressori, il primo agente studiato è stato la ciclosporina A, che è risultata in grado di preservare apparentemente con successo la funzione beta cellulare, inducendo però nefrotossicità, tanto da imporre una conclusione anticipata della sperimentazione con tale farmaco⁽⁵⁾. L'induzione di questo tipo di tolleranza potrebbe non portare specificamente al blocco delle cellule linfocitarie autoreattive che infiltrano le isole pancreatiche; pertanto, per garantire un'azione mirata sulle cellule immunitarie sono stati testati farmaci specifici rivolti verso le cellule che caratterizzano l'infiltrato infiammatorio a livello insulare^(11, 12, 13). Purtroppo, questi approcci hanno portato ad un successo soltanto parziale, in assenza di un reale ripristino della normoglicemia, pur con un rallentamento della perdita di C-peptide.

Le terapie basate sull'utilizzo di anticorpi monoclonali sfruttano i segnali co-stimolatori coinvolti nell'attivazione delle cellule T, in modo da ottenere l'induzione di anergia in tali cellule e la loro deplezione. A questo scopo, alcuni trials clinici hanno testato l'utilizzo di anticorpi monoclonali anti-CD3 (Teplizumab, Otelixizumab), diretti contro il complesso CD3/recettore delle cellule T (TCR) ed in grado di bloccare l'attivazione delle cellule T secondaria al legame di CD3 al TCR. Altri studi hanno valutato invece la modulazione della via di segnale CTLA4, attraverso una proteina di fusione composta dalla porzione Fc dell'IgG1 umana con il dominio extracellulare di CTLA4 (Abatacept), allo scopo di indurre anergia delle cellule T. Altri autori hanno indagato l'efficacia di molecole anti CD2 (Alefcept) nel bloccare l'attivazione delle cellule T della memoria ed effettrici, inducendone l'apoptosi tramite l'inibizione del segnale co-stimolatore CD2-indotto. Infine, è stata utilizzata la globulina anti-timocita (ATG) che sembra in grado di distruggere le cellule T attivate^(9, 14).

L'inibizione dell'espressione di citochine pro-infiammatorie si è dimostrata efficace in alcune patologie autoimmuni ed alcuni dati evidenziano come l'inibizione dell'interleuchina 1 (IL1) e del fattore di necrosi tumorale α (TNF α) permettano di preservare la massa beta-cellulare. Sono attualmente in corso studi sull'effetto protettivo del blocco delle vie di segnale di IL6 ed IL12/23 sulle beta cellule⁽⁹⁾.

L'induzione dell'espansione delle cellule Treg autologhe ad oggi non ha dimostrato invece di poter modificare l'evoluzione del DM1 o di migliorare il controllo glicemico. Analogamente, le strategie di deplezione delle cellule B possono ridurre la produzione di autoanticorpi, tuttavia l'effetto sui livelli di C-peptide sembra essere trascurabile⁽⁹⁾.

Le strategie antigene-dipendenti hanno il vantaggio di preservare la normale omeostasi del sistema immunitario, andando a modificare in maniera specifica l'autoimmunità correlata al DM1. Tra queste strategie, l'esposizione ad antigeni beta-cellulari per indurre tolleranza nelle cellule T potrebbe essere efficace nel preservare la massa beta-cellulare. A tale scopo, alcuni vaccini sono stati sperimentati in modelli animali con un discreto successo, tuttavia l'eterogeneità della malattia nell'uomo rende tale approccio al momento poco utilizzabile. Ancora in studio sono invece strategie in grado di indurre tolleranza nelle cellule T effettrici, attraverso l'identificazione di specifici peptidi o autoantigeni presentati da cellule specializzate, che determinano l'attivazione di cellule T CD8+ responsabili dell'inizio della distruzione beta-cellulare. Un altro approccio promettente sembra essere quello di ottenere la deplezione delle cellule B "insulino-reattive", coinvolte nell'espressione di molecole co-stimolatorie responsabili dell'attivazione delle cellule T effettrici⁽⁹⁾ (Figura 4).

Immunoterapia nei soggetti predisposti

Ad oggi sono scarsi i dati che documentano l'effetto dell'immunoterapia in prevenzione primaria, ovvero nei soggetti senza positività auto-anticorpale o alterazioni metaboliche. Uno studio pilota di fase I/II, condotto su 25 bambini (2-7 anni) senza autoanticorpi ma con anamnesi familiare positiva per DM1 e suscettibilità genetica, ha dimostrato che la somministrazione giornaliera di 67.5 mg di insulina orale, rispetto al placebo, determinava una risposta immunitaria, in assenza di ipoglicemia⁽¹⁵⁾. Successivi studi di fase 3 saranno necessari per dimostrare se tale trattamento possa prevenire la comparsa di autoimmunità e di diabete clinicamente manifesto in una simile popolazione ad alto rischio.

STADI DI MALATTIA E STRATEGIE TERAPEUTICHE

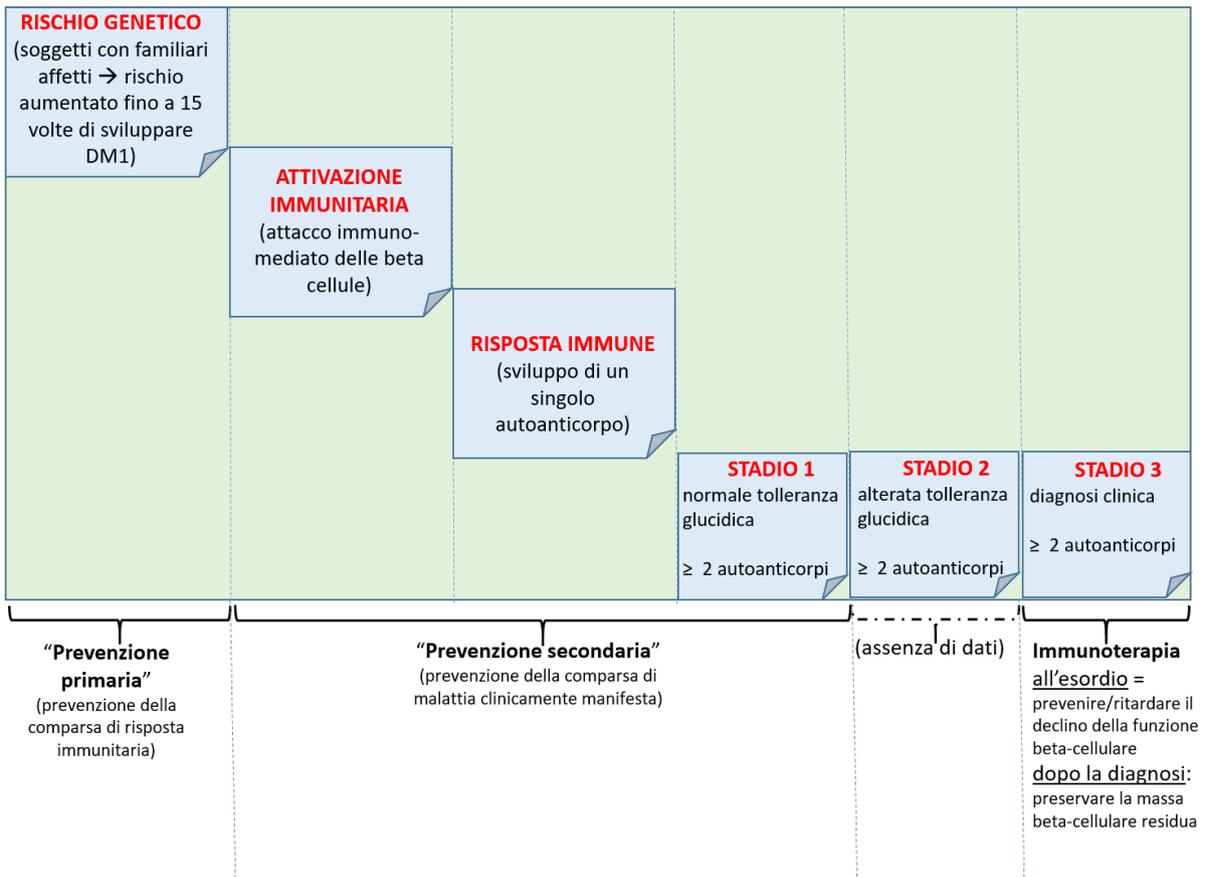


Figura 4. Strategie terapeutiche nei vari stadi di malattia.

Per quanto riguarda gli studi di prevenzione secondaria, condotti in soggetti che hanno già sviluppato autoimmunità, diversi trattamenti sono stati testati o sono in corso di valutazione.

Gli studi condotti dal gruppo Diabetes Prevention Trial – Type 1 (DPT-1) hanno documentato l'assenza di efficacia della somministrazione di insulina nel prevenire il DM1 in soggetti a rischio. Nel primo studio⁽¹⁶⁾ 372 parenti di primo e secondo grado di pazienti con DM1, con un rischio calcolato a 5 anni >50% di sviluppare diabete, venivano randomizzati alla semplice osservazione oppure alla somministrazione di basse dosi di insulina basale sottocute due volte al giorno (0.25 unità/kg/die) in aggiunta all'infusione endovenosa di insulina per 4 giorni consecutivi all'anno. Il follow-up mediano è stato di 3.7 anni. Il tasso di progressione verso il DM1 nei due gruppi risultava sovrapponibile, con un'incidenza cumulativa simile. Il dato è stato confermato

anche in un ulteriore studio in cui è stata utilizzata insulina regolare prima del pasto più ricco in carboidrati in 25 soggetti di età compresa tra 5 e 40 anni con positività degli autoanticorpi IA2 e normale tolleranza glucidica, confrontati con un gruppo non trattato⁽¹⁷⁾. Il secondo studio del gruppo DPT-1⁽¹⁸⁾ prevedeva invece l'utilizzo di insulina orale (7.5 mg/die) o di placebo in 372 soggetti con positività autoanticorpale e con un rischio di sviluppare DM1 a 5 anni del 26 – 50%. Il follow-up mediano era di 4.3 anni. Anche in questo studio, non vi erano differenze nell'incidenza di DM1 tra il gruppo trattato con insulina orale ed il gruppo placebo, sebbene in un sottogruppo di soggetti con elevato titolo anticorpale al momento dell'arruolamento, l'uso di insulina orale mostrasse dei benefici, ovvero un ritardo nella progressione verso il diabete di 4.5–5 anni nei soggetti con titolo degli anticorpi IAA superiore a 80 nU/ml al basale e di 10 anni negli indi-

vidui con titolo anticorpale superiore a 300 nU/ml al basale. Pertanto, un successivo studio ha valutato l'uso di insulina orale in una coorte simile; in particolare, sono stati arruolati parenti a rischio di soggetti con DM1, con almeno 2 autoanticorpi positivi, randomizzati a ricevere 7.5 mg/die di insulina orale o placebo⁽¹⁹⁾, senza tuttavia dimostrare differenze significative nel tempo trascorso fino alla diagnosi di diabete, concludendo quindi per una mancanza di efficacia del trattamento nel prevenire l'insorgenza di DM1 in soggetti a rischio.

Altri studi hanno valutato l'uso di insulina intranasale per indurre tolleranza immunologica in soggetti a rischio di sviluppare diabete. Lo studio DIPP (The Type 1 Diabetes Prediction and Prevention) condotto su neonati con elevata suscettibilità genetica (HLA-DQB1) e almeno 2 autoanticorpi positivi, randomizzati a ricevere insulina intranasale (1 UI/kg/die) o placebo, in doppio cieco, e sui fratelli di tali soggetti, anch'essi con alleli di rischio ed almeno 2 autoanticorpi positivi, ha evidenziato un tasso di progressione verso il diabete sovrapponibile tra i soggetti trattati con insulina ed il gruppo placebo⁽²⁰⁾. Il trial INIT-I (The Intranasal Insulin Trial), condotto su 38 soggetti a rischio di sviluppare DM1, con positività autoanticorpale, di età compresa tra 5-33 anni, ha dimostrato che, rispetto al placebo, l'uso di insulina nasale per 10 giorni consecutivi e successivamente per 2 giorni alla settimana per 6 mesi, non accelerava l'esordio del diabete e si associava a ridotta risposta T-cellulare all'insulina⁽²¹⁾.

Un altro approccio antigene-specifico consiste nella somministrazione intradermica di peptidi (come proinsulina, decarbossilasi dell'acido glutamico - GAD). Lo studio DIAPREV-IT (Diabetes Prevention—Immune Tolerance) ha valutato l'uso di GAD coniugato ad idrossido di alluminio (GAD-alum) in soggetti non diabetici di 4 – 17.9 anni di età e positività per autoanticorpi contro la glutammato-decarbossilasi (GADA) ed almeno per un altro autoanticorpo. I soggetti erano randomizzati a ricevere 2 iniezioni di 20 µg di GAD-Alum o placebo a distanza di 30 giorni. GAD-Alum si è dimostrato sicuro ma non influenzava la progressione verso il DM1⁽²²⁾.

Per quanto concerne l'uso di terapie immunosoppressive o immunomodulanti, in uno studio pilota condotto da un gruppo di studio francese,

l'uso di basse dosi di ciclosporina nei parenti di primo grado di soggetti diabetici, con autoimmunità, ridotta risposta insulinica ed alterata tolleranza glucidica, suggeriva che il trattamento potesse ritardare lo sviluppo di DM1⁽²³⁾.

Lo studio TN10, promosso da TrialNet, uno studio di fase 2, multicentrico, controllato, randomizzato verso placebo, è stato disegnato per valutare se l'anticorpo monoclonale anti-CD3 teplizumab potesse ritardare l'insorgenza del DM1 in individui di età compresa tra 8 e 45 anni, con un parente di primo o di secondo grado affetto da DM1, che presentassero un deficit nella secrezione insulinica (valutato tramite un test di tolleranza al glucosio dopo OGTT) e la presenza di almeno due autoanticorpi beta-cellulo specifici. Il trattamento è stato eseguito su 76 soggetti (di cui 55 di età inferiore ai 18 anni) e consisteva in una infusione endovenosa di farmaco per 14 giorni consecutivi (l'infusione aveva una durata di 30 minuti e veniva seguita da un'osservazione di 2 ore). I risultati hanno mostrato che teplizumab è in grado di ritardare la comparsa del DM1 di 2 anni. Nel gruppo di controllo, il 72% delle persone ha sviluppato diabete clinicamente manifesto (con una mediana di 24 mesi), rispetto al solo 43% del gruppo trattato con teplizumab (mediana di sviluppo del DM1 pari a 48 mesi). Tra gli effetti collaterali a breve termine, peraltro già noti in altri studi con teplizumab, sono stati segnalati eruzioni cutanee e decremento della conta leucocitaria. Questo è il primo studio a mostrare che un farmaco può ritardare la diagnosi di DM1 con una mediana di 2 anni nei soggetti ad alto rischio⁽²⁴⁾.

Un altro studio promosso da TrialNet e tuttora in corso, sta valutando l'uso di abatacept, somministrato tramite infusione endovenosa, della durata di 30 minuti, in 14 somministrazioni nell'arco di 1 anno, allo scopo di dimostrare l'efficacia nel ritardare l'esordio del diabete in parenti di soggetti affetti da DM1, con almeno 2 anticorpi positivi e normale tolleranza glucidica⁽²⁵⁾.

Immunoterapia nei pazienti all'esordio clinico della malattia

Le terapie immunomodulanti hanno dimostrato benefici nel DM1 di recente insorgenza,

sebbene la risposta al trattamento sia eterogenea e l'effetto a lungo termine limitato. Numerosi studi hanno indagato l'uso di terapie basate su anticorpi.

L'uso di teplizumab, menzionato prima, è stato valutato anche in pazienti con recente esordio di DM1, dimostrando di ridurre il declino dei livelli di C-peptide fino a 2 anni dopo la diagnosi⁽²⁶⁾. Gli effetti collaterali del trattamento sono stati perlopiù transitori (rash cutaneo, nausea, cefalea, infezioni delle vie respiratorie superiori). Alla luce dei promettenti risultati di teplizumab, uno studio di fase 3 è in corso negli Stati Uniti per valutare l'efficacia del farmaco all'esordio del diabete nei bambini e negli adolescenti⁽²⁷⁾. I risultati sono attesi per il Maggio 2022. Nei pazienti con recente insorgenza di DM1, abatacept (10mg/kg fino ad una dose massima di 1000 mg per dose), in infusione endovenosa a 1, 14, 28 giorni e poi una volta al mese per 2 anni, sembra efficace nel rallentare il declino funzionale beta-cellulare rispetto al placebo, sebbene dopo 6 mesi di trattamento il declino di funzione delle cellule beta sia parallelo nei due gruppi⁽²⁸⁾. Il farmaco è risultato ben tollerato, con una simile incidenza di reazioni avverse all'infusione (22% nel gruppo trattato, 17% nel gruppo placebo). Nei soggetti con recente insorgenza di DM1 (<100 giorni), basse dosi di globulina anti-timocita (ATG), somministrate per via endovenosa (2.5 mg/kg), rallentano significativamente il declino dei livelli di C-peptide rispetto al placebo e l'aggiunta del fattore di crescita stimolante le colonie di granulociti (G-CSF) (6 dosi da 6 mg sottocute ogni 2 settimane) non sembra migliorare i livelli di C-peptide⁽²⁹⁾. Uno studio statunitense di fase 2, condotto in pazienti affetti da DM1 (12 – 35 anni), diagnosticato da non più di 100 giorni, ha valutato la variazione dei livelli stimolati di C-peptide rispetto al basale dopo trattamento con l'immunosoppressore alefacept, una proteina di fusione che interferisce con CD2, inducendo deplezione dei linfociti T della memoria effettori e della memoria centrale. I pazienti sono stati trattati con due cicli di 12 settimane di alefacept alla dose di 15 mg/settimana intramuscolo, oppure con placebo. A 12 mesi dal trattamento, la differenza nei livelli di C-peptide stimolato (2 ore dallo stimolo) non era significativa, tuttavia alefacept sembrava preservare i livelli di C-peptide dopo 4 ore dallo stimolo ed il trat-

tamento si associava ad un numero significativamente minore di ipoglicemie rispetto al placebo. Inoltre, il fabbisogno insulinico risultava inferiore nei soggetti trattati con alefacept rispetto a quelli trattati con placebo⁽³⁰⁾.

Altri studi hanno indagato l'efficacia di terapie basate su citochine. In particolare, il trattamento con etanercept, un anticorpo monoclonale specifico ed interferente con l'attività del TNF- α , in pazienti pediatriche con DM1 di nuova diagnosi, con positività autoanticorpale, HbA1c >6% e già in trattamento insulinico, sembra in grado di ridurre i livelli di HbA1c dopo 24 settimane di trattamento e di aumentare la produzione endogena di insulina, con conseguente riduzione delle dosi di insulina rispetto al basale⁽³¹⁾. Altri autori hanno dimostrato che bambini con DM1, ad 1 settimana dalla diagnosi, trattati con un breve ciclo (28 giorni) di anakinra, un antagonista del recettore dell'interleuchina 1, avevano livelli paragonabili di HbA1c e simile risposta al test di tolleranza al pasto (MMTT), ma il fabbisogno insulinico era significativamente inferiore rispetto a soggetti non trattati⁽³²⁾.

La terapia MonoPepT1de prevede l'iniezione parenterale di piccoli segmenti di pro-insulina. Tale trattamento è stato praticato su 21 soggetti con diagnosi di DM1, mentre ad altri 8 è stato somministrato placebo. Entrambi i gruppi hanno ricevuto un'iniezione settimanale per 6 mesi. A 12 mesi dall'inizio dello studio, i pazienti appartenenti al gruppo placebo hanno avuto la necessità di incrementare la dose di insulina in media del 50%. Coloro che invece sono stati sottoposti ad immunoterapia hanno mantenuto una posologia stabile di insulina e non hanno mostrato alcun segno di distruzione beta-cellulare. Idealmente tale terapia dovrebbe essere rivolta ai bambini che iniziano a sviluppare la malattia e possibilmente, a soggetti con un elevato rischio genetico di DM1⁽³³⁾.

DIAGNODE-1) è uno studio clinico pilota in "aperto" a cui hanno partecipato 12 pazienti tra i 12 e i 30 anni con DM1 di nuova diagnosi, nell'ambito del quale è stato sperimentato un vaccino contro il DM 1 (Diamyd®), somministrato in tre occasioni, a intervalli mensili, a basse dosi, direttamente nel linfonodo⁽³⁴⁾. I pazienti hanno anche ricevuto un'integrazione orale con

vitamina D per quattro mesi. Lo studio è stato progettato per valutare la sicurezza, la risposta immunologica e l'efficacia clinica del trattamento, con valutazione dopo 6, 15 e 30 mesi di follow-up. Lo scopo del trattamento con Diamyd® è stato quello di preservare la produzione endogena di insulina, interrompendo il processo autoimmune che porta alla distruzione delle beta cellule. Tre pazienti adulti hanno partecipato anche ad un'estensione dello studio, corrispondente ad una quarta iniezione di Diamyd®, circa 2,5 anni dopo il loro arruolamento nella sperimentazione clinica. L'obiettivo dell'estensione è stato valutare la sicurezza di una quarta iniezione di Diamyd®, l'impatto sul sistema immunitario e la produzione endogena di insulina. Dopo la quarta iniezione, i pazienti sono stati seguiti per altri 11 mesi. Lo scopo della somministrazione intralinfonodale è quello di aumentare, in modo semplice e sicuro, l'effetto dell'immunoterapia specifica dell'antigene. DIAGNODE-1 è il primo studio clinico a valutare tale via di somministrazione in una malattia autoimmune con l'obiettivo di indurre tolleranza immunologica contro un antigene endogeno. Sono attualmente in corso studi clinici (DIAGNODE-1 e DIAGNODE-2) per valutare la sicurezza e l'efficacia di tale terapia^(35, 36).

Alcuni ricercatori dell'università di san Francisco hanno utilizzato le cellule T-regs, responsabili della tolleranza immunologica, che normalmente impedisce l'aggressione delle beta cellule da parte del sistema immunitario, ed il cui numero risulta ridotto nelle persone affette da DM1. Tali linfociti sono stati estratti dai pazienti, moltiplicati in laboratorio e nuovamente infusi nel torrente circolatorio, con lo scopo di mantenere costante la produzione di insulina per almeno un anno. Oltre a non provocare effetti avversi, il trattamento è risultato discretamente efficace nel tempo, con un quarto delle cellule infuse che risultavano rilevabili nel sangue dei pazienti un anno dopo il primo trattamento⁽³⁷⁾.

La modulazione delle cellule B e della produzione di anticorpi è stata valutata attraverso uno studio sull'uso di rituximab, un anticorpo monoclonale anti-CD20, in pazienti con recente insorgenza di DM1. Il trial ha dimostrato l'efficacia del farmaco nel ridurre i livelli di emoglobina glicata, associata ad incremento dei livelli di C-peptide

e riduzione del fabbisogno insulinico, tuttavia, dopo 2 anni dal trattamento non sono state osservate alterazioni nella produzione di cellule B CD19+ o di anticorpi⁽³⁸⁾.

Immunoterapia dopo anni di malattia

Sebbene l'immunoterapia sia prevalentemente studiata come strategia preventiva nel DM1, esistono alcuni dati che documentano benefici ottenuti con trattamenti che agiscono sul sistema immunitario in pazienti con DM1 già conclamato.

Uno studio pilota ha suggerito che la combinazione di basse dosi di globulina anti-timocita (ATG) e di fattore di crescita stimolante le colonie di granulociti (G-CSF) possa preservare i livelli di C-peptide in pazienti affetti da DM1, con durata di malattia da 4 mesi a 2 anni. Il trattamento prevedeva l'infusione di 2.5 mg/kg di ATG endovena seguita da GSF (6 dosi da 6 mg sottocute ogni 2 settimane). La differenza nei livelli di C-peptide stimolato nei due gruppi risultava al limite della significatività statistica; inoltre, dopo 6 mesi di trattamento, i pazienti trattati mostravano livelli inferiori di HbA1c rispetto al gruppo placebo⁽³⁹⁾.

La modulazione antigene-specifica del sistema immunitario attraverso l'uso di piccoli peptidi, anziché di interi antigeni insulari, è stata valutata in uno studio in cui gli autori hanno somministrato per via intradermica un epitopo (C19-A3) presente nella proinsulina – ma non nell'insulina –, allo scopo di valutarne sicurezza ed efficacia nei pazienti con DM1 e durata di malattia superiore a 5 anni. I soggetti arruolati presentavano un genotipo HLA-DRB1*040, livelli di C-peptide stimolato ≤ 0.2 nmol/l dopo 6 minuti dalla somministrazione endovena di 1 mg di glucagone ed HbA1c $< 10\%$. I pazienti ricevevano 30 ug o 300 ug di peptide in 3 dosi a 0, 1 e 2 mesi oppure nessun trattamento. La terapia è risultata ben tollerata, in assenza di rischi di anafilassi sistemica o induzione/riattivazione di risposta autoimmune. Lo studio offre dati preliminari sulla possibile induzione di cellule T CD4+ IL10+ peptide-specifiche, a seguito del trattamento, e su un possibile beneficio metabolico nel gruppo trattato con basse dosi di peptide rispetto ai controlli in termini di riduzione dei livelli di emoglobina glicata a 6 mesi rispetto al basale (40).

Bibliografia

1. Effects of age, duration and treatment of insulin-dependent diabetes mellitus on residual beta-cell function: observations during eligibility testing for the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The DCCT Research Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 65(1):30-6.
2. C-peptide in juvenile diabetics beyond the postinitial remission period. Relation to clinical manifestations at onset of diabetes, remission and diabetic control. Ludvigsson J, Heding LG, Larsson Y, Leander E. *Acta Paediatr Scand.* 1977; 66(2):177-84.
3. The majority of patients with long-duration type 1 diabetes are insulin microsecretors and have functioning beta cells. Oram RA, Jones AG, Besser RE, Knight BA, Shields BM, Brown RJ, Hattersley AT, McDonald TJ. *Diabetologia.* 2014; 57(1):187-91.
4. Low-Level Insulin Content Within Abundant Non- β Islet Endocrine Cells in Long-standing Type 1 Diabetes. Lam CJ, Chatterjee A, Shen E, Cox AR, Kushner JA. *Diabetes.* 2019; 68(3): 598-608.
5. New Frontiers in the Treatment of Type 1 Diabetes. Warshauer JT, Bluestone JA, Anderson MS. *Cell Metab.* 2019; pii: S1550-4131(19)30624-2.
6. Combination Immunotherapy for Type 1 Diabetes. Bone RN, Evans-Molina C. *Curr Diab Rep.* 2017 Jul; 17(7):50.
7. Direct evidence of attempted beta cell regeneration in an 89-year-old patient with recent-onset type 1 diabetes. Meier JJ, Lin JC, Butler AE, Galasso R, Martinez DS, Butler PC. *Diabetologia.* 2006; 49(8): 1838-44.
8. Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients. Coppieters KT, Dotta F, Amirian N, Campbell PD, Kay TW, Atkinson MA, Roep BO, von Herrath MG. *J Exp Med.* 2012;209(1):51-60.
9. New Insights into Immunotherapy Strategies for Treating Autoimmune Diabetes. Cabello-Olmo M, Araña M, Radichev I, Smith P, Huarte E, Barajas M. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(19).
10. Therapies to Suppress β Cell Autoimmunity in Type 1 Diabetes. Kroger CJ, Clark M, Ke Q, Tisch RM. *Front Immunol.* 2018; 9:1891.
11. Immuno-intervention and preservation of beta-cell function in type 1 diabetes. Pozzilli P. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007; 23(4):255-6.
12. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. Diabetes Prevention Trial -Type 1 Diabetes Study Group. *N Engl J Med.* 2002; 346(22):1685-91.
13. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes. Gale EA, Bingley PJ, Emmett CL, Collier T; European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Group. *Lancet.* 2004; 363(9413):925-31.
14. Approaches in immunotherapy, Regenerative Medicine, and Bioengineering for Type 1 Diabetes. Kopan C, Tucker T, Alexander M, Mohammadi MR, Pone EJ, Lakey JRT. *Front Immunol.* 2018; 9:1354.
15. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. Bonifacio E, Ziegler AG, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, Theil A, Eugster A, Puff R, Peplow C, Buettner F, Lange K, Hasford J, Achenbach P; Pre-POINT Study Group. *JAMA.* 2015; 313(15):1541-9.

16. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. Diabetes Prevention Trial--Type 1 Diabetes Study Group. *N Engl J Med.* 2002; 346(22):1685-91.
17. Insulin treatment in IA-2A-positive relatives of type 1 diabetic patients. Vandemeulebroucke E, Gorus FK, Decochez K, Weets I, Keymeulen B, De Block C, Tits J, Pipeleers DG, Mathieu C; Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Metab.* 2009; 35(4): 319-27.
18. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: The Diabetes Prevention Trial - Type 1. Skyler JS, Krischer JP, Wolfsdorf J, Cowie C, Palmer JP, Greenbaum C, Cuthbertson D, Rafkin-Mervis LE, Chase HP, Leschek E. *Diabetes Care.* 2005; 28(5): 1068-76.
19. Effect of Oral Insulin on Prevention of Diabetes in Relatives of Patients With Type 1 Diabetes: A Randomized Clinical Trial. Writing Committee for the Type 1 Diabetes TrialNet Oral Insulin Study Group, Krischer JP, Schatz DA, Bundy B, Skyler JS, Greenbaum CJ. *JAMA.* 2017 Nov 21;318(19):1891-1902.
20. Nasal insulin to prevent type 1 diabetes in children with HLA genotypes and autoantibodies conferring increased risk of disease: a double-blind, randomised controlled trial. Näntö-Salonen K1, Kupila A, Simell S, Siljander H, Salonsaari T, Hekkala A, Korhonen S, Erkkola R, Sipilä JI, Haavisto L, Siltala M, Tuominen J, Hakalax J, Hyöty H, Ilonen J, Veijola R, Simell T, Knip M, Simell O. *Lancet.* 2008; 372(9651): 1746-55.
21. Pancreatic beta-cell function and immune responses to insulin after administration of intranasal insulin to humans at risk for type 1 diabetes. Harrison LC1, Honeyman MC, Steele CE, Stone NL, Sarugeri E, Bonifacio E, Couper JJ, Colman PG. *Diabetes Care.* 2004; 27(10):2348-55.
22. Safety and efficacy of autoantigen-specific therapy with 2 doses of alum-formulated glutamate decarboxylase in children with multiple islet autoantibodies and risk for type 1 diabetes: A randomized clinical trial. Elding Larsson H, Lundgren M, Jonsdottir B, Cuthbertson D, Krischer J; DiAPREV-IT Study Group. *Pediatr Diabetes.* 2018; 19(3): 410-419.
23. Cyclosporine delays but does not prevent clinical onset in glucose intolerant pre-type 1 diabetic children. Carel JC, Boitard C, Eisenbarth G, Bach JF, Bougneres J. *J Autoimmun.* 1996; 9:739-745.
24. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, Gitelman SE, Gottlieb PA, Krischer JP, Linsley PS, Marks JB, Moore W, Moran A, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Skyler JS, Tsalikian E, Wherrett DK, Ziegler AG, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. *N Engl J Med.* 2019; 381(7): 603-613.
25. CTLA4-Ig (Abatacept) for Prevention of Abnormal Glucose Tolerance and Diabetes in Relatives At -Risk for Type 1. NCT01773707. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01773707>
26. Teplizumab (anti-CD3 mAb) treatment preserves C-peptide responses in patients with new-onset type 1 diabetes in a randomized controlled trial: metabolic and immunologic features at baseline identify a subgroup of responders. Herold KC1, Gitelman SE, Ehlers MR, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Hagopian W, Boyle KD, Keyes-Elstein L, Aggarwal S, Phippard D, Sayre PH, McNamara J, Bluestone JA; AbATE Study Team. *Diabetes.* 2013; 62(11): 3766-74.
27. Recent-Onset Type 1 Diabetes Trial Evaluating Efficacy and Safety of Teplizumab PROTECT. NCT03875729. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03875729>
28. Co-stimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Orban T, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Marks JB, Monzavi R, Moran A, Raskin P, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Wherrett D, Wilson DM, Krischer JP, Skyler JS; Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group. *Lancet.* 2011; 378(9789): 412-9.
29. Low-Dose Anti-Thymocyte Globulin (ATG) Preserves β -Cell Function and Improves

- HbA1c in New-Onset Type 1 Diabetes. Haller MJ, Schatz DA, Skyler JS, Krischer JP, Bundy BN, Miller JL, Atkinson MA, Becker DJ, Baidal D, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Herold KC, Marks JB, Moran A, Rodriguez H, Russell W, Wilson DM, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet ATG-GCSF Study Group. *Diabetes Care*. 2018; 41(9): 1917-1925.
30. Targeting of memory T cells with alefacept in new-onset type 1 diabetes (T1DAL study): 12 Month results of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. Rigby, M.R.; DiMeglio, L.A.; Rendell, M.S.; Felner, E.I.; Dostou, J.M.; Gitelman, S.E.; Patel, C.M.; Griffin, K.J.; Tsalikian, E.; Gottlieb, P.A.; et al. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013, 1, 284–294
 31. Etanercept treatment in children with new-onset type 1 diabetes: pilot randomized, placebo-controlled, double-blind study. Mstrandrea L, Yu J, Behrens T, Buchlis J, Albin C, Fournier S, Quattrin T. *Diabetes Care*. 2009; 32(7):1244-9.
 32. Preliminary studies related to anti-interleukin-1 β therapy in children with newly diagnosed type 1 diabetes. Sumpster KM, Adhikari S, Grishman EK, White PC. *Pediatr Diabetes*. 2011; 12(7):656-67.
 33. Metabolic and immune effects of immunotherapy with proinsulin peptide in human new-onset type 1 diabetes. Alhadj Ali M, Liu YF, Arif S, Tatovic D, Shariff H, Gibson VB, Yusuf N, Baptista R, Eichmann M, Petrov N, Heck S, Yang JHM, Tree TIM, Pujol-Autonell I, Yeo L, Baumard LR, Stenson R, Howell A, Clark A, Boult Z, Powrie J, Adams L, Wong FS, Luzio S, Dunseath G, Green K, O'Keefe A, Bayly G, Thorogood N, Andrews R, Leech N, Joseph F, Nair S, Seal S, Cheung H, Beam C, Hills R, Peakman M, Dayan CM. *Sci Transl Med*. 2017; 9(402).
 34. Intralymphatic Glutamic Acid Decarboxylase-Alum Administration Induced Th2-Like-Specific Immunomodulation in Responder Patients: A Pilot Clinical Trial in Type 1 Diabetes. Tavira B, Barcenilla H, Wahlberg J, Achenbach P, Ludvigsson J, Casas R. *J Diabetes Res*. 2018; 2018: 9391845.
 35. GAD-Alum (Diamyd) Administered Into Lymph Nodes in Combination With Vitamin D in Type 1 Diabetes (DIAGNODE-1) (DIAGNODE). NCT02352974. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02352974?term=DIAGNODE&cond=diabetes&draw=2&rank=1>
 36. A Phase IIb, 2-Arm, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled, Multicentre Study to Optimize Diamyd® Therapy Administered Into Lymph Nodes Combined With Oral Vitamin D to Investigate the Impact on the Progression of Type 1 Diabetes. (DIAGNODE-2). NCT03345004. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03345004>
 37. Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. Bluestone JA, Buckner JH, Fitch M, Gitelman SE, Gupta S, Hellerstein MK, Herold KC, Lares A, Lee MR, Li K, Liu W, Long SA, Masiello LM, Nguyen V, Putnam AL, Rieck M, Sayre PH, Tang Q. *Sci Transl Med*. 2015 Nov 25;7(315):315ra189.
 38. B-lymphocyte depletion with rituximab and β -cell function: two-year results. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Bundy B, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Marks JB, Moran A, Raskin P, Rodriguez H, Schatz DA, Wherrett DK, Wilson DM, Krischer JP, Skyler JS; Type 1 Diabetes TrialNet Anti-CD20 Study Group. *Diabetes Care*. 2014; 37(2):453-9.
 39. Anti-thymocyte globulin/G-CSF treatment preserves β cell function in patients with established type 1 diabetes. Haller MJ, Gitelman SE, Gottlieb PA, Michels AW, Rosenthal SM, Shuster JJ, Zou B, Brusko TM, Hulme MA, Wasserfall CH, Mathews CE, Atkinson MA, Schatz DA. *J Clin Invest*. 2015; 125(1):448-55.
 40. Proinsulin peptide immunotherapy in type 1 diabetes: report of a first-in-man Phase I safety study. Thrower SL, James L, Hall W, Green KM, Arif S, Allen JS, Van-Krinks C, Lozanoska-Ochser B, Marquesini L, Brown S, Wong FS, Dayan CM, Peakman M. *Clin Exp Immunol*. 2009; 155(2):156-65.
 41. Guidelines for intervention trials in subjects with newly diagnosed type 1 diabetes. Greenbaum CJ, Harrison LC; Immunology of Diabetes Society. *Diabetes*. 2003; 52(5):1059-65.

Prima di tutto le Associazioni ringraziano il Gruppo di Studio AMD Diabete T1 per tutto il lavoro che è stato fatto, per averci aiutati a capire meglio cosa significa vivere con il DT1, toccando anche l'argomento Trapianti che è stato ed è ancora un vero tabù.

Grazie dunque per questo testo che cerca di esplorare e spiegare in modo comprensibile il mondo complesso e poco conosciuto dei trapianti per le persone con diabete tipo 1.

È utile chiarire che a tutt'oggi il trapianto non è la prima cura che viene proposta a chi ha il diabete e anche quando la "fine" della terapia con insulina sembra liberatoria, grazie ai trapianti, saranno necessari altri farmaci, più tossici e pericolosi.

Fortunatamente i farmaci e la tecnologia messa a disposizione oggi dalla Ricerca scientifica alle persone con diabete consentono di vivere con il diabete "una vita intera".

Fino a 100 anni fa, la diagnosi di DT1 era nefasta e le persone che si ammalavano morivano in breve tempo. L'insulina è un farmaco relativamente nuovo, oggi siamo a 100 anni dalla scoperta dell'insulina, un secolo di vita. L'insulina ha contribuito a rendere la vita dei diabetici sempre migliore, pertanto ringraziamo la ricerca scientifica perchè sviluppando insuline sempre più evolute, studiate per rispondere ai bisogni delle persone ha permesso una vita sempre di migliore qualità.

Ciò nonostante il DT1 è ancora oggi per molte persone una malattia instabile e complessa, di difficile gestione, che porta complicanze gravi e compromette organi vitali.

Negli ultimi anni la scienza ha offerto nuove opportunità e quando compaiono gravi complicanze, quando la stessa sopravvivenza sembra compromessa, il trapianto di organo, ove possibile, è una vera rinascita. Non è un intervento banale, è molto difficile avere organi compatibili ed è altrettanto difficile l'intervento, ma quando è possibile e soprattutto quando c'è un esito favorevole, la vita si allunga di molti, molti anni ancora.

L'altro tipo di trapianto, destinato a particolari tipologie di persone con diabete tipo 1, è il trapianto di Insule Pancreatiche, meno invasivo e più diffuso che rappresenta oggi una delle possibili soluzioni studiate.

In ogni caso dobbiamo tenere presente che, dopo un trapianto è sempre necessaria una terapia con immunosoppressori, questo tipo di terapia ha molte controindicazioni e per quanto oggi la tossicità di questi farmaci è diminuita, dobbiamo pensare che il trapianto non è indicato per il diabete in età pediatrica e non è indicato per tutte le persone che possono avere ottimi risultati con le terapie tradizionali e il supporto della tecnologia.

Resta comunque un traguardo importante, una strada ancora da esplorare e studiare che già oggi offre opportunità che non avremmo immaginato e che può far ben sperare per un futuro sempre più roseo.

Appendice

Federico Bertuzzi / SSD Diabetologia Ospedale Niguarda, Milano

1. Centri Italiani in cui è operativo un programma di trapianto di pancreas

Ospedale Maggiore - Parma	Emilia Romagna	Prof. Umberto Maggiore	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.521.702.020
A.O. San Camillo - Forlanini	Lazio	Dott. Giuseppe Maria Ettore	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.658.703.258
A.O.U. Policlinico Tor Vergata	Lazio	Prof. Giuseppe Tisone	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.620.902.498
Policlinico Umberto I	Lazio	Prof. Massimo Rossi	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.644.502.97
A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda - Milano	Lombardia	Prof. Luciano De Carlis	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.264.442.525
I.R.C.C.S. San Raffaele - Milano	Lombardia	Prof. Antonio Secchi	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.226.432.575
Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi	Lombardia	Dott. Giulio Carcano	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.332.278.449
A.O.U. Città della Salute e della Scienza Di Torino - P.O. Molinette	Piemonte	Prof. Luigi Biancone	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.116.335.672
A.O.U. Città della Salute e della Scienza di Torino - P.O. O.I.R.M. Sant'Anna	Piemonte	Dott. Bruno Gianoglio	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.113.135.362
Azienda Ospedaliera G. Brotzu	Sardegna	Dott. Giambenedetto Piredda	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.705.394.97
A.O.U. di Catania	Sicilia	Prof. Pierfrancesco Veroux	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.953.782.305
Is.Me.T.T.	Sicilia	Dott. Salvatore Piazza	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.912.192.111
A.O.U. Pisana - Ospedale Cisanello	Toscana	Prof. Ugo Boggi	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.509.968.73
Azienda Ospedaliera di Padova	Veneto	Prof. Paolo Rigotti	Pancreas + Rene Pancreas Isolato	0.498.217935

Le seguenti informazioni sono tratte dal sito del Centro Nazionale Trapianti.

<http://www.trapianti.salute.gov.it/trapianti/archivioCentriOrganiCnt.jsp?lingua=italiano®ione=&organo=Pancreas&btnCerca=cerca>

2. Centri Italiani in cui è operativo un programma di trapianto di isole pancreatiche

IRCCS Ospedale San Raffaele Ospedale universitario	Lombardia	Prof. Lorenzo Piemonti	Isole Isolate + Rene-isole	0226431
ASST Grande Ospedale Metropoli- tano Niguarda	Lombardia	Dott. Federico Bertuzzi	Isole Isolate + Rene- isole.	0264441



Figura 5 - Sala operatoria durante un trapianto di isole in omento.

3. Consenso informato per i pazienti candidati all'allotrapianto di isole isolate in diabete instabile



Foglio Informativo e di Consenso per il Paziente - Trapianto delle isole pancreatiche in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 non ben controllato dalla terapia insulinica.

Struttura S. Dipartimentale: Diabetologia
Responsabile: Dr Federico Bertuzzi

Numero di telefono 1: **02 6444.2464**
Numero di telefono 2: **02 6444.3927**
Fax: **02 6444.2082**

segreteria@ospedaleniguarda.it
federico.bertuzzi@ospedaleniguarda.it
www.ospedaleniguarda.it

Gentile Signore/Signora,
in questo Istituto viene adottata una procedura sperimentale su pazienti come Lei affetti di diabete mellito di tipo 1 non ben controllato dalla terapia insulinica: il trapianto delle isole pancreatiche isolate da pancreas di donatori cadavere.

Prima che decida se prendere parte alla procedura, gradiremmo illustrarLe i principali aspetti della procedura e i relativi rischi.

Una volta acquisite le informazioni necessarie, Le sarà chiesto di firmare questo modulo di consenso e una copia resterà a Lei.

PREMESSA

Che cosa è il diabete non controllato dalla terapia insulinica?

Per alcuni pazienti risulta difficile ottenere un accettabile controllo glicemico. La maggior parte di questi casi è dovuta ad errori del paziente nell'autocontrollo, nella gestione della terapia o ad una scarsa informazione ricevuta dal medico curante se non addirittura a schemi terapeutici non corretti. Esiste, tuttavia, un sottogruppo di pazienti diabetici caratterizzato da una severa instabilità dei valori glicemici con frequenti e imprevedibili episodi ipoglicemici e/o chetoacidotici che non possono essere spiegati da errori del paziente o del diabetologo (diabete instabile). In questi pazienti la qualità di vita peggiora in misura significativa, sia per la frequenza di eventi acuti (chetoacidosi diabetica, ipoglicemie severe) e di numerosi ricoveri ospedalieri, sia per la comparsa precoce di complicanze croniche. Questa condizione clinica è stata definita diabete instabile. Episodi di ipoglicemia ripetuti possono condurre il paziente a non accorgersi più dell'abbassamento dei valori glicemici (ipoglicemia non avvertita): questa è una complicanza talvolta drammatica per il paziente che perde progressivamente la sua autonomia con peggioramento della qualità di vita. Il paziente ha paura di restare solo perché teme di avere episodi di ipoglicemia senza avvertirli e perciò senza poter attuare le manovre terapeutiche appropriate, fino al coma. Uno studio epidemiologico condotto sulla popolazione inglese, riferisce una prevalenza di diabete instabile di circa 1:1000 pazienti diabetici, ma una quantificazione precisa di questi pazienti è difficile sia perché i criteri diagnostici non sono ancora ben definiti, sia perché è spesso difficile documentare

con certezza gli errori del paziente nell'autogestione della malattia. Nella definizione di un diabete instabile vanno escluse patologie in grado di interferire con la glicemia, quali deficit surrenalici o ipofisari, distiroidismi, disturbi alimentari, gastroparesi e in generale altre situazioni organiche caratterizzate da stress metabolico.

Quali sono le opzioni terapeutiche per il diabete instabile?

Il trapianto di isole pancreatiche si pone come ultima opzione terapeutica per il diabete mellito di tipo 1 instabile. Il trattamento elettivo per il diabete instabile rimane infatti il trattamento insulinico intensivo e uno specifico *iter* educativo volto all'acquisizione da parte del paziente della conoscenza dei meccanismi che regolano la glicemia e delle strategie per il Suo controllo. Il cardine dell'approccio terapeutico è rappresentato da una stretta interazione tra paziente e diabetologo con eventualmente una consulenza dietetica, e, considerando un possibile ruolo dei fattori emotivi nell'instabilità glicemica, una valutazione psicologica. In caso di difficile controllo dei valori glicemici con iniezioni sottocutanee si deve infine valutare la fattibilità dell'utilizzo degli infusori insulinici sottocutanei. E' provato che l'infusione sottocutanea di insulina tramite microinfusori è in grado di migliorare il compenso glicometabolico rispetto alle iniezioni multiple. In soggetti in buone condizioni generali e cardiovascolari deve essere presa in considerazione anche la possibilità di un trapianto di pancreas, intervento in grado di avere una buona possibilità di successo, ma che essendo un intervento chirurgico importante è gravato da possibili complicazioni severe.

Il trapianto di isole pancreatiche, rispetto al trapianto di pancreas, è più semplice, gravato da minori complicanze e ripetibile nello stesso paziente. I dati pubblicati e le recenti comunicazioni scientifiche ai congressi riportano ormai percentuali di insulino indipendenza prossime a quelle ottenute con il trapianto di solo pancreas: anche in questo caso sembra che il fattore determinante il successo sia la esperienza del laboratorio deputato all'isolamento delle isole. Un limite importante è tuttavia rappresentato dalla limitata durata della funzione del trapianto nel tempo. Nella nostra casistica la mediana della durata della insulino indipendenza è di 60 mesi, anche se una funzione parziale del trapianto invece viene riportata fino all'80 % dei casi 5 anni dopo il trapianto. Analogamente a quanto osservato con il trapianto di pancreas, esiste la ragionevole aspettativa che anche il trapianto di isole sia in grado di esercitare una prevenzione sulle complicanze croniche del diabete, essendo in grado di migliorare il metabolismo glucidico e proteico anche nei casi di funzione parziale. Unica eccezione è rappresentata dalla nefropatia diabetica che rappresenta un criterio di esclusione al trapianto di isole. Infatti i pazienti con iniziale nefropatia diabetica, se trattati con immunosoppressori che sono farmaci con un certo grado di tossicità renale, potrebbero subire un peggioramento del loro quadro clinico renale.

In cosa consiste il trapianto di isole pancreatiche?

Le cellule responsabili della produzione di insulina (isole) vengono isolate dal pancreas di una persona in stato di morte cerebrale. Una volta preparate le isole pancreatiche vengono trapiantate nel fegato del paziente. Le isole trapiantate possono produrre l'insulina che le isole proprie del paziente non riuscivano più a produrre. Per aiutare l'organismo a preservare la funzionalità delle isole pancreatiche trapiantate, è necessario assumere farmaci immunosoppressivi per tutta la vita o finché il tessuto (isole) trapiantato funziona e il medico responsabile dello studio ritiene sia necessario. Gli immunosoppressori servono a modificare il sistema immunitario che, di norma, tenderebbe a distruggere (rigettare) le nuove isole pancreatiche. I farmaci servono a consentire alle isole pancreatiche di funzionare come se fossero quelle del paziente ed a produrre insulina per regolare il tasso di zuccheri nel sangue.

OBIETTIVO DEL TRAPIANTO

Lo scopo principale del trapianto di isole pancreatiche è quello di ripristinare la funzione beta cellulare che nel paziente diabetico di tipo 1 è persa a causa di una reazione autoimmune. Se il trapianto riesce, il paziente potrebbe non aver bisogno di iniezioni di insulina per un certo periodo di tempo. La procedura non garantisce però che le isole pancreatiche trapiantate nel fegato consentiranno al paziente di non assumere più insulina.

DESCRIZIONE DELLE FASI DEL TRAPIANTO

Il trapianto

Prima del trapianto, verranno eseguite un'anamnesi, una visita medica e alcune analisi ematochimiche. Le sarà richiesto di non assumere cibo o liquidi, eccetto l'acqua necessaria per assumere i farmaci, e comincerà la somministrazione di insulina endovenosa. Immediatamente prima del primo trapianto riceverà la prima dose di immunosoppressori: siero anti linfocitario, Tacrolimus e Micofenolato. Le saranno inoltre somministrati farmaci antibiotici per prevenire infezioni virali e batteriche. In seguito, verrà trasportato al reparto di radiologia dove riceverà un anestetico locale ed un sedativo. L'infusione delle isole verrà effettuata da uno dei medici dell'équipe trapianti dopo che il radiologo avrà inserito un sottile catetere nella vena porta del fegato: tramite questo catetere, una volta controllato il corretto posizionamento mediante iniezione di mezzo di contrasto con il supporto dei raggi X, verrà effettuata l'infusione che avrà una durata di 15-20 minuti. Durante l'infusione, a causa della distensione del fegato, potrà avvertire un dolore al fianco o alla spalla destra a volte accompagnato da un senso di nausea. Questi sintomi sono transitori e facilmente controllabili con farmaci antidolorifici e anti-nausea. Al termine della procedura Lei verrà condotto nuovamente in reparto e dovrà rimanere a letto e a digiuno per 10-12 ore, dopo le quali potrà riprendere a muoversi ed a alimentarsi normalmente.

Dopo il trapianto

Durante i primi 5-7 giorni dopo il trapianto riceverà i farmaci immunosoppressivi e anticoagulanti necessari e si sottoporrà a frequenti controlli del tasso di questi farmaci nel sangue. Un'ecografia addominale verrà eseguita successivamente per controllare la struttura epatica. Verrà dimesso dall'ospedale entro pochi giorni dopo l'intervento a meno che l'équipe dello studio non ritenga che ci siano ragioni mediche per trattenerLa in ospedale.

La prima procedura di trapianto diminuirà probabilmente il Suo fabbisogno insulinico ma è improbabile che contenga isole pancreatiche a sufficienza per consentirLe di sospendere l'insulinoterapia. Molto probabilmente, avrà bisogno di due trapianti per ricevere il numero necessario di isole pancreatiche che possa consentirLe di interrompere l'insulinoterapia. È anche possibile che occorra un terzo trapianto. Ciascun trapianto aggiuntivo sarà simile al primo. Il trapianto verrà ripetuto in relazione alla disponibilità di una nuova preparazione di isole di qualità e di quantità adeguata.

Fase di follow-up

Dopo il numero opportuno di trapianti, dovrà continuare ad assumere quotidianamente Tacrolimus e micofenolato possibilmente per tutta la durata della funzione delle isole trapiantate. Il paziente dovrà inoltre eseguire periodicamente i controlli ematochimici previsti dai medici, continuare il controllo dei valori glicemici ed informare il medico di qualsiasi cambiamento nello stato di salute o nell'assunzione dei farmaci.

Benefici

Non si assicurano benefici diretti dal trapianto. Il vantaggio che potrebbe risultarne è la sospensione dell'insulinoterapia per regolare il tasso di zuccheri nel sangue. Non è sicuro che il trapianto delle isole pancreatiche abbia buon esito e non si sa per quanto tempo il trapianto eliminerà il bisogno di assunzione di insulina o se la procedura annullerà le complicazioni del diabete.

COMPLICANZE

Della procedura: la tecnica di trapianto delle isole pancreatiche è stata associata a rischi di emorragia in caso di puntura del fegato che potrebbe richiedere trasfusione di sangue; infezione derivata dalla preparazione o dall'infusione delle isole, o infezioni acquisite in ospedale che richiedono antibiotici aggiuntivi; danni del fegato, della cistifellea o dei vasi sanguigni intra-addominali che potrebbero richiedere intervento chirurgico. Il trapianto delle isole pancreatiche è stato associato alla formazione di coaguli nei vasi sanguigni e responsabili di danni epatici che possono guarire da soli o talvolta essere irreversibili. Se il danno epatico è irreversibile, bisogna optare per un trapianto di fegato. Esiste anche il rischio di decesso nel corso della procedura sperimentale a causa di problemi epatici o altre complicazioni.

Della terapia immunosoppressiva: i farmaci immunosoppressivi possono aumentare il rischio di sviluppo di gravi infezioni e determinate forme di cancro. Alcune di queste infezioni o forme cancerose possono diventare estremamente pericolose e, se il trattamento non va a buon fine, risultare letali. Specifici effetti collaterali di ciascun immunosoppressore comprendono:

- Prograf: alti tassi di zuccheri nel sangue (glucosio), alto tasso di potassio, sintomi neurologici (insonnia, cefalea, tremore), ipertensione, disfunzioni renali (nefrotossicità), nausea, vomito, eruzioni cutanee e prurito e, raramente, danno nervoso irreversibile.
- Siero anti-linfocitario: possibili reazioni allergiche (compreso fiato corto, gonfiore, ipotensione), febbre, reazioni cutanee, pirosi, nausea, vomito, diarrea, gonfiore/disturbi addominali.
- Micofenolato: diarrea, leucopenia, sepsi e vomito, infezione.

Esiste il rischio di una reazione allergica o della più grave reazione anafilattica a uno qualsiasi degli antibiotici somministrati. L'anafilassi è uno stato di emergenza potenzialmente letale che può essere risolto con la cura adeguata ma che, in taluni casi, può anche portare alla morte.

Altre complicanze / problemi: se l'organismo rigetta il trapianto delle isole pancreatiche, il sistema immunitario può essere "educato" a rigettare altri tipi di organi trapiantati, quali il fegato, il rene o l'intero pancreas. Ciò potrebbe ridurre l'idoneità del paziente a questi tipi di trapianti se in futuro fossero necessari.

Se deciderà di sospendere i farmaci quando le isole saranno ancora funzionanti e' probabile che perderà la loro funzione e che dovrà ritornare alla terapia insulinica.

Esiste il rischio di polmonite, ricovero ospedaliero o decesso con gli agenti sedativi somministrati durante la procedura di trapianto.

I rischi relativi al prelievo sanguigno comprendono fastidio, sanguinamento o ematomi nel punto in cui l'ago penetra la pelle.

Al fine di tutelare la Sua identità, il Suo campione di sangue verrà conservato e sarà identificabile unicamente attraverso un codice, che solo il personale dello studio conosce. Ogni informazione relativa sarà tenuta rigorosamente riservata.

Rischi per la gravidanza e per l'allattamento: non sono noti gli effetti dei farmaci immunosoppressivi sulla gravidanza o sul feto. Pertanto, potranno essere sottoposte a trapianto solo donne che usano op-

portuni mezzi contraccettivi (inclusi i contraccettivi orali, Norplant, DepoProvera) o hanno un partner sterile, hanno superato la menopausa o sono sterili a causa di un intervento chirurgico (isterectomia o legatura tubarica). Se il soggetto è una donna in età feconda, occorre che il test di gravidanza sia negativo per poter essere trapiantati. Il test verrà ripetuto subito prima del trapianto. Se dopo il trapianto la paziente concepisce un bambino, deve informare immediatamente il medico.

Poiché i farmaci immunosoppressivi possono penetrare nel latte materno, se la paziente allatta non le sarà consentito di partecipare allo studio.

CONFIDENZIALITÀ DATI

Tutti i dati verranno protetti in conformità con le leggi sulla protezione dei dati personali attualmente in vigore in Italia (DL 196/2003: “Codice in materia di protezione dei dati personali, 30 giugno 2003”) e successive modifiche o integrazioni, oltre all’autorizzazione del garante per la protezione dei dati personali n. 2/2007 al trattamento dei dati idonei a rivelare lo stato di salute e la vita sessuale - 28 giugno 2007 (G.U. n. 196 del 24 agosto 2007 - suppl. ord. n. 186). Ai sensi di questa legge, titolare del trattamento dei Suoi dati personali è l’Azienda Ospedaliera – Ospedale Niguarda Ca’ Granda di Milano, presso la quale il trapianto si svolge e i responsabili sono quelli nominati dall’Ente Ospedaliero.

Se deciderà di prender parte alla procedura, verrà sottoposto al test dell’HIV (virus dell’immunodeficienza umana), il virus responsabile della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS). Se i risultati del test sono positivi, sarà escluso dal trapianto e dovrà rispettare le norme specifiche per gli esami HIV. Per eventuali domande relative ai test dell’HIV o alle informazioni summenzionate, La invitiamo a discuterne con il medico di famiglia.

IMPIEGO DEI CAMPIONI CONSERVATI PER INIZIATIVE DI RICERCA

Spetta a Lei decidere se consentire l’impiego dei Suoi campioni biologici conservati ai fini di ricerca, in particolare al fine di studiare nuove strategie per migliorare la funzione del trapianto e per meglio capire i meccanismi patologici legati alla malattia diabetica, compresi test genetici. Indipendentemente dalla Sua decisione, non ci sarà alcun risvolto sulle cure per il trapianto delle isole pancreatiche. Anche se ora decidesse che i campioni possono essere usati per ricerche, potrà sempre cambiare idea. In tal caso basterà contattare il medico responsabile per farci sapere che non desidera che i Suoi campioni vengano utilizzati per ricerche. Questi campioni verranno codificati in modo che solo l’équipe di ricerca potrà eventualmente collegarli alla persona che li ha forniti.

Adesione allo studio clinico

Il Medico responsabile Le chiederà di firmare e datare il Consenso Informato scritto del presente documento prima che vengano eseguiti qualsiasi procedura o test. La firma di questo modulo serve a garantire che Lei sia stato/a informato/a in modo completo e che abbia dato liberamente il Suo consenso. Se Lei lo desidera, il Suo Medico di famiglia sarà informato sul trattamento che sta per ricevere. Il Medico responsabile dello studio risponderà a qualsiasi domanda da Lei posta. Se necessitasse di ulteriori spiegazioni può contattare il

Dr. Recapito tel.

Grazie dell’attenzione e dell’aiuto

DICHIARAZIONE DI CONSENSO ALLA PARTECIPAZIONE ALLO STUDIO

- Il/la sottoscritto/a (nome e cognome),
- dichiara di aver letto le informazioni riportate nel Foglio Informativo e di aver compreso gli scopi della procedura, come pure i potenziali benefici e rischi correlati;
 - dichiara di aver avuto l'opportunità di fare domande e aver ricevuto una risposte esaurienti;
 - dichiara di essere consapevole dei possibili rischi correlati alla procedura;
 - esprime il consenso, anche ai sensi del DL 196/2003 ("Codice in materia di protezione dei dati personali, 30 giugno 2003") in materia di tutela dei dati personali, affinché i dati delle Sue cartelle cliniche vengano resi disponibili dal Medico responsabile della ricerca, al personale qualificato delle Autorità Sanitarie - o personale delegato - nel rispetto dei Suoi diritti, così come precisati nella parte informativa di questo documento (Foglio Informativo);
 - conferma che gli è stata data sufficiente opportunità di discutere tutti i trattamenti disponibili;
 - conferma che gli è stata consegnata copia del presente documento informativo e di consenso;
 - dichiara di dare il proprio consenso libero e informato alla partecipazione al trapianto.

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (in stampatello)

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)

Nome del testimone (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL MEDICO _____ Data _____

Nome del medico (*in stampatello*) _____

- in particolare, acconsente che il trattamento dei Suoi dati personali, ivi compresi quelli inerenti allo stato di salute, venga effettuato per gli scopi della ricerca, nei limiti e con le modalità indicate nel presente documento di informazione e consenso;

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (*in stampatello*)

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)

Nome del testimone (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL MEDICO _____ Data _____

Nome del medico (*in stampatello*) _____

DICHIARAZIONE RISERVATA ALLE PAZIENTI DI SESSO FEMMINILE

Il Dottor..... mi ha fornito le informazioni riguardo alle donne in età fertile sottoposte ad un trapianto, in corso di terapia immunosoppressiva. Sono consapevole del fatto che, assumendo farmaci immunosoppressori, dovrò avvisare immediatamente il mio medico e il medico responsabile del trapianto nei seguenti casi:

- gravidanza accertata o presunta;
- mancanza di ciclo mestruale o ritardo nella comparsa dello stesso;
- irregolarità mestruali (ad esempio, mestruazioni particolarmente abbondanti o sanguinamento tra un ciclo e l'altro).

Mi impegno ad informare il medico responsabile del trapianto anche nel caso di modifica del metodo contraccettivo o di assunzione di altri farmaci (data di assunzione e tipo di farmaci).

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (*in stampatello*)

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)
Nome del testimone (*in stampatello*) _____

4. Consenso informato per i pazienti candidati all'allotrapianto di isole in pazienti già in terapia immunosoppressiva



Foglio Informativo e di Consenso per il Paziente - Trapianto delle isole pancreatiche in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 che necessitano di terapia immunosoppressiva per altri trapianti.

Struttura S. Dipartimentale: Diabetologia
Responsabile: Dr Federico Bertuzzi

Numero di telefono 1: **02 6444.2464**
Numero di telefono 2: **02 6444.3927**
Fax: **02 6444.2082**

segreteria@ospedaleniguarda.it
federico.bertuzzi@ospedaleniguarda.it
www.ospedaleniguarda.it

Gentile Signore/Signora,
in questo Istituto viene adottata una procedura sperimentale su pazienti come Lei affetti di diabete mellito di tipo 1 non ben controllato dalla terapia insulinica: il trapianto delle isole pancreatiche isolate da pancreas di donatori cadavere.

Prima che decida se prendere parte alla procedura, gradiremmo illustrarLe i principali aspetti della procedura con i rischi relativi. Una volta acquisite le informazioni necessarie, Le sarà richiesto di firmare questo modulo di consenso e una copia resterà a Lei.

PREMESSA

Quando si effettua il trapianto di isole in un paziente affetto da diabete mellito di tipo 1 già trapiantato/in attesa di un altro organo da trapiantare?

Il trapianto di isole viene eseguito in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1 che sono in lista di attesa o che sono già stati trapiantati con altri organi. Nel primo caso il trapianto di isole pancreatiche verrebbe effettuato all'atto del trapianto dell'altro organo, nel secondo caso in tempi successivi al trapianto già eseguito. In entrambi i casi la giustificazione della somministrazione della terapia immunosoppressiva viene data dall'altro organo trapiantato (o che deve essere trapiantato) e non dal trapianto di isole di per sé. In questo tipo di pazienti è stato dimostrato che il trapianto di isole sia in grado di migliorare le glicemie e di ridurre il fabbisogno insulinico (nel 60% dei casi fino all'insulino indipendenza), di esercitare una prevenzione sulle complicanze croniche del diabete, di migliorare il metabolismo glucidico e proteico. La durata della funzione del trapianto è tuttavia limitata nel tempo: nelle casistiche dei centri migliori la mediana della durata della insulino indipendenza è di 60 mesi, anche se una funzione parziale del trapianto invece viene riportata fino all'80 % dei casi. A causa della limitata durata di piena funzione del trapianto di isole pancreatiche, in soggetti in buone condizioni generali e cardiovascolari si preferisce in prima ipotesi la possibilità di un trapianto di pancreas, intervento con buone possibilità di successo anche a lungo termine, ma gravato da possibili complicazioni severe. Situazioni in cui il trapianto di isole va preferito a quello di pancreas sono: impossibilità del trapianto di pancreas (precedente fallimento di un trapianto di pancreas), impossibilità di un buon accesso vascolare

o più in generale compromissione cardiovascolare sistemica, esperienza specifica del centro nel settore delle isole più che del pancreas, espressa volontà del paziente. La situazione più comune è quella che vede un paziente affetto da diabete mellito di tipo 1, già sottoposto a trapianto di rene per una nefropatia diabetica terminale, possibile complicanza in pazienti affetti da diabete di tipo 1, che non abbia indicazione al trapianto di pancreas dopo rene per la situazione cardiovascolare complessiva.

In cosa consiste il trapianto di isole pancreatiche?

Le cellule responsabili della produzione di insulina (isole) vengono isolate dal pancreas di una persona in stato di morte cerebrale. Una volta preparate le isole pancreatiche vengono trapiantate nel fegato del paziente in anestesia locale, dove si impiantano. Le isole trapiantate possono produrre l'insulina che le isole proprie del paziente non riescono più a produrre.

OBIETTIVO DEL TRAPIANTO

Lo scopo principale del trapianto di isole è quello di ripristinare la funzione beta cellulare che nel paziente diabetico di tipo 1 è persa a causa di una reazione autoimmune. Se il trapianto ha buon esito, il paziente potrebbe non aver bisogno di iniezioni di insulina per un certo periodo di tempo. La procedura non garantisce però che le isole pancreatiche trapiantate nel fegato consentiranno al paziente di non assumere più insulina.

DESCRIZIONE DELLE FASI DEL TRAPIANTO

Il trapianto

Prima del trapianto, verranno eseguite un'anamnesi, una visita medica e alcune analisi ematochimiche. Le sarà richiesto di non assumere cibo o liquidi per via orale, eccetto l'acqua necessaria per assumere i farmaci, e comincerà la somministrazione di insulina endovenosa. Poco prima del trapianto comincerà un trattamento antinfiammatorio e un potenziamento del trattamento immunosoppressivo con Siero anti-linfocitario o Simulect con l'obiettivo di favorire l'attecchimento delle isole nel fegato. Durante il trapianto assumerà la sua dose di immunosoppressori. Le saranno inoltre somministrati farmaci antibiotici per prevenire infezioni virali e batteriche. In seguito, verrà trasportato al reparto di radiologia dove riceverà un anestetico locale ed un sedativo. L'infusione delle isole verrà effettuata da uno dei medici dell'equipe trapianti dopo che il radiologo avrà inserito un sottile catetere nella vena porta del fegato: tramite questo catetere, una volta controllato il corretto posizionamento mediante iniezione di mezzo di contrasto con il supporto dei raggi X, verrà effettuata l'infusione che avrà una durata di 15-20 minuti. Durante l'infusione, a causa della distensione del fegato, potrà avvertire un dolore al fianco o alla spalla destra a volte accompagnato da un senso di nausea. Questi sintomi sono transitori e facilmente controllabili con farmaci antidolorifici e antinausea. Al termine della procedura Lei verrà condotto nuovamente in reparto e dovrà rimanere a letto e a digiuno per 10-12 ore, dopo le quali potrà riprendere a muoversi ed a alimentarsi normalmente.

Dopo il trapianto

Durante i primi 5-7 giorni dopo il trapianto riceverà i farmaci immunosoppressivi, anticoagulanti e antinfiammatori necessari e si sottoporrà a frequenti controlli del tasso di questi farmaci nel sangue. Un

ecografia addominale verrà eseguita successivamente per controllare la struttura epatica. Verrà dimesso dall'ospedale entro pochi giorni dopo l'intervento a meno che l'équipe dello studio non ritenga che ci siano ragioni mediche per trattenerLa in ospedale.

La prima procedura di trapianto diminuirà probabilmente il Suo fabbisogno insulinico ma è non è sicuro che contenga isole pancreatiche a sufficienza per consentirLe di sospendere l'insulinoterapia. Molto probabilmente, avrà bisogno di due trapianti per ricevere il numero necessario di isole pancreatiche che possa consentirLe di interrompere l'insulinoterapia. È anche possibile che occorra un terzo trapianto. Ciascun trapianto aggiuntivo sarà simile al primo. Il trapianto verrà ripetuto in relazione alla disponibilità di una nuova preparazione di isole di qualità e di quantità adeguata.

Il trattamento con siero antilinfocitario (o Simulect) durerà per 6 mesi (salvo il caso in cui non si decida di trapiantare un'altra preparazione di isole, ripetendo in questo caso un ciclo di Simulect).

Fase di follow-up

Dopo il numero opportuno di trapianti, dovrà continuare ad assumere quotidianamente i Suoi farmaci immunosoppressori possibilmente per il resto della vita a tempo indeterminato, come da programma di trattamento; continuare l'assunzione di antibiotici e farmaci antivirali per un periodo massimo di tre mesi dopo l'ultimo trapianto. Dovrà inoltre, eseguire periodicamente i controlli ematochimici previsti dai medici, continuare il controllo dei valori glicemici ed informare il medico di qualsiasi cambiamento nello stato di salute o nell'assunzione dei farmaci.

Benefici

Non si assicurano benefici diretti dal trapianto. Il vantaggio che potrebbe risulterne è la sospensione dell'insulinoterapia per regolare il tasso di zuccheri nel sangue. Non è sicuro che il trapianto delle isole pancreatiche abbia buon esito, non si sa per quanto tempo il trapianto eliminerà il bisogno di assunzione di insulina o se la procedura annullerà le complicazioni del diabete.

COMPLICANZE

Della procedura: la tecnica di trapianto delle isole pancreatiche è stata associata a rischi di emorragia in caso di puntura del fegato che potrebbe richiedere trasfusione di sangue; infezione derivata dalla preparazione o dall'infusione delle isole, o infezioni acquisite in ospedale che richiedono antibiotici aggiuntivi; danni del fegato, della cistifellea o dei vasi sanguigni intra-addominali che potrebbero richiedere intervento chirurgico. Il trapianto delle isole pancreatiche è stato associato alla formazione di coaguli nei vasi sanguigni e responsabili di danni epatici che possono guarire da soli o talvolta essere irreversibili. Se il danno epatico è irreversibile, bisogna optare per un trapianto di fegato. Esiste anche il rischio di decesso nel corso della procedura sperimentale a causa di problemi epatici o altre complicazioni.

Della terapia farmacologica: la terapia immunosoppressiva applicata sarà sostanzialmente quella prevista per il mantenimento della funzione del Suo organo trapiantato diverso dalle isole. Durante il trapianto di isole verrà però adottata una terapia aggiuntiva per favorire l'impianto delle isole. Questa includerà Siero anti-linfocitario o Zenapax, steroidi. Come tutti i farmaci immunosoppressori anche questi possono aumentare il rischio di sviluppo di gravi infezioni e determinate forme di cancro. Alcune di queste infezioni o forme cancerose possono diventare estremamente pericolose e, se il trattamento

non va a buon fine, risultare letali. Specifici effetti collaterali di ciascun immunosoppressore comprendono:

- Siero anti-linfocitario: possibili reazioni allergiche (compreso fiato corto, gonfiore, ipotensione), febbre, reazioni cutanee, pirosi, nausea, vomito, diarrea, gonfiore/disturbi addominali.
- Simulect: possibili reazioni allergiche (compreso fiato corto, gonfiore, ipotensione), sintomi neurologici (tremore, cefalea, vertigini), pirosi, nausea, vomito, diarrea, gonfiore/disturbi addominali.
- Prednisone (cortisone): obesità, dolori ossei (osteoporosi), acne, ipertensione, dolori gastrici, alterazioni glicemiche, cataratta: la somministrazione prevista dallo studio è di breve durata che rende improbabile la comparsa di questi sintomi.

Esiste il rischio di una reazione allergica o della più grave reazione anafilattica a uno qualsiasi degli antibiotici somministrati. L'anafilassi è uno stato di emergenza potenzialmente letale che può essere risolto con la cura adeguata ma che, in taluni casi, può anche portare alla morte.

L'uso di farmaci immunosoppressivi inoltre è associato al rischio di insorgenza di neoplasie nel corso degli anni, incluso tumori maligni, per cui il paziente si dovrà periodicamente sottoporre a screening di prevenzione in tal senso.

Altre complicanze / problemi: se l'organismo rigetta il trapianto delle isole, il sistema immunitario può essere "educato" a rigettare altri tipi di organi trapiantati, quali il fegato, il rene o l'intero pancreas. Ciò potrebbe ridurre l'idoneità del paziente a questi tipi di trapianti se in futuro fossero necessari.

Se deciderà di sospendere i farmaci quando le isole saranno ancora funzionanti è probabile che perderà la loro funzione e che dovrà ritornare alla terapia insulinica.

Esiste il rischio di polmonite, ricovero ospedaliero o decesso con gli agenti sedativi somministrati durante la procedura di trapianto.

I rischi relativi al prelievo sanguigno comprendono fastidio, sanguinamento o ematomi nel punto in cui l'ago penetra la pelle.

Al fine di garantire la Sua identità, il Suo sangue stoccato sarà identificabile attraverso un codice, che solo il personale dello studio conosce. Ogni informazione relativa sarà tenuta rigorosamente riservata.

Rischi per la gravidanza e per l'allattamento Non sono noti gli effetti dei farmaci immunosoppressivi sulla gravidanza o sul feto. Pertanto, potranno essere sottoposte a trapianto solo donne che usano opportuni mezzi contraccettivi (inclusi i contraccettivi orali, Norplant, DepoProvera) o hanno un partner sterile, hanno superato la menopausa o sono sterili a causa di un intervento chirurgico (isterectomia o legatura tubarica). Se il soggetto è una donna in età feconda, occorre che il test di gravidanza sia negativo per poter essere trapiantati. Il test verrà ripetuto subito prima del trapianto. Se dopo il trapianto la paziente concepisce un bambino, deve informare immediatamente il medico.

Poiché i farmaci immunosoppressivi possono penetrare nel latte materno, se la paziente allatta non le sarà consentito di partecipare allo studio.

CONFIDENZIALITÀ DATI

Tutti i dati verranno protetti in conformità con le leggi sulla protezione dei dati personali attualmente in vigore in Italia (DL 196/2003: "Codice in materia di protezione dei dati personali, 30 giugno 2003") e successive modifiche o integrazioni, oltre all'autorizzazione del garante per la protezione dei dati personali n. 2/2007 al trattamento dei dati idonei a rivelare lo stato di salute e la vita sessuale - 28 giugno 2007 (G.U. n. 196 del 24 agosto 2007 - suppl. ord. n. 186). Ai sensi di questa legge, titolare del trattamento dei Suoi dati personali è l'Azienda Ospedaliera – Ospedale Niguarda Ca' Granda di Milano, presso la quale il trapianto si svolge e i responsabili sono quelli nominati dall'Ente Ospedaliero.

Se deciderà di prender parte alla procedura, verrà sottoposto al test dell'HIV (virus dell'immunodeficienza umana), il virus responsabile della Sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS). Se i risultati del test sono positivi, sarà escluso dal trapianto e dovrà rispettare le norme specifiche per gli esami HIV. Per eventuali domande relative ai test dell'HIV o alle informazioni summenzionate, La invitiamo a discuterne con il medico di famiglia.

IMPIEGO DEI CAMPIONI CONSERVATI PER INIZIATIVE DI RICERCA

Spetta a Lei decidere se consentire l'impiego dei Suoi campioni biologici conservati ai fini di ricerca, in particolare al fine di studiare nuove strategie per migliorare la funzione del trapianto e per meglio capire i meccanismi patologici legati alla malattia diabetica, compresi test genetici. Indipendentemente dalla Sua decisione, non ci sarà alcun risvolto sulle cure per il trapianto delle isole pancreatiche. Anche se ora decidesse che i campioni possono essere usati per ricerche, potrà sempre cambiare idea. In tal caso basterà contattare il medico responsabile per farci sapere che non desidera che i Suoi campioni siano utilizzati per ricerche. Questi campioni verranno codificati in modo che solo l'équipe di ricerca potrà eventualmente collegarli alla persona che li ha forniti.

Adesione allo studio clinico

Il Medico responsabile Le chiederà di firmare e datare il Consenso Informato scritto del presente documento prima che vengano eseguiti qualsiasi procedura o test. La firma di questo modulo serve a garantire che Lei sia stato/a informato/a in modo completo e che abbia dato liberamente il Suo consenso. Se Lei lo desidera, il Suo Medico di famiglia sarà informato sul trattamento che sta per ricevere. Il Medico responsabile dello studio risponderà a qualsiasi domanda da Lei posta. Se necessitasse di ulteriori spiegazioni può contattare il

Dr. Recapito tel.

Grazie dell'attenzione e dell'aiuto

DICHIARAZIONE DI CONSENSO ALLA PARTECIPAZIONE ALLO STUDIO

- Il/la sottoscritto/a (nome e cognome),
- dichiara di aver letto le informazioni riportate nel Foglio Informativo e di aver compreso gli scopi della procedura, come pure i potenziali benefici e rischi correlati;
 - dichiara di aver avuto l'opportunità di fare domande e aver ricevuto una risposte esaurienti;
 - dichiara di essere consapevole dei possibili rischi correlati alla procedura;
 - esprime il consenso, anche ai sensi del DL 196/2003 ("Codice in materia di protezione dei dati personali, 30 giugno 2003") in materia di tutela dei dati personali, affinché i dati delle Sue cartelle cliniche vengano resi disponibili dal Medico responsabile della ricerca, al personale qualificato delle Autorità Sanitarie - o personale delegato - nel rispetto dei Suoi diritti, così come precisati nella parte informativa di questo documento (Foglio Informativo);
 - conferma che gli è stata data sufficiente opportunità di discutere tutti i trattamenti disponibili;
 - conferma che gli è stata consegnata copia del presente documento informativo e di consenso;
 - dichiara di dare il proprio consenso libero e informato alla partecipazione al trapianto.

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)

Nome del testimone (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL MEDICO _____ Data _____

Nome del medico (*in stampatello*) _____

- in particolare, acconsente che il trattamento dei Suoi dati personali, ivi compresi quelli inerenti allo stato di salute, venga effettuato per gli scopi della ricerca, nei limiti e con le modalità indicate nel presente documento di informazione e consenso;

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)

Nome del testimone (*in stampatello*) _____

FIRMA DEL MEDICO _____ Data _____

Nome del medico (*in stampatello*) _____

DICHIARAZIONE RISERVATA ALLE PAZIENTI DI SESSO FEMMINILE

Il Dottor mi ha dato le informazioni riguardo alle donne in età fertile partecipanti ad un trapianto, in corso di terapia immunosoppressiva. Sono consapevole del fatto che, assumendo farmaci immunosoppressori, dovrò avvisare immediatamente il mio medico e il medico responsabile del trapianto nei seguenti casi:

- gravidanza accertata o presunta;
- mancanza di ciclo mestruale o ritardo nella comparsa delle mestruazioni;
- irregolarità mestruali (ad esempio, mestruazioni particolarmente abbondanti o sanguinamento tra un ciclo e l'altro).

Mi impegno ad informare il medico responsabile del trapianto anche nel caso di modifica del metodo contraccettivo o di assunzione di altri farmaci (data di assunzione e tipo di farmaci).

FIRMA DEL PAZIENTE _____ Data _____

Se appropriato, RAPPRESENTANTE/I LEGALMENTE RICONOSCIUTO/I _____
_____ Data _____

Nome del paziente e/o del /dei Suo/Suoi rappresentante/i (*in stampatello*)

FIRMA DEL TESTIMONE _____ Data _____

(qualora soggetto o rappresentante legale non siano in grado di leggere – DM 15.07.97, art. 4.8.9)

Nome del testimone (*in stampatello*) _____

5. Check list per eventuale indicazione alla immunoterapia

Al momento sono in corso trials clinici che valutano l'immunoterapia nei pazienti con DM1e in soggetti a rischio di svilupparlo. La Immunology of Diabetes Society ha pubblicato delle linee-guida per la selezione dei soggetti da includere nei protocolli di intervento (41).

- Diagnosi di DM1 secondo i criteri dell'American Diabetes Association (ADA)
- Positività per almeno un autoanticorpo [GAD65, insulina (se in terapia insulinica da meno di 2 settimane), anti-tirosina fosfatasi (IA-2) o islet cell antibody (ICA)]
- Livelli di C-peptide $\geq 0,2$ nmol/l dopo test di tolleranza con pasto misto liquido (eseguito in una fase di stabilità metabolica del paziente)
- Eta ≤ 35 anni (per i trials di fase II e III) e ≥ 18 anni (per i trials di fase I). Per l'identificazione dei soggetti a rischio occorre considerare i marcatori genetici, i marcatori autoanticorpali e i parametri metabolici.

Nei soggetti a rischio di sviluppare DM1 (soggetti con un parente di primo grado con storia di DM1 e HLA DR3/4-DQ8 o DR4-DQ8/DR4-DQ8) può essere indicato lo studio dei markers genetici e anticorpali, associati ai parametri metabolici.

6. Accertamenti relativi all'inserimento in lista di attesa per allotrapianto di isole

Esami ematochimici

- Glucosio, urea, sodio, potassio, cloro, bilirubina tot e frazionata, transaminasi, CK, creatinina, creatinina clearandice, fosfatasi alcalina, *ggt*, LDH, amilasi, colesterolo tot, HDL, trigliceridi, urato, emocromo, proteina c-reattiva, microalbuminuria, lipasi, amilasi, PT, PTT, fibrinogeno, antitrombina III, HbA1c, elettroforesi proteica, immunofissazione, VES, esame urine, TSH riflesso, screening trombofilia, omocisteina, anticorpi anti GAD, anticorpi anti cardioplipina.

Test al glucagone

- Test al glucagone (doppio dosaggio c-peptide 0 +6min)

Invio siero al nit (nord italia trasplant)

- caratterizzazione sierologica eventuale presenza anticorpi anti HLA
- gruppo sanguigno

Esami microbiologici Immunologici

- VDRL, anticorpi (IgM, IgG) anti CMV, anti toxoplasma, anti Herpes virus 1 e 2, anti varicella Zoster, anti rosolia, anti Epstein Bar (EBNA, VCA)
- Anticorpi anti HAV (IgM e IgBG), anti HbS Ag, anti HbcAg, anti HbeAg, anti HCV, anti HIV
- HbSAg, HbeAg
- Test Quantiferon

Visite specialistiche ed esami strumentali

- | | |
|---|---|
| • Visita cardiologica e ECG | (una volta) |
| • Ecocardiogramma | (ogni 12 mesi) |
| • Test da sforzo cardiaco | (una volta) |
| • Rx torace | (una volta) |
| • Doppler TSA | (una volta) |
| • Ecografia addome | (ogni 6 mesi) |
| • Ortopantomografia | (una volta) |
| • Esofagogastroduodenoscopia | (una volta all'anno se problemi gastrici) |
| • Colonscopia | (una volta se > 50 anni) |
| • Angio-tac addome inferiore e arti inferiori | (se tx pancreas, una volta) |
| • Visita specialistica nefrologica | (ogni 6 mesi) |
| • Visita specialistica chirurgica e anestesiologicala | (se tx pancreas) |
| • Visita specialistica psicologica | (una volta) |
| • Visita specialistica dermatologica | (ogni 6 mesi) |
| • Visita specialistica oculistica | (ogni 12 mesi) |
| • Nella donna | |
| - Pap test - v. ginecologica | (ogni 12 mesi) |
| - mammografia | (una volta dai 35 ai 40 anni -
ogni due anni se 40-50 anni -
ogni anno > 50 anni) |
| • Nell'uomo | |
| - ecografia prostatica | Quando indicato |

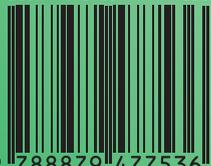
FINITO DI STAMPARE NEL MESE DI GIUGNO MMXXI
DA OFFICINE GRAFICHE FRANCESCO GIANNINI & FIGLI S.P.A. - NAPOLI



PER CONTO DELLE EDIZIONI IDELSON-GNOCCHI 1908 S.R.L.



ISBN: 978-88-7947-753-6



9 788879 477536