
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

LUCIANO CERULLI, PAOLO TULLIO CIMMINO, ENRICO
GARACI

Studio sulla sopravvivenza di eterotrapianti corneali di feto bovino in conigli adulti non trattati

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 47 (1969), n.6, p. 561–565.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_47_6_561_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Immunobiologia dei trapianti. — *Studio sulla sopravvivenza di eterotrapianti corneali di feto bovino in conigli adulti non trattati.*
Nota di LUCIANO CERULLI, PAOLO TULLIO CIMMINO e ENRICO GARACI,
presentata (*) dal Socio A. ROSSI-FANELLI.

SUMMARY. — The results of heterografts of fetal bovine cornea into the eyes of untreated adult rabbits are reported. Normal adult bovine corneas used as controls when transplanted into the recipient animals were as a rule rejected, the survival time being 18 ± 4 days. Fetal bovine corneas of the age not exceeding 6 months of fetal life were fully tolerated.

The behavior of the heterografts was observed till 6 months. The histological examination shows in tolerated grafts no evident sign of reaction.

The data reported in this paper suggest the existence of a « critical period » of the fetal development of the bovine cornea beyond which no tolerance could be observed.

INTRODUZIONE.

È cosa nota da tempo che gli omotrapianti e gli eterotrapianti di tessuto adulto normale sono rapidamente distrutti dalla reazione di rigetto dell'animale ricettore.

Invece, gli omotrapianti e gli eterotrapianti possono essere tollerati quando venga trapiantato tessuto embrionale. Toolan [1] riferisce di aver ottenuto una buona percentuale di sopravvivenza di omotrapianti di pelle proveniente da feti di conigli del primo periodo di gestazione (12^o-13^o giorno). Billingham e Silvers [2] hanno osservato che la pelle neonatale di topi maschi, appartenenti al ceppo C57BL/6, è accettata, nel 50% dei casi, da una femmina ospite isologa. Anche nei criceti, la pelle di animali neonati ha un periodo di sopravvivenza superiore a quello della pelle presa da un animale adulto [3, 4].

Tessuti embrionali poco differenziati possono essere trapiantati con successo anche in organismi di specie eterologa [5].

L'uso di « sedi speciali » per il trapianto, come la camera anteriore dell'occhio ed il cervello, facilita l'accettazione degli eterotrapianti fetali. In questo modo Albrink e Greene [6] hanno potuto dimostrare che i tessuti embrionali di pollo possono crescere nella camera anteriore dell'occhio di coniglio, di cavia e di gatto. Essi hanno ottenuto analoghi risultati usando, come sede di trapianto, il cervello [6]. Queste « sedi speciali », comunque, non permettono la sopravvivenza di un tessuto adulto normale [7]. Nella letteratura mancano i dati sugli eterotrapianti di tessuti fetali ben differenziati.

In considerazione di questi fatti, ci siamo proposti di studiare la sopravvivenza di eterotrapianti corneali di feto bovino in conigli adulti non immu-

(*) Nella seduta del 13 dicembre 1969.

nosoppressi. Questo lavoro servirà a dimostrare che la cornea bovina, presa da feti di non più di sei mesi, quando viene trapiantata in conigli adulti, è perfettamente tollerata.

MATERIALI E METODI.

Raccolta di tessuti donatori. I feti bovini sono stati raccolti in base all'età secondo il seguente schema: III/IV mese, V/VI mese, VII/VIII mese, IX mese. L'età dei feti è stata stabilita secondo il metodo riportato da Vatti [8].

Sono state prese anche cornee di vitelli per dimostrare la assenza di uno stato di tolleranza dei conigli nei confronti di cornee di bovini adulti.

I globi oculari dei feti bovini e dei vitelli sono stati asportati immediatamente dopo la morte e mantenuti a $+4^{\circ}\text{C}$ in ambiente umido per non più di 12 h.

Animali ricettori. Sono stati usati conigli maschi adulti di un ceppo misto del peso medio di 2,5 Kg.

Tecnica chirurgica. Gli animali venivano trattati nei tre giorni precedenti l'intervento con pomata alla tetraciclina allo scopo di sterilizzare i fornicati congiuntivali.

Non veniva praticato nessun altro trattamento. L'anestesia generale è stata indotta a mezzo di una iniezione endovenosa di Nembutal sodico (30 mg/Kg di peso corporeo).

Si procedeva quindi alla preparazione della tasca corneale nell'animale recipiente, praticando un'incisione a circa 2 mm dal limbus nei quadranti superiori per una profondità di circa 0,3 mm ed aprendosi la strada con una spatola da ciclodialisi secondo il metodo di Babel-Bourquin [9]. Indi dal bulbo oculare conservato nella camera umida si prelevava, a mezzo di trapano di Francechetti da 5 mm, il lembo corneale e dopo averlo messo in una soluzione isotonica di tetraciclina, lo si impiantava nella tasca, che veniva suturata con uno o due punti in seta vergine 8/0.

L'osservazione degli animali era fatta alla luce focale ed al biomicroscopio giornalmente, per i primi quaranta giorni, e settimanalmente per un periodo che andava da quattro a sei mesi.

Istologia. Il materiale trapiantato veniva controllato istologicamente nei seguenti periodi: *a*) immediatamente dopo il prelievo delle cornee dai feti bovini e dai vitelli e, *b*) fino a sei mesi dopo il trapianto nei casi nei quali era accettato.

Per l'esame istologico, le cornee, subito dopo il prelievo, venivano messe in una soluzione di glutaraldeide al 6,25% tamponata con *s*-collidina. Dopo 6 ore a $+4^{\circ}\text{C}$ il tessuto veniva fissato per altre 6 ore in una soluzione di tetrossido di osmio al 4%. Il tessuto dopo disidratazione in etanolo, veniva incluso in araldite, polimerizzata per 48 ore a 60°C ; quindi veniva tagliato con una lama di vetro. Le sezioni venivano colorate con ematossilina-eosina o blu di toluidina.

RISULTATI.

Per stabilire l'assenza di tolleranza dei conigli nei confronti delle cornee dei bovini adulti abbiamo usato un gruppo di 14 animali. In questo gruppo tutti i trapianti sono stati rigettati, con una sopravvivenza media di 18 ± 4 giorni.

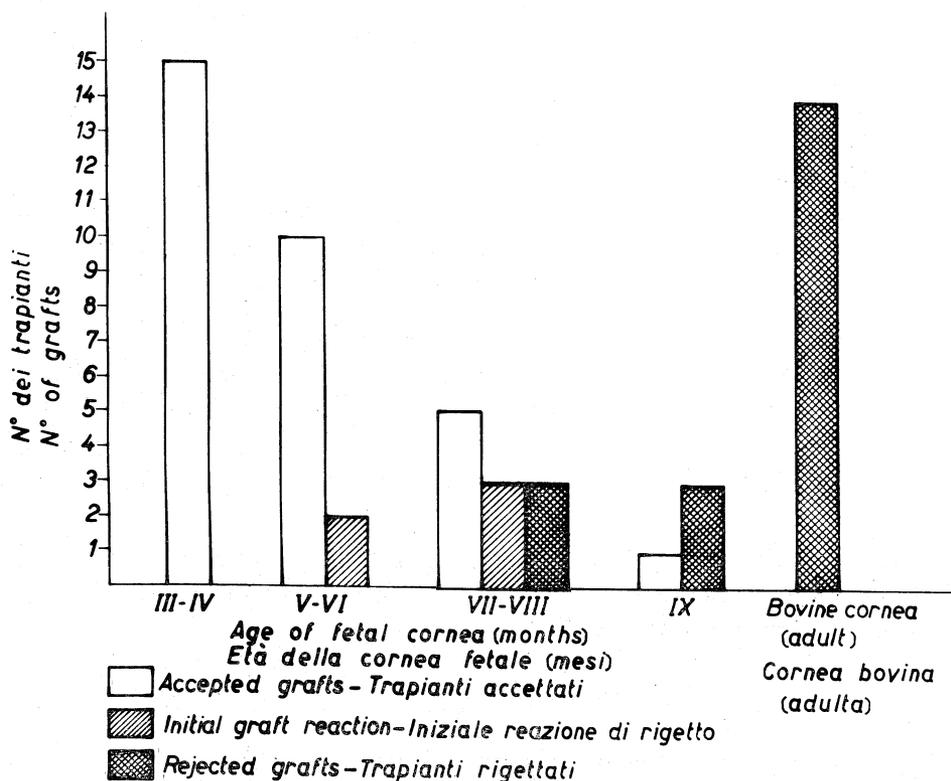


Fig. 1. - Questa figura mostra la sopravvivenza degli eterotrapianti di cornea di feto bovino nei vari gruppi di animali. Nel primo gruppo (età della cornea fetale: III-IV mese) tutti i trapianti sono accettati. La tolleranza al trapianto diminuisce in misura dell'aumento dell'età della cornea fetale. Nel secondo gruppo (età fetale V-VI mese) si nota che 10 trapianti sono accettati, gli altri due mostrano iniziali segni di rigetto seguiti però da regressione. Nel terzo gruppo (VII-VIII mese) 5 trapianti sono accettati; si notano iniziali segni di rigetto in tre animali, mentre in altri tre il rigetto è completo. Una minore rappresentanza di cornee appartenenti al IV gruppo (IX mese) è dovuta a difficoltà tecniche nell'ottenere feti bovini a sviluppo terminato. Si vede anche che tutti i trapianti di cornea bovina adulta sono di norma rigettati.

Per lo studio della sopravvivenza dei trapianti corneali di feto bovino sono stati usati quattro gruppi di conigli adulti (fig. 1).

Il periodo di osservazione è stato protratto fino a sei mesi.

(A) Questo gruppo era composto di 15 conigli. Età della cornea fetale: 3-4 mesi. In nessun animale è stato notato opacamento del lembo trapiantato né vascolarizzazione corneale.

(B) Questo gruppo era composto di 12 conigli.

Età della cornea fetale: 5-6 mese.

In dieci animali non sono stati notati segni di rigetto. In un coniglio si è verificata in decima giornata un'iniezione pericheratica con modesta opalescenza del trapianto ed una lieve tendenza alla vascolarizzazione della cornea dell'ospite nei due giorni successivi. Tali fenomeni sono andati progressivamente scomparendo, dando luogo ad una completa chiarificazione del lembo. In un altro animale al dodicesimo giorno, sono stati notati segni iniziali di rigetto, seguiti però da una completa regressione.

(C) Questo gruppo era composto di 11 conigli.

Età della cornea fetale: 7-8 mese.

In cinque animali si è avuta completa tolleranza del lembo.

In tre animali si è avuta una reazione di rigetto completa.

Altri tre hanno infine mostrato un inizio di opalescenza del lembo con intensa iniezione pericheratica tra l'ottava e la dodicesima giornata e poi completa regressione di questi fenomeni in ventesima giornata.

(D) Questo gruppo era composto di quattro animali.

In questi animali è stato effettuato il trapianto con cornee provenienti da feti a termine. Il rigetto si è verificato in tre animali, mentre in un coniglio il trapianto è stato ben tollerato.

Il numero esiguo degli animali di questo gruppo è dovuto alla difficoltà di ottenere feti bovini a termine.

Nella Tav. I è mostrata la cornea bovina presa da un feto di appena tre mesi. Le cornee trapiantate ed accettate, sei mesi dopo l'intervento, mostrano di essere perfettamente tollerate.

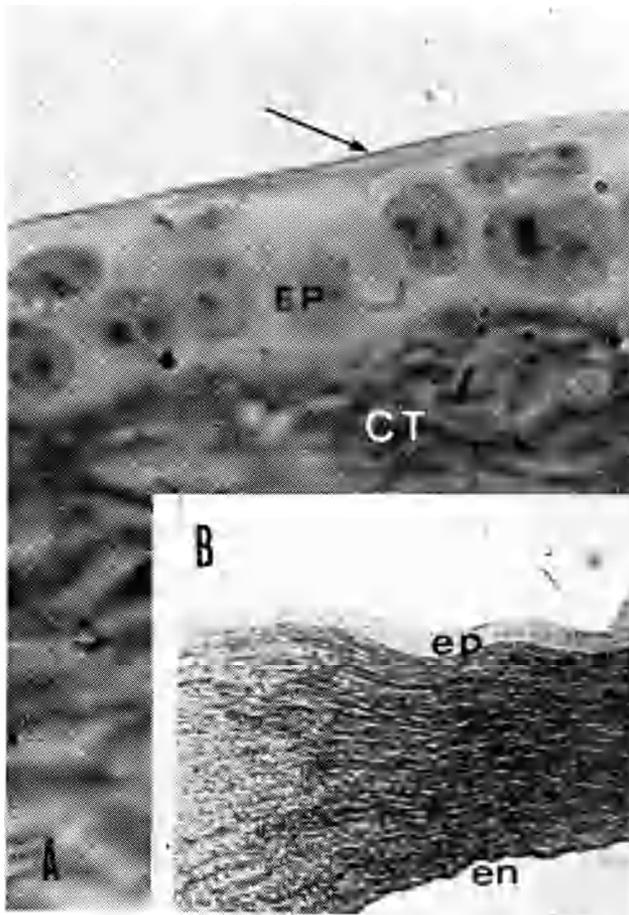
DISCUSSIONE.

I risultati da noi ottenuti mostrano chiaramente che il nostro tentativo di ottenere in conigli non trattati tolleranza ad eterotrapianti di cornea di feto bovino è stato coronato da successo. Questa tolleranza è stata osservata con la massima evidenza quando l'età della cornea fetale non superava i 5-6 mesi. In questi gruppi di animali i trapianti sussistono permanentemente, senza evocare reazione di rigetto. La compatibilità della cornea, tuttavia, non si estende a tutto il periodo di gestazione.

Infatti, i nostri risultati indicano l'esistenza di un « periodo critico » oltre il quale non è possibile ottenere la tolleranza del trapianto.

Alla luce dei risultati ottenuti in questo studio, si può concludere che la tolleranza al trapianto della cornea fetale bovina in conigli non trattati è un fatto ben accertato. Non abbiamo trovato, per quanto è a nostra conoscenza, risultati simili nella letteratura.

Sulla base di questi primi risultati non ci è ancora possibile spiegare il meccanismo di tolleranza da noi riscontrata né comprovare, al riguardo, nessuna delle teorie esistenti.



A) Sezione di cornea di feto bovino di tre mesi. « EP »: strato epiteliale. « CT » stroma corneale. Lo strato esterno omogeneo e continuo che copre l'epitelio è segnato con una freccia. $\times 1000$.

B) Porzione della stessa cornea mostrata in fig. 1 A, fotografata a più piccolo ingrandimento. Lo strato epiteliale è indicato con « ep », l'endotelio con « en ». $\times 100$.



A) Occhio di coniglio con trapianto di cornea di feto bovino completamente accettato. Il donatore è un feto bovino di V-VI mesi. La fotografia è stata presa 5 mesi dopo l'intervento. Non è visibile nessun segno di reazione.

B) Occhio di coniglio con trapianto di cornea bovina adulta. Una forte vascolarizzazione invade la cornea ospitante con opacamento del lembo trapiantato. La fotografia è presa dopo ventidue giorni dall'intervento.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] H. V. TOOLAN, « Ann. N. Y. Acad. Sci. », 73, 546 (1958).
- [2] R. E. BILLINGHAM e W. K. SILVERS, « Ann. Rev. Microb. », 17, 550 (1963).
- [3] R. E. BILLINGHAM e W. K. SILVERS, *In* G. E. W. Wolstenholme and Margaret P. Cameron (eds) Ciba Found. Symp. Transplantation p. 90 London, Churchill 1962.
- [4] R. E. BILLINGHAM e W. K. SILVERS, « Sci. Am. », 208, 118 (1963).
- [5] H. S. N. GREENE, « Cancer Res. », 3, 809 (1943).
- [6] W. S. ALBRINK e H. S. N. GREENE, « Cancer Res. », 13, 64 (1953).
- [7] C. D. TURNER, « Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y. », 36, 314 (1937).
- [8] G. VATTI, *In* « Ginecologia ed ostetricia veterinaria » p. 154 U.T.E.T. Torino 1963.
- [9] I. BABEL e I. B. BOURQUIN, « Brit. J. Ophth. », 36, 529 (1957).