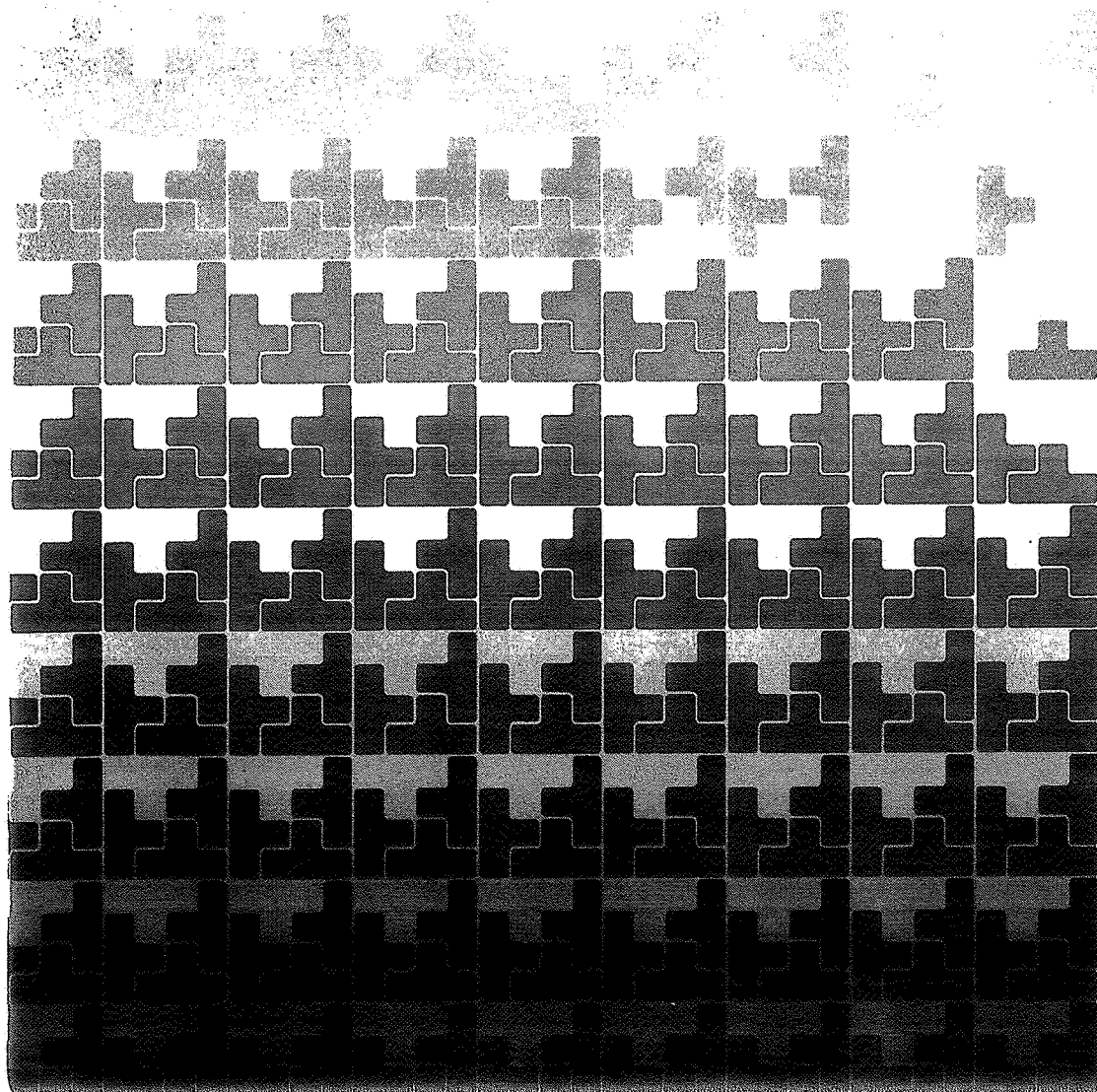


bulletin

NEDERLANDSE
TRANSPLANTATIE
VERENIGING



BOOTCONGRES PROGRAMMA

21-23 april 1998

KWEEK VAN GEÏSOLEERDE VARKENSEILANDJES PRE-XENOTRANSPLANTATIE VERBETERT AANZIENLIJK DE KWALITEIT EN OVERLEVING VAN HET TRANSPLANTAAT

Michel P.M. van der Burg, Romee P. Zwaan en Eelco Bouwman
Leids Universitair Medisch Centrum

Enkele dagen in kweek houden van geïsoleerde eilandjes van Langerhans reduceert de immunogeniciteit van het transplantaat in diverse modellen. Weinig is evenwel bekend over het effect van kweken bij xenotransplantatie van varkens-eilandjes — mogelijk, omdat varkens-eilandjes moeilijk te kweken bleken. Omdat pilot transplantaties van vers-geïsoleerde varkens-eilandjes in sterk immuno-gesupprimeerde ratten resulteerde in primaire non-functie, bestudeerden wij eerst de overleving van geïsoleerde varkens-eilandjes gedurende 1 tot 7 dagen kweken bij 37°C in RPMI medium plus 10% varkensserum. Eilandjes werden geïsoleerd uit zeugen ($n=6$) met een verbeterde techniek, resulterende in intacte eilandjes (grootte $185 \pm 16 \mu\text{m}$), een opbrengst van gemiddeld 2448 eilandjes (IEQs) per gram pancreas, een zuiverheid van $>95\%$, en een levensvatbaarheid van $90 \pm 2\%$ bepaald met de acridine oranje - propidium jodide (AOPI) kleuring. Tijdens kweek echter, was de eilandoverleving $24 \pm 9\%$ op dag 1 en $17 \pm 6\%$ op dag 7 (NS vs dag 1). Om te bepalen of de kweekcondities danwel de kwaliteit van de vers-geïsoleerde eilandjes het verlies in kweek veroorzaakten, vergeleken wij de transplantaatoverleving in naakte muizen op 1 maand na transplantatie onder het nierkapsel van ~ 2500 verse eilandjes in normoglycemische ontvangers en ~ 1000 gekweekte eilandjes in streptozotocine-diabetische ($>20 \text{ mM}$) ontvangers. Na transplantatie van verse eilandjes toonde histologie — iedere 0.5 mm — van de nieren substantiële littekenvorming en (vrijwel-) geen eilandjes. Gekweekte eilandstransplantaten daarentegen maakten $5/6$ ontvangers normoglycemisch, en toonden een aanzienlijke massa goed-gepreserveerde eilandjes met geringe littekenvorming. Wij concluderen dat AOPI-kleuring van verse eilandjes de overleving in vivo en in vitro slecht voorspelt. Een niet-immuungemedieerde desintegratie van een deel van de verse eilandjes kan de functionele capaciteit van het transplantaat sterk verminderen, zowel direct door verlaging van de effectieve eilanddosis, en indirect ten eerste daar littekenvorming de ingroei van het levensvatbare weefsel kan hinderen, en voorts omdat het cel-debris waarschijnlijk macrofagen aantrekt en de afgifte van schadelijke cytokinen induceert.

ANTI-HLA ANTILICHAAM SCREENING MBV ELISA EN COMPLEMENT DEPENDENT CYTOTOXICITY (CDC): CORRELATIE MET NIERTRANSPLANTAAT REJECTIE.

M. Christiaans, R. Overhof, J. van Hooff, E. van den Berg-Loonen

Vakgroep Interne Geneeskunde en Laboratorium voor Weefseltypering AZM, Maastricht

De aanwezigheid van 'panel reactive antibodies' (PRA) bepaald mbv de CDC is gecorreleerd met de incidentie van rejections. Een betere correlatie met rejectie zou verkregen worden m.b.v. een recent geïntroduceerde screening techniek gebaseerd op ELISA (PRASTAT). Het aantal monsters in deze studies waren beperkt. In de huidige studie worden beide technieken met elkaar vergeleken in een groep van 143 niertransplantatie patiënten getransplanteerd met een cadaver donornier met een negatieve CDC kruisproef. Alle patiënten zijn behandeld met cyclosporine. Peak, current en post-transplantaat sera werden retrospectief onderzocht met CDC (NIH en TCF) en PRASTAT. $\text{PRA} < 10\%$ werd beschouwd als negatief. Patiënten werden gegroepeerd ogv de resultaten van de tests in 4 groepen. Rejectie werd gedefinieerd als iedere rejectie-behandeling < 6 maanden na transplantatie.

PRASTAT/NIH	-/-	-/+	+/-	+/+
peak serum	71	16	12	44
current serum	86	11	12	34
post serum	72	19	12	40

Rejectie-vrije overleving toonde een significant verschil tussen de 4 groepen; de $+/+$ groep had in alle sera de hoogste rejectie-frequentie, de $-/+$ groep had in het post-serum een vergelijkbare hoge rejectie-frequentie. Analyse van de data met de gevoeliger TCF volgt.

Conclusie; in 19% van de sera is er een discordantie tussen de resultaten van de NIH-CDC en PRASTAT. De NIH techniek lijkt in de post-serum data een betere correlatie te tonen met rejectie dan PRASTAT.

KWEEK VAN GEÏSOLEERDE VARKENSEILANDJES PRE-XENOTRANSPLANTATIE VERBETERT AANZIENLIJK DE KWALITEIT EN OVERLEVING VAN HET TRANSPLANTAAT

Michel P.M. van der Burg, Josephine K.R.A. Rijkelijhuizen, Romee P. Zwaan, en Eelco Bouwman
Leids Universitair Medisch Centrum



INLEIDING

Enkele dagen kweken van geïsoleerde eilandjes van Langerhans reduceert de immunogeniciteit van het transplantaat in diverse modellen. Weinig is evenwel bekend over het effect van kweken bij xenotransplantatie van varkens-eilandjes — mogelijk, omdat varkens-eilandjes moeilijk te kweken bleken. Omdat pilot transplantaties van vers-geïsoleerde varkens-eilandjes in sterk immuno-gesupprimeerde ratten in PNF resulteerde, bestudeerden wij de overleving van geïsoleerde varkens-eilandjes in vitro tijdens kweken en in vivo na transplantatie van verse- *vs* gekweekte eilandjes in naakte muizen.

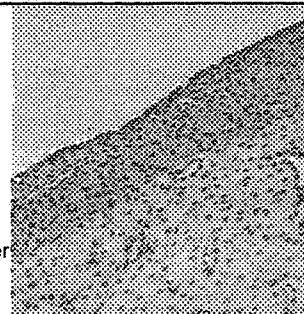
ISOLATIE EN OVERLEVING IN KWEEK

Eilandjes werden geïsoleerd uit zeugen ($n=6$) met een verbeterde techniek, resulterende in intacte eilandjes (grootte $185 \pm 16 \mu\text{m}$), een hoge opbrengst van gemiddeld 2448 eilandjes (IEQs) per gram pancreas, een zuiverheid van $>95\%$, en een levensvatbaarheid van $90 \pm 2\%$ bepaald met de acridine oranje - propidium jodide (AOPI) kleuring. Na isolatie, tijdens 1 tot 7 dagen in kweek houden bij 37°C in RPMI medium plus 10% varkensserum was de eilandoverleving $24 \pm 9\%$ op dag 1 en $17 \pm 6\%$ op dag 7 (NS *vs* dag 1).

TX VAN VERSE- VS GEKWEKTE EILANDJES

Om te bepalen of de kweekcondities danwel de kwaliteit van de vers-geïsoleerde eilandjes het verlies in kweek veroorzaakten, vergeleken wij de overleving en functie (niet-nuchtere bloedglucose) op 3–4 wk na transplantatie van ~ 1500 verse- *vs* gekweekte (1–7 dagen) eilandjes onder het nierkapsel in streptozotocine-diabetische ($\geq 28 \text{ mM}$) ontvangers. Na transplantatie van verse eilandjes bleven 6/7 dieren hyperglycemisch en histologie — iedere 0.5 mm — van de nieren toonde substantiële littekenvorming en vrijwel geen eilandjes. Gekweekte eilandtransplantaten daarentegen maakten 12/14 dieren normoglycemisch, en histologie toonde een aanzienlijke massa goed-gepreserveerde eilandjes met geringe littekenvorming.

HE-kleuring
1 mnd na
transplantatie
van 1-wk
gekweekte
varkens-
eilandjes onder
het nierkapsel
in de naakte
Swiss muis



Bloedglucose (mM)* ~ 4 wk na Tx van ~ 1500
verse- *vs* gekweekte eilandjes in naakte muizen

Vers ($n = 7$)	7,7; $6x \geq 28$
Gekweekt ($n = 14$)	$12x < 6,0$; 20,4; 24,2

* Gemiddelde van 2–4 opeenvolgende waarden
Detectielimiet assay is 28 mM

CONCLUSIES

Een niet-immuungemedieerde desintegratie van een deel van de verse eilandjes kan de functionele capaciteit van het transplantaat sterk verminderen: *direct* door verlaging van de effectieve eilanddosis; en *indirect* daar (i) littekenvorming de ingroei van eilandjes hindert, en (ii) cel-debris macrofagen aantrekt en de afgifte van schadelijke cytokinen induceert.