

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20081> holds various files of this Leiden University dissertation.

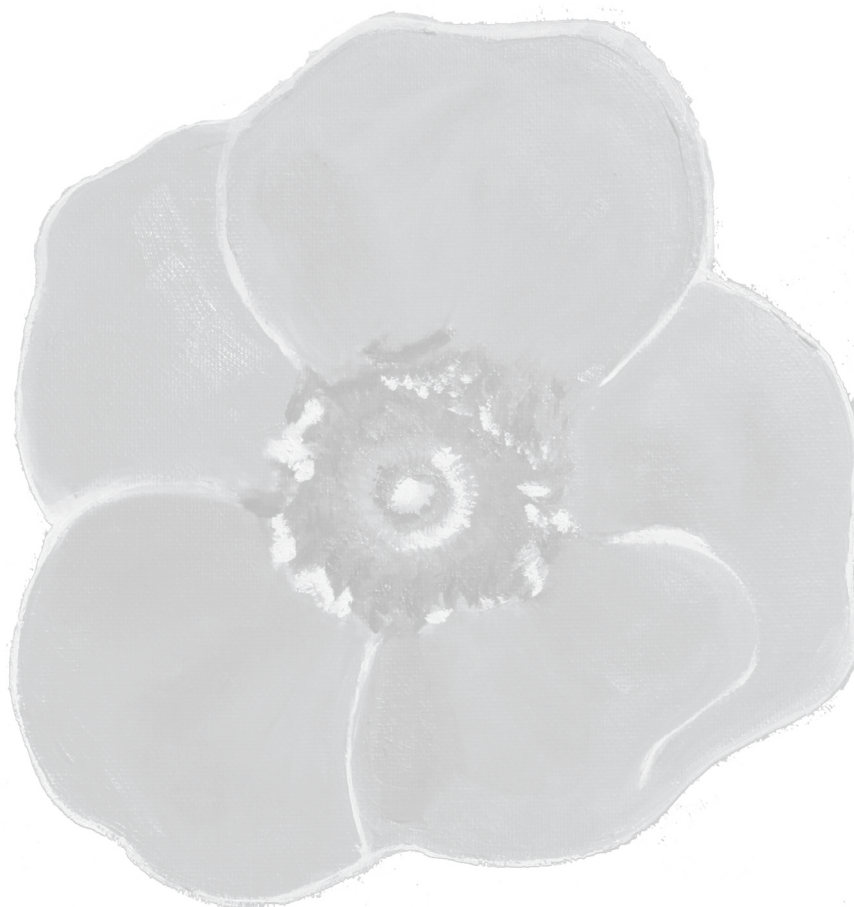
**Author:** Hilling, Denise Eline

**Title:** Improving the use of donor organs in pancreas and islet of Langerhans transplantation

**Issue Date:** 2012-11-01

# **Chapter 10**

## **Nederlandse samenvatting**



## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Pancreastransplantatie en eilandjes van Langerhans transplantatie zijn potentiële oplossingen voor de behandeling van patiënten met Diabetes Mellitus type 1. Beide procedures hebben bewezen dat zij het gebruik van exogeen insuline overbodig maken en kunnen leiden tot normoglycemie. Pancreasdonororganen zijn echter schaars en er is een relatief tekort aan donorpancreata in vergelijking met het aantal patiënten dat op de wachtlijst staat voor een transplantatie (1). Het is daarom essentieel dat beschikbare organen optimaal benut worden.

Het doel van dit proefschrift is om een bijdrage te leveren aan de voortschrijdende verbetering van pancreastransplantaatoverleving en de eilandjesisolatieopbrengst, zodat optimaal gebruik kan worden gemaakt van beschikbare organen. Hiervoor richten wij ons in deel I op pancreastransplantatie en in deel II en III op eilandjestransplantatie. Humane eilandjestransplantatie heeft zich in de afgelopen jaren ontwikkeld tot een routinebehandeling in ongeveer 30 centra in de wereld. In het Leids Universitair Medisch Centrum vindt momenteel de transitie van experimentele naar routinematige behandeling plaats. De transplantatie van varkenseilandjes maakt ook langzaam maar zeker de overgang van het laboratorium naar klinische toepassing.

Om dit doel te bereiken hebben wij, middels vergelijkend onderzoek naar de effectiviteit in registraties en via systematische reviewtechnieken, eerst verschillende factoren bekeken die in potentie de uitkomsten van pancreas- of eilandjestransplantatie kunnen verbeteren. Dit werd gecombineerd met biomedisch onderzoek om het mechanisme, waardoor verschillende factoren de uitkomst van transplantatie of isolatieopbrengst kunnen beïnvloeden, in meer detail te bestuderen.

Het Leids Universitair Medisch Centrum is het grootste centrum in Nederland dat pancreastransplantaties verricht. In 2011 werd 86% van alle pancreastransplantaties hier verricht. **Hoofdstuk 2** laat zien dat zowel donor- als ontvangerfactoren als ook matching van donor met ontvanger de transplantaatoverleving beïnvloeden. Pancreastransplantaatoverleving is korter bij vrouwen die een orgaan ontvingen van een donor met eenzelfde BMI met enterale drainage van het transplantaat. Ontvangerfactoren zijn het meest belangrijk en verklaren het grootste deel van de variatie in overleving zowel na 1 jaar als op de lange termijn. Donorfactoren zijn minder belangrijk dan ontvangerfactoren. Dit geldt in ongeveer gelijke mate voor de korte en de lange termijn.

Onze methode, waarbij het effect van donorfactoren wordt gekwantificeerd ten opzichte van ontvangerfactoren, is niet eerder beschreven. Het voordeel van deze methode is dat niet alleen onderzocht wordt welke factoren een significante invloed hebben op pancreastransplantaatoverleving, maar dat ook de relatieve bijdrage aan de transplantaatoverleving bepaald kan worden. Voor transplantaatoverleving op

lange termijn lijkt het optimaliseren van ontvangerfactoren dus belangrijker dan het optimaliseren van donorfactoren. Dit is waarschijnlijk een logisch gevolg van het feit dat pancreasdonoren voor de uitname en transplantatie al uitgebreid geselecteerd worden. Door deze selectie is er een kleinere variatie in donorfactoren (bijv. variatie in leeftijd) dan het geval is bij ontvangerfactoren. Deze kleinere variatie resulteert zeer waarschijnlijk in een kleinere variatie in overleving en zal daarom een geringer deel van de verschillen in pancreastransplantaatoverleving verklaren. Ontvangers worden in veel mindere mate geselecteerd, zeker in de afgelopen jaren waarbij pancreastransplantatie ook wordt aangeboden aan meer hoog-risico patiënten (bijv. oudere patiënten met comorbiditeit). Hierdoor verschillen de karakteristieken die van invloed kunnen zijn op de overleving bij ontvanger veel meer. Verder onderzoek zal leiden tot een verbetering van dit model als er bijvoorbeeld ook andere factoren meegenomen worden, zodat we nog beter in staat zijn om verschillen in overleving te verklaren.

Naast donor- en ontvangerfactoren beïnvloedt ook de uitnametechniek van een pancreas de overleving van het transplantaat en van de patiënt. Chirurgische schade die ontstaat bij de uitnameprocedure kan leiden tot complicaties nadat het orgaan getransplanteerd is, een verminderd functioneren van het transplantaat, transplantaatverlies en zelfs overlijden van de patiënt. In **hoofdstuk 3** hebben wij bekeken hoe vaak pancreata werden afgewezen voor transplantatie nadat zij zijn uitgenomen, tijdens de zogenaamde “back-table” inspectie. Daarnaast hebben wij bekeken welk type problemen hier verantwoordelijk voor waren en of in getransplanteerde pancreata andere problemen werden gezien dan in afgewezen pancreata. Redenen om pancreata af te wijzen voor transplantatie waren: ernstige atherosclerose, ernstige schade aan het pancreasparenchym en dusdanige beschadiging van de normale anatomie van de v. mesenterica superior, de v. lienalis en de a. lienalis of van de a. pancreatica dorsalis dat reconstructie en daardoor transplantatie niet mogelijk waren.

Alle uitgenomen pancreata die getransporteerd werden naar ons centrum in de periode februari 2002 – mei 2008 zijn onderzocht (n = 134). Van deze pancreata werd 82,8% getransplanteerd en 17,2% werd afgewezen voor transplantatie tijdens de “back-table” inspectie. Dertien procent van de pancreata werd afgewezen op basis van chirurgische schade. Zoals te verwachten viel, werden in afgewezen pancreata meer kritieke en niet-kritieke problemen gevonden dan in getransplanteerde pancreata. De kans dat een pancreas werd afgewezen voor transplantatie was hoger in pancreata van oudere donoren, uitgenomen door centra waar geen pancreastransplantaties worden verricht. Pancreata hadden een 8 keer hogere kans om afgewezen te worden wanneer zij werden uitgenomen door deze centra in vergelijking met centra die wel pancreastransplantaties verrichtten. Deze bevindingen hebben belangrijke implicaties voor het huidige pancreasuitnamebeleid. Uitgebreidere en frequentere training van pancreasuitnamechirurgen kan leiden tot betere kwaliteit van de uitgenomen organen

en dus voor een afname van het percentage afgewezen organen. Chirurgen met ervaring met pancreastransplantaties zouden goede instructeurs zijn in een dergelijk trainingsprogramma. Een andere manier om het percentage afgewezen organen te verlagen zou bereikt kunnen worden door pancreasuitnames alleen te laten verrichten door centra die ook pancreastransplantaties uitvoeren. Dit is in de praktijk echter moeilijk (zo niet onmogelijk) te bewerkstelligen. Een betere oplossing lijkt te zijn om naast het geven van training ook jaarlijks het percentage niet-transplanteerbare pancreata terug te koppelen aan uitnamecentra.

Bij een geselecteerde groep patiënten is de transplantatie van eilandjes van Langerhans een goed alternatief voor pancreastransplantatie. Voldoende eilandjesopbrengst kan worden verkregen van een enkele donor, maar zelfs in de meest succesvolle studies zijn vaak multiële transplantaties nodig om (tijdelijke) normalisatie van hyperglycemie in de ontvangers te bewerkstelligen (2-7). Daarnaast is de opbrengst van eilandjes uit een pancreas erg variabel. Omdat er een relatief tekort aan donorpancreata is, is het noodzakelijk om dit proces te optimaliseren zodat er routinematig voldoende eilandjes van een enkele donor worden verkregen.

**Hoofdstuk 4** is een systematische review van donor-, pancreas- en isolatieprocedure gerelateerde factoren die van invloed zijn op de eilandjesisolatieopbrengst. Hogere pre- en post-purificatie opbrengst en een hoger percentage succesvolle isolaties werden bereikt wanneer pancreata werden gepreserveerd met de “two-layer method” in plaats van University of Wisconsin oplossing en wanneer ze afkomstig waren van donoren met een korte koude ischemietijd. Een uur langere koude ischemietijd resulteerde in een gemiddelde daling van pre-purificatie, post-purificatie opbrengst en percentage succesvolle isolaties van respectievelijk 59 IEQ/g, 54 IEQ/g en 21%. Hogere pre-purificatie opbrengst en een hoger percentage succesvolle isolaties werden bereikt in jongere donoren met een hoger BMI. Lagere opbrengst werd gevonden in heartbeating donoren in vergelijking met non-heartbeating donoren. Hogere post-purificatie opbrengst werd gevonden wanneer de isolatieprocedure werd verricht met Serva collagenase. Omdat niet alle studies dezelfde factoren rapporteerden, werden bovenstaande resultaten gevonden op basis van slechts een deel van de studies. Om deze bevindingen met grotere betrouwbaarheid vast te stellen is het noodzakelijk dat er een gestandaardiseerde rapportage van deze factoren komt. Bij de univariate analyse werd 66,3-87,5% van alle beschikbare pancreata geanalyseerd terwijl bij de multivariate analyse slechts 10,3-20,6% van alle beschikbare pancreata werd geanalyseerd als gevolg van missende data. Dit laat zien dat er grote variatie is tussen de gerapporteerde variabelen in de verschillende studies, zelfs als alleen die variabelen geselecteerd worden die in de meeste studies worden gerapporteerd. Gestandaardiseerde rapportage van een minimale set van variabelen zal ook leiden tot een betere “fit” van het model dat gebruikt werd in de multivariate analyse. In

onze huidige analyse van post-purificatie opbrengst werd 19% van de variatie in isolatieopbrengst verklaard door de geïnccludeerde variabelen. In de analyses van pre-purificatie opbrengst en percentage succesvolle transplantaties was dit percentage hoger, maar werd ook slechts 50% van de variatie verklaard. Dit suggereert dat naast de factoren die in onze systematische review werden geïnccludeerd, ook andere (nog onbekende) factoren de isolatieopbrengst beïnvloeden.

Het voorkomen van hyperemische eilandjes (HE's) zou een van de andere factoren kunnen zijn die de isolatieopbrengst beïnvloeden. Het ontstaansmechanisme van deze eilandjes en hun relevantie voor isolatieopbrengst is onbekend. In **hoofdstuk 5** hebben wij histologische karakteristieken van het humane pancreas in relatie tot eilandjesisolatie bestudeerd. HE's werden in ongeveer de helft van de onderzochte pancreata gevonden. De meest waarschijnlijke verklaring is dat de HE's kort voor of tijdens de uitname van het pancreas ontstaan als gevolg van een stijging in de bloeddruk gecombineerd met hemodynamische instabiliteit (geassocieerd met een langere IC opname). Daarnaast kan ook de manipulatie van het pancreas tijdens de uitnameprocedure bijdragen aan het ontstaan van HE's.

Wij vonden een substantieel lagere isolatieopbrengst in pancreata met HE's (HE+) dan in pancreata zonder HE's (HE-). Speculatief kan gesteld worden dat naast de lagere isolatieopbrengst de aanwezigheid van HE's ook een verklaring is voor het variabele, onverklaarde verlies van eilandjes tijdens het kweken en na transplantatie. Wanneer eilandjes worden geïsoleerd uit pancreata die HE's bevatten, lijken deze eilandjes "normaal" (omdat slechts een klein percentage van de eilandjes in een pancreas hyperemisch was), terwijl eigenlijk de hele populatie aan eilandjes in dergelijke pancreata in meer of mindere mate is aangedaan. Deze eilandjes overleven waarschijnlijk eerder het kweken niet of hebben een verminderde functie wanneer zij getransplanteerd worden. Om het belang van HE's te bepalen in het licht van eilandjestransplantatie zal verder onderzoek moeten worden gedaan waarbij de focus moet liggen op de invloed op post-purificatie opbrengst, zuiverheid en levensvatbaarheid van de eilandjes. Systematische rapportage van het voorkomen van hyperemische eilandjes in toekomstige studies (door bijvoorbeeld het nemen van een biopt voor de isolatieprocedure) zal het mogelijk maken deze factor te includeren in een meta-analyse, zodat de relevantie hiervan voor eilandjesisolatieopbrengst bepaald kan worden bepaald in vergelijking met andere bekende factoren.

Een mogelijke oplossing voor het tekort aan humane donorpancreata is xenotransplantatie van varkenseilandjes. De isolatie van varkenseilandjes is echter moeizaam en sterk variabel gebleken. Morfologische karakteristieken van varkenspancreata zijn waarschijnlijk verantwoordelijk voor de variabele opbrengst. Wanneer histologische kenmerken van varkenspancreata werden bestudeerd in relatie tot isolatieopbrengst, werd evenals bij onze studie in humane donorpancreata,

een verrassend hoog aantal hyperemische eilandjes gevonden, zoals beschreven in **hoofdstuk 6**. HE's werden gevonden in 48% van de pancreata van raszuivere en in 65% van de pancreata van hybride varkens. Net als in onze humane studie werden significant lagere isolatieopbrengsten gevonden in HE+ pancreata in vergelijking met HE- pancreata in zowel raszuivere als hybride varkens. Er werden geen aanwijzingen gevonden voor een chronisch ontstaansproces, zodat kan worden gespeculeerd dat HE's kort voor de dood van het varken ontstaan door bijvoorbeeld een plotselinge stijging van de bloeddruk.

Omdat HE's in zowel humane als varkenspancreata gevonden worden en in beiden eenzelfde effect lijken te hebben op de isolatieopbrengst, zou het voorkomen van HE's mogelijk een belangrijke factor kunnen zijn in eilandjes isolatieopbrengst.

Bij de enzymatische vertering van de pancreas (om eilandjes te isoleren) is collageen het belangrijkste doelwit. De hoeveelheid collageen in het pancreas is daarom een andere factor die de onvoorspelbare, variabele isolatieopbrengst kan verklaren. In **hoofdstuk 7** beschrijven wij de resultaten van onze studie in 64 jonge en 76 volwassen varkens. Hierbij hebben wij eerst gekeken naar het verschil tussen jonge en volwassen varkens. Van isolatieprocedures in volwassen varkens is beschreven dat zij over het algemeen resulteren in hoge eilandjesopbrengst (8, 9). In jonge varkens blijkt deze procedure echter moeilijker te zijn, mogelijk als gevolg van de relatief fragiele eilandjes (10, 11). Hoewel wij een verschil in hoeveelheid collageen vonden tussen volwassen en jonge varkens, bleef dit verschil bestaan ook als wij rekening hielden met het verschil in gemiddelde leeftijd tussen de groepen. Dit verschil moet daarom worden veroorzaakt door een ander verschil tussen jonge en volwassen varkens.

Een collageen kapsel rondom het eilandje zou in potentie het eilandje kunnen beschermen tegen de enzymatische desintegratie en zodoende tegen de fragmentatie van het eilandje. Er is beschreven dat een uitgebreider collageen kapsel rond eilandjes van volwassen varkens in vergelijking met jonge varkens het verschil in isolatieopbrengst tussen jonge en volwassen varkens zou kunnen verklaren (12, 13). In onze studie vonden wij echter geen verschil in de collageenomkapseling van eilandjes tussen volwassen en jonge varkens. Zowel in volwassen als in jonge varkens waren de eilandjes niet of slechts zeer beperkt omkapseld met collageen.

Naast het verschil tussen volwassen en jonge varkens hebben wij ook gekeken naar de invloed van collageen op de isolatieopbrengst in een studie van 58 volwassen varkens. Eerdere studies lieten zien dat de totale hoeveelheid collageen invloed had op de isolatieopbrengst (13). Wij vonden echter geen relatie tussen totale hoeveelheid collageen, collageenomkapseling van eilandjes en collageen binnenin de eilandjes en de uiteindelijke isolatieopbrengst.

De samenstelling van het kapsel van het eilandje en de relatieve concentratie van de afzonderlijke componenten zouden van invloed kunnen zijn op de isolatieopbrengst en een mogelijke bias kunnen veroorzaken in de geobserveerde relatie tussen

isolatieopbrengst en het gehele kapsel rondom het eilandje. Omdat wij geen of slechts een zeer beperkte collageenomkapseling van de eilandjes vonden in onze studie (wanneer wij weefselbiopten kleurden voor alle typen collageen), verwachtten wij dat collageen subtypes slechts een beperkte rol spelen. Andere matrixelementen zouden echter wel een rol kunnen spelen en dienen nader onderzocht te worden.

Ductale injectie van collagenase is de techniek gebleken waarbij de hoogste isolatieopbrengst wordt verkregen. Er is echter nog steeds een aanmerkelijk verlies van endocrien weefsel bij gebruik van deze techniek. In **hoofdstuk 8** laten wij zien dat eilandjes een morfologische verandering ondergaan tijdens isolatieprocedures bij varkens en bij humane procedures. Om deze morfologische verandering te kwantificeren hebben wij de gemiddelde beta cel/endocrien weefsel ratio bepaald van opgespoten en niet-opgespoten weefselbiopten. In een 2<sup>e</sup> experiment werden 20 pancreata op eenzelfde manier beoordeeld na intra-ductale injectie van Hank's Balanced Salt Solution (HBSS). De geobserveerde daling in beta cel/endocrien weefsel ratio bleek niet specifiek te zijn voor collagenase, maar werd ook gezien in het experiment met HBSS. De morfologische verandering van eilandjes lijkt daarom meest waarschijnlijk het gevolg te zijn van volume-expansie door de ingespoten vloeistof. Dit zou kunnen leiden tot fragmentatie van de eilandjes met verminderde isolatieopbrengst en een verminderde functie tot gevolg.

Concluderend stellen we dat dit proefschrift bijdraagt aan de bewijslast dat de focus zou moeten liggen op de optimalisatie van ontvangers om pancreastransplantaatoverleving te verbeteren en op de verbetering van de kwaliteit van de uitgenomen pancreata door centra die geen pancreastransplantaties verrichten (bijv. door uitnamechirurgen te trainen waardoor pancreasuitname wordt verbeterd, hetgeen resulteert in meer transplanteerbare pancreata).

Bij eilandjestransplantatie zou de rapportage van donor-, pancreas- en isolatiefactoren meer gestandaardiseerd moeten worden waardoor er nauwkeuriger bepaald kan worden welke factoren belangrijke voorspellers zijn voor isolatieopbrengst. Als daarnaast meer biomedische karakteristieken (bijv. de aanwezigheid van hyperemische eilandjes) worden gerapporteerd, dan zouden we in staat zijn om het onafhankelijke effect van de biomedische factoren te bepalen en uiteindelijk de invloed van deze factoren op eilandjestransplantatie in de klinische setting.



## TOEKOMSTPERSPECTIEF

### **Pancreastransplantatie**

In december 2010 zijn meer dan 36.000 pancreastransplantaties geregistreerd bij de International Pancreas Transplant Registry (IPTR). Meer dan 24.000 transplantaties zijn uitgevoerd binnen de VS en 12.000 daarbuiten (14). Gedurende de afgelopen 24 jaar is de leeftijd van de ontvangers toegenomen evenals het aantal patiënten met Diabetes Mellitus type 2. De criteria voor donoren zijn in deze periode strikter geworden waarbij de nadruk ligt op jongere donoren, bij voorkeur traumaslachtoffers met korte preservatietijd. Ook chirurgische technieken voor drainage van de ductus pancreaticus zijn veranderd in de loop van de tijd. In de VS is enterale drainage in combinatie met systemische veneuze afvoer van het pancreastransplantaat de meest gebruikte techniek. In het Leids Universitair Medisch Centrum wordt een 2-staps benadering routinematig toegepast bij de meeste patiënten. Hierbij wordt het pancreastransplantaat in eerste instantie gedraineerd via de blaas en vindt na 6-12 maanden een electieve conversie naar enterale drainage plaats (15). Protocollen voor immunosuppressieve therapie hebben zich ontwikkeld in de richting van inductietherapie met antilichaam, gevolgd door Tacrolimus en Mycophenolaat Mofetil (MMF) als onderhoudstherapie. Het aantal transplantaties zonder behandeling met steroïden is ook toegenomen in de afgelopen jaren. Deze ontwikkelingen hebben geresulteerd in een toegenomen patiënt- en transplantaatoverleving. Patiëntoverleving is nu 95% na 1 jaar en 83% 5 jaar na transplantatie. Omdat donoren al uitgebreid geselecteerd worden voor de transplantatie, zal verdere verbetering van patiënt- en transplantaatoverleving gerealiseerd moeten worden door de optimalisatie van ontvangers (bijv. optimalisatie van het BMI). Als alternatief wordt ook segmentele pancreastransplantatie van levende donoren beschreven (16). Initieel was er een technisch falenpercentage van 33% (bijna 2 keer zo hoog als in overleden donoren), maar dit is inmiddels gedaald tot minder dan 1%. Percentages transplantaatoverleving zijn in beide groepen ongeveer even hoog. Bij toename van het gebruik van levende donoren zullen in de toekomst waarschijnlijk niet alleen streng geselecteerde donoren worden gebruikt, maar zullen de selectie criteria voor donoren in de loop van de tijd minder stringent worden. Uiteindelijk zal dit leiden tot meer variatie in donorkarakteristieken die de overleving beïnvloeden. Op deze manier zal het gebruik van levende donoren de invloed van donorfactoren - bij het verklaren van verschillen in overleving - vergroten. Nadelen van deze therapie zijn de grote operatie die de donor moet ondergaan (zelfs als minimaal-invasieve technieken worden toegepast), en het risico van de donor om diabetes, pancreasfistels of infecties te ontwikkelen.

## Humane eilandjestransplantatie

Klinische eilandjestransplantatie wordt momenteel uitgevoerd bij ongeveer 15% van de patiënten met Diabetes Mellitus type 1 met refractaire hypoglycemie of hypoglycemische episodes en is inmiddels een gestandaardiseerde klinische behandeling. Jaarlijks worden 750 transplantaties verricht wereldwijd in ongeveer 30 centra (5). In het Leids Universitair Medisch Centrum zijn, sinds de start in 2007, 19 transplantaties uitgevoerd bij 13 patiënten. Eilandjestransplantatie zorgt voor een endogene regulatie van insulinesecretie en daardoor voor een stabilisatie van de glucoseregulatie waardoor hypoglycemiën worden voorkomen en het geglycosyleerde Hb (HbA1c) wordt gecorrigeerd tot een dusdanig niveau dat secundaire complicaties van Diabetes Mellitus worden voorkomen en gecorrigeerd. Patiënten moeten echter de rest van hun leven behandeld worden met immunosuppressiva. Transplantatie van eilandjes wordt ook uitgevoerd na een eerdere niertransplantatie. Hier is de overweging gemakkelijker, omdat deze patiënten vanwege de niertransplantatie al behandeld moeten worden met immunosuppressiva. Verder is de procedure voor eilandjestransplantatie een simpele, niet chirurgische interventie met een relatief laag risico op complicaties.

Transplantatie van eilandjes zal zich, om bovenstaande redenen, waarschijnlijk ontwikkelen tot een standaardtherapie, wanneer het meer voorhanden zou zijn. Dit betekent dat de voorraad eilandjes moet toenemen (bijv. door toename van de voorraad bestaande eilandjes, door stamcellen of wanneer xenotransplantatie bronnen meer beschikbaar zouden komen). Daarnaast moeten problemen van immunologische tolerantie (waarbij destructie van eilandjes door auto- of alloïmmuun reacties wordt voorkomen) en potentiële bijwerkingen van immunosuppressieve therapie worden aangepakt om de transitie naar een standaardtherapie te bewerkstelligen. Verder blijft het routinematig verkrijgen van voldoende eilandjes van een enkele donor een belangrijk doel. Dit zorgt ervoor dat meer patiënten kunnen worden behandeld met eilandjes en zorgt eveneens voor een verlaging van het potentiële risico op HLA-sensitisatie doordat de blootstelling aan meerdere donoren wordt voorkomen. Allotransplantatie van eilandjes is ook uitgevoerd met eilandjes van drie levende donoren. De laatste hiervan was succesvol en biedt dus perspectief voor toekomstige behandelingen (17-19).

De overstap van meerdere-donoren naar enkelvoudige-donor succes vraagt om een multimodale aanpak. Dit vereist optimalisatie van de conditie van het donorpancreas voor de uitname, bescherming van eilandjes tegen schade als gevolg van koude en warme ischemie, optimalisatie van het eilandjesisolatieproces, toegang tot een effectief, stabiel, humaan collagenase-enzymmengsel en verschillende strategieën voor de behandeling van de ontvanger om immunologische, ontstekings- en trombosereacties te onderdrukken, waarbij tegelijkertijd de neovascularisatie en de metabole functie van het transplantaat moeten worden gestimuleerd. Een dergelijke

multimodale aanpak zal van invloed zijn op het succes van eilandjestransplantatie op korte en lange termijn en zal de snelle overschakeling van onderzoek naar routinematige klinische behandeling ondersteunen. Dit benadrukt de noodzaak om de isolatieopbrengst van eilandjes te optimaliseren.

Om deze optimalisatie van de eilandjesisolatieopbrengst te bewerkstelligen ligt de focus van het onderzoek in het Leids Universitair Medisch Centrum op de ontwikkeling van 'devices' (in samenwerking met de Technische Universiteit Twente) die een optimale micro-omgeving van getransplanteerde eilandjes creëren en op alternatieve celbronnen (bijv. precursorcellen).

### **Xenotransplantatie**

Varkenseilandjes kunnen een alternatief zijn voor humane eilandjestransplantatie, met name als zij op een dusdanige manier worden getransplanteerd dat het immuunsysteem van de ontvanger omzeild wordt (20). Dit kan worden bereikt door de xenogene eilandjes te beschermen tegen immuunreacties van de ontvanger door ze te omkapselen met selectieve semipermeabele barrières. Speciaal gefokte pathogeen-vrije kudde (21, 22) kunnen voor een voorraad varkenseilandjes zorgen die goed getolereerd worden wanneer zij in zo'n beschermend transportvehikel toegepast worden. Deze barrièresystemen zijn succesvol gebleken in de behandeling van diabetes in verschillende diermodellen en eerste studies laten zien dat dergelijke resultaten ook kunnen worden bereikt in mensen. Lopende studies waarin omkapselde varkenseilandjes worden gebruikt zonder immunosuppressieve therapie, worden gesponsord door Living Cell Technologies (LCT) in Rusland en Nieuw-Zeeland, evenals studies die in de planningsfase zijn in de VS. De studie in Nieuw-Zeeland startte in 1995 met zes patiënten met DM type 1 die een transplantatie met omkapselde, dan wel niet-omkapselde eilandjes ontvingen. Eén individu, dat een transplantatie met omkapselde eilandjes kreeg, liet een daling van de gemiddelde maandelijkse insulinedosis zien, een afname van het HbA1C en er werd in het bloed varkens C-peptide gedetecteerd. Een biopt bij deze patiënt, 9,5 jaar na de transplantatie, liet omkapselde eilandjes zien met expressie van insuline (23). Deze, alhoewel tijdelijke, vooruitgang in diabetische status was veelbelovend en gaf aanleiding tot verder onderzoek. Helaas werd de studie tijdelijk stopgezet vanwege bezorgdheid over in vitro varken-naar-humane transmissie van endogene retrovirussen. Dit resulteerde in een lang proces van overleg met de Nieuw-Zeelandse autoriteiten om te voldoen aan kwaliteitseisen met betrekking tot de gezondheidsstatus van de varkens, pancreasverwerking en eilandomkapseling, voorlichting aan het publiek en implementatie van een veiligheidsstrategie.

In de Russische studie, gestart in 2007, werden bij acht patiënten 5000-10000 IEQ/kg eilandjes getransplanteerd. Na 3 en 6 maanden was er effect merkbaar in een aantal, maar niet in alle, patiënten.

Vijf patiënten lieten een gereduceerde insulinebehoefte zien en twee patiënten (één na 3 en één na 6 maanden), waren tijdelijk insulineonafhankelijk. Zes patiënten hadden een lager HbA1C (gemiddeld 8,9% voor transplantatie, 6,9% 3 maanden na transplantatie en 7,3% na 6 maanden). De procedure werd veilig bevonden en ook het herhaald geven van eilandjestransplantaties werd veilig bevonden.

De studie in Nieuw-Zeeland werd hervat in oktober 2009. Het is een open-label dose-range studie met een transplantatie van 10000-15000 IEQ/kg in acht patiënten met instabiele DM en ernstige hypoglycemische periodes. Op het XXIIIe internationale congres van de Transplantation Society (24) werd één patiënt meer gedetailleerd gepresenteerd. Hierbij werd een insuline reductie van 20% bereikt, 4 weken na transplantatie.

Deze data laat zien dat klinische varkenseilandjestransplantatie een veilige procedure is die voordelen kan hebben voor patiënten die zich niet bewust zijn van hypoglycemische episodes en die een bescheiden verbetering van de diabetescontrole geeft. In komende studies zal de dosis en de timing van de toegediende eilandjes onderzocht worden. Optimalisatie van isolatieopbrengst van varkenseilandjes zal nog belangrijker worden als de transplantatie van varkenseilandjes een standaardtherapie wordt.

Dit proefschrift is een eerste stap in de richting van deze toekomstige ontwikkelingen. Door het combineren van diverse onderzoeksmethodes, namelijk vergelijkend onderzoek naar de effectiviteit in registraties, systematische review technieken en biomedisch onderzoek hebben wij een vruchtbare interactie bewerkstelligd. Aan de ene kant hebben wij het effect van factoren op uitkomsten voor de patiënt onderzocht (door het bepalen van de relatieve invloed van factoren op transplantatie uitkomsten) en aan de andere kant hebben wij enkele mechanismen proberen te ontrafelen waardoor deze potentiële factoren de transplantatieuitkomst beïnvloeden. Het voordeel van een dergelijke combinatie is dat wij niet alleen onderzocht hebben hoe sommige factoren de transplantatieuitkomst beïnvloeden, maar tegelijkertijd geprobeerd hebben te kwantificeren welk deel van de variatie in uitkomst wordt verklaard door deze factor. Hierdoor kan bepaald worden waar de ruimte voor verbetering ligt in deze uitkomsten.

## REFERENTIES

1. Eurotransplant. [http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=annual\\_reports](http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=annual_reports) 2010.
2. Froud T, Ricordi C, Baidal DA, et al. Islet transplantation in type 1 diabetes mellitus using cultured islets and steroid-free immunosuppression: Miami experience. *Am J Transplant* 2005; 5:2037-46.
3. Hering BJ, Kandaswamy R, Ansite JD, et al. Single-donor, marginal-dose islet transplantation in patients with type 1 diabetes. *JAMA* 2005; 293:830-5.
4. Markmann JF, Deng S, Huang X, et al. Insulin independence following isolated islet transplantation and single islet infusions. *Ann Surg* 2003; 237:741-9; discussion 749-50.
5. Shapiro AM. Strategies toward single-donor islets of Langerhans transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2011; 16:627-31.
6. Shapiro AM, Ricordi C. Unraveling the secrets of single donor success in islet transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4:295-8.
7. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343:230-8.
8. Bottino R, Balamurugan AN, Smetanka C, et al. Isolation outcome and functional characteristics of young and adult pig pancreatic islets for transplantation studies. *Xenotransplantation* 2007; 14:74-82.
9. Marchetti P, Finke EH, Gerasimidi-Vazeou A, et al. Automated large-scale isolation, in vitro function and xenotransplantation of porcine islets of Langerhans. *Transplantation* 1991; 52:209-13.
10. Heiser A, Ulrichs K, Muller-Ruchholtz W. Influence of porcine strain, age, and pH of the isolation medium on porcine pancreatic islet isolation success. *Transplant Proc* 1994; 26:618-20.
11. Rood PP, Buhler LH, Bottino R, et al. Pig-to-nonhuman primate islet xenotransplantation: a review of current problems. *Cell Transplant* 2006; 15:89-104.
12. Soggi C, Ricordi C, Davalli AM, et al. Selection of donors significantly improves pig islet isolation yield. *Horm Metab Res Suppl* 1990; 25:32-4.
13. van Suylichem PT, van Deijnen JE, Wolters GH, et al. Amount and distribution of collagen in pancreatic tissue of different species in the perspective of islet isolation procedures. *Cell Transplant* 1995; 4:609-14.
14. Gruessner AC. 2011 update on pancreas transplantation: comprehensive trend analysis of 25,000 cases followed up over the course of twenty-four years at the International Pancreas Transplant Registry (IPTR). *Rev Diabet Stud* 2011; 8:6-16.
15. Marang-van de Mheen PJ, Nijhof HW, Khairoun M, et al. Pancreas-kidney transplantations with primary bladder drainage followed by enteric conversion: graft survival and outcomes. *Transplantation* 2008; 85:517-23.
16. Sutherland DE, Radosevich D, Gruessner R, et al. Pushing the envelope: living donor pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2012; 17:106-15.
17. Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, et al. Insulin independence after living-donor distal pancreatectomy and islet allotransplantation. *Lancet* 2005; 365:1642-4.
18. Sutherland DE, Goetz FC, Najarian JS. Living-related donor segmental pancreatectomy for transplantation. *Transplant Proc* 1980; 12:19-25.
19. Sutherland DE, Matas AJ, Goetz FC, et al. Transplantation of dispersed pancreatic islet tissue in humans: autografts and allografts. *Diabetes* 1980; 29 Suppl 1:31-44.
20. Thanos CG, Elliott RB. Encapsulated porcine islet transplantation: an evolving therapy for the treatment of type I diabetes. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9:29-44.
21. Garkavenko O, Muzina M, Muzina Z, et al. Monitoring for potentially zoonotic viruses in New Zealand pigs. *J Med Virol* 2004; 72:338-44.
22. Garkavenko O, Wynyard S, Nathu D, et al. Porcine endogenous retrovirus transmission characteristics from a designated pathogen-free herd. *Transplant Proc* 2008; 40:590-3.
23. Elliott RB, Escobar L, Tan PL, et al. Live encapsulated porcine islets from a type 1 diabetic patient 9.5 yr after xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2007; 14:157-61.

24. Schuurman HJ. Xenotransplantation: from the lab to the clinic: Sunrise Symposium at the XXIII International Congress of the Transplantation Society, Vancouver, Canada, August 2010. Clin Transplant 2011; 25:E415-21.

