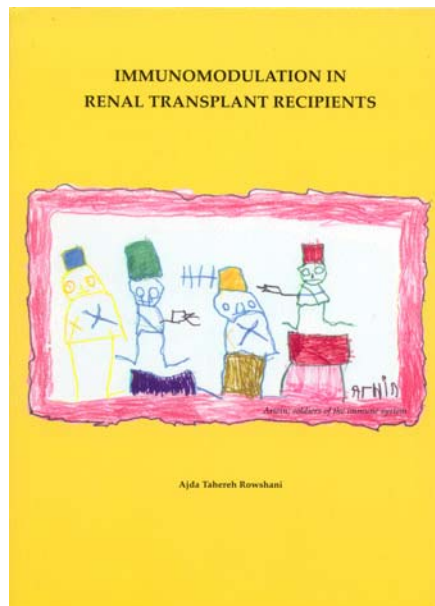


De publicatie van dit proefschrift werd in 2005 gesponsord met een bijdrage van de Nederlandse Transplantatie Vereniging. Daarnaast ontving mevr. Rowshani voor haar proefschrift tijdens de wetenschappelijke voorjaarsvergadering van de NTV in 2006 de Jon J. van Roodprijs voor klinisch onderzoek.



## **Samenvatting proefschrift Ajda Tahereh Rowshani**

***'Immunomodulation in renal transplant recipients'***

**Promotie 10 mei 2005  
Universiteit van Amsterdam**

**Promotor: Prof. dr. R.J.M. ten Berge**

Met de zich steeds weer verbeterende ontwikkelingen op het gebied van afweerremmende middelen, de zogenaamde immunosuppressiva, is de overleving van een getransplanteerde nier sterk verbeterd.

Maar aan het gebruik van immunosuppressiva zijn ook keerzijden verbonden, zoals sterk verhoogde vatbaarheid voor infecties en het ontwikkelen van kwaadaardige tumoren. Bovendien hebben de patiënten ten gevolge van bijwerkingen van deze geneesmiddelen een verhoogde kans op hart- en vaatziekten welke soms levensbedreigend zijn en tot het overlijden kunnen leiden, terwijl het getransplanteerde orgaan nog naar behoren functioneert. Tot op vandaag kennen wij geen voorspellende factoren die het gebruik van immunosuppressiva zodanig kunnen individualiseren dat maximale preventie van immunologische reacties die tot afstoten van een transplantaat leiden, wordt bereikt terwijl tegelijkertijd de kans op bijwerkingen, infecties en tumoren minimaal blijft. Ondanks het bovengenoemde succes, blijken acute afstotingsreacties ook niet geheel te voorkomen, en komen ook de zogenaamde chronische rejections en subklinische rejections nog steeds voor. Op dit moment is de betekenis van deze subklinische rejections voor nierfunctie en transplantaat-overleving niet duidelijk. Ook weten wij niet of de behandeling hiervan met immunosuppressiva nuttig is.

In dit proefschrift bespreken wij diverse klinische en immunologische aspecten van een immunosuppressief behandelingschema voor niertransplantatie-patiënten, waarbij gebruik werd gemaakt van vier verschillende middelen, te weten CD25 monoklonale antistoffen, mycofenolaat mofetil, corticosteroiden en calcineurine-remmers. Eén groep patiënten werd met cyclosporine behandeld; een andere groep met tacrolimus.



In hoofdstuk 2 en 3 werd gebruik gemaakt van een farmakokinetische model om de area under the curve (AUC) te meten, welke was gebaseerd op meermalen bepalen van de calcineurine-remmer concentraties in het bloed van patiënten, en gebruik maakte van bekende statistische gegevens uit de algemene populatie. Zo werd een berekeningssysteem ontwikkeld op basis waarvan een voorspelling kan worden gedaan over de optimale dosering van deze geneesmiddelen op individuele basis. Wij hebben op 6 en 12 maanden na transplantatie onderzoek van het nierweefsel gedaan om te kijken naar de zogenaamde verlittekening of fibrose met de zogenaamde Sirius rood methode. Indien de potentieel gevaarlijke calcineurine-remmers op een gecontroleerde manier worden gegeven, zoals via de bij ons gebruikte AUC meting, blijkt de mate van ontstane fibrose op tijdstip 6 maanden en één jaar gelijk voor de cyclosporine- en tacrolimus. Behandeling met tacrolimus leidde tot significant meer ontwikkeling van nieuw ontstane suikerziekte dan behandeling met cyclosporine. Het is belangrijk te noemen dat er geen verschil in nierfunctie na 6 maanden en één jaar te ontdekken was tussen deze twee patiënten groepen. Alhoewel geen statistisch verschil in optreden van acute afweerreacties kon worden aangetoond, was het aantal subklinische rejecties na 6 maanden in de patiënten die cyclosporine hadden gebruikt significant hoger dan bij de patiënten die tacrolimus hadden gebruikt. Evenwel had dit geen nadelige gevolgen voor de nierfunctie na één jaar.

In hoofdstuk 4 vroegen wij ons af waarom ondanks gebruik van deze zeer sterke immunosuppressieve middelen toch nog steeds afstotingsreacties bij onze patiënten optreden. Wij hebben laboratoriumonderzoek gedaan met witte bloed cellen (lymfocyten) van patiënten en gezonde individuen en gekeken naar de effecten van CD25 monoklonale antistoffen op proliferatie en differentiatie van allo-antigeen geactiveerde lymfocyten. CD25 monoklonale antistoffen bleken meer effect te hebben op het vermogen van de cellen om zich exponentieel te vermenigvuldigen dan op hun vermogen om daadwerkelijk aan een delingscyclus te beginnen. Ondanks sterke afname van het delingsvermogen van de lymfocyten, werden dezen niet volledig in hun deling geremd. Ongeveer 15% van de geactiveerde cellen bleef in staat tot deling. Cellen die blijven delen hebben als het ware ook minder munitie aan boord om vreemde cellen te kunnen doden. Indien wij deze cellen testen op hun vermogen om andere cellen te kunnen doden, bleken zij dat niet meer te kunnen. Dit bleek te berusten op een intrinsiek defect in de cel, ontstaan tijdens de aanwezigheid van CD25 monoklonale antistoffen. IL-7, IL-15 en IL-21 welke zeer waarschijnlijk lokaal in het niertransplantaat aanwezig zijn, bleken deze negatieve effecten van CD25 monoklonale antistoffen op deling en dodingvermogen van de geactiveerde lymfocyten te kunnen omzeilen. Dit betekent dat er zich in een transplantaat altijd lymfocyten bevinden die in staat kunnen blijven om te delen en te doden en zodoende aanleiding kunnen geven tot het ontstaan van een afstotingsreactie.

In hoofdstuk 5 stellen wij ons de vraag hoe de zogenaamde subklinische afstotingsreacties ontstaan. De zogenaamde granzyme B positieve T cellen, een bepaalde subset van onze lymfocyten, spelen een belangrijke rol bij ontstaan van afstotingsreacties. Granzyme B is een toxisch stof wat door deze T cellen wordt vrijge-



maakt om hun doelcellen, namelijk de tubuluscellen, te doden. In de mens is zeer recentelijk een eiwit ontdekt welke de functie van granzyme B kan remmen. Dit eiwit heet SERPINB9 of proteinase inhibitor 9. Wij hebben de expressie van granzyme B en SERPINB9 in niertransplantaatweefsel van 3 groepen van patiënten onderzocht: patiënten die een acute afstotingsreactie ondergaan, patiënten die een subklinische afstotingreactie ondergaan en ook patiënten met stabiele nierfunctie, zonder tekenen van afstoting. Wij hebben gezien dat in al deze situaties de expressie van granzyme B in lymfocyten niet verschillend was. Met andere woorden er was geen verschil in aanvallend front te ontdekken. Daarentegen vonden wij dat tubuluscellen in geval van subklinische rejections meer SERPINB9 tot expressie brengen dan in het geval van acute afstotingsreacties. Onze conclusie was dat hogere expressie van SERPINB9 in geval van subklinische rejections in staat is het effect van granzyme B tegen te houden. Experimenten met tubuluscellen waarin het waarom achter deze bevindingen wordt onderzocht, zullen van nut zijn voor de ontwikkeling van toekomstige behandelingsmethoden waarin opregulatie van SERPINB9 tot de mogelijkheden behoort.

In hoofdstuk 6 bespreken wij een ander belangrijk probleem op het gebied van solide orgaantransplantatie, namelijk cytomegalovirus (CMV) infectie. Jarenlang profylactisch gebruik van antivirale middelen ter bestrijding van deze infectie heeft geleid tot ontstaan van resistentie bij het virus en openbaring van late en niet typisch verlopende ziektebeelden die levensgevaarlijk kunnen zijn. Met behulp van tegenwoordig gangbare detectiemethoden zoals PCR kan de infectie vroeg worden opgespoord. Wij geven in dit hoofdstuk een samenvatting van beschikbare gegevens over immunologie, diagnostiek en behandeling van CMV infectie. Het belang van de ontwikkeling van een effectief vaccin voor patiënten die vatbaar zijn voor een primaire infectie en een orgaantransplantatie ondergaan, wordt benadrukt.

In hoofdstuk 7 stelden wij onszelf de vraag of SERPINB9 in de systemische circulatie bij de mens aanwezig is en, indien ja, hoe het zich gedraagt in geval van primaire CMV infectie maar ook in het geval van acute afstotingsreacties en subklinische afstotingsreacties. Na ontwikkelen en valideren van bepaalde detectiemethoden voor dit eiwit, de zogenaamde ELISAs, zijn wij erin geslaagd om voor de eerste keer de aanwezigheid van dit eiwit in de systemische circulatie aan te tonen. Wij hebben ontdekt dat de SERPINB9 spiegel in bloed gaat stijgen in response op een primaire CMV infectie. Patiënten die ten gevolge van deze infectie ziek worden, laten hogere spiegels zien in vergelijking met patiënten die ondanks actieve CMV infectie geen ziekteverschijnselen ontwikkelen. Tevens ontdekten wij dat SERPINB9 spiegels in de systemische circulatie geen afspiegeling vormen van wat er in het transplantaat gebeurt. Omdat tijdens een afstotingreactie alle granzyme B positieve T cellen naar de plek van ontsteking, namelijk het transplantaat worden toegetrokken, is de afwezigheid van een verhoging in circulerend SERPINB 9 wel te begrijpen. Aangezien er tijdens een rejections-episode, ten gevolge van de schade aan het nierweefsel, beschadigde tubulus cellen in de urine terechtkomen, veronderstellen wij dat urine wellicht een beter compartiment is om SERPINB9 bepalingen in te verrichten.

*De publicatie van dit proefschrift werd in 2005 gesponsord met een bijdrage van de Nederlandse Transplantatie Vereniging. Daarnaast ontving mevr. Rowshani voor haar proefschrift tijdens de wetenschappelijke voorjaarsvergadering van de NTV in 2006 de Jon J. van Roodprijs voor klinisch onderzoek.*



Mogelijk kan dit leiden tot de ontdekking van een niet bloedige methode om rejectie-episoden van welke soort dan ook te diagnosticeren. Studies om deze vragen te beantwoorden zijn in ontwikkeling.