

The effect of blood transfusion to the recipient and drug pretreatment of the donor on canine allograft survival

Citation for published version (APA):

van der Linden, C.-J. (1981). *The effect of blood transfusion to the recipient and drug pretreatment of the donor on canine allograft survival*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19811113cl>

Document status and date:

Published: 01/01/1981

DOI:

[10.26481/dis.19811113cl](https://doi.org/10.26481/dis.19811113cl)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Kidney graft rejection is the most frequent cause of kidney graft failure. 30-40% of all renal grafts are lost due to rejection the first year after transplantation. Furthermore immunosuppressive agents, which are necessary in the prevention and treatment of graft rejection, affect host resistance against infections and increase the risk to develop malignancies. Therefore methods have to be developed which depress graft rejection adequately without the use of high doses of non-specific immunosuppressive agents.

The first chapter of this thesis gives a short historical review describing mile stones in the field of transplantation surgery and immunology. Literature data on the effect of blood transfusions and donor drug pretreatment on kidney graft survival, the two modalities studied in this thesis, are described and discussed. In summary it can be concluded that it is now generally accepted that preoperatively given blood transfusions improve one year graft survival of kidney transplantation. Preoperative blood transfusions can however sensitize the recipient. Sensitization caused by transfusions is the most serious drawback of deliberate blood transfusions to transplantation candidates in man. Preoperative sensitization will not occur with peroperatively given transfusions.

Studies on the effect of peroperatively transfused blood on kidney graft survival in man are not conclusive thus far. In this thesis peroperative blood transfusions were studied in dogs. As described in the first paper, 100 ml third-party whole blood given during transplantation retards fatal graft rejection significantly. A transfusion with leukocyte-free blood, lymphocytes or with irradiated whole blood does not prolong kidney graft survival in this model. These experiments on peroperative blood transfusion show that only fresh whole blood has the capacity to induce graft prolongation. This finding suggests that a peroperative blood transfusion might have a beneficial effect on graft rejection in human renal transplantation. A transfusion with whole blood would be the ideal type of blood for such a peroperative transfusion. A transfusion of whole blood fourteen days before transplantation led to marked prolongation of kidney graft survival if immunosuppression was started directly after transfusion. Suppression of the immune system of the recipient with azathioprine and prednisone therefore enhanced the benefit of blood transfusions on kidney graft survival. Patients with chronic renal failure who are on dialysis do have a suppressed immune system. This immunosuppressed status might be essential for the mechanisms which facilitate the observed improved graft survival after blood transfusions in man.

In the second publication, prolonged kidney graft survival has been obtained by preoperative transfusions of donor specific antigenic material followed by preoperative immunosuppression with procarbazine hydrochloride and ATS. The observed effect of this combined pretransplant treatment of the recipient does not depend on donor-specific transfusions. The addition of third-party serum leads to kidney graft survival of equal extent. Furthermore it has been demonstrated that kidney graft survival after this combined pretransplant treatment schedule is not prolonged in one-haplotype mismatched littermate combinations.

This finding does not encourage direct clinical application of this pre-treatment schedule for living related combinations.

The effect of donor drug pretreatment on kidney graft survival has been studied in the third publication. The effect of donor drug pretreatment with cyclophosphamide and methylprednisolone in man is disputed. A clear cut improved graft survival has been found after donor drug pretreatment with procarbazine hydrochloride and methylprednisolone in the dog. The clinical experience with this combination of drugs is restricted to only 5 patients. The significantly improved kidney graft survival after donor drug pretreatment with procarbazine hydrochloride and methylprednisolone observed in the presented experiments justifies a controlled clinical study.

Prolonged kidney graft survival induced by donor drug pretreatment could be abrogated in dogs by peroperative administration of donor antigens. A peroperative transfusion of donor blood or its constituents, as lymphocytes and leukocyte-free blood, did abrogate the beneficial effect of donor pretreatment on kidney graft survival. It has been hypothesized that the delayed graft rejection induced by donor drug pretreatment is mediated by transfer of minute amounts of cytotoxic drugs. These drugs paralyze graft rejection locally in the recognition phase of the immune response. In the light of this hypothesis the administration of donor antigenic material would bypass this immune paralysis by priming the immune system centrally for donor antigens. The hypothesis has been studied in the fourth publication. A significant decrease of the number of lymphocytes was found 5 hr after the start of donor drug pretreatment. No specific depletion of T or B cells was observed. The effect of procarbazine hydrochloride and methylprednisolone donor drug pretreatment on immunological properties of peripheral blood leukocytes has been tested in this chapter. It was demonstrated that donor pretreatment leads to a depression of responsiveness and stimulation capacity of leukocytes from pretreated animals in mixed leukocyte cultures. This depression is completely reversed by purification by Lymphoprep density centrifugation and thereafter careful washing of these cells. The data obtained in the third and fourth publication support the hypothesis that small amounts of procarbazine hydrochloride and methylprednisolone or their derivatives located in or on graft cells lead to prolongation of renal allograft survival after donor drug pretreatment.

In the final experimental study, publication 5, the combined effect of blood transfusions to the recipient and pretransplant treatment of the

donor on kidney graft survival has been investigated. It was demonstrated in experiments performed in this study that the combination of a peroperative blood transfusion and donor drug pretreatment does not improve graft survival compared to either treatment alone. A transfusion might even abrogate the effect of donor pretreatment. Therefore clinical data obtained by donor pretreatment should be re-evaluated regarding the transfusion history of the recipients since until now little attention has been paid on whether or not the recipient of a drug pretreated kidney has been transfused.

Samenvatting

De afstoting van een transplantaat door de ontvanger vormt het grootste probleem bij niertransplantaties. Door deze immunologische reactie verliest binnen 1 jaar na implantatie 30-40% van alle getransplanteerde nieren hun functie. De afstotingsreacties worden bestreden met behulp van immuno-suppressiva. Aan het langdurige gebruik van deze medicijnen in soms hoge doses, zoals bij transplantatiepatiënten noodzakelijk is, zijn grote nadelen verbonden. Niet alleen hebben deze stoffen specifieke toxische bijwerkingen, het afweersysteem van de patient wordt in zijn geheel verzwakt waardoor het percentage infecties en maligniteiten toeneemt.

De typering voor antigenen waartegen afstotingsreacties gericht zijn (MHC en ABO) maakt het mogelijk donor-ontvanger combinaties samen te stellen met minimale verschillen voor deze antigenen, hetgeen tot een vermindering van het aantal afstotingsreacties heeft geleid. Dit blijkt uit de betere 1 jaars overleving van goed gematchde niertransplantaten. Ondanks de weefseltyping, blijft immunosuppressieve behandeling na transplantatie zelfs bij goed gematchde kadaver donor-ontvanger combinaties noodzakelijk. Het is duidelijk dat naar nieuwe wegen gezocht dient te worden die een verminderd gebruik van non-specifieke immuno-suppressiva mogelijk maken.

In het eerste hoofdstuk van dit proefschrift wordt een kort historisch overzicht gegeven van de transplantatie chirurgie en de transplantatie immunologie. De literatuurgegevens betreffende het effect van bloedtransfusies en de voorbehandeling van de donor op de transplantaat overleving, de twee onderzoekslijnen van dit proefschrift, zijn in detail beschreven. De verrichte experimenten worden in hoofdstuk 2 ingeleid en de verkregen resultaten bediscussieerd.

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat het de afgelopen jaren steeds duidelijker is geworden dat bloedtransfusies vóór transplantatie toegediend een gunstig effect hebben op de overlevingskans van het niertransplantaat. Men kan zelfs stellen dat het gunstige effect van bloedtransfusies heeft geleid tot de hoopvolle resultaten in de zestiger en begin zeventiger jaren, waardoor de niertransplantatie naast de dialyse een vaste plaats heeft verworven in de behandeling van de patiënt met een falende nierfunctie. Bloedtransfusies verminderen via nog onbekende weg de afweerreactie tegen het transplantaat. Hierbij dient echter te worden onderkend dat preoperatief toegediende transfusies ook het nadeel hebben dat de patiënt gesensitiseerd kan raken. Sensibilisatie kan optreden tegen antigenen aanwezig in transplantaten van de potentiële donoren waardoor het moeilijker

wordt voor de ontvanger een geschikt transplantaat te vinden. Het gevaar van sensibilisatie is niet aanwezig bij peroperatieve transfusies.

Gezien het feit dat een peroperatieve transfusie mogelijk zonder gevaar voor sensibilisatie de afstotingsreactie kan verminderen, is in deze studie de klinisch niet routinematig toegepaste peroperatieve transfusie dierexperimenteel getoetst. De hond is een geschikt proefdier gebleken daar met de mens vergelijkbare effecten, ten aanzien van verlenging van transplantaat overleving na multiële preoperatieve transfusies en sensibilisatie na multiële preoperatieve transfusies, zijn waargenomen.

In dit proefschrift wordt aangetoond dat een peroperatieve transfusie kan leiden tot een significant verlengde transplantaat overleving. In de eerste publicatie wordt tevens aangetoond dat deze verlenging alleen door een transfusie met onbehandeld 'totaal bloed' teweeg kon worden gebracht. Transfusies met leukocyten vrij bloed, met bestraald bloed en met lymfocytensuspensies waren niet effectief. Deze bevindingen maken het aannemelijk dat een peroperatieve bloedtransfusie met totaal bloed bij de mens een gunstig effect heeft op de transplantaat overleving. Het gunstige effect van bloedtransfusies bleek te kunnen worden versterkt door de ontvanger met immunosuppressiva te behandelen. Een bloedtransfusie 14 dagen voor transplantatie leidde namelijk tot betere overlevingsresultaten indien direct na transfusie gestart werd met immunosuppressie. Het is bekend dat patiënten die gedialyseerd worden een onderdrukt immuun systeem hebben. Mogelijk is deze onderdrukking essentieel om verbeterde transplantaat overlevingen na bloedtransfusies te verkrijgen.

In het volgende hoofdstuk, publicatie 2, wordt het effect onderzocht van een gecombineerde behandeling van de ontvanger met donor-specifieke of third party antigenen en immunosuppressiva preoperatief. De gebruikte immunosuppressiva bestonden uit een combinatie van procarbazine hydrochloride en ATS. Deze combinatie werkt synergistisch daar procarbazine hydrochloride bij voorkeur het centrale immuunapparaat атаqueert, terwijl ATS een groter effect heeft op de perifere lymfocyt. Aangetoond wordt dat een gecombineerde behandeling als boven beschreven leidde tot een verbeterde transplantaatoverleving. Er wordt geen verschil gevonden tussen de toediening van donor-specifiek dan wel third party antigeenmateriaal. Directe klinische toepasbaarheid lijkt dit behandelingsmodel niet te hebben, daar bij de mens alleen transplantaties van organen van levende verwante donoren voor deze behandeling in aanmerking komen. Juist bij de verwante donor-ontvanger combinaties wordt géén verlenging van transplantaat overleving bij de hond gevonden.

Aan het effect van donor voorbehandeling op de overleving van niertransplantaten bij de mens wordt ernstig getwijfeld sinds enkele prospectieve studies geen duidelijk verschil in transplantatie overleving te zien gaven. In de derde publicatie wordt het gunstige effect van een donor voorbehandeling met procarbazine hydrochloride en methylprednisolone op de transplantaat overleving bij de hond aangetoond. In deze studie wordt de combinatie van procarbazine hydrochloride met methylprednisolone gebruikt, dit in tegen-

stelling tot de bij de mens gebruikelijke combinatie van cyclophosphamide met methylprednisolone daar bij de hond reeds was aangetoond dat de eerstgenoemde combinatie een beter effect had. De ervaring met de combinatie procarbazine hydrochloride en methylprednisolone bij de mens is helaas zeer gering. De gunstige dierexperimentele resultaten met deze combinatie van geneesmiddelen lijken een gecontroleerde klinische studie te rechtvaardigen. De toediening van donorantigenen, met name donorbloed, donorlymphocyten, of donorleukocyten-vrij bloed, tijdens de operatie deed het gunstige effect van donor voorbehandeling teniet.

In de discussie van deze studie wordt de hypothese gesteld dat de verlenging van de transplantaat overleving na donor voorbehandeling teweeg wordt gebracht door een lokaal immunosuppressief effect van kleine hoeveelheden met de nier meegetransplanteerde immunosuppressiva. Deze veronderstelling wordt ondersteund door verdere gegevens verzameld in een in vitro studie (publicatie 4). Na toediening volgens het donor voorbehandelings schema, wordt het effect van procarbazine hydrochloride en methylprednisolone op perifere lymphocyten onderzocht. Op het moment dat nefrectomie zou plaats vinden, 5 uur na het begin van de donor voorbehandeling, wordt er een significant verlaagd aantal lymphocyten in het perifere bloed gevonden.

De ratio T-B lymphocyten blijkt niet gewijzigd. De lymfocyten van voorbehandelde dieren blijken zowel een verlaagde capaciteit om te responderen dan wel te stimuleren te hebben in de gemengde lymfocyten cultuur. Een normale lymfocyten response wordt verkregen nadat de lymphocyten van voorbehandelde dieren gezuiverd zijn door middel van Lymphoprep centrifugatie en vervolgens gewassen zijn. Hiermee wordt de aanwezigheid van immunosuppressiva op of in de cellen zeer aannemelijk.

In de vijfde publicatie wordt het effect van een gecombineerde behandeling met donor voorbehandeling en transfusies aan de ontvanger onderzocht. In dit onderzoek wordt de stelling getoetst dat deze gecombineerde behandeling niet zondermeer leidt tot een beter resultaat dan de afzonderlijke behandelingen. Aangetoond wordt dat de overleving van een transplantaat bij combinatie van donor voorbehandeling en peroperatieve transfusie niet verbetert ten opzichte van donor voorbehandeling op zich enerzijds en van een peroperatieve bloedtransfusie anderzijds. Een preoperatieve transfusie kan zelfs het effect van donor voorbehandeling teniet doen. Bij de beoordeling van de resultaten verkregen bij klinische studies met donor voorbehandeling lijkt het, gezien de resultaten van deze experimenten noodzakelijk de toediening van pre- en peroperatieve bloedtransfusies mede te betrekken.