



Samenvatting proefschrift J.M. Sierra Párraga

“Mesenchymal Stromal Cells for Kidney Repair”

**Promotie: 1 september 2020
Erasmus Universitair Medisch Centrum
Rotterdam**

Promotor:
Prof. Dr. C.C. Baan
Prof. dr. B. Jaspersen

Copromotor:
Dr. M.J. Hoogduijn

Het gebrek aan voldoende donor nieren voor transplantatie leidt al jarenlang tot wachtlijsten voor patiënten met eindstadium nierziekte. De uitbreiding van de criteria waaraan orgaandonoren moeten voldoen om als acceptabele nierdonoren te worden beschouwd, resulteert in een toename van het aantal beschikbare organen. Echter, niertransplantatie met uitgebreide criteria donor organen is geassocieerd met een afname van transplantaat functioneren en overleving. Om orgaan functie van uitgebreide criteria donoren te verbeteren, worden verschillende strategieën onderzocht. Het gebruik van koude machine-perfusie van transplantaat organen is effectief gebleken om organen te preserveren, maar is hoogstwaarschijnlijk niet voldoende om de functie van lage kwaliteit organen drastisch te verbeteren. Normotherme machine-perfusie (NMP) maakt metabolisme van organen mogelijk en kan gecombineerd worden met andere behandelingen waarbij de nierfunctie live gemonitord kan worden. NMP maakt het mogelijk om celtherapie toe te passen op nieren vóór transplantatie. Mesenchymale stromale cellen (MSC) zijn voorloper cellen voor bot, vet en kraakbeen en stimuleren daarnaast herstel van weefsels door grote hoeveelheden groeifactoren uit te scheiden. Tevens hebben MSC een sterk immuun regulerend effect. De hypothese is dat MSC een positief effect kunnen hebben voor de behandeling van nierziekten.

De meest gebruikelijke toedieningstechniek voor MSC, intraveneuze infusie (IV), heeft echter verschillende nadelen. In hoofdstuk 2 laten we zien dat na IV-infusie alle MSC worden vastgehouden in de microcapillairen van de longen, vanwege de grootte van de cellen. Na 24 uur zijn de MSC verdwenen. We hebben aangetoond dat monocytten in de bloedbaan MSC herkennen en fagocyteren. Door dit proces nemen MSC een regulerend fenotype aan dat de productie van regulatoire T-lymfocyten bevordert. Deze regulerende T cellen hebben een langere levensduur dan geïnfundeerde MSC en dit is mogelijk een van de mechanismen waardoor MSC een immunomodulerend



effect op lange termijn kunnen hebben, ondanks hun korte overleving na IV infusie. Om te voorkomen dat MSC vast komt te zitten in de longen en te zorgen dat ze de transplantatie nier bereiken, heeft hoofdstuk 3 de toediening van MSC via de nierslagader in een varkensmodel bestudeerd. De MSC bevonden zich voornamelijk in de glomeruli, de functionele eenheden van de nier cortex waar bloed wordt gefilterd, maar ook in de haarvaten rond de tubuli. De MSC werden op dezelfde manier vastgehouden als in de longen, waarschijnlijk doordat ze te groot zijn om door de capillairen te bewegen. Na aflevering in de nier werd waargenomen dat MSC ten minste acht uur in de nier overleefden, maar dat na twee weken minder dan 1% van de toegediende MSC in de nier aanwezig was. Nadat een toedieningsroute was geïdentificeerd waarmee MSC in contact kunnen komen met beschadigd nierweefsel, was de volgende stap het bestuderen van het effect dat MSC op het weefsel hebben. Na infusie komen MSC in contact met het nierendotheel en daarom werden in hoofdstuk 4 de regeneratieve effecten van MSC op endotheliale cellen die waren beschadigd door ischemie bestudeerd. We konden aantonen dat MSC in een in vitro model kunnen migreren naar beschadigde endotheelcellen en aan deze cellen binden, waarbij met name twee moleculen op het MSC-oppervlak, CD29 en CD44 een belangrijke rol spelen. Er werd waargenomen dat MSC schade-markers in aangetaste endotheelcellen zoals oxidatieve stress kunnen verminderen. Bovendien herstelden MSC de functie van beschadigde endotheelcellen, waardoor de stabiliteit van de endotheel cellagen werd verhoogd en hun capaciteit om bloedvaatjes te vormen werd hersteld. Evenzo werd onderzocht of de gunstige effecten van MSC op endotheel cellen te wijten waren aan binding tussen de cellen of aan de werking van de vele moleculen die MSC uitscheiden. We konden vaststellen dat de uitgescheiden moleculen op zichzelf een klein effect op endotheel cellen hadden, en dat beide mechanismen zijn nodig om een volledig regeneratief effect te verkrijgen. In hoofdstuk 5 onderzochten we of de regeneratieve eigenschappen van MSC behouden blijven als we de MSC onderwerpen aan de condities van NMP. Deze condities omvatten cryopreservatie en ontdooiing, suspensie condities en opname in de vloeistof waarmee de nier wordt geperfuseerd. Er werd aangetoond dat invriezen en ontdoeien de overleving van MSC vermindert en hun vermogen om zich aan endotheelcellen te hechten verkleint. Bovendien remde de perfusievloeistof gedeeltelijk het hechtvermogen van MSC aan endotheelcellen. MSC behielden echter de regeneratieve eigenschappen onder deze omstandigheden, wat suggereert dat ze geschikt zijn voor de behandeling van nieren tijdens NMP. Om deze reden werden in hoofdstuk 6 MSC voor het eerst toegediend aan varkensnieren met behulp van NMP. MSC werden toegediend aan het begin van nierperfusie en na 6 uur werd de lokalisatie van de MSC en effecten op de nier geanalyseerd. MSC vertoonden een heterogene verdeling ondanks een goede perfusie van de nier, en bevonden zich voornamelijk in de glomeruli in de niercortex. De nieren vertoonden geen macroscopische afwijkingen of hemodynamische veranderingen. De nieren waren metaboolactief wat werd aangetoond door zuurstof en glucose consumptie en urine productie tijdens de perfusie.

Samenvattend ondersteunen de resultaten van het onderzoek beschreven in dit proefschrift het gebruik van MSC om endotheelbeschadiging in de nier te behandelen



tijdens reconditionering van de nier met behulp van NMP. Dit proefschrift toont aan dat de infusie van MSC via de nierslagader haalbaar is en bij de gebruikte cel hoeveelheid niet tot schade aan de nier leidt. Bovendien worden de mechanismen beschreven waarmee MSC interacteren met beschadigde endotheelcellen om hun regeneratieve effect uit te oefenen, evenals het feit dat deze mechanismen worden bewaard onder de omstandigheden van NMP. Als geheel opent de kennis die in dit proefschrift wordt gegenereerd de deur naar de ontwikkeling van een protocol voor het herstel van nieren tijdens NMP voorafgaand aan hun transplantatie.