



TOWARDS EX VIVO REPAIR OF
DAMAGED DONOR KIDNEYS



Merel B.F. Pool

Samenvatting proefschrift M.B.F. Pool

“Towards ex vivo repair of damaged donor kidneys”

Promotie: 25 augustus 2020
Rijksuniversiteit Groningen

Promotor:
Prof. dr. H.G.D. Leuvenink

Copromotor:
Dr. C. Moers

Hoofdstuk 1 is een algemene introductie over niertransplantaties. In dit hoofdstuk worden het ontstaan en de gevolgen van zuurstoftekort op de nier, de zogeheten ischemische schade, beschreven evenals de verschillende technieken voor nierpreservatie. De focus ligt hierbij op normotherme machineperfusie (NMP) alsook mogelijke interventies om de kwaliteit van nieren te verbeteren, zoals het toevoegen van mesenchymale stamcellen (MSCs) gedurende deze perfusie.

In Hoofdstuk 2 wordt een actueel overzicht gegeven van de huidige kennis over de regeneratieve effecten van mesenchymale stamcellen. Deze kennis wordt met name ontleend uit andere onderzoeksgebieden zoals die van de orthopedie en wondgenezing. Uit dergelijke studies kan worden geconcludeerd dat mesenchymale stamcellen een belangrijke rol zouden kunnen spelen in het verbeteren van de uitkomst van niertransplantaties. Immunosuppressie is een centraal thema binnen niertransplantaties en tot op heden heeft het meeste onderzoek binnen dit veld betrekking op de immunomodulatoire eigenschappen van MSCs. Naast het feit dat deze stamcellen factoren uitscheiden die het immuunsysteem beïnvloeden, zorgen ze echter ook voor toename van angiogenese (bloedvatvorming) en verminderen ze fibrose en het ontstekingsproces. Op die wijze zouden ze, naast afweeronderdrukking, ook een rol kunnen spelen in reparatie van orgaanschade. De veiligheid van het toevoegen van MSCs alsook het optimale toedieningstijdstip worden toegelicht.

De resultaten van Hoofdstuk 3 bevestigden dat het mogelijk is om MSCs tijdens normotherme machineperfusie aan een varkensnier toe te dienen en dat een deel van de cellen intact en detecteerbaar blijft. Met behulp van immunohistochemie en fluorescentiemicroscopie kon worden aangetoond dat de MSCs gelokaliseerd waren in het lumen van de glomerulaire capillairen. Vervolgexperimenten in een MRI-scanner, waarbij MSCs gelabeld met ijzer aan de nier werden toegediend, toonden aan dat de MSCs erg ongelijk verdeeld waren in de cortex van de nier.



In Hoofdstuk 4 werden beenmerg-afgeleide stamcellen en vet-afgeleide stamcellen geïnfundeerd in een ischemisch beschadigde varkensnier gedurende normotherme machineperfusie. Dit leidde tot een verminderde uitscheiding van de schademarkers lactaatdehydrogenase en 'neutrophil gelatinase-associated lipocalin' in vergelijking met de groep waarbij geen stamcellen werden toegediend. Daarnaast leidde de infusie van MSCs tot een toename van de uitscheiding van de cytokines interleukine-6, interleukine-8 en hepatocyten groeifactor in het perfusaat.

In tegenstelling tot de andere hoofdstukken in dit proefschrift betrof de studie in Hoofdstuk 5 een omvangrijke, gerandomiseerde autotransplantatie-studie met het idee de bevindingen van de slachthuisstudies van de eerdere hoofdstukken te ondersteunen. Uit de resultaten van Hoofdstuk 5 bleek dat het veilig is om 10 miljoen MSCs aan varkensnieren toe te dienen gedurende normotherme ex-vivo perfusie en dat dit niet leidde tot hemodynamische veranderingen. Daarnaast had deze toediening, voorafgaand aan transplantatie, ook geen negatieve invloed op de reperfusie van de nieren na transplantatie in het door ons gebruikte autotransplantatiemodel in varkens. De MSCs waren veertien dagen na transplantatie nog traceerbaar in de nier. Helaas leidde deze dosis in de eerste veertien dagen na transplantatie echter niet tot een verbetering van de nierfunctie in vergelijking met NMP zonder MSCs voorafgaand aan transplantatie.

In Hoofdstuk 6 werden vier verschillende perfusieoplossingen getest in een zeven uur durende NMP van ischemisch beschadigde varkensnieren. Het betrof drie reeds bestaande oplossingen en één door onze onderzoeksgroep samengestelde oplossing, met fysiologische concentraties van elektrolyten en een fysiologische colloïd osmotische druk. Perfusie gedurende zeven uur was mogelijk met alle vier de oplossingen, maar de oplossing met fysiologische elektrolytenverhoudingen leidde tot minder hoge concentraties van schademarkers. Uit deze resultaten blijkt dat de samenstelling van de oplossing een grote impact heeft op veel aspecten van NMP en dat een relatief kleine verandering in de samenstelling leidt tot aanzienlijke verschillen in nierfunctie en weefselschade. Binnen de medische wereld onderscheiden wij onder andere autologe (afkomstig van hetzelfde individu/dier) en allogene (van dezelfde soort maar niet van hetzelfde individu) cellen.

Uit Hoofdstuk 7 bleek dat varkensnieren ook normotherm geperfundeed konden worden met allogene rode bloedcellen (RBCs) afkomstig van varkens als zuurstofdrager, zonder meer schade te veroorzaken dan autologe RBCs. Het gebruik van humane RBCs leidde wel tot significant meer schade gedurende NMP. In autotransplantatiemodellen in varkens, zoals beschreven in hoofdstuk 5, is het advies daarom om het gebruik van humane RBCs te vermijden. Een perfusieoplossing met allogene RBCs lijkt echter wel geschikt.

Hoofdstuk 8 toonde aan dat het gebruik van een zuurstofdrager noodzakelijk is gedurende zeven uur normotherme machineperfusie. De synthetische zuurstofdrager,



HBOC-201, leek geschikt op basis van de zuurstofdragende capaciteiten. Daarentegen leidde het gebruik van HBOC-201 tot een inferieure nierfunctie in vergelijking met het gebruik van rode bloedcellen. De oplopende concentraties methemoglobine gedurende de perfusie met HBOC-201 doen vermoeden dat deze synthetische zuurstofdrager minder geschikt is voor langdurige NMP.