



Samenvatting proefschrift L.G.M. Wijermars

“Ischemia/reperfusion injury: a metabolic meltdown”

**Promotie: 21 maart 2018
Universiteit van Leiden**

Promotor:
Prof. dr. J.F. Hamming

Copromotores:
Dr. A.F.M. Schaapherder
Dr. J.H.N. Lindeman

Ischemie/reperfusie(I/R) schade is de paradoxale toename van weefselschade wanneer ischemisch weefsel opnieuw doorbloed wordt. Deze vorm van schade speelt een cruciale rol in onder andere myocard infarcten, cerebrovasculaire accidenten en orgaantransplantaties.

Al meer dan 50 jaar wordt er veel onderzoek verricht naar I/R schade. Uit evaluatie van deze onderzoeken blijkt dat veelbelovende resultaten uit diermodellen moeilijk transleerbaar zijn naar de kliniek. Dit benadrukt het belang om een stap terug te nemen en te focussen op de mechanismen van I/R schade in de mens. In de studies beschreven in dit proefschrift dienen niertransplantaties als humaan model om de mechanismen van I/R schade te onderzoeken. Omdat zowel ischemie als reperfusie tijdens orgaantransplantaties gepland zijn (in tegenstelling tot bijvoorbeeld infarcten) en er directe toegang is tot het gereperfundeerde orgaan, biedt de situatie van niertransplantaties de uitgelezen mogelijkheid om I/R schade in de mens te onderzoeken.

Door het persisterende donortekort worden steeds vaker organen van marginale donoren gebruikt voor transplantatie. Transplantatie van deze organen leidt in toenemende mate tot orgaanschade en heeft daardoor, zowel op de korte als lange termijn, verminderende transplantaat functie en overleving tot gevolg. Interventies die I/R schade kunnen voorkomen of verminderen zijn dan ook van cruciaal belang.

Samengevat bieden de studies beschreven in dit proefschrift inzicht in mechanismen van renale I/R schade (waarvan delayed graft function (DGF) de klinische parameter is), bestudeerd vanuit humane niertransplantaties. Een energieke crisis onderscheidt DGF nieren van adequaat functionerende controle transplantaten. Met een metabool-brede benadering werd middels arterioveneuze metingen en biopten voor en na reperfusie de status van DGF en daarmee renale I/R schade in de mens beschreven.



Het metabole profiel van DGF nieren is samen te vatten in 5 metabole clusters: (I) metabole ineensstorting/energetische crisis, (II) beta-oxidatie, (III) glycolyse/glutamine oxidatie en autofagie, (IV) Krebs cyclus intrede defecten en (V) fosfolipolyse/cel schade.

De post-reperfusie status van DGF transplantaten wordt gekenmerkt door het verlies van phosphocreatine en voortdurende productie van xanthine en hypoxanthine, de eindproducten van ATP/GTP katabolisme. Dit duidt op het plaatsvinden van een totale energetische crisis. DGF nieren laten zien dat alles in het gereperfundeerde orgaan in staat wordt gesteld om de mitochondriale Krebs cyclus draaiende te houden. Herstel van 3-hydroxybutyraat waarden in post-reperfusie biopten indiceert dat de beta-oxidatie intact is, evenals de pyruvaat synthese middels glycolyse en transaminase van glutamaat. Ondanks de vorming van deze Krebs cyclus substraten vindt er excretie plaats van acetyl-CoA en pyruvaat vanuit de gereperfundeerde DGF nier. Dit duidt erop dat deze substraten niet in staat zijn de Krebs cyclus binnen te treden, waarna ze worden uitgespoeld uit het transplantaat. Excretie van het Krebs cyclus intermediair α -ketoglutaraat, in combinatie met de afwezigheid van herstel van succinaat concentraties, impliceert een defect in oxoglutaraat dehydrogenase activiteit in DGF nieren. De defecten in mitochondriale oxidatieve phosphorylatie leiden tot ATP tekorten. Dit leidt tot het onvermogen om cel homeostase te behouden wat resulteert in een staat van voortdurende weefselschade na reperfusie. Dit wordt weerspiegeld door de continue excretie van fosfolipiden en uracil, welke respectievelijk membraan en cel schade kenmerken.

Kortom, door dysfunctionele mitochondriën ontbreekt een efficiënte ATP productie, wat leidt tot de metabole incompetentie die onderliggend is aan DGF. Deze theorie doet een nieuw licht schijnen op I/R schade en kan verklaren waarom ATP-afhankelijke therapieën in het verleden ineffectief zijn gebleken.

Daarnaast lieten resultaten beschreven in dit proefschrift zien dat de mitochondriale vatbaarheid voor schade van ischemie en reperfusie enorm verschilt tussen mensen en knaagdieren. Dit verschil in vatbaarheid zou mogelijk kunnen verklaren waarom sommige therapieën wel effectief zijn in de experimentele, maar niet in de klinische situatie.

Een grote cohort studie gaf inzicht in donor, ontvanger en transplantatie-procedure variabelen en verwerpt de terughoudendheid naar het gebruik van DCD donor nieren. Analyse van data van de Nederlandse Orgaantransplantatieregistratie (NOTR) laat zien dat nieren gedoneerd na hartdood (DCD: Donation after Circulatory Death; n=2891) een 50% hogere incidentie hebben van primaire non-functie (PNF) en een bijna verdrievoudiging van incidentie van DGF, vergeleken met transplantaten gedoneerd na hersendood (DBD: Donation after Brain Death; n=4084). Deze hoge incidentie van DGF in DCD versus DBD nieren leidt tot terughoudendheid in het gebruik van DCD transplantaten. Echter, wanneer we alle nieren die PNF ontwikkelden na transplantatie excluderen (7,9% van alle DCD en 4,5% van alle DBD transplantaten), is de 10-jaar transplantaat overleving gelijk voor beide donortypen.



Verdere analyse wijst uit dat wanneer de koud ischemische periode langer duurt dan 24 uur, dit leidt tot disproportionele verslechtering van DCD transplantaat overleving. Ook wijst analyse uit dat wanneer DBD nieren DGF ontwikkelen na transplantatie, dit een negatieve invloed heeft op transplantaatoverleving, terwijl de ontwikkeling van DGF geen negatieve invloed heeft op de overleving van DCD transplantaten. Er werd gerealiseerd dat achter de discrepantie in impact van DGF op transplantaatoverleving mogelijk een biologisch verschil tussen de twee verschillende donortypen schuil gaat. Inderdaad, wanneer we het functionele transplantaat herstel vergelijken tussen de twee donortypen zien we een exponentiële inhaalslag van DCD transplantaten. Deze inhaalslag compenseert volledig voor het initiële transplantaatverlies en resulteert daardoor in vergelijkbare lange termijn transplantaat overleving van DBD en DCD transplantaten.

Kortom, een superieur herstel vermogen werd gevonden in DCD vergeleken met DBD transplantaten en toekomstige studies moeten uitwijzen welke biologische verschillen hier onderliggend aan zijn. Resultaten in dit proefschrift kwalificeren MnSOD en Yap-1 als biomarkers voor functioneel herstel tijdens DGF en potentiële strategieën die I/R schade kunnen verminderen moeten focussen op preservatie van mitochondriën (hypothetisch met het peptide SS-31 of activatie van mitochondriale aldehyde dehydrogenase enzymen).

Het identificeren van pathways en doelwitten die effectief mitochondriale functie preserveren zal voor de toekomst een grote en belangrijke uitdaging zijn, om zo de energieke crisis onderliggend aan DGF te voorkomen. Grote translationele studies zullen klinische en celbiologische data moeten combineren om de link tussen I/R schade en lange termijn uitkomsten te begrijpen. Op deze manier kunnen de desastreuze effecten van I/R schade op lange termijn transplantaat functie en overleving overwonnen worden, waardoor het aantal succesvolle niertransplantaties zal toenemen.