



Samenvatting proefschrift Dorottya K. de Vries

“Inflammation and innate immunity in renal ischemia/reperfusion injury”

**Promotie: 14 november 2013
Universiteit Leiden**

Promotor:
Prof. dr. J.H. van Bockel

Co-promotor:
Dr. A.F.M. Schaapherder
Dr. J.H.N. Lindeman

Niertransplantatie is een van de meest opvallende medische prestaties van de 20e eeuw. Helaas wordt het klinisch succes ervan nog altijd beperkt door ischemie/reperfusie (I/R) schade, de schade die ontstaat in de periode dat het orgaan buiten het lichaam is (ischemie) en vervolgens weer van bloed wordt voorzien na transplantatie (reperfusie). In hoofdstuk 1 wordt de pathofysiologie van I/R-schade van de nier besproken. De exacte volgorde van processen die leiden tot schade aan de getransplanteerde nier is complex en niet volledig bekend. De studies beschreven in dit proefschrift zijn gericht op het ontrafelen van de processen en factoren die betrokken zijn bij I/R-schade bij klinische niertransplantaties, zodat er nieuwe inzichten ontstaan die helpen een doelgerichte therapie te ontwikkelen.

Om lokale processen te bestuderen tijdens reperfusie van de nier, werden arterio-veneus gepaarde bloedmonsters afgenomen tijdens de reperfusiefase. In hoofdstuk 2 worden de eerste resultaten van de metingen in deze arterioveneuze monsters beschreven. Bij levende donorniertransplantatie kwam interleukine (IL)-6 in grote hoeveelheden vrij uit het transplantaat. Uit de daarop volgende interventiestudie in muizen, bleek echter dat de anti-IL-6 behandeling niet tegen nier I/R-schade beschermt. Een ander cytokine van belang was IL-9, dat uitsluitend vrijkomt uit overleden donor nieren na reperfusie. Hoofdstuk 3 beschrijft dat, net als bij IL-6, remming van IL-9 in nier I/R-schade bij muizen niet resulteerde in verbetering van nierfunctie, maar juist in een toename van de schade aan de nier. De complexe wisselwerking tussen cytokines onderling maakt het waarschijnlijk mogelijk dat andere cytokines de effecten van de geremde factor vervangen. Daarmee lijkt het remmen van een individueel cytokine niet zozeer geschikt als therapie voor I/R schade.

In hoofdstuk 4 wordt aangetoond dat nieren van hersendode donoren een ontstekingsreactie doormaken, waarbij meerdere cytokines vrijkomen na reperfusie. Getransplan-



teerde nieren van levende en harddode donoren toonden een beperktere cytokine-respons. Deze vrijgekomen cytokines kunnen afkomstig zijn van de geïnfiltreerde T-lymfocyten en macrofagen die al vóór de transplantatie in nieren van hersendode donoren aanwezig zijn. De bevindingen in dit hoofdstuk suggereren dat nieren van hersendode donoren een pro-inflammatoire tendens in zich hebben, en preventie van I/R-schade in deze groep mogelijk een aanpak vereist die specifiek gericht is op het remmen van deze inflammatoire reactie.

Terwijl cytokines signaleringsmoleculen zijn, heeft het complement systeem heeft zowel signalerings-als lytische functies binnen het aangeboren immuunsysteem. In hoofdstuk 5 tonen we aan dat er acute, intravasculaire terminale complementactivatie is na reperfusie, die mogelijk geïnduceerd wordt door intravasculaire celresten of contact met beschadigd endotheel. Een andere component van de aangeboren afweer zijn bloedplaatjes. In hoofdstuk 6 wordt het vrijkomen van markers van bloedplaatjes-activatie en -degranulatie gemeten. Resultaten toonden geen bloedplaatjesactivatie of -degranulatie in de nier na reperfusie. Daarom is vervolgens onderzocht of er meer subtiele veranderingen zijn in de activeerbaarheid van bloedplaatjes. Bloedplaatjes in het veneuze bloed uit de nier raakten minder makkelijk en minder intens geactiveerd dan bloedplaatjes in het arteriële bloed. Al met al suggereren de bevindingen dat bloedplaatjes waarschijnlijk niet de initiator zijn van de inflammatoire reactie bij I/R-schade van de nier.

De belangrijkste stap voorafgaand aan activering van bloedplaatjes kan endotheel-schade zijn. Erg belangrijk bij het voorkomen van deze schade zijn de interacties tussen endotheelcellen en pericyten, de belangrijkste ondersteunende cellen van het endotheel. Deze interacties worden gefaciliteerd door signaalmoleculen, de angiopoietines. Hoofdstuk 7 toont dat bij nier I/R-schade in de mens endotheelcellen beschadigd raken, volgend uit de Ang-2 afgifte uit de nier na reperfusie. Interventies gericht op behoud van vasculaire integriteit door het beïnvloeden van de angiopoietinesignalering kunnen veelbelovend zijn in humane klinische niertransplantatie. Een andere manier waarop endotheelcellen betrokken kunnen zijn bij de pathofysiologie van nier I/R-schade, is door hun expressie van de adenosinegenererende enzymen CD39 en CD73. Hoofdstuk 8 toont dat voor transplantatie het CD39-eiwit meer aanwezig was in nieren van levende dan overleden donoren. De mRNA-expressie van CD73 was significant minder na reperfusie. De resultaten suggereren dat nieren van levende donoren worden beschermd door hogere pre-transplantatie CD39-expressie, hoewel dit effect kan worden tegengegaan door de afname van CD73-expressie na reperfusie.

Ten slotte wordt oxidatieve schade al tientallen jaren beschouwd als een belangrijke factor in de initiatie van I/R-schade. In hoofdstuk 9 hebben we het vrijkomen van biomarkers van oxidatieve en nitrosatieve schade tijdens reperfusie van de getransplanteerde nier systematisch onderzocht. Geen van de gemeten biomarkers van oxidatieve en nitrosatieve schade kwamen vrij na reperfusie. De vorming van vrij-radicalen tijdens I/R wordt nadrukkelijk niet in twijfel getrokken door deze bevindingen.



Deze wordt juist bevestigd door de verhoogde concentraties van PGE2 in urine en activering van Nrf2, de meesterregulator van de oxidatieve stress-signalering. Samen tonen deze een toename in oxidatieve stress kort na reperfusie. Desondanks leidt oxidatieve stress blijkbaar niet tot oxidatieve weefselschade bij nier I/R in de mens. Deze belangrijke bevinding suggereert dat mensen een zeer efficiënt anti-oxidantsysteem hebben. Dat is direct ook de verklaring voor de beperkte effectiviteit van antioxidant therapie bij I/R-schade in de mens. Over het geheel genomen gaan de resultaten van deze studie in tegen het heersende paradigma van prominente betrokkenheid van oxidatieve schade in de initiatie van I/R-schade in de mens.

Concluderend suggereren de studies in dit proefschrift dat inflammatie een belangrijk proces is in de reperfusieperiode van humane niertransplantatie. Echter, het blijft moeilijk te bepalen welke processen belangrijk zijn bij het veroorzaken van I/R-schade en wat de verschillen tussen nieren van levende en overleden donoren veroorzaakt. In tegenstelling tot de aanpak in de voorgaande hoofdstukken, is in hoofdstuk 10 gepoogd nieuwe aanknopingspunten te vinden door de totale genoom expressiepatronen te bepalen in nierbiopten genomen voor reeprfusie en 45 minuten na reperfusie. De vergelijking van genexpressiepatronen toonde dat terwijl in nieren van levende donoren de expressie van genen geassocieerd met metabolisme kort na reperfusie herstelde, deze genen in nieren van overleden donoren alle gedownreguleerd bleven na reperfusie. Deze fundamentele verschillen impliceren een totaal nieuwe hypothese, namelijk dat het onvermogen om het metabolisme te herstarten na reperfusie kan leiden tot toegenomen I/R-schade bij niertransplantaties met nieren van overleden donoren.

Ten slotte worden de therapeutische mogelijkheden en de huidige vooruitgang in de preventie van I/R-schade besproken in hoofdstuk 11. In hoofdstuk 11.1 worden de verschillende therapeutische donorinterventies opgesomd en besproken. Donorvoorbehandeling met verschillende methoden, waaronder ischemische preconditionering, HO-1-inductie, anti-complementinterventies, erythropoëtin en catecholamines is reeds succesvol geweest bij dierproeven. Vervolgens wordt in hoofdstuk 11.2 de rol van het metabolisme en het onvermogen om het metabolisme te herstarten bij in I/R-schade besproken. Tijdens de koude-ischemische periode is er minder activiteit van de mitochondriale ademhalingsketen en dalen de ATP niveaus. Voor het behoud van nierfunctie na reperfusie is het transplantaat sterk afhankelijk van het recupereren van haar metabole activiteit. Tenslotte kan tijdens transplantatie de I/R-schade beperkt worden door modulatie van de inflammatoire reactie. Vanuit dit perspectief zijn mesenchymale stromale cellen (MSC's) uitgebreid onderzocht. In hoofdstuk 11.3 worden verschillende preklinische studies besproken die de gunstige effecten van MSC's in het verbeteren van schade aan de nieren en het versnellen van het weefselherstel tonen.

De studies in dit proefschrift beschrijven de systematische zoektocht naar factoren die betrokken zijn bij de pathofysiologie van I/R-schade van de menselijke nier. Veel processen die op basis van dierstudies verondersteld waren betrokken te zijn bij deze



I/R-schade konden niet worden bevestigd in onze klinische studies van niertransplantatie. We vonden echter nieuw bewijs voor de betrokkenheid van complement- en endotheelcelactivatie bij nier I/R-schade in de mens. Bovendien waren er grote verschillen tussen transplantaties met nieren van levende en overleden donoren. Hierbij bleek dat nieren van hersendode donoren een unieke combinatie van pro-inflammatoire cytokines afgeven na reperfusie. Een andere belangrijke bevinding is dat nieren van zowel hersendode als harddode donoren nieren niet in staat lijken te zijn het celmetabolisme opnieuw op te starten na reperfusie. Al deze bevindingen dragen bij aan een beter begrip van I/R-schade van de nier en stimuleren de verdere zoektocht naar therapeutische modaliteiten om de effecten van I/R-schade te beperken. ◀