



Samenvatting proefschrift I.J. Schurink

“Graft preservation and functional assessment during hypothermic and normothermic perfusion in liver transplantation”

Promotie: 2 mei 2023
Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Promotors:
Prof. dr. L.J.W. van der Laan
Prof. dr. J.N.M. IJzermans

Copromotor:
Dr. J. de Jonge

Behandeloptie voor patiënten met eindstadium leverziekten is momenteel een levertransplantatie. Binnen de levertransplantatie is er sprake van een orgaantekort, waardoor inferieure donorlevers, ook wel Extended Criteria Donor (ECD) levers genoemd, worden gebruikt voor transplantatiedoeleinden. Een groot deel van deze ECD levers is afkomstig van donatie na circulatoire dood (DCD). Deze levers worden minder vaak geschikt geacht voor transplantatie en de transplantaties gaan gepaard met meer postoperatieve complicaties in vergelijking met levers die worden gedoneerd na hersendood (DBD).

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van de verschillende post-transplantatie complicaties, zoals primaire non-functie, vroege allotransplantaat disfunctie en niet-anastomose biliare stricturen (NAS). Door zowel de preservatie van organen als de selectiemethoden voor geschikte organen te verbeteren, kunnen complicaties worden verminderd en kunnen meer donorlevers veilig worden getransplanteerd. In het verleden werd de donorlever tussen uitname en transplantatie altijd op ijs bewaard. Verschillende dynamische strategieën voor orgaanpreservatie hebben echter de potentie om de kwaliteit van het donororgaan voorafgaand aan de transplantatie te verbeteren. In dit hoofdstuk wordt een kort overzicht gegeven van de verschillende orgaanperfusiemethoden die in de loop van de tijd zijn ontwikkeld en geïmplementeerd, in het bijzonder de abdominale normotherme regionale perfusie (aNRP), de (duale) hypotherme geoxygeneerde machineperfusie ((D)HOPE) en de normotherme machineperfusie (NMP). Deze preservatietechnieken zijn ontwikkeld om ECD levers te verbeteren en/of de mogelijkheid te bieden om de donorlever voorafgaand aan de transplantatie te (her)evalueren, en op die manier meer levers te kunnen transplanteren. Het doel van dit proefschrift is enerzijds om de preservatie effecten van verschillende perfusietechnieken aan te tonen en anderzijds om zowel bestaande als nieuwe evaluatiemethoden voor donorlevers te onderzoeken.

Deel I van dit proefschrift richt zich op de beoordeling van zowel de preservatie effecten als de evaluatiemethoden tijdens een aNRP. Hoofdstuk 2 geeft een algemeen overzicht



over het gebruik van aNRP in de orgaandonatie. Het overzicht richt zich niet alleen op lever preservatie en transplantatie, maar bekijkt het ook vanuit perspectief van de andere buikorganen (nier en pancreas) die tijdens aNRP worden geperfundeed. In dit hoofdstuk is middels een systematische literatuur review aangetoond dat aNRP-protocollen in de literatuur heterogeen zijn. De heterogeniteit in protocollen kan onder meer komen door verschillen in regelgeving met betrekking tot interventies voorafgaand aan stopzetting van levensondersteunende therapie, voordat aNRP wordt uitgevoerd. Zo verschilt het per land of het toedienen van heparine of cannulatie voor het moment van overlijden toegestaan is. De resultaten na niertransplantatie zijn over het algemeen erg goed. Een meer diepgaand overzicht van de resultaten van aNRP binnen de levertransplantatie wordt gegeven in Hoofdstuk 3. In dit hoofdstuk is onderzocht welke geschiktheidscriteria voor het starten van aNRP en welke acceptatiecriteria voor de transplantatie van levers tijdens aNRP over het algemeen worden gebruikt. Binnen de ongecontroleerde DCD-levers, worden de leeftijd van de donor, de duur van de hartstilstand en de duur van het gebruik van geavanceerde beademingsondersteuning vaak gebruikt als geschiktheidscriteria voor het starten van aNRP. Bij gecontroleerde DCD-donatie worden de leeftijd van de donor en de duur van functionele warme ischemie juist vaak gebruikt. Zowel voor ongecontroleerde als gecontroleerde DCD-donoren wordt tijdens aNRP beoordeeld of de donorlever transplantabel is op basis van de volgende criteria: macroscopisch aspect, microscopisch aspect, hoogte van ALAT en lactaat. De meeste ongecontroleerde DCD-levers worden geweigerd voor transplantatie op basis van een te hoge ALAT waarde (31%), terwijl de meeste gecontroleerde DCD-levers worden geweigerd op basis van macroscopisch aspect (48%). Het percentage donorlevers dat uiteindelijk ook daadwerkelijk getransplanteerd wordt (acceptatiepercentage), is 16% van de ongecontroleerde DCD-levers, terwijl dat bij de gecontroleerde DCD-levers 64% is. Het acceptatiepercentage van organen moet altijd in evenwicht zijn met de resultaten na transplantatie. De resultaten van transplantatie van gecontroleerde DCD-levers die geperfundeed zijn met aNRP zijn uitstekend, met een lage incidentie van NAS (3% (2-4%; 95%-BI)). De resultaten na transplantatie van ongecontroleerde DCD-levers geperfundeed met aNRP zijn daarentegen duidelijk minder, met vooral een hoge incidentie van PNF (13% (6-25%; 95%-BI)). Die mindere uitkomsten roepen de vraag op of de huidige evaluatiemethoden om leverkwaliteit en transplantabiliteit te beoordelen wel voldoende zijn. Om dit uit te zoeken, is er in Hoofdstuk 4 een enquête gehouden onder transplantatiechirurgen die aNRP uitvoeren. Aan 47 chirurgen die ervaring hebben met aNRP is gevraagd naar hun mening omtrent de beoordelingscriteria voor transplantatie van levers tijdens aNRP. De acceptatiecriteria tijdens aNRP bleken veel criteria vergelijkbaar te zijn met die in het vorige hoofdstuk; vooral het macroscopisch aspect werd benoemd als het meest bruikbare criterium om levers te evalueren tijdens aNRP. Perfusie en de pH in het perfusaat werden vaker gebruikt als aanvullende beoordelingscriteria dan wat in de literatuur is beschreven. De meerderheid van de experts gaf aan de huidige standaard van de donorleverevaluatie onvoldoende te vinden om de kwaliteit van de lever, van de galwegen of van beide te beoordelen. Daarom zijn in de volgende hoofdstukken nieuwe evaluatiemethoden onderzocht om hepatocellulaire functie en galwegfunctie tijdens aNRP te beoordelen, in een poging de protocollen voor evaluatie van donorlevers tijdens aNRP te optimaliseren.



In Hoofdstuk 5 werden 28 EDC-DCD-levers die door alle centra in de Eurotransplant-regio waren afgewezen, geëvalueerd tijdens aNRP, en na positieve evaluatiecriteria alsnog getransplanteerd. De gal samenstelling werd, als een nieuwe kwaliteitsmarker tijdens aNRP, geanalyseerd en is gerelateerd aan het optreden van complicaties na transplantatie. Bovendien werden de post-transplantatie resultaten van dit cohort van aNRP-geperfundeerde levers vergeleken met de resultaten van niet-aNRP-geperfundeerde DCD-levers en DBD-levers uit dezelfde periode. 20 van de 28 aNRP geperfundeerde donorlevers werden getransplanteerd, waarbij er na twee van deze transplantaties NAS optrad. Donorlevers die voldeden aan alle galwegcriteria (pH, bicarbonaat en glucose in het gal) hadden een zeer kleine kans op het ontwikkelen van NAS (goede negatief voorspellende waarde), echter kon het optreden van NAS niet goed worden voorspeld door het falen van een lever op deze galwegcriteria (minder goede positief voorspellende waarde). De belangrijkste verschillen tijdens aNRP tussen de getransplanteerde donorlevers en de beoordeelde maar niet-getransplanteerde donorlevers waren lagere ALAT-waarden in het getransplanteerde cohort en galproductie in 100% van de getransplanteerde versus 50% van de niet-getransplanteerde levers. De transplantaat- en patiëntoverleving na 12 maanden van de aNRP geperfundeerde donorlevers waren beide vergelijkbaar met die van de niet-aNRP geperfundeerde DCD-levers en DBD-levers.

In Hoofdstuk 6 wordt een nieuwemethode voor het meten van hepatocellulaire functie tijdens aNRP onderzocht; de maximale leverfunctiecapaciteitstest (LiMAX). In deze test wordt gemeten hoe goed een substraat dat wordt toegediend, ¹³C-labelled methaceten, door de lever wordt afgebroken. De LiMAX-test is in 17 donorlevers tijdens aNRP succesvol uitgevoerd. De LiMAX-scores correleerden met andere parameters tijdens aNRP die vaak als maat voor leverfunctie worden gebruikt, zoals lactaatklaring, stresshyperglycemie, ALAT en ASAT- waarden. 13 van de 17 donorlevers werden uiteindelijk getransplanteerd. Deze 13 levers hadden een significant hogere LiMAX-score, in vergelijking met de 4 donorlevers die werden geweigerd voor transplantatie op basis van vooraf gedefinieerde evaluatiecriteria, onafhankelijk van de LiMAX-score. In deze 13 getransplanteerde levers was het 24-uurs lactaatsniveau na transplantatie gecorreleerd met de hoogte van de LiMAX-score.

Deel II van dit proefschrift richt zich op ex-vivo orgaanperfusiestrategieën, in het bijzonder op DHOPE en NMP. Preservatie effecten van DHOPE worden hierin geëvalueerd en nieuwe evaluatiestrategieën van donorlevers tijdens NMP worden onderzocht. In Hoofdstuk 7 worden de voordelen van preservatie door DHOPE in DCD-levers geëvalueerd. Er is een gerandomiseerde studie uitgevoerd waarin DCD-levers zijn gerandomiseerd in twee cohorten; één cohort dat DHOPE onderging en een controlecohort met levers die direct zijn getransplanteerd. In totaal zijn 156 donorlevers geïncludeerd, waarvan 78 levers DHOPE ondergingen en 78 levers simple cold storage (SCS) kregen. Het primaire eindpunt van deze studie was de incidentie van NAS binnen 6 maanden. In het DHOPE-cohort was de incidentie van NAS lager dan in het controlecohort. Secundaire eindpunten waren het optreden van post-reperfusiesyndroom en vroege transplantaat disfunctie. Dit kwam beide minder vaak voor in het DHOPE-cohort dan in het controlecohort.



Met betrekking tot evaluatiemethoden tijdens NMP, wordt in Hoofdstuk 8 beschreven hoe de LiMAX-test is geoptimaliseerd voor NMP. Elf donorlevers ,afgevoerd voor transplantatie, ondergingen NMP, waarbij na een uur NMP de LiMAX-test is uitgevoerd. LiMAX-scores varieerden van 111 tot 1838 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{uur}$. De LiMAX-score correleerde met de Suzuki-score, AST, ALAT en lactaatklaring. Naast alleen de LiMAX-score kon ook de halfwaardetijd van ^{13}C -methacetine worden berekend op basis van eerste orde farmacokinetische principes. Het voordeel van gebruik van de halfwaardetijd in plaats van de LiMAX score zelf is dat de halfwaardetijd onafhankelijk is van de exacte dosering substraat die is toegediend. Op die manier kan bijvoorbeeld met opeenvolgende LiMAX-testen de functie van het transplantaat in de tijd worden gevolgd.

Een andere op substraat gebaseerde leverfunctietest, de indocyaninegroen (ICG) plasma-eliminatie test, wordt beschreven in Hoofdstuk 9. De ICG-plasma-eliminatie test is geoptimaliseerd voor DHOPE en NMP in 10 donorlevers die waren afgekeurd voor transplantatie. In de DHOPE-levers werd geen eliminatie van ICG waargenomen, waarschijnlijk door de combinatie van een lage metabolische activiteit tijdens DHOPE en het ontbreken van alfa-lipoproteïnen in het perfusaat. Tijdens NMP wordt ICG uit het plasma geklaard via eerste orde eliminatiekinetiek. De snelheid waarmee ICG uit het plasma wordt geklaard (PDR) is afhankelijk van de bloedstroom en het plasmavolume. Na correctie voor deze factoren was de gecorrigeerde PDR (NMP-PDR) gecorreleerd met het ATP-gehalte in biopsieën maar niet met schademarkers ALAT, ASAT en een TUNEL-kleuring. Daarna zijn in de klinische fase 22 donorlevers geïncubeerd waarbij DHOPE is uitgevoerd, de lever vervolgens is opgewarmd tot 37 graden celsius (controlled oxygenated rewarming; COR) en ten slotte NMP is uitgevoerd. Deze donorlevers werden beoordeeld en getransplanteerd na positieve tevoren gedefinieerde evaluatiecriteria. Na een uur NMP werd de ICG-eliminatie test uitgevoerd, en werd de NMP-PDR berekend. Zowel hepatocellulaire (> 10 ml galproductie en zelfregulering van de pH) als algehele cholangiocellulaire acceptatiecriteria correleerden met de NMP-PDR. Van deze 22 donorlevers zijn er 11 getransplanteerd. De NMP-PDR was hoger in het getransplanteerde cohort dan in het niet-getransplanteerde cohort. Eén lever uit het getransplanteerde cohort ontwikkelde vroege allotransplantaat disfunctie. Dit transplantaat had een NMP-PDR van 12,3 $\%/L \cdot \text{Kg}$, terwijl alle andere getransplanteerde levers een score van $\geq 12,6$ $\%/L \cdot \text{Kg}$ hadden. Dit geeft aan dat de NMP-PDR een goede voorspellende waarde heeft voor de hepatocellulaire functie.

In Hoofdstuk 10 worden historische cohorten van simple cold storage (SCS), aNRP en DHOPE- COR -NMP behandelde ECD-DCD-donorlevers met een donorleeftijd ≥ 60 jaar direct met elkaar vergeleken. Het doel was om de impact te beoordelen van nieuwe perfusiestrategieën op het verminderen van complicaties na transplantatie. 56 levers werden opgenomen in het SCS-cohort, 33 in het DHOPE-COR-NMP-cohort en 27 levers in het aNRP-cohort. De incidentie van NAS in deze cohorten was respectievelijk 21%, 3% en 7%. DHOPE-COR-NMP resulteerde in een significante afname van NAS na één jaar in vergelijking met SCS, terwijl de incidentie van NAS in het aNRP-cohort niet verschilde van de andere cohorten. Het is echter mogelijk dat de power van onze studie onvoldoende was om een significant verschil met betrekking tot NAS te detecteren.



Hoofdstuk 11 geeft een algemene discussie en toekomstperspectief op dynamische preservatie effecten en evaluatiestrategieën tijdens lever perfusie. Zowel met de gunstige effecten van orgaanpreservatie als met verbeterde leverfunctietesten kan de beschikbaarheid van donorlevers worden verbeterd, mogelijk zelfs met een vermindering van complicaties na transplantatie.