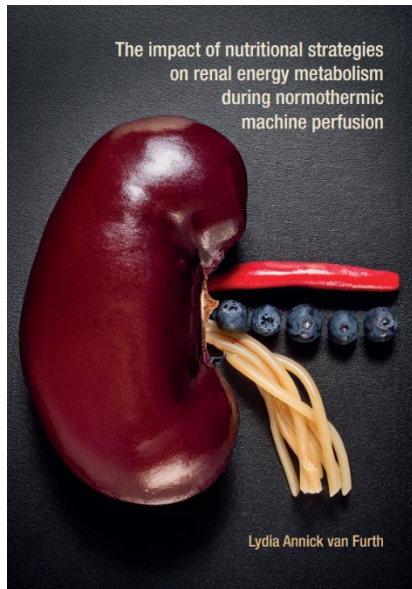




Samenvatting proefschrift L.A. van Furth

“The impact of nutritional strategies on renal energy metabolism during normothermic machine perfusion”

Promotie: 23 juni 2025
Rijksuniversiteit Groningen

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

Co-promotors:
Dr. L.H. Venema

Het hoofddoel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was om beter te begrijpen hoe het renale energiemetabolisme behouden kan worden door voedingsmodificaties te implementeren tijdens ex vivo normotherme machineperfusie. Een secundair doel was om te onderzoeken of het energiemetabolisme en de voeding van de nier kunnen dienen als methode voor levensvatbaarheidsbeoordeling voorafgaand aan transplantatie.

Hoofdstuk 1 bevat een basisintrodactie van orgaantransplantatie, het effect van ischemiereperfusie op nieren tijdens het orgaantransplantatieproces en het energiemetabolisme van de nier. Het geeft ook een overzicht van dit proefschrift.

In **hoofdstuk 2** werd de geschiktheid van ‘precision-cut kidney slices (PCKS)’ van varkensnieren als intermediair model voor transplantatie gerelateerd onderzoek naar ischemiereperfusieschade (IRI) bestudeerd. De resultaten toonden aan dat geoxygeneerde hypotherme machineperfusie (HMP-O2) resulteert in levensvatbare PCKS tot 72 uur onder normotherme en 48 uur onder hypotherme omstandigheden.

Vervolgens werd het PCKS-model gebruikt om het effect van een ketogeen dieet op de mitochondriële functie te bestuderen in **hoofdstuk 3**. De rationale voor dit experiment was dat voorafgaand aan ischemie, dieetveranderingen een veelbelovende interventie bleken te zijn bij het voorkomen van nierschade veroorzaakt door IRI. De resultaten onthulden dat tot 48 uur incubatie een ketogeen dieet geen effect heeft op de mitochondriële activiteit. Na 72 uur incubatie resulteerde de toevoeging van ketonen aan het incubatiemedium in aanzienlijk minder productie van adenosinetrifosfaat (ATP) vergeleken met incubatie van PCKS met glucose. Er kan daarom worden geconcludeerd dat na een ischemische gebeurtenis een ketogeen dieet geen beschermend effect heeft op de mitochondriële functie van PCKS van varkensnieren.

In **hoofdstuk 4** werd het PCKS-model eveneens gebruikt, waarbij zowel varkens- als humane nieren werden bestudeerd. Het doel van deze studie was om het effect van verschillende macronutriënten, zoals glucose, vetzuren en glutamine, tijdens incubatie van de PCKS op mitochondriële functie te



onderzoeken. De toevoeging van meerdere macronutriënten verbeterde de mitochondriële functie in PCKS van varkensnieren na langdurige incubatie, aangezien ATP-concentraties en mitochondrieel zuurstofverbruik hoger waren in vergelijking met incubatie zonder voedingsstoffen. Deze veelbelovende resultaten leidden tot vertaling naar normotherme machineperfusie (NMP) tijdens vervollexperimenten.

Als eerste implementatie van de bevindingen in hoofdstuk 4, werden in **hoofdstuk 5** varkensnieren onderworpen aan zes uur NMP met een perfusieoplossing zonder extra energiebron (gevast) of perfusie met een hoogenergetische perfusieoplossing (gevoed).

Daarnaast werd het effect van een plotselinge stijging van lactaat concentraties door het geven van een bolus lactaat aan het begin van NMP op het energiemetabolisme bestudeerd. Vastende nieren consumeren lactaat en produceren glucose tijdens NMP. De gevoede nieren waren ook in staat om het lactaat uit de piek te klaren, maar er werd geen glucose gevormd. De voedingsstatus, vasten of voeden, van de nieren tijdens NMP had geen invloed op de mitochondriële functie, nierfunctie, schade- of perfusieparameters.

Aangezien de varkensnieren in staat waren om lactaat te klaren tijdens NMP, werd dit verder bestudeerd in **hoofdstuk 6** in humane nieren. Een lactaat 'challenge' werd toegepast tijdens NMP om te verkennen of deze methode kan dienen als een instrument voor vitaliteitsbeoordeling vóór transplantatie. We onthulden dat nieren die reageerden op de lactaat 'challenge' door lactaat te klaren, meer glucose produceerden en minder exogene glucose toevoer nodig hadden tijdens NMP. De lactaatconsumptie tijdens NMP was ook gecorreleerd met glucoseproductie. Dus nieren die lactaat consumeren en glucose produceren via gluconeogenese tijdens NMP zouden als meer levensvatbaar kunnen worden beoordeeld.

In **hoofdstuk 7** werd een uitgebreide metabole ontregelingsanalyse van in vivo en ex vivo geperfundeerde varkensnieren uitgevoerd. Ook werd het effect van ernstige ischemie bestudeerd met behulp van deze metabolomics analysetechniek waaraan bulk RNA-sequencing en proteomics analyse werden toegevoegd. De resultaten onthulden opmerkelijke ontregelingen in belangrijke metabole processen van ex vivo geperfundeerde nieren vergeleken met dezelfde nier in vivo. Ernstige ischemische schade verergert deze metabole veranderingen. Op basis van de multi-omics analyse was vooral de depletie van NAD⁺ geassocieerd met nadelige cellulaire processen tijdens NMP. Deze bevindingen kunnen de ontwikkeling van strategieën voor het verbeteren van NMP-protocollen ondersteunen om de renale vitaliteit beter te behouden tijdens NMP en te beoordelen voorafgaand aan transplantatie.

Ten slotte, aangezien niet alleen voeding maar ook zuurstof zeer belangrijk is om het energiemetabolisme te ondersteunen, werd in **hoofdstuk 8** de associatie tussen hemoglobineconcentraties en nierfunctieparameters tijdens NMP onderzocht. Er werd gebruik gemaakt van een retrospectieve cohortstudie met meer dan 200 varkensnieren. Hogere baseline hemoglobineconcentraties waren geassocieerd met betere nierfunctieparameters, zoals fractionele natriumexcretie (FENa) en creatinineklaring (CrCl), tijdens NMP. Vooral wanneer hemoglobinegehalten 4,5 mmol/L of hoger zijn, werd een superieure nierfunctie waargenomen, maar hemoglobineconcentraties boven 6 mmol/L boden geen extra gunstige effecten. Daarom wordt geadviseerd om, wanneer rode bloedcellen worden toegevoegd aan het perfusaat van renale NMP, te



streven naar een hemoglobineconcentratie van 4,5 mmol/L of hoger om de functionaliteit van de nier te ondersteunen.