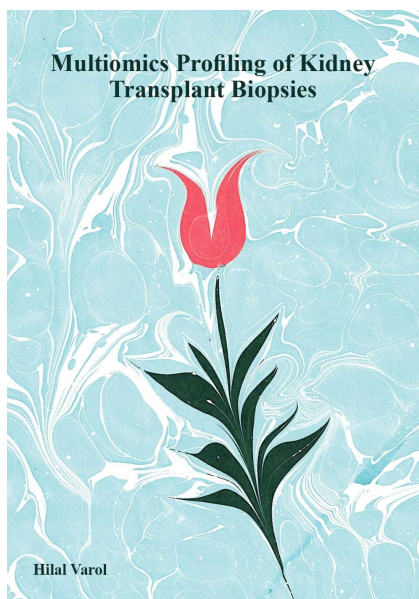




Samenvatting proefschrift Hilal Varol

“Multiomics Profiling of Kidney Transplant Biopsies”

**Promotie: 14 oktober 2025
Erasmus Universiteit Rotterdam**

Promotor:
Dr. M.J. Hoogduijn

Co-promotors:
Dr. M.C. Clahsen - Groningen
Dr. A.P. Stubbs
Dr. R. Kramann

Microscopisch onderzoek van een biopt van een getransplanteerde nier is één van de belangrijkste manieren om te zien of het lichaam de nieuwe nier afstoot. Daarbij kan het ook helpen om te bepalen om welke type afstoting het gaat, want die kunnen er onder de microscoop anders uitzien. Een goede en snelle diagnose is belangrijk om op tijd te starten met de juiste behandeling, waardoor de getransplanteerde nier soms nog gered kan worden.

In **Hoofdstuk 2** wordt besproken hoe moleculair onderzoek extra informatie kan geven naast wat we onder de microscoop zien bij een nierbiopt van een getransplanteerde nier. Er bestaan verschillende manieren om dit moleculair onderzoek te doen, en elke methode heeft zo zijn voor- en nadelen. Sommige technieken zijn heel precies en kunnen kleine veranderingen goed opsporen, maar kunnen maar een paar genen tegelijk bekijken. Andere technieken kunnen juist duizenden genen in één keer analyseren, maar daarvoor is vaak een extra stukje weefsel nodig, bovenop het standaard biopt. Ook is het belangrijk dat deze testen heel nauwkeurig en op dezelfde manier worden uitgevoerd. Daarom moeten ze vaak op één vaste, gespecialiseerde plek worden gedaan. Een techniek die NanoString® heet, is daarin wat praktischer in gebruik. Deze methode kan in verschillende laboratoria worden gebruikt en werkt al met een klein stukje van het bestaande biopt.

In **Hoofdstuk 3** onderzoeken we hoe de NanoString® techniek kan helpen bij het opsporen van afstoting van een getransplanteerde nier. We hebben 96 nierbiopten met twee genensets onderzocht: één set om algemene afstoting te herkennen en één set die specifiek kijkt naar een bepaalde vorm van afstoting die wordt veroorzaakt door antistoffen, ofwel AMR. De biopten kwamen uit drie verschillende groepen: biopten met AMR, biopten met borderline veranderingen of door T-cellen veroorzaakte afstoting (BLorTCMR), en biopten zonder tekenen van afstoting. Door te kijken naar de activiteit van bepaalde genen (genexpressie), zagen we dat verschillende genen een ander expressiepatroon vertoonden per type biopt (AMR, BLorTCMR of geen afstoting). In ons onderzoek hebben we alleen duidelijke, actieve gevallen van AMR onderzocht. Daardoor was de groep makkelijk te analyseren, maar niet compleet. In de praktijk ligt de uitdaging juist bij complexere AMR gevallen



die voor de patholoog moeilijk te beoordelen zijn. Voor deze ingewikkelde gevallen kunnen nieuwe technieken zoals NanoString® in de toekomst een waardevolle rol spelen. Daarvoor is wel aanvullend onderzoek nodig. Door kennis te bundelen en slimme computermodellen te ontwikkelen, kunnen artsen beter worden ondersteund bij het herkennen van complexe vormen van afstoting.

In **Hoofdstuk 4** onderzoeken we welke afweercellen betrokken zijn bij AMR en TCMR en of er verschillen zijn. Zoals verwacht zagen we bij TCMR meer T-cellen in het 185 Dutch Summary - Nederlandse Samenvatting nierweefsel tussen de tubuli (nierbuisjes). Bij AMR viel vooral het type macrofagen op dat aanwezig was in de glomeruli (filttertjes van de nier). Macrofagen zijn afweercellen die een belangrijke rol spelen bij het opruimen van beschadigd weefsel en het aansturen van ontstekingsreacties. Hoewel het totale aantal macrofagen in de glomeruli ongeveer gelijk was bij AMR en TCMR, zagen we bij AMR een hoger percentage van een specifiek type macrofaag. Dit specifieke type macrofaag is vooral betrokken bij het herstellen van weefselschade en het remmen van ontstekingen. Het is belangrijk om te onderkennen dat het onderscheid tussen 'ontstekingsbevorderende' en 'ontstekingsremmende' macrofagen in de praktijk niet altijd duidelijk is. Macrofagen zijn namelijk bijzondere cellen die zich aan hun omgeving kunnen aanpassen en daarbij tegelijkertijd kenmerken van beide typen kunnen vertonen.

De Banff-classificatie is een internationaal systeem dat artsen gebruiken om verschillende vormen van afstoting bij niertransplantaties in te delen. Het deelt vormen van afstoting in categorieën op basis van wat er onder de microscoop in het nierweefsel te zien is. Er wordt daarbij met name gekeken naar hoeveel ontstekingscellen er aanwezig zijn, en waar deze precies liggen, bijvoorbeeld in de glomeruli (de filttertjes van de nier) of in de tubuli (de buisjes). Één van die categorieën is "borderline veranderingen", wat betekent dat er aanwijzingen zijn voor beginnende T-cel-gemedieerde afstoting, maar dat het beeld nog niet duidelijk genoeg is. De Banff-classificatie richt zich vooral op het aantal ontstekingscellen en de plaats waar ze in het nierweefsel voorkomen, maar het maakt geen onderscheid tussen de verschillende typen afweercellen – zoals T-cellen of mestcellen. Terwijl dat onderscheid belangrijk kan zijn, omdat verschillende celtypes invloed kunnen hebben op hoe de afstoting verloopt en hoe goed de nier herstelt. Zo staan mestcellen vooral bekend om hun rol bij allergische reacties, maar ze hebben ook andere functies. Uit onderzoek bij andere orgaantransplantaties blijkt dat mestcellen betrokken kunnen zijn bij langdurige ontstekingen en littekenvorming. Ook zijn er aanwijzingen dat mestcellen ook kunnen bijdragen aan het voorkomen van afstoting van het getransplanteerde orgaan. Hiermee lijken mestcellen een veelzijdige rol te spelen in zowel schade als herstel. Om te begrijpen of mestcellen invloed hebben op het verloop van afstoting, kijken we in **Hoofdstuk 5** naar het aantal mestcellen in niertransplantatiebiopten die als bTCMR zijn geclassificeerd. We zien dat er een verband is tussen het aantal mestcellen en de vorming van littekenweefsel, echter is er geen duidelijk verband tussen het aantal mestcellen en de nierfunctie twee jaar na de biopsie. Dit betekent dat mestcellen waarschijnlijk niet direct verantwoordelijk zijn voor verlies van nierfunctie, maar dat hun aantal kan wijzen op schade die zich in de loop van de tijd langzaam opbouwt. Hierbij is het belangrijk om op te merken dat functieverlies of falen van een getransplanteerde nier zich ook na twee jaar kan ontwikkelen. Om een beter inzicht te krijgen over het verband tussen mestcellen en langetermijnveranderingen van 186 Appendices niertransplantaten, is het belangrijk om deze patiënten over een langere periode dan twee jaar te volgen en regelmatig biopten van het transplantaat te onderzoeken.



Chronische actieve antistof-gemedieerde afstoting, ofwel CA-AMR, is een bekende vorm van afstoting bij niertransplantaties. Hierbij maakt het afweersysteem van de patiënt antistoffen tegen de donornier. In nierbipten zien we bij deze vorm meestal schade aan de nierfilters (glomeruli), wat transplantaat glomerulopathie wordt genoemd. Vaak gaat dit gepaard met ontsteking in de kleine bloedvaten, ook wel microvasculaire ontsteking genoemd. Daarnaast worden donorspecifieke antistoffen (DSA) in het bloed gevonden en zien we neerslag van het eiwit C4d in de bloedvaten. In **Hoofdstuk 6** richten we ons op een nieuwe vorm van afstoting die er onder de microscoop bijna hetzelfde uitziet als CA-AMR. Wat deze vorm bijzonder maakt, is dat er geen DSA worden gevonden in het bloed en er ook geen afzetting van C4d-afzettingen zichtbaar zijn in de bloedvaten. Deze groep wordt daarom aangeduid als cg+MVI DSA-/C4d-. De gelijkenis met CA-AMR roept de vraag op of deze nieuwe vorm van afstoting tot dezelfde categorie behoort of dat het om een andere variant gaat. We onderzochten dit door zowel het microscopisch beeld te bekijken als de aanwezige afweercellen en de activiteit van genen (genexpressie) te analyseren. In de klassieke CA-AMR-groep – dus mét DSA en C4d – vonden we meer Natural Killer-cellen (NK-cellen) in de glomeruli. NK-cellen zijn een soort afweercellen die zieke of afwijkende cellen kunnen herkennen en vernietigen. Ook zagen we in deze groep een hogere activiteit van genen die betrokken zijn bij ontsteking en herstel. Daarnaast vonden we meer aanwijzingen voor de vorming van nieuwe bloedvaten, littekenweefsel en schade aan de niertubuli. In de nieuwe groep zonder DSA en C4d zagen we juist meer T-cellen in de glomeruli. Dit wijst op een afweerreactie waarbij vooral T-cellen betrokken zijn, in plaats van antistoffen. Deze bevindingen laten zien dat nierbipten die onder de microscoop hetzelfde uitzien, toch veroorzaakt kunnen worden door verschillende vormen van afstoting. De onderliggende afweerreacties en genactiviteit verschillen duidelijk van elkaar. Dat inzicht is belangrijk, omdat het kan helpen om deze patiënten in de toekomst beter te herkennen en gericht te behandelen.

De Banff Classificatie is een gedetailleerd systeem dat wordt gebruikt om afstoting bij niertransplantaties in te delen. In de praktijk blijkt het soms lastig om complexe gevallen precies binnen deze indeling te laten passen. Een goed voorbeeld is ontsteking in de kleine bloedvaten (microvasculaire ontsteking). Dit wordt meestal in verband gebracht met AMR, maar recent onderzoek laat zien dat het ook voorkomt bij andere vormen van afstoting. In **Hoofdstuk 7** tonen we met een systematische review aan dat microvasculaire ontsteking (MVI), glomerulitis en peritubulaire capillaritis ook bij TCMR kunnen voorkomen. Dit onderzoek biedt ons meer inzicht in MVI bij TCMR, maar er zijn belangrijke beperkingen. Een belangrijke beperking is de onduidelijkheid over welke versie 187 Dutch Summary - Nederlandse Samenvatting van de Banff Classificatie in sommige studies is gebruikt. De Banff Classificatie wordt elke twee jaar bijgewerkt om nieuwe wetenschappelijke inzichten op te nemen, waarbij de definities van afstotingspatronen, zoals die van TCMR, kunnen veranderen. Wanneer het niet duidelijk is welke versie van de Banff Classificatie is gebruikt, wordt het moeilijk om studies goed met elkaar te vergelijken. Om de toekomstbestendigheid van onderzoek naar MVI te waarborgen, is het essentieel dat auteurs de gebruikte Banff-criteria duidelijk vermelden en consequent toepassen.

De resultaten gepresenteerd in dit proefschrift tonen aan dat moleculair onderzoek en onderzoek van het immuuncel repertoire veelbelovend zijn voor het onderscheiden van verschillende afstotingspatronen. Deze benaderingen hebben de potentie om de diagnostiek van niertransplantatie afstoting te verbeteren, waarbij aanvullende diagnostische hulpmiddelen naast traditionele histopathologische methoden een waardevolle aanvulling kunnen vormen voor een nauwkeuriger en uitgebreidere evaluatie van niertransplantatiebipten.