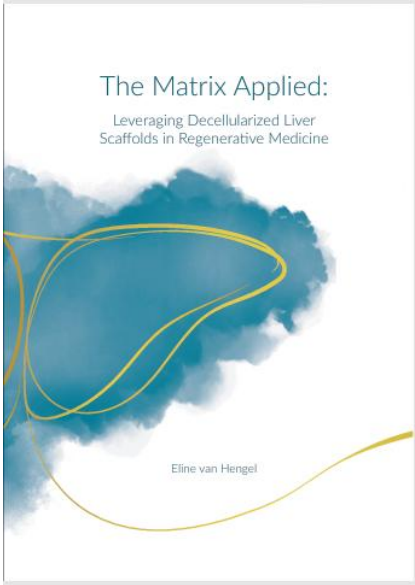
De publicatie van dit proefschrift werd in 2026 gesponsord met een bijdrage van de Nederlandse Transplantatie Vereniging.



Samenvatting proefschrift E.V.A. van Hengel

"De Matrix Toegepast"

Promotie: 1 oktober 2026

Promotor:
Luc van der Laan

Co-promotors:
Jeroen de Jonge
Monique Verstegen

Voor patiënten met eindstadium leverziekte is een levertransplantatie momenteel de enige curatieve behandeloptie. Toch blijft eindstadium leverziekte wereldwijd een belangrijke doodsoorzaak. Ondanks vooruitgang in donorbeheer en de toepassing van machineperfusie voor donorlevers, blijft de vraag naar donorlevers groter dan het beschikbare aanbod. Deze aanhoudende kloof heeft geleid tot de zoektocht naar alternatieve strategieën om het aanbod van beschikbare donorlevers te verbeteren. Een veelbelovende benadering is het kweken van leverweefsel in het laboratorium, een onderwerp dat centraal staat in deze thesis. Bij het kweken van weefsel *in vitro* worden cellen van het gewenste weefseltype aangebracht op een driedimensionale scaffold, dat dient als ondersteuning voor cel hechting, groei en organisatie. In deze thesis worden humane levers die zijn afgekeurd voor transplantatie en varkenslevers gebruikt als bron voor dergelijke scaffold. Deze organen ondergaan een decellularisatie proces, waarbij alle cellulaire componenten worden verwijderd, terwijl de extracellulaire matrix (ECM) en de structurele en biochemische eigenschappen van de ECM behouden blijven. Tijdens de decellularisatie blijft bovendien de natuurlijke architectuur van het orgaan intact, inclusief het vasculaire netwerk en het galwegsysteem. Dankzij het behoud van deze complexe structuur vormt de gedecellulariseerde matrix een bijzonder geschikt platform voor toepassingen binnen de weefselkweek en regeneratieve geneeskunde.

Deze thesis is opgebouwd uit drie delen: het waarborgen van de veiligheid en biocompatibiliteit van de ECM; het ontwikkelen van functionele toepassingsplatformen; en het schetsen van toekomstperspectieven voor klinische implementatie. De vertaling van gedecellulariseerde organen van laboratoriumonderzoek naar klinische toepassing vereist

strenge regelgeving en veiligheidsnormen. **Hoofdstuk 2** beschrijft de huidige kloof tussen experimenteel onderzoek en klinische toepassing. Een belangrijke uitdaging hierin is het vinden van een optimale balans tussen het verwijderen van cellen en het behouden van de structurele en biochemische integriteit van de ECM. Een belangrijke bijdrage van deze thesis is de bevinding in **hoofdstuk 3** dat conventionele criteria voor decellularisatie ontoereikend zijn. Hoewel bestaande normen zich richten op de totale hoeveelheid DNA, toont dit onderzoek aan dat mitochondriaal DNA (mtDNA) relatief resistent tegen standaard decellularisatie procedures. Dit resterende mtDNA activeert macrofagen en stimuleert de productie van pro-inflammatoire cytokinen. Een gerichte behandeling met het endonuclease HpaII kan het resterende mtDNA effectief afbreken, waardoor de immunologische compatibiliteit van de gedecellulariseerde matrix aanzienlijk verbetert.

In **hoofdstuk 4** worden vijf sterilisatiemethoden voor humane lever ECM vergeleken en geëvalueerd voor effectiviteit, effect op de matrix eigenschappen en biocompatibiliteit. Hoewel behandeling met ioniserende straling en ultraviolet-bestraling effectief zijn in het elimineren van micro-organismen, veroorzaken zij een aanzienlijke toename van de matrixstijfheid en veranderingen in de collageendichtheid van de matrix. Behandeling met een antibiotica-antimycotica mix en met superkritisch koolstofdioxide kwamen naar voren als de meest veelbelovende methoden, omdat zij de beste balans bieden tussen steriliteit, behoud van matrix eigenschappen en biocompatibiliteit. In **hoofdstuk 5** wordt de veiligheid van gebruik van xenogeen materiaal beschreven, en wordt aangetoond dat het in het laboratorium ontwikkelde decellularisatie protocol varkens-specifieke endogene retrovirussen effectief verwijdert uit varkenslevers. Dit ondersteunt de potentie van het gebruik van varkensmateriaal als schaalbaar alternatief voor humaan weefsel.

Het tweede deel van de thesis richt zich op het gebruik van lever ECM in functionele toepassingen. **Hoofdstuk 6** onderzoekt de biocompatibiliteit van humane lever ECM door kleine stukken ECM te plaatsen in het omentum van varkens. De ECM bleef structureel intact over tijd, bovendien trad geen lichaamsvreemde reactie op. In dit varkensmodel werd spontane vascularisatie in de stukken ECM gevonden. Dit onderstreept de potentie van het gebruik van ECM als drager en de aflevering van cellen of therapieën. In **hoofdstuk 7** worden uit gedecellulariseerde humane en varkenslevers hydrogelen verkregen, en als alternatief voor huidig commercieel beschikbare hydrogelen geëvalueerd. Deze lever-specifieke hydrogelen ondersteunen de kweek van intrahepatische cholangiocyt-organoïden (ICO's). Daarnaast werden deze hydrogelen gebruikt voor grootschalige celkweek in bioreactoren, wat leidde tot een verhoging van de cel opbrengst ten opzichte van statische kweekmethoden.

Hoofdstuk 8 introduceert een innovatieve microfluïdische technologie om de ICO's in ECM-verkregen microcapsules in te kapselen. Deze methode maakte een schaalbare en gestandaardiseerde productie van organoïden mogelijk, wat essentieel is voor reproduceerbaar onderzoek.

De algemene discussie in **hoofdstuk 9** brengt de bevindingen van deze thesis samen. Het kweken van humane levers op volledige schaal is momenteel nog geen realiteit. Daarnaast vereist succesvolle klinische toepassing van lever ECM een gelaagde veiligheidsaanpak. Het brede potentieel van ECM-verkregen materialen wordt aangetoond door de ontwikkeling van diverse functionele platformen, waaronder directe weefselkweek met lever ECM als scaffold, evenals kweek met gebruik van ECM verkregen hydrogelen en microcapsules. Deze vormen een belangrijke stap vooruit voor leverregeneratie en organoïden technologie.

Toekomstige vooruitgang in lever weefselkweek zal afhangen van een gecoördineerde repopulatie van ECM met zowel lever-specifieke parenchymale als niet-parenchymale cellen, het herstel van een volledig functioneel vaatstelsel om trombose te voorkomen en de reconstructie van het galwegsysteem. Daarmee positioneert deze thesis gedecellulariseerde lever ECM als een veelzijdig en klinisch veelbelovend platform voor de volgende generatie regeneratieve toepassingen