



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Studying the short-term complications of kidney transplantation: from bed to bench

Kok, M.J.C. de

### Citation

Kok, M. J. C. de. (2022, October 11). *Studying the short-term complications of kidney transplantation: from bed to bench*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3479720>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3479720>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).



# Chapter 9

## **Nederlandse samenvatting**

Michèle J.C. de Kok

# Samenvatting

Voor patiënten met eindstadium nierfalen is een nierfunctieervangende behandeling een voorwaarde voor overleving die bestaat uit hemodialyse, peritoneaal dialyse of een niertransplantatie. Alhoewel de keuze van nierfunctieervangende therapie kan wisselen per patiënt, heeft niertransplantatie over het algemeen de voorkeur vanwege voordelen op het gebied van overleving, kwaliteit van leven en zorgkosten.<sup>1-3</sup>

Een van de eerste succesvolle niertransplantaties in mensen werd uitgevoerd in 1954 in Boston, tussen tweelingbroers.<sup>4</sup> Sindsdien zijn er vele transplantaties uitgevoerd met nieren van zowel levende als hersendode donoren (*Donation after Brain Death*, ook wel DBD).<sup>5</sup> Echter, hebben zowel het medische succes van de niertransplantatie, als ook de toenemende patiëntpopulatie met nierfalen (als gevolg van vergrijzing en een hogere prevalentie van diabetes en hypertensie), geleid tot een aanzienlijke mismatch tussen vraag en aanbod van niertransplantaties.<sup>6,7</sup> Dit wordt weerspiegeld door lange wachtlijsten en heeft geleid tot het overlijden van veel patiënten tijdens het wachten op een niertransplantatie.

In een poging de wachtlijst te verkleinen, heeft de transplantatiegemeenschap zich gewend tot nieren die worden gedoneerd na een circulatiestilstand (*Donation after Circulatory Death*, ofwel DCD) om het aanbod van donornieren te vergroten.<sup>5,8</sup> Bij een DBD donor wordt het overlijden vastgesteld op grond van neurologische criteria, waarmee de procedure verschilt met een DCD donor, waarbij het overlijden wordt vastgesteld op basis van circulatie criteria.<sup>9</sup> Als gevolg hiervan worden nieren van DCD donoren blootgesteld aan een onvermijdelijke periode van warme ischemie voorafgaande aan operatie (Figuur 1, hoofdstuk 1).

Ondanks het feit dat nieren van DCD donoren het tekort aan donororganen kan verminderen, blijven veel landen zeer terughoudend met het transplanteren van deze nieren.<sup>7,10</sup> Hoewel deze terughoudendheid voor sommige landen is gebaseerd op wettelijke beperkingen, ethische kwesties of logistieke uitdagingen,<sup>7</sup> komt het in de meeste landen door zorgen om een hoge incidentie op *vroeg transplantaat falen* en *delayed graft function* (DGF; het vertraagd op gang komen van de nier na transplantatie, en een klinische manifestatie van ischemie-reperfusie [I/R] schade).<sup>10-12</sup> Hierin is het vroegtijdig falen van een niertransplantaat een vanzelfsprekende ernstige complicatie, en is er bezorgdheid over DGF aangezien dit in verband wordt gebracht met een verminderde nierfunctie en verminderde transplantatoverleving op de lange termijn.<sup>13-14</sup>

Het eerste deel van dit proefschrift concentreert zich op de vraag of de algemene perceptie dat DCD niertransplantatie inferieur is aan DBD niertransplantatie nog steeds correct is. Het tweede deel van dit proefschrift gaat verder in op DGF als primaire complicatie van DCD niertransplantatie en als uiting van I/R schade. Hoewel I/R schade al meer dan 50 jaar wordt bestudeerd, blijft het vertalen van preklinische (*in vitro* en *in vivo*) successen naar de klinische setting beperkt. In het tweede deel van dit proefschrift worden daarom een aantal methodologische en fysiologische uitdagingen onderzocht in een poging deze translationele kloof te overbruggen.

## Deel I

In **hoofdstuk 2** focussen we op *vroeg transplantaat falen* (binnen 90 dagen na transplantatie) als een van de meest gevreesde complicaties na DBD en in het bijzonder DCD niertransplantatie. In een nationale evaluatie waarin 10.307 postmortale niertransplantaties zijn geïnccludeerd (uitgevoerd in Nederland tussen 1990 en 2018), laten we zien dat de incidentie van vroeg transplantaat falen gelijk is na een primaire DBD en DCD procedure (8,1% vs. 8,5%;  $p=0,54$ ). Vervolgens evalueerden we de consequenties van vroeg transplantaat falen om de optimale balans tussen de grootte van de donorpool en de impact van vroeg transplantaat falen in te schatten. Immers, waar een terughoudend beleid ten aanzien van risicovolle organen resulteert in toenemende orgaantekorten, resulteert een tolerant beleid in het accepteren van deze organen in een onaanvaardbaar hoge incidentie van vroeg transplantaat falen. De resultaten laten zien dat vroeg transplantaat falen gepaard gaat met significant nadelige gevolgen voor de individuele patiënt: patiënten met vroeg transplantaat falen hebben een significant hogere kans op overlijden op de korte en lange termijn, een kleine kans op een re-transplantatie en, wanneer de patiënt wel voor re-transplantatie in aanmerking komt, een verhoogde kans op recidief vroeg transplantaat falen. Terwijl vroeg transplantaat falen vaak wordt geweten aan het gebruik van suboptimale donornieren, impliceren deze bevindingen dat juist ook ontvanger-specifieke factoren een belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van vroeg transplantaat falen. Verdere analyse toont aan dat, ondanks de grote impact van vroeg transplantaat falen op de individuele patiënt, de totale incidentie van 8,2% de overleving van het gehele cohort getransplanteerde patiënten slechts minimaal beïnvloedt. Dit impliceert dat een beleid gericht op het verder verlagen van de incidentie van vroeg transplantaat falen zal leiden tot een toename in vermijdbare sterfgevallen op de wachtlijst als gevolg van langere wachttijden voor transplantatie.

Alhoewel de incidentie van vroeg transplantaat falen gelijk is na DBD en DCD niertransplantatie (**hoofdstuk 2**), blijft de hogere incidentie van DGF na DCD niertransplantatie een belangrijke drempel voor het accepteren en transplanteren van DCD donornieren. Hier staat tegenover dat recente onderzoeken laten zien dat, ondanks de hogere incidentie van DGF na een DCD niertransplantatie ten opzichte van

DBD niertransplantatie, de lange termijn uitkomsten en overleving gelijk zijn in beide groepen.<sup>10,15-16</sup> In **hoofdstuk 3 en 4** hebben we geprobeerd een verklaring te vinden voor deze contrasterende korte termijn (verschil in DGF incidentie), maar gelijke uitkomsten op de lange termijn na DBD en DCD niertransplantatie.

In het licht van de resultaten verkregen in **hoofdstuk 2**, namelijk dat de incidentie van vroeg transplantaat falen gelijk is na DBD en DCD niertransplantatie, veronderstelden we dat de heersende bezorgdheid met betrekking tot inferieure DCD uitkomsten vaak gebaseerd is op data van historische cohorten, waarbij de uitkomsten—door tijd gerelateerde effecten – mogelijk niet meer van toepassing zijn op het huidige tijdsbestek. In **hoofdstuk 3** beschrijven we de resultaten van een landelijke *time-dependent comparative* analyse. Deze studie bevestigt dat conclusies met betrekking tot inferieure uitkomsten van DCD niertransplantaten, worden beïnvloed door tijd gerelateerde effecten (tijd-variërende confounding en effect modificatie door tijd) en dat de uitkomsten van DCD procedures zijn verbeterd over tijd. Waar tussen 1998 en 2008 de uitkomsten na DCD niertransplantatie inferieur waren ten opzichte van DBD transplantatie (hogere incidentie van DGF en vroeg transplantaat falen, verminderde nierfunctie na 1 jaar bij patiënten zonder DGF, en verminderde transplantaatoverleving na 1 en 5 jaar), zijn tussen 2008 en 2018 de uitkomsten gelijk (met uitzondering van een hogere incidentie DGF na DCD niertransplantatie). Deze verschuiving deed zich voor ondanks het feit dat er in het meest recente tijdvak meer transplantaties werden uitgevoerd bij oudere ontvangers, met nieren van oudere en hoog risico donoren. Zoals eerdergenoemd blijft de incidentie van DGF significant hoger na een DCD niertransplantatie (DBD: 16,6% versus DCD: 39,7%;  $p < 0,001$ ). Echter, ondanks de hogere incidentie, laten resultaten zien dat zowel de patiënt- als transplantaatoverleving gelijk is na DBD en DCD niertransplantatie.

De opmerkelijke bevinding van **hoofdstuk 3** dat DBD en DCD transplantaatoverleving gelijk is ondanks een hogere incidentie van DGF in DCD transplantaten suggereert dat er een verschillende impact is van DGF op de overleving van DBD en DCD transplantaten. Onze epidemiologische analyse uitgevoerd in **hoofdstuk 4** bevestigt deze hypothese: terwijl DGF een zware impact heeft op de 10-jaars transplantaatoverleving van DBD transplantaten (HR 1,67;  $p < 0,001$ ), heeft DGF geen invloed op de transplantaatoverleving van DCD transplantaten (HR 1,08;  $p = 0,63$ ). Nadere analyse naar een verklaring die ten grondslag ligt aan dit fenomeen laat zien dat de grote impact van DGF in DBD transplantaten niet wordt veroorzaakt door een ernstiger DGF-fenotype. Integendeel, de mate van DGF was ernstiger in DCD transplantaten met een langere behoefte aan dialyse na transplantatie en een verminderde nierfunctie. Een andere verklaring voor de verschillende impact van DGF in DBD en DCD niertransplantatie is een verschil in *veerkracht* van het transplantaat (d.w.z. het vermogen van het transplantaat om met negatieve veranderingen om te gaan)<sup>17</sup> waarbij nieren van DCD donoren veerkrachtiger

zijn dan nieren van DBD donoren. Immunohistochemische analyse bevestigde de aanwezigheid van veerkracht verhogende factoren in donornieren. In een poging een verschil aan te tonen in veerkracht tussen DBD en DCD nieren, hebben we gekeken naar genexpressie en een *Ingenuity Pathway Analysis* uitgevoerd in pre-reperfusie nierbiopten. Pathways die relatief verrijkt waren in DCD nieren maken allen deel uit van gevestigde veerkracht netwerken. De relatief gedownreguleerde pathways in DCD nieren worden gedomineerd door pro-inflammatoire signaalcascades. Deze bevindingen suggereren dat het verschil in impact van DGF in DBD en DCD nieren verband houdt met donortype specifieke regulatie van veerkracht en pro-inflammatoire cascades die de DCD transplantaten en klinische uitkomsten ten goede komt.

Hoewel de epidemiologische evaluatie uit **deel I** laat zien dat de impact van DGF op DCD minder groot is dan in het algemeen wordt aangenomen, blijft DGF – zij het minder vaak voorkomend – een belangrijke complicatie na DBD niertransplantatie. In **deel II** van dit proefschrift, hebben we derhalve een evaluatie uitgevoerd naar I/R schade vanuit een meer moleculair perspectief.

## Deel II

**Hoofdstuk 5** biedt nieuwe inzichten in de pathofysiologie van DGF als een klinische manifestatie van I/R schade. Deze studie laat zien dat hoewel oxidatieve stress vaak wordt beschouwd als meest belangrijke veroorzaker van I/R schade,<sup>18</sup> er in de klinische setting juist sprake lijkt te zijn van een post-reperfusie metabole verlamming ten gevolge van reductieve stress. Meer specifiek laat eerder onderzoek (Thesis L.G. Wijermars) zien dat I/R schade wordt gekenmerkt door een totale metabole uitputting waarbij de mitochondriën niet in staat zijn voldoende energie (adenosinetrifosfaat (ATP)) te genereren. Als gevolg hiervan worden andere routes ter compensatie geactiveerd waaronder glycolyse, vrij vetzuren  $\beta$ -oxidatie, glutamine oxidatie en branched chain amino zuur oxidatie.<sup>19</sup> Deze compenserende katabole conditie resulteert in een parallelle productie van NADH en FADH<sub>2</sub>. Waar oxidatie van deze equivalenten normaal plaatsvindt in de mitochondriale elektrontransportketen (respectievelijk complex I (NADH) en complex II (FADH<sub>2</sub>)), of door lactaatdehydrogenase (glycolyse), leidt I/R-gerelateerde schade tot een onvermogen hiertoe, met reductieve stress door accumulatie van NADH en FADH<sub>2</sub> als resultaat.

Onderzoek naar processen die ten grondslag liggen aan I/R schade zijn veelal gebaseerd op preklinische – zowel *in vitro* als *in vivo* – modellen. Helaas blijkt er echter sprake van een grote translationele kloof, doordat preklinische prestaties niet succesvol kunnen worden vertaald naar de klinische setting. In een eerste poging deze translationele kloof te overbruggen, hebben we methodologische uitdagingen in dier- (**hoofdstuk 6**) en cellweek (**hoofdstuk 7**) studies naar I/R schade onderzocht.

In **Hoofdstuk 6** focussen we op potentiële discrepanties tussen preklinisch (in vivo) onderzoek en de klinische context. Met behulp van een systematisch literatuuronderzoek identificeerden we 35 preklinische dierstudies die metabole data rapporteerden in de context van renale I/R schade. De toegepaste methoden en metabole uitkomsten werden in kaart gebracht en vergeleken met de klinische data. Er werden meerdere methodologische tekortkomingen in preklinische studies aan het licht gebracht (o.a. het gebrek aan onderscheid tussen I/R en I/R *schade*, onjuist gebruik van sample technieken, en incomplete rapportage van metabole profielen), welke de interpretatie en vertaalbaarheid naar de klinische setting bemoeilijken. Dit werd bevestigd door de metabole data, die grote variabiliteit tussen dier en mens onthulde.

**Hoofdstuk 7** gaat dieper in op celkweek als een alternatief, veelbelovend model om processen van I/R schade te bestuderen. In dit hoofdstuk focussen we op het Crabtree effect<sup>20</sup> dat een belemmering vormt voor studies naar mitochondriën en metabole flexibiliteit. Het Crabtree effect beschrijft het fenomeen dat cellen in standaard kweekmedium afhankelijk zijn van glycolyse, in plaats van oxidatieve fosforylering (OXPHOS) voor ATP generatie. Met behulp van een systematisch literatuuronderzoek hebben we laten zien dat het Crabtree effect omzeild kan worden waardoor cellen een meer fysiologisch metabolisme handhaven en OXPHOS-dominant in plaats van glycolyse-dominant zijn voor ATP productie. Strategieën om dit te bereiken kunnen grofweg worden onderverdeeld in de directe en indirecte onderdrukking van de glycolyse (door respectievelijk het gebruik van glycolyse remmers en door het gebruik van galactose medium), of door metabole herprogrammering (bijv. remming van HIF1 $\alpha$ , gebruik van anti-TGF  $\beta$ , irisine, H2S). De keuze van strategie hangt echter sterk af van de te beantwoorden onderzoeksvraag.

## Conclusie

Het eerste deel van dit proefschrift laat zien dat nieren van DCD donoren volledig kunnen worden omarmd voor transplantatie en dat de algehele perceptie dat DCD niertransplantatie inferieur is aan DBD niertransplantatie, wat veelal wordt gemotiveerd door zorgen omtrent een hoge incidentie van DGF en vroeg transplantaat falen, niet langer gerechtvaardigd is. Een belangrijke verklaring voor deze conclusie is dat de uitkomsten van DCD niertransplantaties zijn verbeterd over de tijd, met een gelijke incidentie van vroeg transplantaat falen na DBD en DCD niertransplantatie in het huidige tijdsbestek. Een bijkomende verklaring is dat beide donortypen een verschillende biologische respons hebben op DGF: terwijl DGF een ernstige impact heeft op de overleving van DBD transplantaaten, heeft DGF geen invloed op de transplantaat overleving van DCD nieren. De uitgevoerde moleculaire analyse suggereert dat dit



verband houdt met donortype specifieke regulatie van veerkracht en pro-inflammatoire cascades, die de DCD transplantaten en resultaten ten goede komt. De persistente hogere incidentie van DGF in DCD transplantaten moet dus niet worden beschouwd als een belemmering voor het accepteren van deze donornieren.

Het tweede deel van dit proefschrift exploreert multipale fysiologische (het Crabtree effect) en methodologische (experimentele opstellingen) uitdagingen in preklinische en klinische onderzoeken gericht op I/R schade, welke de vertaalbaarheid van preklinische successen naar de klinische setting bemoeilijken. Bewustwording van deze valkuilen draagt bij aan het verbeteren van toekomstige onderzoeksprotocollen, als eerste stap naar de overbrugging van deze translationele kloof.

## References

1. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, Klarenbach S, Gill J. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant.* 2011;11: 2093-2109.
2. Wyld M, Morton RL, Hayen A, Howard K, Webster AC. A systematic review and meta-analysis of utility-based quality of life in chronic kidney disease treatments. *PLoS Med.* 2012;9: e1001307.
3. Jarl J, Desatnik P, Peetz Hansson U, Prütz KG, Gerdtham UG. Do kidney transplantations save money? A study using a before-after design and multiple register-based data from Sweden. *Clin Kidney J.* 2018 Apr;11: 283-288.
4. Harrison JH, Merrill JP, Murray JE. Renal homotransplantation in identical twins. *Surg Forum.* 1956;6: 432-436.
5. Bendorf A, Kelly PJ, Kerridge IH, McCaughan GW, Myerson B, Stewart C, Pussell BA. An international comparison of the effect of policy shifts to organ donation following cardiocirculatory death (DCD) on donation rates after brain death (DBD) and transplantation rates. *PLoS One.* 2013 May 7;8: e62010.
6. Dobson R. Number of UK patients awaiting a transplant reaches record high. *BMJ.* 2007 May 5;334: 920-921.
7. Manyalich M, Nelson H, Delmonico FL. The need and opportunity for donation after circulatory death worldwide. *Curr Opin Organ Transplant.* 2018 Feb;23: 136-141.
8. DeVita MA, Snyder JV, Grenvik A. History of organ donation by patients with cardiac death. *Kennedy Inst Ethics J.* 1993 Jun;3:113-129.
9. Manara AR, Murphy PG, O'Callaghan G. Donation after circulatory death. *Br J Anaesth.* 2012 Jan;108 Suppl 1: i108-121.
10. Summers DM, Watson CJ, Pettigrew GJ, Johnson RJ, Collett D, Neuberger JM, Bradley JA. Kidney donation after circulatory death (DCD): state of the art. *Kidney Int.* 2015 Aug;88: 241-249.
11. Abt PL, Fisher CA, Singhal AK. Donation after cardiac death in the US: history and use. *J Am Coll Surg.* 2006 Aug;203: 208-225.
12. Locke JE, Segev DL, Warren DS, Dominici F, Simpkins CE, Montgomery RA. Outcomes of kidneys from donors after cardiac death: implications for allocation and preservation. *Am J Transplant.* 2007 Jul;7: 1797-8107.
13. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN Jr, Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Mar;24: 1039-1047.
14. Legendre C, Canaud G, Martinez F. Factors influencing long-term outcome after kidney transplantation. *Transpl Int.* 2014 Jan;27: 19-27.
15. Summers DM, Johnson RJ, Allen J, et al. Analysis of factors that affect outcome after transplantation of kidneys donated after cardiac death in the UK: a cohort study. *Lancet.* 2010 Oct 16;376(9749):1303-11.

16. Schaapherder A, Wijermars LGM, de Vries DK, et al. Equivalent Long-term Transplantation Outcomes for Kidneys Donated After Brain Death and Cardiac Death: Conclusions From a Nationwide Evaluation. *EClinicalMedicine*. 2018 Oct 9;4-5:25-31.
17. Smirnova L, Harris G, Leist M, Hartung T. Cellular resilience. *ALTEX*. 2015;32(4):247-60.
18. Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*. 2014 Nov 20;515(7527):431-435.
19. Lindeman JH, Wijermars LG, Kostidis S, et al. Results of an explorative clinical evaluation suggest immediate and persistent post-reperfusion metabolic paralysis drives kidney ischemia reperfusion injury. *Kidney Int*. 2020 Dec;98(6):1476-1488.
20. Crabtree HG. Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. *Biochem J*. 1929;23(3):536-45.