

Het voorspellen van de levensvatbaarheid van niertransplantaten

Beoordeling van de verschillende methoden ter voorspelling van het functioneren van nieren afkomstig van non heart beating donors (NHBD) na transplantatie

Bachelorscriptie
Life Science & Technology, major Biomedische Technologie
Auteur: Jouk Coster
Begeleider: dr. T.R. Koiter.
Datum: 30 juli 2010

Samenvatting

In dit verslag worden beoordelingsmethoden, voorafgaand aan transplantatie, van non heart beating donor (NHBD) nieren ter discussie gesteld en met elkaar vergeleken. Donor en ontvanger blijken veel invloed te hebben op het functioneren van het orgaan na transplantatie. Ischemische schade, dat een sterke relatie heeft met wel of niet functioneren van het transplantaat, wordt meestal als uitgangspunt genomen voor de verschillende parameters. De tijd tussen hartstilstand en transplantatie, warm ischemic time (WIT), is een factor die de schade in het orgaan doet toenemen.

Machine perfusie heeft veel beoordelingsmogelijkheden extra geboden boven het klassieke static cold storage. De fosfor monoester (PME) en onorganische fosfor (Pi) verhouding (PME/Pi) blijkt een geschikte parameter evenals de concentraties total Glutathione-S-transferase (tGST) en fatty acid-binding protein, harttype (H-FABP). Ook diverse perfusie stroom dynamica-variabelen blijken voorspellend vermogen te hebben. Toch is er nog geen 100% betrouwbare methode gevonden om de levensvatbaarheid en functionaliteit van de nier afkomstig uit NHB donors te voorspellen. Verder specificatie van de interpretatie van de verschillende parameters blijft nodig.

Inhoudsopgave

Samenvatting	2
Inhoudsopgave	3
Inleiding	4
Vraagstelling en afbakening	4
Aanpak	4
Effect donor en ontvanger op het transplantaat	5
Warm ischemic time (WIT)	5
Methoden van preservatie	6
Effect van conservatie op het orgaan	6
Effect van cold storage op het orgaan	7
Effect van machine perfusie op het orgaan	7
Resultaten	9
Beoordeling levensvatbaarheid donornieren	9
Macroscopische beoordeling	10
Ischemische schade bepaling	10
ATP concentratie	10
PME/Pi verhouding	10
Perfusie stroom dynamica	10
Stroomsnelheid	11
Stroomverspreiding	11
Intrarenal vascular resistance	11
Biomarkers	11
Lactaat dehydrogenase (LDH)	12
Glutathione-S-transferase (GST)	12
Fatty acid-binding protein (FABP)	12
Vergelijkende discussie en conclusies	14
Literatuurlijst	16

Inleiding

De mogelijkheid van niertransplantatie heeft zowel individuele patiënten met nierproblemen als de samenleving als geheel veel voordelen opgeleverd. Transplantatie is meestal financieel de meest aantrekkelijke vorm van behandeling voor patiënten met ernstige, moeilijk te herstellen, nierziekten. Daarbij biedt het na de ingreep de kans aan deze patiënten om weer gezond een actieve rol in de samenleving te spelen. Hierdoor worden de kosten van de gezondheidszorg en de sociale zorg sterk verminderd.

Het probleem is echter dat er een groot gat is tussen de beschikbaarheid en de vraag naar donornieren. De toevoeging van de zogenaamde marginale donors, oudere personen en non heart beating donors (NHBD) aan de donorpool heeft de beschikbaarheid van nieren sterk doen stijgen. In de VS is bijvoorbeeld vastgesteld dat het gebruik van NHBD nieren het aantal niertransplantaties heeft doen toenemen met een factor 2-4,5¹

Een van de moeilijkheden die bij de toepassing van non heart beating donors (NHBD) optreedt, is de beoordeling wanneer een orgaan geschikt is voor transplantatie. Mislukte transplantaties zorgen namelijk voor extra kosten. Bovendien vraagt het emotioneel ook veel van patiënten.

Extra donornieren zijn dus gewenst. Deze kunnen worden verkregen door succesvolle uitbreiding van de NHBD pool. Deze uitbreiding zal afhankelijk zijn van de beschikbaarheid van nauwkeurige voorspellers van welke nieren getransplanteerd kunnen worden en welke niet. De NHBD nieren die na transplantatie niet functioneren hebben voorafgaand aan de transplantatie onherstelbare schade geleden. Hierdoor mislukt de transplantatie.

Momenteel zijn er geen volledig betrouwbare testen die uitgevoerd kunnen worden voor de transplantatie en die de levensvatbaarheid van een donororgaan voorspellen.

Vraagstelling en afbakening

Dit onderzoek heeft als centrale vraagstelling:

Op welke manier kan men het functioneren van een nier afkomstig van een non heart beating donor (NHBD) na transplantatie voorspellen?

Daarbij zullen de beoordelingsmethoden, van nieren afkomstig van non heart beating donoren (NHBD), waar onderzoek naar is gedaan en een publicatie van is verschenen worden bekeken en ter discussie gesteld. Beoordelingsmethoden die in het geheel niet betrouwbaar waren zullen in dit onderzoek niet uitgebreid aan de orde komen.

Aanpak

De informatie om deze punten te behandelen wordt gehaald uit een scala van publicaties over dit onderwerp. Daarbij wordt eerst gekeken welke invloed de toestand van donor en de toestand van ontvanger op de gedoneerde nier hebben. Ook wordt het effect van transplantatie en de verschillende conservatie methoden op het transplantaat in ogenschouw genomen. Met deze kennis als achtergrond worden verschillende methoden ter beoordeling van transplantaten op een rij gezet, ter

discussie gesteld en met elkaar vergeleken. Zodoende zal getracht worden elke methode op waarde te schatten.

Effect donatie op het transplantaat

De gesteldheid van de donor heeft invloed op het transplantaat en daarmee op het succes van de transplantatie. Recent onderzoek toonde aan dat er verschillende factoren zijn die het succes kunnen beïnvloeden.

Na donatie functioneert het transplantaat niet onmiddellijk. Het orgaan heeft tijd nodig om te gaan functioneren na transplantatie. Dit uitstel van orgaanfunctie na implantatie neemt af wanneer er meerdere organen worden gedoneerd. Deze vertraging van functie neemt echter toe wanneer de donor dopamine heeft ontvangen. Ontvangers van donornieren met hogere creatine eindwaarden vertoonden ook vertraagde transplantaat functie. Nieren afkomstig van donoren met lagere creatinine waarden vertoonden ook minder afstoting dan degenen met hogere creatinine waarden.²

Vandaag de dag is de doorsnee overleden donor van nieren ouder en de persoon is aan meerdere ziekten blootgesteld geweest. Deze factoren werken nadelig op de kwaliteit van het te transplanteren orgaan. Daarnaast is het gebruik van organen die afkomstig zijn van donoren overleden aan problemen met hartcirculatie in de meeste landen toegenomen. Deze groep vertoont significant hogere percentages vertraagde functionaliteit van de nier na implantatie. Wanneer organen niet onmiddellijk functioneren na transplantatie is er een toegenomen risico van acute afstoting. Hierdoor daalt de overlevingskans van het transplantaat.³

Warm ischemic time (WIT)

In dit verslag wordt gefocust op de beoordeling van nieren afkomstig van non heart beating donors (NHBD), wat betekent dat de donors een hartstilstand hebben gehad. Om deze reden treedt er warme ischemische schade op. Ischemische schade betekent schade die optreedt door het stoppen van de bloedtoevoer. Metabolische processen kunnen namelijk niet plaats vinden wanneer er geen zuurstof en belangrijke voedingsstoffen worden aangevoerd. Ook afvalstoffen die niet worden afgevoerd veroorzaken schade. De warm ischemic time (WIT) is gedefinieerd als de tijd tussen hartstilstand en de start van de koeling van het te transplanteren orgaan. Warm ischemic time (WIT) is een van de meest belangrijke factoren die het orgaan functioneren na transplantatie beïnvloedt. Om deze reden kunnen organen niet meer functioneren wanneer WIT te lang is geworden.⁴

WIT is naast de factor die de ischemische schade beïnvloed ook de enige factor op basis waarvan onderscheid kan worden gemaakt tussen transplantaten die zullen functioneren en organen die zullen falen. De lengte van WIT hangt samen met de schade aan het donororgaan en er is een tijdsduur waarna organen niet meer levensvatbaar zijn. Hoewel er geen strict maximum WIT regel bestaat, zijn er wel tijdslijmieten gesuggereerd na welke de hoeveelheid onherstelbare schade aan de nier te groot zou zijn. Onderzoeken spreken over tolerantielimieten van 30 min⁵, 35 min⁶ en 45 min⁷.

Onderzoeken bij diermodellen geven echter veel langere tijden aan, 120-140 min.⁸ In de praktijk is de maximum toegestane WIT echter moeilijk vast te stellen omdat deze varieert per leeftijd, de omstandigheden van de donor etc. Daar komt bij dat WIT vaak niet precies bekend is, bij een transplantatie. Om deze redenen is de vaststelling van de ischemische schade erg belangrijk bij de

beoordeling van het orgaan. Voor de veiligheid in het gebruik van NHBD nieren, zijn betrouwbare parameters essentieel om zodoende de ischemische schade correct te beoordelen. Wat impliceert dat de kans op succes bij transplantatie kan worden voorspeld.

Methoden van preservatie

Static cold storage en hypothermic machine perfusion zijn twee verschillende methoden die worden toegepast om nierorganen van overleden donoren te preserveren.

Bij static cold storage wordt de nier gespoeld en gekoeld met een of meerdere koel preservatie oplossingen. Vervolgens wordt het orgaan geconserveerd getransporteerd in ijs bij een temperatuur van 0-4°C.

Static cold storage is de eenvoudigste en meest toegepaste preservatiemethode bij niertransplantatie.

In 2007 was dit aandeel 80% in de Verenigde Staten en in Europa bijna 100%.^{9 10}

De andere methode is hypothermic machine perfusion. Hierbij wordt het bloed eerst weggespoeld. Daarna wordt de nier verbonden met een perfusieapparaat dat een oplossing continue rondpompt door de renale aderen bij een temperatuur tussen 1 en 10°C¹¹ (fig. 1¹²) De spoeloplossing bevat voedingsstoffen voor de niercellen. Bovendien voegt een oxygenator zuurstof toe aan de oplossing.

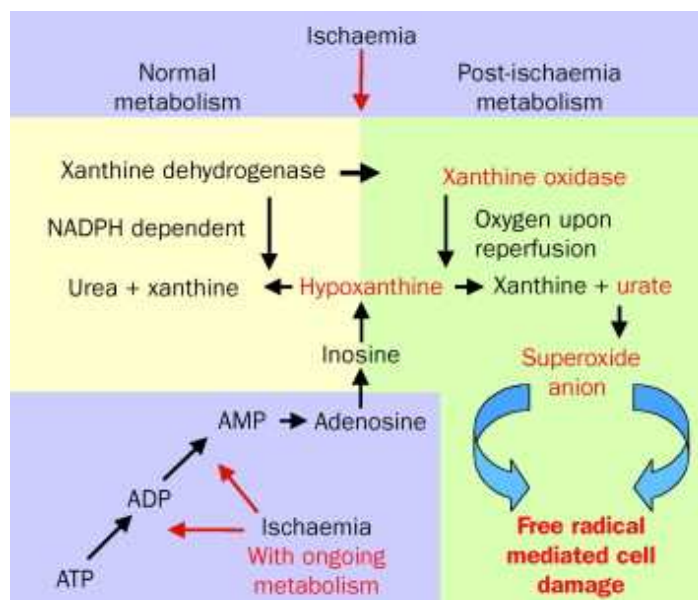


Figuur 1 Machine perfusie type: Life Port kidney transporter

Hierdoor krijgen de cellen zuurstof, wat noodzakelijk is voor metabolisme en dus overleven van de cel.

Effect van conservatie op het orgaan

Cellulaire activiteit wordt mogelijk gemaakt door de reactie van adenosine triphosphate (ATP) met zuurstof. ATP is de eenheid van cellulaire energie. Bij conservatie van de nier treedt ischemie op.



Ischemie betekent verminderde toevoer van zuurstof, co-factoren en voedingsstoffen. Bovendien worden afvalstoffen niet afgevoerd. Dit leidt tot anaeroob metabolisme waardoor cellen geen ATP kunnen opbouwen.¹³ Voorgenoemde stoffen zijn van levensbelang voor de cellen. Natrium/kalium pompen worden aangedreven door ATP. Gedurende ischemie functioneren deze dus niet, wat

Figuur 2 Ischemie leidt tot snelle afbraak van ATP en veranderingen in het cellulaire mechanisme

een verlies van electrolyt gradienten en membraan integriteit betekent. Dit heeft cellulair oedeem als gevolg. Calcium dringt ongehinderd de cel in. Calcium activeert fosfolipasen en activeert enzymen, die afbraakprocessen stimuleren die leiden tot celdood. Fosfolipase A₂ activatie zorgt voor verstoring van de electronen transport keten, ATPasen, adenine nucleotide translocase activaties en kan ook zorgen voor cellulair oedeem door verandering van het cytoskelet.¹⁴

Effect van cold storage op het orgaan

ATP is dus essentieel voor het voortbestaan van de cel en dus het functioneren van het transplantaat. Omdat de ATP opbouw tijdens het proces van uitname, vervoer en transplantatie van het transplantaat onderbroken wordt, zal er afname van ATP optreden.

Een belangrijk basisprincipe van hypothermische preservatie is het vertragen van ATP vereisende processen. Hierdoor wordt er dus ingespeeld op het hiervoor besproken ATP tekort. Metabolisme is ATP vereisend. Daarom is het wenselijk het metabolistische proces te vertragen. Bij cold storage wordt metabolisme 1,5-2 keer vertraagd voor elke 10 °C verval in temperatuur. Er blijft echter een behoorlijke activiteit bij 1 °C.¹⁵ ATP concentraties dalen substantieel, ook wanneer organen worden opgeslagen bij vriestemperaturen. Zo toont een onderzoek aan dat cellulair ATP daalt met 84% in een konijnen lever na 6 uur cold storage.¹⁶ Hypothermie, onderkoeling, voorkomt sommige negatieve effecten die gepaard gaan met de daling van de ATP-concentratie.

Rat-hepatocyten laten onder de elektronenmicroscop kleine histologische veranderingen zien na cold storage. Hetzelfde onderzoek laat zien dat endotheelcellen worden aangetast en dat Kupffer cellen (macrofagen in de lever) activiteit vertonen bij toenemende duur van cold storage. Dit bevestigt de beschadiging van de niercellen. Deze beschadiging is een van de oorzaken zijn van mislukte transplantatie.¹⁷

Naast ATP afname, zorgt acute afkoeling ook voor calcium toestroom in cellen wat leidt tot weefselafbraak.¹⁸

Effect van machine perfusie op het orgaan

Meerdere studies wijzen machine perfusie aan als beste methode. Deze studies waren gebaseerd op basis van het aantal succesvolle transplantaties. Dit soort studies zijn echter niet allemaal even betrouwbaar omdat donororganen bij machine perfusie op basis van machine perfusie variabelen werden geselecteerd of afgewezen.^{19 20} Bij cold storage vond deze selectie vooraf niet plaats waardoor de vergelijking van de succesratio's van cold storage en machine perfusie niet eerlijk is.

Om deze reden heeft er recent een onderzoek plaats gevonden dat gebaseerd is op een vergelijking van twee orgaangroepen, statistic cold storage en machine perfusie, die vooraf evenveel kans op succes hadden. Uit dit onderzoek bleek opnieuw dat de kans op mislukking 1 jaar na transplantatie bij machine perfusie kleiner is dan bij cold storage.²¹

ATP verlies wordt bij perfusie tegengegaan door gebruik te maken van een zuurstof bevattende oplossing. De ischemische opwarming die optreedt in het donororgaan gedurende de transplantatie is de oorzaak van energieverlies en weefselschade wat mislukking van de transplantatie kan betekenen.

Dit verklaart het nut van een perfusiesysteem, omdat een dergelijk systeem het energieverlies voorafgaand aan de transplantie tegengaat.²²

Resultaten

Beoordeling levensvatbaarheid donornieren

Een belangrijke beperking van cold storage is dat deze preservatiemethode weinig goede methoden biedt, die de beoordeling van de orgaanfunctie na transplantatie kunnen voorspellen. Machine perfusie biedt wel het voordeel van deze beoordelingsmogelijkheden om het orgaan, voorafgaand aan de transplantatie, te testen op levensvatbaarheid.

Dit kan worden gedaan door de perfusiekenmerken (haemodynamica) te bestuderen van het orgaan. Ook kan dit worden gedaan door het analyseren van de perfusievloeistof. Dit hoeft niet altijd noodzakelijk te zijn voor organen die onder de ideale omstandigheden verkeren. Omdat deze organen bijna zeker zullen functioneren. Wanneer het echter gaat om de zogenaamde marginale organen, is een goed beoordelingsmethode heel nuttig. Marginale organen zijn organen afkomstig uit de risicogroep. NHBD organen behoren tot deze marginale organen.

Omdat er geen functionaliteitsmeting is die 100% zekerheid geeft, is het onvermijdelijk dat sommige levensvatbare organen toch worden verworpen op basis van de testen. Het gebruik van continue perfusie maakt het mogelijk de levensvatbaarheid van organen te beoordelen gedurende de preservatietijd. Dit heeft als resultaat dat er meer bruikbare organen kunnen worden geselecteerd. Hierdoor is er een uitbreiding van het aantal bruikbare organen. Tegelijkertijd wordt waarbij het risico voor de ontvanger zo laag mogelijk gehouden. Dit omdat niet geschikte organen sneller worden opgemerkt waardoor ze niet zullen worden getransplanteerd.

De afstoting van een donornier is minder desastreus dan bijvoorbeeld een mislukte levertransplantatie. Nierdialyse kan namelijk voor een tijd een oplossing bieden, wanneer de nier niet functioneert. Vanwege de kosten en de emoties die bij een mislukte transplantatie gepaard gaan, levert de mogelijkheid om organen te selecteren toch veel voordelen op. Er wordt namelijk geselecteerd op organen die waarschijnlijk zullen functioneren na transplantatie.²³ Machine perfusie heeft verschillende mogelijkheden voor het meten van diverse parameters. Op basis hiervan kunnen nieren worden geselecteerd.

Meerdere parameters voor levensvatbaarheid als nucleotiden, enzymen en electrolyten afgiftes zijn bestudeerd. Ook de functionele en morfologische status van de nieren als voorspeller van levensvatbaarheid is onderzocht. De meeste van deze parameters voor het beoordelen van de zogenaamde warm ischemische schade zijn echter niet geschikt om de transplantatie uitkomst te voorspellen in de klinische praktijk. De parameters die wel min of meer geschiktheid hebben aangetoond zullen hierna worden besproken.

Een van de moeilijkheden van de levensvatbaarheidstesten is dat de koude condities van de nier het moeilijk maken om metabolische onderzoeken juist te interpreteren. Dit komt doordat metabolische waarden veranderen bij temperatuurwijzigingen. Om deze reden gebruikten Stubenitsky e.a. een perfusievloeistof met een temperatuur tussen de 30°C en 32°C. Hiermee werd er een lager zuurstof en glucose gebruik, urinestroom en glomerular filtration rate (GFR) aangetoond, bij toenemende warm ischemic time in ex vivo nieren. Er was een sterk verband tussen de parameters en de histologische graad van acute tubular necrosis. Dit suggereert dat warme perfusie een waardevol gereedschap kan zijn bij de interpretatie van metabolische waarden.²⁴

Macroscopische beoordeling

Een van de meest voor de hand liggende beoordelingsmethoden is natuurlijk het visuele onderzoek van de nier. Uit een onderzoek uit 1994 blijkt dat een op de vier NHBD nieren werd afgewezen op basis van macroscopische beoordeling.²⁵ Dit vereist wel een combinatie van ervaring van de beoordelaar en kwalitatieve criteria.

Ischemische schade bepaling

Het door experimenteel onderzoek bereiken van een beoordeling op de levensvatbaarheid van organen voor transplantatie, heeft zich gefocust op kwantificatie van de ischemische schade. Ischemische schade is schade die optreedt na beperking van de bloedtoevoer. Samen met de afgifte van fosfor atomen vindt intracellulaire degradatie van adenosine triphosphate (ATP) tot adenosine diphosphate (ADP) en adenosine monofosfaat (AMP) plaats.

ATP concentratie

ATP afname speelt dus een belangrijke rol bij ischemische veranderingen. Hierdoor lijkt het logisch ATP afname als parameter voor ischemische schade te gebruiken. Echter resultaten van onderzoeken hebben er op gewezen dat het eenvoudigweg meten van adenine nucleotide in het perfusaat gedurende machine perfusie geen bevredigende vaststelling van ischemische schade oplevert. Hierdoor zegt het dus ook niet over de bijbehorende levensvatbaarheid in de nier.^{26 27} De precieze verklaring hiervoor ontbreekt.

PME/Pi verhouding

Ischemische schade wordt beoordeelt m.b.v. electronen microscopie. Er is een sterke relatie tussen ischemische schade en de fosfor monoester (PME) en onorganische fosfor (Pi) verhouding (PME/Pi). Deze verhouding van eiwitten wordt vastgesteld door beide eiwitconcentraties te meten met magnetic resonance spectroscopy (MRS). Levensvatbaarheid werd geassocieerd met hogere intracellulaire niveaus van PME en lagere niveaus van Pi.²⁸ Het voordeel van deze voorspel-techniek is dat het niet-invasief, niet-destructief, steriel en snel uit te voeren is. Indirect worden de metabolische competenties van de cellen gemeten. Daarom lijkt het een veel belovende voorspeller van levensvatbaarheid.²⁹ Bovendien kan het worden toegepast bij zowel cold storage als machine perfusie.

Perfusie stroom dynamica

Bij conservatie met behulp van machine perfusie kan de stroom-dynamica van de perfusievloeistof eenvoudig in beeld worden gebracht. Gedurende de perfusie kunnen er namelijk verschillende stroomvariabelen worden gemeten. De druk-stroom relaties beschrijven alleen de beschadiging in de niervaten die reeds plaats gevonden heeft. Toch blijken deze meetwaarden goed voorspellers van de levensvatbaarheid van het orgaan na transplantatie. Sinds de introductie van machine perfusie en de bijbehorende mogelijke beoordelingsmethoden voorafgaand aan de transplantatie is de overlevingsgraad van transplantaten gestegen van 45,5% naar 88,4%.³⁰

Stroomsnelheid

Van de perfusie stroom per tijdseenheid is bijvoorbeeld aangetoond dat deze omgekeerd evenredig is met 'primary non function' (nier heeft nooit gefunctioneerd na transplantatie) en de totale ischemie tijd.³¹ De flowrate per minuut hangt samen met de eigenschappen van het bloedvatenstelsel in de nier. De flow rate per minuut geeft namelijk informatie over vaatkramp en verstoppingen in het orgaan.³²

Intrarenal vascular resistance

Eveneens is geconcludeerd dat de intrarenal vascular resistance (IRR) gedurende perfusie significant hoger ligt bij nieren die niet functioneerden na transplantatie. IRR beschrijft de reactie van het niervatenstelsel op de ischemische schade. IRR is namelijk de weerstand die de bloedvaten leveren op de doorstroming van bloed of perfusievloeistof. Het precieze mechanisme van deze toenemende weerstand in de vaten is nog steeds onbekend. Wel bekend is dat toenemende weerstand het resultaat is van de lokale afgifte van vasoconstrictive agents (signaalstoffen die bloedvatvernauwing stimuleren). Daarnaast is de afnemende mogelijkheid van het beschadigde bloedvatenendotheel om endothelium-derived relaxing factor af te geven ook een oorzaak van bloedvatvernauwing. Bovendien zorgt opeenhoping van erythrocyten in de capillaires voor een toenemende IRR. Dit is een belangrijke factor bij postischemic renal dysfunction (niet functioneren van de nier na de ischemieperiode). Om deze redenen kan IRR worden gezien als een parameter die warm ischemic schade aantoont.³³ De stroom-, druk- en weerstandseigenschappen in nieren van non-heart-beating donors (NHBD) worden klinisch reeds gebruikt voor het voorspellen van de nierfunctie. De combinatie van een stroom die groter is dan 0,4 ml/min per gram weefsel en een vasculaire weerstand van minder dan 80 mm Hg/ml $\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$ is een respectabele voorspeller gebleken van het goed functioneren van de nier na transplantatie. Hierbij moet dan geen toename in perfusiedruk gedurende de perfusie geconstateerd worden. Deze criteria kunnen ook worden gebruikt om de nieren te selecteren die urgenter getransplanteerd moeten worden.³⁴

Stroomverspreiding

Het gedrag van perfusievloeistof in het transplantaat gedurende machine perfusie kan ook worden beschouwd door toevoeging van gelabelde stoffen aan het perfusaat. Zo toonde een onderzoek bij honden aan dat het radioactieve xenon-133 en een met een technetium-gelabelde polaire drager, toegevoegd aan de perfusievloeistof, goede parameters zijn. De verspreiding van deze stoffen door het orgaan tijdens perfusie maakt de verspreiding van de vloeistof door het orgaanweefsel zichtbaar. Dit verspreidingsgedrag van de perfusievloeistof laat vervolgens zien waar en hoe groot de ischemische schade is.³⁵

Biomarkers

Vrijwel onafhankelijk van de perfusie stroom is de absolute enzym afgifte in het perfusaat. Er zijn diverse onderzoeken geweest die verschillende enzymen in de perfusievloeistof bestudeerd hebben. Dit om te zien of ze in aanmerking kwamen als voorspeller van de levensvatbaarheid van donornieren. De afgifte van enzymen tijdens de preservatie is niet noodzakelijk een indicator van het afsterven van

de cel vanwaar ze uit afkomstig zijn. Wanneer slechts het membraan van de cel is beschadigd worden er ook al enzymen afgegeven.³⁶ Toch zijn er in de loop van de tijd diverse enzymen als voorspeller geduid van de levensvatbaarheid van de nier na transplantatie. Deze zullen nu worden besproken.

Lactaat dehydrogenase (LDH)

Een van de eerste eiwitten die werd gezien als potentiële voorspeller was lactaat dehydrogenase (LDH). Dit is een enzym dat optreedt als katalysator bij het omzetten van pyruvaat in lactaat. Het komt in vrijwel ieder orgaan voor. De concentratie LDH bleek hoger in het perfusaat van mislukkende transplantaten dan in het perfusaat van die succesvol waren.³⁷ Het vrijkomen van LDH in de perfusievloeistof bleek te corresponderen met de duur van de renale ischemie en de daaruit volgende orgaanfunctie. Bij nieren waar geen ischemie optrad is het wel een adequate indicator van preservatie schade gebleken. Doordat LDH in vrijwel iedere cel aanwezig is, is het onduidelijk welke niercellen zijn beschadigd. Bovendien kan het LDH ook afkomstig zijn van, door het spoelen, beschadigde erythrocyten. Om deze reden kan het zijn dat in een onderzoek naar LDH als voorspeller, geen significante verschillen werden waargenomen tussen nieren die van te voren als functioneel waren vastgesteld en die als niet-functioneel waren vastgesteld.³⁸

Glutathione-S-transferase (GST)

Een ander eiwit dat al in vroege onderzoeken werd gedetecteerd in de perfusievloeistof is glutathione-S-transferase. Dit is een lysosomaal enzym afkomstig uit de cellen van de proximale vaten. Het komt in drie vormen voor. In dezelfde studie als waarin voorbesproken LDH werd onderzocht, werd aangetoond dat alpha-glutathione-S-transferase (alphaGST) significante concentratie verschillen in de perfusievloeistoffen laat zien tussen functionele en niet functionele nieren. Dit werd aangetoond in een onderzoek met 28 nieren afkomstig van non heart beating donors. Er werd een relatie aangetoond tussen de afgifte van alphaGST en WIT (warm ischemic time), waaruit werd geconcludeerd dat dit enzym een geschikte kandidaat is voor levensvatbaarheid marker.³⁹

Een ander onderzoek ging voort op dit idee. De onderzoeksgroep onderzocht in plaats alphaGST de totale hoeveelheid GST (tGST) in het perfusaat. Dit is namelijk eenvoudiger en sneller vast te stellen door middel van spectrometrie i.p.v. ELISA-metingen die gebruikt werden bij de metingen van alphaGST. Bij het onderzoek waren 43 NHBD nieren betrokken waarvan 88,4% van de transplantaties succesvol was. De getransplanteerde organen waren vooraf door de testen op levensvatbaarheid gekomen. Deze testen berustten op basis van GST concentraties, intrarenale bloevaten resistentie en perfusiestroomkarakteristieken. Er bleek een directe relatie tussen tGST en alphaGST te bestaan en momenteel is tGST een geaccepteerde schade marker in de klinische praktijk.⁴⁰

Fatty acid-binding protein (FABP)

Dit eiwit uit het cytosol is betrokken bij het transport van vrije vetzuren naar de mitochondria voor beta-oxidatie. Er zijn hart (H)- en lever (L)-FABP isotypes. De eerste komt slechts voor in de distale vaten van de nier. De tweede komt alleen voor in de proximale vaten van de nier. Laatsgenoemde, H-FABP, werd al gebruikt als biomarker in dierstudies. De reden hiervoor was dat H-FABP vlotter

vrijkomt, gedurende renale ischemie, dan L-FABP. Een onderzoek vergeleek H-FABP met tGST, op hun gevoeligheid als voorspeller van de nierfunctie, 1 jaar na transplantatie. Er werd gebruik gemaakt van twee groepen donornieren: 31 niet geteste nieren en 38 nieren (uit een groep van 48) geslaagd voor testen gebaseerd op H-FABP concentraties en tGST concentraties. Na een jaar bleek 83% nieren van de niet geteste groep in de ontvanger te zijn overleefd en 97% van de geteste groep. Hierbij bleek GST de meest geschikte marker wanneer het werd gebruikt in combinatie van machine perfusie. De gevoeligheid van GST bleek echter discutabel in grensgevallen, waarbij H-FABP een betere scheiding tussen de twee donor categorieën aantoonde.⁴¹

Vergelijkende discussie en conclusies

Jaren onderzoek heeft diverse evaluatiemethoden opgeleverd en misschien nog wel meer methoden ter beoordeling als niet betrouwbaar afgewezen. De in deze scriptie besproken methoden worden of werden echter allen toegepast en/of gezien als geschikte voorspellingsmethode.

Bij de beoordeling van de besproken testmethoden op geschiktheid als voorspeller van de functionaliteit van de nier na transplantatie, wordt de volgende voorwaarde gesteld: een pretransplantatie-test op levensvatbaarheid dient eenvoudig te zijn en snel uit te voeren. Bovendien dient deze test een hoge voorspellingswaarde te hebben. De test zou de mogelijkheid van herstel van het orgaan moeten kunnen meten.⁴²

Veel van de besproken beoordelingsmethoden zijn gekoppeld aan de warm ischemic time (WIT) omdat deze factor evenredig is met de schade aan het orgaan en dus de beperking van de functionaliteit van het orgaan. Naast het gegeven dat machine perfusie zorgt voor minder beschadiging aan het orgaan dan static cold storage, biedt deze preservatiemethode ook meer mogelijkheden ter beoordeling van de levensvatbaarheid van de te transplanteren nieren.

Macroscopische beoordeling van het transplantaat is de eenvoudigste, snelste en goedkoopste methode. Het wordt dan ook veelvuldig toegepast. De betrouwbaarheid van deze methode is echter laag omdat het afhangt van de ervaring en inzichten van de persoon die de beoordeelt.

ATP afgifte in het perfusaat blijkt geen betrouwbare beoordelingswaarde. De fosfor monoëster (PME) en onorganische fosfor (Pi) verhouding (PME/Pi) gemeten met magnetic resonance spectroscopy (MRS) lijkt echter wel een geschikte parameter voor de ischemische schade. De methode is bovendien redelijk eenvoudig en niet schadelijk. Bovendien kan de methode ook worden toegepast static cold storage, de preservatiemethode die immers nog steeds veelvuldig wordt gebruikt. De betrouwbaarheid kan echter in twijfel worden getrokken omdat concentraties temperatuurafhankelijk zijn. Werken met persufaat van hogere temperatuur kan hier een oplossing bieden.

Verder kan het worden toegepast bij zowel cold storage als machine perfusie.

Perfusie stroom dynamica variabelen als druk, stroom en de weerstand in de bloedvaten (IRR) die te meten zijn bij machine perfusie blijken eveneens samen te hangen met de schade die het transplantaat heeft opgelopen. Deze beoordelingsmethode is goedkoop en eenvoudig maar kan slechts worden toegepast in het geval van machineperfusie. Er moet echter ook een kanttekening bij deze beoordelingsmethode te zetten. IRR is namelijk afhankelijk van de perfusie stroom. Organen moeten dus goed zijn aangesloten op het perfusiesysteem. Onopgemerkte lekkage in aders of slagaders gedurende perfusie maken waarnemingen van stroom- en drukvariabelen minder betrouwbaar. Om deze reden wordt dan ook aangeraden de perfusiestroom variabelen slechts te gebruiken in combinatie met andere parameters.⁴³

Beoordelingsmethoden die steeds meer opgang maken zijn de testen die berusten op de concentratie biomarkers in het persufaat. Lactaat dehydrogenase (LDH) schijnt minder geschikt te zijn als parameter omdat de concentratie LDH in het persufaat niets zegt over de specifieke schade, deze kan bijvoorbeeld afkomstig zijn van niet beschadigde erythrocyten. Van Glutathione-S-transferase (GST) is aangetoond dat het een geschikte indicator is van de schade die een transplantaat heeft geleden.

Doordat ook GST als parameter kan worden gehanteerd is deze meetmethode eenvoudiger en goedkoper geworden. Wanneer het echter gaat om de beoordeling van grensgevallen blijkt GST geen goede indicator. De concentratie Fatty acid-binding protein, harttype (H-FABP) in het persuaat lijkt een betere indicator te zijn. In algemeen dient over de biomarkers als indicator, zoals eerder is opgemerkt, te worden gezegd dat deze temperatuurafhankelijk zijn. Wanneer de concentraties gemeten worden tijdens de perfusie, is dit bij lage temperaturen, 0-4 °C terwijl het orgaan na transplantatie niet functioneert bij +/- 37 °C. Er is nog niet veel bekend over het gedrag van biomarkers in het perfusiesysteem; biomarkers kunnen bijvoorbeeld hechten aan de slangen van het systeem. Hierdoor zullen lagere concentraties worden gemeten dan de werkelijke concentraties.

De centrale vraagstelling was: op welke manier kan men het functioneren van een nier afkomstig van een non heart beating donor (NHBD) na transplantatie voorspellen? Daarop kan worden geantwoord dat dit het beste kan bij machine perfusie omdat bij deze techniek meer goede variabelen gemeten kunnen worden die samenhangen met de beschadiging van de donornier. De verhouding PME/Pi lijkt echter ook een zeer goede parameter die ook in het geval van static cold storage kan worden toegepast.

Bij alle testen is het moeilijk om interpretaties te geven over de mogelijkheid van herstel van het orgaan na transplantatie. Natuurlijk kan er wel worden beoordeeld of een orgaan ernstig beschadigd is, maar informatie over het vermogen tot herstel is zeer moeilijk vast te stellen.

Omdat er nog steeds geen indicator is gevonden die het functioneren van de NHBD nier met 100% zekerheid kan voorspellen, kan het beste gebruik worden gemaakt van meer parameters. Verder dient er nog veel onderzoek plaats te vinden naar parameters die betrouwbaarder zijn. Dit kan bijvoorbeeld door de huidige parameters nauwkeuriger te maken. Veelbelovend schijnen ook de in het persuaat voorkomende enzymen te zijn. Een standaard vaststelling van meerder biomarkers als GST, H-FABP en misschien nog niet onderzochte enzymen zou de toekomst kunnen zijn bij het voorspellen van orgaanfunctie na transplantatie, omdat deze testen eenvoudig en goedkoop zijn.

Momenteel blijft het een feit dat de beste manier om het orgaan te beoordelen op levensvatbaarheid en functionaliteit, transplantatie van het orgaan is. Dit zal ook altijd de uiteindelijke test blijven.

Literatuurlijst

- ¹ Cho YW, Terasaki PI, Cecka M, Gjertson W. Transplantation of kidneys from donors whose hearts have stopped beating. *N Engl J Med* 1998; 338: 221–225
- ² L.M. Slakey, C.M. Slakey, D.P. Slakey Deceased Donor Management and Demographic Factors Related to Kidney Allograft Rejection and Graft Survival. *Transplant Proc.* 2010;42(5):1513-8.
- ³ Cyril Moers, M.D., Jacqueline M. Smits, M.D., Ph.D., Mark-Hugo J. Maathuis, M.D., Ph.D., Jürgen Treckmann, M.D., Frank van Gelder, Bogdan P. Napieralski, Margitta van Kasterop-Kutz, Jaap J. Homan van der Heide, M.D., Ph.D., Jean-Paul Squifflet, M.D., Ph.D., Ernest van Heurn, M.D., Ph.D., Günter R. Kirste, M.D., Ph.D., Axel Rahmel, M.D., Ph.D., Henri G.D. Leuvenink, Ph.D., Andreas Paul, M.D., Ph.D., Jacques Pirenne, M.D., Ph.D. and Rutger J. Ploeg, M.D., Ph.D. *N Engl J. Machine Perfusion or Cold Storage in Deceased-Donor Kidney Transplantation Med* 2009; 360:7-19
- ⁴ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation.* 1997 Jan 15;63(1):89-93.
- ⁵ Haisch, C, Green, E, Brasile, L: Predictors of graft outcome in warm ischaemically damaged organs. *Transplant Proc* 1997 29: 3424–3425
- ⁶ Orloff, MS, Reed, AI, Erturk, E, et al: Nonheartbeating cadaveric organ donation. *Ann Surg* 1994 220: 578–585
- ⁷ Light, JA, Kowalski, AE, Ritchie, WO, et al: New profile of cadaveric donors: What are the kidney donor limits? *Transplant Proc* 1996 28(1): 17–20
- ⁸ Nicholas R Brook, Julian R Waller and Michael L Nicholson. Nonheart-beating kidney donation: Current practice and future developments. *Kidney International* (2003) 63, 1516–1529
- ⁹ MH Maathuis, HG Leuvenink, RJ Ploeg. Perspectives in organ preservation. *Transplantation* 2007;83:1289-1298
- ¹⁰ Opelz, B Dohler Multicenter analysis of kidney preservation.. *Transplantation* 2007;83:247-253
- ¹¹ SD St Peter, CJ Imber, PJ Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002;359:604-613
- ¹² Figuur 1. <http://www.dailymail.co.uk> Geraadpleegd: 25-07-2010
- ¹³ Shawn D St Peter, Charles J Imber, Peter J Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002; 359: 604-13
- ¹⁴ Joseph V. Bonventre, Joel M. Weinberg. Kidney Preservation Ex Vivo for Transplantation. *Annual Review of Medicine* 1992, Vol. 43: 523-551
- ¹⁵ Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts: an overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53:957-78.
- ¹⁶ Boudjema K, Lindell SL, Southard JH, Belzer FO. The Effects of Fasting on the Quality of Liver Preservation By Simple Cold Storage. *Transplantation* 1990; 50:943-48
- ¹⁷ Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology* 1991;13: 83-95
- ¹⁸ Pierre Haddad, Jean-Christophe Cabrillac, Daniel Piche, Lina Musallam and Pierre-Michel Huet. Changes in Intracellular Calcium Induced by Acute Hypothermia in Parenchymal, Endothelial, and Kupffer Cells of the Rat Liver. *Cryobiology* 1999; 39: 69-79
- ¹⁹ J Wight, J Chilcott, M Holmes, N Brewer. The clinical and cost-effectiveness of pulsatile machine perfusion versus cold storage of kidneys for transplantation retrieved from heart-beating and non-heart-beating donors. *Health Technol Assess* 2003;7:1-94
- ²⁰ JD Schold, B Kaplan, RJ Howard, AI Reed, DP Foley, HU Meier-Kriesche. Are we frozen in time? Analysis of the utilization and efficacy of pulsatile perfusion in renal transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:1681-1688
- ²¹ Cyril Moers, M.D., Jacqueline M. Smits, M.D., Ph.D., Mark-Hugo J. Maathuis, M.D., Ph.D., Jürgen Treckmann, M.D., Frank van Gelder, Bogdan P. Napieralski, Margitta van Kasterop-Kutz, Jaap J. Homan van der Heide, M.D., Ph.D., Jean-Paul Squifflet, M.D., Ph.D., Ernest van Heurn, M.D., Ph.D., Günter R. Kirste, M.D., Ph.D., Axel Rahmel, M.D., Ph.D., Henri G.D. Leuvenink, Ph.D., Andreas Paul, M.D., Ph.D., Jacques Pirenne, M.D., Ph.D. and Rutger J. Ploeg, M.D., Ph.D. *N Engl J. Machine Perfusion or Cold Storage in Deceased-Donor Kidney Transplantation Med* 2009; 360:7-19
- ²² Shawn D St Peter, Charles J Imber, Peter J Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002; 359: 604-13
- ²³ Shawn D St Peter, Charles J Imber, Peter J Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002; 359: 604-13

-
- ²⁴ Stubenitsky, BM, Booster, MH, Brasile, L, *et al*: Exsanguinous metabolic support perfusion—A new strategy to improve graft function after kidney transplantation. *Transplantation* 2000 **70**: 1254–1258
- ²⁵ Bell, P, Dibekoglu, M, Gonzalez, C, *et al*: Results of transplantation with non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1995 **27**(5): 2951–2956
- ²⁶ Paul J. Garvin, M.D.: Marco Astaneda, M.D., Mike Niehoff, P.A.C., M.S.(R.), Max Jellenik, PH.D., and John E. Codd, M.D. An Experimental Evaluation of Nucleotide Enhancement Techniques for Kidney Transplantation. *Journal of surgical research* **38**:29-38 (1985)
- ²⁷ Shawn D St Peter, Charles J Imber, Peter J Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002; **359**: 604-13
- ²⁸ Bretan, PN, Baldwin, N, Novick, AC, *et al*: Clinical experience with pretransplant assessment of renal viability by phosphorous-31 magnetic resonance spectroscopy in 40 recipient patients. *Transplant Proc* 1989 **21**(1): 1266–1267
- ²⁹ Kunikata, S, Ishii, T, Nishioka, T, *et al*: Measurement of viability in preserved kidneys with 31P NMR. *Transplant Proc* 1989 **21**(1): 1269–1271
- ³⁰ Balupuri S, Buckley P, Mohamed M, Cornell C, Mantle D, Kirby J, Manas DM, Talbot D. Assessment of non-heart-beating donor (NHBD) kidneys for viability on machine perfusion. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Nov;**38**(11):1103-6.
- ³¹ Matsuno N, Kozaki K, Degawa H, Narumi Y, Suzuki N, Kikuchi K, Uchiyama M, Sakurai E, Kozaki M, Nagao T. Importance of machine perfusion flow in kidney preservation. *Transplant Proc*. 1999 Aug;**31**(5):2004-5.
- ³² Balupuri S, Buckley P, Mohamed M, Cornell C, Mantle D, Kirby J, Manas DM, Talbot D. Assessment of non-heart-beating donor (NHBD) kidneys for viability on machine perfusion. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Nov;**38**(11):1103-6.
- ³³ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation*. 1997 Jan 15;**63**(1):89-93.
- ³⁴ Balupuri S, Buckley P, Mohamed M, Cornell C, Mantle D, Kirby J, Manas DM, Talbot D. Assessment of non-heart-beating donor (NHBD) kidneys for viability on machine perfusion. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Nov;**38**(11):1103-6.
- ³⁵ Shawn D St Peter, Charles J Imber, Peter J Friend. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002; **359**: 604-13
- ³⁶ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation*. 1997 Jan 15;**63**(1):89-93.
- ³⁷ Daemen JH, Heineman E, Kootstra G. Viability assessment of non-heart-beating donor kidneys during machine preservation. *Transplant Proc* 1995; **27**:2906-07
- ³⁸ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation*. 1997 Jan 15;**63**(1):89-93.
- ³⁹ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation*. 1997 Jan 15;**63**(1):89-93.
- ⁴⁰ Balupuri S, Buckley P, Mohamed M, Cornell C, Mantle D, Kirby J, Manas DM, Talbot D. Assessment of non-heart-beating donor (NHBD) kidneys for viability on machine perfusion. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Nov;**38**(11):1103-6.
- ⁴¹ Muhammed A. Gok, Maurice Pelsers, Jan F.C. Glatz, Brian K. Shenton, Robert Peaston, Chris Cornell and David Talbot. Use of Two Biomarkers of Renal Ischemia to Assess Machine-perfused Non-Heart-beating Donor Kidneys. *Clinical Chemistry*. 2003;**49**:172-175
- ⁴² Nicholas R Brook, Julian R Waller and Michael L Nicholson. Nonheart-beating kidney donation: Current practice and future developments. *Kidney International* (2003) **63**, 1516–1529
- ⁴³ Daemen JW, Oomen AP, Janssen MA, van de Schoot L, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation*. 1997 Jan 15;**63**(1):89-93.