

University of Groningen

Performance-enhancing strategies for deceased donor kidneys

van Rijt, Geert

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2014

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

van Rijt, G. (2014). *Performance-enhancing strategies for deceased donor kidneys*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [S.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

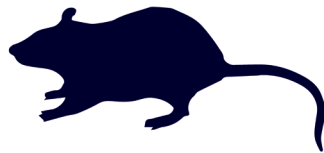
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

11



Summary, discussion and future perspectives



Summary

In **chapter 1**, the main topics of this thesis are introduced. After transplantation, the outcome of DBD- and DCD kidneys is inferior compared to living donor kidneys. It is therefore important to improve transplant outcome of deceased donor kidneys. For that purpose, three potential treatment strategies are investigated in this thesis: α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) treatment, normothermic recirculation and treatment with ARA290, a non-erythropoietic EPO derivative.

In **chapter 2**, new insights in the immediate effect of brain death on renal function and inflammation are presented. Brain death caused a triphasic response in renal function. Immediately following brain death renal function was distinctly reduced, while hyperfiltration was observed in the second hour after brain death. In the third hour renal function decreased to baseline levels. Inflammation was not observed at four hours after induction of brain death.

In **chapter 3**, the renoprotective capacities of α -MSH, an anti-inflammatory neuropeptide, were tested in a DBD kidney transplantation model in pigs. Recipients of a DBD donor kidney were treated with α -MSH. Unexpectedly, α -MSH neither improved renal function nor reduced inflammation in the first ten hours after transplantation.

In **chapter 4**, the protective effect of normothermic recirculation of DCD donors was investigated in a rodent model. In this experimental setting, normothermic recirculation did not affect renal function, inflammation or tubular necrosis.

In **chapter 5**, a rodent model of brain death was used to test the protective effect of ARA290 on the donor kidney in an isolated perfused kidney model. ARA290 treatment did not improve renal function and did not reduce renal inflammation or acute kidney injury.

In **chapter 6**, it is shown that ARA290 treatment after reperfusion protects against renal I/R injury. ARA290 treatment at one hour after reperfusion improved renal function and reduced inflammation, while treatment at four- or one and four hours after reperfusion did not result in renoprotection.

In **chapter 7**, pigs were treated with ARA290 after renal I/R. In the first seven days after reperfusion, ARA290 improved recovery of renal function. Furthermore, ARA290 reduced structural injury at seven days post-reperfusion.

In **chapter 8**, the role of the EPO receptor in the development of renal I/R injury was investigated. Transgenic knock-out of the EPO receptor did not affect renal function or the extent of cortical necrosis. No differences in renal function or cortical necrosis were observed between wild-type- and transgenic knock-out mice treated with ARA290 after renal I/R.

In **chapter 9**, recent clinical trials testing cytoprotective EPO treatments in renal transplantation are reviewed. EPO treatment in transplant recipients did not improve short-term function after transplantation of deceased donor kidneys, while the incidence of thrombotic events increased. The non-erythropoietic EPO derivatives are promising alternatives for EPO to induce renoprotection in transplantation without the increased risk of cardiovascular adverse events.

In **chapter 10**, the endogenous role of EPO mediated cytoprotection is illustrated by the effect of a functional EPO single nucleotide polymorphism on the outcome of transplantation. The TT genotype of the EPO polymorphism in deceased donor kidneys is associated with reduced graft survival and an increased incidence of delayed graft function.

General discussion

Graft survival of living donor kidneys is superior compared to DBD and DCD kidney transplantation. Transplant outcome of marginal DBD and DCD donor kidneys has to be improved to fully utilize the donor pool potential. In this thesis, three potential, protective strategies have been tested in animal models. In addition to these therapeutical studies, new insights in the effects of brain death on the pathogenesis of renal injury and dysfunction were obtained in a porcine model. These novel observations may inspire to future interventional studies.

The effect of brain death on renal function, inflammation and renal metabolism

Brain death caused a triphasic response in renal function as demonstrated in chapter 2. Furthermore, no systemic- or renal inflammation was observed in the brain dead donors, even though brain death donation is known to be associated with both systemic- and renal inflammation¹⁻⁴. Aggressive fluid treatment to stabilize hemodynamics presumably prevented hypoperfusion of the peripheral organs, suggesting that the systemic inflammation as described in brain dead donors is caused by hypoperfusion. This implicates the important role for donor management to preserve organ quality.

Ten hours after transplantation, renal inflammation increased compared to fifteen minutes post-reperfusion, indicating that detrimental pathways are not fully activated immediately after transplantation. Furthermore, early after reperfusion renal metabolism shifts from aerobic to anaerobic. These findings suggest a window of opportunity for cytoprotective treatment of recipients in the first hours after reperfusion. In addition, the observations in the brain dead donors might inspire new approaches for improvement of donor management.

Next, the different treatment strategies to reduce renal ischemia/reperfusion injury will be discussed.

α -melanocyte stimulating hormone

Physiologically, α -MSH is produced by the pituitary gland which function is compromised by brain death. In several models including renal I/R, it has been shown that exogenous α -MSH administration improves renal function and reduces renal inflammation⁵⁻⁸. However, in chapter 3 we show that α -MSH treatment of porcine recipients of a DBD kidney did not result in improved function or reduced inflammation. Recovery of renal function was even impaired by α -MSH. The most likely explanation for the ineffectiveness of α -MSH treatment is a reduction in mean arterial pressure, which was caused by each dose of this compound. The changes in hemodynamics in combination with the absence of a beneficial effect on renal function excludes α -MSH as a potential treatment for transplant recipients to improve short-term function following renal transplantation.

Normothermic recirculation

The protective capacities of normothermic recirculation are observed in clinical studies⁹⁻¹³. However, in chapter 4 we could not confirm these observations in a DCD transplantation model in rats. Transplantation in rats is challenging and a large variation in severity of the acute kidney injury between the animals was observed. Also, entire donor rats were normothermically recirculated after warm renal ischemia, while in the clinical setting, only abdominal organs are artificially recirculated. This model was chosen as artificial recirculation in rats would further increase the variation. However, these limitations may explain the negative results of this study. Further research should be performed in larger animals, as it will be easier to apply normothermic recirculation in these models.

Erythropoietin mediated cytoprotection

The endogenous role of EPO mediated cytoprotection in renal transplantation is demonstrated in chapter 10 in which we show that a functional EPO polymorphism in deceased donor kidneys affects graft survival and incidence of DGF following transplantation. This effect on graft survival is independent of plasma EPO levels indicating that not influenced erythropoiesis, but local cytoprotection is responsible for the observed differences in short- and long-term outcome of transplantation.

The proposed protective pathways of EPO include either activation of the EPOR₂-βCR₂- or the βCR-VEGFR2 complex¹⁴. In literature, it is demonstrated that the βCR is crucial for EPO mediated protection. Endothelial activation is also essential, as EPO is not renoprotective in endothelial nitric oxide synthase (eNOS) knockout mice¹⁴⁻¹⁶. Non-erythropoietic EPO derivatives are proposed to bind receptor complexes containing both the EPOR and the βCR¹⁷. Nevertheless, the role of the EPO receptor in EPO mediated cytoprotection is questioned, because absence of this receptor did not affect renal I/R injury, as is demonstrated in chapter 8. This study was however limited by low levels of renal injury.

ARA290 is derived from the binding site of EPO to the EPOR₂-βCR₂ and it presumably only binds this receptor complex. However, this has not been confirmed by us or other research groups. Besides, binding of ARA290 to the βCR-VEGFR2 complex has never been investigated. Thus, the role of the EPOR in EPO mediated cytoprotection remains questionable. Further research should focus on the binding of EPO and non-erythropoietic derivatives to different receptor complexes.

The adverse effects of EPO mediated cytoprotection are caused by stimulation of erythropoiesis and activation of platelets^{18,19}. In our review, chapter 9, we pointed to the increased risk of cardiovascular adverse effects by EPO treatment following renal transplantation. Although relative high doses of EPO were administered, cytoprotective levels were not reached. These studies thereby exclude EPO itself as systemic, cytoprotective agent.

However, experimental studies with non-erythropoietic EPO derivatives, like ARA290 and CEPO, are promising. In chapter 6 and 7, we showed that ARA290 treatment after reperfusion improved renal function, reduced inflammation and mitigated structural injury. In chapter 8, these protective capacities of ARA290 were not confirmed in a mice model of renal ischemia/reperfusion. This may be explained by minor renal injury and large variation observed in treatment- and control groups.

ARA290 treatment of brain death donors was not protective, as shown in chapter 5. However, this was the first experiment testing the protective capacities of ARA 290, testing a dose of 1 nmol/kg. In the latter I/R experiments a dose of 10 nmol/kg was protective and the ineffective treatment of DBD donors might be clarified by the dose of 1 nmol/kg.

Dosing and particularly timing are crucial to successfully induce cytoprotection by non-erythropoietic EPO derivatives. ARA290 has proven its protective capacities against renal I/R injury in our models and in two other I/R experiments^{17,20}. In all models, the first dose of ARA290 was administered within six hours after transplantation. Furthermore, our I/R model in rats suggests that administration at one hour after reperfusion is more effective than administration after four hours. EPO mediated cytoprotection is mediated by eNOS activation, which function is compromised in the first 24 hours after renal I/R²¹. This explains why non-erythropoietic EPO derivatives have to be administered in the first hours after transplantation.

Unfortunately, timing of ARA290 cannot be translated directly from rats or pigs to humans because of differences in physiology and metabolic rate. Nevertheless, the ischemia/reperfusion experiments in mice, rats and pigs suggest that ARA290 should be administered early after reperfusion. Naturally, we aimed to show the protective effect of ARA290 in a transplantation model. Two DCD transplantation experiments in rats have been performed. Unfortunately, these transplantation models were unstable due to a large variation in renal injury. These data are therefore not included in this thesis. Nevertheless, ARA290 treatment of recipients of a deceased donor kidney is a promising strategy to improve transplant outcome. The results of this thesis warrant further investigation in models of renal transplantation.

To conclude, this thesis provided new insights in the effects of brain death on renal function and the development of inflammation. α -MSH treatment and normothermic recirculation did not improve renal function or reduce renal ischemia/reperfusion injury. However, ARA290 treatment of recipients of a deceased donor kidney is a promising strategy to improve transplant outcome. Next, the future implications will be discussed.

Future perspectives

The results of this thesis give further direction to new research projects to improve outcome of deceased donor kidney transplantation. The ultimate goal is translation of performance-enhancing strategies to the clinic. Three protective strategies were the main focus of this thesis. Nevertheless, investigation of renal function, metabolism and inflammation in brain dead donors also resulted in new insights. These findings implicate the importance of fluid administration for treatment of brain dead donors. To further investigate the effect of brain dead donor treatment on quality of donor organs, different treatment strategies like fluid administration and inotropic treatment could be compared. This study should not only focus on donor kidneys, as aggressive fluid treatment may be detrimental for the lungs.

Mechanistically, it would be interesting to investigate the role of uncontrolled hemodynamics in development of ischemia/reperfusion injury and brain death related systemic- and renal inflammation. In our porcine brain dead model, mean arterial pressure was measured via a catheter in the arteria carotis. Possibly, renal flow was not correctly represented by this system. We therefore propose to measure renal flow during brain death using hyperpolarized magnetic resonance imaging. Hyperpolarization of metabolic markers could even elucidate the precise metabolic alterations during brain death²²⁻²⁴.

Investigation of normothermic recirculation in experimental models is notable, as NR recirculation is already used clinically in several hospitals worldwide. However, as mentioned before, experimental evidence is limited and this promising strategy has to be improved. Further investigation should be performed in large animal or human studies, as this is technically simpler and will reduce variation of ischemic injury.

The two potentially cytoprotective agents, α -MSH and ARA290, have been tested as treatment of recipients. Based on the study described in chapter 3, we conclude that there is no role for α -MSH in treatment of recipients after transplantation. On the other hand, ARA290 turned out to be a promising performance enhancing agent to improve renal function following transplantation. ARA290 treatment of recipients potentially improves renal function, but may also reduce inflammation and structural injury. This suggests ARA290 could improve both short- and long-term outcome.

Chapter 10 supports our conclusions from experimental ARA290 studies, as this is the first study showing the endogenous cytoprotective role of EPO in deceased donor kidney transplantation. Ideally, the association between the EPO SNP and outcome of deceased kidney transplantation will be confirmed in a different transplantation cohort in the near future.

Further investigation of the genes important for EPO mediated renoprotection, like β CR, EPOR and eNOS, may further elucidate this pathway. To gain best insight in pathways activated by EPO-mediated cytoprotection, an experimental renal I/R model could be performed in which high dose EPO- and ARA290 treatment are compared to controls with as main outcome parameter a gene expression array.

The most important future perspective of this thesis is translation of EPO mediated cytoprotection by non-erythropoietic EPO derivatives to the transplantation clinic. ARA290 and CEPO are the most likely candidates for this translation. It would be most elegant to first confirm the renoprotective capacities in a porcine DCD transplantation model. Besides this translational future perspective, ARA290 should also be further investigated in experimental models. In brain death donors only 1 nmol/kg has been tested, while in renal I/R a dose of 10 nmol/kg was renoprotective. We suggest to also test a dose of 10 nmol/kg in a DBD donation model. Furthermore, it would also be interesting to test ARA290 in a brain death transplantation model, treating the donor as well as the recipient. To gain insight in the protective pathways of ARA290, this derivative could be tested in β CR knock-out mice subjected to renal I/R.

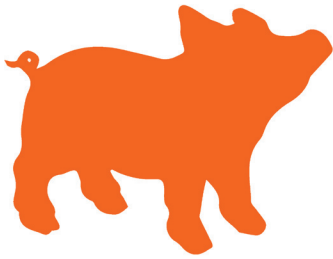
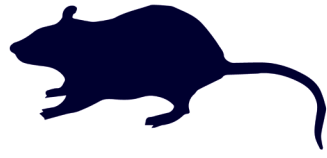
Conclusion

This thesis is a combination of experimental research and clinical outcome leading protective strategies to enter clinical trials. Normothermic recirculation has already been used clinically, but more vigorous evidence would increase interest of transplantation centers and could thereby increase the DCD donor pool for kidneys. α -MSH treatment of recipients seems no beneficial treatment for short-term outcome after transplantation. The negative results in our porcine transplantation study denounce this agent to more basic experimental models. The most promising treatment of recipients to protect against renal I/R injury is treatment with ARA290. A successful porcine DCD transplantation experiment may be the last step before ARA290 can be tested in a clinical trial.

References

1. Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; 53(4): 425-35.
2. van Werkhoven MB, Damman J, van Dijk MC, et al. Complement mediated renal inflammation induced by donor brain death: role of renal C5a-C5aR interaction. *Am J Transplant* 2013; 13(4): 875-82.
3. Amado JA, Lopez-Espadas F, Vazquez-Barquero A, Salas E, Riancho JA, Lopez-Cordova JJ, Garcia-Unzueta MT. Blood levels of cytokines in brain-dead patients: relationship with circulating hormones and acute-phase reactants. *Metabolism* 1995; 44(6): 812-6.
4. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Basker M, Cooper DK, Hancock WW, Tilney NL. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation* 1999; 67(3): 343-8.
5. Lee SY, Jo SK, Cho WY, Kim HK, Won NH. The effect of alpha-melanocyte-stimulating hormone on renal tubular cell apoptosis and tubulointerstitial fibrosis in cyclosporine A nephrotoxicity. *Transplantation* 2004; 78(12): 1756-64.
6. Doi K, Hu X, Yuen PS, et al. AP214, an analogue of alpha-melanocyte-stimulating hormone, ameliorates sepsis-induced acute kidney injury and mortality. *Kidney Int* 2008; 73(11): 1266-74.
7. Jo SK, Yun SY, Chang KH, Cha DR, Cho WY, Kim HK, Won NH. alpha-MSH decreases apoptosis in ischaemic acute renal failure in rats: possible mechanism of this beneficial effect. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(8): 1583-91.
8. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L, Linas S, Star RA. Alpha-melanocyte-stimulating hormone inhibits renal injury in the absence of neutrophils. *Kidney Int* 1998; 54(3): 765-74.
9. Reznik ON, Skvortsov AE, Reznik AO, Ananyev AN, Tutin AP, Kuzmin DO, Bagnenko SF. Uncontrolled donors with controlled reperfusion after sixty minutes of asystole: a novel reliable resource for kidney transplantation. *PLoS One* 2013; 8(5): e64209.
10. Billault C, Godfroy F, Thibaut F, et al. Organ procurement from donors deceased from cardiac death: a single-center efficiency assessment. *Transplant Proc* 2011; 43(9): 3396-7.
11. Reznik O, Skvortsov A, Loginov I, Ananyev A, Bagnenko S, Moysyuk Y. Kidney from uncontrolled donors after cardiac death with one hour warm ischemic time: resuscitation by extracorporeal normothermic abdominal perfusion "in situ" by leukocytes-free oxygenated blood. *Clin Transplant* 2011; 25(4): 511-6.
12. Garcia-Valdecasas JC, Fondevila C. In-vivo normothermic recirculation: an update. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15(2): 173-6.
13. Valero R, Cabrer C, Oppenheimer F, et al. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non-heart-beating donors. *Transpl Int* 2000; 13(4): 303-10.
14. Sautina L, Sautin Y, Beem E, et al. Induction of nitric oxide by erythropoietin is mediated by the {beta} common receptor and requires interaction with VEGF receptor 2. *Blood* 2010; 115(4): 896-905.
15. Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, et al. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(41): 14907-12.
16. Su KH, Shyue SK, Kou YR, et al. Beta Common Receptor Integrates the Erythropoietin Signaling in Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *J Cell Physiol* 2011; 226(12): 3330-9.
17. Brines M, Patel NS, Villa P, et al. Nonerythropoietic, tissue-protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(31): 10925-30.
18. Stohlawetz PJ, Dzirilo L, Hergovich N, et al. Effects of erythropoietin on platelet reactivity and thrombopoiesis in humans. *Blood* 2000; 95(9): 2983-9.
19. McCullough PA, Barnhart HX, Inrig JK, et al. Cardiovascular toxicity of epoetin-alfa in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2013; 37(6): 549-58.
20. Patel NS, Kerr-Peterson HL, Brines M, et al. The delayed administration of pHBSP, a novel non-erythropoietic analogue of erythropoietin, attenuates acute kidney injury. *Mol Med* 2012; 18(1): 719-27.
21. Yamasawa H, Shimizu S, Inoue T, Takaoka M, Matsumura Y. Endothelial nitric oxide contributes to the renal protective effects of ischemic preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(1): 153-9.
22. Laustsen C, Ostergaard JA, Lauritzen MH, et al. Assessment of early diabetic renal changes with hyperpolarized [1-(13)C]pyruvate. *Diabetes Metab Res Rev* 2013; 29(2): 125-9.
23. Clatworthy MR, Kettunen MI, Hu DE, et al. Magnetic resonance imaging with hyperpolarized [1,4-(13)C2]fumarate allows detection of early renal acute tubular necrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(33): 13374-9.

24. Xu T, Mayer D, Gu M, et al. Quantification of in vivo metabolic kinetics of hyperpolarized pyruvate in rat kidneys using dynamic ^{13}C MRSI. *NMR Biomed* 2011; 24(8): 997-1005.
25. Siew ED, Ware LB, Ikizler TA. Biological markers of acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22(5): 810-20.



Nederlandse samenvatting



Een niertransplantatie is de meest effectieve behandeling voor chronisch nierfalen. Voorafgaande aan een niertransplantatie zijn patiënten in het eindstadium van nierfalen afhankelijk van dialyse om het bloed te zuiveren van afvalstoffen. Voor patiënten betekent dit dat zij meerdere malen per week gedialyseerd moeten worden in het ziekenhuis. Dus dialyse is beperkend voor patiënten en bovendien geassocieerd met co-morbiditeit zoals een verhoogd risico op infecties. Tevens kan chronisch nierfalen gepaard gaan met verminderde productie van erythropoëtine (EPO) door de nier. EPO reguleert de productie van rode bloedcellen en een te lage plasma EPO spiegel veroorzaakt bloedarmoede. Patiënten met chronisch nierfalen worden daarom vaak behandeld met een synthetische variant van erythropoëtine (rhEPO). Na een niertransplantatie zijn patiënten niet meer afhankelijk van dialyse en rhEPO. Transplantatie is daarom een effectieve behandeling, die de kwaliteit van leven aanzienlijk verbetert.

Helaas is er een wachtlijst voor een niertransplantatie, omdat het aanbod van donornieren te laag is. De laatste jaren is deze wachtlijst nauwelijks afgenomen, ondanks het feit dat levende donatie steeds vaker voorkomt en de criteria voor postmortale donatie verruimd zijn. Dit betekent dat er patiënten op de wachtlijst sterven, omdat er geen donornieren beschikbaar zijn. Daarom is het van groot belang het aanbod van donornieren te vergroten en de uitkomsten na transplantatie te verbeteren.

De verschillende stadia tussen donatie en transplantatie van een nier worden gekenmerkt door perioden van zuurstofgebrek, welke ook wel ischemische perioden genoemd worden. De primaire warme ischemie is de tijd tussen het stoppen van de doorbloeding van de organen en het afkoelen van de donornier. Na het stoppen van de circulatie worden de donororganen zo snel mogelijk gespoeld met preservatievloeistof bij een temperatuur van 4 °C. Het metabolisme en de ontstekingsprocessen worden daardoor vertraagd en op deze manier kunnen organen langer bewaard worden. Deze periode wordt de koude ischemie genoemd. De secundaire periode van warme ischemie is de tijd die nodig is om de donornier te implanteren in de ontvanger. Er bestaan drie verschillende typen donaties: levende donatie, donatie na hersendood en donatie na een hartstilstand. Levende donatie wordt gekenmerkt door minimale, primaire warme ischemie en een korte periode van koude ischemie. Postmortale donornieren worden blootgesteld aan aanzienlijk langere perioden van koude en warme ischemie. Het verschil tussen donatie na hersendood en een hartstilstand is dat hersendode donoren bloed circuleren in hun organen tot het moment van donatie, terwijl donatie na een hartstilstand betekent dat de donororganen enige tijd geen circulatie hebben. Dit betekent dat nieren, gedoneerd na een hartstilstand, worden blootgesteld aan de meeste ischemische schade. Donornieren van levende donoren functioneren dan ook significant beter dan nieren die gedoneerd zijn na hersendood of een hartstilstand. Dit verschil ontstaat voornamelijk in de periode direct na transplantatie en dit resulteert in kortere transplantaatoverleving van postmortale donornieren.

Donororganen na postmortale donatie worden blootgesteld aan langere perioden van zuurstofgebrek. Dit heeft tot gevolg dat er meer ischemie/reperfusie (I/R) schade ontstaat. In dit proefschrift worden verschillende proefdierexperimenten beschreven die gericht zijn op het beschermen tegen I/R schade en het verbeteren van de functie van nieren die zijn blootgesteld aan I/R schade. Drie strategieën worden getest om de uitkomsten na transplantatie van postmortale donornieren te verbeteren. Daarnaast is in **hoofdstuk 2** het effect van hersendood op de nierfunctie, ontsteking en stofwisseling in de nier onderzocht in een observationele studie in varkens. In het eerste uur na inductie van hersendood was de nierfunctie verminderd, terwijl in het daaropvolgende uur de nierfunctie significant hoger was vergeleken met de uitgangswaarde. In het derde en vierde uur na hersendood daalde de nierfunctie tot het niveau van de uitgangswaarde. Dit directe effect van hersendood op de nierfunctie was onafhankelijk van de bloeddruk.

Ontsteking van donororganen na hersendood is aangetoond in experimentele en klinische studies. Toch was er in ons model van hersendood geen sprake van ontsteking na vier uur hersendood. De bloeddruk van de donors werd boven 60 mmHg gehouden middels het toedienen van vocht. Deze therapie heeft waarschijnlijk ischemie/reperfusie schade verminderd en ontsteking voorkomen. Dit suggereert dat de systemische ontsteking en ontsteking in de nier het gevolg zijn van de hemodynamische instabiliteit van hersendode donoren. De kwaliteit van hersendode donororganen zou dus kunnen verbeteren door het donormanagement te veranderen. In de toekomst is het interessant om te onderzoeken wat het precieze effect is van het behandelen van hersendode donors met vocht vergeleken met medicatie om de bloeddruk te stabiliseren. Ontsteking en veranderingen in de stofwisseling van de nier lijken met name te ontstaan na transplantatie naar de ontvanger. Na herstel van de bloedsomloop van de getransplanteerde nier werden verhoogde ontstekingsparameters gemeten en veranderde de stofwisseling van aerob naar anaerob. Deze bevindingen suggereren dat beschermende therapie, direct na herstel van de bloedsomloop van de getransplanteerde nier, de uitkomst van transplantatie kan verbeteren.

Naast deze observationele studie, hebben we de volgende strategieën getest om de uitkomsten van niertransplantaties te verbeteren: behandeling met α -MSH, normotherme recirculatie en behandeling met ARA290.

α -melanocyte stimulating hormone

α -MSH is een neuropeptide en voornamelijk bekend vanwege zijn functie bij de pigmentatie van de huid. Daarnaast heeft dit peptide ook een anti-inflammatoire werking. In renale ischemie/reperfusie experimenten heeft men aangetoond dat behandeling met α -MSH de nierfunctie verbetert en ontsteking remt. Hersendode donatie van nieren is geassocieerd met zowel ontsteking als verminderde nierfunctie. Op basis van de beschermende eigenschappen van α -MSH luidde onze hypothese dat behandeling met α -MSH van ontvangers van een hersendode donornier de nierfunctie verbetert en de ontsteking vermindert. In **hoofdstuk 3** hebben wij deze hypothese getest in een niertransplantatie model na hersendode donatie in het varken. Behandeling van ontvangers met α -MSH verslechterde echter het herstel van de nierfunctie. Dit effect is te verklaren doordat elke gebruikte dosis α -MSH resulteerde in een daling van de bloeddruk. Daarnaast bleek α -MSH ontsteking niet te verminderen. Op basis van deze resultaten concluderen wij dat behandeling met α -MSH van ontvangers van een hersendode donornier niet resulteerde in verbeterde nierfunctie of verminderde ontsteking.

Normotherme recirculatie

Normotherme recirculatie is ontwikkeld om de kwaliteit van organen, gedoneerd na een hartstilstand, te verbeteren. Donatie na een hartstilstand wordt gekenmerkt door een aanzienlijk langere primaire warme ischamietijd dan hersendode- of levende donatie. Dit wordt veroorzaakt doordat er na de hartstilstand geen bloedsomloop meer is. Normotherme recirculatie betekent dat catheters worden ingebracht in grote bloedvaten van de donor en vervolgens geoxygeniseerd bloed machinaal door de donororganen wordt gepompt. De ischemie/reperfusie schade wordt op deze manier beperkt. Verschillende ziekenhuizen in voornamelijk Spanje, Frankrijk en Rusland gebruiken deze techniek in de klinische setting. Het blijkt dat de nierfunctie van deze donornieren aanzienlijk verbetert door normotherme recirculatie. Echter, het experimentele bewijs voor deze strategie is beperkt en het behandelprotocol nog niet optimaal.

In een model voor niertransplantatie na een hartstilstand hebben wij het effect van normotherme recirculatie van de rat onderzocht. **Hoofdstuk 4** laat zien dat normotherme recirculatie niet resulteerde in verbeterde nierfunctie of verminderde nierschade. Mogelijk is dit te verklaren doordat wij de gehele rat hebben gerecirculeerd in plaats van alleen de abdominale organen. Daarnaast is het niertransplantatie model in de rat na een hartstilstand van de donor technisch ingewikkeld en dit resulteerde in relatief grote variatie. Experimenteel onderzoek naar het ideale protocol voor normothermische recirculatie kan daarom beter uitgevoerd worden in grotere proefdieren, zoals varkens.

ARA290: een non-erythropoëtisch EPO derivaat

Erythropoëetine (EPO) is berucht vanwege het gebruik door sporters om hun prestaties te verbeteren. Het idee om EPO te gebruiken als prestatie bevorderende therapie is ontstaan door de belangrijkste functie van EPO: het stimuleren van de productie van rode bloedcellen. Rode bloedcellen of erythrocyten zijn verantwoordelijk voor het zuurstoftransport in het lichaam. Echter, EPO blijkt meerdere functies te hebben.

Naast de regulatie van de rode bloedcel productie heeft EPO een weefselbeschermende functie. EPO vermindert celdood en bevordert herstel na lokale schade. Deze effecten van EPO maken het een interessant eiwit om te beschermen tegen ischemische nierschade. EPO is in verschillende I/R modellen getest en blijkt inderdaad de nierfunctie te verbeteren, ontsteking te verminderen en structurele schade te voorkomen. Op basis van deze experimentele studies is behandeling met EPO getest in vier klinische transplantatie trials. Deze studies toonden geen beschermend effect van EPO, terwijl het risico op bijwerkingen wel werd verhoogd door ongewilde stimulatie van de erythropoëse.

Weefselbescherming wordt veroorzaakt door binding van EPO aan een ander receptor complex dan het complex dat verantwoordelijk is voor regulatie van de erythropoëse. ARA290 is afgeleid van de binding van EPO aan het beschermende receptor complex. Dit betekent dat ARA290 alleen een beschermend effect heeft en geen invloed heeft op de erythropoëse. In verschillende modellen van acute nierschade hebben wij de beschermende werking van ARA290 getest.

In **hoofdstuk 5** behandelen we hersendode donorratten met ARA290. In dit model resulteerde behandeling met ARA290 niet in verbeterde nierfunctie of verminderde inflammatie, omdat de dosis waarschijnlijk te laag was. In de **hoofdstukken 6 en 7** testen we een tienmaal hogere dosis ARA290 in ischemie/reperfusie modellen in de rat en het varken. In deze experimenten verbeterde ARA290 de nierfunctie, verminderde ontsteking en verminderde de ontwikkeling van structurele schade. Uit **hoofdstuk 8** blijkt dat de EPO receptor geen effect heeft op de ontwikkeling van ischemie/reperfusie schade. **Hoofdstuk 9** is een overzichtsartikel over de klinische niertransplantatie trials, waarin EPO behandeling is getest. Daarnaast wordt het mechanisme van weefselbescherming door EPO uitgebreid besproken. Tot slot laten we in **hoofdstuk 10** zien dat lokale EPO expressie effect heeft op de uitkomsten na transplantatie van postmortale donornieren. Een genafwijking in het EPO gen blijkt geassocieerd te zijn met zowel transplantaatoverleving, als de incidentie van vertraagde functie van de donornier na transplantatie. Deze uitkomsten onderbouwen de hypothese dat interventie met non-erythropoëtische EPO varianten de uitkomsten van niertransplantatie kunnen verbeteren.

Conclusie

Het primaire doel van dit proefschrift is het verbeteren van de uitkomsten na transplantatie van postmortale donornieren. Drie strategieën om dit doel te bereiken zijn daarom onderzocht. Behandeling van ontvangers van een hersendode donornier met α -MSH lijkt geen optie, omdat het herstel van de nierfunctie werd verminderd. In klinische trials is aangetoond dat normotherme recirculatie effectief is, maar in het beschreven experiment in dit proefschrift is het niet gelukt deze resultaten te reproduceren in een experimenteel model. Aanvullend onderzoek is vereist om het protocol voor normotherme recirculatie te optimaliseren. Behandeling met de non-erythropoëtische EPO variant, ARA290, verminderde ontsteking en verbeterde de nierfunctie. Behandeling van ontvangers van een postmortale donornier met ARA290 is daarom een veelbelovende strategie om I/R schade te verminderen en hiermee de transplantaatoverleving te verbeteren. Alvorens ARA290 getest kan worden in een klinische trial, zal de effectiviteit onderzocht moeten worden in een transplantatie model in het varken.

List of abbreviations

α -MSH	- α -melanocyte stimulating hormone	HIF-1 α	- Hypoxia inducible factor-1 α
α -SMA	- α -smooth muscle actin	HO-1	- Heme oxygenase-1
β cR	- β common receptor	HSP-70	- Heat shock protein-70
AAP	- Alanine aminopeptidase	HWE	- Hardy Weinberg equilibrium
ALAT	- Alanine-aminotransferase	ICAM-1	- Intercellular adhesion molecule-1
AMPK	- AMP-activated protein kinase	IFN- α	- Interferon- α
ASAT	- Aspartaat-aminotransferase	IFN- γ	- Interferon- γ
AQP-1	- Aquaporin-1	IL-1 β	- Interleukin-1 β
AQP-2	- Aquaporin-2	IL-4	- Interleukin-4
AQP-3	- Aquaporin-3	IL-6	- Interleukin-6
BPM	- Beats per minute	IL-8	- Interleukin-8
BD	- Brain death	IL-10	- Interleukin-10
CEPO	- carbamoylated erythropoietin	IL-12p40	- Interleukin-12p40
CI	- Confidence interval	iNOS	- Inducible nitric oxide synthase
CS	- Cold storage	IPK	- Isolated perfused kidney
DAB	- 3,3-diaminobenzidine tetrachloride	I/R	- Ischemia/reperfusion
DBD	- Deceased brain death	JAK-2	- Janus kinase-2
DCD	- Deceased circulatory death	Kim-1	- Kidney injury molecule-1
DGF	- Delayed graft function	LD	- Living donor
ECD	- Expanded criteria donor	LDH	- Lactaatdehydrogenase
eNOS	- Endothelial nitric oxide synthase	LDHA	- Lactate dehydrogenase A
EPO	- Erythropoietin	MAP	- Mean arterial pressure
EPOR	- Erythropoietin receptor	MCP-1	- Monocyte chemoattractant protein-1
ERI	- EPO resistance index	MCR	- Melanocortin receptor
Est.	- Estimated	NAG	- N-acetyl-b-D-glucosaminidase
GAPDH	- Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	NGAL	- Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
GEPO	- Glutaraldehyde EPO	NO _x	- Total nitrite and nitrate level
GFR	- Glomerular filtration rate	NR	- Normothermic recirculation
HAES	- Hydroxyethyl starch	PAS	- Periodic acid-Schiff
Hb	- Hemoglobin	PC	- Pyruvate carboxylase

PCK-1	- Phosphoenolpyruvate carboxykinase-1
pHBSP	- Pyroglutamate helix B-surface peptide
PI3K	- Phosphatidylinositol 3-kinase
PNF	- Primary non-function
qRT-PCR	- Quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction
RAAS	- Renin-angiotensin-aldosterone system
rhEPO	- Recombinant EPO
SNP	- Single nucleotide polymorphism
STAT5	- Signal transducer and activator of transcription-5
TGF- β	- Transforming growth factor- β
TNF- α	- Tumour necrosis factor- α
Tx	- Transplantation
UW	- University of Wisconsin
VEGFR2	- Vascular endothelial growth factor receptor-2
WI	- Warm ischemia
WME	- Williams' medium E
WT	- Wild-type

Anna K Keller

Department of Urology
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Bente Jespersen

Department of Renal Medicine
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Bouke G Hepkema

Department of Transplant Immunology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Cyril Moers

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Gerjan Navis

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Gertrude J Nieuwenhuijs-Moeke

Department of Anesthesiology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Harold Snieder

Department of Epidemiology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Harry van Goor

Dept. of Pathology and Medical Biology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Henri G D Leuvenink

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Henrik Birn

Department of Renal Medicine
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Jaap van den Born

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Jan-Luuk Hillebrands

Dept. of Pathology and Medical Biology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Jan Niesing

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Jeffrey Damman

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Jørgen Frøkiaer

The Water and Salt Research Center
Department of Clinical Medicine
Aarhus University
Denmark

Marc Seelen

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Marcory van Dijk

Dept. of Pathology and Medical Biology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Marlieke E van Rijt

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Martin de Borst

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Niels Secher

Department of Anesthesiology
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Petra J Ottens

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Gertrude J Nieuwenhuijs-Moeke

Department of Anesthesiology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Rikke Nørregaard

Department of Clinical Medicine
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Rutger J Ploeg

Nuffield Department of Surgical Sciences
John Radcliff Hospital
University of Oxford
United Kingdom

Søren Nielsen

The Water and Salt Research Center
Department of Biomedicine
Aarhus University
Denmark

Søren Rittig

Department of Pediatrics, Nephrology
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Steeff Sinkeler

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Stefan J L Bakker

Department of Nephrology
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Ulla Møldrup

Department of Urology
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Yahor Chynau

Department of Urology
Aarhus University Hospital
Aarhus University
Denmark

Zwanida J Veldhuis

Department of Surgery
University Medical Center Groningen
University of Groningen
The Netherlands

Willem G van Rijt, Niels Secher, Anna K Keller, Ulla Møldrup, Yahor Chynau, Rutger J Ploeg, Harry van Goor, Rikke Nørregaard, Henrik Birn, Jørgen Frøkiaer, Søren Rittig, Henri G D Leuvenink, Bente Jespersen

Triphasic response of glomerular filtration rate after experimental brain death in pigs

Submitted

Willem G van Rijt, Marc Seelen, Harold Snieder, Jeffrey Damman, Marlieke E van Rijt, Steef J Sinkeler, Jaap van den Born, Martin de Borst, Marcory van Dijk, Bouke G Hepkema, Jan-Luuk Hillebrands, Jan Niesing, Gerjan Navis, Rutger J Ploeg, Harry van Goor, Stefan J L Bakker, Henri G D Leuvenink

Functional EPO gene polymorphism rs1617640 affects graft survival after deceased donor kidney transplantation

Submitted

Willem G van Rijt, Ramon P de Wildt, Michiel A Tellier

Local anaesthetics containing epinephrine for use in the hand and fingers

Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde - 2014; 158(0): A7390

Willem G van Rijt, Niels Secher, Anna K Keller, Ulla Møldrup, Yahor Chynau, Rutger J Ploeg, Harry van Goor, Rikke Nørregaard, Henrik Birn, Jørgen Frøkiaer, Søren Nielsen, Henri G D Leuvenink, Bente Jespersen

α -melanocyte stimulating hormone treatment in pigs does not improve early graft function in kidney transplants from brain dead donors

Public Library of Science ONE - 2014; 9(4): e94609

Willem G van Rijt, Gertrude J Nieuwenhuijs-Moeke, Harry van Goor, Petra J Ottens, Rutger J Ploeg, Henri G D Leuvenink

Renoprotective capacities of non-erythropoietic EPO derivative, ARA290, following renal ischemia/reperfusion injury

Journal of Translational Medicine - 2013; 11(1): 286

Willem G van Rijt, Gertrude J Nieuwenhuijs-Moeke, Harry van Goor, Bente Jespersen, Petra J Ottens, Rutger J Ploeg, Henri G D Leuvenink

ARA290, a non-erythropoietic EPO derivative, attenuates renal ischemia/reperfusion injury

Journal of Translational Medicine - 2013; 11: 9,5876-11-9

Willem G van Rijt, Harry van Goor, Rutger J Ploeg, Henri G D Leuvenink

Erythropoietin-mediated protection in kidney transplantation: nonerythropoietic EPO derivatives improve function without increasing the risk of cardiovascular events

Transplant International - 2013; 27(3): 241-8

Cyril Moers, Willem G van Rijt, Rutger J Ploeg, Henri G D Leuvenink

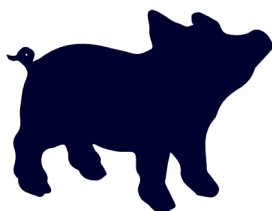
The effect of normothermic recirculation before cold preservation on post-transplant injury of ischemically injured donor kidneys

Transplant International - 2012; 25(2): 210-7





Acknowledgements



Inherent aan het MD/PhD traject is de verstrengeling van de studie geneeskunde en het promotieonderzoek. Mijn afstuderen, ruim een jaar geleden, voelde dan ook niet als het einde van mijn studententijd. Er stond immers nog een periode van onderzoek in de planning. Nu is ook mijn proefschrift klaar! Het schrijven van dit dankwoord voelt dan ook als het échte einde van mijn studententijd.

De verstrengeling van studietijd en promotie maakt dat ik begin met het bedanken van **Huize Oude Kijk**. Als ik hier niet was gaan wonen in mijn eerste jaar, dan had ik dit boekje nooit geschreven. **Elke Bos** introduceerde mij in de wondere wereld van Harry van Goor en Henri Leuvenink. Achteraf blijkt dit de succesvolle basis voor mijn promotieonderzoek. **Elke en de rest** – Bedankt! De jaren in het prachtige pand aan de Noorderhaven had ik niet willen missen!

Henri Leuvenink – In dit dankwoord ben je nu op de tweede plek terecht gekomen... Toch is het duidelijk dat ik jou de meeste dank verschuldigd ben. Je bent ongelofelijk scherp en je adviezen gaven richting tijdens de opzet en de uitvoer van elk experiment. Het was ontzettend leerzaam om bij alle fases in het onderzoek betrokken te worden. De eigen verantwoordelijkheid waardeer ik het meest, want dit gaf mij de kans ontzettend veel te kunnen leren. Tegen het einde van mijn promotie traject was het wél prettig dat je mijn artikelen in de trein ging lezen in plaats van in bad. Een ongekeerde versnelling. Je bent waarschijnlijk de enige in Nederland die niet wordt vertraagd door de NS.

In jouw ogen gedraagt de ideale PhD student zich als zelfrijzend bakmeel. In mijn ogen betekent dit dat de ideale promotor zich gedraagt als een bakblik. Het zelfrijzende proces wordt gekaderd, maar naar boven bestaat alle ruimte om te groeien. Mijn eigenwijsheid heeft wel enig deukje in het blik veroorzaakt, maar onder jouw begeleiding heb ik zeker kunnen rijzen.

De tweede belangrijke man voor de begeleiding van mijn onderzoek – **Harry van Goor**. Jij vormde de perfecte combinatie met Henri. Zelden waren jullie het met elkaar eens. In het begin van mijn promotie was dit lastig, maar naarmate mijn onderzoek vorderde werd dit leuk. Het gaf mij de ruimte zelf een afweging te maken tussen jullie meningen. Ik bewonder je doelgerichtheid. Als ik een directe en snelle oplossing nodig had, dan wist ik bij wie ik moest zijn!

Rutger Ploeg – Vanuit Oxford overzag u mijn promotietraject, want de dagelijkse bezigheden vonden plaats in Groningen en Aarhus. Dit weerhield u niet van waardevolle adviezen voor de verschillende onderzoeksprojecten en artikelen. In de toekomst hoop ik de manier waarop u onderzoek en kliniek combineert, te kunnen benaderen.

Dear Bente Jespersen – Early 2012, the opportunity arose to perform part of my experiments in Aarhus, Denmark. The best choice, I could have ever made! Aarhus is great, as is your research department. I really enjoyed living in Aarhus thanks to your help and hospitality. And of course, I highly appreciated your advice and comments to the articles we published! You are by far the quickest supervisor, as I never had to wait more than 24 hours for a reply!

Dear assessment committee: **prof. dr. J L Hillebrands, prof. dr. C A J M Gaillard and prof. dr. A Bader**, thanks for your critical reading and the assessment of my thesis.

Pieter-Paul Hekking – Ik ben onwijs blij dat jij één van mijn paranimfen bent! Clubgenoten, studiegenoten en uiteindelijk ook nog huisgenoten! Het was een geweldige periode: van onze eerste stapjes op het biljartlaken in de Merleyn tot fantastische avonden in de inspirerende Bloopers. Ik waardeer je enorm als één van mijn beste vrienden! In de afgelopen jaren heb ik diners, weekenden, vakanties en feesten met jou mogen organiseren. Met jou als paranimf wordt in ieder geval het feest na mijn promotie geweldig!

Jeroen van Dorp – Op 8-jarige leeftijd kwamen we bij elkaar in het hockeyteam en ondanks verschillende scholen, studies en woonplaatsen hebben we altijd contact gehouden. Dat jij mijn paranimf zou worden, was dan ook logisch. Temeer omdat wij ons eerste onderzoeksproject samen hebben uitgevoerd op de middelbare school. In het kader van ons profielwerkstuk hebben we verschillende soorten bier gebrouwen. Dit onderzoek – *retrospectief schortte er wel het één en ander aan de onderzoeksopzet* – leverde geen hoog cijfer op, maar wel een overvolle zaal bij de presentatie. Het brouwen ging blijkbaar best goed en ons plan om een brouwerij op te richten zit nog altijd in de pijplijn. Helaas zijn we wel een beetje voorbijgestreefd door tientallen hippe brouwerijen, die de laatste jaren zijn opgericht...

Marlieke van Rijt – Jouw kennis over statistiek was essentieel voor mijn promotie. Waar ik jaren geleden de keuze voor de simpelste testen niet goed kon onderbouwen, meende ik aan het einde van mijn promotie zelfs met jou te kunnen discussiëren over statistische problemen. Je lessen zijn dus zeker nuttig geweest. Mocht ik toch nog een moeilijke vraag krijgen over statistiek, dan ben ik blij dat jij achter mij staat als paranimf! Naast deze nuttige bijdrage ben je natuurlijk ook mijn allerliefste, oudste zus! Gunstig dat Zwolle een uur dicht bij Den Haag is en ik beloof vaker langs te komen! Hopelijk leer ik dan net zo goed surfen als statistieken.

Jacco Zwaagstra – De baas van het chirurgisch onderzoekslaboratorium. Zonder jou was ik waarschijnlijk meer kwijtgeraakt dan alleen het uiterste topje van mijn vinger. Jouw adviezen maken dat ik nooit meer onverzekerd op reis zal gaan en altijd netjes mijn jas dicht zal doen.

Petra Ottens – Onder jouw supervisie ben ik in 2007 begonnen op het chirurgisch onderzoekslaboratorium. Ik heb veel geleerd van jouw ervaring met de verschillende proefdiermodellen en dit was onmisbaar voor het succesvolle verloop van mijn promotietraject!

Suzanne Veldhuis – Helaas waren niet al onze experimenten een succes... Gelukkig waren alle uren in het proefdierlaboratorium wel gezellig. De top 500 van het 'Foute uur' is echt de perfecte muzikale begeleiding voor een operatie!

Uiteraard wil ik ook alle andere medewerkers van het chirurgisch onderzoekslaboratorium bedanken – **Janneke Wiersema-Buist, Jelle Adelmeijer, Ton Lisman, Wijnand Helfrich, Douwe Samplonius, Jurjen Gerssen en Rozemarijn Kox**. Daarnaast gaat ook mijn dank uit naar de studenten die hebben meegewerkt aan mijn projecten – **Marlot, Linde, Anneke en Ramya**.

Acknowledgements

Krakende ramen, onheilspellende tentjes en mannen in witten pakken suggereren weinig goeds voor de onderzoekskamers in het Triade gebouw. Toch was het zeker gezellig in deze krochten van het UMCG. **Jeffrey, Cyril, Greg, Marjolein, Rianne, Valerie, Paria, Rolando, Maxi, Andrie, Negin, Astrid, Leon, Dane, Bo, Freeha, Isalien, Kevin, Welmoet, Marc, Wilma, Alix, Anne en Simone** – Bedankt!

Marjan Bulthuis – Jij was mijn leidraad binnen de pathologie! Hartelijk dank voor de begeleiding bij de verschillende kleuringen en andere adviezen!

Gertrude Nieuwenhuijs–Moeke – Bedankt voor je nuttige bijdrage aan onze artikelen over ARA290. **Marc Seelen, Harold Snieder, Jeffrey Damman, Steef Sinkeler, Jaap van den Born, Martin de Borst, Marcory van Dijk, Bouke Hepkema, Jan-Luuk Hillebrands, Jan Niesing, Gerjan Navis en Stefan Bakker** – Hartelijk bedankt voor jullie hulp in het kader van de studie naar het effect van het EPO polymorfisme op de uitkomsten na transplantatie.

Het proefdierlaboratorium is een belangrijke plek geweest tijdens mijn promotietraject. Alle medewerkers van de Centrale Dienst Proefdieren wil ik bedanken voor de goede zorg voor mijn proefdieren. Mijn speciale dank gaat uit naar het microchirurgisch team – **Michel Weij, Andre Zandvoort en Annemieke Smit–van Oosten**. Jullie microchirurgische expertise was van groot belang voor de verschillende proefdiermodellen!

Dear Danes from Aarhus! **Nicoline and Kristian** – Many thanks for introducing me to Aarhus! **Niels** – Your experience with the brain dead model in pigs was crucial for our experiment. In future, we should reconsider the research design as baby-sitting two pigs for ten hours felt infinite... However, the Julebryg – *Christmas beer* – after finishing our experiments in the middle of the night was well-deserved! **C-Lab: Birgitte, Ilse, Lene, Karin** – Thanks for all your help with the sampling and analyses. **Henrik, Jørgen, Søren Nielsen and Søren Rittig** – Your advice in design of our study and interpretation of our data has been very helpful. **Anna, Ulla, Yahor and Øyvind** – Thanks for all surgical work! Dear **Rikke** – Your experience with the analysis of porcine samples was of great importance! **Niels, Chris and Vanaja** – Thanks for your great help in performing the animal experiments!

During my last weeks in Aarhus, sick pigs delayed our experiments. I won't forget that our complete transplant team worked in the weekend to finish our study on time! Aarhus is amazing!

De organisatie van de 'International Summer school of Oncology for Medical Students' was ook zeker een hoogtepunt van mijn studententijd! **Hylke, Judith, Joost, Fenna en Anniek** – Bedankt voor het mooie jaar! Geweldig om de 35 internationale studenten alle facetten van de oncologie én Groningen te laten zien. **Olga** – Bedankt voor alle wijze lessen over het leven in het ziekenhuis.

In 2008 heb ik met veel plezier in het dagelijks bestuur van het International Student Congres of Medical Sciences (ISCOMS) gezeten. **Mark, Florine, Ilse, Wim, Janneke, Maartje, Nicole en Rianne** – Ons congres was geweldig. De gezamenlijke congresbezoeken in Porto en Berlijn zal ik zeker niet vergeten, net als de flamboyante Nobelprijswinnaar met zijn tattoo stickers.

Mijn coschappen in Zwolle waren nooit zo leuk geweest als ik geen onderdeel was geweest van het bestuur van het jaarlijkse benefietdiner van de Isala klinieken. **Sanja, Anne-Fré, Flip, Jan en Marlot** – Fantastisch om ons samen in te zetten voor de Ronald McDonald huiskamer in het recent geopende ziekenhuis. Het diner in Havezathe den Alerdinck was een groot succes en de opbrengst was boven verwachting!

JC B'Nobo – Alle avonden, weekenden en reizen in de afgelopen jaren heb ik enorm gewaardeerd. Op een paard door de Colombiaanse Páramo was het letterlijke hoogtepunt, maar dat is slechts één van de vele onvergetelijke momenten. Tijdens mijn onderzoek heb ik altijd genoten van de 'live verslagen' van grote sportevenementen in onze Whatsapp-groep. Dankzij jullie heb ik in de afgelopen jaren geen enkel belangrijk en minder belangrijk sportnieuwtje gemist.

De laatste jaren heeft mijn racefiets voor vele kilometers ontspanning gezorgd. **Jan-Willem, Jeroen, Flip, Hylke en alle anderen** – Ik kijk nu al uit naar de volgende tochten door de Ardennen, Alpen of Dolomieten, maar het jaarlijkse hoogtepunt blijft natuurlijk de La Chouffe Classic.

Lieve **oma** – Ik heb u laten wachten op mijn afstuderen! In plaats van de beloofde zes jaar, zijn we nu al bijna tien jaar verder... Hopelijk maakt dit boekje het goed!

Ties – Leuk om te zien dat je het zo goed naar je zin hebt in Groningen. En indrukwekkend hoe jij al je commissies, sport en studie combineert! Het is wel gewaagd om als onderdeel van het nierteam op 'mijn' laboratorium te gaan werken... Een snelle blik leert dat je net zo goed bent in het gebruik van handschoenen en labjassen. Succes met Jacco.

Willemijn – Mijn allerliefste, jongste zus! Ongelofelijk knap hoe jij bezig bent met je onderzoek bij de kindergeneeskunde. Ik twijfel er niet aan dat jouw promotie snel gaat volgen! Nogmaals bedankt voor je kritische commentaar op de Engelse grammatica van de verscheidene hoofdstukken. Leuk dat jij zeven jaar later ook het ISCOMS zal gaan organiseren. Jij, als voorzitter van het 'scientific programme', bent een garantie voor een vooruitstrevend congres!

Han en José – Tot slot wil ik ook jullie hartelijk bedanken voor alle goede adviezen en steun de afgelopen jaren. Fijn dat ik altijd even een maandje bij jullie mocht logeren als ik weer eens niet op tijd een kamer of huis geregeld had. **Han** – Sinds het afronden van mijn middelbare school is het er nog steeds niet van gekomen om een weekend weg te gaan... Ik stel voor dat we dit nu écht snel gaan doen! **José** – Zo stoer dat jij nu nog bent begonnen met de opleiding tot psychiater! En geestig dat we nu dus tegelijkertijd arts-assistent zijn. Ik weet zeker dat het helemaal goed komt! Heel veel succes!

Biography

Geert was born in Twello on the 22nd of January 1987. He moved to Zwolle at the age of six and he attended the 'Geert Grote' primary school. In 2005, he graduated from 'Gymnasium Celeanum' and he choose Groningen to study Medicine.

In his Bachelor of Medicine, Geert immediately focussed on the surgical specialties. He performed a pilot project at the surgical research laboratory and he was immediately enthusiastic about the work of Henri Leuvenink and Harry van Goor to improve outcome of renal transplantation. After finishing his Bachelor of Medicine, he continued with his research internship, entitled: ARA290, a cytoprotective candidate drug against renal ischemia/reperfusion injury. Based on this work, Geert successfully applied for the MD/PhD programme to combine his Master of Medicine with a PhD project. An important part of this MD/PhD project was performed in Aarhus, Denmark.

Next to his research and study, Geert organized the International Summer school Oncology for Medical Students in 2007. The following year he was treasurer of the International Student Congress of Medical Sciences. In 2012, Geert organized the yearly charity dinner of the Isala Clinics in Zwolle. He obtained his Master of Medicine in August 2013.

On the first of August 2014, Geert started as intern at the department of Plastic, Reconstructive and Hand Surgery of the Isala Clinics in Zwolle.

