

University of Groningen

## Hemostatic system activation and reperfusion injury in liver machine preservation and transplantation of extended criteria donor livers

Karangwa, Shanice

DOI:  
[10.33612/diss.161905515](https://doi.org/10.33612/diss.161905515)

**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:*  
2021

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

*Citation for published version (APA):*

Karangwa, S. (2021). *Hemostatic system activation and reperfusion injury in liver machine preservation and transplantation of extended criteria donor livers*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.161905515>

### 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.*



# **Nederlandse samenvatting**

## INTRODUCTIE

Levertransplantatie is de enige levensreddende behandeling voor patiënten met eindstadium leverfalen of bepaalde soorten levermaligniteiten. Helaas zijn er meer patiënten die een donorlever nodig hebben dan dat er donorlevers beschikbaar zijn voor transplantatie. Dit tekort leidt jaarlijks tot een 10% sterftecijfer van patiënten op de wachtlijst.

Om de schaarste aan donororganen aan te pakken, wordt er steeds meer gezocht naar mogelijkheden om de donororgaanpool uit te breiden. In de afgelopen decennia hebben verschillende regeringen en ministeries van volksgezondheid publiekscampagnes gelanceerd om het aantal geregistreerde donoren te vergroten. Desondanks zijn het niet deze campagnes die verantwoordelijk zijn voor het leeuwendeel van de extra donororganen. De grootste aanwas van organen wordt veroorzaakt door het toegenomen gebruik van donorlevers van mindere kwaliteit, de zogeheten “extended criteria donorlevers” (ECD). Dit zijn bijvoorbeeld levers van oudere donoren, vervette levers of levers die uitgenomen zijn van patiënten die overleden zijn na het stoppen van de bloedsomloop als gevolg van een hartstilstand (*donation after circulatory death (DCD) donoren*). In Nederland waren in 2019 zelfs meer dan 50% van de overleden donortransplantaties afkomstig van DCD donoren. Hoewel het gebruik van ECD-DCD levers heeft geresulteerd in succesvolle transplantaties, resulteert transplantatie van deze levers in een grotere kans op complicaties zowel gedurende als na transplantatie. Complicaties zoals bloedingen, stollingsproblemen en galwegcomplicaties worden frequent gezien en zijn met name het gevolg van een zuurstoftekort (ischemie) wat tijdens de uitname en het bewaren van de donorlever voor transplantatie optreedt en wat leidt tot ischemie-reperfusie schade tijdens transplantatie.

In de afgelopen jaren is er veel onderzoek gedaan naar machineperfusie van donorlevers. Bij deze veelbelovende techniek, wordt een orgaan doorgespoeld met een vloeistof vergelijkbaar met bloed en zuurstof door een machine buiten het lichaam (*ex situ*). Machineperfusie kan een aantal doelen dienen, namelijk; resuscitatie (het verbeteren van de kwaliteit van het orgaan), het testen van de functie en vitaliteit van het orgaan, en reparatie

(waardoor machineperfusie de mogelijkheid biedt om geneesmiddelen of andere middelen toe te dienen om het orgaan te optimaliseren dan wel repareren). Hierdoor wordt met machineperfusie gestreefd om de complicaties bij ECD-DCD transplantatie te verminderen en gepoogd om de overleving van patiënten te vergroten.

In dit proefschrift wordt meer inzicht verschaft in (1) de incidentie van bloedingen en stollingsproblemen in DCD transplantatie, (2) machineperfusie als een methode om ECD-DCD donorlevers (beter) te conserveren om intra- en postoperatieve complicaties te verminderen en (3) het effect van machineperfusie op de stollingssysteem en op ischemie-reperfusie schade in ECD-DCD donorlevers.

Hieronder volgt een samenvatting van de bijhorende studies in dit proefschrift. Het eerste deel zal focussen op bloedingsrisico en hemostase tijdens levertransplantatie en machineperfusie. De tweede deel bevat studies gefocust op ischemie-reperfusie schade en machineperfusie als een methode om donorlevers beter te bewaren en ischemie-reperfusie schade te verminderen.

**Hoofdstuk 1** dient als algemene inleiding en beschrijft de opzet van dit proefschrift.

Het specifieke effect van transplantatie van een DCD lever op de hemostase en het stollingssysteem tijdens transplantatie is niet volledig bekend. Daarom hebben we in **Hoofdstuk 2** onderzocht of transplantatie van DCD levers in vergelijking met levers die uitgenomen zijn na het gevolg van hersendood (DBD (*donation after brain death*)) geassocieerd is met een verhoogde incidentie van (ernstig) bloedverlies en een grotere behoefte aan bloedtransfusies tijdens transplantatie. Bloedverlies tijdens levertransplantatie is een belangrijke risicofactor voor morbiditeit en in ernstige gevallen, vooral in het verleden, (de vroege jaren van levertransplantatie), nogal eens tot mortaliteit. Bovendien zijn bloedtransfusies vaak geassocieerd met een verhoogd risico op postoperatieve complicaties. Voor deze retrospectieve studie werden de intra-operatieve gegevens geanalyseerd die zijn verzameld gedurende alle primaire levertransplantaties bij

volwassenen die in het UMCG de afgelopen 20 jaar zijn uitgevoerd. We concludeerden dat ontvangers van DCD donor levers (vergeleken met ontvangers van DBD donor levers) geen verhoogd risico lopen op meer bloedverlies na reperfusie. De hoeveelheid van bloed- en plaatjestransfusies was hetzelfde in beide groepen (DCD en DBD). Gezamenlijk duiden deze resultaten erop dat het selectieve gebruik van DCD donor levers resulteert in veilige en succesvolle transplantatieprocedures zonder patiënten bloot te stellen aan een verhoogde kans op ernstig bloedverlies.

Het doel van **Hoofdstuk 3** was om te bepalen of activatie van het stollingssysteem optreedt tijdens normotherme machineperfusie (NMP; machineperfusie op lichaamstemperatuur) en welke impact dit kan hebben op het voorspellen van de functie en /of beschadiging van ECD-DCD donorlevers. Twaalf ECD-donorlevers die niet geschikt waren voor transplantatie ondergingen 6 uur NMP waarbij markers van het stollingssysteem en het fibrinolytische systeem regelmatig in het perfusievloeistof tijdens NMP werden gemeten. Bovendien werden leverbiopten onderzocht op de aanwezigheid van fibrinevorming (stolselvorming). Er werd geen toename van markers van de activatie van het stollingssysteem gezien gedurende NMP. Histologische analyse leverde geen bewijs van nieuwe fibrine(stolsel)vorming. Daarentegen namen de levels van fibrinolytische markers significant toe kort na het starten van NMP. De concentratie van D-dimeer (een fibrinolytische marker) correleerde ook significant met de concentratie van de marker van weefselschade ALT gedurende NMP. Met deze resultaten concludeerden we dat NMP resulteert in de activatie van het fibrinolytisch- en niet het stollingssysteem. Dat betekent dat ECD-DCD levers eerdere een hoger risico op bloedingen hebben dan een kans op stolselvorming tijdens machineperfusie. Bovendien, zouden fibrinolytische markers mogelijk als markers voor (ernstig) schade en voorspellers van een slechte levertransplantaatfunctie kunnen dienen, aangezien de activatie van fibrinolyse significant correleert met markers van ischemie-reperfusie schade.

**Hoofdstuk 4** bevat een studie waarbij de hoeveelheid en snelheid van stollings- en fibrinolytisch (gezamenlijk bekend als, hemostatische) eiwitproductie tijdens ex-situ NMP wordt onderzocht. NMP wordt op lichaamstemperatuur (37 °C) uitgevoerd waardoor de donorlevers de gewoonlijke metabolische en synthetische functies, zoals hemostatische eiwitproductie hervatten. Echter moet de hoeveelheid en snelheid van deze productie nog duidelijker worden bepaald. In deze studie ondergingen zes donorlevers die ongeschikt waren voor transplantatie, 6 uur NMP met een plasmavrije perfusievloeistof. Concentraties van belangrijke stollingseiwitten en fibrinolytische eiwitten die gemaakt werden tijdens NMP, werden in het perfusievloeistof gemeten. Van bijna alle gemeten eiwitten werden er netto stijgingen van meer dan 50% binnen de 6 uur gemeten. Met deze resultaten hebben we aangetoond dat donorlevers in staat zijn om aanzienlijke hoeveelheden hemostatische eiwitten te produceren tijdens een relatief korte periode van NMP. Aangezien (klinische) NMP steeds vaker voor langere periodes wordt uitgevoerd, benadrukken onze bevindingen het belang van de noodzaak van het toedienen van adequate antistollingstherapie tijdens NMP van donor levers.

**Hoofdstuk 5** geeft een samenvatting van gepubliceerde literatuur over het antistollingsbeleid tijdens machineperfusie. Onze groep is tot nu toe de enige groep die grondig onderzoek doet naar hemostase in donorlevers tijdens ex situ machineperfusie. Gezien de toenemende implementatie van (klinische) NMP, was het doel van deze review om een overzicht te geven van de huidige antistollingsprotocollen (de variatie in doseringen en toediening van deze middelen) die gebruikt zijn tijdens machineperfusie van donorlevers in de verschillende transplantatie centra wereldwijd. Verder wordt de mogelijkheid van het gebruik van verschillende soorten antistolling (anticoagulantia) tijdens de verschillende fasen van NMP, en het gebruik van de door de lever gemaakte stollingseiwitten als vitaliteit en functiemarkers van de donorlever tijdens ex situ NMP besproken.

Galwegstricturen, met name de niet-anastomotische galstricturen (NAS) zijn een van de meest voorkomende complicaties na levertransplantatie. Het is bekend dat patiënten die een

ECD lever (met name DCD levers) krijgen, een verhoogd risico op galwegcomplicaties hebben. Een groot deel van dit risico op (galweg-) complicaties wordt bepaald door ischemie-reperfusie schade. Gezien de extra ischemie die DCD donorlevers doorgaans ondergaan, zijn ze bijzonder vatbaar voor het ontwikkelen van NAS. De galboom wordt voornamelijk door de leverslagader doorbloed. Daarom stelden we in **Hoofdstuk 6** de hypothese dat een kortere arterialisatietijd (het eerste aanleggen van de leverslagaderanastomose [en dus snellere doorbloeding via de leverslagader]) tijdens implantatie zou resulteren in een lagere incidentie van NAS in DCD levertransplantatie, gezien de kortere ischemie van de galboom. Onze resultaten liet echter zien dat in 26% van het totale cohort (n=289) werd gediagnosticeerd. Multivariate cox proportional-hazards regressieanalyse toonde aan dat arterialisatietijd geen onafhankelijke risicofactor was voor de ontwikkeling van NAS. De arterialisatietijd blijkt niet geassocieerd te zijn met de ontwikkeling van NAS mits niet uitgebreid verlengd. Het is daarom voor transplantatiechirurgen niet noodzakelijk om eerst de arteriële anastomose uit te voeren, in tegenstelling tot de standaard poortaderanastomose, alleen om de ontwikkeling van NAS te voorkomen.

**Hoofdstuk 7** bevat een review van de literatuur waarin de verschillen en variatie in technieken en methodologie van machineperfusie van donorlevers wordt besproken. Deze review toonde aan dat verschillende termen vaak worden gebruikt om dezelfde modaliteit van machineperfusie aan te duiden. Daarnaast zijn de temperatuurintervallen die gebruikt worden en gerapporteerd zijn voor bepaalde soorten machineperfusie zeer variabel, en ontbreekt soms het benoemen van enkele cruciale aspecten van de methodologie van machineperfusie. Deze review stelde een standaard van de nomenclatuur voor en leverde richtlijnen en advies op over hoe methodologie gerapporteerd kan worden. Dit om vergelijking en klinische implementatie van lever machineperfusie voor toekomstige studies te vergemakkelijken.



**Hoofdstuk 8** richt zich op hypotherme machineperfusie (HMP) en op de rol die HMP speelt bij het verminderen van ischemie-reperfusie letsel. Hier wordt het beschermende effect van HMP besproken door veelbelovende resultaten van alle tot dusver uitgevoerde klinische onderzoeken van HMP te presenteren. Bovendien wordt de mogelijkheid besproken om de functie en vitaliteit van donor levers tijdens HMP te testen middels het meten van mitochondria-afgeleid flavinemononucleotide (FMN). Ten slotte beschrijven we de schade aan de galboom tijdens de processen van DCD leverdonatie, preservatie en transplantatie, en schetsen we het beschermende effect dat HMP heeft op de galboom om de risico op de veelvoorkomende galwegcomplicaties te voorkomen dan wel verminderen.

**Hoofdstuk 9** is een pilotstudie die de veiligheid en efficiëntie van cytokine-adsorptie tijdens NMP van DCD donorlevers onderzoekt. Als een donor lever weer doorbloed wordt na een periode van ischemie (reperfusie), worden cytokines door de lever uitgescheiden. Deze cytokines spelen onder andere een significante rol in het optreden van ischemie-reperfusieschade. De CytoSorb-cytokine-adsorber is een niet-selectieve adsorber die is ontworpen om zowel pro- als ontstekingsremmende cytokines te verwijderen. In deze studie ondergingen zes varkenslevers die willekeurig (gerandomiseerd) waren toegewezen aan twee groepen (NMP met of zonder toevoeging van een cytokine-adsorber) drie uur lang NMP. Er werd geen afname van cytokines in het perfusievloeistof van de groep met een cytokine adsorber waargenomen. De concentratie van de gemeten cytokines waren in beide groepen op alle tijdstippen tijdens NMP hetzelfde. Deze bevindingen suggereren dat de CytoSorb-cytokine-adsorber niet efficiënt was in het verwijderen van inflammatoire mediators tijdens de drie uur NMP. Desalniettemin leidde de toevoeging van de CytoSorb-adsorber niet tot complicaties of beschadiging van het transplantaat tijdens en na de perfusie, en was de functie van de levers in de interventiegroep vergelijkbaar met controles. Daarom hebben we uit deze voorlopige proof-of-concept studie geconcludeerd dat cytokine-adsorptie tijdens NMP van donorlevers wel veilig is. De werkzaamheid moet in toekomstige studies echter nog worden bepaald.