



Samenvatting van het proefschrift

M.J. Reiniers

"Visualizing and targeting oxidative stress in hepatic ischemia-reperfusion injury"

Promotiedatum: 5 juli 2017

Universiteit: Universiteit van Amsterdam

Promotor:

Prof. dr. T.M. van Gulik

Copromotor:

Dr. M.Heger

Ischemie-reperfusie (IR) schade is het onvermijdelijke gevolg van leverresecties die worden uitgevoerd in combinatie met vasculaire inflow occlusie (VIO), het afklemmen van de arteriële en veneuze bloedtoevoer naar de lever. Hepatocellulaire oxidatieve stress speelt een belangrijke rol bij de pathofysiologie van IR schade, met name in de vroege reperfusiefase (0–30 min). Hoewel oxidatieve stress een belangrijk onderdeel vormt van IR schade blijft het ontwikkelen van in vitro en in vivo modellen om oxidant productie te bestuderen een uitdaging. Redox-actieve fluorogene probes zoals 2',7'-dichlorodihydrofluoresceïne diacetaat (DCFH₂-DA) zijn een veelgebruikte methode om oxidatieve stress in vitro te bestuderen.

De expressie van transporter eiwitten op het hepatocellulaire plasmamembraan werpt echter belangrijke beperkingen op met betrekking tot het gebruik van fluorescente en fluorogene probes op hepatocyten en afgeleide cellijnen. Zodoende werd het gebruik van DCFH₂-DA op van hepatocyten afgeleide HepG2 en HepaRG cellen geoptimaliseerd.

Daarnaast werd een methode ontwikkeld om DCFH₂ te bereiden en purificeren uit DCFH₂-DA. DCFH₂ werd vervolgens gebruikt om meerdere in vitro modellen te ontwikkelen voor het bestuderen van oxidatieve stress. Zo kon onder andere worden aangetoond dat geactiveerde RAW 264.7 macrofagen, een model cellijn voor Kupffer cellen, met name extracellulaire oxidanten produceren die mogelijk schadelijk zijn voor omliggende cellen (i.e. hepatocyten). Voorts werd een hepatocyt-specifiek liposomaal delivery systeem ontwikkeld waarmee het meer hydrofiele 5(6)-carboxy-DCFH₂ gebruikt kon worden om in vivo hepatocellulaire oxidatieve stress tijdens IR aan te tonen in een gevalideerd muismodel.

Daarnaast werd het beschermende effect van hypothermie middels in situ hypotherme perfusie (IHP) onderzocht in patiënten die een rechtszijdige leverresectie ondergingen in combinatie met VIO. Hiervoor werd een nieuwe techniek ontwikkeld, waarbij het perfusaat retrograad gedraineerd werd (i.e. via het arteriële vaatbed; IHP-R). Vervolgens werd deze nieuwe techniek vergeleken met de gouden standaard voor VIO, namelijk intermitterend VIO, waarbij kon worden aangetoond dat de post-operatieve regeneratie van leverfunctie verbeterde na IHP-R vergeleken met intermitterend VIO.