

University of Groningen

Brain death and organ donation

Hoeksma, Dane

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:

2017

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

Citation for published version (APA):

Hoeksma, D. (2017). *Brain death and organ donation: Observations and interventions*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

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.

CHAPTER

English and Dutch Summary

9

ENGLISH SUMMARY

Background

Organ transplantation is the golden standard for the treatment of chronic organ failure. However, donor shortage leads to long waiting lists for transplant patients which increases the risk of serious complications and even mortality. Besides the donor shortage, suboptimal quality of donor organs is another problem which affects transplantation patients. The quality of donor organs determines transplantation outcomes and thereby influences waiting lists. In most cases, organs are donated after death, with exception of the kidney and sometimes the liver. Deceased donors can be classified into two groups, namely heart-beating donors, also known as brain-dead donors, and non-heart beating donors. Between the two, long-term outcomes are comparable but non-heart beating organs suffer from an elongated period of post-operative recovery in the recipient. All solid organs are transplantable from heart-beating donors because heart function and thereby blood circulation are not compromised. In non-heart beating donors, the cessation of blood flow due to cardiac arrest threatens the quality of donor organs, with exception of the kidney and sometimes the liver, to an extent that renders them unacceptable for transplantation. Unfortunately, the state of brain death also negatively impacts organ quality. The goal of this thesis was to describe the detrimental effects of brain-death related processes in the donor, during preservation (the period between explanation from the donor and implantation in the recipient) and reperfusion (the restoration of blood flow to the implanted organ in the recipient) in the recipient. By doing so, we hope to elucidate brain-death related processes responsible for the inferior transplantation outcomes compared to living donation. With this knowledge, we wish to put forward treatments to ameliorate transplantation outcomes.

Clinical research shows that living donation leads to better renal transplantation outcomes compared to donation after brain-death. As such, the state of brain death itself influences organ quality and thereby forms a risk factor for inferior transplantation outcomes. Brain death leads to an array of pathological effects in the donor. In the brain-dead donor, the dying cerebrum causes hemodynamic instability, a systemic state of inflammation, and decreased secretion of hormones. Despite extensive experimental and clinical research, so far, only the administration of dopamine to brain-dead donors as well as cooling of the donor to subnormothermic temperatures have proven beneficial effects on renal function in the recipient and decrease the incidence of delayed graft function (DGF), the need for dialysis in the first week after transplantation. Furthermore, dopamine administration leads to decreased mortality in cardiac transplant recipients.

Besides the detrimental effects taking place in the donor, other phases of the transplantation process can elicit hazardous effects on organs as well. During surgery, cessation of the blood leads to a period of no oxygen supply to the organ and oxygen, the so called "ischemic phase". The longer the ischemic phase lasts, the more damage will be apparent. The organ is subsequently stored in special cooling liquid (0-4 degrees) or preserved while perfused on an organ pump to keep damage to a minimum. The damage endured by the ischemic phase becomes apparent when the organ is reconnected to the recipient's blood supply and subsequently receives warm blood and oxygen, "the reperfusion phase". The damage caused by reperfusion is likely mediated through the formation of oxygen radicals, the so called "oxidative stress". Together, the damage caused during the ischemic- and reperfusion phase are named

ischemia-reperfusion injury. Ischemia-reperfusion injury is more evident when organs are transplanted from brain-dead compared to living donors. Counteracting oxygen radical formation during reperfusion has proven beneficial effects in experimental models but shows varying effects in the clinical setting.

Observations

Brain death is the result of increased pressure in the brain leading to decreased perfusion to the brain with results in irreversible brain damage. The speed at which this pressure, also known as intracranial pressure, increases is variable and probably dependent on the nature of the underlying mechanism of injury. In **Chapter 2 and 3** we show that the speed at which brain death is induced is a determining factor for the extent of organ damage in the donor. In **Chapter 2** we showed that a slow brain death induction leads to decreased kidney function and increased renal inflammation and oxidative stress in the donor compared to fast induction. In the liver, slow induction led to increased expression of inflammatory markers and cell death markers. However, functional markers such as AST and ALT were not affected by induction speed. These observations support the notion that the speed at which brain death becomes evident should be considered when choosing the optimal donor management strategy. In contrast to chapter 2, in **Chapter 3** we show that a faster brain death induction led to more detrimental effects in the lungs, evidenced by histological damage such as infarctions, hemorrhage, and edema. The differential response to the two induction speeds in the kidney and liver on the one hand and the lung on the other hand is likely related to differences in hemodynamics between the two models. The slow induction model initially results in low systemic blood pressure resulting in more pronounced effects in the abdominal organs including the kidney and liver. The lung, on the other hand, is an organ that is less affected by low blood pressure. Therefore, the sudden surge in blood pressure elicited by fast induction is likely the cause of increased lung damage due to rupturing of the capillary-alveolar membrane.

In **Chapter 4** we showed that brain death also led to increased expression of renal oxidative stress markers in the donor with higher expressions after slower brain death induction. Besides increased levels of lipid peroxidation, which is a marker of oxidative damage to fatty acids, we also observed increased expression of the superoxide radical in the kidney following brain death. These results led to the speculation that superoxide production could play an initiating role in lipid peroxidation in the donor, which correlates with DGF in renal transplant recipients. Furthermore, we theorize that increased superoxide levels at the beginning of the brain death period are likely related to the hemodynamic instability during the induction. The increased superoxide levels observed at the end of the brain-dead are likely related to regional perfusion defects in the kidneys. This is supported by **Chapter 5**, in which we show that regional renal perfusion diminishes over the course of the brain death period while systematic blood pressure levels are maintained within a physiological range. This suggests that maintenance of adequate blood pressure levels alone is likely not sufficient in decreasing oxidative stress. Therefore, alternative strategies to improve and treat changes caused by diminished renal perfusion, such as the administration of superoxide scavengers, could be essential.

Interventions

To test the effects of administration of superoxide scavengers, in **Chapter 6** we pre-treated brain-dead rats with the superoxide scavenger MnTMPyP. MnTMPyP pre-treatment led to decreased levels of renal superoxide and lipid peroxidation. However, no differences were

observed in renal function or renal expression of inflammatory markers in the brain-dead rat. Since lipid peroxidation levels correlate with DGF, we hypothesized that improved renal function by MnTMPyP treatment of brain-dead rats could become evident not until after reperfusion. Therefore, in **Chapter 7** we reperfused kidneys of brain-dead rats that were pre-treated with MnTMPyP in an ex vivo isolated perfusion kidney (IPK) system. We observed that pre-treatment with MnTMPyP indeed improved renal function during reperfusion. These significant results pave the way for further research on the beneficial effects of MnTMPyP in renal transplantations.

Conclusion

Brain death leads to detrimental effects in the future organ grafts, which negatively influence transplantation outcomes. In this thesis, we show that the speed at which brain death is induced is decisive in the extent of damage to the kidney, liver, and lungs. Furthermore, we show that the administration of anti-oxidative therapy to brain-dead rats leads to beneficial effects in the kidney. Therefore, this work paves the way for future research into the detrimental effects of brain death and its prevention using donor-specific management strategies.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Achtergrond

Orgaantransplantatie is de gouden standaard voor de behandeling van patiënten met eindstadium orgaan falen. Echter, het tekort aan donororganen leidt tot lange wachtlijsten en naarmate patiënten langer op de wachtlijst staan, vergroot hun risico op ernstige complicaties en zelfs overlijden. Naast het donortekort, vormt de soms verminderde kwaliteit van donororganen tevens een groot probleem voor transplantatie patiënten. De kwaliteit van donororganen is bepalend voor transplantatie-uitkomsten en beïnvloedt daarmee ook wachtlijsten. De meeste organen zijn afkomstig uit donoren die overleden zijn, met uitzondering van de nier en sporadisch de lever die ook uit een levende donor getransplanteerd kunnen worden. Overleden donoren kunnen worden onderverdeeld in harddode- en hersendode donoren. Van deze twee groepen zijn de transplantatie uitkomsten op langere termijn vergelijkbaar maar laten organen afkomstig uit harddode donoren een minder gunstig postoperatief herstel zien. Bij hersendode donoren blijft de hartfunctie gewaarborgd waardoor de bloedcirculatie na het vaststellen van hersendood in stand wordt gehouden. Mede hierdoor kunnen in theorie alle solide organen getransplanteerd worden. Anderzijds is bij harddode donoren het stoppen van de circulatie door een hartstilstand voor de meeste organen (met uitzondering van nier en lever) een grote aanslag op de orgaankwaliteit waardoor transplantatie van dergelijke organen als te risicovol wordt geacht. Helaas heeft ook het intreden van hersendood negatieve effecten op de orgaankwaliteit en zijn transplantatie-uitkomsten van hersendode organen minder gunstig vergeleken met organen uit een levende donor. Het doel van dit proefschrift was om hersendood-gerelateerde processen in de donor, tijdens orgaan preservatie (de periode na uitname in de donor en implantatie in de ontvanger) en reperfusie (de terugkeer van bloed in het geïmplanteerde orgaan in de ontvanger) in de ontvanger te onderzoeken. In verschillende studies hebben we onderzocht welke processen tijdens hersendood mogelijk verantwoordelijk zijn voor de uiteindelijk slechtere transplantatie-uitkomsten in vergelijking met levende donatie. Uiteindelijk hopen we met deze kennis behandelingen te kunnen ontwikkelen en implementeren om hiermee transplantatie-uitkomsten te verbeteren.

Uit klinisch onderzoek blijkt dat levende donatie leidt tot betere niertransplantatie-uitkomsten in vergelijking met donatie na hersendood. Hieruit blijkt dat hersendood-gerelateerde processen de orgaankwaliteit kunnen beïnvloeden en dus een risicofactor vormen voor verslechterde transplantatie-uitkomsten. Hersendood leidt tot een breed scala aan pathologische effecten in de donor. Door het afsterven van de hersenen ontstaat er in het lichaam van de donor een instabiele bloedsomloop, algehele steriele ontstekingsreactie en veranderde hormoonuitscheiding. Ondanks vele experimentele- en klinische studies is tot dusver alleen de toediening van dopamine aan hersendode donoren en het koelen van de donor effectief gebleken in het verbeteren van de nierfunctie in ontvangers en verminderen de incidentie van "delayed graft function" (DGF), de noodzaak tot dialyse in de eerste week na transplantatie. Tevens leidde dopamine toediening aan hersendode donoren tot verminderde mortaliteit in ontvangers van harttransplantaties.

Naast de schadelijke effecten die plaatsvinden in de donor zijn er vervolgens meerdere fases in het transplantatieproces waarbij organen schade kunnen oplopen. Vanaf de uitname in de donor volgt een periode waarin het orgaan geen bloed en dus geen zuurstof meer krijgt. Deze periode wordt de ischemie-fase genoemd en des te langer deze periode duurt, des te meer schade het orgaan oploopt. Na uitname van het orgaan wordt gepoogd de schade te beperken door het orgaan te "preserveren" in een speciale

koude bewaarvloeistof of door het doorspoelen van het orgaan op een pomp. De schade die het orgaan tijdens de ischemie-fase oploopt wordt evident wanneer het orgaan tijdens de eigenlijke transplantatie aan de bloedcirculatie van de ontvanger wordt gekoppeld en weer wordt voorzien van warm zuurstofrijk bloed, de zogeheten "reperfusie-fase". De schade die tijdens deze fase ontstaat is waarschijnlijk gemedieerd door de vorming van zuurstofradicalen uit de zuurstofmoleculen in het bloed, de zogeheten "oxidatieve stress". Tezamen wordt de schade die tijdens de ischemie en reperfusie ontstaat ook wel ischemie-reperfusie schade genoemd. Onderzoek toont aan dat organen uit hersendode-donoren meer ischemie-reperfusie schade oplopen dan levende donoren. Experimentele data laat zien dat het wegvangen van zuurstofradicalen tijdens de reperfusie-fase leidt tot een verbetering van de nierfunctie na transplantatie. Echter, in de klinische setting heeft het wegvangen van zuurstofradicalen tot wisselende resultaten geleid.

Observaties

Hersendood is het resultaat van toenemende druk in de hersenen met als gevolg het tekortschieten van de bloedsomloop naar het brein en daaropvolgend irreversibele hersenschade. De snelheid waarmee de druk in de hersenen, ook wel intracranieële druk genoemd, toeneemt is in de kliniek zeer variabel en waarschijnlijk afhankelijk van de aard van het achterliggende mechanisme waardoor hersendood geïnduceerd wordt. In **Hoofdstuk 2 en 3** laten wij zien dat de snelheid waarmee hersendood geïnduceerd wordt bepalend is voor de mate van schade in de donororganen. **Hoofdstuk 2** laat zien dat in de nier, een langzamere inductie van hersendood leidde tot verminderde orgaanfunctie en verhoogde ontstekingswaardes en oxidatieve stress in de donor, in vergelijking met een snelle inductie. In de lever zagen we dat een langzamere inductie tot verhoogde ontstekingswaardes en celdood leidt, waarbij schademarkers in het bloed (AST en ALT) niet verhoogd zijn. Deze bevindingen suggereren dat de snelheid waarmee hersendood intreedt invloed heeft op de orgaan kwaliteit en daarmee bepalend zou kunnen zijn in het kiezen van de optimale donor-management-strategieën bij de behandeling van een hersendode donor. In **Hoofdstuk 3** laten we zien dat in de longen juist een snelle inductie leidt tot meer nadelige effecten. Een snelle inductie zorgde namelijk voor meer schade op weefselniveau zoals longinfarcten, bloedingen en oedeem. De verschillende responsen in enerzijds de longen en anderzijds de lever en nier is wellicht te verklaren door een verschillende respons van deze organen op bloeddruk veranderingen. Een langzamere inductie zorgt tijdelijk voor een lage systemische bloeddruk wat waarschijnlijk resulteert in meer schade in abdominale organen zoals de nier en lever. De long daarentegen is een orgaan wat relatief ongevoelig is voor een lage bloeddruk, maar des te meer voor een hoge bloeddruk. Een snelle inductie en de daarmee gepaard gaande hogere bloeddruk is waarschijnlijk moeilijker te verdragen door de longen als gevolg van schade aan het alveolocapillaire membraan.

In **Hoofdstuk 4** laten we zien dat hersendood tot een verhoogde expressie van oxidatieve stress markers in de nier van de donor leidde, waarbij er sprake was van een meer uitgesproken verhoging na langzamere inductie. In deze studie zagen we naast verhoogde niveaus van lipide peroxidatie, het gevolg van oxidatieve schade aan vetzuren (MDA), eveneens verhoogde niveaus van het zuurstofradicaal superoxide in de nier. Wij speculeerden naar aanleiding van deze resultaten dat superoxide mogelijk verantwoordelijk is voor de initiatie van lipide peroxidatie in de donor, een proces dat tevens positief correleert met vertraagde orgaanfunctie (en dus de noodzaak tot dialyse) in niertransplantatie-ontvangers. We theoretiseren dat verhoogde superoxide levels aan het begin van de hersendoodfase hoogstwaarschijnlijk geïnitieerd wordt door schommelingen

in bloeddruk tijdens de inductiefase. De verhoogde niveaus die later in de hersendoodfase gemeten worden zijn waarschijnlijk gerelateerd aan regionale perfusiedefecten in de nier. In **Hoofdstuk 5** laten wij namelijk zien dat er gedurende hersendood in toenemende mate sprake was van een verminderde doorbloeding van de nier, ondanks adequate bloeddrukregulatie in deze ratten. Deze resultaten suggereren dat bloeddrukregulatie alleen niet afdoende is om voldoende doorbloeding van de nier te bewerkstelligen en mogelijk de vorming van superoxide radicalen ten gevolge van ischemie tegen te gaan. Het voorkomen van oxidatieve stress met behulp van lokale therapie, zoals de toediening van superoxide scavengers (moleculen die radicalen kunnen "wegvangen"), zou hierin uitkomst kunnen bieden.

Interventies

In **Hoofdstuk 6** laten wij zien dat behandeling van hersendode ratten met de superoxide scavenger MnTMPyP zuurstofradicalen weg kan vangen en lipide peroxidatie tegen kan gaan. Ondanks een verlaging van oxidatieve stress markers zagen wij echter geen verbetering van de nierfunctie, noch een verminderde expressie van inflammatoire genen. Gezien de positieve correlatie tussen lipide peroxidatie en DGF in niertransplantatie ontvangers, postuleerden we dat de positieve effecten van MnTMPyP behandeling op orgaan kwaliteit wellicht pas tijdens de reperfusie fase evident zouden worden. In **Hoofdstuk 7** hebben we daarom nieren afkomstig uit hersendode ratten gereperfuseerd met behulp van een geïsoleerde nierperfusie opstelling ex vivo. Tijdens deze reperfusie zagen wij dat inderdaad een verbeterde nierfunctie van nieren afkomstig uit ratten voorbehandeld met MnTMPyP. Deze significante bevindingen sporen aan tot verder onderzoek naar de positieve effecten van MnTMPyP tijdens niertransplantaties.

Conclusie

Hersendood leidt tot schadelijke effecten in donororganen welke transplantatie uitkomsten negatief beïnvloeden. In dit proefschrift laten wij zien dat de manier waarop hersendood geïnduceerd wordt bepalend is voor de schade die ontstaat in de nieren, longen, en lever na hersendood. Verder tonen wij dat anti-oxidatieve therapie aan hersendode ratten tot gunstige effecten leidt in de nier. Met deze bevindingen spoort dit proefschrift aan tot verder onderzoek naar de schadelijke effecten van hersendood en het ontwikkelen van donor-specifieke management-strategieën ter voorkoming hiervan.