

Verslag Research Fellowship 2015 - 2016

Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Microvascular Research, Orthopedic Surgery, division of Hand Surgery



Nadia Rbia

Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam

Plastische, Reconstructieve en Handchirurgie



Inleiding

Van juli 2015 tot juli 2016 heb ik als research fellow onderzoek mogen doen in het microchirurgisch lab van Dr. Shin en Dr. Bishop in de Mayo Clinic in Rochester, Verenigde Staten. In mijn interim verslag vertelde ik al over mijn ervaringen; in dit verslag wil ik graag weergeven wat mijn bezigheden waren in het tweede deel van dit jaar en wat dit fellowship heeft bijgedragen aan mijn persoonlijke ontwikkeling en mijn promotietraject.

Rochester en The Mayo Clinic

Rochester is een stad in de staat Minnesota en heeft 112,225 inwoners. Mayo Clinic vormt de kern van de Economie van Rochester met ruim 4,000 artsen en wetenschappers en 50,000 ziekenhuis medewerkers. Het ziekenhuis is gespecialiseerd in tertiaire zorg en geeft naar schatting ongeveer 500 miljoen dollar uit aan wetenschappelijk onderzoek. Dit uit zich in meerdere historische nominaties voor het beste ziekenhuis van de natie uitgeroepen door the U.S. News & World Report rankings of top hospitals. Dit jaar 2016-2017 is de Mayo Clinic opnieuw als nummer 1 ziekenhuis uitgeroepen. Ook verschillende specialisaties waaronder neurologie en neurochirurgie, urologie en de diabetes zorg zijn uitgeroepen tot de beste van de natie. De afdeling orthopedie waar het lab van Dr. Shin en Bishop onder valt heeft de tweede plaats gekregen en de oncologische zorg staat dit jaar op de derde plek.

Dr. William Worrall Mayo is in 1864, tijdens de Amerikaanse burgeroorlog, naar Rochester getrokken om daar als chirurg hulp te bieden vanuit een kleine praktijk aan huis. Op 21 augustus 1883 zorgde een grote tornado in Rochester voor zeker 37 doden en meer dan 200 gewonden. De Mayo familie hielp hierna samen met lokale nonnen aan de wederopbouw van Rochester en de zoons van Dr. Mayo, the Mayo brothers, stichtten toen het eerste echte ziekenhuis, St. Mary's Hospital, welke nog steeds dezelfde naam heeft. Over de jaren is de Mayo Clinic uitgegroeid tot de grote campus die wij nu kennen en trekt het vele internationale artsen en wetenschappers aan. Naast de Rochester campus is de Mayo Clinic ook te vinden in Arizona en Florida, alhoewel Rochester wel de grootste locatie blijft en de kern van het wetenschappelijk onderzoek.



Het lab

Het Microvascular Research Lab wordt geleid door Professor A.T. Bishop en Professor A.Y. Shin. Dr. Bishop doet al jaren succesvol basaal onderzoek naar bottransplantaties in varkens, Dr. Shin richt zich met name op perifere zenuwreconstructies en heeft meer dan 280 wetenschappelijke publicaties. Patricia is de lab-technicus en zorgt ervoor dat alles in het lab goed geregeld is en helpt de fellows bij hun dier-experimenten. Dr. Shin was mijn directe supervisor en was elke maandag in het lab om de voortgang te bespreken en daarnaast kwam hij soms op andere dagen binnenlopen of was hij altijd bereid om tussen zijn klinische werkzaamheden door te overleggen over het lopende onderzoek. In het lab werkt ook altijd 1 fellow voor Dr. Bishop, welke toevallig nu ook uit Nederland kwam, en afgelopen jaar was er nog een derde Amerikaanse fellow voor Dr. Shin waardoor het erg gezellig was in het lab en we elkaar konden ondersteunen en helpen tijdens experimenten. Het lab is erg klein vergeleken met de andere laboratoria op de afdeling. De hele etage valt onder de afdeling orthopedie en er werken veel promovendi, studenten en AIOS in het hele gebouw. Doordat alle laboratoria met elkaar zijn verbonden en er ook veel gedeelde ruimtes zijn, is samenwerken haast vanzelfsprekend. Er zijn korte lijntjes tussen de verschillende supervisors en dat maakt het werken erg prettig. Veel promovendi hebben zowel een medische achtergrond als ook een biologische of technische vooropleiding genoten waardoor er altijd wel iemand in de buurt was om mee te overleggen als je even vastliep met je project. Dr. Bishop en Dr. Shin staan heel erg open voor nieuwe ideeën en geven de fellows veel vrijheid om de projecten zelf in te delen.



Het project

Het doel van mijn fellowship was het verder optimaliseren van de gedecellulariseerde zenuw-allograft door de toevoeging van uit lichaamseigen vet verkregen stamcellen. Mijn onderzoeksproject bestond uit twee delen, een in-vitro project en een in-vivo project. Mijn eerste doel was om op celniveau te bestuderen hoe de stamcellen zich in het implantaat ontwikkelen. Onze hypothese was dat ondanks dat onze allograft gedecellulariseerd is, de extracellulaire matrix nog wel intact is en dus invloed zou kunnen hebben op de stamcellen die we aan de allograft toevoegen. Deze matrix zou mogelijk de stamcellen ertoe kunnen zetten zich te differentiëren of om bepaalde groeifactoren tot een hogere expressie te brengen. Voor dit experiment moest ik wachten tot er een geschikte humane donor was aangemeld; zodra dit gebeurde heb ik de puur motorische zenuwen geprepareerd en vervolgens gedecellulariseerd. Dit proces duurde een week en in de tussentijd kon ik de humane stamcellen uit de vloeibare stikstof halen en kweken totdat ik voldoende stamcellen had (36 miljoen). Hierna kon het echte experiment starten en heb ik de stamcellen op de allografts laten groeien. Op verschillende tijdstippen heb ik vervolgens de gen-expressie bestudeerd van de met stamcel bezaaide allografts. Hiervoor moest ik eerst het RNA extraheren en vervolgens door middel van de juiste primers de qPCR-

analyse doen. De daadwerkelijke groeifactor productie heb ik gemeten door middel van de ELISA-techniek. De resultaten van dit experiment zijn erg veelbelovend.

Mijn tweede doel was het implementeren van de met stamcel verrijkte allograft in een diermodel en met behulp van een histologische analyse het effect op de zenuwregeneratie en de immuunrespons evalueren. Het experiment bestond uit 2 groepen: in de eerste groep werd een 1 cm zenuwdefect gereconstrueerd met een autograft (controle), in de tweede groep werd een gedecellulariseerde allograft gebruikt en in de derde groep werd het defect gereconstrueerd door middel van een gedecellulariseerde allograft bezaaid met autologe stamcellen. Deze stamcellen werden voorafgaand verkregen uit het abdominale vet van een isogene donor en in-vitro werden deze stamcellen behandeld met een marker. Dankzij deze marker en door middel van de bioluminescentie-techniek kon ik de getransplanteerde stamcellen op verschillende tijdstippen in beeld brengen en zo precies nagaan hoeveel dagen na de operatie deze stamcellen in leven bleven en dus hoelang ze de tijd hebben om de regeneratie actief te beïnvloeden. Ook heb ik door middel van qPCR de in-vivo gen-expressie in kaart gebracht en door middel van immunohistochemische analyse de allograft op verschillende markers gekleurd om zo het korte-termijn effect van de stamcellen op de zenuwregeneratie te meten. De resultaten hiervan worden op dit moment geanalyseerd en de verwachting is dat ik voldoende data zal hebben voor 3 basale wetenschappelijke artikelen.

De volgende stap in onze onderzoekslijn zal nu zijn om de functionele lange termijn effecten te onderzoeken, uit de literatuur weten we al dat er een positief effect is van stamcellen op de zenuwregeneratie en uit mijn experimenten weten we wat er nu precies op celniveau gebeurt wanneer we de allograft en de stamcellen samenbrengen. Hierna willen we graag aantonen dat de functionele spierkracht en spiermassa ook verbeterd is wanneer we stamcellen toevoegen en dit project zal worden uitgevoerd door mijn opvolger. Wij zullen haar de aankomende maanden trainen in het werken met stamcellen en de functionele uitkomstmaten leren kennen waarna zij direct van start zal kunnen gaan met het vervolg op mijn project. Naast deze projecten heb ik ook een review artikel geschreven samen met Dr. Shin en ben ik nog bezig met drie klinische studies.

Vrije tijd

Ondanks dat Amerika en Nederland beide westerse landen zijn, is het cultuur verschil enorm. De vriendelijkheid van de Amerikanen in Minnesota valt vrijwel meteen op, de mensen zijn erg geïnteresseerd in waar je vandaan komt en zijn erg behulpzaam. Ik moest in het begin wennen aan de werk-mentaliteit, daar waar ik in Nederland eigenlijk nooit in het weekend in het lab te vinden was, werd dit in de Mayo Clinic toch echt een gewoonte naarmate het project vorderde. Je raakt ontzettend gemotiveerd door alle mensen om je heen en omdat het echt je eigen projecten zijn doe je er alles aan om het zo goed mogelijk te laten verlopen. Tijdens mijn fellowship heb ik de kans gekregen om een congres in Seattle en Arizona te bezoeken en daar besefte ik pas hoe goed de Mayo Clinic vertegenwoordigd is in de wetenschappelijke wereld. Verder zijn mijn ouders en een aantal vrienden mij komen opzoeken en heb ik de kans gekregen om met hun ook andere steden in



Amerika te bezoeken zoals San Francisco en New York. Het grootste deel van mijn vrije tijd heb ik toch wel besteed aan hardlopen, ik had altijd al de droom om een marathon te lopen maar nooit de tijd genomen om er echt goed voor te trainen. Ik heb me aangesloten bij een running-club en heb eind mei de marathon van Rochester gelopen. Als ik niet aan het sporten, reizen of aan het werk was, nodigde zowel Dr. Bishop als Dr. Shin mij en de andere fellows geregeld uit voor een diner of lunch bij hun thuis en ook alle Amerikaanse feestdagen hebben wij met hun gezinnen door mogen brengen.

Dankwoord

Inmiddels ben ik weer terug in Nederland en ben ik ervan overtuigd dat ik het maximale uit mijn jaar in Amerika heb gehaald. Het was eer om onderzoek te mogen doen aan een van de meest vooraanstaande ziekenhuizen van Amerika. Zowel op academisch als op persoonlijk vlak heb ik ontzettend veel kennis opgedaan waar ik de rest van mijn leven profijt van zal hebben en hopelijk ook op anderen over kan dragen. Zonder uw bijdrage was dit alles niet mogelijk geweest en ik ben het Michaël van Vloten fonds dan ook enorm dankbaar voor deze kans.