



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Massive deep-frozen bone allografts : contamination, immunogenicity and clinical use

Deijkers, Ruud

Citation

Deijkers, R. (2005, January 18). *Massive deep-frozen bone allografts : contamination, immunogenicity and clinical use*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3765>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3765>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



Samenvatting en conclusies

Dit proefschrift richt zich op een aantal problemen en controversies betreffende het gebruik van massieve diepgevroren botallografts. De studies in dit proefschrift bevatten onderwerpen op het gebied van bacteriële contaminatie (hoofdstuk 2), immunogeniciteit (hoofdstuk 3) en het klinisch gebruik van massieve diepgevroren botallografts (hoofdstukken 4, 5, 6).

In *Hoofdstuk 1* wordt een kort overzicht gegeven van de geschiedenis van massieve diepgevroren botallografts, en worden de principiële voor- en nadelen van deze transplantaties besproken. Ondanks het gebruik gedurende vele decennia en wereldwijd verrichte onderzoeken blijven er vragen en controversies betreffende het gebruik van massieve diepgevroren allografts bestaan. Een aantal problemen en controversies werd nader gespecificeerd.

Op basis van deze specifieke problemen en controversies werd de doelstelling van dit proefschrift gedefinieerd. Studies die antwoord moesten geven op deze problemen en controversies werden uiteengezet. Eén studie richtte zich op de bacteriële contaminatie van botallografts (explantaten) uitgenomen bij postmortale donoren, een andere studie richtte zich op de immunogeniciteit van de getransplanteerde botallografts, en drie studies richtten zich op de indicatiegebieden en de operatietechnieken van drie minder voorkomende typen van allograftreconstructies.

In *Hoofdstuk 2* analyseerden we de bacteriële contaminatie van 1999 botallografts (explantaten) uitgenomen bij 200 postmortale botdonoren onder aseptische condities. Een multivariaat analyse met gebruik van het multipele logistische regressiemodel werd verricht voor het vinden van risicofactoren voor bacteriële contaminatie. Identificatie van risicofactoren helpt bij het vinden van methoden ter vermindering van de contaminatie en ter verhoging van de beschikbaarheid en veiligheid van massieve botallografts. Bovendien analyseerden we de effectiviteit van het afspoelen van de allografts met een antibiotica-oplossing.

Micro-organismen met een lage pathogeniciteit werden gevonden in de afstrijkkweken van 50% van de allografts en micro-organismen met lage pathogeniciteit in 3%. Het risico op contaminatie met laag-pathogene micro-organismen (voornamelijk commensalen van de huid) nam toe met een factor 1,6 voor ieder extra persoon toegevoegd aan het explantatieteam. Het risico op contaminatie met hoog-pathogene micro-organismen was 3,4 keer hoger in donoren met een traumatische doodsoorzaak en 5,2

keer hoger in aanwezigheid van een positieve bloedkweek. Voorafgaande orgaandonatieprocedure had geen significant effect op het risico van contaminatie. Het afspoelen van de allografts met een antibiotica-oplossing was geen effectieve decontaminatiemethode.

Concluderend, ondanks zorgvuldige donorselectie en aseptische explantatieprocedures zijn de botallografts (explantaten) frequent gecontamineerd. De grootste bron van contaminatie is exogeen (laag-pathogene commensalen van de huid) en wordt sterk beïnvloed door het explantatieteam. Contaminatie vanuit endogene bronnen (hoog-pathogene commensalen van de tractus gastro-intestinalis) kunnen worden beperkt door donorselectie. Exclusie van donoren met traumata van bacterieel gekoloniseerde gebieden kan de endogene contaminatie verminderen.

In *Hoofdstuk 3* analyseerden we de cellulaire immuunreactie in tien transplantaties van massieve diepgevroren botallografts. De frequenties van circulerende cytotoxische T-lymphocyten (CTL) and T-helper lymphocyten (TH) gericht tegen mismatched donorantigenen werden bepaald met behulp van een 'limiting dilution analysis' (LDA) testmethode. De aviditeit (affiniteit) van donor-specifieke CTL tegen de mismatched donorantigenen werd bepaald op basis van de in vitro resistentie tegen anti-CD8.

CTL en TH tegen mismatched donorantigenen werden gevonden in het perifere bloed van alle patiënten. Belangrijker en voor de eerste keer beschreven, CTL met hoge aviditeit voor donorantigenen werden gevonden in vijf patiënten. Deze hoog-avide CTL zijn het resultaat van in vivo CTL stimulatie door donor-specifieke HLA antigenen. Deze CTL hebben geen CD8 molecuul nodig om de antigeenbinding te stabiliseren en zijn sterk geassocieerd met afstoting van bijvoorbeeld hart- en cornea transplantaten. Wij vonden hoog-avide CTL en hoge TH frequenties. Deze T-cel reactie kon over een periode van een aantal jaren gedetecteerd worden.

Concluderend, massieve diepgevroren botallografts kunnen inductie geven van hoog-avide donor-specifieke CTL. De gebruikte testmethode maakt kwalificatie en kwantificatie van de CTL and TH in het bloed mogelijk. Aangezien de chronische afstotingsreactie van botallografts primair bepaald wordt door T-cellen, met een sleutelrol voor de hoog-avide CTL en TH, kan onze benadering bruikbaar zijn bij de bepaling van het effect van de immuunreactie op de ingroei van botallografts.

In *Hoofdstuk 4* evalueerden we de middellange-termijn resultaten van hemi-corticale procedures voor geselecteerde gevallen van laaggradige maligne bottumoren. Maligne tumoren die ontstaan in of nabij de cortex kunnen, theoretisch, gereceerd worden met behoud van een deel van de corticale circumferentie. Deze zogenaamde hemi-corticale resecties kunnen ideaal worden gereconstrueerd met een 'inlay' allograft. We analyseerden de oncologische en allograft resultaten ter bepaling van de veiligheid en effectiviteit van deze techniek.

De 22 opeenvolgende hemi-corticale procedures voor laaggradige parossale osteosarcomen, perifere (secundaire) chondrosarcomen en adamantinomen toonden goede oncologische en allograft resultaten. Geen aanwijzingen voor lokale recidieven of afstandsmetastasen waren aanwezig na een gemiddelde follow-up van 64 maanden (27 tot 135). Alle allografts incorporeerden volledig en er waren geen allograft fracturen of infecties. Fractuur van de overgebleven gastheer-cortex trad op in zes patiënten. Deze fracturen werden succesvol behandeld met gips of osteosynthesis. De functionele resultaten waren uitstekend of goed in alle patiënten op één na en gunstig in vergelijking met grotere intercalaire procedures.

Concluderend, hemi-corticale procedures voor geselecteerde gevallen van laag-gradige maligne tumoren ontstaan in of nabij de cortex geven uitstekende oncologische en functionele resultaten. Wijde chirurgische marges kunnen worden verkregen, zelfs indien tumor uitbreiding in de medulla aanwezig is. Nauwkeurige preoperatieve planning met gebruik van MRI is essentieel ter bepaling van de gewenste resectie vlakken. Alhoewel de hemi-corticale procedure technisch veeleisend is, maken de bevredigende goede resultaten het de moeite waard.

In *Hoofdstuk 5* vergeleken we de resultaten van 14 epi-diaphysaire intercalaire reconstructies voor maligne bottumoren rondom de knie met 9 meta-diaphysaire en 12 diaphysaire intercalaire reconstructies van femur en tibia. In de epi-diaphysaire intercalaire reconstructies bleef 1 tot 2 cm van de epiphysis met gewrichtsoppervlak in situ; behoud van het gewricht omzeilt de noodzaak voor gewrichtsreconstructie met bijkomende problemen. Bovendien analyseerden we risicofactoren voor complicaties en falen van de allografts.

Alle epi-diaphysaire osteotomiën hadden tumorvrije marges en geen locale recidieven. De Kaplan-Meier analyse toonde een 10-jaars overleving van 78% voor de epi-diaphysaire reconstructies, hetgeen niet significant

verschilde van de 89% voor de meta-diaphysaire en de 75% voor de diaphysaire reconstructies. Epi-diaphysaire complicaties bevatten twee infecties, vijf fracturen en drie 'nonunion' behandelingen. Complicaties betreffende alle 35 allografts bevatten drie infecties, twaalf fracturen en negen 'nonunion' behandelingen. Uiteindelijk faalden zes van alle 35 allografts; infectie en resectielengte waren significante predisponerende factoren. Ieder type intercalaire reconstructie toonde goed functionele resultaten met gemiddelde MSTS scores tussen de 23 en 24.

Concluderend, aangezien de epi-diaphysaire reconstructies de complicaties geassocieerd met gewrichtsreconstructie omzeilen en de resultaten vergelijkbaar zijn met die van andere typen intercalaire reconstructies, zou een dergelijke reconstructie moeten worden overwogen indien een tumorvrij epiphysair segment van tenminste 1 cm kan worden behouden. Een specifiek probleem van dit type reconstructie is de moeilijke fixatie van de epiphysaire allograft-gastheer overgang. De lengte van de reconstructie correleerde negatief met de overleving van de intercalaire allografts.

In *Hoofdstuk 6* evalueerden we de middellange- tot lange-termijn resultaten van 20 allograft-prothese composiet reconstructies van het proximale femur. In tegenstelling tot andere technieken, omvatte onze techniek 'press-fit' fixatie van de lange prothese steel in zowel allograft als gastheerbot. De gespaarde gluteuspezen van de patiënt werden aan de corresponderende pezen op de allograft gehecht, een bipolaire cup werd gebruikt indien mogelijk. De resultaten van de reconstructie werden vergeleken met de gepubliceerde resultaten van andere composiet reconstructies.

Goede heup stabiliteit en lange-termijn functie werden gevonden na de reconstructies. Er traden geen dislocaties van de bipolaire cup op. Vier reconstructies faalden en de oorzaak was of loslating of fractuur van de prothesesteel. Bij een van de steelloslatingen trad ook fractuur van de allograft op. De Kaplan-Meier analyse toonde een 10-jaars overleving van 64% voor de steel en 87% voor de allograft. Het falen van de steel kon worden toegeschreven aan het gebruik van een te kleine allograft, een kleine diameter steel en de resulterende inadequate 'press-fit' fixatie van de steel in het gastheer-bot. Indien loslating van de steel in het gastheer-bot zich had ontwikkeld, volgde loslating van de steel in de allograft binnen vier jaar. De revisies waren relatief eenvoudig omdat de niet-gefractureerde allografts in situ konden worden gelaten.

Concluderend, de gebruikte abductor-reinsertie techniek bewees eenvoudig en effectief te zijn. Alhoewel de overleving van de allograft goed was, was revisie van de steel frequent noodzakelijk in vergelijking met andere gepubliceerde composiet technieken. We beschouwden de kwaliteit van de 'press-fit' fixatie van de steel in het gastheer-bot, meer dan het gebruik van cement in de allograft, als de belangrijkste determinant voor een lange-termijn overleving. Echter, een steel die zonder cement gefixeerd is in een allograft zal waarschijnlijk inzakken indien loslating van de steel in het gastheer-bot is opgetreden. Het specifieke probleem van onze techniek is de moeilijkheid van het verkrijgen van adequate 'press-fit' fixatie van de steel in zowel allograft als gastheer-bot.