

Donor weefsel voor hoornvliestransplantatie: vertrouwen en controle

Samenvatting en conclusies

Het hoornvlies (cornea) is een doorzichtig en kleurloos weefsel, dat het venster van het oog vormt. Samen met de traanfilm op het hoornvlies kan het als een functionele eenheid worden beschouwd. Naast een regelmatige kromming is transparantie van het hoornvlies essentieel voor een bruikbaar gezichtsvermogen. De functie van het hoornvlies kan in gevaar komen door afwijkingen en ziekten van het epitheel, stroma en endotheel. Transplantatie van een donor hoornvlies is de standaard chirurgische procedure bij onomkeerbare schade aan dit weefsel.

Essentieel voor deze transparantie is een regelmatige structuur en een goed gecontroleerde waterhuishouding van het hoornvlies. Het endotheel is hierbij de belangrijkste laag omdat het een cruciale rol speelt in de regulering van deze waterhuishouding. De morfologie van het endotheel weerspiegelt zijn vitaliteit, essentieel voor een functionerend transplantaat (zie hoofdstuk 2.1).

Na de eerste succesvolle cornea transplantatie in 1906, beschreef Zirm dat hij geloofde dat een zorgvuldige behandeling van het levende menselijke donorweefsel bijdroeg aan het positieve resultaat van de operatie. Deze, meer dan een eeuw oude observatie, is heden ten dage nog steeds actueel. Tijdens de eerste helft van de twintigste eeuw hadden oogartsen geen gedetailleerde kennis over de factoren, die de kwaliteit van het donorweefsel bepalen. Daarom werden eerst de heldere hoornvliezen van levende donoren gebruikt. Oogbanken ontstonden nadat Filatov in 1935 rapporteerde over de succesvolle toepassing van *postmortem* weefsel. Dit had tot gevolg dat de bron voor donorweefsel ruimer werd.

In de jaren '70, werd het mogelijk om afgeprepareerde donorhoornvliezen met een randje sclera (corneosclerale schijfjes) in weefsel kweek media te conserveren. Met de introductie van deze nieuwe mogelijkheden veranderde de functie van oogbanken van kleine verzamelpunten naar centra met conserveringsfaciliteiten. Door deze verandering moest de hoornvlies chirurg, die tot dan toe zelf zorg droeg voor het beoordelen van donorweefsel, gaan vertrouwen op het oordeel van de professionals in de oogbank. In de eerste jaren was dit vertrouwen gebaseerd op persoonlijke contacten maar vandaag de dag is dit vertrouwen alleen niet meer aanvaardbaar. Het is vervangen door op papier vastgelegde eisen aan de donorkwaliteit, procedures en protocollen; kwaliteitsbewakingssystemen werden ingevoerd in oogbanken (zie hoofdstuk 2.2).

In de loop van de jaren werd duidelijk dat er een risico bestaat om ziekten van donor naar ontvanger over te dragen. Enkele gevallen zijn beschreven van systeem ziekten, die met een hoornvlies-transplantatie werden overgebracht: rabies, de ziekte van Creutzfeldt-Jacob en hepatitis B. Het overbrengen van herpes simplex, afkomstig uit de donor, is ook aangetoond. Conform de richtlijnen van de Europese Unie en de nationale wetgeving, welke geen onderscheid maakt tussen het hoornvlies en gevasculariseerd weefsel, moet de donor serologisch worden gescreend op lues, humaan immunodeficientie virus, hepatitis B oppervlakte antigeen, hepatitis C en humaan T-cel lymfotroop virus. Omdat een serologische test voor rabies en de ziekte van Creutzfeldt-Jacob ontbreekt, moet men zich verlaten op het zorgvuldig screenen van de medische voorgeschiedenis van de donor (zie hoofdstuk 2.3.1).

Vergeleken met het oog in een levend persoon, komt bij donor ogen verontreiniging, contaminatie, van het oppervlak vaak voor. Oogbanken passen verschillende decontaminatie procedures toe om besmettingen, gerelateerd aan donor weefsel, te voorkomen. De gerapporteerde frequentie van donor gerelateerde infecties, die leiden tot endophthalmitis na hoornvliestransplantatie is laag maar hoog vergeleken met de frequentie van endophthalmitis na andere oogheekundige ingrepen (zie hoofdstuk 2.3.2).

Voordat het endotheel zichtbaar gemaakt kon worden, was selectie hoofdzakelijk gebaseerd op factoren die mogelijk de vitaliteit van het endotheel aantasten, zoals donorleeftijd en tijd verlopen tussen overlijden en uitname van het oog bij de overledene. Aangezien functionele testen voor de cornea niet kunnen worden toegepast in de oogbank bij *postmortem* weefsel moet men zich baseren op de morphometrische aspecten van het endotheel, om zo functie en functionele reserve van het hoornvlies in te schatten. Het aantal endotheelcellen van de donor voor de transplantatie bepaalt in belangrijke mate het te verwachten endotheelcelaantal na de transplantatie. Twee methoden worden toegepast voor de evaluatie van het donor endotheel. *Specular microscopy* is een niet invasieve methode, die over het algemeen gebruikt wordt bij hypotherme preservering. Met deze methode is het mogelijk een relatief klein gebied van het endotheel te observeren. Cornea oedeem beperkt het beoordelen van het endotheel waardoor deze methode ontoereikend is in combinatie met orgaankweek. Licht microscopie, welke het nadeel heeft dat het een invasieve techniek is, laat inspectie van het totale endotheel-oppervlak toe, onafhankelijk van het zwellen van het hoornvlies. De onderzoekmethode is onderdeel van de orgaankweek procedure (zie hoofdstuk 2.4).

Door de jaren heen ontwikkelde de methode voor het bewaren van het donorweefsel zich van een eenvoudige bewaarstechniek voor het hele oog op smeltend ijs of in een koelkast tot de opslag van corneosclerale schijfjes in weefsel kweek medium. Als de bewaarstechniek van corneosclerale schijfjes $2-8^{\circ}\text{C}$ is, dan spreekt men van hypotherme conservering. Bij orgaan kweek is de bewaarstechniek $31-37^{\circ}\text{C}$. De voor- en de nadelen van elke methode worden beschreven met betrekking tot de technische aspecten (conserverings condities, de overleving van de cellen van de cornea, conserveringstijd), de microbiologische testen en de evaluatie van het weefsel (zie hoofdstuk 2.5).

De *moist chamber* is een eenvoudige techniek; het donor oog wordt bewaard in een gesloten, bevochtigd potje op smeltend ijs of in de koelkast. De conserveringstijd is beperkt tot 2-3 dagen. Tegenwoordig wordt deze methode over het algemeen gebruikt in combinatie met andere bewaarmethoden.

McCarey-Kaufman medium evenals Optisol (GS) behoren tot de hypotherme conserverings media.

Het verschil tussen McCarey-Kaufman medium en Optisol GS is dat in beide media dextran zit, maar aan Optisol (GS) ook chondroitinesulfaat is toegevoegd. Bovendien zijn de toegevoegde antibiotica verschillend. De algemeen aanvaarde conserveringstijd in het McCarey-Kaufman medium is 2-3 dagen en in Optisol 6-10 dagen. Micro-organismen groeien nauwelijks bij een temperatuur onder de 8°C . Na transplantatie worden in de overgebleven corneosclerale randen van de donor vaak micro-organismen gevonden, zodat geen zekerheid kan worden gegeven over de microbiologische status. Dit onderstreept het belang van strikte naleving van donor selectiecriteria en decontaminatie procedures (zie hoofdstuk 2.3.2) bij hypotherme conservering van het donor hoornvlies.

Bij de orgaankweek procedure worden de corneosclerale schijfjes bewaard in een weefsel kweek medium (*modified minimum essential medium*). Antibiotica evenals antimycotica worden toegevoegd. Vlak voor vervoer wordt het hoornvlies in een transport medium geplaatst. Wondgenezing van het endotheel kan plaatsvinden. Evaluatie van het endotheel na het conserveren is verplicht om te ontdekken of er significante veranderingen in het endotheelcel-mozaïek zijn opgetreden, die erop kunnen duiden dat de vitaliteit van het endotheel is aangedaan vóór of tijdens het bewaren. De orgaankweek procedure kan als stress test voor het endotheel worden beschouwd. De microbiologische status van het donorweefsel is nauwkeurig vastgelegd omdat microbiologische testen worden uitgevoerd tijdens de conservering (zie hoofdstuk 2.3.2). Of de beter gedefinieerde microbiologische status van weefsel gepreserveerd door middel van orgaan kweek procedure, ten opzichte van de hypotherme conservering, consequenties heeft voor het risico op endophthalmitis is nog niet aangetoond.

De resultaten van cornea transplantaties zijn in de loop van de jaren verbeterd als gevolg van betere chirurgische technieken, microchirurgische instrumenten, hechtingen en medicamenteuze behandelingen. Hiermee namen de indicaties voor hoornvlies transplantaties toe. Tijdens het laatste decennium leefde de interesse voor lamellaire transplantaties op. Behalve de bekende anterieure lamellaire transplantatie, werd ook de posterieure lamellaire procedure mogelijk. De vraag naar voorbereekt weefsel, dat door de oogbank wordt geleverd zal toenemen en daardoor worden controle op selectie en verwerking van donorweefsel, selectie criteria in de bank en het valideren van procedures steeds belangrijker (zie hoofdstuk 2.6).

De registratie van de klinisch resultaten, de follow-up van cornea transplantaties, is een vereiste om de kwaliteit van handelen te kunnen onderzoeken. Analyse van de talrijke factoren, die de resultaten beïnvloeden, geeft de mogelijkheid de kwaliteit van zorg te monitoren en te verbeteren door corrigerende en preventieve maatregelen in de transplantatie keten door te voeren. *Graft failure*, een helder transplantaat, postoperatieve centrale endothelceldichtheid, cornea dikte, transplantaat overleving, ernstige ongewenste gebeurtenissen (*serious adverse events*) en ernstige ongewenste bijwerkingen (*serious adverse reactions*), de gezichtsscherpte, de visuele handicap en de patiënt tevredenheid, zijn meetbare parameters voor het resultaat. De uitkomsten van de analyses van deze gegevens kunnen van belang zijn voor de betrokken partijen, de patiënt, de hoornvlies chirurg, de oogbank en de bevoegde nationale autoriteiten (zie hoofdstuk 2.7).

Afhankelijk van het niveau van registratie van de follow-up gegevens, kunnen gedetailleerde vergelijkingen gemaakt worden van de verschillende factoren, die het resultaat van de cornea transplantatie beïnvloeden. Met de implementatie van de EU richtlijnen, is het melden van *serious adverse events* en *serious adverse reactions* aan de bevoegde nationale autoriteiten vereist en worden ze binnen de hele EU verzameld. In de verschillende EU-lidstaten zijn ontwikkelingen gaande betreffende de optimale route, de wijze van melden van *serious adverse events* en *serious adverse reactions* (zie hoofdstuk 2.7). In Nederland was vanaf 1995 tot 2006 de Nationale Cornea Follow-up Registratie verbonden met de registratie van de oogbank. De uitkomsten van het analyseren van deze follow-up gegevens worden gebruikt voor het valideren van de procedures van de oogbank.

In hoofdstuk 3 worden de effecten van de conserveringsmethoden op het transplantatie resultaat bestudeerd. In een prospectieve studie werden 14 paar humane donor hoornvliezen getransplanteerd bij patiënten met keratoconus, die qua leeftijd en geslacht overeen kwamen. Één hoornvlies van elk paar werd gepreserveerd in McCarey-Kaufman medium, het andere in orgaan kweek. Zes maanden en 1-2 jaar post operatief zijn gezichtsscherpte, centrale hoornvliedsdikte en endotheelceldichtheid vergeleken. Er werden geen verschillen gevonden tussen de twee groepen in deze follow-up periode (zie hoofdstuk 3.1).

De gegevens van dezelfde groep patiënten werden gebruikt voor een follow-up studie op de lange termijn. Veertien jaar na de operatie konden negen patiënten paren opnieuw worden onderzocht. Ook op de lange termijn werden er geen verschillen gevonden, noch voor de endotheelcel dichtheid noch voor de gezichtsscherpte bij deze groep patiënten die in McCarey- Kaufman medium dan wel met de orgaan kweek methode gepreserveerd donorweefsel ontvingen. Een hoge snelheid van endotheelcelverlies tijdens de eerste periode (6 maanden-1.5 jaar) en een lage snelheid van endotheelcelverlies tijdens de tweede periode (1.5-14 jaar) werden waargenomen. Deze bevindingen passen goed in het model dat door Armitage en Bourne is voorgesteld (zie hoofdstuk 3.2).

Beide prospectieve studies wijzen erop dat er geen verschil kan worden aangetoond tussen de klinische uitkomsten van corneas die in het McCarey- Kaufman medium zijn bewaard dan wel met de orgaan kweek methode zijn gepreserveerd, zowel op korte als op langere termijn. Deze studies rechtvaardigen, 26 jaar na de introductie van orgaan kweek in Nederland, het gebruik van orgaan kweek als bewaarmethode.

In hoofdstuk 4 wordt het effect beschreven van kwaliteitskenmerken voor donor-weefsel op het transplantatieresultaat. Prospectieve studies over de relatie tussen donor-weefsel kenmerken en het transplantatie resultaat ontbreken. Sinds 1990 zijn, in de Cornea Bank van Amsterdam, donorhoornvliezen geselecteerd speciaal voor spoed procedures. Deze hoornvliezen voldoen niet aan alle kwaliteitscriteria die voor standaard procedures noodzakelijk worden geacht; zij hebben of een kleine stromale opaciteit (selectiegroep 1) of een minder optimale kwaliteit van het endotheel (selectiegroep 2) en worden beschikbaar gemaakt voor direct gebruik. Om deze selectiecriteria te valideren zijn de volgende studies uitgevoerd.

In een longitudinale cohort follow-up studie zijn 151 spoed transplantaties uitgevoerd. Het behoud van de oogbol (*preservation of the globe*) is de belangrijkste doelstelling van de spoedprocedure en het is de resultaat parameter van de eerste studie. Omdat er geen verschil in resultaat tussen beide selectiegroepen kon worden aangetoond, is geconcludeerd dat het acceptabel is om donor weefsel, specifiek geselecteerd voor spoedprocedures, te gebruiken wanneer behoud van de oogbol het voornaamste te bereiken doel is (zie hoofdstuk 4.1).

De resultaat parameter voor de tweede studie is overleving van het cornea transplantaat. Van de originele 151 transplantaties zijn er 115 beschikbaar voor een longitudinale cohort follow-up studie. De overleving van het hoornvliestransplantaat heeft geen relatie met de selectiegroep van de gebruikte donor cornea. Studies, welke selectie criteria van het endotheel relateren aan klinische uitkomsten, ontbreken. Ondersteuning voor *cut-off points* voor de morphometrische parameters van het endotheel is, in de studie beschreven in hoofdstuk 4.2, niet gevonden. De transplantaat overleving bij deze spoed procedures bleek uiteindelijk meer afhankelijk van andere factoren dan van endotheel cel overleving (zie hoofdstuk 4.2).

Er wordt gesuggereerd in de literatuur dat de kwaliteit van het endotheel belangrijker is dan de donorleeftijd. Het *case report*, beschreven in hoofdstuk 4.3, toont aan dat het cornea endotheel een mensenleven kan overleven. Het laat zien dat donor cornea's zeer hoge leeftijden kunnen bereiken, in dit geval 136 en 141 jaar. Een *case report* bewijst niet dat een succesvolle transplantatie met een zeer lange follow-up periode kan worden verkregen met elke oudere donor. Omdat het ten tijde van de operaties nog niet mogelijk was het endotheel te evalueren, kan dit *case report* niets zeggen over de minimale endotheelceldichtheid noodzakelijk om het celverlies in de tijd te trotseren. Het gebruik van een wiskundig model om het endotheelcelverlies op lange termijn na hoornvliestransplantaties te berekenen, kan helpen om de argumenten te verzamelen om de minimale celdichtheid van donor hoornvliesen te bepalen (zie hoofdstuk 2.4).

Door een unieke situatie in Nederland in 2002-2003, was het voor de eerste keer mogelijk het bewerken van gedeeld donorweefsel door verschillende cornea banken te valideren (zie hoofdstuk 5). Ondanks dat werd aangegeven dat dezelfde procedures voor het bewerken werden gebruikt, bleken de resultaten in sommige gevallen minder dan verwacht. In die tijd werd dat noch wetenschappelijk bevestigd, noch onderzocht. Wel werd het cornea weefsel van bepaalde banken niet langer geaccepteerd. In deze studie, jaren later uitgevoerd, bleek de kans op een *primary failure*, een vertraagde epitheelgenezing en een niet helder transplantaat, significant groter dan die in de historische controle groep. Er werden relaties tussen deze risico's en bepaalde banken gevonden. *Primary graft failure* is algemeen geaccepteerd als een *serious adverse reaction*. Deze studie laat zien dat het vertraagd sluiten van het epitheel van de donor daar ook voor in aanmerking komt. Met de tegenwoordig verplichte melding van *serious adverse reactions*, zouden afwijkingen in de resultaten destijds misschien zijn opgemerkt. De aangegeven standaard bewerking in de cornea banken was de basis voor het vertrouwen dat de resultaten hetzelfde zouden zijn als de die tot dan ervaren. Nu dit niet het geval bleek te zijn, werd duidelijk dat controle vereist was.

Orgaankweek is de meest gebruikte conserveringsmethode in Europa. Er bestaan zowel gemeenschappelijke kenmerken als varianten om de techniek aan lokale omstandigheden aan te passen. Dit wordt beschreven in hoofdstuk 6. Mogelijke effecten van deze verschillen op de resultaten na transplantatie worden voor het eerst beschreven in hoofdstuk 4.1 en 4.2. Het laat zien dat meer gedaan moet worden om de effecten van lokale verschillen te definiëren bij een op zichzelf gestandaardiseerde procedure.

Samenvattend:

De hoornvlieschirurg is uiteindelijk verantwoordelijk voor het cornea weefsel dat hij of zij transplanteert. Het verkrijgen, het conserveren en het onderzoek naar veiligheid en kwaliteit van donorweefsel, alles volgens de *state of the art*, vereisen een professionele procesvoering in een oogbank. In de meeste gevallen heeft de transplanterende chirurg tegenwoordig niet meer de directe supervisie over de oogbank en het donor weefsel, ook is hij niet direct betrokken bij de oogbankmedewerkers. Om de chirurg in staat te stellen zijn verantwoordelijkheid te kunnen nemen, moet hij kunnen vertrouwen op een transparant systeem. Vertrouwen is tegenwoordig niet meer genoeg en behoort te worden vervangen door gedocumenteerde kwaliteitsbewaking in de oogbank om zo meer vertrouwen te winnen. Daartoe moeten binnen een oogbank alle procedures worden gevalideerd. De klinische resultaten zijn essentieel voor retrospectieve en prospectieve studies over het effect van deze processen op het transplantatieresultaat. Op basis hiervan is het mogelijk te werken aan continue verbetering in de oogbank.

Hoewel niemand verdere toename van papierwerk zal toejuichen, is documentatie essentieel. Elektronische data registratie en de uitwisseling van deze gegevens zal zeker het verzamelen van deze data faciliteren om zo het proces binnen de oogbank en de cornea chirurgie te verbeteren. Hier zal de patiënt veel voordeel van hebben. Vertrouwen zal door gerichte controle worden vervangen om zo het vertrouwen voor alle betrokken partijen in elkaar te vergroten.