

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/147784>

Please be advised that this information was generated on 2017-12-05 and may be subject to change.

a.j.m.van der werf

immunologisch
enhancement en
bescherming van
zwangerschap



IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT EN BESCHERMING
VAN ZWANGERSCHAP

PROMOTOREN:

PROF. DR J. L. MASTBOOM

PROF. DR C. JERUSALEM

IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT EN BESCHERMING VAN ZWANGERSCHAP

IMMUNOLOGIC ENHANCEMENT AND PROTECTION
OF PREGNANCY
(with a summary in English)

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE KATHOLIEKE UNIVERSITEIT TE NIJMEGEN,
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS DR. G. BRUNNINKMEIJER
HOOGLERaar IN DE FACULTEIT DER
SOCIALE WETENSCHAPPEN VOIGENS BESLUIT VAN DE SFNAAT
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG 17 MAART 1972,
DES NAMIDDAGS TE VIER UUR

DOOR

ANTONIUS JOSEPHUS MARIA VAN DER WERF

GEBORVEN TE PURMEREND

1972

Centrale Drukkerij n.v., Nijmegen

DANKBETUIGING

Dit proefschrift werd bewerkt in de kliniek van Verloskunde en Gynaecologie (Hoofd: Prof. Dr. J. L. Mastboom) van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

Bij de probleemstelling, opzet van het onderzoek en kritische evaluatie van de uiteindelijke resultaten, mocht ik veel steun ontvangen van mijn broer Ben A. van der Werf, M.D., Ph.D., chief, transplantation services, Mount Sinai Hospital of Greater Miami and Jackson Memorial Hospital, University of Miami, Florida, U.S.A.

Prof. Dr D. W. van Bekkum, T.N.O., Rijswijk, adviseerde bij het zoeken naar een geschikt zacht immunologisch skin-graft model als parameter.

Prof. Dr J. J. van Rood te Leiden en Dr C. P. Engelfriet, Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis, te Amsterdam, adviseerden omtrent het serologisch onderzoek bij patiënten.

De histologische preparaten konden worden vervaardigd in het laboratorium voor Cyto-histologie (Hoofd: Prof. Dr C. Jerusalem). Dr P. Jap en Mej. D. Versleyen, analyste, gaven nuttige adviezen.

De techniek van de bepaling van cytotoxische antilichamen kon worden overgenomen van het Immuu Haematologisch Laboratorium (Hoofd: Prof. Dr C. Haanen). Zeer gewaardeerde hulp mocht ik ontvangen van Mej. G. Vierwinden, analyste.

De bepalingen van complement en anticomplementaire-activiteit werden verricht door Mej. T. Smeets, analyste, in het laboratorium voor Medische Microbiologie (Hoofd: Prof. Dr J. van der Veen). Bijzonder veel steun betreffende deze materie mocht ik ondervinden van Dr G. C. J. van der Ploeg.

Het uitvoeren van mijn experimenten werd mogelijk door de deskundige, toegewijde en nooit aflatende hulp van de heer J. Jansen, zoologisch analyst. Van september 1969 tot oktober 1971 heeft hij zich volledig hier aan gegeven.

Gedurende 2 jaar van onderzoek, werd gastvrijheid verleend door het Centraal Dierenlaboratorium (Hoofd: Dr M. J. Dobbelaar). De heren J. W. Reitsma, P. A. M. Klaassen en F. J. M. Bours, gaven adviezen. De problemen rondom fok en huisvesting van de vele muizen konden adequaat worden opgelost.

Zeer waardevol bleek de samenwerking met het Instituut voor Wiskundige Dienstverlening (Hoofd: Drs. Ph. van Elteren). Op Drs. J. A. M. van Druten werd nooit tevergeefs beroep gedaan voor de mathematische bewerking van het materiaal.

Speciale dank ben ik verschuldigd aan de heer A. Th. A. Reynen, hoofd afdeling medische fotografie. Vele uren toegewijde zorg waren nodig om de micro-opnamen

te realiseren. Ook de heer J. Luikens gaf zich veel moeite om de macroscopische opnamen te vervaardigen.

De illustraties en de tekeningen werden op fraaie wijze verzorgd door de heer J. Konings; de omslag werd ontworpen door de heer J. J. M. de Bekker, hoofd van de medische tekenkamer.

De heer E. de Graaf, bibliothecaris en zijn staf, verleenden steeds al de nodige hulp bij het verzamelen van de literatuur.

Voor het typen van het manuscript wil ik op deze plaats mijn vrouw bedanken; ondanks het zeer vele werk hieraan verbonden, leed het gezin geen schade.

Tenslotte ben ik allen, die op enigerlei wijze hebben bijgedragen aan het tot standkomen van dit proefschrift, zeer erkentelijk.

Aan mijn ouders
Aan Petro, Lodewijk-Jan,
Michelle en Freek
en aan allen die mij dierbaar
zijn.

INHOUD

INLEIDING	1
HOOFDSTUK I	
LITERATUURVERZICHT AETIOLOGISCHE PROBLEMEN OMTRENT SPONTANE ABORTUS RESP. PARTUS IMMATURUS	
§ 1 DEFINITIE(S) VAN ABORTUS .	3
§ 2 ABORTUS FREQUENTIE EN FETAL LOSS	3
§ 3 HET HABITUELE KARAKTER VAN ABORTUS .	5
§ 4 AETIOLOGIE VAN SPONTANE ABORTUS	6
A. HET EI ALS OORZAAK VAN ABORTUS	6
1. <i>Ontwikkelings-anomaliën</i> .	6
2. <i>Chromosomale afwijkingen</i> .	6
3. „ <i>Overrypheid</i> ” van het ei .	8
4. <i>De vaderlijke factor</i>	8
5. <i>D^o falende progesteron-productie</i>	9
B. DE MOEDER ALS OORZAAK VAN ABORTUS	10
1. <i>Infectie-ziekten</i>	10
2. <i>Vaat-merlijden</i>	11
3. <i>Diabetes mellitus</i> .	11
4. <i>Uterus-anomaliën</i>	12
5. <i>Uterus myomatosus</i> .	13
6. <i>Traumata</i> .	13
HOOFDSTUK II	
ZWANGERSCHAP ALS SYN-TRANSPLANTAAT	
§ 1 LITERATUURGEGEVENS .	14

A. TERMINOLOGIE	14
B. TRANSPLANTATIE-REACTIE	14
1. <i>Inleiding</i>	14
2. <i>Antigeen, betrokken bij transplantatie-reactie</i> .	16
3. <i>Cellen, betrokken bij transplantatie-reactie</i>	20
4. <i>Niet celgebonden antilichamen, betrokken bij transplantatie-reactie</i>	23
5. <i>Hormonen, betrokken bij transplantatie-reactie</i> .	24
6. <i>Mechanismen, betrokken bij transplantatie-reactie</i> .	25
C. IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT . . .	28
D. TRANSPLANTATIE-IMMUNOLOGISCHE ASPECTEN VAN INTACTE ZWANGERSCHAP, ABORTUS EN CHORIOCARCINOMA .	32
1. <i>Is het foetale weefsel antigeen?</i>	33
2. <i>Kan de moeder reageren ten opzichte van foetale antigenen?</i>	33
3. <i>Is de uterus een „bevoorrechte” transplantatie-plaats?</i> .	34
4. <i>De immunologische barrière tussen moeder en kind</i>	35
a. <i>Is er een intrinsieke afwezigheid van transplantaat-antigenen op trofoblast?</i>	35
b. <i>Maskeert fibrinoid de transplantaat-antigenen op trofoblast?</i> .	36
5. <i>Immunologisch enhancement en bescherming van zwangerschap</i>	36
§ 2. ONDERZOEK MUIZEN-TROFOBLAST	38
A. INLEIDING	38
1. <i>Doel van het onderzoek</i>	38
2. <i>Routine materiaal en methoden</i>	39
a. <i>Bepaling zwangerschapsduur en verdere muizen-fok-gegevens</i>	39
b. <i>Enige transplantatie-genetische gegevens betreffende gebruikte muizen-stammen</i>	41
c. <i>Gebruikte narcose en doden der muizen</i> .	41
d. <i>Histologische coupes</i> .	41
B. LICHT-MICROSCOPISCH ONDERZOEK VAN MUIZENPLACENTAE BIJ VERSCHILLENDE ZWANGERSCHAPSDUUR .	42
1. <i>Materiaal en methode</i> .	42

2. <i>Bevindingen</i>	42
- Trofoblast, 7½ dag	42
- Trofoblast, 9½ dag	43
- Trofoblast, 12½ dag	43
- Trofoblast, 17½ dag	44
- Trofoblast, 19½ dag	46
3. <i>Discussie en conclusies</i>	46
C. MICROSCOPISCH BEELD VAN HET GEDRAG VAN TROFOBLAST- PRECURSORS IN RECIPROKE ALLO-F ₁ -RELATIE	47
1. <i>Handhaving trofoblast-elementen na transplantatie van ova</i> <i>(2½ dag) onder de nierkapsel</i>	47
a. <i>Materiaal en methode</i>	47
b. <i>Bevindingen</i>	51
- Trofoblast, 9½ dag (7 dagen na transplantatie)	51
- Trofoblast, 12½ dag (10 dagen na transplantatie)	51
- Trofoblast, 17½ dag (15 dagen na transplantatie)	53
- Trofoblast, 19½ dag (17 dagen na transplantatie)	53
- Trofoblast, 21½ dag (19 dagen na transplantatie)	53
2. <i>Handhaving trofoblast-elementen na transplantatie van ecto-</i> <i>placentaire conus (7½ dag) onder de nierkapsel</i>	55
a. <i>Materiaal en methoden</i>	55
b. <i>Bevindingen</i>	55
- Trofoblast, 9½ dag (2 dagen na transplantatie)	55
- Trofoblast, 12½ dag (5 dagen na transplantatie)	55
- Trofoblast, 17½ dag (10 dagen na transplantatie)	55
- Trofoblast, 19½ dag (12 dagen na transplantatie)	57
- Trofoblast, 21½ dag (14 dagen na transplantatie)	57
3. <i>Discussie en conclusies</i>	58
§ 3. ONDERZOEK OVER HET VERMOGEN VAN MUIZEN-TRO- FOBLAST TOT HET OPWEKKEN VAN IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT	59
A. OPZET PROEIOPSTELLING, MATERIAAL EN METHODEN	59
B. NUANCERING VAN HET BEGRIP „AFSTOTING” IN NIET GEMODIFI- CEERDE SOFT MODEL SKIN GRAFTS	69

1. <i>Inleiding</i>	69
2. <i>Hard model first set</i>	69
3. <i>Hard model second set</i>	73
4. <i>Soft model first set</i>	74
5. <i>Soft model second set</i>	80
6. <i>Aangelegde criteria betreffende afstotings- c.q. resorptie- momenten van de grafts</i>	83
7. <i>Vergelijking range „afstotings-momenten” in verschillende skin-graft-modellen (macroscopisch)</i>	84
8. <i>Histologisch onderzoek van een groep van 18 macroscopisch „afgestoten” transplantaten in het soft model first set</i>	87
C. RESULTATEN VAN GEMODIFICEERDE SOFT MODEL SKIN GRAFTS	88
1. <i>Invloed Freund's adjuvant en Hanks' solution op transplantaat- overleving in het soft model</i>	88
2. <i>Actief enhancement experiment: Immunisatie d.m.v. ectopla- centaire conus-homogenaten</i>	89
3. <i>Passief enhancement experiment: Serum na voorbereiding met ectoplacentaire conus-homogenaten (C.S.)</i>	90
4. <i>Passief enhancement experiment: Serum van 7½ dag zwangere muizen (Z.S.)</i>	90
5. <i>Controle passief enhancement experiment: Serum van volwas- sen maagdelijke vrouwelijke muizen (M.S.)</i>	93
D. DISCUSSIE EN CONCLUSIES	93

HOOFDSTUK III

VERGELIJKEND SEROLOGISCH ONDERZOEK NAAR LYMPHOCYTOTOXISCHE ISO-ANTILICHA- MEN BIJ DE VROUW T.O.V. DE ECHTGENOOT EN VERDELING VAN DE BLOEDGROEPEN VOLGENS HET AB-O SYSTEEM BIJ BEIDEN

§ 1. LITERATUURGEGEVENS	99
A. INLEIDING	99
B. CYTOTOXISCHE ANTILICHAMEN	99
C. COMPLEMENT (C')	100

D. ANTICOMPLEMENTAIRE ACTIVITEIT	101
E. ZWANGERSCHAP ALS STIMULUS TOT OPWEKKING VAN CYTO- TOXISCHE ANTILICHAMEN	102
§ 2. ONDERZOEK NAAR DE INVLOED VAN ABORTUS, RESPEC- TIEVELIJK PARTUS IMMATURUS OP HET ONTSTAAN VAN CYTOTOXISCHE ANTILICHAMEN .	103
A. INLEIDING .	103
B. MATERIAAL EN METHODEN	105
1. <i>Lymphocytotoxische test</i> (<i>KISSMEYER-NIELSEN en KJERBYE,</i> <i>1967</i>)	105
a. Lymphocyten-suspensie .	105
b. Serum	107
c. Complement	107
d. Indicator .	107
e. Uitvoering	108
2. <i>Complement-titratie</i> .	109
a. Hemolytisch systeem	109
b. Hemolysine (amboceptor)-titratie	109
c. Soorten complement .	109
d. Uitvoering	109
3. <i>Anticomplementaire activiteits-bepaling</i> .	112
C. BEVINDINGEN	113
1. <i>Onderzoek bij 4 groepen van echtparen omtrent het voorko- men van cytotoxische antilichamen bij de vrouw en de ver- deling van bloedgroepen volgens het AB-O systeem</i>	113
2. <i>Vergelijking van 2 soorten complement bij anticomplementaire activiteits-bepaling van 29 sera van verschillende bewaarduur</i> .	113
3. <i>Oriënterend onderzoek over de invloed van de bewaarduur bij -20° C. van ½ menselijk-C' + ½ konijnen-C'</i>	118
D. DISCUSSIE EN CONCLUSIES	119

HOOFDSTUK IV

IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT ALS MOGELIJKE BESCHERMING VAN ZWANGERSCHAP, INZONDERHEID HET VOORKÓMEN VAN ABORTUS

BESPREKING VAN DE ONDERSCHIEDEN BEVINDINGEN IN
HET LICHT VAN DEZE MOGELIJKHEID 126

SAMENVATTING . 129

SUMMARY 132

LITERATUUR 135

INLEIDING

In de vorm van een klinisch te herkennen abortus eindigen spontaan tenminste 10% van de zwangerschappen. Slechts zelden kan in een concrete situatie de oorzaak van dit veel voorkomend gebeuren worden aangewezen.

Sedert enkele jaren houdt men rekening met de mogelijkheid, dat het ontbreken van zogenaamd immunologisch enhancement één der oorzaken van abortus zou kunnen zijn. Het uitgangspunt hiervan vormt de beschouwing van de zwangerschap als transplantatie-verschijnsel. Tot heden werden nagenoeg geen concrete onderzoekingen uitgevoerd om immunologisch enhancement en zwangerschap met elkaar in verband te brengen.

De berichten omtrent successen op het gebied van orgaan-transplantaties, lijken — met uitzondering van de niertransplantaties — nagenoeg weggeëbd te zijn. De euforie heeft plaats gemaakt voor een kritische evaluatie van de transplantatie-reactie. Onderzoek van het transplantatiemodel dat fysiologisch voorkomt, te weten de foetus in utero, zou hierbij van nut kunnen zijn.

Na een literatuurstudie over de meest bekende factoren die abortus zouden veroorzaken hebben wij ons ten doel gesteld, om met behulp van actief en passief enhancement-modellen de werkhypothese te toetsen, dat een gebrek aan immunologisch enhancement abortus zou kunnen veroorzaken.

Voorname enhancement-modellen werden bij muizen uitgevoerd. Naast dit dier-experimenteel onderzoek werden menselijke sera op het voorkomen van cytotoxische antilichamen onderzocht om, ook langs deze weg, de werkhypothese te toetsen.

Deze studie beoogt een antwoord te geven op de volgende vragen:

1. Kan trofoblast enhancing antilichamen opwekken?
2. Heeft immunologisch enhancement invloed op de handhaving van de zwangerschap?

HOOFDSTUK I

LITERATUUROVERZICHT AETIOLOGISCHE PROBLEMEN OMTRENT SPONTANE ABORTUS RESP. PARTUS IMMATURUS

§ 1. DEFINITIE(S) VAN ABORTUS

Een menselijke vrucht uitgestoten voor het einde van de 28e zwangerschapsweek, heeft meestal geen levensvatbaarheid. HERTIG vermeldde in 1968 dat bij wijze van uitzondering een immature foetus met een geboortegewicht van 640 gram bij 24 wk. amenorrhoe in leven bleef.

Bij bespreking van oorzakelijke factoren van abortus gaan sommigen uit van voornoemde periode van 28 wk. (HERTIG, 1943, 1944, 1967, 1968; HOFMANN, 1969), anderen van 22 wk. amenorrhoe en/of 500 gram (JAVERT, 1957; CARR, 1965), respectievelijk van 20 wk. amenorrhoe (WORLD HEALTH ORGANISATION, 1950; NOVAK c.a., 1967) en van 16 wk. amenorrhoe (DE SNOO, 1930; KIRKELS, 1966; HOLMER c.a., 1967). In Nederland rekent men het uitgestoten worden van een vrucht nog tot abortus, indien deze vóór de voltooiing van de 16e zwangerschapsweek plaats vindt. Deze grens wordt gesteld, omdat dan de aanleg van de placenta is voltooid en de decidua capsularis juist contact heeft gemaakt met de decidua vera.

Indien niet anders vermeld, sluiten wij ons aan bij de Nederlandse definities van abortus (tot 16 wk. amenorrhoe), partus immaturus (16-28 wk. amenorrhoe) en partus praematurus (28-38 wk. amenorrhoe).

§ 2. ABORTUS FREQUENTIE EN FETAL LOSS

In 8-10% van de zwangerschappen treedt abortus spontaan op (KIRKELS, 1966), niet alleen bij mensen, doch ook bij dieren zoals ratten, konijnen, fretten, varkens, koeien en merries (HERTIG, 1944). De hoogste frequentie van klinisch herkenbare abortus blijkt zich te bevinden tussen de

8e en 12e zwangerschapsweek (NOVAK, 1967). In het algemeen kan worden gesteld, dat slechts in de helft van de gevallen van zogenaamde dreigende abortus, het embryo werkelijk bedreigd wordt c.q. reeds te gronde is gegaan; in de helft der gevallen van vaginaal bloedverlies in het eerste trimester van de zwangerschap berust dit op een necrose van de decidua capsularis zonder enig gevaar voor de vrucht (HERTIG, 1968).

Dezelfde auteur onderzocht in 1967 samen met J. ROCK de inhoud van uterus en tubae direct na extirpatie bij 211 patiënten met bewezen fertiliteit. Er werden 34 ova opgespoord, 23 normale en 11 zó abnormaal, dat levensvatbaarheid uitgesloten moest worden geacht. In de eerste 6 ontwikkelingsdagen, dus voor de implantatie, is het verlies van zwangerschapsproducten, blijkens het afwijkend zijn van 4 van 8 gevonden gekliefde ova, het grootst. In de ontwikkelingsperiode na implantatie tussen de 11e en 14e dag (25e-28e cyclus-dag), werden 21 ova opgespoord, waarvan 6 afwijkend bleken: *fetal loss* ruim een vierde van het totaal.

De conclusie moet zijn dat het verlies aan zwangerschapsproducten minstens tussen de helft en drie kwart ligt. Immers, indien alle morfologisch abnormale ova alsnog kans zouden zien zich te implanteren, dan kan op een verlies van de helft worden gerekend; in het tegenovergestelde geval op een verlies van drie kwart. Er zijn geen gegevens bekend aangaande het implanteren van morfologisch abnormale ova.

Geen rekening werd gehouden met de mogelijkheid, dat ook goede ova door bepaalde omstandigheden, niet aan implantatie zouden kunnen toekomen, doordat zij bijvoorbeeld in de vrije buikholte terecht komen, respectievelijk er een discongruentie bestaat tussen het ontwikkelingsstadium van het ovum en de toestand waarin het uterus-slijmvlies zich bevindt etc., waardoor laatstgenoemde percentages nog hoger zouden komen te liggen. Dat eenmaal geïmplanteerd een abortus slechts in 10% der gevallen wordt opgemerkt, zou verklaard kunnen worden door aan te nemen, dat in een aantal gevallen, uitstoting plaats vindt rondom de te verwachten menstruatie.

In vergelijking tot abortus komt partus immaturus relatief zelden voor (HOLMER e.a., 1967).

§ 3. HET HABITUELE KARAKTER VAN ABORTUS

In tegenstelling met de algemeen aanvaarde opvatting dat slechts dán gesproken wordt van habituele abortus indien 3 maal achtereenvolgens een spontane abortus in de anamnese voorkomt, hebben wij gemeend in deze studie ons hieromtrent te mogen conformeren aan HERTIG e.a., 1944.

Zij stelden dat van habituele abortus sprake is, indien minstens 2 maal achtereenvolgens een spontane abortus heeft plaats gevonden.

MALPAS, 1938, bracht het algemene abortuspercentage, door hem geschat op 18%, in verband met habituele abortus. Hij berekende op statistische gronden de trefkans dat achtereenvolgens een spontane abortus zou kunnen voorkomen zonder dat van een zogenaamde „habituele factor” sprake zou zijn.

EASTMAN, 1946, werkte deze gegevens nader uit, waarbij hij een „habituele factor” van 0,4% hanteerde zoals HERTIG e.a., in 1944, hadden aangegeven na analyse van 1000 gevallen van spontane abortus. Uitgaande van voornoemde gegevens, kwam EASTMAN tot de navolgende conclusies: „Na 1 maal abortus is de kans van een gunstig beloop van een volgende graviditeit 86,8%, na 2 maal abortus 63,1%, na 3 maal abortus 16,4% en na 4 maal abortus 1,7%.”

SPEERT, 1954, kwam echter op empirische gronden bij bestudering van 121 patiënten met 3 of meer achtereenvolgende spontane abortus, tot een veel betere prognose (81%) voor een volgende zwangerschap, dan de berekeningen van MALPAS en EASTMAN deden veronderstellen.

PANNEKOEK, 1967, trachtte beide gezichtspunten onder één noemer te brengen door te stellen, dat bij specifiek aetiologische momenten betreffende habituele abortus, toevalsfactoren mede een rol kunnen spelen.

In de volgende paragraaf zullen wij onder andere nagaan, in hoeverre pogingen tot behandeling, welke „specifiek” op de oorzaak van abortus waren gericht, effect sorteerden. In het licht van de daaruit voortvloeiende gegevens lijkt de habituele factor die door HERTIG e.a., 1944, op 0,4% werd gesteld, beduidend groter te zijn.

De afwezigheid of dood van het embryo blijkt bij de helft van abortus-producten voor te komen (HERTIG, 1968). De oorzaak hiervan hoeft niet noodzakelijk in de vrucht zelf te liggen doch kan eveneens, respectievelijk mede bepaald worden door factoren afhankelijk van de uteriene omgeving. De klassieke scheiding in oorzaken van de kant van het ei en die van de moeder is, zeker in het individuele geval niet alleen aanvechtbaar, maar bovendien weinig zinvol en doet onrecht aan de interactie tussen beiden (NOVAK, 1967).

De indeling gebaseerd op een scherpe scheiding tussen aanleg- en ontwikkelingsstoornissen (KIRKELS, 1966) lijkt theoretisch niet geheel verantwoord en biedt in het individuele geval geen uitkomst.

Thans volgen een aantal beschouwingen die de betrekkelijkheid trachten aan te tonen van de meeste alom erkende „causale” momenten voor het ontstaan van abortus.

A. HET EI ALS OORZAAK VAN ABORTUS

1. *Ontwikkelings-anomalieën*

POLAND, 1968, zag bij histo-morfologisch onderzoek van 125 gevallen van spontane abortus 54 ontwikkelings-anomalieën (43%). Drie kwart der anomalieën waren in principe met het leven verenigbaar; waarom nochtans de ene foetus wél, de andere níet te gronde gaat met dezelfde afwijking, wordt vaak niet duidelijk. Bij vroege abortus (9 wk.) werden 63% morfologische afwijkingen gevonden (STRATTFORD, 1970). Morfologische veranderingen aan de placenta werden merendeels veroorzaakt door ophouden van de foetale bloedstroom en zijn veelal geen oorzaak van de vruchtdood (FOX, 1968; ABACI e.a., 1968).

Het lijkt dus raadzaam aan morfologische gegevens niet te veel aetiologische betekenis toe te kennen voor het ontstaan van abortus.

2. *Chromosomale afwijkingen*

Of chromosomale afwijkingen een oorzakelijk moment vormen, dan wel een gevolg zijn van het fenomeen abortus, valt tot op heden niet te zeggen (LENZ, 1967); temeer daar vele van de gevonden chromosomale afwijkingen op zich wél met het leven verenigbaar zijn.

Nadat in 1961 door PENROSE en DELHANTY als eersten een chromosomale afwijking van een menselijk abortusproduct werd beschreven, verschenen vanaf 1963 vooral in de Anglosaksische literatuur regelmatig nieuwe berichten hierover. CARR, 1965, vermeldt bij een serie van 370 abortusproducten een positief kweekresultaat van 54%; de 200 te beoordelen kweken vertoonden in 22% der gevallen een afwijkend karyogram. De gemiddelde zwangerschapsduur bij gevonden chromosomale aberraties was 85,9 ($\pm 3,21$) dagen, beduidend korter dan die bij de niet afwijkenden, welke 106,7 ($\pm 8,97$) dagen bedroeg. Binnen het 1e trimester daarentegen, zijn chromosomale afwijkingen gelijkelijk verdeeld (CARR, 1971). Ook bij de onderzoeken van KIRKELS, 1966; BOWEN e.a., 1969 en MIKAMO, 1970, valt deze trend waar te nemen. Dat spontane abortus relatief vaak samengaat met chromosomale afwijkingen valt af te leiden uit de volgende gegevens van MIKAMO:

Spontane abortus:	19 % chromosomale afwijking
Abortus provocatus:	2,8% chromosomale afwijking
Levend geboren:	0,5% chromosomale afwijking

Ook door PERGAMENT e.a., 1969 werd verband gelegd tussen spontane abortus en chromosomale afwijking, zij het op statistische gronden. Zij toonden bij 2 verschillende abortusproducten een dubbele chromosomale afwijking aan (2 maal trisomie), zodat, gezien de kans van vóórkomen van iedere afwijking afzonderlijk binnen de populatie waarin beide specimen voorkwamen, dit niet op louter toeval kon berusten *).

De abortus-frequentie neemt toe met de leeftijd van de moeder. De frequentie-toename met de leeftijd hangt tevens samen met de toename van chromosomaal-afwijkende abortusproducten, doch alleen wat de trisomie betreft (LENZ, 1967).

De tot heden bij abortusmateriaal gevonden chromosomale afwijkingen zijn: triploidie, tetraploidie, XO-configuratie en verschillende autosomale trisomieën, terwijl autosomale monosomieën uiterst zelden worden aangetroffen.

Onderzoekers op dit gebied, zover ons bekend, beperken zich tot geven van beschrijvingen van eventuele chromosomale afwijkingen van abortus-

*) Twee niet gerelateerde evidënten komen voor met een frequentie welk het product is van beide afzonderlijke kansen.

producten. Het relatief vaak voorkomen van genoemde afwijkingen geeft ons inziens niet het recht daaraan in het individuele geval zonder restrictie oorzakelijke betekenis toe te kennen.

3. „Overrijpheid” van het ei

Indien bij een cyclus-duur van 28 dagen een ovulatie, die tot bevruchting leidt, óp of vóór de 14e cyclus-dag plaatsvindt, dan zou deze na bevruchting 92% kans hebben van een goede vrucht te worden. Ovulatie ná de 14e dag geeft bij een cyclus-duur van 28 dagen slechts 50% kans hiertoe (HERTIG, 1967). Deze nadelige bevindingen bij de zogenaamde intrafolliculaire overrijpheid waarop ook door JONGBLOET, 1971, de aandacht werd gevestigd, worden langs dierexperimentele weg gesteund door proeven bij ratten door FUGO e.a., 1966 en BUTCHER e.a., 1967, waarbij door middel van pentobarbital (Nembutal) de ovulatie 2 dagen werd uitgesteld waardoor een verhoogde abortus-frequentie optrad; in het laatste geval bleek tevens een verhoogde frequentie van chromosomale afwijkingen te bestaan. In hoeverre echter het gebruikte barbituraat hier mede debet aan zou kunnen zijn, kan in de gebruikte profclopstelling niet beoordeeld worden.

GUERRERO e.a., 1970, konden retrospectief geen verschil aantonen bij groepen van abortus en à-termen zwangerschappen in ovulatie-moment en inseminatie-moment, zodat volgens hen geen verband kan bestaan tussen folliculaire c.q. tubaire overrijpheid der ova en een hogere abortus-frequentie.

4. De vaderlijke factor

In geval van habituele abortus is het gebruikelijk een semen-analyse in het onderzoek naar mogelijke oorzaken te betrekken.

JOËL, 1966, vond in 170 (niet nader gedefinieerde) gevallen van habituele abortus in 31% semen-afwijkingen van voornamelijk lichte aard; in slechts 6% der gevallen uitgesproken pathologische afwijkingen: een ernstige oligospermie (minder dan 5×10^6 /ml) benevens een abnormaal hoog percentage (40-90%) afwijkende spermatozoa. Een aanduiding, dat pathologisch sperma een relatie kan hebben tot het vóórkomen van abortus, meende hij verder te mogen afleiden uit het feit dat bij 4 vrouwen in hun eerste huwelijk steeds abortus optrad terwijl zij in hun tweede huwelijk alleen normale zwangerschappen doormaakten.

Viczián e.a., 1969, onderzochten 2 groepen van 50 mannen in wier huwelijk bij de ene groep habituele abortus optrad zonder dat zogenaamde maternale factoren konden worden opgespoord, terwijl in de andere groep uitsluitend normale zwangerschappen voorkwamen. In 14% van de eerste groep bleken meer dan 20% abnormale vormen in het semen voor te komen terwijl er tevens sprake was van een volgens hen matige *sperma-count* (30-60x10/ml), hetgeen wij, gezien hun criteria, menen te moeten betwijfelen. Afwijkende spermatozoa zouden volgens voornoemde publicatie zich in een concurrentie-strijd bevinden ten opzichte van de normale vormen; alleen indien een toename van abnormale vormen gepaard gaat met een geringer aantal spermatozoa zou, in uitzonderlijke gevallen, bevruchting door een afwijkende zaadcel mogelijk zijn.

Een zekere conclusie dat er een sperma-factor bij abortus kan voorkomen valt uit bovenstaande niet te trekken, te meer, daar het bekend is, dat bij zeer sterke oligospermie en bij een verhoogd aantal pathologische vormen, normale zwangerschappen kunnen vóórkomen en uitgedragen worden (HOFMANN, 1969).

5. *De falende progesteron-productie*

In de meeste gevallen van dreigende abortus zou de productie van oestrogenen ongestoord zijn (STOLTE e.a., 1967). Volgens dezelfde auteurs zou het corpus luteum slechts uiterst zelden falen in zijn functie. Een eventueel progesterontekort, dat door bepaling van pregnandiol-uitscheiding indirect kan worden aangetoond, zou dan verklaard moeten worden door de onvoldoende stimulatie van het corpus luteum door een gebrekkige HCG*-productie door de trofoblast, respectievelijk door een te kort schieten van het chorion bij de overname van de productie van progesteron.

Het hierboven vermelde onvermogen van het choriale weefsel zou ons inziens evenzeer een gevolg van abortus kunnen zijn als een oorzaak daarvan. De gevolgtrekkingen ten aanzien van de oorzaak van abortus

* HCG = *Human chorionic gonadotropin*.

uit lage waarden van de pregnandiol-uitscheiding dienen ons inziens in het individuele geval met de grootste reserve te worden gezien.

B. DE MOEDER ALS OORZAAK VAN ABORTUS

Bij ons huidige inzicht betreffende oorzaken van spontane abortus, is het slechts zelden mogelijk de moeder zelf „verantwoordelijk” te stellen. Het blijken soms invloeden van buiten te zijn die, via de moeder, die de draagster van de vrucht is, de conceptus bereiken.

Deze studie beoogt geen opsomming te willen geven van alle factoren, welke ooit als aetiologisch moment voor abortus zijn voorgesteld (zie hiervoor HOFMANN, 1969).

Zo zal ondermeer worden voorbij gegaan aan: hyper- en hypothyreoidie, avitaminosen, niet virale infectie-ziekten, endometritis chronica, cytostatica en andere medicamenten en psychogene invloeden.

Slechts die aetiologische momenten, welke volgens huidige inzichten met meer recht in verband gebracht kunnen worden met abortus dan de juist genoemde, zullen hieronder worden besproken.

Hoe moeilijk het is in een individueel geval van abortus een vastomlijnde oorzaak aan te geven, moge uit het volgende blijken.

1. *Infectie-ziekten*

De rol van enige specifieke virus-infecties bij de aetiologie van abortus wordt steeds duidelijker (BARNES, 1968). Het abortuspercentage van 75% welke in de U.S.A. in geval van rubeola wordt opgegeven, berust voor 20% op spontane abortus; de overige 55% betreft therapeutische abortus die uitgevoerd wordt, omdat blijkens literatuurgegevens de verwachting van congenitale afwijkingen 15-20% bedraagt (HOFMANN, 1969). Van voornoemde invloed van virus-infecties is die van rubeola tot op heden het best gedocumenteerd, waarbij duidelijk is geworden, dat, naarmate de infectie vroeger optreedt, de schade het grootst is (BARNES, 1968).

De invloed van het zeer vroege infectie-moment, met name bij een subclinisch verloop, maakt het nagenoeg onmogelijk een betrouwbare indruk te krijgen van de mate waarin virus-infecties bijdragen tot het ontstaan van abortus.

2. *Vaat-nierlijden*

De tweede helft van de zwangerschap wordt algemeen beschouwd de periode te zijn, waarin een *solutio placentae* kan voorkomen. JAVERT, 1957, heeft echter aandacht gevraagd voor de mogelijkheid, dat een retroplacentair haematoom, ook vroeg in de graviditeit kan voorkomen en wel in nagenoeg 2% van de door hem onderzochte gevallen van spontane abortus.

MALPAS, 1938, zag spontane abortus relatief vaak samengaan met hypertensie. EASTMAN, 1946, nam dit eveneens waar; in 17% van de 115 door hem onderzochte gevallen, bleek hypertensie en/of nephritis voor te komen.

Een definitie van abortus wordt door beide auteurs echter niet gegeven. Volgens HOLMER e.a., 1967, zou de vrucht ten gevolge van hypertensieve toxicose vrijwel steeds zo laat in de zwangerschap sterven, dat van abortus niet meer gesproken kan worden.

Wij zijn echter van mening dat, hoewel het aandeel niet te becijferen valt, er zeker invloed moet zijn van een vaat-nierlijden op het ontstaan van late abortus. Immers biologisch is een scherpe scheiding tussen vroege *partus immaturus* en late abortus, ondenkbaar. Vaatlijden speelt eveneens een rol bij hetgeen hierna wordt besproken.

3. *Diabetes mellitus*

Algemeen neemt men aan, dat het optreden van abortus een gevolg kan zijn van enige vorm van diabetes, hetzij manifeste-, latente-^{*}), of potentiële^{**}) diabetes.

^{*}) Als latente diabetes beschouwen wij de vorm waarbij tijdens stress-situaties (o.a. graviditeit) een stoornis in de glucose tolerantie test optreedt. Een uitgesproken vorm hiervan is de diabetes gravidarum.

^{**}) Als potentiële diabetes beschouwen wij de vorm waarbij onder alle omstandigheden een normale glucose tolerantie test voorkomt; het potentiële karakter is gebonden aan het voorkomen van familiale diabetes en/of stoornissen in de obstetrische anamnese die waarschijnlijk diabetogeen bepaald zijn („onverklaarde”-intra-uteriene- vruchtdood, respectievelijk neonatale sterfte; recidiverende abortus, — *partus immaturus*, — *partus praematurus*; *missed abortion*; congenitale afwijkingen; *hydramnion*; *macrosomie*). Later kan deze vorm overgaan in latente c.q. manifeste diabetes.

In het bijzonder zou het „missed” karakter de relatie met genoemde stoornis aannemelijk maken.

Volgens meerdere auteurs (HAGBARD, 1961; CONSTAM, 1965; RUST, 1966; MALINS, 1968) zou de fetal-loss bij diabetes de termijn betreffen ná de 28e week. Hoewel HAGBARD in 1961 nog stelde, dat de perinatale sterfte bij in team-verband behandelde diabetes nog 20% bedroeg, is hierin de laatste jaren duidelijke verbetering opgetreden. SMORENBERG-SCHOORL e.a., 1970, bereikten een perinatale sterfte van ruim 7% bij 84 zwangerschappen bij 70 diabetische patiënten.

Geldt het bovenstaande voor manifeste diabetes, ook voor latente- en potentiële diabetes blijkt behandeling te resulteren in de verlaging van de fetal-loss, waaronder een minder frequent voorkomen van (missed) partus immaturus (*late abortion*) (VAN DER LINDEN e.a., 1971).

Uit de literatuur zijn weinig quantitative gegevens bekend omtrent de invloed die diabetes heeft op de zwangerschap vóór de 16e week.

Insuline-behandeling kon volgens OMERS, 1960, het abortus-percentage terugbrengen van 19% naar 10%; BOTELLA-LLUSIA e.a., 1969, zagen een vermindering van 39% tot 8.6% tot stand komen onder genoemde therapie.

Ook onze eigen klinische waarnemingen geven ons de stellige overtuiging dat in de periode vóór de 16e week, diabetes de zwangerschap in negatieve zin kan beïnvloeden.

4. Uterus-anomalieën

Uit een verzamelstatistiek blijkt, dat bij circa 40% van de zwangerschappen bij patiënten met aangeboren uterus-afwijkingen er een abortus respectievelijk partus immaturus volgt (DUNSELMAN, 1959). Genoemde auteur geeft in een groep van 118 patiënten aan, dat door operatieve behandeling van uterus-anomalieën het percentage fetal-loss van 70% vóór de operatie daalt tot 11% ná de operatie.

Wij menen echter enige bedenkingen naar voren te moeten brengen aangaande het vermelde succes van de ingreep. De indicatie tot operatie werd namelijk in een niet onaanzienlijk deel der gevallen (40%) ge-

vormd door een voorgeschiedenis van slechts één respectievelijk twee maal voorkomen van abortus.

5. *Uterus myomatosus*

De bevinding bij autopsie, dat 20% van alle vrouwen boven 30 jaar een of meer myomata hebben, bestempelt deze tumor tot de meest frequente van de uterus (NOVAK e.a., 1967). Dezelfde auteurs berichtten, dat hoewel myomata tijdens de zwangerschap meestal groter worden en het niet ongebruikelijk is dat zij dan tevens degeneratieve kenmerken vertonen, de zwangerschap zélf, ook bij grote tumoren, nagenoeg steeds normaal doorgang vindt.

Hoewel het uit mechanisch oogpunt gezien waarschijnlijk lijkt dat uterus-myomen oorzaak zouden kunnen zijn van abortus, blijkt dit in de praktijk zelden het geval te zijn (HOFMANN, 1967).

6. *Traumata*

De algemeen heersende mening, dat traumatische invloeden zoals die kunnen voorkomen in het moderne verkeer en bij sport-beoefening, een abortus kunnen veroorzaken, berust meestal op een misvatting. Bij analyse van 1000 spontane abortus bleek er in 13 gevallen van een ernstig trauma sprake te zijn. In slechts één der gevallen kon een mogelijk verband tussen het trauma en de abortus aannemelijk worden gemaakt. Slechts 1 van de 13 zwangerschapsproducten bleek namelijk niet te voren reeds afwijkend te zijn geweest (HERTIG e.a., 1943).

In een concrete situatie blijkt het veelal onmogelijk te zijn, een bepaalde aetiologische factor voor het optreden van abortus verantwoordelijk te stellen.

HOOFDSTUK II

ZWANGERSCHAP ALS SYN-TRANSPLANTAAT

§ 1 LITERATUUR GEGEVENS

A. TERMINOLOGIE

De Engelse taal zal worden gebezigd, indien voor een bepaald begrip geen goed Nederlands equivalent voorhanden is; wel zullen combinaties van Engelse en Nederlandse termen worden gebruikt. Het pogen tot vertalen van internationaal aanvaarde nomenclatuur, leidt ons inziens eerder tot verwarring, dan tot verheldering.

Transplantatievormen (Tabel I).

Donor (D) = organisme waaruit cellen, weefsel of een orgaan worden verwijderd voor transplantatie.

Recipient (R) = Acceptor = organisme dat voornoemd materiaal ontvangt.

B. TRANSPLANTATIE-REACTIE

1. *Inleiding*

Een transplantatie-reactie is een reeks van gebeurtenissen, welke veroorzaakt wordt door een reactie van de acceptor op het vreemde antigeen van de donor. In het algemeen zal het transplantaat, als gevolg hiervan, geheel of gedeeltelijk te gronde gaan.

De transplantatie-reactie is een integrerend deel van de immunologie, in het bijzonder van de vertraagde hyperallergie en heeft nauwe betrekkingen tot de genetica, de embryologie, de cytologie en de tumor-immunologie (RAMSEIER, 1969).

Het immunologisch karakter van voornoemde reactie, dat in wezen voornamelijk cellulair bepaald is, gaat phylogenetisch, gezien het voorkomen onder andere bij amphibiëen en vissen, zeer vroeg terug in de evolutie en is hoogst waarschijnlijk van oudere oorsprong, dan de reactie

TABEL I

Engels	Nederlands	Omschrijving uitvoering
<i>Autologous</i> (WOODRUFF, 1968) - <i>autograft</i> -	Autoloog - auto-transplantaat -	D en R: hetzelfde individu
<i>Isogeneic</i> (WOODRUFF, 1968) - <i>isograft</i> -	Isoloog - iso-transplantaat -	D en R: identieke gemelli; binnen dezelfde zuiver ingeteelde stam
<i>Syngeneic*</i> - <i>syngraft</i> -	Synloog - syn-transplantaat -	D en R: binnen dezelfde soort in 1 ^e -graad relatie (bv. moeder-kind)
<i>Homologous</i> (JAP, 1971) - <i>homograft</i> -	Homoloog - homo-transplantaat -	D en R: binnen dezelfde niet ingeteelde stam (bv. Wistar-ratten- stam)
<i>Allogeneic</i> (WOODRUFF, 1968) - <i>allograft</i> -	Alloloog - allo-transplantaat -	D en R: binnen dezelfde soort (bv. ratten onderling)
<i>Heterologous</i> (REEMTSMA, 1965) - <i>heterograft</i> -	Heteroloog - hetero-transplantaat -	D en R: binnen dezelfde phylogenetische groep (primaten; knaagdieren; hoefdieren etc.)
<i>Xenogeneic</i> (REEMTSMA, 1965) - <i>xenograft</i> -	Xenoloog - xeno-transplantaat -	D en R: phylogenetisch ver van elkaar verwijderd (bv. hond — varken)

*: MEDAWAR, 1962, stelde voor de term *homologous* te vervangen door *allogeneic*, terwijl *syngeneic* door hem identiek werd gesteld met *isogeneic*. Wij meenden voornoemde termen te moeten handhaven, echter met een gewijzigde begripsinhoud, zodat donor-recipient relaties nader konden worden aangeduid.

TRANSPLANTATIEVORMEN

die humorale antilichamen opwekt (MEDAWAR, 1958). Naarmate de evolutie voortschrijdt, wordt de immunologische response verfijnder (SMITH, 1968).

De fundamentele functie van het immunologisch systeem is niet alleen gericht tegen binnendringende micro-organismen, doch vermoedelijk ook via cellulaire immuniteit tegen aberrante celdifferentiaties (MÖLLER, 1971) en via humorale antilichamen tegen fout gesynthetiseerde proteïnemoleculen (GÜNTHER, 1969) in het lichaam zelf. Dit recente inzicht is geheel in overeenstemming met de vroege phylogenetische ontstaanswijze.

Ook ontogenetisch kan reeds vroeg een immunologische response optreden. De menselijke foetus is in de 20e zwangerschapsweek reeds in staat met IgG en IgM te reageren op een antigeen-stimulus (VAN FURTH, 1965; BONVINI, 1970). Het immunologisch apparaat is dan echter nog niet in staat transplantaat afstoting te veroorzaken (LA PLANTE e.a., 1969). Contact met transplantaat-antigenen wekt dan veeleer immunotolerantie op (MILLER, 1968).

Het mechanisme van de transplantatie-reactie bestaat uit een aantal componenten. Aan de hand van gegevens ontleend aan recente onderzoeken zullen eerst deze componenten behandeld worden.

2. Antigeen, betrokken bij transplantatie-reactie

Alleen kernhoudende cellen bevatten transplantaat-antigenen (MEDAWAR, 1959), die behalve buiten op het celmembraan (MÖLLER, 1961), ook op subcellulair niveau aanwezig kunnen zijn. OZER en WALLACH, 1967, toonden voornoemde antigenen zowel op het celmembraan als op endoplasmatisch reticulum aan. Deze antigenen kunnen zowel cellulaire als humorale immuniteit induceren (MEDAWAR, 1959).

Op moleculair niveau blijken transplantaat-antigenen een onderdeel te zijn van niet oplosbare (membraan)-lipoproteïnen (DAVIES e.a., 1968), waarvan een oplosbare glycoproteïnenfractie het actieve bestanddeel is. De zuivering op membraanfragmenten kon bereikt worden door papaine digestie (LEVENTHAL e.a., 1971) of behandeling met ultra-geluid (KOENE e.a., 1971; KAHAN, 1971) als eerste stap. Het resulterend materiaal (mol. gew. ± 50.000) kan zowel specifieke antilichamen binden (KAHAN,

1971), als een prikkel vormen voor het immunologisch systeem om deze specifieke antilichamen te vormen. Met voornoemd materiaal bleek versnelde huidtransplantaat-afstoting opgewekt te kunnen worden bij muizen (KOENE, e.a., 1971). Bij de mens kon dit materiaal specifieke cytotoxinen uitlokken (LFVINTHAI, e.a., 1971).

Het vermogen van transplantaat-antigenen, zowel cellulaire als humorale-immuniteit op te roepen, zou op verschillen in structuur van membraanlipoproteïnen berusten (RAMSEIER, 1968); deze verschillen betreffen fysisch-chemische eigenschappen (RAMSEIER, 1969). Hoewel nog niet geheel uitgezocht is, welk van beide componenten van het glycoproteïne, het suiker- of het eiwit-gedeelte, de antigeen-eigenschap in zich draagt, lijkt het volgens SANDERSON, e.a., 1971 het meest waarschijnlijk, dat de polysacchariden-groepen de binding met antilichamen verzorgen. Volgens een hypothese van dezelfde auteurs geeft een genetische informatie een bepaalde peptide-volgorde aan het eiwit-molecuul, dat de hieraan verbonden glycosiden ruimtelijke en enzymatische stabiliteit verleent. De functie van het antigeen om antilichamen op te wekken zou deze stabiliteit nodig hebben. De andere functie van het antigeen, het binden van antilichamen, heeft deze stabiliteit echter niet nodig. Voornoemde stabiliteit lijkt ook een onmisbare factor om de antilichamen de mogelijkheid tot cytotoxische activiteit te geven (MÖLLER, 1971).

De distributie van menselijke transplantaat-antigenen werd door LUCAS, 1971, bepaald op lymphocyten, nier-cellen, lever-cellen en fibroblasten. De antigeen-dichtheid van verschillende cellen is wisselend; lymphocyten, de kleinste der vier onderzochte cel-typen, hebben de hoogste quantiteit aan antigeen-determinanten per cel. Met behulp van binding-ratio's tussen ^{125}J -immuun-monospecifieke gezuiverd IgG-verbindingen en ^{131}J -niet immuun gezuiverde IgG-verbindingen konden per cel 50-100 antigeendeterminanten worden vastgesteld. Deze relatief lage bezetting van transplantaat-antigenen is voldoende om een immunologische reactie op te roepen. In tegenstelling hiermee kunnen erythrocyten dán pas tot immunologische reactie (agglutinatie) overgaan, indien minstens 20.000 antigeen-plaatsen per cel bezet zijn.

De aard van de antigenen wordt bepaald door een genetische informatie

vanuit de chromosomen. Omdat het grootste deel van de transplantaat-antigenen voorkomt op alle kernhoudende cellen, kan de antigenenbepaling van leucocyten gebruikt worden voor weefseltypering van organen. Transplantaat-antigenen op leucocyten kunnen door middel van serologische testen worden aangetoond: Leuco-agglutinatie-test (DAUSSET, 1958; VAN ROOD e.a., 1959; PAYNE, 1962; JENSEN, 1962; VAN ROOD e.a., 1963; CEPPELINI e.a., 1964; JENSEN, 1964; PAYNE e.a., 1964; VAN ROOD e.a., 1966) en cytotoxische-test (TERASAKI e.a., 1964; ENGELFRIET e.a., 1965; KISSMEYER-NIELSEN e.a., 1967; MITTAL e.a., 1968). Met behulp van de *mixed-lymphocyte-culture* (M.L.C.) *-test (BACH, 1964; BAIN e.a., 1964; HIRSCHHORN e.a., 1964; MOYNIHAN e.a., 1965; BACH, 1968; BACH e.a., 1971) kunnen voornoemde antigenen tevens op lymphocyten worden kenbaar gemaakt. Eerst na gebruikmaking van computers ter analyse van gegevens uit voornoemde testen bij grote familie-studies, konden aanvankelijk 12 allelen voor menselijke transplantaat-antigenen worden aangetoond (VAN ROOD e.a., 1965).

Verdere analyse zowel bij muizen waar het genetisch onderzoek kan worden bevorderd, door gebruik te maken van zuiver ingeteelde stammen, als bij mensen, hebben tot heden twee uiterst complexe systemen van overerving aan het licht gebracht.

Het zogenaamde H-2 systeem bij muizen (SHRIFFLER e.a., 1969) vertoont in opzet bijzonder veel gelijkenis met het menselijke HL-A systeem (DAVIES e.a., 1968).

De tot heden bekende transplantaat-antigenen van het HL-A systeem bij de mens, blijken zich op twee nauw-verbonden sub-loci op één autosoom te bevinden (VAN ROOD, 1969), zodat deze *en bloc* overerven (DAUSSET, 1971). Deze antigenen zijn mutueel exclusief, waarbij twee groepen te onderscheiden zijn van allelen, die betrekking hebben op een

* MLC = In vitro bijeenbrengen van lymphocyten van 2 (incompatibele) donoren. Onder invloed van antigeen-informatie zal blast-vorming, verhoogde mitose en versterkte ³H-thymidine-incorporatie optreden bij cellen van het andere individu.

One-way-methode = het voorbereiden van lymphocyten van een der partijen (bv. met behulp van mitomycine-C) waardoor de antigeen-informatie behouden blijft van genoemde donor, doch eventuele response alleen voor andere partij mogelijk blijft.

der genoemde sub-loci. DAUSSET, 1971, vond voor het eerste sub-locus elf allelen, voor het tweede zestien, terwijl KISSMEYER-NIELSEN e.a., 1971, voor het eerste sub-locus slechts negen, doch voor het tweede negentien allelen vonden; beiden verwachten hiervan nog een uitbreiding.

Antigenen van het AB-O systeem zijn óók transplantaat-antigenen (CEPPELINI, 1963; DAUSSET, 1966; VAN ROOD, 1969).

Samenvattend kan gesteld worden, dat zover onze kennis tot heden reikt, één bepaald persoon wat zijn transplantaat-antigenen betreft, door zes allelen kan worden getypeerd: vier allelen van het HL-A systeem op één autosomen-paar en twee allelen van het locus van het AB-O systeem (DAUSSET, 1971).

Bij muizen zijn buiten het reeds besproken H-2 systeem nog zwakke zogenaamde *non-H-2* antigenen bekend (BILLINGHAM e.a., 1963; HILDEMANN, 1971), waarvan een gedeelte geslachts-gebonden blijkt te zijn. In onafhankelijke publicaties stelden zowel EICHWAID e.a. als HAUSCHKA in 1955 als eersten de mogelijkheid, dat een zwak transplantaat-antigeen zich bij muizen op het Y-chromosoom kon bevinden; dit werd door BILLINGHAM e.a., 1965 en SIVERS e.a., 1967, bevestigd. Volgens BAILEY, 1963, zou ook het X-chromosoom van de muis in zeldzame gevallen een transplantaat-antigeen kunnen bevatten.

De expressie van histocompatibele antigenen*) is in één individu niet voor alle weefsels gelijk; zo zal een huidtransplantaat deze duidelijker manifesteren dan leverweefsel (BARNES, 1968; CAINE, 1971); op spermatozoa blijkt deze expressie zó zwak te zijn, dat pas recent deze antigenen hierop konden worden aangetoond (FELLOUS e.a., 1970).

Tumor-specifieke transplantaat-antigenen blijken verborgen zich op tumorcellen te kunnen bevinden (HEILSTROM e.a., 1965; 1969; 1970);

*) = Transplantaat-antigenen Voor de mens zijn tot nu toe alleen die van het HL-A systeem en AB-O systeem bekend. Indien een der zogenaamde leucocyten-groepen wél bij de donor, doch níet bij de acceptor aanwezig is, spreekt men van sterke histocompatibele barrière.

De muis vertoont een zogenaamd *major-system* het H-2 systeem, dat analoog aan het HL-A systeem reageert. Van een zwakke histocompatibele barrière wordt gesproken, indien het verschil tussen donor en acceptor alleen *non-H-2* antigenen betreft.

deze zouden gedemaskeerd kunnen worden door behandeling met neuraminidase, waardoor een veronderstelde mucopolysacchariden-laag verwijderd wordt (SANFORD, 1967; CURRIE e.a., 1968; LIPPMAN, 1968; HAUSE e.a., 1970). Het later te bespreken mechanisme van *immunologisch enhancement* wordt ook verondersteld een rol te kunnen spelen bij tumoren om antigenen-expressie-blokkade te bewerkstelligen, een conditie, die het tumoren mogelijk zou maken het auto-immuun-systeem niet ter eigen destructie, maar ter zelfbescherming aan te wenden (KALISS, 1970; HELLSTRÖM, 1971).

In de embryologische ontwikkeling, blijken transplantaat-antigenen reeds vroegtijdig aanwezig te zijn. Op foetaal weefsel konden bloedgroepen-substanties A en B bij een graviditeit van 6 weken amenorrhoe *) worden aangetoond (SZULMAN, 1964).

HL-A antigenen konden behalve bij 10 weken amenorrhoe (CEPPELINI e.a., 1971) ook reeds bij 6 weken amenorrhoe (SEIGLER e.a., 1970) opgespoord worden.

3. Cellen, betrokken bij transplantatie-reactie

– *Passenger-leucocytes* zijn afkomstig uit de *graft*. Zoals eerder vermeld bevatten deze cellen transplantaat-antigenen en kunnen dus sensibilisatie op afstand induceren b.v. in graft-bed, in regionale lymfeklieren (STIMMULLER e.a., 1971).

– *Macrophagen* en *lymphocyten* zouden mogelijk de code tot antilichamen-productie, zowel voor immuno-globulinen (JACKERTS, 1967; MITSUHASHI e.a., 1968; BELL e.a., 1969; ROELANTS e.a., 1969), als voor cellulaire transplantatie-immuniteit (SABBADINI e.a., 1968; RAMMING e.a., 1969) via *R.N.A. (messenger-R.N.A.)* overbrengen. Deze experimenten kunnen echter niet geheel contaminatie van *R.N.A.-extracten* met oorspronkelijke antigeen-complexen uitsluiten. Na binnenkomst in de bloed- of lymfheccirculatie zal antigeen door middel van phagocytose,

*) De duur van de menselijke zwangerschap wordt in weken amenorrhoe aangegeven. Een menstruatie-cyclus van 4 weken wordt hierbij als uitgangspunt genomen. Het conceptie-moment valt samen met 2 weken amenorrhoe, terwijl de innesteling 1 week later geschiedt (HOTVIER e.a., 1967).

opgenomen worden door cellen van het reticulo-endotheliale systeem, waardoor betere en gespecialiseerde verwerking van antigeen door het immuun-systeem mogelijk wordt (SPEIRS, 1967; Bos, 1967; MILLER, 1968). De laatstgenoemde rol voor macrophagen is alleen duidelijk bewezen voor inductie van humorale immuniteit.

- Kleine lymphocyten, zijn cellen van 5-8 μ m doorsnede, met een hoge kern-plasma ratio, welke de voornaamsten in aantal zijn in lymfeklieren, zuivere lympho-epitheliale organen, bv. tonsillen, appendix, platen van Peyer, milt, thymus en beenmerg. Ze komen ruim voor in bloed en peritoneaal vloeistof en maken 95% uit van de lymphocyten der lymfe-vaten. Deze cellen ofschoon morfologisch tot één groep gerekend, zijn bijzonder heterogeen in functie en levensduur (MILLER, 1968). Zij zijn voorlopers van alle immunologische reacties, zowel humoraal als cellulair (RUSSELL e.a., 1970).

- Immuun-competente cellen behoren tot de kleine lymphocyten, zijn competent om aan een immuun-proces deel te nemen, doch zijn nog niet door antigenen geactiveerd (MILLER, 1968).

- *Antigen-sensitive- of antigen-responsive-cells* kunnen met het transplantaat zelf in direct contact treden (MEDAWAR, 1958); dit zijn cellen die zelf geen antilichamen produceren, maar met transplantaat-antigeen aanleiding geven tot de vorming van een groot aantal cellen zogenaamde immunologisch geactiveerde cellen of *effector-cells*. Met betrekking tot een eventuele humorale antilichamenproductie zijn deze cellen zó gespecialiseerd, dat ze slechts één, ten hoogste (doch zeer zelden) twee verschillende antilichamen kunnen maken (MILLER, 1968). Voornoemde antigen-sensitive-cells kunnen kleine ductus thoracicus lymphocyten zijn, die na contact met graft-antigeen, migreren naar onder andere lymfeklieren en milt (STROBER e.a., 1965).

- De kortlevende kleine lymphocyten (4-5 dagen) hebben een hoge mitose activiteit (Bos, 1967). Deze kortlevende cellen maken 95% uit van de kleine lymphocyten in de thymus (MILLER, 1968). Kortlevende kleine lymphocyten komen verder voor in bloed en in lymphatische organen. Zij kunnen wellicht follikel-lymphocyten voor *antigen-*

trapping en kortlevende exsudaat-lymphocyten voor specifieke antigeenverwerking worden (Bos, 1967).

- De langlevende kleine lymphocyten vormen de *pool* van recirculerende lymphocyten en zijn ook immuun-competent. Deze cellen recirculeren vanuit bloed door lymphoïde weefsels naar lymfhe en terug naar bloed (MILLER, 1969).

- Beenmerg-stam-cellen delen hemihomo-hemiheteroplastisch, dit wil zeggen dat zij zowel stamcellen kunnen produceren met dezelfde eigenschappen, als wel de mogelijkheid hebben tot differentiatie in 4 cellijnen (erythropoëtisch, myelopoëtisch, thrombopoëtisch en lymphopoëtisch); de morfologische karakteristiek is niet bekend (BENNETT e.a., 1967; DICKE, 1970). Volgens laatstgenoemde auteurs is de beenmergstamcel verantwoordelijk voor (re)-populatie van haemopoëtische weefsels, daaronder de lymphatische organen, na beenmergtransplantatie in lethaal bestraalde recipiënts. Beenmergstamcellen worden beschouwd voorlopers te zijn van de recirculerende lymphocyten, nadat ze óf de thymus zijn gepasseerd *Thymus-derived-cells* = *T-cells* of het bursa Fabricius-equivalent *Bursa-derived-cells* = *B-cells* (MILNER, 1968; MÖLLER, 1971). De hier genoemde functie van de bursa Fabricius bij vogels, zou bij zoogdieren worden waargenomen door lymphatische organen langs de tractus digestivus (tonsillen, appendix, platen van Peyer) (Bos, 1967), doch geheel bewezen is dit laatste niet (MILLER, 1968).

Ongestimuleerde lymfheklieren bevatten in de cortex velden van kleine lymphocyten en gebieden waar kleine lymphocyten dichter voorkomen, de zogenaamde lymfhe-follikels. In de milt komen voornoemde cellen voor in de witte pulpa. Hier bestaat dit weefsel uit strengen van kleine lymphocyten, de zogenaamde periarteriolaire lymphocytenscheden (p.a.l.s.), waarin op afwisselende plaatsen verdichtingen voorkomen (follikels) (Bos, 1967; MILLER, 1968).

Wanneer lymfheklieren gestimuleerd worden door transplantaat-antigenen, worden de recirculerende kleine (thymus-derived) lymphocyten tot grote pyroninophile cellen (blasten) getransformeerd. Bij allo-trans-

plantatie is de plaats van deze transformatie het centrale deel van de corticale velden van de regionale lymfeklieren (BILLINGHAM e.a., 1963; RAMSEIER, 1969) en de p.a.l.s. van de milt (MILLER, 1968). Aldus ontstaat de specifiek cellulaire reactie (Bos, 1967).

Transplantaat-antigenen roepen ook humorale antilichamen op. De plasma-cellulaire reactie zou volgens laatstgenoemde auteur ontstaan, nadat antigeen voor humorale immuniteit (verwerkt via macrophagen) de *bursa dependent* kleine recirculerende lymphocyten in de perifere schorsvelden der lymfeklieren tot plasma-blasten zou induceren, waarna accumulatie van plasma-cellen voornamelijk in de mergstrengen plaats gaat vinden. In de milt zou voornoemde reactie zich in p.a.l.s. voordoen, waarna plasma-cellen in de rode pulpa terechtkomen. Ook andere lymphoïde cellen dan de plasma-cel, kunnen humorale antilichamen produceren (HARRIS e.a., 1966). Tijdens vroege pre-blast-phase van de immuun-response, bleek het onmogelijk morfologisch (zelfs submicroscopisch) aan te geven, of een reagerende cel behoorde tot de plasma-cel-lijn of tot de specifiek-cellulaire component (VELDMAN, 1970).

Na antigeen-stimulering, zowel voor cellulaire als humorale response, verschijnen blast-cellen in lymfhe-follikels van lymfeklieren en milt. Deze reactie wordt follikel-centrum-reactie genoemd. Ten gevolge van vele celdelingen ontstaan hier zogenaamde *germinal centers* (Bos, 1967). Omdat na een tweede zelfde antigeen-stimulering voornoemde germinal centers verhoogde celdeling laten zien en nieuwe centers snel worden gevormd, vermoedt men, dat in de germinal centers *memory cells* worden gevormd (MILLER, 1968). Bij transplantatie is de *immune-memory* afhankelijk van het histocompatibele verschil (zie § 1.B.2.) tussen donor en acceptor; bij kleine antigeen-verschillen bedraagt deze minstens 3 maanden (HILDEMAN, 1971), terwijl in geval van een groter verschil (bv. allo-transplantatie) deze 1 jaar of langer duurt (RAMSEIER, 1969). De lange levensduur van de geactiveerde kleine, recirculerende lymphocyten, maakt deze immune-memory mogelijk (BILLINGHAM e.a., 1963).

4. Niet celgebonden antilichamen, betrokken bij transplantatie-reactie

Zoals eerder vermeld, volgt op stimulering door middel van transplantaat-

antigenen in een incompatibele gastheer een reactie, die zowel cellulair als humoraal bepaald is. Deze humorale antilichamen kunnen zowel in lymphocytotoxische als leuco-agglutinatie-test in vitro worden bepaald. In het algemeen zal de recipiënt na een allo-transplantatie geconfronteerd worden met een groot aantal verschillende antigenen. Men kan dus verwachten, dat het antwoord op een dergelijk transplantaat veelvoudig is, zowel wat betreft specificiteit als hoeveelheid antilichamen die worden gevormd (RUSSELL e.a., 1970). De betekenis van circulerende antilichamen bij de transplantatie-reactie is niet altijd duidelijk (RUSSFII e.a., 1970) en was vroeger omstreden (RAMSEIER, 1969). Indien deze antilichamen (immunoglobulinen) een rol spelen bij de transplantaat-afstoting, lijkt het aannemelijk, gezien hun complement-fixerend vermogen, dat het IgM en IgG zullen zijn (OVARY e.a., 1966). Naar aanleiding van bevindingen in vitro, meende GOVAERTS, 1964, dat er een synergisme zou bestaan tussen humorale en cellulaire antilichamen wat betreft het cytotoxische effect; dit samengaan werd ook door STRAUS e.a., 1971 met behulp van een in situ-model aannemelijk gemaakt.

Een duidelijk effect van humorale antilichamen kon worden aangetoond op endothel-cellen van getransplanteerde organen, in geval van hyperacute afstoting (KISSMEYER-NIELSEN e.a., 1966; PORTER, 1967; MAC DONALD e.a., 1970).

De rol die humorale antilichamen spelen bij het fenomeen immunologisch enhancement zal later apart worden besproken.

5. Hormonen, betrokken bij transplantatie-reactie

De structuur en functie van normaal lymphatisch weefsel, wordt sterk beïnvloed en gereguleerd door endocrine organen als de adenohypofyse (LUNDIN, 1958), de schildklier (ERNSTRÖM, 1965) en de bijnieren (WHITE, 1947). Het vertragend effect van corticosteroiden op de transplantatie-reactie mag, als algemeen bekend verondersteld worden en vindt dan ook ruime toepassing in de transplantatie-chirurgie (VAN BEKKUM, 1969).

In experimentele studies kon enige verlenging van transplantaat-overle-

ving bereikt worden zowel met synthetische progestativa (HULKA e.a., 1965) als met oestradiol (SIMMONS e.a., 1968).

De centrale plaats van de thymus bij de transplantatie-afweer werd door MILLER, 1962, aangegeven en in verband gebracht met de oorsprong van immuun-competente cellen. Niet alleen bij talloze diersoorten, doch ook bij de mens is aangetoond dat verwijdering of onontwikkeld blijven van de neonatale thymus (Syndromen van DiGeorge en Wiscott Alderich) een duidelijk verminderde immuun-competentie veroorzaakt (GOLDSTEIN e.a., 1970). Een celvrij thymus-extract, nog niet geheel chemisch gezuiverd, recent geïntroduceerd als het hormoon thymosine, zou op meerdere punten aangrijpen in het immunologisch gebeuren: in de thymus het immuun-competent maken van lymfoïde stamcellen en perifeer zou een aanvullende activiteit op de immuun-competente cel ter verhoging van de immunologische capaciteit plaats kunnen vinden; beiden zowel ten aanzien van humorale als cellulaire immuniteit (GOLDSTEIN e.a., 1970). Een hormonale thymus-activiteit op immunc-effector-cells, kon in vitro en óók door middel van *graft-versus-host* (G.v.H.)*-reactie worden aangetoond (BURLESON e.a., 1971). Ten slotte bleek thymosine in staat immuun-gesupprimeerde muizen verhoogde afweer te bezorgen ten opzichte van bepaalde tumoren zoals het door virus te induceren Moloney-sarcoom (HARDY e.a., 1971). Het grotere aantal tumoren dat ontstaat na neonatale thymectomie zou ook berusten op verminderde immuun-competentie (METCALF, 1966; LAW, 1969).

6. *Mechanismen, betrokken bij transplantatie-reactie*

Bij het onderzoek van mechanismen die de transplantatie-reactie begeleiden, is vooral de huid vaak orgaan van keuze geweest, omdat tengevolge van ontbreken van immuun-competente cellen in dit orgaan, hier steeds sprake is van een zuivere reactie van recipiënt ten opzichte

* G v.H -reactie = de reactie van immuun-competente cellen van een transplantaat ten opzichte van antigenen van de gastheer. De reactie kan alleen tot ontplooiing komen indien de gastheer immuun-incompetent (gemaakt) is voor het antigeen van de donor. Voornoemde cellen worden dan niet opgeruimd door het immunologisch systeem van de gastheer zelf.

van de graft (RAMSEIER, 1969). Aanvankelijk gedraagt de allograft zich als een autograft (MEDAWAR, 1958). Zowel macroscopisch als microscopisch blijkt, dat allologe huidtransplantaten primaire vascularisatie ondergaan door middel van *end-to-end* anastomosen van vaten van de graft met die van het graft-bed. Van 24 tot 48 uur af bestaat er tot 5 à 6 dagen na de transplantatie een royale bloedvoorziening van het transplantaat (RAMSEIER, 1968). Hierna worden allologe huidtransplantaten donker van kleur, hard en gezwollen. Microscopisch valt oedeem op, alsmede massieve infiltratie van mononucleaire cellen in het corium. De bloedcirculatie en lymphedrainage komt tot stilstand en het epitheel raakt los van het onderliggend bindweefsel; binnen 3 of 4 dagen is de allograft totaal verwoest (MEDAWAR, 1958).

Bij een *second-set* * -reactie is de infiltratie in vergelijking met een *first-set* heviger en vroeger; na 3 dagen bestaat er reeds stase van bloed- en lymfhe-circulatie in de graft (ROGERS, 1959). De interne histopathologische veranderingen zijn ischemisch van oorsprong (MEDAWAR, 1959).

De scheiding tussen humorale en cellulaire response bij de transplantatie-reactie is artificieel, zeker, nu het steeds duidelijker wordt, dat in bepaalde fasen van de graft-afstoting, humorale antilichamen mede een rol spelen (RUSSELL e.a., 1970). Alleen om de discussie te vereenvoudigen, handhaven wij voornoemde scheiding.

Zoals eerder vermeld, kan antigeen-informatie in het lymfhoïde systeem terecht komen, via antigeen-sensitive-cells (STROBER e.a., 1965); bij uitzondering zou dit ook via vrij moleculair antigeen kunnen geschieden (NAJARIAN e.a., 1966). De afferente baan van antigeen-informatie lijkt bij voorkeur de lymfhe-drainage te zijn, zoals MEDAWAR in 1948 reeds aantoonde met verlengde overleving van allologe huidtransplantaties in de voorste oogkamer en op hersenweefsel (gebieden waar lymfhe-afvloed fysiologisch ontbreekt).

Dat tenminste bij nier-transplantaties de mogelijkheid bestaat dat anti-

* *second-set* = een tweede graft brengen in een acceptor, die te voren reeds door een transplantaat van gelijke antigeen-specificiteit werd gesensibiliseerd.

geen-informatie via de bloedbaan wordt overgebracht, lijkt de enige verklaring voor de experimenten van HUME en EGDAHL, 1955, die sensibilisatie opwekten in afwezigheid van lymphatische verbindingen.

De karakteristieke veranderingen in het lymphoïde weefsel voor zowel cellulaire als humorale response werden eerder beschreven (zie: § 1.B.3.) evenals de invloed van *thymosine* hierop (§ 1.B.5.).

Een zeer vroeg, zo niet eerste, resultaat van antigeen-immuun competente cel-contacten kan de *granulotactische activiteit* zijn (RAMSEIER, 1969). BLOOM e.a., 1966, toonden *in vitro* aan, dat de interactie van antigeen met slechts enkele lymphoïde cellen voldoende was, om een oplosbare stof vrij te laten komen, die migratie van peritoneale macrophagen kon verhinderen. Het secundair deelnemen van zeer vele lymphoïde, niet-immuun competente cellen van de gastheer aan de transplantatie-reactie, wordt ook waarschijnlijk gemaakt door proeven met behulp van G.v.H.-modellen (BRENT e.a., 1966; 1967).

Volgens MILLER, 1968, zou contact tussen antigeen zowel met lymphoïde effector-cells als met immuun-macrophagen lysosomale enzymen vrijmaken en daardoor uiteindelijk de celdood kunnen bewerkstelligen. Macrophagen zijn vaak in veel groter aantal aanwezig dan lymphoïde effector cells. Deze effector-cells, gestimuleerd in de regionale lymfeklieren, migreren vanuit efferente lymphanen, via de bloedbaan, naar de graft (PORTER e.a., 1964).

De mechanismen waarlangs de transplantatie-reactie verloopt, zijn in detail niet bekend: MÖLLER, 1971, heeft op het laatste Wereld-Transplantatie-Congres een hypothese ontvouwd, die tracht, naar aanleiding van de laatste bevindingen, waaronder vele experimenten *in vitro*, een brug te slaan tussen beide lymphoïde systemen, die van de humorale en die van de cellulaire immuniteit: B-cells en T-cells (zie: § 1.B.3.) kunnen beiden met antigeen reageren, de eersten met inductie van humorale – de laatsten met *cell-mediated-immunity*. In beide gevallen zouden memory-cells ontstaan (zie: § 1.B.3.).

Verschillende receptoren van een antigeen zouden tegelijk zowel een T- als een B-lymphocyte kunnen binden. De T-cell krijgt dan een

trigger-function op de B-cell-activiteit. De binding van antigeen aan de B-cell zou doelmatiger worden onder invloed van de T-cell die aan hetzelfde antigeen gebonden is. Hoewel de vorming van humorale antilichamen over het algemeen bursa-dependent is, blijken toch bepaalde humorale antilichamen tegen sommige bacterie-antigenen alleen gevormd te kunnen worden bij aanwezigheid van de thymus.

T-cells hebben bovendien (aldus de hypothese) specifieke receptoren om bepaalde Fc-fragmenten* te kunnen binden. Een trigger-function van de B-cell op de T-cell wordt als volgt voorgesteld. Indien de B-cell immunoglobulinen produceert die het soort Fc-fragment bevat, dat kan binden met de T-cell, dan zou deze laatste een verhoogde response, namelijk cytotoxische activiteit, kunnen bewerkstelligen. Wordt evenwel een immuun-globuline geproduceerd, zonder Fc-fragment, of met een Fc-fragment, dat niet in staat is met de T-cell te binden, dan ontstaat in plaats van triggering een *antibody feedback suppression* of te wel: immunologisch enhancement.

C. IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT

Onder immunologisch enhancement (kortweg enhancement genoemd) verstaat men het tijdelijk uitstellen van een transplantatie-reactie in een incompatibele situatie onder invloed van humorale antilichamen die gericht zijn tegen de graft (BILLINGHAM e.a., 1956; MÖLLER, 1963; HELLSTRÖM e.a., 1965; KAISS, 1966; WOODRUFF, 1968). Het vermogen van de gastheer om immunologisch te reageren ten opzichte van de antigenen van de graft blijft echter bestaan, wat zich uit in een normale second set response (HAIASZ, 1963; MCKENZIE, 1971; RUSSELL, 1971). Het fenomeen van enhancement blijkt zich duidelijk te onderscheiden van immunotentantie**, ofschoon volgens LEVEY, 1971, er een gemeenschappelijk mechanisme aan ten grondslag lijkt te liggen.

* Fc-fragment is dat deel van een immuun-globuline, dat complement kan binden; het kan door pepsine-digestie gedegradeerd worden (VAN BEKKUM, 1969).

** Immunotentantie = specifiek en systematisch onvermogen van het immunologisch apparaat te reageren op bepaalde antigenen, doordat deze dieren te voren (in embryonale fase, c.q. tijdens de zeer vroege postnatale fase) aan dezelfde stimuli waren blootgesteld (BILLINGHAM e.a., 1959).

Onder zeer speciale condities kan immunotentantie ook bij volwassen dieren worden opgewekt (*high-zone-tolerance*) (CALNE, 1971; HELLSTRÖM e.a., 1971; LEVFA, 1971).

Bepaalde experimenten van FLEXNER en JOBLING in 1907 bij ratten uitgevoerd, worden gewoonlijk aangehaald als het eerste voorbeeld van positieve beïnvloeding van de groei van maligne tumor-transplantaties door middel van te voren geïnjecteerde tumor-celsuspensies. Deze suspensies betroffen dezelfde tumor, doch waren te voren gedurende een half uur bij 56° C verhit geweest. CASEY, 1932, beschreef gelijksoortige experimenten bij konijnen en introduceerde de term: *Enhancement of malignancy*. In 1952 kwam KALISS tot de bevinding, dat voorbewerking om vermeerderde tumor-groei te krijgen, ook kon geschieden met andere cellen dan van tumor-weefsel; doch de gedeactiveerde cellen moesten wel van dezelfde zuivere stam afkomstig zijn als die van de tumor.

Dat transplantaat-antigenen en niet tumor-specifieke antigenen een rol speelden, werd in hetzelfde jaar eveneens door ALLEN e.a., duidelijk gemaakt, die als eersten enhancement bij ander dan tumorweefsel opwekten. Deze experimenten betroffen huidtransplantaties bij konijnen, die voorbehandeld waren met homogenaten van bevroren *full thickness* huid; de gemiddelde overlevingsduur werd hierdoor van 7 dagen opgevoerd tot 23 dagen. Ten slotte kon KALISS, 1957, bij muizen aantonen, dat het enhancement effect via serum over te dragen was op andere dieren, zodat hij als eerste het belang van humorale antilichamen bij het tot stand komen van enhancement aangaf. Hierna werd een onderscheid gemaakt in actief- en passief-enhancement.

Niet vitaal weefsel blijkt de humorale response te bevoordelen boven de cellulaire response (SNELL e.a., 1960). Hoewel levend weefsel in hoofdzaak een cellulaire response geeft, worden toch ook humorale antilichamen gevormd, die bij passieve overdracht enhancement kunnen geven (BATCHELOR e.a., 1962; KALISS, 1966; OCKNER, 1970). De milt wordt als zeer belangrijk aangegeven bij de productie van *enhancing antibodies* (FERRER, 1968a; 1968b). Ook oplosbaar sub-cellulair antigeen-materiaal van lymfocyten kan dienen om enhancing antibodies te induceren (WILSON e.a., 1971).

Zodra het belang van humorale antilichamen werd onderkend (KALISS, 1957), ontstonden 2 theorieën die een verklaring zochten voor het fenomeen enhancement: de perifere- en de centrale-theorie.

De eerste zocht de verklaring in het „coaten” van het transplantaat door niet cytotoxisch werkende humorale antilichamen (*blocking antibodies*), die de antigeen-plaatsen van de graft bezet houden, waardoor de vorming van cellulaire immuniteit zou worden voorkomen. Dit competitie effect aan de oppervlakte van de cel werd vooral door in vitro-experimenten gesteund (MÖLLER, 1963; MÖLLER, 1965; HELLSTRÖM e.a., 1965; MORRIS, 1971).

Antilichamen die in wezen wel cytotoxisch zijn, zouden toch het effect van blocking-antibodies kunnen vertonen indien de concentratie van iso-antigenen aan de oppervlakte van het transplantaat laag is. Door de relatief grote afstand van antigeen-determinanten aan de oppervlakte van de cel, zal complex-vorming van complement (C') met IgG antilichamen niet kunnen plaatsvinden (MÖLLER e.a., 1962; FERRER, 1968; BRUNNER, 1968; HELLSTRÖM e.a., 1969; PARKER e.a., 1969). Aan de hand van een model waarbij arsanilzuur aan schapen-erythrocyten en aan specifiek IgG werd verbonden, kon LINSKOTT, 1970, dit laatste fraai illustreren. Door OCKNER, 1970, werd aangetoond dat het mechanisme van enhancement niet op blokkeren van C' berust, daar niet C'-bindende fracties van immunoglobulinen, toch enhancement kunnen veroorzaken; pepsine-digestie van Fc-fragmenten van immunoglobulinen deed eveneens het enhancement-vermogen behouden (BATCHELOR, 1970).

Er zijn goede argumenten om aan te nemen, dat een zekere vorm van specifieke vermindering van cellulaire response (centrale theorie), een rol speelt bij enhancement (RUSSELL, 1971). In 1960 toonden SNELL e.a., reeds aan, dat het overplaatsen van een enhanced-sarcoom in een ander dier van dezelfde zuivere stam, een prompte transplantaat-afstotings-reactie veroorzaakte. De halfwaardetijd van antilichamen gebonden aan het oppervlak van cellen is erg gering (AMOS e.a., 1970; RUSSELL, 1971), terwijl vrij circulerende enhancing antibodies eveneens kort zouden bestaan (HELLSTRÖM e.a., 1965). Nochtans blijkt, dat passief overgebrachte enhancing antibodies 6 weken vóór het inbrengen van de graft, toch nog effect sorteren (RYDER e.a., 1969). Passief enhancement kan soms met zúlke geringe hoeveelheden antisera worden opgewekt, dat het onwaarschijnlijk lijkt, dat alle antigeen-plaatsen worden bezet (HAUGHTON e.a., 1969). SNELL e.a., 1960, zagen met behulp van de neutralisatie-

test volgens WINN, 1960, dat passief overgebracht antiserum de cellulaire immuniteit onderdrukte. Kleine lymphocyten blijken hieraan mee te doen (TAKASUGI e.a., 1968). De regionale lymfeklieren van een enhanced *skingraft* blijken in tegenstelling tot die van een normaal huidtransplantaat kleiner te zijn en minder cellen te bevatten, die bovendien een geringere specifieke immuun-competentie vertonen (McKENZIE e.a., 1971).

Enhancing antiserum moet gericht zijn, tegen alle antigenen-specificiteiten van de enhancing graft (MÖLLER, 1963). Indien wèl tegen sterke, maar niet tegen zwakke transplantaat-antigenen gericht, zal tóch snelle afstoting plaatsvinden, zoals experimenten van RUSSELL, 1971, uitwezen. Fractionering van antiserum toont volgens VOISIN e.a., 1969, aan, dat $7S\gamma 1$ (IgG₁) en IgA eventueel enhancement kunnen geven; $7S\gamma 2$ (IgG₂) alleen in lage dosering iets enhancement kan opwekken, terwijl in hogere dosering, vooral cytotoxische activiteit zou bestaan. Evenals OVARY, 1966, ziet voornoemde auteur weinig tot geen enhancement activiteit bij IgM.

Enhancement moet als een tijdelijk effect worden beschouwd (HALASZ, 1953); nadat passief ingebrachte antilichamen zijn verbruikt, zou een actieve productie van humorale antilichamen moeten worden aangenomen, om langere overlevingsduur bij immunologisch enhancement, te kunnen verklaren (FRENCH e.a., 1969).

Samenvattend kan gesteld worden, dat de immunologische response waarbij enhancement optreedt berust op een dubbele balans (RUSSELL, 1971). De eerste bestaat uit een evenwicht tussen humorale en cellulaire immuniteit, terwijl de tweede balans een evenwicht is tussen cytotoxisch- en enhancing-effect van genoemde humorale antilichamen (Fig. 1).

Op verschillende punten kan deze dubbele balans worden beïnvloed, zowel in positieve als in negatieve zin. Zo zullen sera met een geringe cytotoxische activiteit eerder enhancement geven (KALISS, 1966; ALEXANDER, 1968), terwijl verhoging van cytotoxische activiteit door specifieke stimulering van het immunologisch apparaat door middel van Restim (= lipiden-fractie van haaien-lever extract) het enhancement-

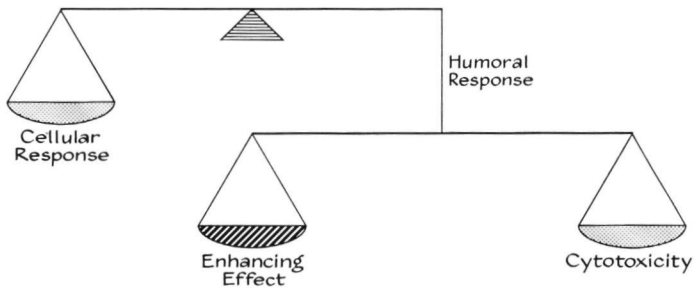


Fig. 1. Een immunologische reactie kan schematisch opgevat worden als een dubbele balans. Het immunologisch enhancement kan een onderdeel van de humorale response vormen. Naar: P. S. Russell; Transpl. Proc. 3: 962, 1971. (Publ. met schriftelijke toestemming van de auteur).

effect kan doorbreken (LEMPERLE, 1966). De verlaging van humorale antilichamen productie door splenectomie blijkt ook het enhancement fenomeen te verminderen (FERRER, 1968).

Enhancement is tot heden opgewekt na transplantatie van: tumoren (KALISS, 1957), huid (BILLINGHAM e.a., 1955; HALASZ, 1963; MCKENZIE e.a., 1971; JEEKEL e.a., 1971), nieren bij ratten (OCKNER, 1970a; 1970b) en bij malaria-infectie (JERUSALEM e.a., 1971).

Niet bij alle diersoorten slaat de balans even gemakkelijk uit in de richting van enhancing-bevorderende factoren. Zo werd reeds vermeld, dat niertransplantaties bij ratten konden worden enhanced (OCKNER, 1970a; 1970b), terwijl bij mensen, humorale antilichamen die gericht zijn tegen het niertransplantaat, nog nooit een bevorderend effect hebben teweeggebracht (RUSSELL, 1971). Er ontstaat dan een neiging tot hyperacute afstoting (zie: § 1.B.4.). In het laatste geval blijken de humorale antilichamen eerder een cytotoxisch dan een enhancing activiteit te bezitten.

D. TRANSPLANTATIE-IMMUNOLOGISCHE ASPECTEN VAN INTACTE ZWANGERSCHAP, ABORTUS EN CHORIOCARCINOMA

Ter verklaring van het probleem van de foetus als syn-transplantaat werden door MEDAWAR, 1953, 3 mogelijkheden naar voren gebracht: Antigeen-immaturiteit van foetaal weefsel, de onmogelijkheid van de moeder tijdens de zwangerschap immunologisch te reageren en een anatomische scheiding tussen foetus en moeder.

Latere onderzoekers hebben hieraan nog alternatieven toegevoegd en tevens verder getoetst aan experimentele uitkomsten. Literatuur-overzichten betreffende deze materie zijn veelvuldig verschenen (VAN DER WERF, 1963; BRENT, 1966; BEHRMAN e.a., 1968; GAUTRAY e.a., 1968; CURRIE, 1969; SIMMONS, 1969; URBACH, 1970; SOLOMON, 1971).

1. *Is het foetale weefsel antigeen?*

In § 1.B.2. werd reeds vermeld, dat SEIGLER, 1970, bij de menselijke foetus bij 6 weken amenorrhoee HL-A antigenen kon aantonen; bij muizen konden histocompatibele antigenen reeds bij 4 dagen zwangerschap worden kenbaar gemaakt (TYAN e.a., 1962). Bij zowel mensen als proefdieren werd dit, zowel in vivo als in vitro op iets latere tijdstippen van de zwangerschap bevestigd (UIR e.a., 1962; PREHN, 1967; KOREN e.a., 1968; HELLSTRÖM e.a., 1969; KOREN e.a., 1970; CEPPELINI, 1971).

2. *Kan de moeder reageren ten opzichte van foetale antigenen?*

Een algemene geringe onspecifieke vermindering van reactiviteit werd alleen in onphysiologische doseringen met behulp van steroïde hormonen bij uitzondering vastgesteld (zie: § 1.B.5.); tijdens de zwangerschap wordt óf een normale afstotings-reactie gezien na allo-transplantatie (MEDAWAR e.a., 1956; WOODRUFF, 1958), óf een iets verminderde (HESLOP e.a., 1954; ANDRESEN e.a., 1962).

Het nagaan van het specifieke reactie-patroon van de moeder, dat wil zeggen, haar reactiviteit ten opzichte van de vaderlijke antigenen als eventuele uiting van beïnvloeding van het zwangerschapsproduct op haar, is veel complexer.

Allereerst kan vermeld worden, dat de zwangerschap zélf niet wordt aangetast door voorafgaande immunisatie van de moeder met vaderlijke antigenen (MITCHISON, 1953; MEDAWAR e.a., 1956; LANMAN e.a., 1962). Omgekeerd echter, blijkt wel degelijk een beïnvloeding van de vrucht op de moeder, welke zich uit in een verminderde specifieke reactiviteit ten opzichte van de kinderlijke, respectievelijk vaderlijke antigenen (BREYERE e.a., 1960a; 1960b; ANDERSON, 1964; KALISS e.a., 1964; PORTER e.a., 1964; BREYERE, 1967; DAVID e.a., 1967; ANDERSON, 1969).

Bovendien kan stimulering van de regionale lymfeklieren tijdens de zwangerschap worden vastgesteld. Het gezamenlijke gewicht der regio-

nale lymfheklieren van de uterus bedraagt het viervoudige na *interstrain*-zwangerschap in vergelijking met *intrastrain*-zwangerschap. Deze gewichtstoename is analoog met die, na allologe huidtransplantaties c.q. lymfhoïde cellen, in utero (BEER e.a., 1971).

3. Is de uterus een „bevoorrechte” transplantatie-plaats?

Tot voor kort werd de uterus, daar deze prompte afstoting van allologe transplantaten bewerkstelligde, algemeen opgevat als een niet geprivilegeerde transplantatie-plaats (POPPA e.a., 1964; CURRIE, 1969) en in deze zeker niet vergeleken kan worden met de voorste oogkamer en hersenweefsel (zie: § 1.B.6.) (BILLINGHAM, 1964).

BEER en BILLINGHAM, 1970, ontdekten echter met proeven bij ratten, dat om zelfs iso-grafts te laten aanslaan, de uterus onder oestrogenen invloed moest staan; óf exogeen toegediend door middel van oestradiol, óf door het transplantatie-moment te kiezen tijdens de prae-implantatie-fase van de zwangerschap (deze laatste vond plaats in de andere uterus-hoorn).

Indien aan bovengenoemde criteria werd voldaan, bleek (BEER e.a., 1971) dat zelfs allo-grafts sterk verlengde overleving vertoonden (meestal tot aan het einde van de gelijktijdige graviditeit), indien getransplanteerd in het cavum uteri; dit in tegenstelling met b.v. huidtransplantaten ter hoogte van de thorax, die prompt werden afgestoten tijdens graviditeit. Merkwaaardigerwijs blijkt echter, volgens dezelfde auteurs, dat genoemde intra-uterine allo-transplantaties verder wél transplantatie-immuniteit uitlokten. Dit laatste werd nagegaan door de immunologische activatie der lymfhoïde cellen aan de hand van second-set-response en G.v.H.-reactiviteit te testen. Spermatozoa, waarvan pas recent bekend is, dat ze transplantaat-antigenen bevatten (FELLOUS e.a., 1970), induceren bij de rat, in het uterus lumen gebracht, wél transplantatie-immuniteit, doch niet, indien deze subcutaan worden geïnjecteerd.

De conclusie moet zijn, dat de zwangere uterus een uiterst bevoorrechte plaats is voor allo-transplantaties, terwijl deze plaats tegelijkertijd bijzonder geschikt is, om transplantatie-antigenen-informatie aan de moeder mede te delen.

4. *De immunologische barrière tussen moeder en kind*

Zoals gezegd is de foetus antigeen en is de moeder duidelijk in staat hierop te reageren. Desondanks wordt de uterus-inhoud ten tijde van de graviditeit niet afgestoten.

De grens tussen foetus en moeder wordt bij haemochoriale placentae gevormd aanvankelijk door de scheiding trofoblast-decidua, later trofoblast-moederlijk bloed (AMOROSO, 1964). Ten tijde van implantatie bestaat, althans bij konijnen, de trofoblast uit een ongedifferentieerd syncytium, welke onder onbekende invloed gaat differentiëren in geordende cellulaire componenten, waarvan het syncytium niet langer invasief is, doch voornamelijk absorptie eigenschappen krijgt (GLENISTER, 1966). De syncytotrofoblast zou, volgens electronen-microscopisch onderzoek, bij menselijk trofoblastweefsel vanaf de 10e week verricht, veel complexer zijn dan de cytotrofoblast (TIGHE e.a., 1967). Vóór de implantatie wordt het ovum, ook immunologisch, beschermd door de zona pellucida (SIMMONS e.a., 1966; OLDS, 1968; HEYNER e.a., 1969). Gedurende de eerste uren van nidatie treedt een fusie van protoplasma op, tussen trofoblast- en moederlijk weefsel (GLENISTER, 1965; LARSEN e.a., 1967) en kon moederlijk D.N.A. in foetaal trofoblast worden aangetoond (GAIASSI, 1967). Genoemde materiaaluitwisseling zou wellicht het startsein kunnen geven aan trofoblastveranderingen, waardoor immunologische herkenning door de moeder wordt voorkomen (JONES e.a., 1969).

a. Is er een intrinsieke afwezigheid van transplantaat-antigenen op trofoblast?

Proeven met getransplanteerde ova (2½ dag) en ectoplacentaire conus (7½ dag) bij muizen onder nierkapsels, waarbij alleen trofoblast-elementen (*giant cells*) zich konden handhaven, deed dit vermoeden (SIMMONS e.a., 1962; 1963; 1964; 1967a; 1967b). Deze verklaring kan niet worden volgehouden, gezien latere bevindingen van dezelfde onderzoekers (SIMMONS, 1969). HULKA e.a., 1968, transplanteerden bij hetzelfde dier na het te gronde gaan van onder het nierkapsel geïmplanteerde trofoblast-elementen, opnieuw een ectoplacentaire conus, waarna het trofoblast weefsel versneld te gronde ging. Transplantaat-antigenen op mui-

zen-trofoblast kan ook met behulp van immuno-fluorescentie worden kenbaar gemaakt (KOREN e.a., 1969).

b. Maskeert fibrinoid de transplantaat-antigenen op trofoblast?

KIRBY e.a., 1964, beschouwden de periferie van de trofoblast aangetroffen laag, die bij histologisch onderzoek kleurt als fibrine, als barrière voor de zich daar achter bevindende foetale transplantaat-antigenen. Voornoemd materiaal bleek uit zure muco-proteïnen te bestaan, die rijk waren aan sial-(N-acetyl neuramine-)zuur (BRADBURY e.a., 1965). Volgens CURRIE en BAGSHAW, 1967; 1968, zou de betekenis van het fibrinoid gezocht moeten worden in de relatief sterke negatieve lading aan de celwand ten gevolge van de aanwezigheid van sialzuur-groepen, waardoor lymphocyten, die zelf óók een negatieve lading hebben, zouden worden afgestoten.

Behandeling met neuraminidase roept specifieke transplantaat-antigeniciteit te voorschijn bij de trofoblast (CURRIE e.a., 1968). Ook bij bepaalde tumoren die fibrinoid vertonen, kan na bewerking met genoemd enzym een analoog verschijnsel opgeroepen worden (CURRIE e.a., 1967; SANFORD, 1967; CURRIE e.a., 1968), terwijl behandeling van tumoren met zure mucopolysacchariden, een onderdrukking van antigenen-expressie kan veroorzaken (LIPPMAN, 1968).

In tegenstelling met de groep van KIRBY, hebben SIMMONS, 1966, en MARTINEK, 1971, een discontinuïteit van de fibrinoid-laag vastgesteld. Bij niet haemochoriale placentae is fibrinoid afwezig (WYNN, 1967). Hoewel duidelijk dunner (factor 1/20), blijkt materiaal als fibrinoid nagenoeg steeds voor te komen aan de periferie van celmembranen (b.v. darm-epitheel) waarvan het inductieve vermogen tot transplantaat-immuniteit, buiten twijfel staat (WYNN, 1969).

Als conclusie van het voorafgaande kan ons inziens gesteld worden, dat fibrinoid hoogstens een co-factor zou kunnen zijn, doch nooit alléén de verklaring kan vormen, voor de immunologische bescherming van de foetus.

5. *Immunologisch enhancement en bescherming van zwangerschap*

In 1893 beschreef SCHMORL als eerste de versleping van trofoblast buiten

de uterus, een gebeuren, dat fysiologisch genoemd kan worden sinds THOMAS e.a., 1959, aantonden, dat vanaf de 18e zwangerschapsweek de menselijke placenta per ml veneus bloed, minstens 1 trofoblast-cel afvoert. Laatstgenoemde auteurs suggereerden, evenals BILLINGTON, 1970, dat dit proces zou kunnen dienen om de moeder langs immunologische weg ongevoelig te maken voor foetale transplantaat-antigenen. Deze beïnvloeding van de moeder werd reeds ten dele besproken (zie: § 1.D.1.).

Indien ova ($2\frac{1}{2}$ dag) van één bepaalde muizenstam achtereenvolgens bij hetzelfde dier ectopisch worden getransplanteerd, dan ontstaat een steeds kortere overleving van trofoblast ter plaatse. Skingrafts daarentegen gaan later te gronde, indien zij echter dezelfde antigenen-specificiteit bezitten als voorafgaande getransplanteerde ova (KIRBY, 1968; 1969). Multipariteit bleek een tumor-groei bevorderend effect te veroorzaken bij muizen, indien het getransplanteerde sarcoom van de vaderlijke stam is. Dit fenomeen bleek niet passief overdraagbaar, wat volgens de auteurs zou kunnen berusten op zeer korte halfwaardetijd van de betreffende antilichamen (KALISS e.a., 1964).

Deze specifieke bevordering van tumorgroei door zwangerschap werd ook door andere onderzoekers waargenomen (PORTER e.a., 1964; BREYERL, 1967). Eerst nadat CURRIE, 1969, een modificatie aanbracht in de experimenten van KALISS e.a., 1964, onder andere door herhaalde serum-injecties na transplantatie van de tumor, gelukte het hem de reeds genoemde specifieke bescherming passief over te dragen op andere muizen, zodat het enhancement-karakter van zwangeren-sera kon worden aangetoond. Deze sera konden in vitro een daling veroorzaken van de invloed van lymfocytten op *target-cells* (*colony-inhibition test*) en dus ook langs deze weg de enhancement-eigenschap aantonen (HELLSTRÖM e.a., 1969).

Heterologe antisera ten opzichte van placenta-homogenaten kunnen de zwangerschap bij proefdieren abortief doen afbreken (TYLER, 1961; BRENT, 1966a; 1966b). De passief gemmuniseerde dieren vertonen tevens pathologische veranderingen in lever en nieren. Indien echter als antigeen trofoblastweefsel wordt gekozen en zuivering wordt toegepast op het heterologe serum, dan blijft het abortief vermogen van dit serum

bestaan. De kruisreacties, die resulteerden in afwijkingen van andere organen, blijven dan nagenoeg geheel achterwege (KOREN e.a., 1970). Ons zijn echter heden geen gegevens uit de literatuur bekend, die een verband kunnen aantonen tussen het voorkomen van humorale antilichamen en abortus buiten voornoemde experimentele situatie.

Dat immunologisch enhancement een rol zou kunnen spelen bij de bescherming van de foetus als syngraft, is pas zeer recent in de literatuur naar voren gekomen (CURRIE, 1969; AHRONS, 1971).

Deze studie beoogt het volgende te onderzoeken:

1. Kan trofoblast enhancing antilichamen opwekken?
2. Heeft immunologisch enhancement invloed op de handhaving van de zwangerschap?

Transplantatie-immunologische aspecten van choriocarcinoma werden in een vroegere studie reeds uiteengezet, waarnaar wij korthedshalve refereren (VAN DER WIRF e.a., 1970).

§ 2. ONDERZOEK MUIZEN-TROFOBLAST

A. INLEIDING

1. *Doel van het onderzoek*

Uit de voorafgaande literatuur-studie is gebleken, dat de trofoblast een sleutelpositie inneemt bij het zich immunologisch handhaven ten opzichte van de moeder. Het nu volgende onderzoek werd verricht om nader inzicht te verwerven in de morfologie van de muizen-trofoblast, zowel in „natuurlijke”- als in „ectopische”-situaties. Auteurs die reeds gelijkvormige experimenten hebben verricht, spreken uitsluitend van eventuele trofoblast-overleving, doch vermelden geen nadere specificatie van de trofoblast (FAWCETT, 1950; SIMMONS e.a., 1962; 1963; 1964; KIRBY, 1966; SIMMONS e.a., 1967a; 1967b; HULKA e.a., 1968; KIRBY, 1968; KOREN e.a., 1968; ZFILMAKER e.a., 1969). Een uitzondering dient worden gemaakt voor AVERY e.a., 1969, die reeds een morfologische beschrijving gaven van verschillende trofoblast-componenten, na ectopische transplantatie. Een systematisch onderzoek werd echter niet verricht.

Het lag tevens in de bedoeling om trofoblast, welke na ectopische trans-

plantatie van ova c.q. ectoplacentaire conus ontstond, te gebruiken als basis-materiaal voor immunisatie-proeven (zie § 3). Het bleek echter, dat het aantal cellen te gering was om voldoende antigenen te kunnen verzamelen. Daarom werd voor genoemde proeven trofoblast-materiaal van 7½ dag zwangerschap gebruikt.

2. Routine materiaal en methoden

a. Bepaling zwangerschapsduur en verdere muizen-fok-gegevens

De experimenten werden verricht met muizen uit 2 *inbred strains*: C57Bl/6J* en C3H/HeJ**. Variaties werden aanvankelijk aangebracht in verdeling licht-donker per etmaal, aantal dagen waarop mannetjes bij wijfjes werden gelaten, aantal muizen dat met mannetjes in contact werd gebracht. De dieren kregen steeds ongelimiteerd water en voeding met *pellets* (R.M.H.-B, Hope Farms N.V., Woerden/Holland). Tenslotte werd een constant en zo hoog mogelijk dekkingspercentage bereikt met de volgende maatregelen:

Er werd uitgegaan van een vijfdaagse werkweek, zodat een weekindeling van 5 dekkingsdagen kon worden opgesteld. Op minimaal 60 foetus per dag kon worden gerekend, waarvan de zwangerschapsduur bekend was. Daartoe werden 2 fokbatterijen (groep A en B), ieder met 56 laden die elk 3 ♀♀ bevatten, opgesteld. Er werd minimaal 12 uur licht per etmaal gegeven. Dekking van 1 ♂ op 3 ♀♀, 2 tot maximaal 3 dagen achtereen, waarna ♀♀ 4 tot 5 dagen buiten ♂♂ werden gehouden.

Het begin van de zwangerschap werd aangenomen een halve dag vóór het vaststellen van een vagina-prop***. De betrouwbaarheid van het ontstaan van zwangerschap, benevens de „opbrengst” aan foetus na het vinden van een vagina-prop, kan afgelezen worden uit Tabel II, waar een periode van 51 fok-dagen wordt vermeld.

De zwangerschapsduur van muizen bedraagt normaal 18-21 dagen; de

* Afkomstig uit. Radiologisch Instituut, T N O, Rijswijk Z H

** Afkomstig uit The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, U S A

*** Witte tot gele, harde vulling in de vagina, bestaande uit gestold sperma en vagina-secret (Fig. 2)



Fig. 2. Vagina-prop: witte tot gele, harde vulling in de vagina, bestaande uit gestold sperma en vagina-secret.

TABEL II

	vagina-prop	geen vagina-prop
Zwangerschap	478 (85,7%)	109
Geen zwangerschap	80 (14,3%)	
Fokdagen		51
Gemiddeld aantal foetus/zwanger dier		7,7
Gemiddelde „opbrengst”/dag aan foetus van dieren, waarbij een vagina-prop werd vastgesteld		72,6

PRODUCTIE MUIZEN-FOETUS EN BETROUWBAARHEID VAN VAGINA-PROP
ALS PARAMETER VOOR ONTSTAAN VAN ZWANGERSCHAP

geslachtsrijpe periode valt tussen 2 en 14 maanden ouderdom (RUGH, 1968).

b. Enige transplantatie-genetische gegevens betreffende gebruikte muizen-stammen

Weefsel van de C3H/HeJ-stam verschilt van C57Bl/6J-stam volgens het H-2 systeem (zie § 1.B.2.).

Gezien de kaart die SHRIFFLER c.a., 1969, samenstelden, is in bovengenoemde situatie het incompatibele allel: H-2^b, met in dit allel de incompatibele specificiteiten: 1; 3; 8; 11; 25; 32. Een dergelijk groot verschil zal in onze studie met *HARD MODEL* worden aangeduid. Indien (C3H/HeJ x C57Bl/6J)F₁ als donor wordt gebruikt ten opzichte van een C57Bl/6J acceptor, bestaat er een even grote histocompatibele barrière, omdat het histocompatibiliteits-allel co-dominant wordt overgeërfd (RAMSEIER, 1969).

De C57Bl/6J-stam heeft de eigenschap, dat een zwak (non-H-2)-antigeen zich op het Y-chromosoom bevindt (zie: § 1.B.2.). Transplantatie binnen de C57Bl/6J-stam, waarbij mannelijk weefsel bij vrouwtjes wordt getransplanteerd, zal in onze studie met *SOFT MODEL* worden aangeduid.

c. Gebruikte narcose en doden der muizen

Aether-narcose werd toegepast bij: transplantatie; gipsverwijdering; retro-oculaire bloedafname.

Luxatie van halswervels was de methode om de dieren te doden met uitzondering van die met huidtransplantaties. De laatsten kregen een lethale dosis aether ter voorkoming van beschadiging van het graftbed door trekspanning.

d. Histologische coupes

Na fixatie van het materiaal in Carnoy, werden op de gebruikelijke wijze coupes van $\pm 6 \mu\text{m}$ dikte vervaardigd en gekleurd met Hematoxyline Eosine. Voor de fixatie van het 7½ dag zwangerschapsprodukt prefereerden wij Susa-oplossing. Het fixatiemiddel werd in het uterus-lumen gespoten, waarna de aparte uterus-segmenten in een overmaat Susa werden overgebracht. Simultane intraluminale en nor-

male fixatie met Susa, voorkomt het krimpen van waterrijke embryonale weefsels (deze fixatie diende alléén voor coupe voor fig. 25 en 26).

De in § 3. vermelde huid-coupes waren van dezelfde dikte en kleuring; als fixatiemiddel werd formaline 4% gebruikt.

B. LICHT-MICROSCOPISCH ONDERZOEK VAN MUIZENPLACENTAE BIJ VERSCHILLENDE ZWANGERSCHAPSDUUR

1. *Materiaal en methode*

Vrouwelijke muizen van de stam C57Bl/6J werden gepaard met mannelijke dieren van de C3H/HeJ-stam. De foetus (C3H/HeJ x C57Bl/6J) F₁ heeft transplantatie-antigenen, die volgens het H-2 systeem verschillen van de moeder (zie: § 2.A.2.c.).

Op zwangerschapsdagen 7½, 9½, 12½, 17½, 19½ werd trofoblastweefsel bestudeerd. Direct na het verwijderen van de zwangere uterus, werd door tractie met 2 scherp gepunte pincetten aan de uterus-wand, hierin een kleine laesie aangebracht, waardoor de decidua met inhoud in toto naar buiten kon stulpen. De coupes van foetaal weefsel bevatten dus steeds nagenoeg de gehele decidua. In principe werden zoveel coupes bestudeerd, dat een indruk werd verkregen over de totale morfologische variatie van trofoblast op genoemde zwangerschapsmomenten.

2. *Bevindingen*

– Trofoblast, 7½ dag.

Het weefsel bevat cel-kernen van verschillende grootte en vorm. Trofoblast-kernen kunnen nagenoeg even groot zijn als die van het omgevende decidua-weefsel, óf grotere afmetingen hebben tot ruim 4 maal die van laatstgenoemd weefsel. De cel-grenzen zijn bijzonder vaag, zodat hier geen onderscheid te maken valt tussen cyto- en syncyto-trofoblast. Het meest opvallende van de grote cellen is het agressieve karakter ten opzichte van het omgevend weefsel en de zeer sterke fagocytose-activiteit (Fig. 3A). De grote cellen kunnen worden opgevat als primitieve reus cellen.

In dit stadium is de trofoblast nog een „zuiver trofoblastweefsel”, dat wil zeggen, er is nog geen ingroei van mesenchymale elementen, die het ontstaan van het foetale placentaire vaatbed inluidt. Het

placenta-weefsel vormt een min of meer conus-vormige structuur in de decidua en wordt daarom ECTOPLACENTAIRE CONUS genoemd (zie ook figuur 25 t/m 27).

– Trofoblast, $9\frac{1}{2}$ dag.

Mesenchymale elementen worden nu tussen trofoblastweefsel aangetroffen. De labyrinth-placenta is in wording. Lacunae, gevuld met moederlijk bloed, gemakkelijk te herkennen aan de kernloze erythrocyten, kunnen worden begrensd aan de buitenkant van het placentaweefsel door grote langwerpige cellen met scherpe grenzen (Fig. 3B). Ook deze cellen

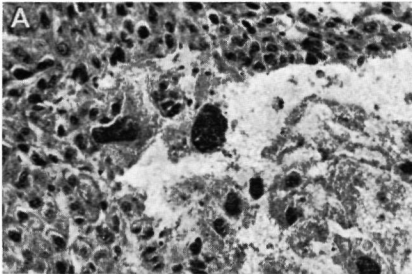


Fig. 3A. Trofoblast in situ, $7\frac{1}{2}$ dag. Primitieve reus cellen, agressief ten opzichte van de decidua en met sterke phagocytose-activiteit. H.E. 128x.

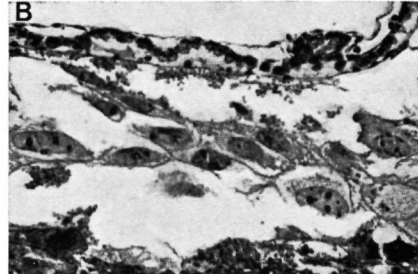


Fig. 3B. Trofoblast in situ, $9\frac{1}{2}$ dag. Primitieve reus cellen in overgangs-stadium naar latere reus cellen. H.E. 128x.

moeten worden opgevat als primitieve reus cellen, gezien hun kleurbaarheid, toenemende differentiatie van nucleoli en hun vorm, die een geleidelijke overgang vertoont naar die van de latere reus cellen der trofoblast. Deze primitieve reus cellen hebben nog een sterke phagocyterende eigenschap. Meer centraal, waar genoemde mesenchymale elementen verschijnen, ontwikkelt zich de spongio-trofoblast.

– Trofoblast, $12\frac{1}{2}$ dag.

De opbouw van de placenta is nu volledig. Afgezien van de decidua, bestaat ze uit het centrale labyrinth waar foetale capillairen en moederlijke bloedruimten vlak tegen elkaar aanliggen, met er tussen een uiterst dun laagje trofoblast (Fig. 4). Meer naar perifeer is de spongio-trofoblast gelocaliseerd. Aan de uiterste buitenkant bevinden zich reus

cellen of giant cells die, hoewel in mindere mate, nog blijken te phagocyteren (Fig. 5).

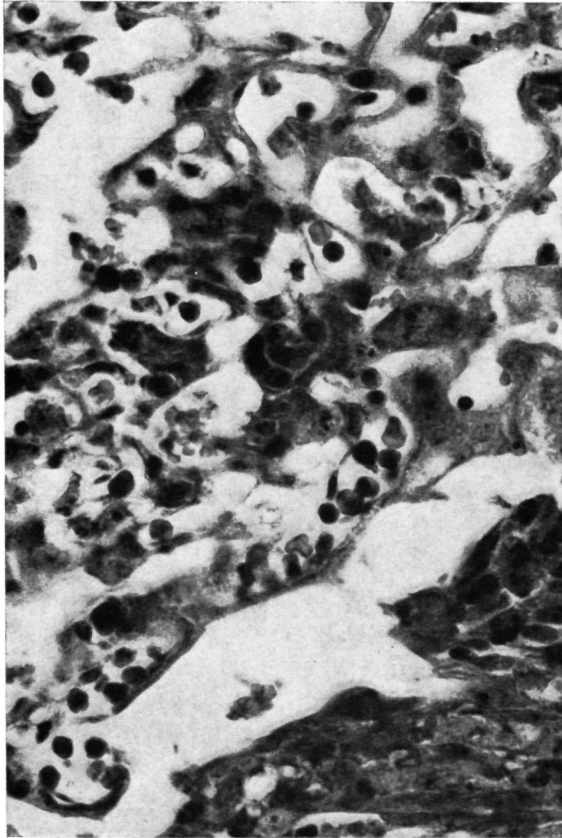


Fig. 4. Trofoblast in situ, 12½ dag. Moederlijke en foetale capillairen (de laatsten met kernhoudende erythrocyten), gescheiden door een dun laagje trofoblast in de labyrinth-placenta. H.E. 410x.

- Trofoblast, 17½ dag.

Het aandeel van het labyrinth-gedeelte is duidelijk toegenomen. Het dunne laagje trofoblast blijkt een g e l a a g d e o p b o u w te hebben wat reeds bij 12½ dag, zij het in mindere mate, werd gezien. De giant cells vertonen kenmerken van degeneratie zoals: kernpynose, karyolyse en cytolyse (Fig. 6). Necrobiotische cellen worden opgeruimd door monocyttaire en histiocyttaire elementen.

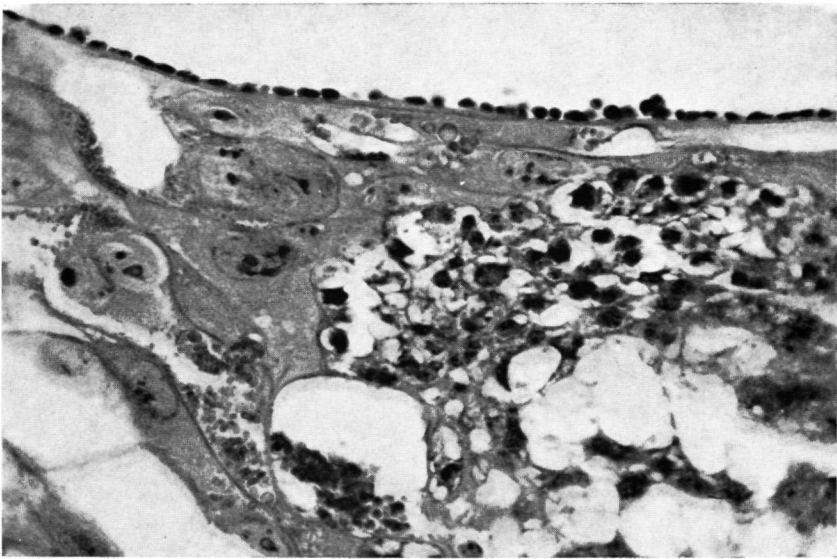


Fig. 5. Trofoblast in situ, 12½ dag. Reus cellen met matige phagocytose. H.E. 256x.

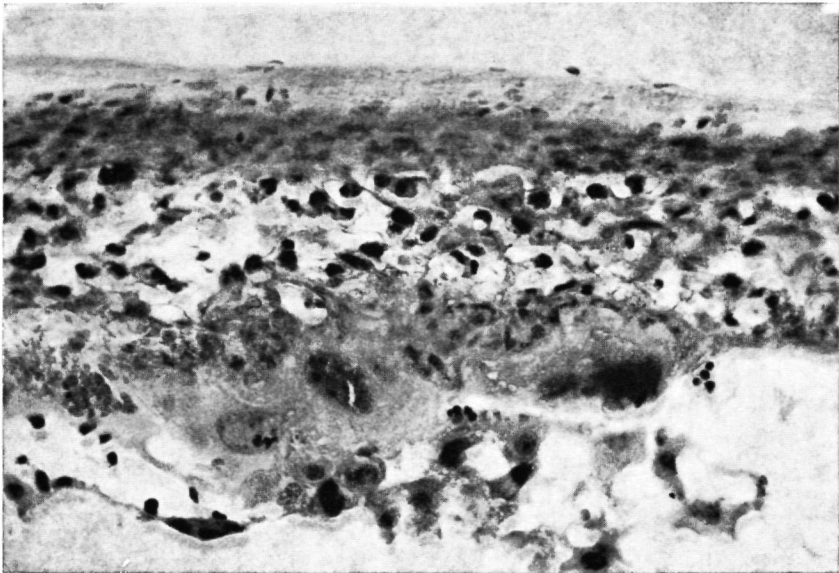


Fig 6. Trofoblast in situ, 17½ dag. Reus cellen met degeneratieve kenmerken. Necrobiotische cellen worden opgeruimd door monocyttaire en histiocyttaire elementen. H.E. 256x.

- Trofoblast, 19½ dag.

De bovengenoemde gelaagde opbouw van de trofoblast in het labyrint is hier het fraaist te zien (Fig. 7). De spongio-trofoblast heeft nu een gering aandeel in het totaal van de placenta en omvat slechts 1/8 deel. Er zijn nagenoeg geen giant cells meer aanwezig. Serie-coupees van afzonderlijke placentae laten in dit stadium maximaal 2 sterk gedegeneerde reus cellen per placenta zien.

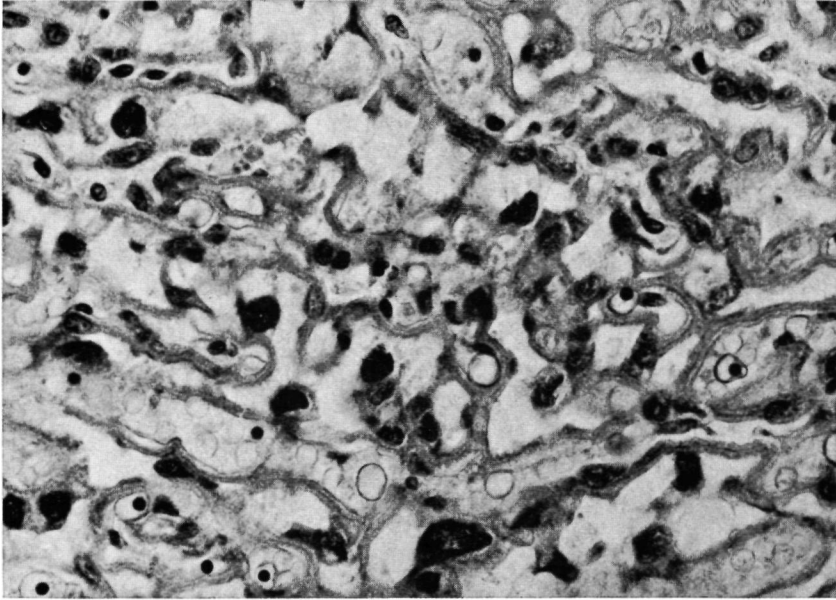


Fig. 7. Trofoblast in situ, 19½ dag. Gelaagde opbouw van de trofoblast in het labyrint. H.E. 410x.

3. *Discussie en conclusies*

KIRBY e.a., 1965, geven in een morfologische studie van de muizenplacenta aan dat deze volledig identiek is aan de haemotrichoriale placenta van de rat. De fotografische gegevens die voornoemde publicatie verstrekt maken dit ons inziens echter niet duidelijk. Met name kan niet worden nagegaan of de syncytiotrofoblast-laag, die bij ratten, zoals de zeer uitvoerige publicatie van FRANKE, 1969 duidelijk maakt, ook bij de muis grenst aan de foetale, en niet zoals bij de mens, aan de maternele zijde. Ook BJÖRKMAN, 1970, geeft hierover geen uitsluitsel.

Bij vergelijking van illustratieve gegevens uit voornoemde publicaties kregen wij tevens de indruk, dat het basaal-membraan van het endotheel van de foetale capillairen bij de muis zowel electronen- als lichtmicroscopisch dichter en tevens onregelmatiger is dan die bij de rat.

Mitosen werden door ons bij trofoblast-cellen niet waargenomen.

Het aanvankelijk agressieve karakter van primitieve giant cells, die een voorpost bij de innesteling lijken te vormen, gaat later in de zwangerschap verloren. De levensduur van deze trofoblast-cellen blijkt nagenoeg steeds omstreeks 17 dagen te bedragen. Voor de stelling dat de vermelde degeneratieve veranderingen een gevolg zouden zijn van een immunologische response van de moeder, zijn ons inziens, althans morfologisch, geen argumenten te vinden.

Dat giant cells bij het consolideren van de nidatie een belangrijke rol spelen, lijkt aannemelijk, gezien hun overlevingskans in een onphysiologische omgeving, waarbij ook de afgebakende levensduur duidelijk blijft bestaan.

De hierna volgende experimenten mogen dit verduidelijken.

C. MICROSCOPISCH BEELD VAN HET GEDRAG VAN TROFOBLAST-PRECURSORS IN RECIPROKE ALLO- Γ_1 -RELATIE

1. *Handhaving trofoblast-elementen na transplantatie van ova (2½ dag) onder de nierkapsel*

a. Materiaal en methode

(C3H/HeJ x C57Bl/6J) F_1 ova werden bij 2½ dag zwangerschap uit de tubae gespoten met behulp van verwarmd (37° C) Hanks' solution, nadat uterus en adnexa uit het moeder-dier waren genomen en de tubae vrij waren geprepareerd (Fig. 8A; 8B; 8C). Ova werden opgevangen in een horloge-glas met verwarmd (37° C) Hanks' solution (Fig. 8D) en opgezogen in een uitgerekte Pasteur-pipet (binnen diameter \pm 250 μ m) (Fig. 9; 10). Deze pipet was bevestigd in een micro-manipulator en verbonden via een extreem d r u k v a s t e polyethyleen slang met een tuberculine-spuitje op micro-schroef. De zuiger, slang en Pasteur-pipet waren tevoren met paraffine liquidum gevuld, terwijl de punt Hanks' solution bevatte. Het ovum werd tussen 2 luchtbelletjes, die als macroscopische markering dienden, opgezogen en na tunneling onder het nierkapsel van

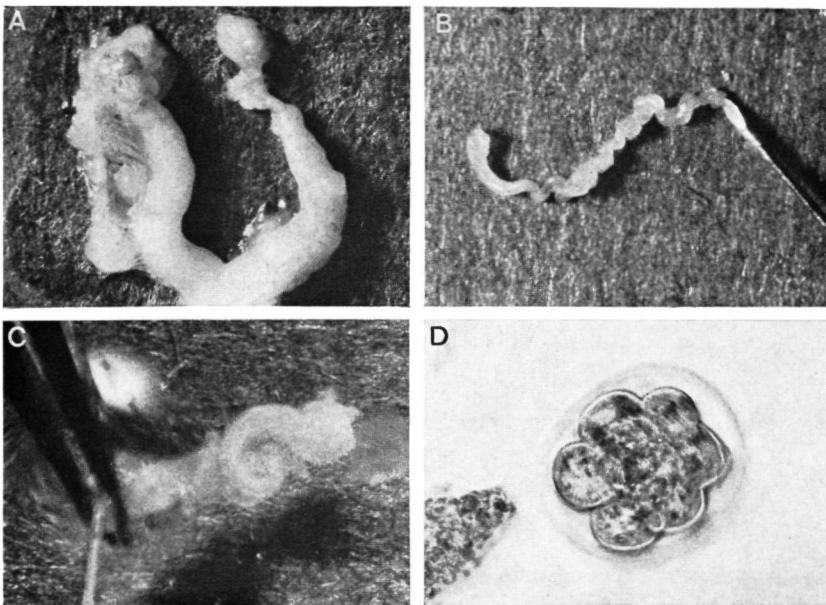


Fig. 8A. Uterus en adnexa bij 2½ dag zwangerschap. Links werd het begeleidend vet-weefsel reeds verwijderd.

Fig. 8B. Vrij geprepareerde tuba (10 mm) aan naald.

Fig. 8C. Doorspuiten van tuba (2½ dag zwangerschap).

Fig. 8D. Ovum na doorspuiten van tuba bij 2½ dag zwangerschap (8 blastomeren met daaromheen de zona pellucida). 238x.



Fig. 9. Uitgerekte Pasteur-pipet (binnen diameter $\pm 250 \mu\text{m}$) met 4 ova, waarvan 3 bevrucht blijken, 2½ dag tevoren (aangegeven met pijl).



Fig. 10. Opzuigen van de ova.

een ♀ C57Bl/6J acceptor gebracht (Fig. 11). Hiertoe werd onder aseptische voorzorgen een ± 7 mm lange incisie enkele millimeters onder en evenwijdig aan de ribbenboog in de betreffende flank gelegd. Met 2 stompe pincetjes werd achter de nier omgegaan, zodat deze uit de wond kon worden geluxeerd en boven op de huid kwam te liggen. Tijdens transplantatie werd de nier met verwarmd Hanks' solution vochtig gehouden. Na terugplaatsen van de nier in situ werd de buik in 2 lagen gesloten met zijden (0000)-hechtingen, die doorlopend werden gelegd. Een haemorrhagische zwelling na enige dagen, verraadde de plaats waar eventueel trofoblast-woekering was opgetreden (Fig. 12).

De hier gebruikte techniek van de ova-transplantatie is een modificatie van de door FAWCETT, 1950; SIMMONS e.a., 1962 en KIRBY, 1962, gepubliceerde methoden.

De ova werden bestudeerd respectievelijk 7, 10, 15, 17, 19 dagen na transplantatie; er werden van iedere periode minstens 3 muizen onderzocht.

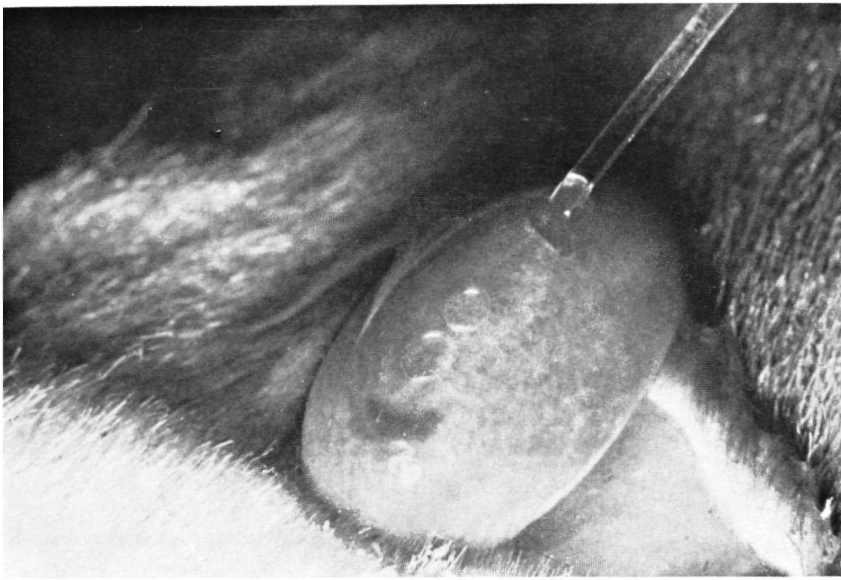


Fig. 11. Het ovum (2½ dag) is getransplanteerd onder het nierkapsel. Als markering dienen beide luchtbelletjes, waartussen zich het ovum bevindt.

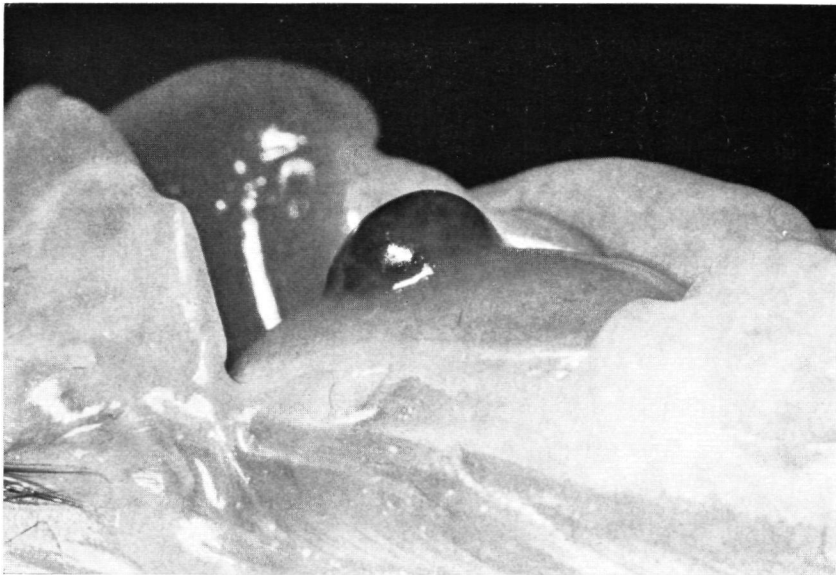


Fig. 12. Een hemorrhagische zwelling, enige dagen na ovum-transplantatie, ver-raadt de plaats waar trofoblast-woekering is opgetreden.

b. Bevingingen

- Trofoblast, 9½ dag (7 dagen na transplantatie).

Het transplantaat bestaat nagenoeg uitsluitend uit trofoblast reus cellen die omspoeld worden door erythrocyten van de acceptor.

De giant cells phagocyteren sterk en hebben haemosiderine opgeslagen.

De kernen bevatten grote nucleoli (Fig. 13).

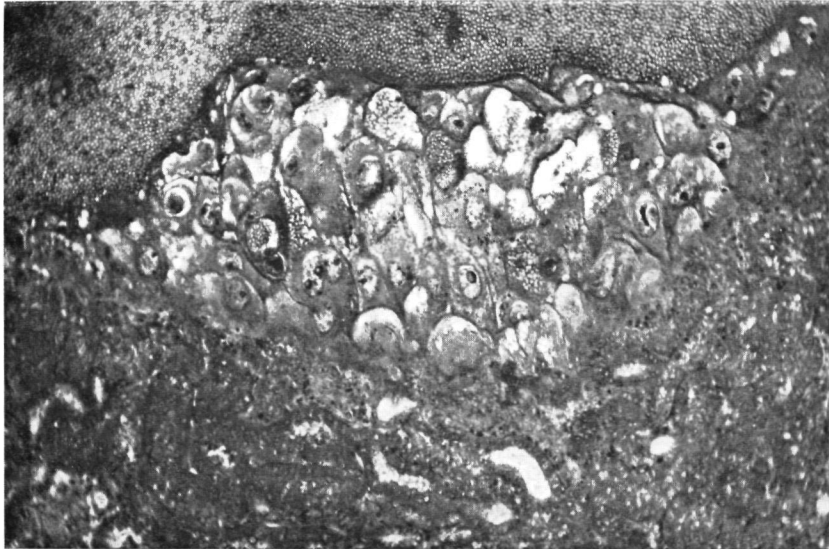


Fig. 13. Trofoblast na ovum-transplantatie, 9½ dag. Reus cellen phagocyteren sterk en hebben haemosiderine opgeslagen. De kernen bevatten grote nucleoli. H.E. 128x.

- Trofoblast, 12½ dag (10 dagen na transplantatie).

Voor overzicht zie Fig. 14.

De cellen vertonen een zeer sterke agressiviteit, waarbij niertubuli-cellen worden omsloten door trofoblastcel-uitlopers (Fig. 15).

De niertubuli-cellen vertonen op deze plaatsen tekenen van celdegeneratie.

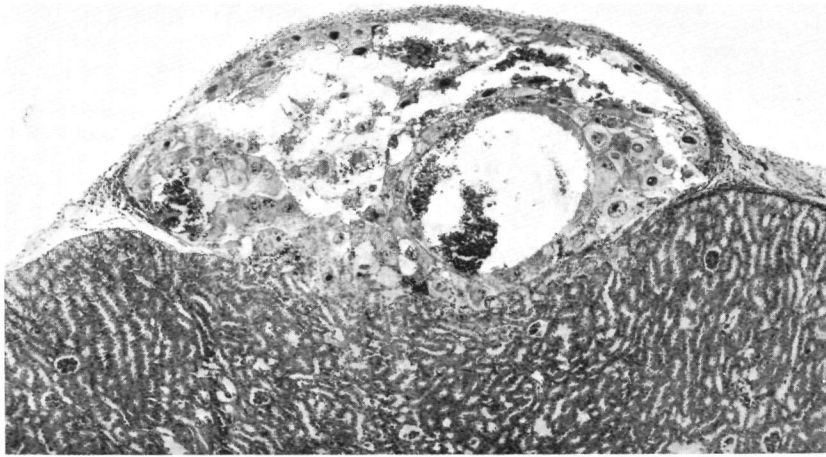


Fig. 14. Trofoblast na ovum-transplantatie, 12½ dag. Overzicht, H.E. 40x.

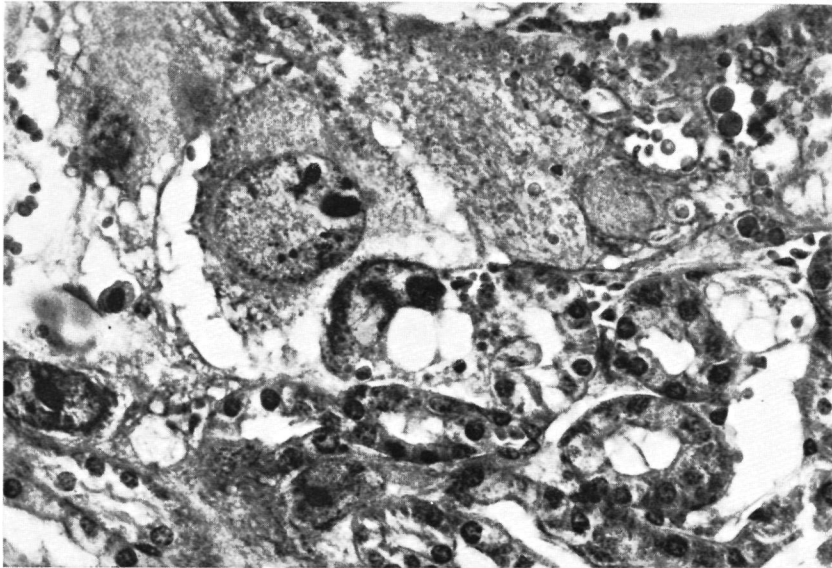


Fig. 15. Trofoblast na ovum-transplantatie, 12½ dag. Sterke agressiviteit van een reus cel, die een niertubulus omsluit; de tubuli vertonen tekenen van cel-degeneratie. H.E. 410x.

- Trofoblast, 17½ dag (15 dagen na transplantatie).
De cellen zijn duidelijk minder in aantal, terwijl de kleurbaarheid van de kernen afneemt (Fig. 16). De bloedmeren zijn coagula geworden waarin onspecifiek granulatie-weefsel groeit.

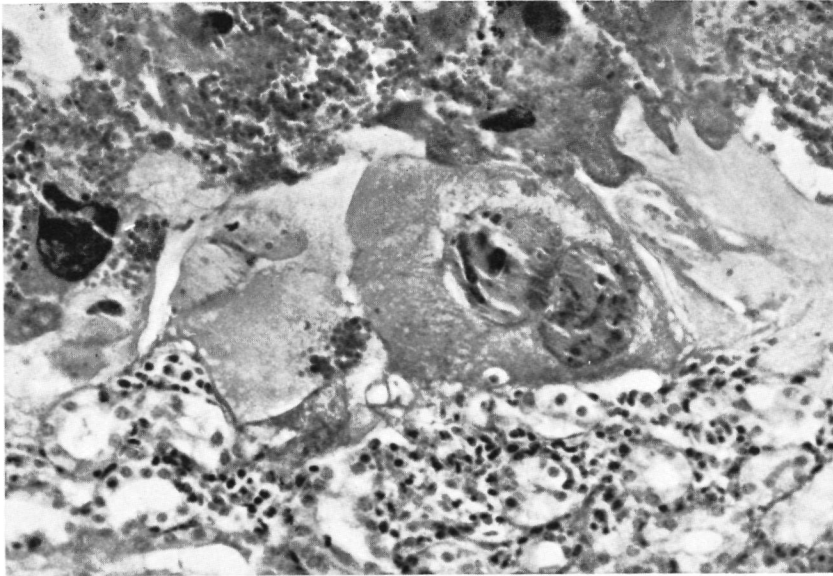


Fig. 16. Trofoblast na ovum-transplantatie, 17½ dag. De kleurbaarheid der kernen neemt af. H.E. 256x.

- Trofoblast, 19½ dag (17 dagen na transplantatie).
Er zijn nog slechts enkele gedegeneerde giant cells aanwezig (Fig. 17). In bloedcoagula bevindt zich onspecifiek granulatie-weefsel met iets meer lymphocyten dan na 15 dagen.

- Trofoblast, 21½ dag (19 dagen na transplantatie).
Om het gehele haemorrhagisch gebied, worden in totaal nog 2 giant cells aangetroffen, beiden sterk gedegeneerd.
Subcapsulair treedt op verschillende plaatsen een accumulatie van lymphocyttaire elementen op (Fig. 18). Fibroblasten en onspecifiek granulatie-weefsel groeien in het coagulum.

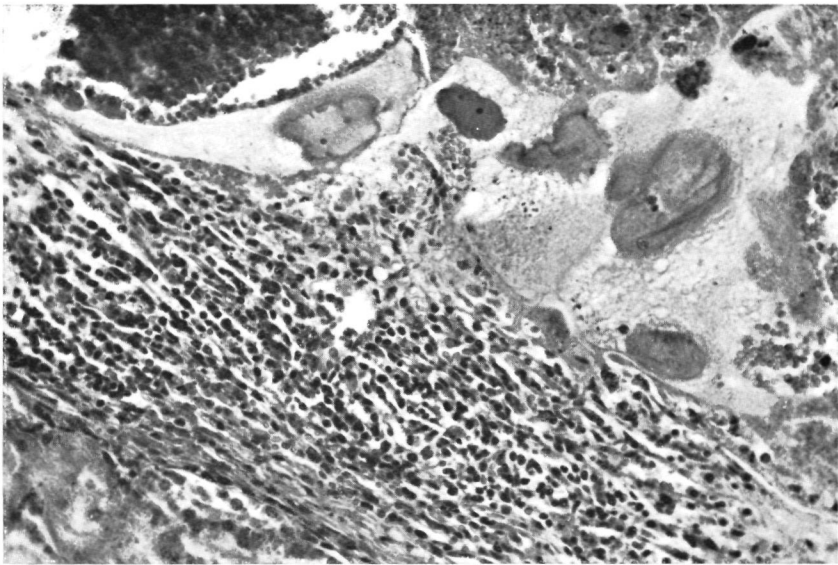


Fig. 17. Trofoblast na ovum-transplantatie, 19½ dag. Enkele gedegeneerde reus cellen zijn nog aanwezig. H.E. 256x.

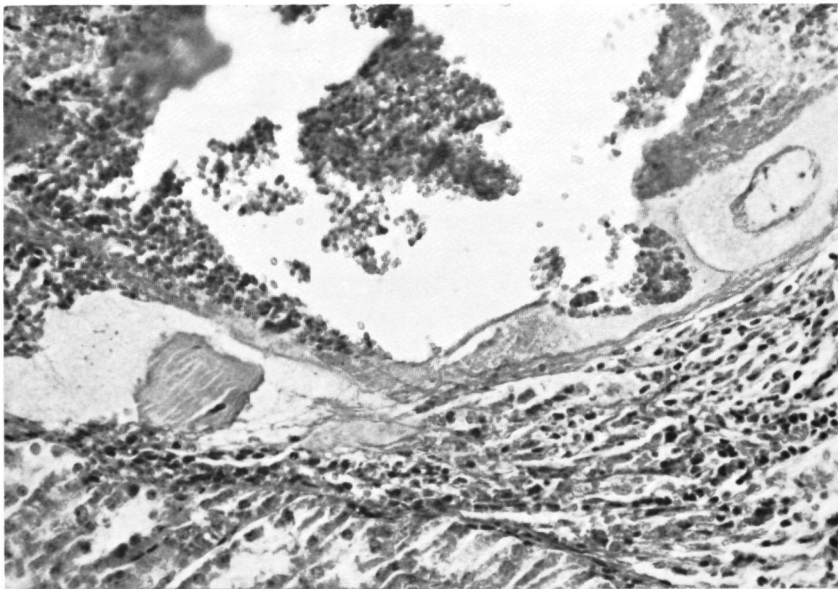


Fig. 18. Trofoblast na ovum-transplantatie, 21½ dag. In totaal worden slechts 2 reus cellen gevonden, beiden sterk gedegeneerd. Subcapsulair accumulatie van lymphocyttaire elementen. Fibroblasten en onspecifiek granulatie-weefsel groeien in het coagulum. H.E. 256x.

2. Handhaving trofoblast-elementen na transplantatie van ectoplacentaire conus (7½ dag) onder de nierkapsel

a. Materiaal en methoden

(C3H/HcJ x C57Bl/6J)F₁ foetus werden bij 7½ dag zwangerschap met decidua uit de uteri verwijderd (zie ook § 2.B.1.). Een gedetailleerde beschrijving van de techniek om ectoplacentaire conus te verkrijgen, staat vermeld in § 3.A. De acceptor-nier (♀ C57Bl/6J) werd à vue gebracht (zie: § 2.C.1.a.) en na tunneling onder de kapsel werd aan een dur-glazen staafje de ectoplacentaire conus, die ± 0.2 mm lengte heeft, ter plaatse gebracht. Hierna werd de nier in zijn oorspronkelijke ligging teruggeplaatst, waarna de buik op gebruikelijke wijze werd gesloten.

Deze techniek werd nagenoeg ongewijzigd overgenomen van SIMMONS c.a., 1962.

De ectoplacentaire conus werd bestudeerd respectievelijk 2, 5, 10, 12, 14 dagen na transplantatie; er werden van iedere periode minstens 3 muizen onderzocht.

b. Bevindingen

– Trofoblast, 9½ dag (2 dagen na transplantatie).

Trofoblast reus cellen vertonen phagocytose en hebben contact met elkaar via dunne cytoplasma-uitlopers; hiertussen liggen erythrocyten van de *host* (Fig. 19).

– Trofoblast, 12½ dag (5 dagen na transplantatie).

Een groot coagulum met aan de rand enkele giant cells met vele nucleoli wordt gevonden. Vele kernen vertonen karyolyse. Er is opslag van haemosiderine in de cellen als uiting van phagocytose. Aan de kap elzijde is een monocyttaire reactie te zien.

– Trofoblast, 17½ dag (10 dagen na transplantatie).

Aan de periferie van het coagulum, aan de kant van de niertubuli, zijn nog giant cells. Deze vertonen minder degeneratie dan die na 12½ dag. Slechts matige phagocytose wordt waargenomen (Fig. 20).

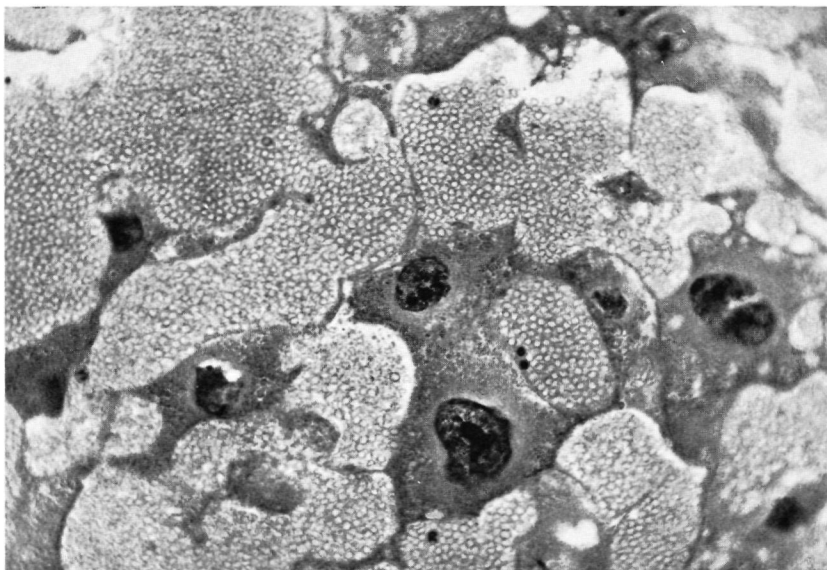


Fig. 19. Trofoblast na ectoplacentaire conus-transplantatie, 9½ dag. Reus cellen phagocyteren en hebben contact met elkaar via dunne cytoplasma-uitlopers. H.E. 256x.

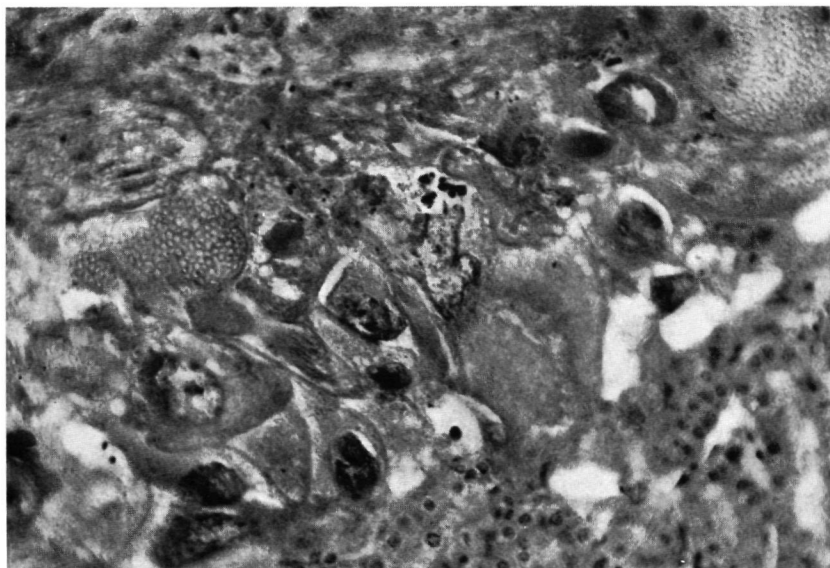


Fig. 20. Trofoblast na ectoplacentaire conus-transplantatie, 17½ dag. Matige phagocytose van reus cellen, die tekenen van degeneratie vertonen. H.E. 256x.

- Trofoblast, 19½ dag (12 dagen na transplantatie).
Een enkele sterk gedegeneerde giant cell (kernpynose en karyolyse) is overgebleven (Fig. 21). Het coagulum vertoont een binnendringen van fibroblasten.
- Trofoblast, 21½ dag (14 dagen na transplantatie).
Aan trofoblast is nog slechts een sporadisch voorkomende rest van een giant cell (kernpynose en karyolyse) te zien (Fig. 22).

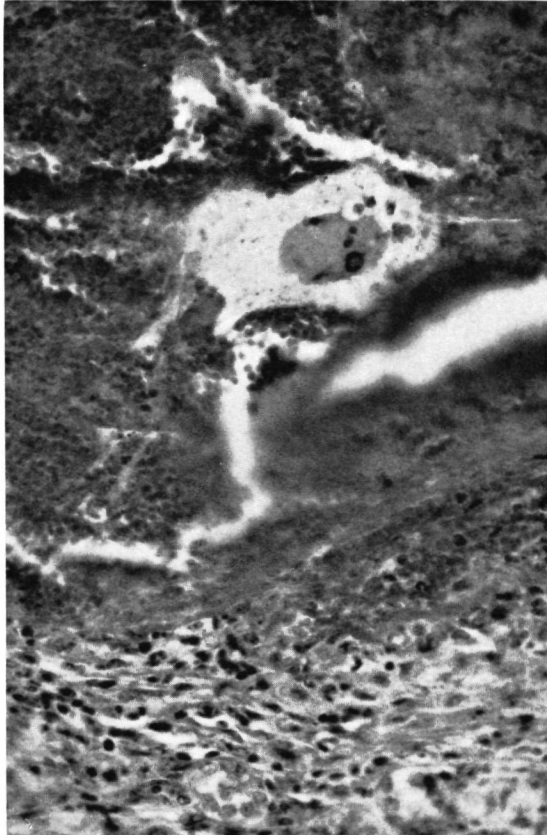


Fig. 21. Trofoblast na ectoplacentaire conus-transplantatie, 19½ dag. Een enkele sterk gedegeneerde reus cell is overgebleven. Het coagulum vertoont binnendringen van fibroblasten. H.E. 340x.

3. *Discussie en conclusies*

Zowel na ova- als na ectoplacentaire conus-transplantatie zijn de giant cells, die aanvankelijk in kleinere voorstadia kunnen voorkomen, de enige trofoblast-elementen, die zich gedurende een bepaalde periode kunnen handhaven. Na ovum-transplantatie vertonen de reus cellen aanvankelijk een grotere agressiviteit dan dezelfde cellen bij normale zwangerschap; na ectoplacentaire conus-transplantatie wordt juist het tegenovergestelde gezien. Er werden geen mitosen waargenomen. Nagenoeg dezelfde degeneratieve kenmerken werden zowel in normale als in ectopische situaties gezien; niet alleen ouderdom, doch ook een gebrek aan voeding, lijkt een rol te spelen. In deze morfologische studie werden geen aanwijzingen gevonden dat giant cells door fusie zouden ontstaan; dit is geheel in overeenstemming met de bevindingen van AVERY e.a., 1969, die proeven verrichtten met ^3H thymidine op trofoblast-cellen, na ovum ($3\frac{1}{2}$ dag)-transplantatie.

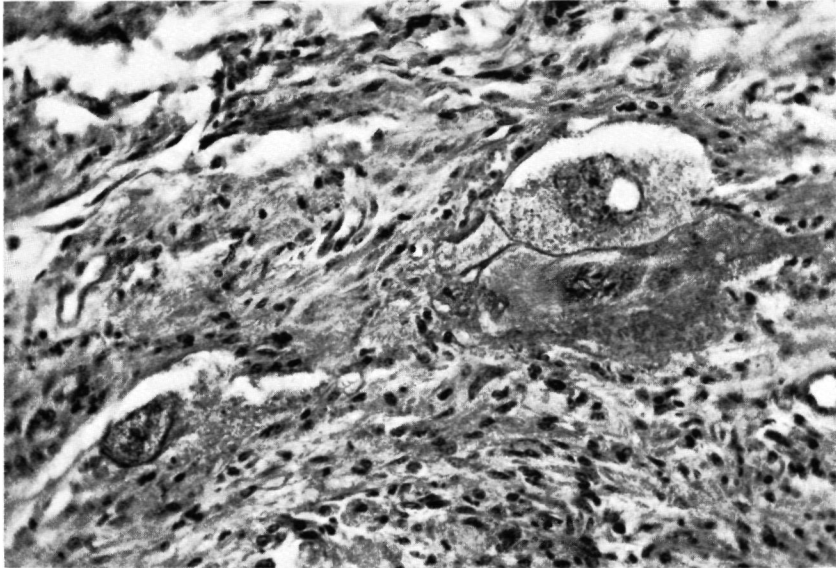


Fig. 22. Trofoblast na ectoplacentaire conus-transplantatie, $21\frac{1}{2}$ dag. Een sporadisch voorkomende rest van een reus cel. H.E. 256x.

De vaste overlevingsduur van trofoblast blijkt ook na transplantatie nagenoeg gelijk te zijn aan de normale zwangerschapsduur van muizen (18-21 dagen).

Na 19 dagen na ovum (2½ dag)-transplantatie en na 14 dagen na ectoplacentaire conus-transplantatie, werden geen trofoblast-elementen meer in de host waargenomen.

Dat host-factoren wel enige rol spelen in de overlevingsduur van trofoblast, hebben KOREN e.a., 1968 duidelijk gemaakt door zuivere trofoblast in vitro te kweken, waarbij zij een overlevingsduur van 30 dagen konden bewerkstelligen.

De subcapsulaire mono-histiocyttaire infiltratie, die in de hierboven beschreven transplantatie-experimenten voorkwam, kan worden opgevat als een specifieke reactie op drukverhogende invloeden van het haemorrhagisch gebied op de kapsel. Nergens werd door leucocyttaire elementen duidelijke affiniteit gezien tot trofoblast, tenzij deze reeds zó gedegeneerd was, dat ze samen met coagulum-resten werd opgeruimd.

Een typisch cellulaire response, die een immunologische achtergrond zou kunnen hebben, werd niet waargenomen. Dit sluit echter humorale mechanismen niet uit.

De bevindingen van deze vergelijkende series zijn niet in tegenspraak met de hypothese, dat immunologisch enhancement een rol zou kunnen spelen bij de bescherming van de vrucht.

§ 3 ONDERZOLK OVER HET VERMOGEN VAN MUIZEN-TROFOBLAST TOT HET OPWEKKEN VAN IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT

A. OPZET PROEFOPSTELLING, MATERIAAL EN METHODEN

Het eventuele vermogen van de trofoblast tot het opwekken van immunologisch enhancement werd nagegaan in één model voor actief en twee modellen voor passief enhancement.

Een enhancement-fenomeen kan relatief gemakkelijk door een zwakke immunologische barrière opgeroepen worden (BILLINGHAM e.a., 1965; HILDEMANN, 1971): wij kozen het in § 2.A.2.c. genoemde soft model.

Als antigeen werd intra-strain C57Bl/6J ectoplacentaire conus (7½ dag)

gebruikt in actieve (exp. 1), zowel als in passieve proeven (exp. 2); in de laatsten werden ook sera van intra-strain zwangere C57Bl/6J muizen (7½ dag zwangerschap) ter vergelijking aangewend (exp. 3), terwijl als controle, sera van volwassen maagdelijke ♀♀ C57Bl/6J dienden (contr. 2+3).

Schematisch werden deze experimenten afgebeeld in Fig. 23.

In de hierna volgende tabellen worden slechts de dieren aangegeven, die de proeven hebben doorstaan en niet aan andere oorzaken (bv. narcose) ontijdig zijn gestorven.

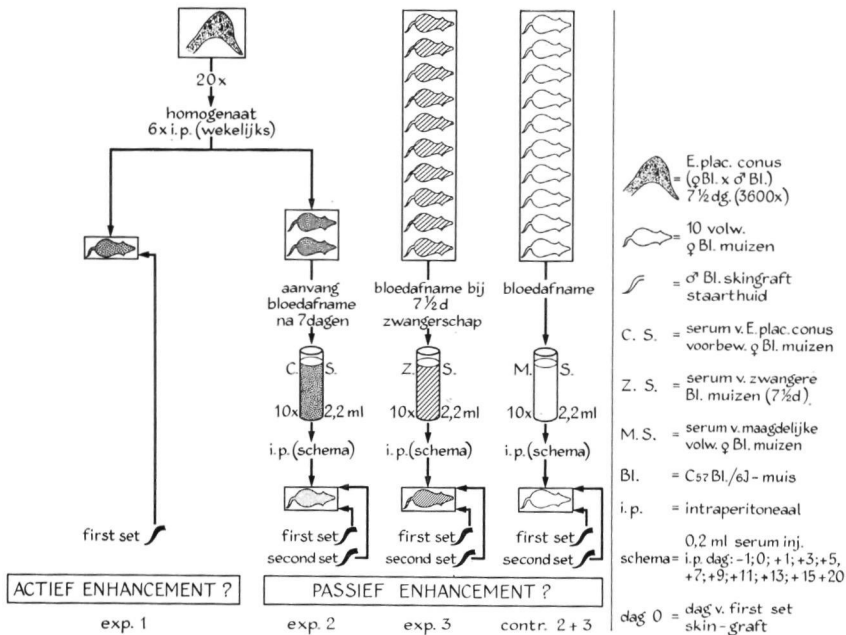


Fig. 23. Schema van proefopstelling van onderzoek over het vermogen van muizentrophoblast tot het opwekken van immunologisch enhancement.

Huidtransplantaties werden verricht geheel volgens een werkwijze beschreven bij VAN DER WERF, 1963; de laatstgenoemde auteur geeft tal van redenen aan, waarom staarthuid als graft de voorkeur verdient. Wij namen steeds 3/4 x 3/4 cm donor-huid van volwassen dieren. Donoren onder de leeftijd van 2 maanden zijn zó jong, dat hun huid na transplantatie eerder te gronde gaat, doordat dan de haar-

follikelcellen een hogere mitose activiteit bezitten. De beoordeling wordt dan tevens bemoeilijkt door afwisselende groei- en rustfasen der haarfollikels (CLAESSON e.a., 1970).

Second set (§ 1.B.6.) werd steeds 1 week na „afstoting” aan de hetero-laterale zijde uitgevoerd. Bij de gemodificeerde soft model skin-grafts (§ 3.C.) werd op de dag dat „afstoting” werd vastgesteld, de graft-rest met een randje van $\pm \frac{1}{4}$ cm acceptor-huid uitgesneden en histologisch onderzocht. De wond werd door middel van geknoopte zijden (oooo)-hechtingen gesloten.

Bij experiment 1. werden 1 week na de laatste voorbereiding met ectoplacentair conus-materiaal de huidtransplantaties verricht.

Bij experiment 2. werd tussen 1 week en 3 weken na de laatste voorbereiding met ectoplacentair conus-materiaal, steeds om de dag 0.2 ml bloed per muis afgenomen, waarna verbloeding (Fig. 24) plaats vond. De opbrengst aan serum per muis, kon hiermee bijna vervijfvoudigd worden (de gemiddelde opbrengsten staan bij de respectievelijke experimenten vermeld). In andere gevallen hebben wij de dieren steeds

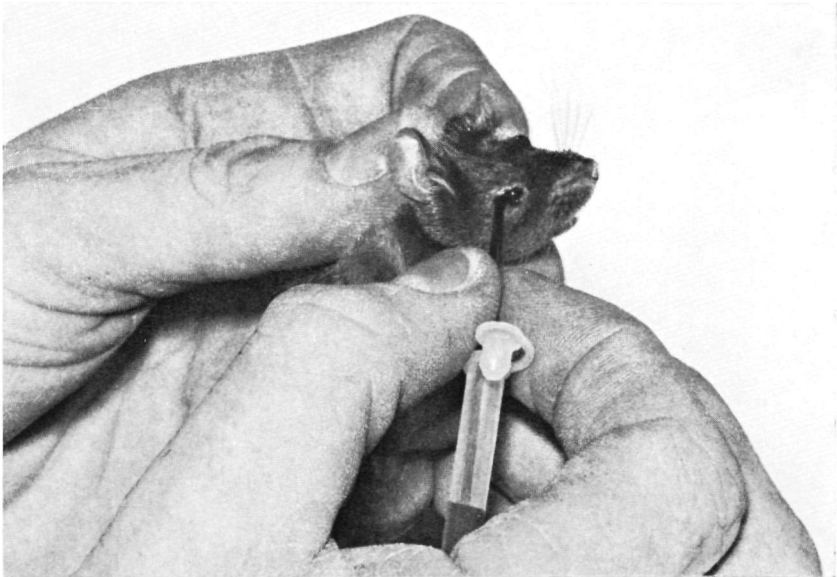


Fig. 24. Bloedafname uit de retro-oculaire veneuze plexus.

laten verbloeden. In de onderscheiden groepen werden sera gepooled en bewaard bij -20° C totdat ze in het verdere beloop van de experimenten nodig waren.

Met de eerste injectie ectoplacentair conus-materiaal werd tevens 0.1 ml Freund's adjuvant * toegediend.

Ectoplacentaire conus werd in een kleine homogenerator volgens POTTER in Hanks' solution gehomogeniseerd. Per muis werden steeds wekelijks 20 conussen in 0.3 ml Hanks' solution intra peritoneaal ingespoten; totaal 6 maal.

Daar gebruik werd gemaakt van het zwakke transplantaat-antigeen op het Y-chromosoom, kan verwacht worden dat de helft van de conussen tot eventuele immunisatie zal leiden (nl. die van de mannelijke foetus).

Het verkrijgen van ectoplacentaire conus wordt geïllustreerd aan de hand van Fig. 25 t/m 31C.

Fig. 25. = foetus ($7\frac{1}{2}$ dag) in de uterus.

Fig. 26. = coupe van Fig. 27.

Fig. 27. = schema van een foetus $7\frac{1}{2}$ dag oud.

Fig. 28. = zwangere uterus $7\frac{1}{2}$ dag in situ.

Fig. 29. = vrij geprepareerde zwangere uterus $7\frac{1}{2}$ dag.

Fig. 30A. = uitstulpen van de decidua door aangebrachte lacsie in de uterus-wand.

Fig. 30B. = stomp verwijderen van deel van de decidua om de ectoplacentaire conus à vue te brengen.

Fig. 30C. = ectoplacentaire conus à vue.

Fig. 31A. = foetus (0.8 mm) + ectoplacentaire conus (0.2 mm).

Fig. 31B. = idem (vergr. 78x).

Fig. 31C. = foetus en ectoplacentaire conus gescheiden.

* Freund's adjuvant (compleet), Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.

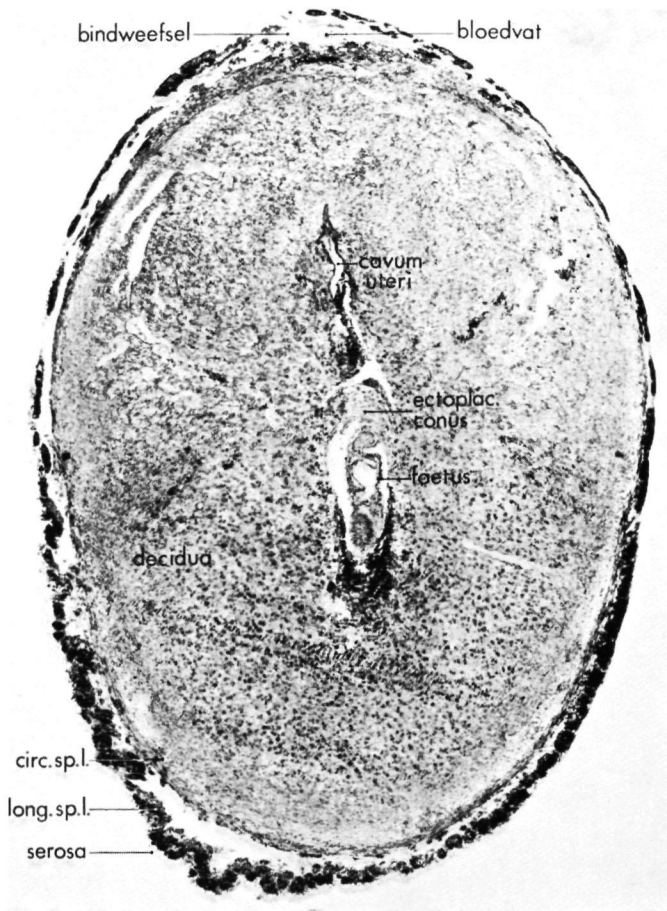


Fig. 25. Foetus ($7\frac{1}{2}$ dag) in de uterus. H.E. 24x.

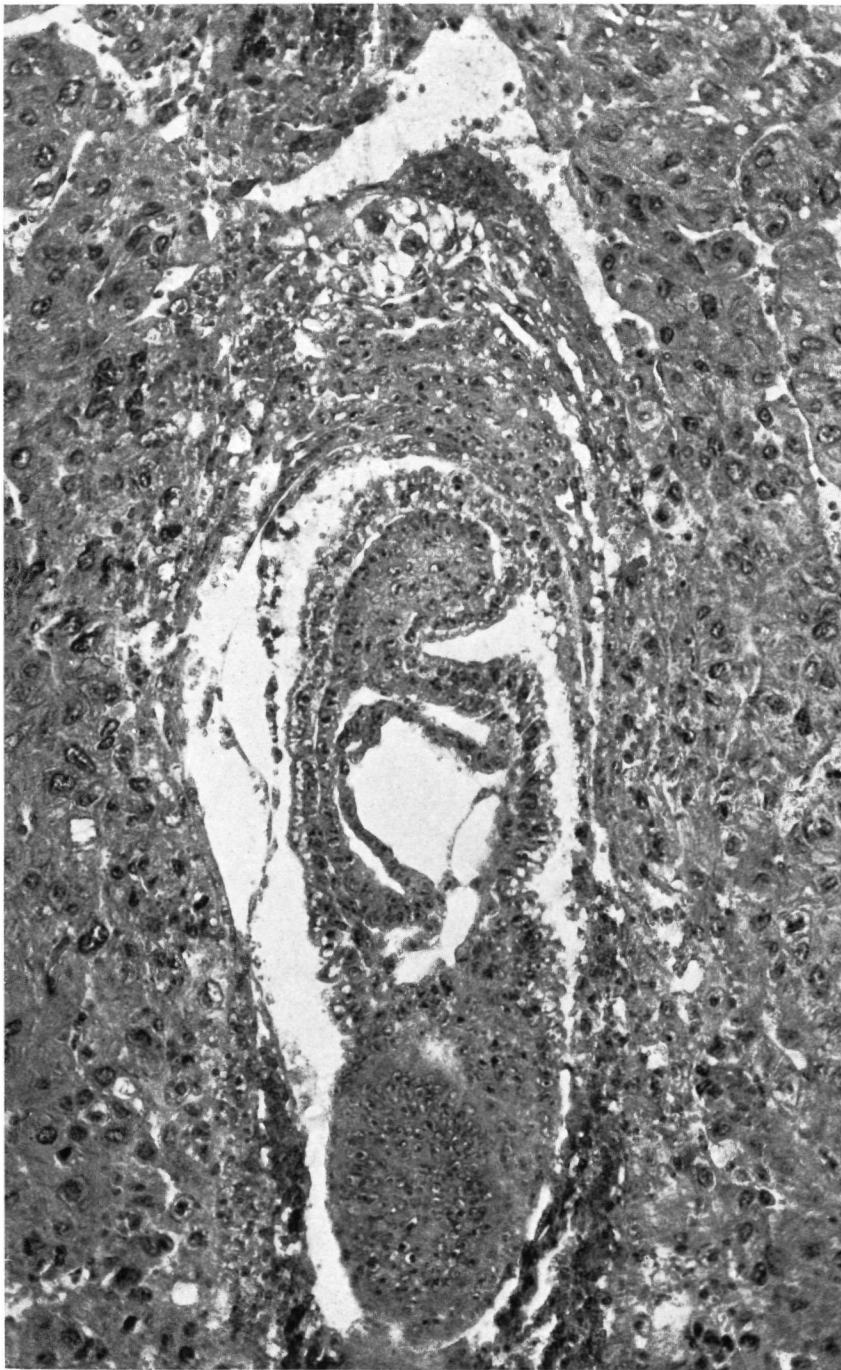


Fig. 26. Foetus met ectoplacentaire conus: 7½ dag. H.E. 160x.

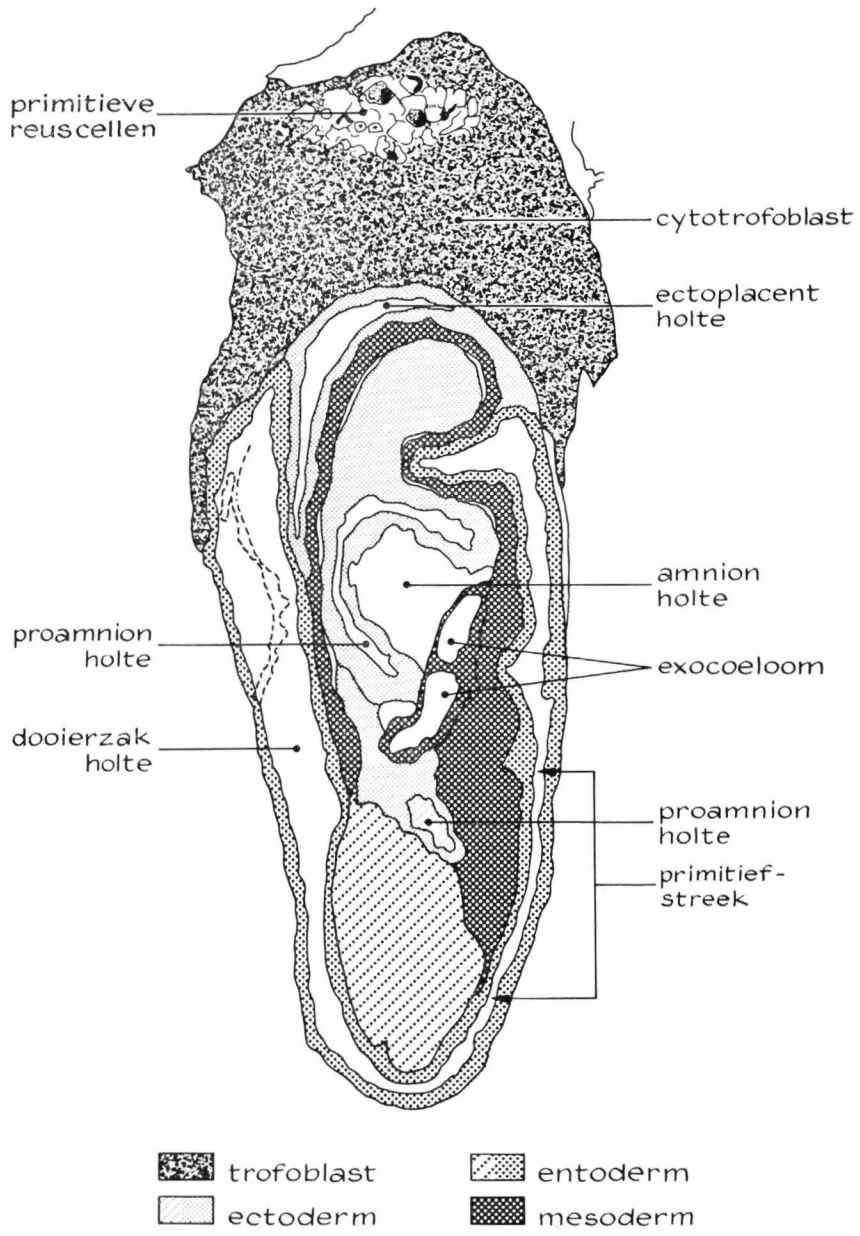


Fig. 27. Schema fig. 26.

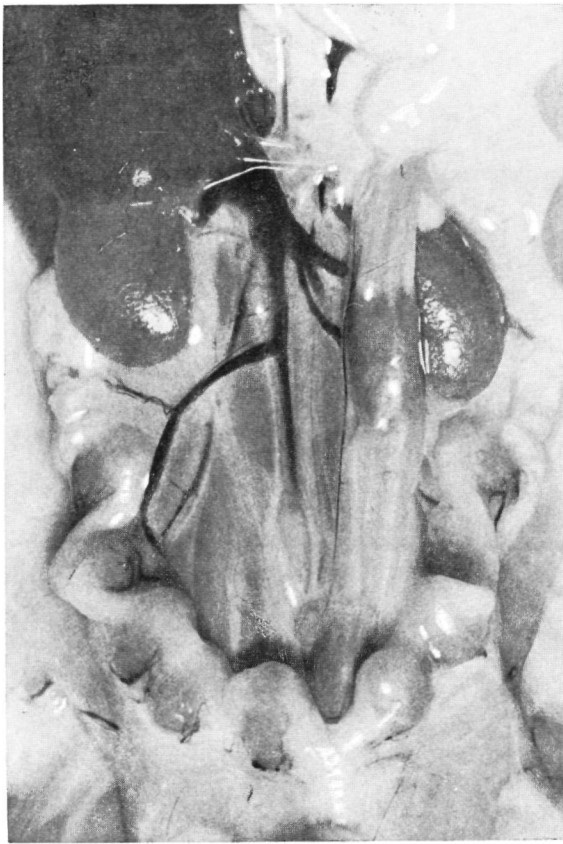


Fig. 28. Zwangere uterus, 7 $\frac{1}{2}$ dag, in situ.

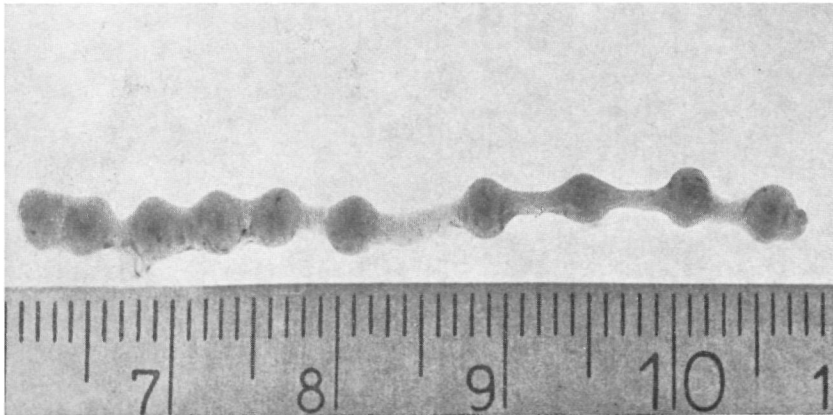


Fig. 29. Vrij geprepareerde zwangere uterus, 7 $\frac{1}{2}$ dag.

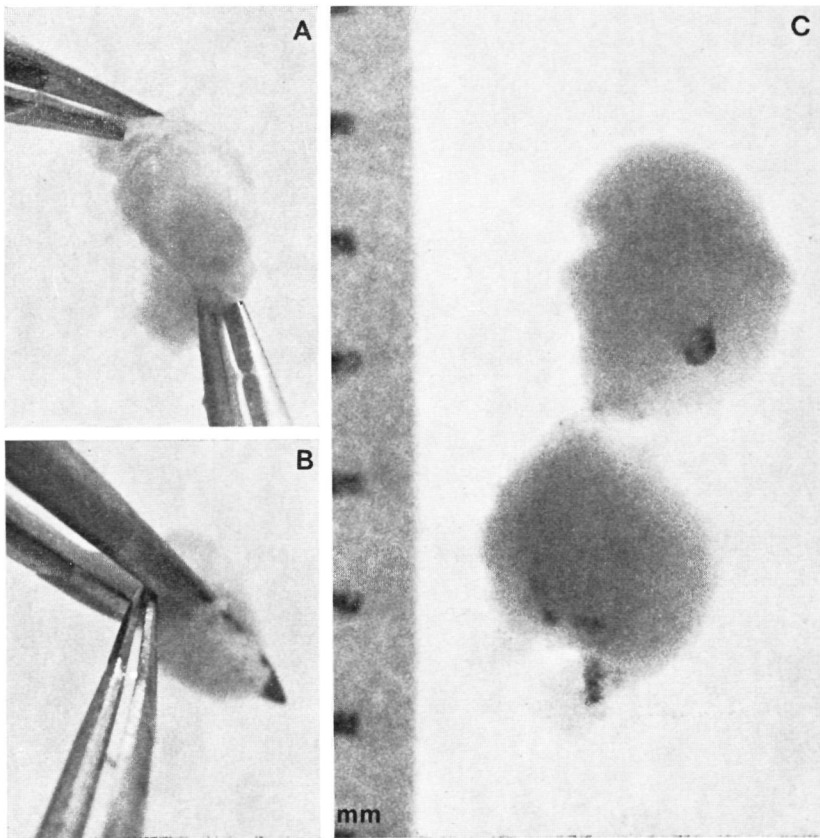


Fig. 30A. Uitstulpen van de decidua door aangebrachte laesie in de uterus-wand.
Fig. 30B. Stomp verwijderen van deel van decidua om ectoplacentaire conus à vue te brengen.
Fig. 30C. Ectoplacentaire conus à vue, 7½ dag.

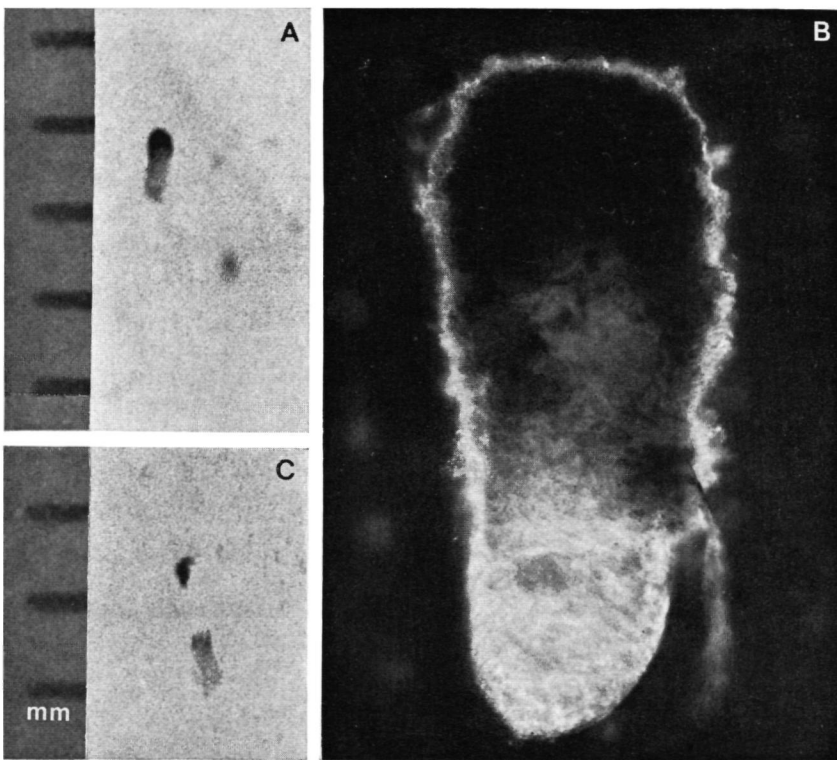


Fig. 31A. Foetus (0.8 mm) + ectoplacentaire conus (0.2 mm), 7½ dag.

Fig. 31B. Idem (vergr. 90x).

Fig. 31C. Foetus en ectoplacentaire conus gescheiden.

De vrijgeprepareerde ectoplacentaire conussen bestaan nagenoeg uitsluitend uit trofoblast-cellen hetgeen blijkt uit een coupe die gemaakt werd van een 3-tal conussen tesamen (Fig. 32).

Schema van serum-injectie bij passief enhancement proeven:

Op dag -1; 0; +1; +3; +5; +7; +9; +11; +13; +15; +20 werd 0.2 ml serum i.p. toegediend. Dag 0 = dag van huidtransplantatie. De laatste injectie werd op dag 20 toegediend, omdat bij het ongemodificeerde soft model first set, de frequentie van „afgestoten” grafts vanaf 20 dagen overleving zeer sterk gaat toenemen (zie Fig. 51).

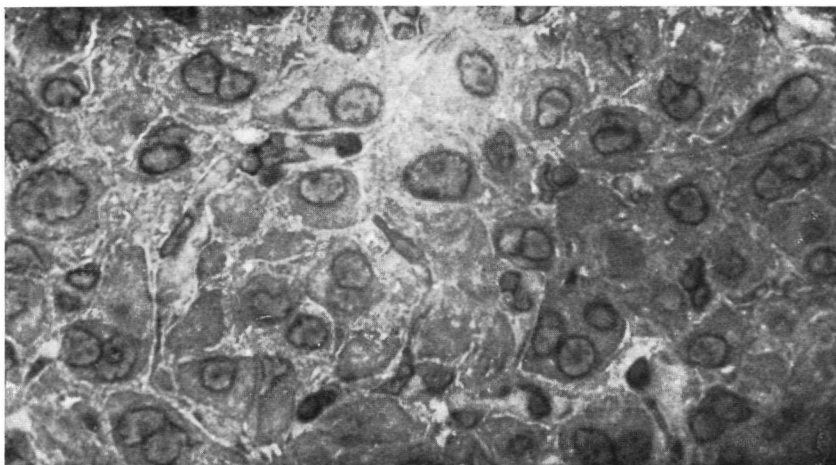


Fig. 32. Trofoblast-cellen uit vrij geprepareerde ectoplacentaire conussen (coupe 0.5 μ m, ingebed in Epon). Methyleen-blauw 560x.

B. NUANCERING VAN HET BEGRIP „AFSTOTING” IN NIET GEMODIFICEERDE SOFT MODEL SKIN GRAFTS

1. *Inleiding*

De bepaling van het eindpunt van de transplantatie-afstoting geeft bij het soft model (zie: § 2.A.2.c.) soms moeilijkheden (HAUSCHKA e.a., 1962).

Daar wij dit model als parameter zouden gebruiken, trachtten wij hiervan een beter inzicht te krijgen door reeksen op te stellen van huidtransplantaties zowel in het soft model als in het hard model en deze zowel macroscopisch als microscopisch morfologisch te analyseren; dit zowel in first set als in second set.

2. *Hard model first set*

Er werd onderzoek verricht respectievelijk 2, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18 dagen na transplantatie.

Zodra macroscopisch de kleur van het implantaat donker rood tot zwart is geworden (Fig. 33) en de graft tevens „korstig” aanvoelt, blijken microscopisch irreversibele veranderingen te zijn opgetreden en wordt door ons als afgestoten beschouwd. Dit kan men omstreeks de 7e-8e dag na transplantatie verwachten. Rondom de graft bevindt zich een

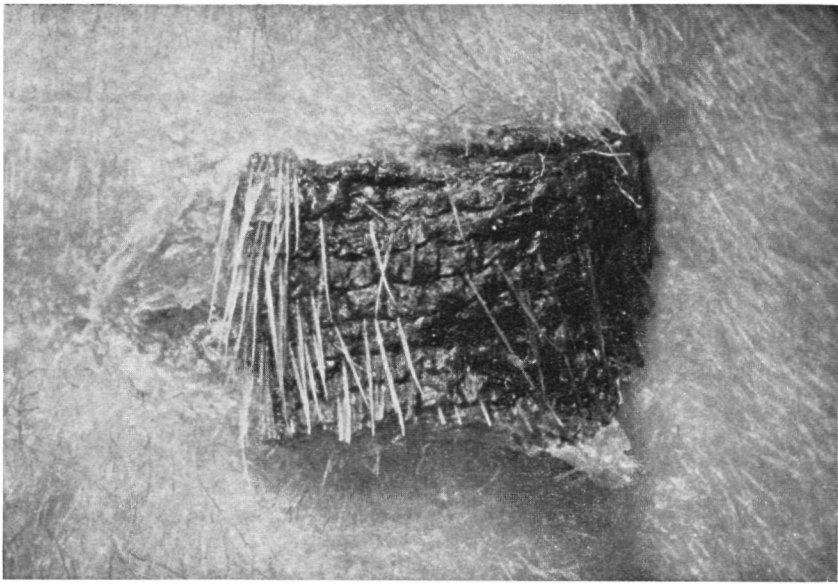


Fig. 33. Juist afgestoten huidtransplantaat in hard model first set. Het transplantaat is donker rood tot zwart van kleur en voelt „korstig” aan.

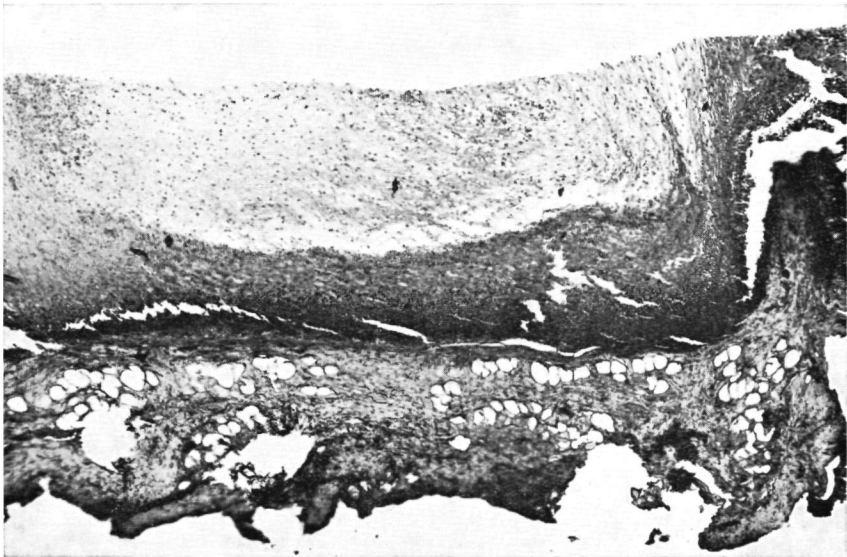


Fig. 34. Demarcatie-lijn rondom afgestoten huidtransplantaat in hard model first set. H.E. 40x.

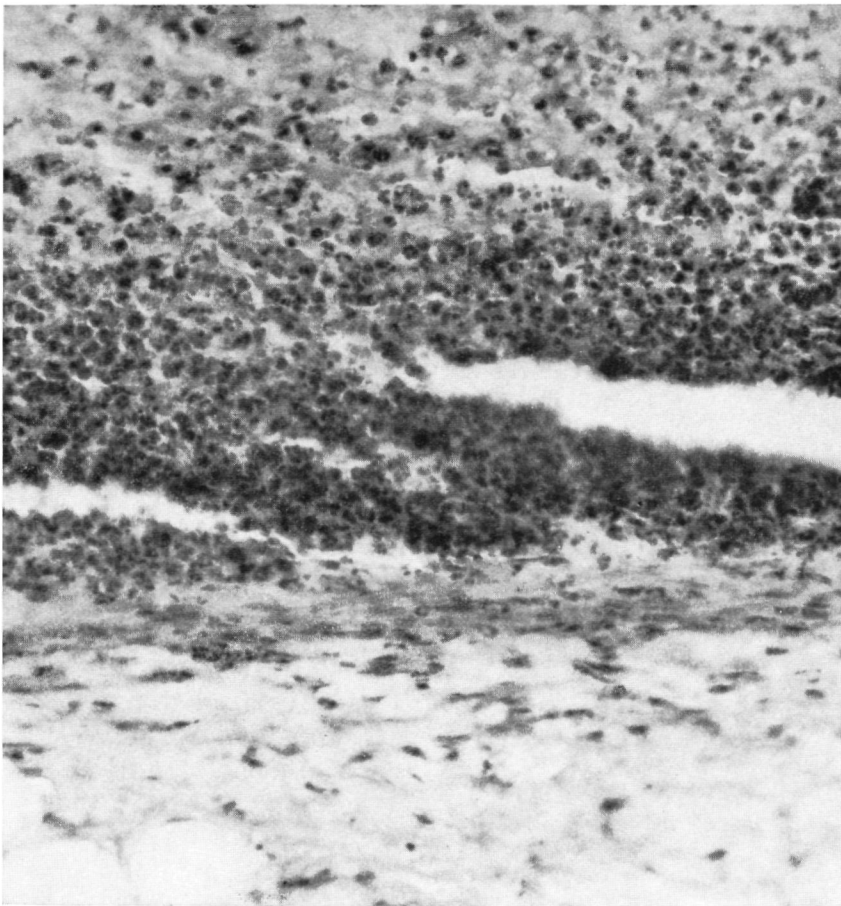


Fig. 35. Detail van fig. 34. De demarcatie-lijn bestaat voornamelijk uit polynucleaire granulocyten. H.E. 380x.

duidelijke demarcatie-lijn (Fig. 34), die voornamelijk uit polynucleaire granulocyten bestaat (Fig. 35). De haarfollikels en -schachten blijken het meest gevoelig en tonen minstens 1 dag eerder reeds infiltratie van genoemde leucocyten benevens degeneratieve veranderingen; versterkte lymfhevat-tekening is daar tevens te zien (Fig. 36).

Gedurende enkele dagen blijft deze toestand morfologisch nagenoeg stationair, behalve dat in het graft-epitheel vaak bullae gevuld met sereus vocht verschijnen. Omstreeks de 13e dag wordt de graft, die intussen

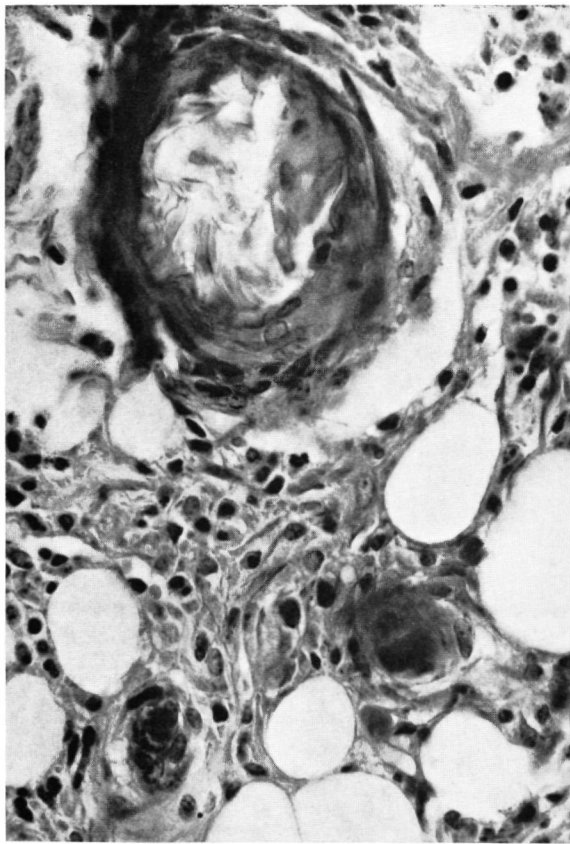


Fig. 36. Rest van een haarfollikel, infiltratie van leucocyten en versterkte lymfevat-tekening in het hard model first set. Deze microscopische veranderingen gaan aan de macroscopische tekenen van afstoting vooraf. H.E. 410x.

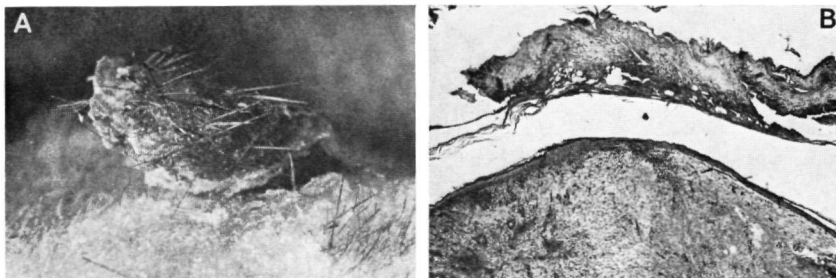


Fig. 37A. Uitstoten van de graft als sequester in het hard model first set.
 Fig. 37B. Microscopie van fig. 37A. Het host-epitheel heeft het defect reeds gesloten. Er bevindt zich bindweefsel op de plaats waar eerder het transplantaat zich bevond. H.E. 20x.

een sequester is geworden, uitgestoten (Fig. 37A); daaronder heeft host-epitheel het defect reeds gesloten. Er bevindt zich bindweefsel op de plaatsen, waar eerder het transplantaat zich bevond (Fig. 37B). Na enige dagen treedt retractie van het bindweefsel op, zodat macroscopisch een litteken wordt gezien (Fig. 38).

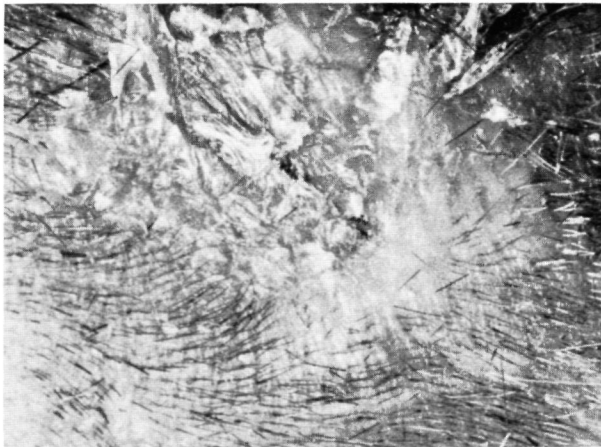


Fig. 38. Litteken enige dagen na uitstoten van het huidtransplantaat in het hard model first set.

3. *Hard model second set*

Er werd onderzoek verricht respectievelijk 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 dagen na retransplantatie. Deze laatste geschiedde steeds 1 week na macroscopische afstoting van de first set aan de heterolaterale zijde.

Omstreeks de 4e dag na retransplantatie is de bodem van de graft reeds sterk geïnfiltrerd met histiocyten, bestaat er al een fibroblasten-reactie aldaar en zijn alleen nog vage resten van haarfollikels en haarschachten te zien, echter zonder infiltraties; macroscopisch blijkt dan de graft nog fraai en zacht. Ongeveer 2 dagen later is het transplantaat donker rood tot zwart geworden en wordt afgestoten. Hierna duurt het globaal 3 dagen, voordat het host-epitheel kan overgroeien; dit blijkt dán pas te gebeuren nadat een goede vascularisatie in de graft-bodem en in het onspecifiek granulatie-weefsel tot stand is gekomen.

Het vroege effect van de second set response lijkt voornamelijk v a s c u-

lair bepaald te zijn om de navolgende redenen. Het oppervlakte epitheel krimpt zeer vroeg. De haarschachten laten atrofie zien zonder dat leucocytair elementen in de buurt zijn. De graft zélf vertoont geen cellulaire infiltratie.

Onvoldoende diffusie van voedingsstoffen en zuurstof uit het graftbed en het ontbreken van revascularisatie, die bij de first set regel is (zie § 1.B.6.), lijkt hier de zeer snelle graft-dood te veroorzaken.

4. *Soft model first set*

Er werd onderzoek verricht respectievelijk 4, 8, 12, 16, 17, 19, 22, 23, 24, 25, 30, 37, 38, 105 dagen na transplantatie.

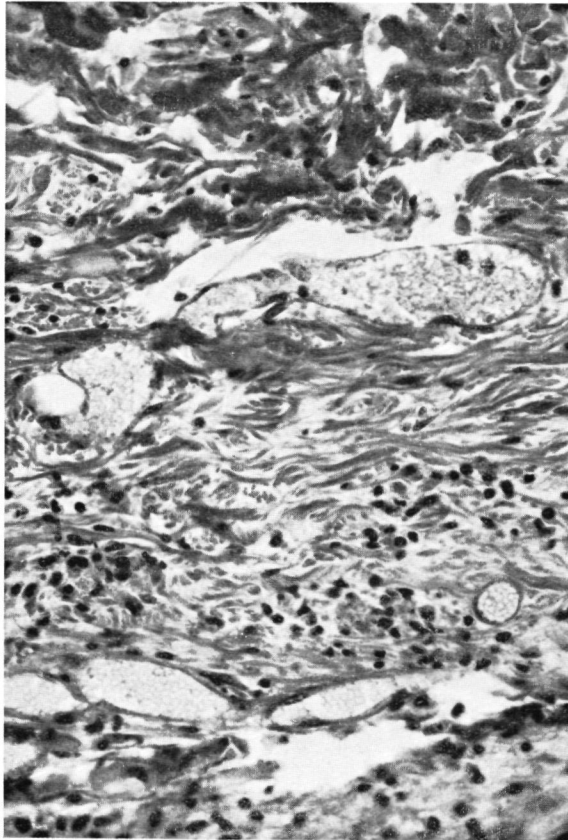


Fig. 39. Huidtransplantaat in het soft model first set. Revascularisatie is nog niet op gang gekomen. In het graftbed staan de vaten open. H.E. 236x.

Op de 4e dag na transplantatie blijken vaten in het graftbed open te staan, doch de revascularisatie zelf hoeft nog niet op gang te zijn gekomen (Fig. 39). Enkele dagen later is er een versterkte lymfhevat-tekening in de derma van het transplantaat te zien, terwijl tevens nieuwe capillairen worden gevormd (Fig. 40). De haarfollikels zijn sporadisch met lymfoïde cellen geïnfilteerd.

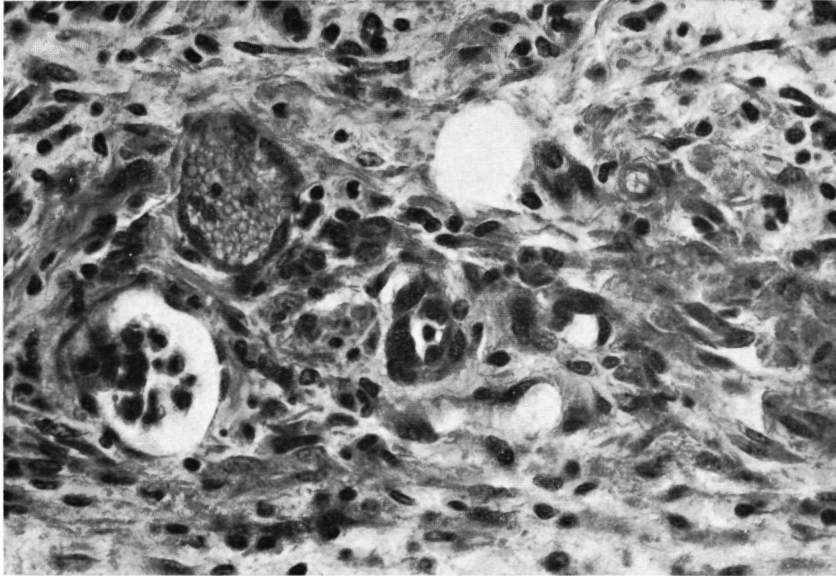


Fig. 40. Versterkte lymfhevat-tekening in de derma van het transplantaat, in het soft model first set. De revascularisatie is op gang gekomen terwijl tevens nieuwe capillairen worden gevormd. H.E. 380x.

Weer enige dagen later, omstreeks de 12e dag, zijn enkele lymfoïde cellen tussen de epidermiscellen gedrongen, terwijl deze laatsten volledig intact blijven (Fig. 41).

Een iso-transplantaat van gelijk geslacht als de acceptor heeft, hoewel minder, op dit tijdstip een zelfde soort cellen tussen de epidermiscellen (Fig. 42).

Ons inziens zouden genoemde lymfoïde cellen wellicht INFORMATIEVE CELLEN kunnen zijn, die antigeen informatie van de graft opnemen, om deze centraal te vergelijken met het eigen genen-patroon om zo al dan niet de immunologische response in gang te zetten.

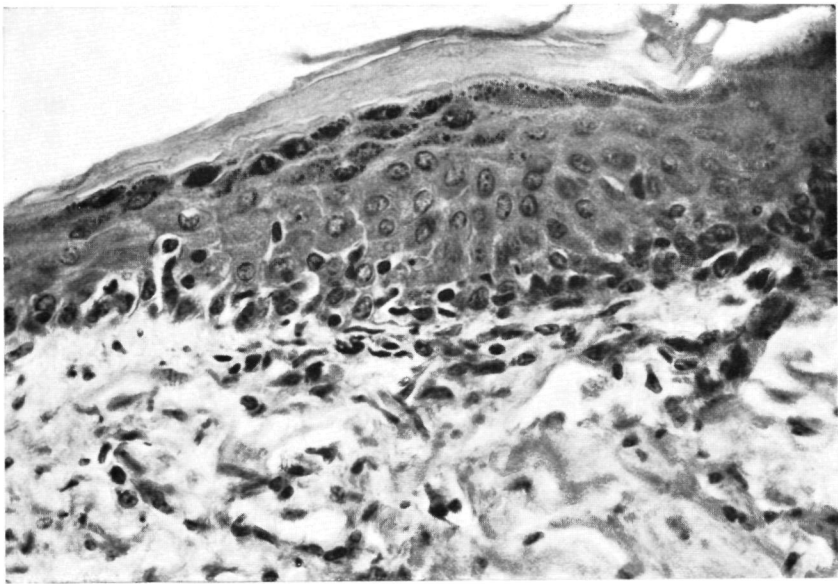


Fig. 41. Informatieve cellen in het soft model first set? Lymfoïde cellen tussen intacte epitheel-cellen. H.E. 380x.

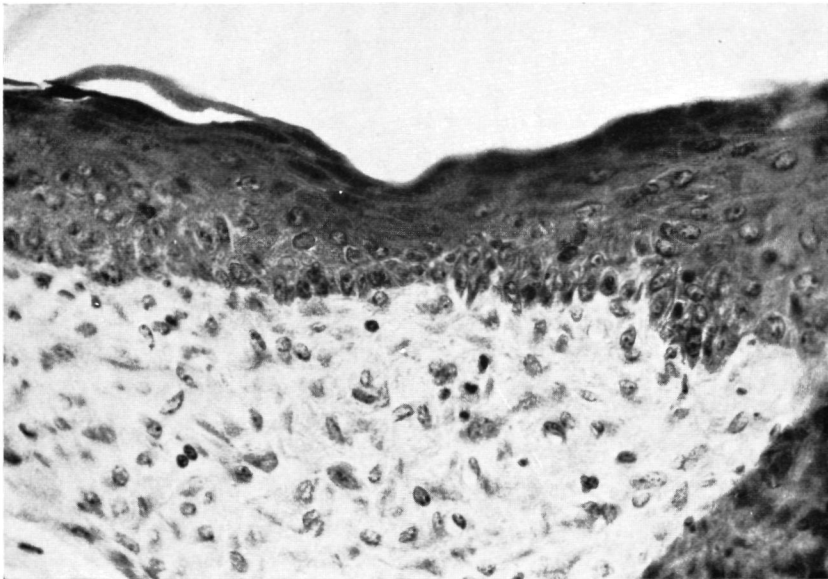


Fig. 42. Informatieve cellen in het controle implantaat? H.E. 380x.

De haarfollikels en haarschachten worden ook hier het eerste aangetast. De 16e dag na transplantatie vindt hierin reeds duidelijke infiltratie plaats en is de follikel al grotendeels gedestruceerd (Fig. 43).

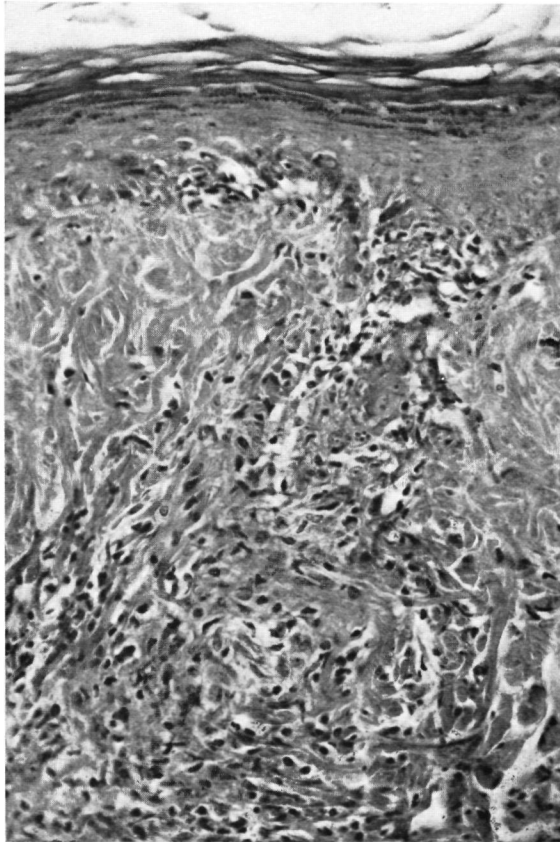


Fig. 43. Haarfollikel + haarschacht nog slechts als een „schim” aanwezig in het soft model first set, 16e dag na transplantatie. Ter plaatse sterke lymfoïde infiltratie. H.E. 236x.

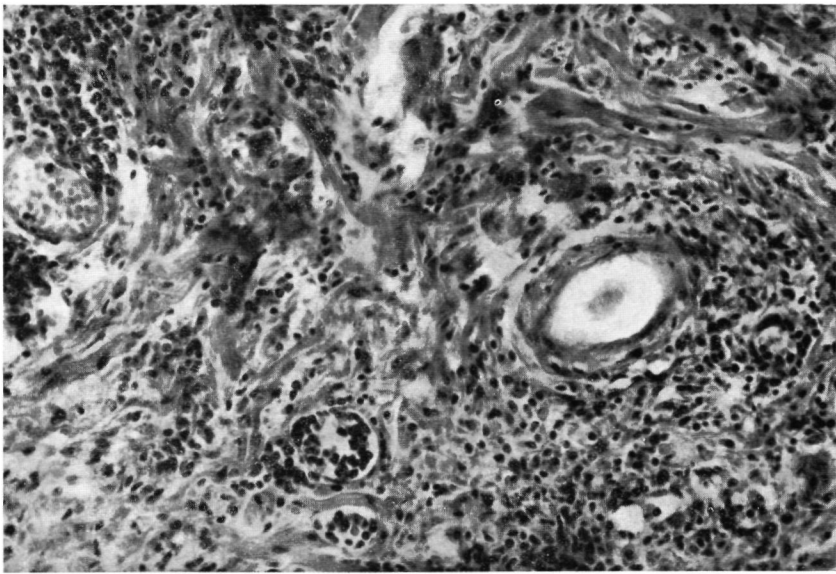


Fig. 44. Sterke lymfoïde infiltratie in het corium en duidelijke lymfhevaten in het soft model first set, 25e dag. Macroscopisch kan het transplantaat nog intact lijken. H.E. 236x.

Hoewel op de 25e dag macroscopisch de graft eventueel nog geheel intact kan zijn, blijkt er dan toch reeds sterke lymfoïde infiltratie in het corium te zijn opgetreden, vaak met duidelijke lymfhevaten (Fig. 44). Macroscopisch kan het transplantaat enige zwelling gaan vertonen, waarbij tevoren de haarvacht meestal verloren is gegaan en de basale laag van de epidermis lymfoïde cellen bevat die enige destructie ter plaatse lijken te veroorzaken. (Fig. 45). Opvallend is, dat de plaatsen van vroegere haarschachten dienen om als banen te fungeren om lymfoïde cellen van de bodem naar perifeer te geleiden. Geleidelijk aan gaat het typische reliëf van het huidtransplantaat verminderen, waarbij de derma eerst rondom de vroegere haarschachten en later ook op andere plaatsen gebiedjes van bindweefsel gaat bevatten ter vervanging van de collageen vezel-structuur.

Tenslotte is het reliëf geheel verloren gegaan en wordt de oppervlakte glad, glanzend en vaak ingezonken. Arbitrair stelden wij, dat hiermede de graft was „afgestoten”, hoewel dit laatste begrip in dit model algemeen foutief wordt gebruikt, daar er geen uitstoting doch RESORPTIE van gedeelten van de graft plaatsvindt. Bij vervolgen blijkt, dat zelfs tot na 100 dagen nooit een echt epitheel-defect ontstaat en de grotere keratine korrels, die typisch bij mannelijk staartheid voor-

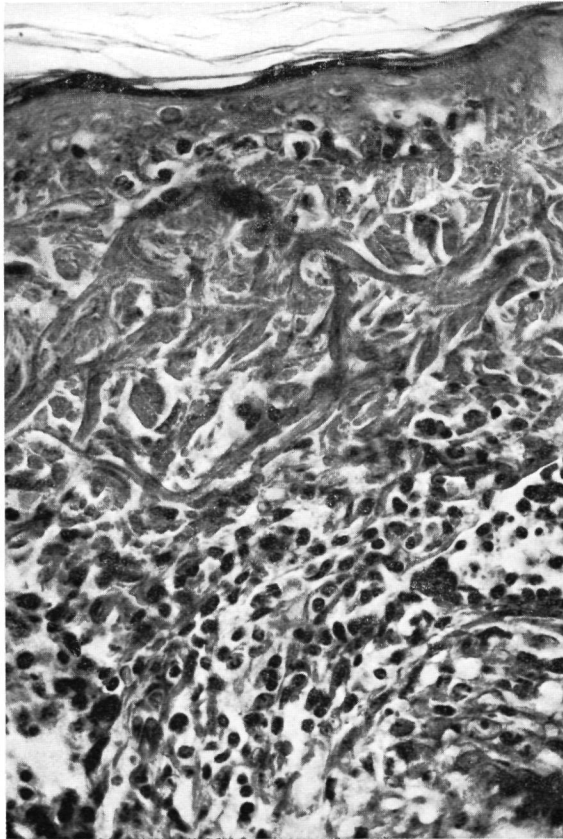


Fig. 45. Destructie in de basale laag van de epidermis, in het soft model first set. H.E. 380x.



Fig. 46. Soft model first set, ongeveer 100 dgn. na „afstoting”. Resten van collage-
ne vezels van de graft. Hiertussen gebieden van bindweefsel o.a. op plaatsen van
vroegere haarschachten. H.E. 128x (opname met gepolariseerd licht).

komen, steeds in de perifere epidermislaag van de graft blijven gehand-
haafd. Onze conclusie is dan ook, dat ter plaatse van de transplantatie
het donor-epitheel blijft bestaan terwijl ook resten van collage-
ne vezels van het corium achterblijven (Fig. 46; Fig. 47).

Macroscopisch lijkt het echter of intussen littekenweefsel is ontstaan,
doch dit blijkt dus schijn (Fig. 48).

5. *Soft model second set*

Een week na het moment van glad worden van de graft werd aan de
heterolaterale zijde een nieuwe graft geplaatst. Er werd onderzoek ver-
richt respectievelijk 4, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 17, 19, 21, 27 dagen na retrans-
plantatie. Evenals in het hard model first set, zien wij ook hier dat de
graft donker rood tot zwart van kleur gaat worden en dan tevens korstig

aanvoelt (Fig. 49). Dit kan men vanaf de 8e dag na retransplantatie verwachten.

Ongeveer 4 dagen voor de macroscopische kleurveranderingen zijn alleen de perifere gedeelten van de haarschachten nog intact. De rest is dan sterk met cellen geïnfiltreerd en is gedeutruerd. De epidermis bevat in het basale gedeelte intra-cellulair granulocytair infiltratie. De derma vertoont enige infiltratie van leucocytair elementen, voornamelijk aan de grens met het graft-bed.

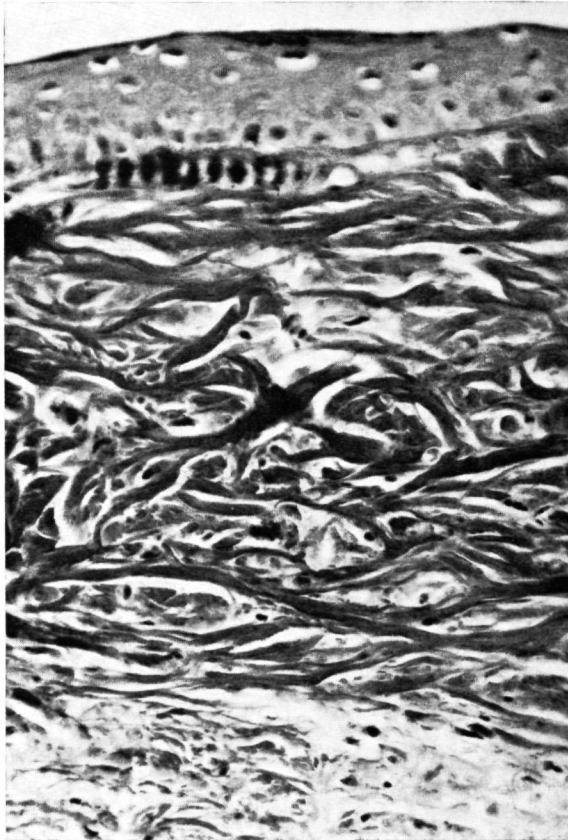


Fig. 47. Detail van fig. 46, doch geen gepolariseerd licht. Kruisstructuur van collagene vezels; dunne laag donor-epitheel. H.E. 256x.

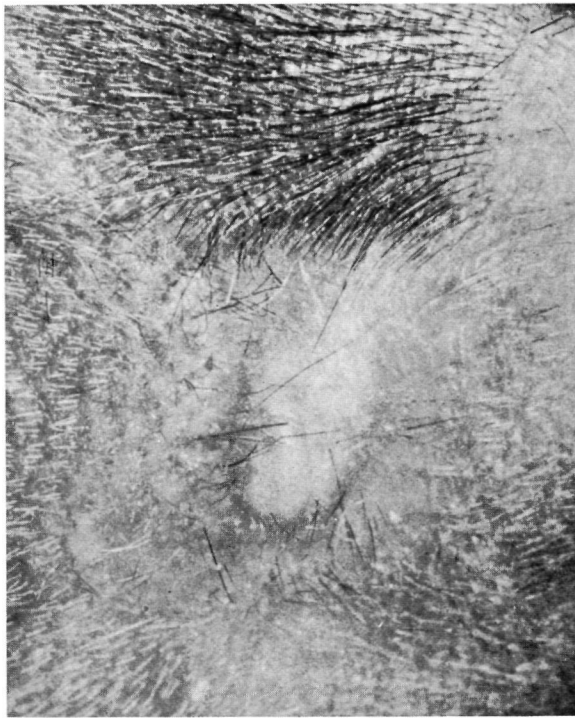


Fig. 48. Wit, glad, glanzend aspect van een transplantaat in soft model first set, ongeveer 100 dgn. nadat het werd „afgestoten”. De gelijkenis met een litteken is schijn.

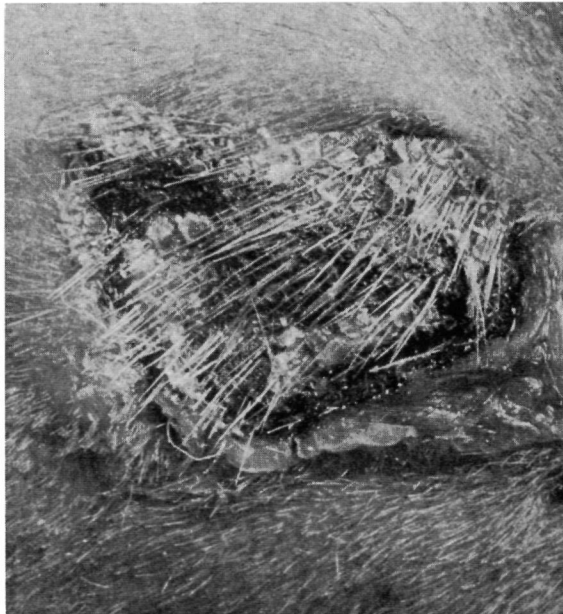


Fig. 49. Juist afgestoten huidtransplantaat in het soft model second set. Het transplantaat is donker rood tot zwart van kleur en voelt „korstig” aan.

Een tot twee dagen later zijn de haarschachten totaal gedestruueerd waarna de exfoliatie wordt ingezet, doordat op de grens van epidermis en derma, locale gebieden met infiltratie van granulocyten de lytische degeneratie begeleiden (Fig. 50). Langs de intussen ontstane demarcatie-lijn van voornamelijk granulocyten op de grens tussen graft en graft-bed begint het host-epitheel naar centraal toe te groeien en wordt de graft als sequester uitgestoten.

De reactie lijkt morfologisch sterk op die van het hard model first set.

6. *Aangelegde criteria betreffende afstotings- c.q. resorptie-momenten van de grafts*

Bij het soft model first set zal over „afstotingsmoment” worden gesproken om het algemene spraakgebruik hieromtrent te volgen, doch bedoeld wordt *resorptie-moment*. Daar in vergelijking met de andere modellen de correlatie macroscopie-microscopie veel moeilijker ligt bij het soft model first set, werden de microscopische criteria onderverdeeld in 3 sub-groepen.

Voor gebruikte criteria zie tabel III.

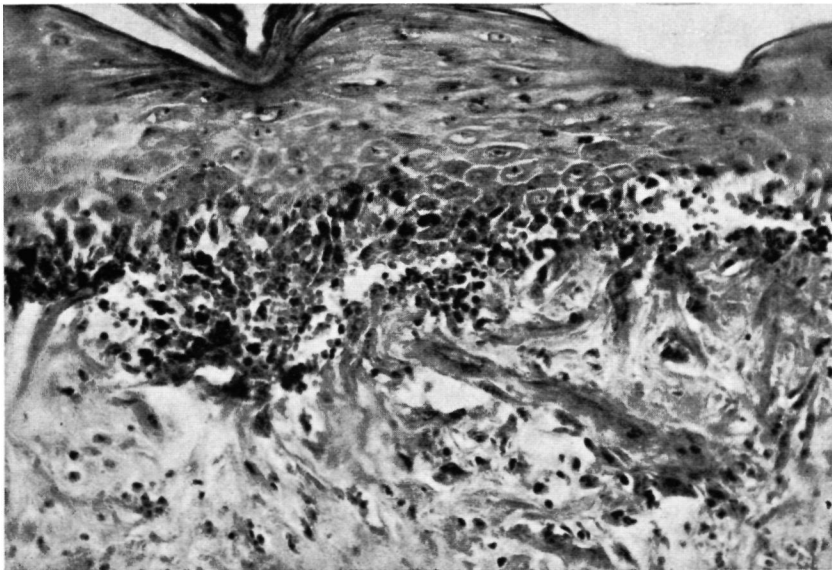


Fig. 50. Begin van exfoliatie in het soft model second set. Op de grens van epidermis en derma verschijnen locale gebieden met infiltratie van granulocyten, die de lytische degeneratie begeleiden. Deze microscopische veranderingen gaan aan de macroscopische tekenen van afstoting vooraf. H.E. 300x.

TABEL III

Aard model	Macroscopie	Microscopie			
Hard model first set	Donkerrood-zwart; „korstig”				Sequester
Hard model second set	Donkerrood-zwart; „korstig”				Sequester
			Resorptie		
		Beschrijving	Totaal	Sub-totaal	Partieel
Soft model first set	Kaal; ontbreken reliëf; glad, glanzend en/of hoornschilfers	Perifere epith.:	vlak, intact	vlak, intact	vlak, intact
		Haarfollikels + haarschachten:	afwezig	afwezig	als „schimmen” aanwezig
		Rest collagene vezels corium:	≤30%	≤50%	>50%
Soft model second set	Donkerrood-zwart; „korstig”				Sequester

„AFSTOTINGS”-CRITERIA IN VERSCHILLENDE SKIN-GRAFT-MODELLEN

7. *Vergelijking range „afstotings-momenten” in verschillende skin-graft-modellen (macroscopisch)*

In de tabellen IV t/m VI werden „afstotings-momenten” van 3 skin-graft-modellen opgenomen: Hard model first set, soft model first set en soft model second set. Het betreft respectievelijk 55, 106 en 29 transplantaties. De gemiddelde overlevingsduur en de Mean Survival Time (M.S.T. *) werden tevens aangegeven.

*) M.S.T. = Dag na transplantatie waarop juist 50% van de grafts zijn afgestoten (MEDAWAR, 1958).

TABEL IV

„Afst.”-dag	Aantal muizen		
8	10		
9	12	Totaal aantal	55
10	13	Gem. overlevingsduur (dg.)	10.2
11	6		
12	8	Range (dg.)	8-14
13	4		
14	2	M.S.T.	10

M.S.T. = Mean Survival Time (zie tekst pag. 84).

AFSTOTINGS-MOMENTEN HARD MODEL FIRST SET
ONGEMODIFICEERD

TABEL V

„Afst.”-dag	Aantal muizen	„Afst.”-dag	Aantal muizen
12	1	37	2
16	1	38	5
19	3	39	5
20	2	40	3
21	1	41	5
22	2	42	5
23	3	43	1
24	4	44	3
26	2	45	2
27	4	46	3
28	4	47	2
29	5	48	3
30	4	49	2
31	2	50	1
32	2	51	1
33	4	60	1
34	7	72	1
35	6	79	1
36	2	88	1
	Totaal aantal	106	
	Gem. overlevingsduur (dg.)	35.9	
	Range (dg.)	12-88	
	M.S.T.	35	

M.S.T. = Mean Survival Time (zie tekst pag. 84).

„AFSTOTINGS”-MOMENTEN SOFT MODEL FIRST SET
ONGEMODIFICEERD

TABEL VI

„Afst.”-dag	Aantal muizen		
8	2		
10	6	Totaal aantal	29
11	3	Gem overlevingsduur (dg)	17.5
12	10	Range (dg)	8-20
13	3	M S T	12
14	3		
18	1		
20	1		

M S T = Mean Survival Time (zie tekst pag 84)

„AFSTOTINGS”-MOMENTEN SOFT MODEL SECOND SET
ONGEMODIFICEERD

Fig. 51 laat zien dat de range waarbinnen in het soft model first set „afstoting” plaatsvindt zeer groot is, terwijl bij het hard model first set deze het kleinst is. Er werden perioden van 5 dagen

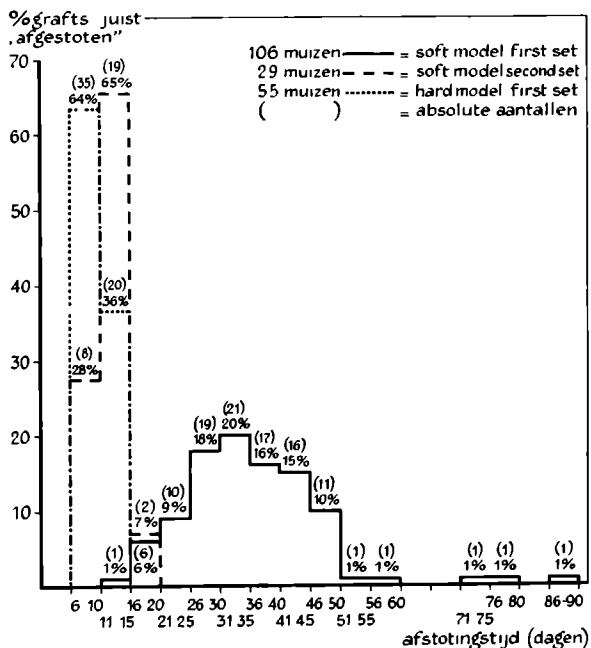


Fig 51 Vergelijking range van „afstotings-momenten” in verschillende skin-graft-modellen

vergeleken waarin de grafts werden „afgestoten”, te beginnen bij dag 6 t/m 10 enz. Daar het ons te doen was om beide soft models in deze met het hard model te vergelijken, hebben wij het hard model second set niet opgenomen, daar deze nóg vroeger lag in het afstotingsmoment en nog binnen een kleinere range lag dan het hard model first set.

8. *Histologisch onderzoek van een groep van 18 macroscopisch „afgestoten” transplantaten in het soft model first set*

Volgens criteria aangegeven in tabel III, werden de histologische bevindingen vermeld van een willekeurig groepje van 18 als macroscopisch „afgestoten” gekwalificeerde transplantaten (soft model first set) in tabel VII.

TABEL VII

Muis No.	Microscopie	Muis No	Microscopie
231	sub-totaal	240	sub-totaal
232	sub-totaal	313	totaal
233	totaal	314	partieel
234	totaal	315	totaal
235	totaal	316	partieel
236	totaal	317	totaal
237	sub-totaal	318	totaal
238	totaal	319	partieel
239	totaal	320	sub-totaal
Totaal aantal		18	
Totaal		10 (56%)	
Sub-totaal		5 (28%)	
partieel		3 (16%)	

VERDELING MICROSCOPISCHE SUB-GROEPEN BIJ „AFSTOTING”
BIJ 18 MUIZEN SOFT MODEI FIRST SET

C. RESULTATEN VAN GEMODIFICEERDE SOFT MODEL SKIN GRAFTS

1. *Invloed van Freunds adjuvant en Hanks' solution op de transplantaat-overleving in het soft model*

11 Volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen kregen 0.1 ml Freunds adjuvant in 0.3 ml Hanks' solution i.p. toegediend, waarna wekelijks 1 injectie i.p. 0.3 ml Hanks' solution gedurende 5 weken.

1 Week later kregen deze dieren een ♂ C57Bl/6J-skin graft (Tabel VIII).

TABEL VIII

Muis No	„Afst ”-dag	Microscopic	
217	27	partieel	
218	27	totaal	
219	29	sub-totaal	
220	27	totaal	
221	42	sub-totaal	
222	26	totaal	
223	48	totaal	
224	19	totaal	
225	13	totaal	
226	25	totaal	
228	18	totaal	
Totaal aantal		11	
Gem overlevingsduur (dg)		27.4	
Range (dg)		13-48	
M S T		26.5	
		Microscopic	
		Totaal	8 (73%)
		Sub-totaal	2 (18%)
		Partieel	1 (9%)

M S T = Mean Survival Time (zie tekst pag 84)

INVLOED FREUNDS ADJUVANT + HANKS' SOLUTION OP SKINGRAIT
OVERLEVING IN SOFT MODEL FIRST SET

2. *Actief enhancement experiment: Immunisatie d.m.v. ectoplacentaire conus-homogenaten*

Fig. 23 (pag. 60) laat in experiment 1. schematisch de proefopstelling zien.

8 Volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen werden met ectoplacentair conus-materiaal voorbereid, waarbij aan de eerste injectie tevens 0.1 ml Freund's adjuvant was toegevoegd (zie pag. 62).

Een week later kregen deze dieren een ♂ C57Bl/6J-skin graft.

De overlevingsduur, de gemiddelde overlevingsduur en de M.S.T. staan vermeld in tabel IX.

TABEL IX

Muis No.	„Afst.”-dag	Microscopie	
127	12	totaal	
129	15	sub-totaal	
130	15	totaal	
131	22	totaal	
132	34	totaal	
133	18	totaal	
134	33	totaal	
136	28	sub-totaal	
Totaal aantal 8		Microscopie	
Gem. overlevingsduur (dg.) 22		Totaal	6 (75%)
Range (dg.) 12-34		Sub-totaal	2 (25%)
M.S.T. 18		Partieel	—

M.S.T. = Mean Survival Time (zie tekst pag. 84).

ACTIEF ENHANCEMENT EXPERIMENT (exp. 1)
IMMUNISATIE D.M.V. ECTOPLACENTAIRE CONUS-HOMOGENATEN

3. *Passief enhancement experiment: Serum na voorbereking met ectoplacentaire conus-homogenaten (C.S.)*

Figuur 23 (pag. 60) laat in experiment 2. schematisch de proefopstelling zien.

20 Volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen werden met ectoplacentair conus-materiaal voorberekt (zie pag. 62), waarbij aan de eerste injectie tevens 0.1 ml Freund's adjuvant was toegevoegd (zie pag. 62). Een week later werd een aanvang genomen met partiële bloedafname, waarvan het serum werd bewaard (zie pag. 61). Er werd in totaal 29.4 ml serum verkregen (gemiddelde opbrengst/muis: 1.4 ml serum).

Vervolgens werden bij 10 andere volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen bovengenoemd serum volgens schema toegediend waarvoor 22 ml benodigd was (zie pag. 68). Op de dag van de tweede serum-injectie (dag 0) kregen deze laatste dieren een ♂ C57Bl/6J skin-graft.

Een second set (zie pag. 61) werd geplaatst 1 week na „afstoting” first set; bij de 3 transplantaten, die een overlevingsduur van >100 dagen vertoonden, werd de second set verricht 1 week nadat de niet afgestoten graft was uitgesneden. Dit laatste gebeurde op 108 dagen na transplantatie.

De overlevingsduur, de gemiddelde overlevingsduur en de M.S.T. staan vermeld in tabel X.

4. *Passief enhancement experiment: Serum van 7½ dag zwangere muizen (Z.S.)*

Figuur 23 (pag. 60) laat in experiment 3. schematisch de proefopstelling zien.

Van 100 C57Bl/6J muizen, die voor de eerste keer zwanger waren van een ♂ C57Bl/6J-muis, werd bij 7½ dag zwangerschap in totaal 32 ml serum na totale verbloeding verkregen (gemiddelde opbrengst/muis: 0.32 ml serum).

Vervolgens werden bij 10 volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen bovengenoemd serum volgens schema toegediend, waarvoor 22 ml be-

TABEL X

MUIS no.	„AFSTOTING” FIRST SET		AFSTOTING SECOND SET	
	Microscopie	„Afst.”-dag	Microscopie	Afst.-dag
241	partieel	>100	uitgestoten	9
243	sub-totaal	30	sequester	10
250	partieel	>100	sequester	10
251	totaal	41	sequester	10
252	totaal	30	—	—
259	totaal	40	uitgestoten	10
261	totaal	42	sequester	9
269	partieel	35	—	—
270	totaal	54	sequester	9
278	intact	>100	sequester	8
Totaal aantal		10	Totaal aantal	8
Gem. overlevingsduur (dg.)		57.2	Gem. overlevingsduur (dg.)	9.4
Range (dg.)		30-100	Range (dg.)	8-10
M.S.T.		41	M.S.T.	9
MICROSCOPIE:				
Totaal		5 (50%)		
Sub-totaal		1 (10%)		
Partieel		3 (30%)		

M.S.T. = Mean Survival Time (zie tekst pag. 84).

— = Uit onderzoek wegens technische problemen.

PASSIEF-ENHANCEMENT EXPERIMENT (exp. 2.)
 NA VOORBEWERKING MET ECTOPLACENTAIRE CONUS-HOMOGENATEN (C.S.)

nodigd was (zie pag. 68). Op de dag van de tweede serum-injectie (dag 0) kregen deze laatste dieren een ♂ C57Bl/6J skin-graft. Een second set (pag. 61) werd geplaatst 1 week na „afstoting” van de first set.

De overlevingsduur, de gemiddelde overlevingsduur en de M.S.T. staan vermeld in tabel XI.

TABEL XI

MUIS no	„AFSTOTING” FIRST SET		AFSTOTING SECOND SET	
	Microscopie	„Afst ”-dag	Microscopie	Afst -dag
244	totaal	21	uitgestoten	14
246	partieel	35	uitgestoten	9
253	partieel	28	sequester	8
254	totaal	55	sequester	9
255	totaal	49	sequester	9
262	sub-totaal	37	sequester	11
264	totaal	37		—
271	partieel	26	sequester	14
281	partieel	45		—
282	totaal	39		—
Totaal aantal		10	Totaal aantal	7
Gem overlevingsduur (dg)		37.2	Gem overlevingsduur (dg.)	10.6
Range (dg)		21-49	Range (dg)	8-14
M S T		37	M S T.	9
MICROSCOPIE				
Totaal		5 (50%)		
Sub-totaal		1 (10%)		
Partieel		4 (40%)		

M S T = Mean Survival Time (zie tekst pag 84)

— = Uit onderzoek wegens technische problemen.

PASSIEF-ENHANCEMENT EXPERIMENT (exp. 3)
SERUM VAN 7½ DAG ZWANGERE MUIZEN (Z S.)

5. *Controle passief enhancement experiment: Serum van volwassen maagdelijke vrouwelijke muizen (M.S.)*

Figuur 23 (pag. 60) laat in controle experiment 2+3 schematisch de proefopstelling zien.

Van 100 volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen werd in totaal 34 ml serum na totale verbloeding verkregen (gemiddelde opbrengst/muis: 0.34 ml serum).

Vervolgens werd bij 10 volwassen maagdelijke ♀ C57Bl/6J-muizen bovengenoemd serum volgens schema toegediend waarvoor 22 ml benodigd was (zie pag. 68). Op de dag van de tweede serum-injectie (dag 0) kregen deze laatste dieren een ♂ C57Bl/6J skin-graft.

Een second set (pag. 61) werd geplaatst 1 week na „afstoting” first set.

De overlevingsduur, de gemiddelde overlevingsduur en de M.S.T. staan vermeld in tabel XII.

D. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Figuur 52 geeft een overzicht van de resultaten van de enhancement experimenten in het soft model first set, die werden vermeld in § 3.C. (Fig. 23; tabellen IX t/m XII).

De afzonderlijke first set experimenten (exp. 1; exp. 2; exp. 3; contr. 2+3) zullen hierna worden vergeleken met de wijze van afstoting in het ongemodificeerde soft model first set (tabel V en Fig. 51).

De second set experimenten (exp. 2; exp. 3; contr. 2+3) zullen met het ongemodificeerde soft model second set worden vergeleken (tabel VI en Fig. 51).

Statistisch onderzoek werd, tenzij anders vermeld, verricht volgens Wilcoxon-toetsen (één- of tweezijdig), die gevoelig zijn voor mediaanverschuivingen; M.S.T. (zie pag. 84) werd als centrummaat voor de groepen genomen.

Indien de overschrijdingskans p kleiner is dan 5% ($p < 0.05$), dan wordt het toets-resultaat als significant beschouwd. Alle uitspraken die berusten op statistische toetsing, zijn voorzien van een overschrijdingskans.

TABEL XII

MUIS no.	„AFSTOTING” FIRST SET		AFSTOTING SECOND SET	
	Microscopie	„Afst.”-dag	Microscopie	Afst.-dag
249	totaal	39	sequester	11
256	totaal	48		—
257	sub-totaal	31		—
265	sub-totaal	35		—
266	partieel	48	sequester	9
267	sub-totaal	29	uitgestoten	9
274	totaal	41	sequester	9
275	partieel	35	uitgestoten	11
276	totaal	26	sequester	11
285	totaal	40		—
Totaal aantal		10	Totaal aantal	6
Gem. overlevingsduur (dg.)		37.2	Gem. overlevingsduur (dg.)	10
Range (dg.)		26-48	Range (dg.)	9-11
M.S.T.		35	M.S.T.	11
MICROSCOPIE:				
Sub-totaal		3 (30%)		
Totaal		5 (50%)		
Partieel		2 (20%)		

M.S.T. = Mean Survival Time (zie tekst pag. 84).

— = Uit onderzoek wegens technische problemen.

CONTROLE PASSIEF ENHANCEMENT EXPERIMENT (contr. 2 + 3):
SERUM VAN VOLWASSEN MAAGDELIJKE VROUWELIJKE MUIZEN (M.S.)

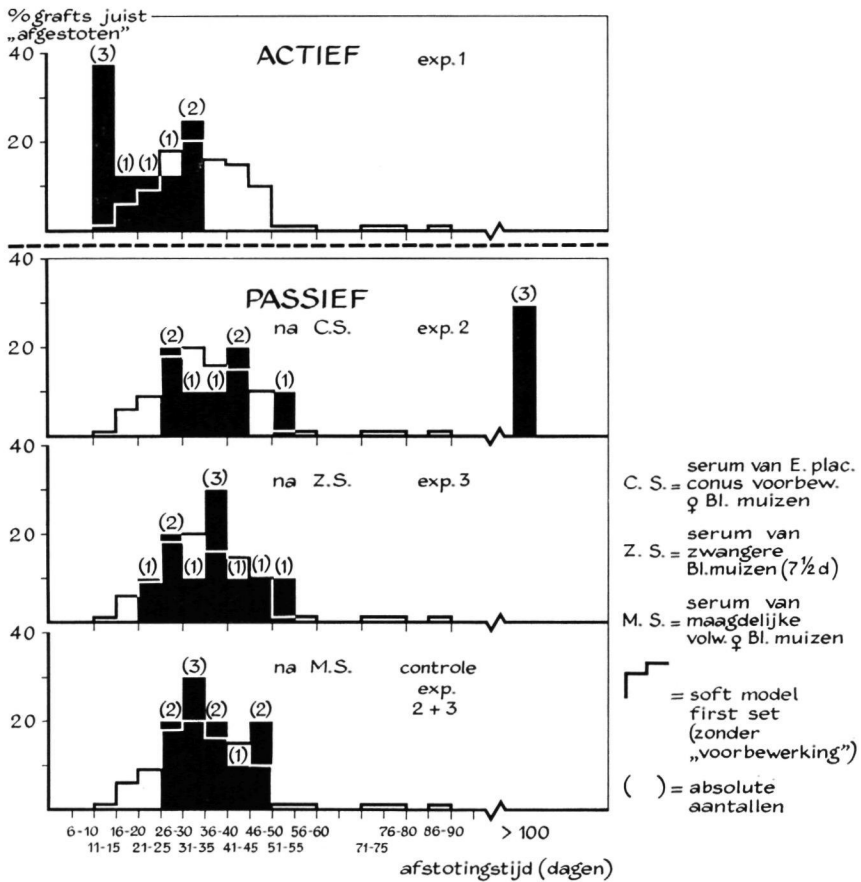


Fig. 52. „Afstotings-momenten” bij enhancement-experimenten na trofoblast-voor-bewerking.

Voor wat de afstotings-momenten in het soft model betreft, konden de individuele waarnemingen op 2 dagen nauwkeurig worden bepaald; in het hard model konden deze op 1 dag nauwkeurig worden bepaald.

Experiment 1, first set, vertoont een versnelde afstoting in vergelijking met soft model first set ($p = 0.001$). Zoals reeds eerder werd vermeld, werd met de eerste injectie ectoplacentaire conus-homogenaten,

tevens 0.1 ml Freund's adjuvant toegediend. Freund's adjuvant (in Hanks' solution) blijkt niet alleen het immunologisch apparaat voor humorale immuniteit gevoeliger te maken — reden waarom dit werd toegepast in experimenten 2 en 3 — doch lijkt ook de celgebonden immuniteit te stimuleren. Dit laatste moet ons inziens de conclusie zijn van de resultaten van § 3.C.1., waar verkorte transplantaat-overleving werd gezien in vergelijking met het ongemodificeerde soft model first set ($p_2 = 0.01$). De verkorte overlevingsduur van de transplantaten in experiment 1, zijn mogelijk terug te voeren op Freund's adjuvant toediening tijdens de eerste injectie van ectoplaacentaire conus-homogenaaten. Het niveau van de overlevingstijden van de transplantaten in beide laatste groepen (exp. 3; contr. 2+3) vertonen geen significant verschil ($p_2 > 0.30$).

Experiment 2, first set, vertoont 3 transplantaten met een overlevingsduur van meer dan 100 dagen. De groep van 10 muizen vertoont een significant verlengde overlevingsduur van de transplantaten in vergelijking met het soft model first set ($p[\text{rechtséénzijdig}] = 0.01$).

Experiment 3, first set, vertoont geen verschil in afstotingstijden in vergelijking met het soft model first set ($p[\text{rechtséénzijdig}] > 0.25$) evenals de controle van experimenten 2 en 3 ($p_2 = 0.40$). Het blijkt, dat serum verkregen van muizen die voor de eerste maal zwanger waren gedurende $7\frac{1}{2}$ dag, in dit experimentele model althans, geen verlengde skin-graft overleving heeft bewerkstelligd gezien de macroscopische criteria van afstoting.

Microscopisch onderzoek van de skin-grafts nadat deze waren „afgestoten”, werden tevens vermeld in tabel VII t/m XII. In tabel II werden 3 subgroepen aangegeven waarin de microscopische bevindingen werden samengebracht. Aangenomen kan worden, dat „totale” afstoting later zal plaatsvinden dan „partiële” afstoting.

Van 18 muizen uit de ongemodificeerde soft model first set groep zijn de microscopische gegevens bekend (tabel VII).

In experiment 2, first set (tabel X), bleef het transplantaat van één muis intact. De microscopische gegevens van de andere skin-grafts uit deze

groep (9) werden in de analyse betrokken. Verder zijn ook de microscopische resultaten van de Freunds adjuvant groep (tabel VIII), van experiment 1 first set (tabel IX), van experiment 3 first set (tabel XI) en van de controle groep van de experimenten 2 en 3 (tabel XII) vermeld in tabel XIII. De aantallen in de groepen werden ingedeeld naar totale, subtotale, respectievelijk partiele microscopische afstoting.

Er is geen aanleiding om te onderstellen dat de verdeling naar histologische „afstoting” van de 6 groepen verschillend zou zijn (χ^2 -toets, $p > 0.50$).

Verwacht mag worden dat de gevonden verschillen tussen de groepen met betrekking tot macroscopische „afstotings”-momenten niet door de microscopische verschillen in afstoting geïntroduceerd zijn.

Bij tabel VII dient vermeld, dat de macroscopische „afstotings”-momenten niet representatief blijken te zijn voor de gehele groep ongemodificeerde soft model first set grafts ($p < 0.01$).

TABEL XIII

MICROSCOPIE „AFSTOTING”	GROEP						
	Soft model first set ongemodificeerd	Freunds adj. groep	Exp 1	Exp 2	Exp. 3	Controle exp 2+3	
TOTAAL	10	8	6	5	5	5	39
SUB-TOTAAL	5	2	2	1	1	3	14
PARTIEEL	3	1	0	3	4	2	13
	18	11	8	9	10	10	66

VERDELING VAN 6 GROEPEN MUIZEN NAAR 3 MICROSCOPISCH „AFSTOTINGS”-CRITERIA IN SOFT MODEL FIRST SET

Second-set afstoting blijkt zich bij de experimenten 2 en 3 en de controle-groep hiervan (tabel X t/m XII) binnen nauwe grenzen te voltrekken. Tussen de 3 groepen worden, zoals verwacht, geen verschillen in afstoting geconstateerd (toets van Kruskal-Wallis, $p > 0.50$); worden deze 3 groepen tesamen genomen en vergeleken met het ongemodificeerde soft model second set, dan blijkt de afstoting zich versneld voor te doen ($p_2 < 0.01$).

Deze bevindingen zijn geheel conform die van HALASZ, 1963; MCKENZIE, 1971 en RUSSELL, 1971 (zie pag. 28), die stelden, dat na immunologisch enhancement de second set response niet wordt vertraagd. Dat nochtans bij de ongemodificeerde groep soft model second set het afstotings-patroon vertraagd is, vergeleken met de second set van de passief enhancement experimenten (exp. 2; exp. 3; contr. 2 en 3), kan wellicht verklaard worden, doordat bij de ongemodificeerde groep de resten van de first set niet werden uitgesneden, zodat beïnvloeding op de second set response hiervan denkbaar is.

Uit bovenvermelde experimenten lijkt het aannemelijk, dat trofoblast in staat is tot opwekken van immunologisch enhancement.

Dat wij met sera van zwangere muizen alleen (exp. 3) geen immunologisch enhancement hebben kunnen opwekken, zou verklaard kunnen worden door enerzijds de korte immunisatie-tijd ($7\frac{1}{2}$ d.) en anderzijds door de mogelijk sterke affiniteit van de snel groeiende trofoblast voor enhancing antibodies.

Skin-grafts zijn mogelijk een minder gevoelige parameter voor trofoblast, dat wellicht zelf gemakkelijker tot enhancement kan komen.

HOOFDSTUK III

VERGELIJKEND SEROLOGISCH ONDERZOEK NAAR LYMPHOCYTOTOXISCHE ISO-ANTILICHAMEN BIJ DE VROUW T.O.V. DE ECHTGENOOT EN VERDELING VAN DE BLOEDGROEPEN VOLGENS HET AB-O SYSTEEM BIJ BEIDEN

§ 1 LITERATUURGEGEVENS

A. INLEIDING

Humorale antilichamen kunnen een onderdeel van de transplantatie-reactie zijn (zie Hfdst. II, § I.B.4.).

Zoals reeds uiteengezet, is een gedeelte van genoemde antilichamen cytotoxisch van karakter en kunnen deze door cytotoxische testen serologisch worden aangetoond (zie Hfdst. II, § 1.B.2.).

De hierna volgende literatuurgegevens zijn alleen bedoeld om het onderzoek vermeld in § 2 van dit hoofdstuk te verduidelijken. Volledigheid wordt derhalve niet nagestreefd.

B. CYTOTOXISCHE ANTILICHAMEN

Humorale antilichamen die in aanwezigheid van complement cel-dood kunnen bewerkstelligen, worden cytotoxisch genoemd. De testen die genoemde antilichamen in sera aantonen bestaan uit de volgende componenten: *t a r g e t c e l l s* (lymphocyten) + *t e o n d e r z o e k e n s e r u m* (cytotoxische antilichamen) + *c o m p l e m e n t* + *t r y p a a n - b l a u w*. Deze laatste stof kan passief alleen dode cellen binnendringen en wordt daarom als *i n d i c a t o r* van de reactie gebruikt.

Cytotoxische iso-antilichamen kunnen worden opgewekt bijvoorbeeld

door bloedtransfusies, orgaan- transplantatie en zwangerschap (ENGEL-FRIET, 1966).

C. COMPLEMENT (C')

Deze term betreft een groep serum-factoren, die deelnemen aan een cytotoxisch reactie-systeem (MAYER, 1961). Bij 56° C. gedurende 30 min. wordt complement volledig geïnactiveerd. Het werkingsmechanisme van genoemde C'-factoren is buitengewoon gecompliceerd en kan worden vergeleken met die van de bloedstolling. In beide gevallen speelt het zogenaamde cascade-fenomeen een rol: een serie van reacties waarvan het product van een reactie dient als catalysator van de volgende reactie. In totaal zijn 11 verschillende factoren bekend (LACHMANN, 1968).

De werking van complement bij hemolyse van erythrocyten komt fundamenteel overeen met die op gesensibiliseerde kernhoudende cellen (WINN, 1965).

Complement kan alleen dan tot complex-vorming met antilichamen overgaan, indien deze laatsten zich op niet te grote afstand van elkaar aan antigeen-determinanten hebben gebonden (zie Hfdst. II, § I.C. pag. 30). De plaats van complement-activering is het Fc-fragment (zie pag. 28) van de betreffende antilichamen (LACHMANN, 1968).

Electronen-microscopische onderzoeken van HUMPHREY en DOURMASHKIN, 1965, gaven aan, dat membraan-openingen (80-100 Å) een morfologisch resultaat zijn van complement-activiteit op het cel-membraan. Verlies van kleine ionen, zou het osmotisch evenwicht van de cel zó verstoren, dat zwellen en destructie van de cel het gevolg zou zijn.

Het complement van verschillende diersoorten bindt niet steeds alle complement-bindende antilichamen even goed. Zo kunnen kippen- en eenden-antilichamen geen zoogdier-complement binden, terwijl anderzijds het complement van een zelfde diersoort niet noodzakelijkerwijs zich het beste hoeft te binden aan eigen antilichamen (LACHMANN, 1968). Hoewel cavia-complement algemeen wordt gebruikt bij serologisch onderzoek, blijkt konijnen-complement vaak effectiever te zijn (EATON, 1970). Op empirische gronden werd door KISSMEYER-NIELSEN en KJERBYE,

1967, de voorkeur gegeven aan een mengsel van $1/2$ menselijk -C' en $1/2$ konijnen-C' om te worden toegepast in de lymphocytotoxische test.

Als indicator voor complement-fixerend vermogen wordt vaak het hemolytisch systeem gebruikt: schaap-erythrocyten + antischaap-erythrocyten — konijnenserum + complement.

Bij titratie van C' wordt 50% hemolyse als eind-criterium gehanteerd (RAPP, 1964). De bepaling van 50% hemolyse kan met veel grotere nauwkeurigheid worden vastgesteld en is veel beter reproduceerbaar dan 100% hemolyse. Dit laatste kan afgeleid worden uit de lineaire representatie van de hemolyse bij C'-titratie die een S-vormige figuur vertoont met 50% hemolyse centraal en asymptotische benaderingen tot 0 en 100% hemolyse (CASEY, 1965). De sterkte van C' wordt dan ook uitgedrukt in eenheden C'H₅₀ *.

Daar de genoemde publicatie van CASEY, 1965, een gestandariseerde werkwijze beschrijft van vele laboratoria in U.S.A., zal hierna gerefereerd worden aan de als zodanig genoemde L. B. C. F. - Method (Laboratorium Branch Complement Fixation Method).

D. ANTICOMPLEMENTAIRE ACTIVITEIT

Indien sera te lang bewaard blijven bij -20° C. zou de mogelijkheid bestaan dat aspecificke binding van C' aan genoemde sera gaat toenemen, zonder dat van antigeen-antilichamen interactie sprake is (MITTAI, e.a., 1968). Dit verbruik van complement wordt anti-complementaire activiteit genoemd.

Het treedt voornamelijk op indien aggregaten van IgG aanwezig zijn en in mindere mate indien fibrine aanwezig is (LACHMANN, 1968). Vindt een procedure plaats, waarbij de pH van het serum daalt onder 6.0, dan wordt eveneens anticomplementaire activiteit waargenomen (RICE, 1965). Daar trypaan-blauw een sterk anticomplementair effect veroorzaakt, voegt men deze indicator van de cytotoxische test pas toe nadat de binding van eventuele antilichamen met antigeen en complement

* 1 Eenheid C'H₅₀ is de hoeveelheid C' die het „Master-system” (333×10^6 gesensibiliseerde schaaperythrocyten in 5 ml buffer met complement) juist 50% hemolyseert.

heeft plaatsgevonden (ENGELFRIET, 1966). Een theoretisch wellicht te verwachten vals negatieve uitslag van de cytotoxische test ten gevolge van mogelijke anticomplementaire activiteit van de te onderzoeken sera, kan met een overmaat aan C' worden voorkomen (MITTAI e.a., 1968). De door ENGELFRIET, 1966, aangeraden two step procedure van de cytotoxische test (= eerst binding eventuele antilichamen aan antigeen, dan afdraaien van het te onderzoeken serum en vervolgens C' toevoegen) kan alleen in een macro-methode worden toegepast en niet in een micro-methode, die heden algemeen gebruikt wordt.

Er zijn ons geen gegevens uit de literatuur bekend, die de invloed van verschillende soorten complement op eventuele anticomplementaire activiteit van sera vermelden.

E. ZWANGERSCHAP ALS STIMULUS TOT OPWEKKING VAN CYTOTOXISCHE ANTILICHAMEN

Zwangerschap is een effectieve stimulus tot vorming van humorale antilichamen, gericht tegen leucocyten, een situatie volledig analoog aan de inductie van Rhesus-antilichamen (VAN ROOD e.a., 1969).

In een vorige studie (VAN DER WERF, 1971) toonden wij aan, dat een eerste zwangerschap reeds bij 6½ week amenorrhoe aanleiding kan geven tot de vorming van cytotoxische antilichamen gericht tegen de vaderlijke lymphocyten. Indien men aanneemt, dat antigeen minstens 1 week voor het verschijnen van cytotoxische antilichamen, moet zijn aangeboden (OVERWEG e.a., 1969), betekent dit, dat van de menselijke foetus reeds 2½ week na innesteling de genoemde stimulus kan uitgaan. OVERWEG en ENGELFRIET testten 116 primipara op voorkomen van cytotoxische antilichamen ten opzichte van de echtgenoot. In 15 gevallen (13%) werden antilichamen aangetroffen: in 1 geval bij 24 weken, in 4 gevallen alleen ná de graviditeit, terwijl de rest bij 28 weken of later pas kon worden aangetoond.

AHRONS, 1971, onderzocht genoemde antilichamen bij 50 primi-gravidae ten opzichte van een panel van lymphocyten-donoren, dat 18 leucocyten-groepen vertegenwoordigde. Hij vond lymphocytotoxische antilichamen bij 24-34 weken amenorrhoe in 10%, durante partu in 22%, 1 week post partum in 28%, 4 weken post partum in 30% en in het navelstrengbloed in 6% van de gevallen. In deze groep kon geen relatie

aangetoond worden tussen foeto-maternale transfusie (methode volgens Kleihauer: 2 foetaal Hb-cellen/10⁶ moederlijke erythrocyten) en aanwezige leucocyten antilichamen.

GOODMAN e.a., 1967, vergeleken het voorkomen van cytotoxische antilichamen bij zwangeren van verschillende pariteit. Getest ten opzichte van een panel van 10 lymphocyten-donoren: Primi-para: in 25% positieve reactie, na 3e en 7e zwangerschap respectievelijk in 55% en 68% positieve reacties.

TERASAKI e.a., 1970, onderzochten een groep van 574 zwangere vrouwen op het voorkomen van cytotoxische antilichamen getest ten opzichte van een panel van 20 donoren. Na de tweede zwangerschap vertoonden 25% en na de zesde zwangerschap vertoonden 50% van de vrouwen antilichamen. Moeders met antilichamen kregen in een significant hogere frequentie kinderen met congenitale afwijkingen, vergeleken met de groep zonder aantoonbare antilichamen. Genoemde onderzoekers vonden geen verband tussen abortus en voorkomen van cytotoxische antilichamen bij de vrouw.

Dat zwangerschap een effectieve stimulus tot vorming van cytotoxische antilichamen kan zijn, valt ook op te maken uit het relatief grote risico dat multiparae hebben om niertransplantaten acuut af te stoten (TERASAKI e.a., 1968; PATEL e.a., 1969). Bij een zwangerschap na niertransplantatie is het gevaar van sensibilisatie en daardoor afstoting van het transplantaat buitengewoon reëel (MICHIELSEN, 1969).

§ 2. ONDERZOEK NAAR DE INVLOED VAN ABORTUS, RESPECTIEVELIJK PARTUS IMMATURUS OP HET ONTSTAAN VAN CYTOTOXISCHE ANTILICHAMEN

A. INLEIDING

Verschillende soorten humorale antilichamen die een relatie vertonen met de transplantatie-reactie, kunnen in menselijke sera worden onderzocht (zie Hfdst. II, § 1.B.4.). Wij kozen de cytotoxische antilichamen tot object van onderzoek, omdat deze, van genoemde antilichamen het meest gevoelig en het best reproduceerbaar getest kunnen worden (VAN ROOD e.a., 1969).

TERASAKI e.a., 1964, introduceerden als eersten een micro-methode ter bepaling van genoemde antilichamen, zodat slechts geringe quanta te onderzoeken sera benodigd zijn. Deze methode heeft nog aan betrouwbaarheid gewonnen, doordat KISSMEYER-NIELSEN en KJERBYE, 1967, modificaties aanbrachten aangaande de zuivering van lymphocyten, die de target cells voor de reactie zijn. Voornoemde bepalings-methode die heden bijna algemeen toegepast wordt, werd ook door ons gebruikt.

Een theoretisch nadeel van de micro-methode, die onder olie moet plaatsvinden om verdamping van de uiterst kleine reactie-volumina te voorkomen, is het feit van de *one step procedure*: Nadat het te onderzoeken serum bij de lymphocytten-suspensie is gevoegd, kan na incubatie vóór de toevoeging van complement, het serum niet uit het reactie-milieu worden verwijderd, zodat met eventuele *anticomplementaire activiteit* van sera rekening moet worden gehouden (zie § 1.D.). Een overmaat complement maakt dit gevaar gering, doch daar wij sommige sera pas gebruikten na $\pm 2\frac{1}{2}$ jaar bewaard te hebben bij -20° C., hebben wij extra aandacht besteed aan het probleem van de *anticomplementaire activiteit*.

Anticomplementaire activiteit van sera zou eventueel toenemen met de bewaarduur (zie § 1.D.). Wij konden uit literatuurgegevens niet vaststellen of dit afhankelijk zou kunnen zijn van het soort complement. Het leek ons daarom nuttig, daar in de methode van KISSMEYER-NIELSEN een mengsel van $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C' wordt gebruikt, de invloed van de bewaarduur bij -20° C. van sera na te gaan, zowel voor *cavia-C'* als voor $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C'.

De bepalingen werden met complement verricht, dat somtijds enige maanden later gebruikt werd; het werd geconserveerd door het te bewaren bij -20° C.. Om enigermate georiënteerd te zijn omtrent de eventuele teruggang van C'-activiteit, werd van een overeenkomstig complementmengsel de sterkte nagegaan na verschillende bewaarduur. Het mengsel bestond uit menselijk C' van dezelfde donor, waarvan C' voor alle cytotoxische reacties kon worden betrokken; het konijnen-C' bestond uit geïmmeerd serum van 5 konijnen van hetzelfde ras.

De complement-titraties werden uitgevoerd met behulp van een hemolytisch systeem (zie § 1.C.). Daar de werking van complement bij hemolyse fundamenteel overeenkomt met die op gesensibiliseerde kernhoudende cellen (WINN, 1965), mogen ons inziens de bevindingen bij genoemde titraties, ook van toepassing verklaard worden op de cytotoxische test-reactie. De bepalingen werden verricht volgens de L.B.C.F.-procedure (CASEY, 1965).

B. MATERIAAL EN METHODEN

1. *Lymphocytotoxische test* (KISSMEYER-NIELSEN en KJERBYE, 1967)

a. Lymphocyten-suspensie

De echtgenoot diende als donor van de lymphocyten-suspensies. De bereiding werd schematisch weergegeven in Fig. 53. Na afname van veneus bloed werd dit op gebruikelijke wijze gedefibrineerd, waarna de erythrocyten door toevoeging van dextran grotendeels uitzakten. Het bovenstaande plasma met leucocyten werd bij 37° C. op watten gebracht, waardoor de granulocyten verwijderd konden worden, omdat

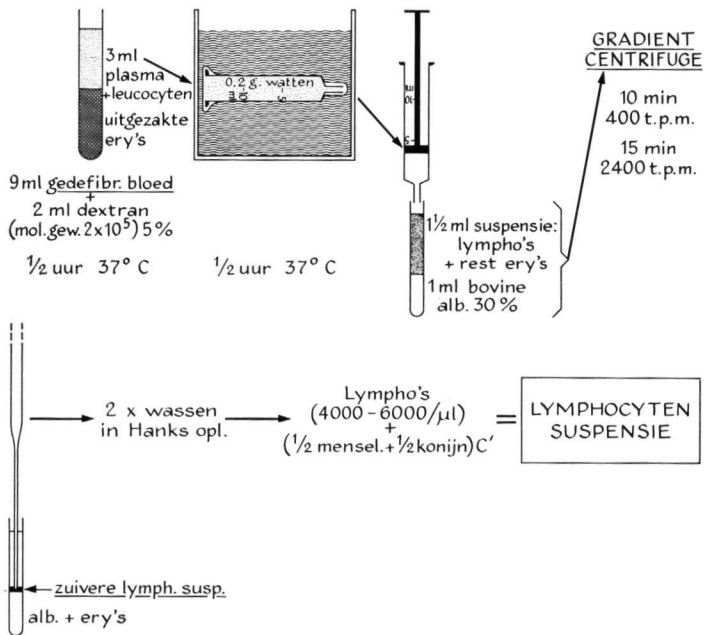


Fig. 53. Schema van de bereiding van een „zuivere” lymphocyten-suspensie.

VERGELIJKEND SEROLOGISCH ONDERZOEK NAAR LYMPHOCYTEN - ANTILICHAMEN BIJ DE VROUW
(A. J. M. van der Werf)

AANWIJZINGEN:

Benodigd: Steeds 1 buis „stolbloed“, na afname bij van der Werf inleveren ('s nachts laten overstaan bij kamertemperatuur); gedurende het week-einde in de ijskast (niet in vriesvak), waarbij buisje afsluiten met wattepropje e.d.

Afname: met vleugelnaald in gewoon laboratorium-buisje.

In daartoe bestemde vakjes van dit formulier:

Naam, poli- en/of archiefnummer, zo nodig duur van amenorrhoe invullen.

Op etiket: Naam, datum van afname, poli- en/of archiefnummer vermelden.

(inlegvel, niet inplakken)

code:

Leeftijd pat.:

cyclus:

Bijzonderheden anamnese:

(p.m.: fam./diab./vaaltijden)

G.T.T.:

Cervix-kweken:

Speciale onderzoeken:

(o.a. nierf. e.d.)

NAAM
POLI-No.: ARCHIEF-No. (rood):

I PAT. MET HABITUELE ABORTUS IN ANAMNESE

(= 2 of meer abort. resp. part. imm.; geen part. praem., of part. át.)

A. In geval van zich normaal ontwikkelende zw.sch.

Dat. 1. Afname buiten zw.sch.

Dat. 2. Afname zodra zw.sch. bekend is.

Duur am. wkn.

Dat. 3. Afname bij ± 12 wkn. am.

Dat. 4. Afname bij ± 24 wkn. am.

Dat. 5. Afname durante partu.

Duur am. wkn.

Dat. 6. Afname 6 wkn. post partum.

B. Indien wederom abortus resp. part. imm.

Dat. 7. Bij event. afgebroken zw.sch. afname, zo mogelijk voor curettage

Duur am. wkn.

Dat. 8. Bij event. afgebroken zw.sch. afn. 6 wkn. post abort. resp. part. imm.

Bij eventueel ontijdig einde (tot 20e week) doorgaan onder I B.

II PAT. MET ABORTUS RESP. PART. IMM. (TOT 20 WKN.) THIANS OPTREDEND IN EERSTE ZWANGERSCHAP.

Dat. 1. Afname vlak voor curettage/dig. uitr.

Duur am. wkn.

Dat. 2. Afname 6 wkn. post abortum.

III NOOIT GRAVIDA GEWEEST

(in aanmerking komen pat. met prim. infertilitet, waarvan de prognose goed lijkt; b.v. vlak voor salpingogr. Verder pas getrouwde vrouwen (o.a. verpleegsters), die genegen zijn, aan het onderzoek mee te werken).

Dat. 1. Afname voor zwangerschap.

Dat. 2. Afname zodra zw.sch. bekend is.

Duur am. wkn.

Dat. 3. Afname bij ± 12 wkn. am.

Dat. 4. Afname bij ± 24 wkn. am.

Dat. 5. Afname durante partu.

Duur am. wkn.

Dat. 6. Afname 6 wkn. post partum.

Bij eventueel ontijdig einde (tot 20e week) onder gr. II. doorgaan

IV MULTIPARA (NORMAAL VERLOPENDE ZWANGERSCHAP)

(= minstens 3 × bevallen; geen abortus)

Dat. 1. Afname bij eerste bezoek aan polikliniek.

Duur am. wkn.

Dat. 2. Afname bij ± 24 wkn. am.

Dat. 3. Afname durante partu.

Duur am. wkn.

Dat. 4. Afname 6 wkn. post partum.

Fig. 54. Inlegkaart voor het vergelijkend serologisch onderzoek naar lymphocyten-antilichamen bij de vrouw. Deze kaart verbleef in de poliklinische c.q. klinische status tijdens het onderzoek.

deze zich aan de watten vasthechten. De suspensie werd na een 1/2 uur voorzichtig boven op bovine albumine 30% gebracht. Tijdens de gradiënt-centrifuge wordt gebruik gemaakt van het minimale verschil in soortelijk gewicht tussen erythrocyten en lymphocyten. Erythrocyten zijn iets zwaarder en zullen onder de centrifuge-condities door het scheidingsvlak van de suspensie en albumine heenzakken, terwijl de lymphocyten in een dun laagje boven het scheidingsvlak blijven drijven. De lymphocyten werden voorzichtig afgepipetteerd waarna het albumine werd verwijderd door 2 maal wassen in Hanks' solution. Vervolgens werd Hanks' solution zelf weer zo veel mogelijk verwijderd, waarna complement zodanig werd toegevoegd, dat 4000-6000 lymphocyten zich per mm³ bevonden.

De cellen in de suspensie bleken bij controle steeds tussen 97% en 99% uit lymphocyten te bestaan.

b. Serum

Bloed voor stolling werd afgenomen vóór, tijdens en na de zwangerschap bij 4 groepen van vrouwen, die nooit een bloedtransfusie hadden ondergaan (zie Fig. 54). Het serum van iedere afname werd geïnactiveerd door verhitting (30 min. bij 56° C. in een waterbad). Nadat als conserveringsmiddel Merthiolate tot 0.0001% was toegevoegd, werden de sera ingevroren en bewaard bij -20° C.

c. Complement

Gepooled serum van 5 konijnen („Nieuw Zeelanders") werd ingevroren en bewaard bij -20° C. Serum voor menselijk complement werd steeds van dezelfde donor bereid en ook bij -20° C. bewaard.

Meestal werd complement gebruikt, dat niet ouder was dan 1 maand. Enkele reacties werden uitgevoerd met complement van enige maanden oud; van dit laatste complement werden ook positieve reacties in de cytotoxische test gezien. Ook de bevindingen van § 2.C.3. geven aan, dat dit complement kon worden gebruikt zonder gevaar van vals negatieve uitslagen.

d. Indicator

Trypaan-blauw *) (1% opl. in aqua dest.) dat alleen niet vitale

*) Chroma, 11660, importeur. Boom N.V., Meppel.

lymphocyten binnendringt en zodoende de indicator vormt voor het percentage dode cellen, moet als laatste toegevoegd worden, daar deze kleurstof anticomplementaire activiteit vertoont (zie § 1.D.).

e. Uitvoering

De reactie vond plaats onder paraffine-olie*) in microcytotoxbakjes**) om verdamping tegen te gaan. De uiterst kleine volumina werden onder de olie gespoten met Hamilton-spuiten***). Er werd afgelezen vanaf de bodem van het testbakje met behulp van een omkeer-microscop bij een vergroting van 100 respectievelijk 400x. Schematisch staat de wijze van uitvoering vermeld in Fig. 55.

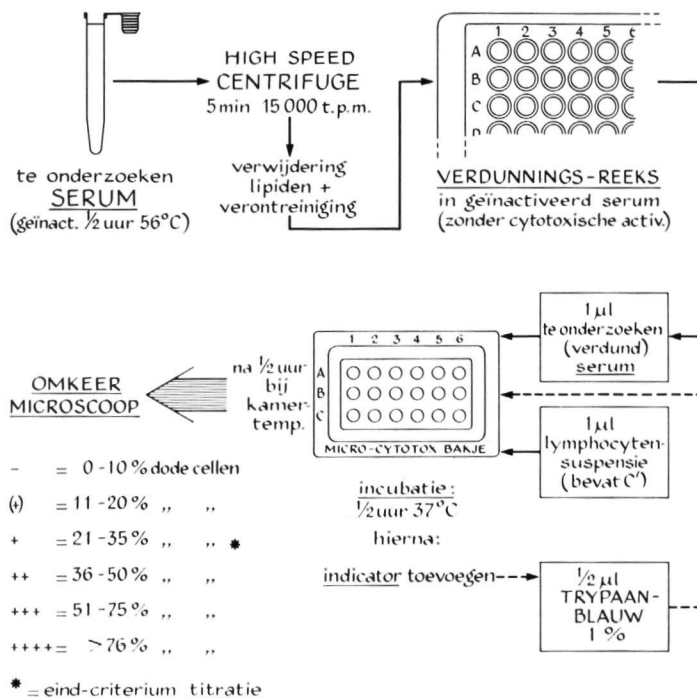


Fig. 55. Schema van de micro cytotoxische test.

*) Medinol 195, K.O.I.M. Olie-import, Leiden.

**) Logos Plastics, Noorwegen.

***) Hamilton precision syringes, 50 µl en 25 µl, Micromesure N.V., The Hague.

Alle op verschillende tijd verkregen sera van 1 vrouw werden in 1 proef getest ten opzichte van dezelfde lymphocyten-suspensie.

2. Complement-titratie *)

a. Hemolytisch systeem

De L.B.C.F.-methode (zie § 1.C.) gaat uit van: 67×10^6 schaap-erythrocyten, adequaat gesensibiliseerd met konijn-antischaaap hemolysine (amboceptor) en voldoende complement om 50% hemolysine te geven in een totaal volume aangevuld tot 1.0 ml met Veronal-buffer. Alle reagentia zijn 1/5 deel van het „Master-system” (zie § 1.C.), de situatie waaraan de definitie van 1 C'H₅₀ is ontleend (333×10^6 gesensibiliseerde schaap-erythrocyten).

b. Hemolysine (amboceptor)-titratie

De toegepaste amboceptor **) werd in een aantal verdunningen samengebracht met dát soort complement, dat zelf weer getitreerd zou worden. Als optimale hemolysine-verdunning werd beschouwd het moment, waarop een „plateau” werd bereikt, d.w.z. dat hogere concentratie van amboceptor zelf geen sterkere hemolyse bewerkstelligt (zie Fig. 56).

c. Soorten complement

Zoals in § 2.A. reeds werd vermeld werd het onderzoek verricht op cavia-complement ***) en een mengsel van ½ menselijk-complement en ½ konijn-complement. Het menselijk C', voor alle proeven in deze studie, werd betrokken van dezelfde donor. Voor verkrijging van het laatstgenoemde complement-mengsel zie § 2.B.1.c.

d. Uitvoering

Nadat met behulp van de amboceptor-titratie (zie § 2.B.2.b.) de optimale hemolyse-verdunning werd gevonden, werd een reeks van complement-verdunningen ingezet. Voor een bepaald voorbeeld werd dit schematisch aangegeven in Fig. 57 en 58. In deze figuren werden tevens

*) De uitvoering geschiedde in het laboratorium voor Medische Microbiologie van de Katholieke Universiteit te Nijmegen (Hoofd Prof Dr J van der Veen)

**) = Hemolytische amboceptor ten opzichte van schaap-erythrocyten, 8020, R I V, Utrecht

***) = Geconserveerd cavia-complement, 8032, R I V, Bilthoven

L.B.C.F. criteria opgenomen, waaraan 4 meetpunten moeten voldoen, om een lineair verband aan te kunnen geven tussen volume C'-oplossing en percentage hemolyse (y).

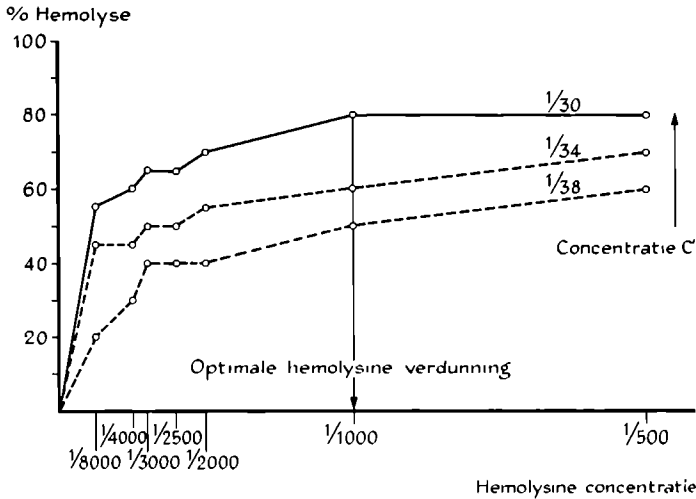


Fig. 56. Voorbeeld van een amboceptor-titratie ($\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C').

Dit laatste verband, dat een S-vormige lijn representert (zie § 1.C.), wordt een rechte lijn, indien de logarithme van het volume C'-oplossing grafisch uitgezet wordt ten opzichte van de logarithme van $\frac{y}{100 - y}$

Complement werd met macro-methode bepaald.

Bij het oriënterend onderzoek over de invloed van de bewaarduur bij -20° C. van $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C' (zie § 2.C.3.) werd, zoals reeds eerder vermeld, menselijk-C' steeds van dezelfde donor betrokken.

Wij volstonden dan ook met een mengsel van konijnen-C' (voor bereiding, zie § 2.B.1.c.) in 6 gedeelten in te vriezen. Hetzelfde werd gedaan met het menselijk-complement. Na het ontdooien werd een mengsel van $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C' gemaakt, waarna titratie volgde (zie § 2.B.2.).

	%HEMOLYSE			
	buis nummer			
complement verduunning*	1	2	3	4
1/22	30	65	90	95
1/24	25	55	90	95
1/26	20	40	70	95
1/28	20	35	65	90
1/30	10	30	40	90
1/32	10	20	30	80
1/34	5	20	30	75

AMBOCEPTOR 1/1000 (zie titratie)

* uitgangsverduunning C'-buisen 1^t/m 4

inhoud	buis nummer			
	1	2	3	4
ml C'-oplossing	0,2	0,25	0,3	0,4
ml buffer	0,6	0,55	0,5	0,4
ml gesensibil erys	0,2	0,2	0,2	0,2

Geschikt voor grafische uitzetting.

C'-uitgangsverd 1/28.

LBCF-criteria te vinden voor buis 1^t/m 4

- 2 waarden < 50%
- 2 waarden > 50%
- buis 1 > 10%
- buis 4 ≤ 90%

Fig. 57. Voorbeeld van een complement-titratie (deel 1): 1/2 menselijk-C' + 1/2 konijn-C'.

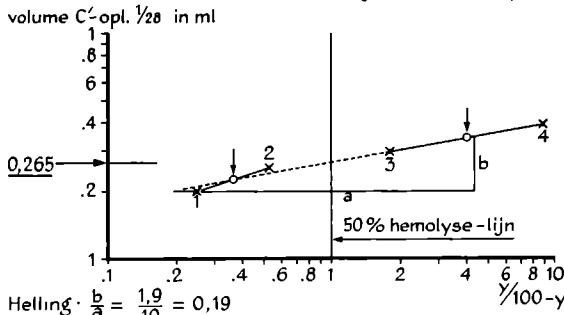
C'-verduunning 1/28.

buis no	ml C' opl.	y	y/100-y
1	0,2	20	0,25
2	0,25	35	0,54
3	0,3	65	1,86
4	0,4	90	9,00

y = % hemolyse

LBCF-criterium $\frac{b}{a} = 0,20 \pm 10\%$ (verplichte helling)

Def: 1 eenheid C' H 50 = hoeveelheid C' die het „master-system“ (5ml) juist 50% hemolyseert (LBCF, zie tekst)



Helling: $\frac{b}{a} = \frac{1,9}{10} = 0,19$

0,265 ml 1/28 verduunning C' → 50% hemolyse in 1 ml reactie - vol.

C'-titer onverdund (1/2 menselijk + 1/2 konijn) serum:

$$\frac{1000}{265} \times 28 \times \frac{1}{5} = 21 \text{ C' H } 50$$

Fig. 58. Voorbeeld van een complement-titratie (deel 2): 1/2 menselijk-C' + 1/2 konijn-C'.

Micro-titer-techniek

Voor details aangaande de bereiding van reagentia en van de hemoglobuline-kleurenstandaard, preservering en telling schaaap-erythrocyten, incubatie-condities, adaptatie aan Micro Techniek etc. kan worden verwezen naar de L.B.C.F.-procedure.

3. Anticomplementaire activiteits-bepaling

Deze bepaling werd verricht in de micro-titer-methode (L.B.C.F.). De te onderzoeken sera werden verkregen van gezonde vrouwen (circa de helft was gravida tijdens de bloedafname). Van sera werden verduntings-reeksen in Veronal buffer gemaakt, van $\frac{1}{2}$ t/m $\frac{1}{256}$ in een volumen van 0.05 ml. Hieraan werd toegevoegd 0.05 ml C'-oplossing 2,5 C'H₅₀ en 0.025 ml gesensibiliseerde schaaap-erythrocyten (2.8%).

Het te onderzoeken serum werd door ons als anti-complementair beschouwd, indien bij de verdunning van $\frac{1}{2}$ er een hemolyse optreedt <75% bij 2.5 C'H₅₀-gebruik. Omgerekend naar het „Master-system”, zou 1.5 C'H₅₀ nodig zijn om net 75% hemolyse te geven, zodat aan 1 ml serum-verdunning dan net 1 C'H₅₀ gebonden zou zijn (L.B.C.F.).

Daar de cytotoxische test (KISSMEYER-NIELSEN, 1967) uitgaat van een incubatie (lymphocyten met antilichamen en C') van een $\frac{1}{2}$ uur bij 37° C., hebben wij gemeend onder dezelfde omstandigheden de bepaling van eventuele anticomplementaire activiteit te moeten verrichten. Het complement-onderzoek werd immers verricht, om na te gaan, of eventuele vals negatieve reacties bij de cytotoxische testen konden worden verwacht ten gevolge van anticomplementaire activiteit der sera.

Schematisch kan de bepaling worden weergegeven:

Te onderzoeken serum + Veronal-buffer	= 0.05 ml	} Incubatie bij 37° C. gedurende 30 min.
2.5 C'H ₅₀ /ml	= 0.05 ml	

+

Gesensibiliseerde schaaap-erythrocyten (2.8%) = 0.025 ml

Bepaling hemolyse (na gebruikelijke incubatie: 37° C. gedurende 30 min.)

C. BEVINDINGEN

1. *Onderzoek bij 4 groepen van echtparen omtrent het voorkomen van cytotoxische antilichamen bij de vrouw en de verdeling van bloedgroepen volgens het AB-O systeem*

De resultaten van de onderzoeken bij de in Fig. 54 aangegeven groepen, staan vermeld in de tabellen XIV t/m XVII.

Behalve de bevindingen van de cytotoxische testen waarvan ook de titers zo mogelijk werden vermeld, werd ook aandacht besteed aan het voorkomen van de bloedgroepen volgens het AB-O systeem en werden tevens kans-percentages opgenomen van mogelijke incompatibiliteit van vrucht tot moeder wat het AB-O systeem betreft, berekend uit het voorkomen van de bloedgroepen bij de ouders.

2. *Vergelijking van 2 soorten complement bij anticomplementaire activiteits-bepaling van 29 sera van verschillende bewaarduur*

In Fig. 59 staan de bevindingen van het onderzoek vermeld. De 29 sera hadden in groepjes van 3 (op een uitzondering na, waar het 2 sera betrof) een verschillende bewaarduur, variërend van 3 tot 32 maanden.

TABEL XIV

				Volgno. testen										
				Groep IA						Groep IB				
Bloedgroep				1	2		3	4	5		6	7		8
Volgno.	♀	♂	Inc.	C	C	A.M.	C	C	C	A.M.	C	C	A.M.	C
1	O	B	52	—	—	5½	—	—	—	41	1/32			
2	A	A	0	n.v.	—	10	—	—	—	26	—			
3	A	O	0	—	—	5	—	—	—	39½	—			
4	O	A	58.5	—	—	6	—	½	—	39½	(+)			
5	A	A	0	—	—	6	—	—	—	40	—			
6	A	O	0	—	—	8½	—	—	½	39	—			
7	A	A	0	—	n.v.		n.v.	(+)	—	40	—			
8	O	O	0	n.v.	½	7	n.v.	n.v.	1/8	37	+			
9	O	A	58.5	—	n.v.		n.v.	n.v.	—	39½	—			
10	O	O	0	(+)	—	5½	—	—	—	39½	—			
11	A	A	0	n.v.	—	6	n.v.					—	13	—
12	A	O	0	n.v.	—	7	—					—	21	½
13	O	B	52	n.v.	—	7	—	—	—	39½	—			
14	A	O	0	—	—	7	—	—	—	41½	—			
15	O	A	58.5	n.v.	n.v.		—	—	(+)	42	—			
16	O	O	0	n.v.	n.v.		n.v.					—	15	—
17	A	O	0	n.v.	n.v.							—	11	—

C : cytotox. test { — = 0-10% dode cellen
 (+) = 11-20% „ „
 + = 21-35% „ „ (eind-criterium titratie)

A.M.: duur amenorrhoe n.v.: niet verricht
 ♀ : vrouw ♂ : man

Inc. : Kans (%) van eventuele incompatibiliteit van foetus t.o.v. ♀ wat betreft het AB-O bloedgroep-systeem.

TABEL XV

				Volgno. testen		
				1		2
Bloedgroep						
Volgno.	♀	♂	Inc.	C	A.M.	C
1	O	O	0	—	11	—
2	A	A	0	—	11½	—
3	A	O	0	—	10	—
4	B	O	0	—	10	—
5	O	AB	100	—	14	—
6	A	A	0	—	11½	—
7	O	O	0	—	11	—
8	O	A	58.5	—	12	—
9	O	A	75	—	11	—
10	A	O	0	—	12	—
11	A	A	0	—	14	1/4
12	O	A	58.5	+	15	+
13	A	A	0	—	8½	—
14	A	AB	50	+	15	—
15	O	A	58.5	—	12	(+)
16	A	B	52	—	14½	—
17	A	A	0	—	9½	—
18	A	A	0	—	14	—
19	O	O	0	+	12	¼
20	O	O	0	—	10½	—
21	A	O	0	—	10½	—
22	A	O	0	(+)	12	—
23	O	A	58.5	—	13	—

C : cytotox. test $\left\{ \begin{array}{l} - = 0-10\% \text{ dode cellen} \\ (+) = 11-20\% \text{ „ „} \\ + = 21-35\% \text{ „ „} \end{array} \right. \text{ (eind-criterium titratie)}$

A.M.: duur amenorrhoe

♀ : vrouw

♂ : man

Inc. : Kans (%) van eventuele incompatibiliteit van foetus t.o.v. ♀
wat betreft het AB-O bloedgroep-systeem.

GROEP II

PATIENTEN MET ABORTUS RESPECTIEVELIJK PARTUS IMMATURUS
(TOT 20 WEKEN) THANS OPTREDEND IN EERSTE ZWANGERSCHAP

TABEL XVI

Volg- no.	Bloedgroep			Volgno. testen							
	♀	♂	Inc.	1	2		3	4	5		6
				C	C	A.M.	C	C	C	A.M.	C
1	A	A	0	—	—	10½	—	—	1/4	40	—
2	O	A	58.5	—	n.v.		+	—	1/2	37	(+)
3	O	A	58.5	—	—	10	—	(+)	1/8	40	(+)
4*	A	A	0	1/2*	n.v.	7	1/32	—	—	38	1/4
5	A	A	0	—	(+)	9	—	—	1/8	41	1/2
6	A	O	0	—	—	7	n.v.	—	+	40	—
7	O	A	58.5	—	—	6	n.v.	n.v.	1/16	41	1/256
8	A	O	0	—	n.v.		n.v.	+	n.v.	40	—
9	B	A	58.5	—	—	8	1/16	1/8	1/32	41	+
10	A	A	0	—	—	6	—	—	—	41	—
11	O	B	52	—	1/8	6½	—	1/32	1/8	40	+
12	O	A	58.5	—	n.v.		—	—	(+)	41½	—

C : cytotox. test $\left\{ \begin{array}{l} - = 0-10\% \text{ dode cellen} \\ (+) = 11-20\% \text{ „ „} \\ + = 21-35\% \text{ „ „ (eind-criterium titratie)} \end{array} \right.$

A.M.: duur amenorrhoe

n.v.: niet verricht

♀ : vrouw

♂ : man

Inc. : Kans (%) van eventuele incompatibiliteit van foetus t.o.v. ♀
wat betreft het AB-O bloedgroep-systeem.

* : Anamnese: Geen bloedtransfusies. Cytotoxische antilichamen door
„niet herkende abortus“?

Bij vergelijking met andere groepen: Volgno. 4 vervalt.

GROEP III
NOOIT GRAVIDA GEWEEST

TABEL XVII

Volgno.	Bloedgroep			Volgno. testen					
				1		2	3		4
	♀	♂	Inc.	C	A.M.	C	C	A.M.	C
1	A	A	0	—	23	—	—	41	(+)
2	A	O	0	n.v.		(+)	+	42	—
3	A	A	0	n.v.		—	—	41	(+)
4	A	O	0	(+)	23	1/8	+	40	n.v.
5	A	A	0	—	16 1/2	—	n.v.		—
6	A	A	0	—	12 1/2	+	1/2	38	—
7	O	O	0	—	18	(+)	(+)	39 1/2	(+)
8	O	A	58.5	—	14	n.v.	—	41	—
9	O	B	52	—	13 1/2	—	—	40 1/2	n.v.
10	O	AB	100	—	12	—	—	39 1/2	n.v.
11	O	AB	100	—	20	1/2	+	40	(+)

C : cytotox. test $\left\{ \begin{array}{l} - = 0-10\% \text{ dode cellen} \\ (+) = 11-20\% \text{ „ „} \\ + = 21-35\% \text{ „ „ (eind-criterium titratie)} \end{array} \right.$

A.M.: duur amenorrhoe

n.v.: niet verricht

♀ : vrouw

♂ : man

Inc. : Kans (%) van eventuele incompatibiliteit van foetus t.o.v. ♀
wat betreft het AB-O bloedgroep-systeem.

GROEP IV

MULTIPARA (NORMAAL VERLOPENDE ZWANGERSCHAP)

A.C. wordt beschouwd
 < 75 % hemolyse bij
 2,5 C'H50 -gebruik
 (LBCF, zie tekst)

□ = eventuele A.C. act :
 titer lager dan 1/2
 □ = géén A.C. act.

$$\frac{\text{vol. serum - verdunning (titratie)}}{\text{vol. 2,5 C'H50}} = \frac{2/5 \text{ reactie volume}}{\text{reactie volume}}$$

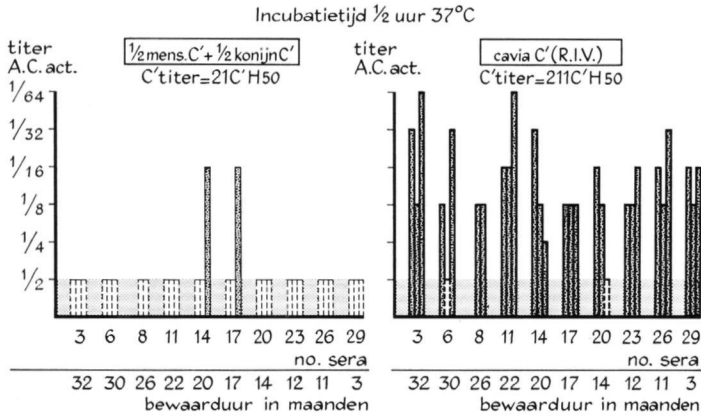


Fig. 59. Vergelijking 2 soorten complement bij anticomplementaire (A.C.) activiteits-bepaling van 29 sera van verschillende bewaarduur (-20° C).

3. Oriënterend onderzoek over de invloed van de bewaarduur bij -20° C. van 1/2 menselijk-C' + 1/2 konijnen-C'

Tabel XVIII geeft de bevindingen van het onderzoek weer. De samenstelling van het mengsel werd vermeld in § 2.B.2.d.

TABEL XVIII

Bewaarduur Complement	Titer van complement in C'H50/ml serum-mengsel
2 dgn.	20.8
10 dgn.	13.0
2 mnd.	13.6
3 mnd.	14.3
4 1/2 mnd.	11.6
6 mnd.	12.4

INVLOED VAN DE BEWAARDEUR BIJ -20° C. VAN
 1/2 MENSELIJK-C' + 1/2 KONIJNEN-C' 1/2

D. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Wat de statistische verwerking van de gegevens betreft, dient het volgende te worden vermeld.

1. Alleen vrouwen die onze polikliniek, respectievelijk kliniek voor verloskunde bezochten, werden in het onderzoek betrokken; eventuele selectie uit dien hoofde is niet uitgesloten.
2. De uitkomsten kunnen zijn beïnvloed door ontbreken, respectievelijk uitvallen van waarnemingen.
3. De statistiek is als detectie-middel gebruikt. Zoals reeds eerder vermeld, werd het toets-resultaat als significant beschouwd, wanneer de overschrijdingskans p kleiner is dan 5% ($p < 0.05$).

De onderzoekingen van § 2.C.2. laten overtuigend zien, dat voor wat het mengsel $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C' betreft, er weinig gevaar bestaat voor vals negatieve reacties in de cytotoxische test ten gevolge van eventuele anticomplementaire activiteit van de sera. Bij een serum met de hoogste door ons gevonden titer (1/16) aan anticomplementaire activiteit blijkt, gezien de overmaat aan C' in de reactie gebruikt, dat een positieve uitslag in de cytotoxische test mogelijk is. Dit laatste zijn wij nagegaan door van nagenoeg alle sera die werden getest (zie tabel XIV t/m XVII), tevens de anticomplementaire activiteit te bepalen.

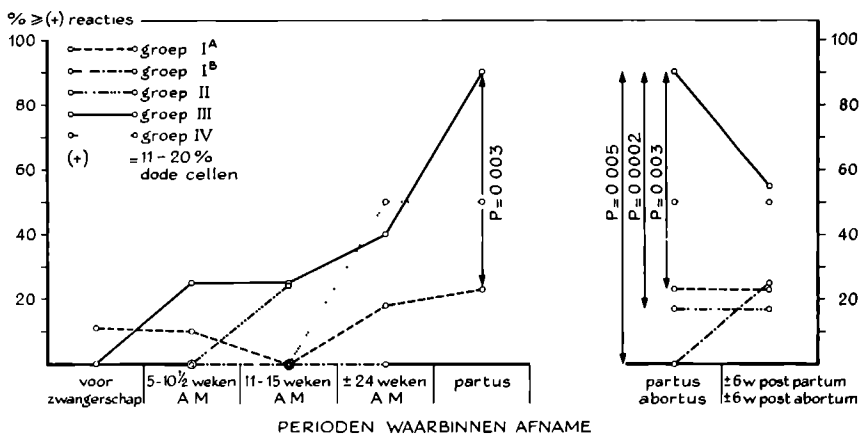
Er bestaat, gezien de gegevens vermeld in Fig. 59, wat de anticomplementaire activiteit van sera ten opzichte van cavia C' betreft, geen stijgend of dalend verband met de tijd (toets van Terpstra, $p_2 > 0.75$).

De algemene opvatting, dat eventuele anticomplementaire activiteit verband houdt met de bewaarduur (zie § 1.D.), kunnen wij niet onderschrijven. Cavia C' blijkt gezien de gegevens, vermeld in Fig. 59, duidelijk gevoeliger voor anticomplementaire activiteit dan een mengsel van $\frac{1}{2}$ menselijk-C' + $\frac{1}{2}$ konijnen-C' (teken-toets, $p_2 < 0.01$).

Hoewel het onderzoek van § 2.C.3. slechts oriënterend van karakter was, is toch opvallend, dat het verlies aan C'-potentie van een serum tijdens het bewaren bij -20°C ., wellicht reeds na enige dagen plaats vindt en dan gedurende veel langere tijd stationair blijft. Wellicht dat het invriezen en ontdooien hierbij een belangrijke factor is.

De gegevens uit de onderzoeken van menselijke sera over het voorkomen van cytotoxische antilichamen. (zie § 2.C.1.) zijn moeilijk te interpreteren. Soms kon een te gering aantal echtparen worden getest; het is waarschijnlijk dat daardoor een aantal andere verschillen tussen de groepen niet kon worden aangetoond.

Het vergelijken van de 5 groepen (groep I werd gesplitst in I^A en I^B) was alleen daarom al moeilijk, omdat het tijdstip van de abortus uiteraard veel vroeger ligt, dan van een partus, doch dat wat de antilichamenvorming betreft, beide gebeurtenissen wel degelijk met elkaar vergeleken kunnen worden. Immers, na de partus c.q. abortus, zal de antigeenstimulus voor het verder uitlokken van genoemde antilichamen bij de moeder verdwenen zijn. Wij hebben daarom gemeend de gegevens het beste grafisch voor te kunnen stellen d.m.v. een gesplitste grafiek (zie Fig. 60). Hierbij werd de indeling van de termijnen zodanig gekozen, dat bijna alle bevindingen er in vielen; werd bijvoorbeeld een bepaling zowel bij 16½ w. am. als bij ± 24 w. am. verricht, dan werd de eerste



aantal vrouwen
waarvan reacties bekend
groep

I ^A	9	10	10	11	13	13	13
I ^B		2	4	1		4	4
II		6	17			23	23
III	11	8	8	10	10	10	11
IV			4	10	10	10	8

Fig. 60. Uitkomsten van de cytotoxische test bij 5 onderscheiden groepen op verschillende tijdstippen van afname vóór, tijdens en na de graviditeit.

bepaling niet grafisch uitgezet. Het niet binnen de gestelde perioden vallen van de bepalingen, vond uitsluitend plaats in groep IV. Multipara komen namelijk over het algemeen beduidend later voor de eerste maal op poliklinische controle. Bij groep II ondergingen de vrouwen een abortus in 2 verschillende perioden; een deel in de periode van 5-10½ week amenorrhoe en een ander deel in de periode van 11-15 weken amenorrhoe; in de verdere perioden werden deze patiënten gezamenlijk vergeleken. In de groep I^B vond hetzelfde plaats, doch in de perioden 11-15 weken amenorrhoe en ± 24 weken amenorrhoe (1 zwangerschap werd wederom afgebroken bij 21 w. am.). De grafiek werd zodanig gesplitst, dat afgebroken werd bij „partus” en opnieuw begonnen met de waarnemingen bij „partus en abortus” tesamen.

De uitslagen van de cytotoxische testen werden ingedeeld in 2 klassen, namelijk negatief en zwak positief of sterker [$\geq (+)$]. Van iedere groep, in ieder afname interval, werd het percentage $\geq (+)$ reacties berekend en grafisch uitgezet (Fig. 60). Het soms geringe aantal onderzochten en de uitéénlopende aantallen in de groepen dwingen dat deze grafiek louter als presentatie van het materiaal gebruikt mag worden. De grafiek wil niet suggereren dat er een continu verband tussen kans op $\geq (+)$ reactie en tijd aanwezig is.

Voor zover mogelijk werd — bij iedere genoemde periode en voor de groepen waarvan voldoende gegevens beschikbaar waren (Fig. 60) — statistisch nagegaan (χ^2 -toets, toets van Fisher) of de kansen op $\geq (+)$ reacties van deze beschouwde groepen verschillen. Het aantal waarnemingen in de groepen was te gering om mogelijke verschillen in de perioden vóór zwangerschap, respectievelijk 5-10½ weken amenorrhoe te kunnen aantonen.

De groepen, en de perioden, die bij toetsing werden betrokken zijn in tabel XIX vermeld. De overschrijdingskansen behorende bij de perioden 11-15 weken amenorrhoe, „partus en abortus” respectievelijk ± 6 weken post partum en ± 6 weken post abortum, zijn slechts bij benadering correct. Bij de perioden „partus” respectievelijk „partus en abortus” werden verschillen tussen de beschouwde groepen aangetoond.

Bij „partus”, waarvan een verschil in kansen op $\geq (+)$ reacties in de groepen I^A, III en IV werd aangetoond (χ^2 -toets, $p < 0.05$), zijn tevens de groepen I^A, III en IV paarsgewijs vergeleken (toets van Fisher).

TABEL XIX

Periode waarbinnen afname	11—15 wk. A.M.	± 24 wk. A.M.	partus	partus abortus	± 6 wk. post partum ± 6 wk. post abortum
Groepen bij toetsing betrokken	I ^A , II, III	I ^A , III, IV	I ^A , III, IV	alle 5	alle 5
Over- schrijdings- kans p	p > 0.20	p > 0.25	p 0.05	p 0.01	0.10 < p < 0.20

TOETSRESULTATEN CYTOTOXISCHE TEST (χ^2 -TOETSEN)

Er wordt alleen een significant verschil tussen I^A en III gevonden ($p = 0.003$); het verschil tussen de groepen I^A, III en IV wordt dus grotendeels veroorzaakt door het verschil tussen I^A en III.

Verder is het duidelijk dat de toetsresultaten met betrekking tot „partus” respectievelijk „partus en abortus” ten nauwste verwant moeten zijn; immers alle waarnemingen geanalyseerd in de „partus”-periode worden opnieuw gebruikt in de „partus en abortus”-periode.

Ook bij deze periode zijn de groepen — voor zover dit al niet bij „partus” is geschied — paarsgewijs vergeleken. Groep III blijkt ook hier het duidelijkst tot de significantie te hebben bijgedragen. Er worden bij paarsgewijze vergelijking alléén verschillen in relatie met groep III gevonden (III ↔ I^B, $p = 0.005$; III ↔ II, $p = 0.0002$; 2 x toets van Fisher).

De enige groep waar groep III niet significant van verschilt is groep IV (toets van Fisher, $p = 0.14$).

Indien groep III, bij de periode „partus en abortus”, niet bij de toetsing wordt betrokken en dus alleen de groepen I^A, I^B, II en IV worden onderzocht op verschillen in kans op $\geq (+)$ reacties, blijkt er geen verschil meer aantoonbaar (χ^2 -toets, $0.10 < p < 0.20$).

Het uitzonderlijke gedrag van groep III tijdens „partus” is dus groten-

deels verantwoordelijk voor de gevonden significante verschillen zoals vermeld in tabel XIX.

Schattingen voor de verwachte fracties incompatibele situaties moeder-kind ($\Lambda B-O$) in de groepen $I^A + I^B$, II, III en IV.

In ons onderzoek waren van de vader en de moeder de bloedgroepen ($\Lambda B-O$ systeem) bekend (zie § 2.C.1.). Bij ieder paar is een incompatibiliteitskans moeder-kind gedefinieerd. Om deze kans te berekenen uit de bloedgroepen van de vader en de moeder is het in sommige gevallen noodzakelijk om de kans op een genotype (ΛO , ΛA respectievelijk BO , BB), als de bloedgroep gegeven is, te weten (deze kansen worden voor man en vrouw ondersteld gelijk te zijn). Hiertoe dienen de genotype frequenties in bloedgroep Λ respectievelijk B van 3459 onderzochten in Z. Engeland (zie tabel XX) (RACE en SANGER, 1968).

TABEL XX

Bloedgroep	Genotypen	Voorkomen per bloedgroep
A	AA	17%
	AO	83%
B	BB	4%
	BO	96%

VERDELING VAN GENOTYPEN IN DE BLOEDGROEPEN A EN B
IN ZUID ENGELAND (RACE EN SANGER, 1968)

De mogelijke incompatibiliteitskansen zijn nu: 0%, 50%, 52%, 58.5% en 100%; de kansen 0%, 50% en 100% zijn exact en onafhankelijk van de gegevens uit Z. Engeland. Voor de berekening van de twee andere incompatibiliteitskansen is gebruik gemaakt van de gegevens van de onderzochten uit Z. Engeland; indien deze gegevens representatief zijn voor ons onderzoek, dan zijn de berekende kansen 52% respectievelijk 58.5%, tot op ongeveer 1.5% nauwkeurig bepaald.

Deze incompatibiliteitskansen en de verdeling van de paren binnen iedere

groep over deze kansen (zie tabel XXI) dienden als basis voor schattingen, met standaardfout, van de verwachte fracties incompatibele situaties in de groepen.

TABEL XXI

Kans op incompatibiliteit	Groepen				TOTAAL
	IA + IB	II	III	IV	
0 %	12	15	5	7	39
50 %		1			1
52 %	2	1	1	1	5
58.5%	3	5	5	1	14
100 %		1		2	3
	17	23	11	11	62

VERDELING VAN 62 VROUWEN UIT DE GROEPEN I T/M IV,
NAAR DE KANS OP INCOMPATIBILITEIT (AB-O)

Een zuivere schatting voor de verwachte fractie (f) incompatibele situaties in een groep is:

$$f = \frac{\sum_{i=1}^5 n_i p_i}{n}$$

n = aantal paren in de groep

n_i = aantal paren met incompatibiliteitskans p_i ($p_1 = 0$; $p_2 = 0.50$; $p_3 = 0.52$; $p_4 = 0.585$; $p_5 = 1$).

In tabel XXII zijn de gevonden schattingen met standaardfout vermeld. Er kan niet worden aangetoond dat de verwachte fracties verschillen. Indien men echter detectie toepast, suggereren de gegevens dat de verwachte fracties incompatibele situaties in de groepen III en IV mogelijk groter zijn dan in de groepen $I^A + I^B$ en II.

TABEL XXII

Groep	Schatting in %	Standaard-fout in %
$I^A + I^B$	16	6
II	22	6
III	31	9
IV	28	12

SCHATTINGEN VOOR DE VERWACHTE FRACTIES INCOMPATIBELE
SITUATIES MOEDER - KIND (AB-O) IN DE GROEPEN I T/M IV

HOOFDSTUK IV

IMMUNOLOGISCH ENHANCEMENT ALS MOGELIJKE BESCHERMING VAN ZWANGERSCHAP, INZONDERHEID HET VOORKÓMEN VAN ABORTUS

BESPREKING VAN DE ONDERSCHIEDEN BEVINDINGEN IN HET LICHT VAN DEZE MOGELIJKHEID

Morfologische studie van muizen-trofoblast zowel in „natuurlijke”- als in „ectopische”-situaties (Hfdst. II, § 2.) geeft nagenoeg een constante levensduur van de trofoblast te zien; degeneratieve kenmerken overheersen bij de giant cells op dag 17½. Deze laatste cellen verliezen dus na enige tijd hun agressieve karakter, zonder dat een typische cellulaire response wordt waargenomen, die een immunologische achtergrond zou kunnen hebben. Nagenoeg niets is bekend omtrent het verdedigings-mechanisme van de moeder tegen trofoblast-invasie (NOVAK, 1967). Aan de andere kant zijn de bevindingen van de vergelijkende series van de morfologische studie van trofoblast niet in tegenspraak met de hypothese dat immunologisch enhancement een rol zou kunnen spelen bij de bescherming van trofoblast. Het tijdelijke karakter van enhancement (Hfdst. II, § 1.C.) is hiermee in overeenstemming.

De principiële mogelijkheid van muizen-trofoblast om enhancement op te wekken, lijkt geconcludeerd te mogen worden uit de experimentele gegevens van Hfdst. II, § 3.

De jonge trofoblast vertoont een neiging tot expanderende en infiltrerende groei, heeft een lage expressie van transplantaat-antigenen en vertoont dus een zekere analogie met tumor-weefsel. PREHN, 1967, maakte langs experimentele weg waarschijnlijk, dat tumor- en foetaal-weefsel in het algemeen, sommige tumor-specifieke histocompatibele antigenen

gemeen hebben. Deze analogie zou mogelijk ook kunnen gelden voor het gemakkelijk tot stand brengen van immunologisch enhancement.

De resultaten van ons onderzoek naar cytotoxische antilichamen bij de vrouw (Hfdst. III, § 2.) zijn, zoals reeds gemeld, moeilijk te interpreteren.

In hoofdstuk II, § 1.C. werd uiteengezet, dat cytotoxische antilichamen, in geval van lage antigenen-expressie van de target-cells, enhancement kunnen veroorzaken. Deze geringe expressie werd voor trofoblast reeds eerder aangegeven. Door de relatief grote afstand van antigeen-determinanten aan de oppervlakte van de cel, zou complex-vorming van complement met IgG-antilichamen niet kunnen plaatsvinden.

Indien immunologisch enhancement een rol speelt bij de bescherming van zwangerschap, dan verwacht men dat in de groep van patiënten met abortus, c.q. habituele abortus, humorale antilichamen minder zullen voorkomen. Het enige dat wij kunnen concluderen is, dat cytotoxische antilichamen in de groepen van bedreigde, c.q. afgebroken zwangerschappen, niet in verhoogde mate voorkomen. Met nadruk zij er op gewezen, dat de suggestie die uitgaat van Fig. 60, dat de controle groepen, groep III en groep IV, zich wat antilichamen productie betreft op een hoger niveau zouden kunnen bevinden dan de beide andere groepen, statistisch niet te verdedigen valt.

Antigenen van het AB-O systeem zijn óók transplantaat-antigenen (zie Hfdst. II, § 1.B.2.). Het bloedgroepen-onderzoek suggereert dat incompatibele situaties moeder-kind bij de controle-groepen (III en IV) eerder te verwachten zijn, waardoor de vorming van humorale antilichamen wellicht wordt bevorderd.

Samenvattend kunnen wij slechts stellen, dat onze bevindingen, de hypothese, dat immunologisch enhancement de zwangerschap zou beschermen, zeker niet tegenspreken. De klinische waarnemingen zijn echter onvoldoende om genoemde hypothese te ondersteunen. Welbewust hebben wij afgezien om andere causale factoren voor het optreden van abortus in hoofdstuk I besproken, in onze beschouwingen omtrent de resultaten van het serologisch onderzoek van hoofdstuk III, te betrekken.

In een concrete situatie is voor het ontstaan van abortus één bepaalde aetiologische factor bijzonder moeilijk verantwoordelijk te stellen. Een

geringe stoornis in de zin van genoemde aetiologische factoren zal bij een bepaalde patiënte aanleiding kunnen geven tot het steeds herhalen van abortus, terwijl in een ander geval, een veel ernstiger stoornis, verenigbaar blijkt met het voortbestaan van de zwangerschap. Het is dan ook onze stellige overtuiging, dat het fenomeen abortus multiconditioneel bepaald is.

Veel grotere groepen patiënten, dan wij in staat waren te onderzoeken, blijken nodig te zijn om na te gaan of immunologisch enhancement een beschermende rol bij zwangerschap vervult.

SAMENVATTING

In hoofdstuk I worden literatuurgegevens omtrent de aetiologie van abortus opnieuw gezien. Geconcludeerd wordt, dat in een concrete situatie het veelal onmogelijk blijkt te zijn, één bepaalde aetiologische factor voor het optreden van abortus verantwoordelijk te stellen.

In hoofdstuk II, § 1. worden een aantal facetten behandeld, die deel uitmaken van de transplantatie-reactie.

Immunologisch enhancement, waaronder wordt verstaan een tijdelijk uitstellen van de transplantatie-reactie onder invloed van humorale antilichamen gericht tegen het transplantaat, wordt uitvoerig besproken.

De verschillende zienswijzen die in de literatuur naar voren werden gebracht om de zwangerschap als transplantatie-verschijnsel te verklaren, worden nagegaan. Hieruit kon geen definitieve conclusie getrokken worden.

In hoofdstuk II, § 2. wordt onderzoek van muizen-trofoblast, met van te voren vastgestelde levensduur, beschreven. Nadat een aantal fokcondities worden aangegeven om tot voldoende muizen-foeten van een bepaalde leeftijd te kunnen komen, wordt eerst de trofoblast in zowel „natuurlijke”- als in „ectopische”-situaties (na ova [2½ dag] – of ectoplacentaire conus [7½ dag]-transplantatie) morfologisch bestudeerd. Een vaste levensduur van trofoblast wordt waargenomen. Een typisch cellulaire response, die een immunologische achtergrond zou kunnen hebben en een zekere verklaring voor de gefixeerde levensduur van trofoblast zou kunnen vormen, wordt niet waargenomen.

In hoofdstuk II, § 3. wordt een zacht transplantatie-model geïntroduceerd. Gebruik wordt gemaakt van het zwakke transplantaat-antigeen op het Y-chromosoom in de C57Bl/6J-muizen-stam. Geen uitstoting doch

resorptie blijkt na morfologische analyse het histologisch beeld te zijn van de in de literatuur voor dit model gebruikte term „afstoting”.

In vergelijking met een transplantatie tussen 2 muizen-stammen (hard immunologisch model) blijkt er bij het zachte model een veel grotere range waarbinnen „afstoting” plaats vindt.

Er worden 3 histologische criteria geformuleerd die de graad van „afstoting” kon aangeven (totaal; sub-totaal; partieel).

Ectoplacentaire conus is het gebied bij 7½ dag zwangerschap dat een voorstadium is van de hemo-tri-choriale muizen-placenta. Tijdens het conus-stadium bestaat het gebied uit zuiver trofoblast. Dit materiaal werd aangewend om in het boven besproken zachte immunologische model immunisatie van maagdelijke volwassen vrouwelijke C57Bl/6J-muizen te bewerkstelligen. Laatstgenoemde muizen werden deels in één actief en deels in twee passieve enhancement-modellen getest. Trofoblast bleek alleen in het passieve model verlengde huid-transplantaat-overleving te kunnen induceren. Zwangere muizen-sera bleken hier toe in dit model niet in staat. Wellicht dat juist zeer sterke affiniteit van trofoblast voor enhancing antibodies hiervoor een verklaring zou kunnen vormen, doordat dan een „clearance” van het bloed voor deze antilichamen, zou kunnen ontstaan.

In hoofdstuk III wordt, na een literatuuroverzicht over cytotoxische antilichamen, complement en anticomplementaire activiteit, een onderzoek naar cytotoxische antilichamen (micro-methode volgens KISSMeyer-NIELSEN en KJERBYE, 1967) bij 4 groepen van patiënten weergegeven. Op theoretische gronden is het denkbaar dat cytotoxische antilichamen gericht tegen de echtgenoot, de zwangerschap zouden kunnen beschermen.

Patiënten met een voor het eerst aborterende zwangerschap en met habituele abortus in de anamnese, werden vergeleken wat hun cytotoxische antilichamen-productie betreft, met twee controlegroepen.

Het frequente voorkomen van cytotoxische antilichamen [\geq (+) reacties] gericht tegen de vader tijdens de partus, bij vrouwen die voor de eerste maal gravida werden, was voor het grootste deel verantwoordelijk voor de gevonden significante verschillen.

Gezien het wisselend karakter van de groepen, benevens de kleine aan-

tallen patiënten die konden worden onderzocht, is het zeker niet uitgesloten dat mogelijke verschillen op andere punten niet werden gedetecteerd.

Een bloedgroepen onderzoek (AB-O) bij dezelfde patiënten geeft een aanwijzing, dat de incompatibele situatie van moeder en kind wellicht met betere zwangerschaps-uitkomsten gepaard gaat.

Het mengsel van $\frac{1}{2}$ menselijk-C' en $\frac{1}{2}$ konijnen-C' zoals in de beschreven methode voor het bepalen van cytotoxische antilichamen werd angewend, blijkt, in tegenstelling tot cavia-C', zich niet in belangrijke mate aspecifiek te binden aan de onderzochte sera. Eventueel vals negatieve reacties waren dus wat bepaling van de cytotoxische antilichamen betreft, uit hoofde van ontbreken van anticomplementaire activiteit, niet te verwachten. Dezelfde sera vertoonden echter met cavia-C' nagenoeg steeds anticomplementaire activiteit. Deze laatste activiteit blijkt geen verband met de bewaarduur te hebben, althans tot minstens 32 maanden bij -20° C. Als conserveringsmiddel diende Merthiolate 0.0001%.

In hoofdstuk IV worden de uitkomsten van de verschillende onderzoeken uit deze studie besproken in samenhang met de werkhypothese dat immunologisch enhancement een beschermende factor vormt bij de zwangerschap.

De uitkomsten van zowel de morfologische studie van trofoblast (hoofdstuk II, § 2.) als de immunisatie-proeven met zuiver trofoblast (hoofdstuk II, § 3.) zijn niet in tegenspraak met de geformuleerde werkhypothese. Dit kan ook gezegd worden van de bevindingen van het serologisch onderzoek bij patiënten (hoofdstuk III), doch hierbij blijkt de grootte van de groepen onvoldoende om de hypothese meer reliëf te geven.

IMMUNOLOGICAL ENHANCEMENT AND PROTECTION OF PREGNANCY

SUMMARY

In chapter I a survey is given of the literature on the aetiology of abortion. From this review it can be concluded that it is almost impossible to hold a single factor responsible for initiating miscarriage.

In chapter II, § 1. several facets relating to transplantation reactions are discussed.

Immunological enhancement is discussed in detail. Immunological enhancement is the delay of a transplantation reaction for a given time, and is caused by humoral antibodies directed against the graft.

The various explanations reported in the literature are summarized interpreting the pregnancy as a homograft-phenomenon. It was not possible to draw a final conclusion.

Chapter II, § 2. deals with the result of investigations on the mouse trophoblast.

First several breeding conditions are described in order to obtain a sufficient number of mouse foetuses of a predetermined age. The morphology of the trophoblast is investigated both in „natural” and in „ectopic” situations (after ova [2½ d.]- or ectoplacental conus [7½ d.]-transplants).

The temporally limited life span of the trophoblast does not appear to be the result of a transplantation reaction, since there was no typical cellular reaction to the trophoblast.

In chapter II, § 3. a soft skin transplantation model is introduced using the weak histocompatibility antigen on the Y-chromosome in the

C57Bl/6J-strain. The morphologic analysis reveals that in the soft model the basis of skin graft destruction is not a rejection in the strict sense of the word, but a resorption of parts of the graft tissue. Therefore, the term „rejection” as far as it is used in the literature for soft model skin graft destruction may frequently be incorrect. Compared with the hard model (skin grafting between 2 mouse strains) the soft model shows a much larger range in which graft destruction occurs. Three histologic criteria are formulated to indicate the degree of destruction in the soft model (total; subtotal; partial).

The ectoplacental conus is a precursor of the haemo-tri-chorial placenta of the mouse at the moment when pregnancy has lasted $7\frac{1}{2}$ days and consists of pure trophoblast. This material was applied to effect immunization in the soft immunologic model with adult virgin female C57Bl/6J-mice. These mice were tested partly in one active and in part in two passive enhancement models.

The trophoblast seems to have the ability to induce prolongation of skin-graft survival only in the passive model. It was not possible to demonstrate the same phenomenon using sera of pregnant mice. It was suggested that „antibody clearance” from the blood by the trophoblast in situ may be an explanation for the negative results using sera of pregnant mice.

In chapter III a survey is given of the literature on cytotoxic antibodies, complement, and the anticomplementary effect of serum. Secondly, results are reported on the investigations obtained with the micro assay (KISSMEYER-NIELSEN and KJERBYE, 1967) on the occurrence of cytotoxic antibodies in 4 groups of women.

Theoretically, it can be assumed that cytotoxic antibodies directed against transplantation antigens of the father might be able to protect pregnancy. So far as the production of cytotoxic antibodies is concerned, patients with an abortion during their first pregnancy, and patients after habitual abortion, were compared with two groups of controls. It appeared that cytotoxic antibodies [\geq (+) reactions] directed against the father occur most frequently during labour, especially in women during their first pregnancy. This was mainly responsible for the differences, statistically significant, between the several groups.

The fluctuation in the various groups, and moreover the small numbers,

made it impossible to detect more points of difference of statistical significance.

Blood groups (AB-O) investigation of the same patients gives an indication that incompatibility between mother and child may benefit pregnancy.

The mixture of $\frac{1}{2}$ human-C' and $\frac{1}{2}$ rabbit-C' does not show aspecific fixation of any significance with the sera under investigation, in contrast to cavia-C'. Thus, false negative reactions in the detection of cytotoxic antibodies are not to be expected, as far as an anticomplementary effect of the sera is concerned.

The anticomplementary effect of sera, tested with cavia-C' does not seem to have any connection with the time of storage, at least during a period of 32 months at -20° C., and preserved with 0.0001% merthiolate (W/V).

In chapter IV the results of the different investigations of this study are discussed in relation to the working hypothesis that immunological enhancement may protect pregnancy.

The results of the morphologic investigations of trophoblast (chapter II, § 2.) and the immunization experiments with pure trophoblast (chapter II, § 3.) are in agreement with the working hypothesis formulated above.

This might also be said of the findings of the serological investigations on patients (chapter III), though the groups were too small to yield statistically significant conclusions.

- ABACI, F , ATERMAN, K Changes of the placenta and embryo in early spontaneous abortion *Amer J Obstet Gynec* 102 252-263, 1968
- AHRONS, S Leucocyte antibodies Occurance in primigravidae *Tissue Antigens* 1 178-183, 1971
- ALEXANDER, P , FAIRLEY, G H The allergic response in malignant disease — Clinical aspects of immunology, Blackwell, Oxford, 499-539, 1968
- ALLEN, H L , WILLIAMS, R D , LOVINGOOD, C G , ELIISON, E H The effect of donor skin desensitization and ACTH on survival of skin homografts in rabbits *Ann Surg* 135 239-244, 1952
- AMOROSO, E C Histology of the placenta *Brit Med Bull* 17 81-90, 1964
- AMOS, D B , COHEN, I , KLEIN, W J Mechanisms of immunologic enhancement *Transpl Proc* 2 68-75, 1970
- ANDERSON, J M , BENIRSCHKE, K Maternal tolerance of foetal tissue *Brit Med J* I 1534-1535, 1964
- ANDERSON, J M The „immunological inertia” of viviparity *Proc Transplantation Soc* I 67-70, 1969
- ANDRESEN, R H , MONROE, G W Experimental study of the behavior of adult human skin homografts during pregnancy *Amer J Obstet Gynec* 84 1096-1103, 1962
- AVERY, G B , HUNT, C V The differentiation of trophoblast giant cells in the mouse, studied in kidney capsule grafts *Proc Transplantation Soc* I 61-66, 1969
- BACH, F H , HIRSCHHORN, K Lymphocyte interaction a potential histocompatibility test in vitro *Science* 143 813-814, 1964
- BACII, F H The major transplantation locus in man — *Advance in transplantation*, Munksgaard, Copenhagen 241-245, 1968
- BACH, F H , BACII, M L Mixed leukocyte cultures in transplantation immunology *Transpl Proc* 3 942-948, 1971
- BAILEY, D W Histoincompatibility associated with the X chromosome in mice *Transplantation* 1 70-74, 1963
- BAIN, B , VAS, M R , LOWENSTEIN, L The development of large immature mononuclear cells in mixed leucocyte cultures *Blood* 23 108-116, 1964
- BARNES, A C — *Intra-uterine development* Lea & Febiger, Philadelphia, 1968
- BARNES, A D , BURR, W A , STANFORTH, P A backcross assay of the number of transplantation antigens controlling the succesful transplantation of skin, ovary and kidney in mice — *Advance in transplantation*, Munksgaard, Copenhagen 343-347, 1968
- BATCHELOR, J R , SILVERMAN, M S Further studies on interactions between sessile and humoral antibodies in homograft reactions *Ciba Found Symp on transplantation*, London 216-231, 1962
- BATCHELOR, J R , ELLIS, F , FRENCH, M E , BEWICK, M , CAMERON, J S , OGG, C S Immunological enhancement of human kidney graft *Lancet* II 1007-1010, 1970

- BEER, A E , BILLINGHAM, R E Implantation, transplantation and epithelial-mesenchymal relationships in the rat uterus *J Exp Med* 132 721-736, 1970
- BEER, A E , BILLINGHAM, R E , HOERR, R A Elicitation and expression of transplantation immunity in the uterus *Transpl Proc* 3 609-611, 1971
- BEHRMAN, S J , KOREN, Z Immunology of the conceptus *Year Book Obstet Gynec* 28-48, 1968
- BEKKUM, D W , van Anti-lymfocytenserum *Ned T Geneesk* 113 22-28, 1969a
- BEKKUM, D W , van Immunosuppression — Symposium on kidney transplantation, ed Brummelkamp, W H , Greep, J M De Erven F Bohn, NV, Haarlem 26-30, 1969b
- BELL, C , DRAY, S Conversion of non-immune spleen cells by ribonucleic acid of lymphoid cells from an immunized rabbit to produce γ M antibody of foreign light chain allotype *J Immunol* 103 1196-1211, 1969
- BENNETT, M , CUDKOWICZ, G Functional and morphological characterization of stem cells the unipotential role of „lymphocytes” of mouse marrow — Yoffey, J M The lymphocyte in immunology and haemopoiesis, Edward Arnold Publ, London 183-194, 1967
- BILLINGHAM, R E , SPARROW, E M The effect of prior intravenous injections of dissociated epidermal cells and blood on the survival of skin homografts in rabbits *J Embryol Exp Morph* 3 265-285, 1955
- BILLINGHAM, R E , BRENT, L , MEDAWAR, P B „Enhancement” in normal homografts, with a note on its possible mechanism *Transpl Bull* 3 84-88, 1956
- BILLINGHAM, R E , BRENT, L Quantitative studies on tissue transplantation immunity *IV* Induction of tolerance in newborn mice and studies on the phenomenon of runt disease *Phil Tr Roy Soc London*, B 242 439-477, 1959
- BILLINGHAM, R E , SILVERS, W K Sensitivity to homografts of normal tissues and cells *Ann Rev Microbiol* 17 531-564, 1963
- BILLINGHAM, R E Transplantation immunity and the maternal-fetal relation *New Engl J Med* 270 667-672, 1964
- BILLINGHAM, R E , SILVERS, W K , WILSON, D B A second study on the H-Y transplantation antigen in mice *Proc Roy Soc London*, Ser B 163 61-89, 1965
- BILLINGTON, W D Immunology in relation to the placenta *Proc Roy Soc Med* 63 57-59, 1970
- BJORKMAN, N — Placental fine structure *Baillière Tindall & Cassell*, London, 1970
- BLOOM, B R , BENNETT, B Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity *Science* 153 80-82, 1966
- BONVINI, E Immunity in the fetus and newborn *Rassegna* 47 17-20, 1970
- BOS, W H Recirculatie en transformatie van lymphocyten Thesis, Groningen, 1967
- BOTELLA-LLUSIA, J , PEREIRA, A , RODRIGUEZ ISLA, J L Diabetes, Latent Diabetes, and Prediabetes Complicating Pregnancy A clinical study of 500 patients *Int J Gynaec Obstet* 7 56-70, 1969
- BOWEN, P , LEE, C S N Spontaneous abortion Chromosome studies on 41 cases and an analysis of maternal age and duration of pregnancy in relation to karyotype *Amer J Obstet Gynec* 104 973-983, 1969
- BRADBURY, S , BILLINGTON, W D , KIRBY, D R S A histochemical and electron microscopical study of the fibrinoid of the mouse placenta *J Roy Micr Soc* 84 199-211, 1965

- BRENT, R L The production of congenital malformations using tissue antisera *IV* Evaluation of the mechanism of teratogenesis by varying the route and time of administration of anti-rat-kidney antiserum *Amer J Anat* 119 555-562, 1966a
- BRENT, R L Immunologic aspects of developmental biology *Adv Teratol* 1 82-129, 1966b
- BRENT, L , MEDAWAR, P B Cellular immunity and the homograft reaction *Brit Med Bull* 23 55-60, 1967
- BREYERF, E J , BARRETT, M K „Tolerance” in postpartum female mice induced by strain-specific matings *J Nat Cancer Inst* 24 699-705, 1960a
- BREYERF, E J , BARRETT, M K Prolonged survival of skin homografts in parous female mice *J Nat Cancer Inst* 25 1404-1410, 1960b
- BREYERE, E J Studies on the permanence of maternal immunological tolerance *Transplantation* 5 1504-1509, 1967
- BRUNNER, K T , MAUEL, J , CFROITINI, J C , CHAPUIS, B Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on ⁵¹Cr-labelled allogeneic target cells in vitro, inhibition by isoantibody and by drugs *Immunology* 14 181-196, 1968
- BURLESON, R , LLEVEY, R H Demonstration of thymic function in vitro *Transpl Proc* 3 918-922, 1971
- BUTCHER, R L , FUGO, N W Overripeness and the mammalian ova *II* Delayed ovulation and chromosome anomalies *Fertil Steril* 18 297-302, 1967
- CAINE, R Y Antigen-induced immunosuppression for organ grafting *Transpl Proc* 3 21-26, 1971
- CARR, D H Chromosome studies in spontaneous abortions *Obstet Gynec* 26 308-326, 1965
- CARR, D H Chromosome studies in selected spontaneous abortions *III* Early pregnancy loss *Obstet Gynec* 37 750-754, 1971
- CASEY, A E Experimental enhancement of malignancy in the Brown -Pearce rabbit tumor *Proc Soc Exp Biol Med* 29 816-818, 1932
- CASEY, H L Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to micro test *Public Health Monograph No 74*, Washington, 1965
- CEPPELLINI, R , CELADO, F , MATTIUIZ, P L , ZANALDA, A Study of the possible correlation between blood antigens and histocompatibility in man Production of leukoagglutinins by repeated transfusions from one donor *Ann NY Acad Sci* 120 335-347, 1964
- CEPPELLINI, R , BONNARD, G D , COPPO, F , MIGGIANO, V C , POSPISIL, M , CURTONI, E S , PELLEGRINO, M Mixed leucocyte cultures and HL-A antigens *I* Reactivity of young fetuses, newborns and mothers at delivery *Transpl Proc* 3 58-63, 1971
- CLAESSON, M H , HARDT, F The influence of the hair follicle phase on the survival time of skin allografts in the mouse *Transplantation* 10 349-351, 1970
- CONSTAM, G R Diabetes und Schwangerschaft *A Intern-medizinische Probleme Gynaecologia* 159 193-214, 1965
- CURRIF, G A , BAGSHAWE, K D The masking of antigens on trophoblast and cancer cells *Lancet* I 708-710, 1967
- CURRIE, G A , BAGSHAWE, K D The antigenicity of normal and malignant trophoblast some implications — *Advance in transplantation* Munksgaard, Copenhagen, 523-530, 1968a

- CURRIE, G A , BAGSHAWE, K D The effect of neuraminidase on the immunogenicity of the Landschutz ascites tumour site and mode of action *Brit J Cancer* 22 588-594, 1968 b
- CURRIE, G A , DOORNINCK, W van , BAGSHAWE, K D Effect of neuraminidase on the immunogenicity of early mouse trophoblast *Nature*, 219 191-192, 1968 c
- CURRIE, G A The foetus as an allograft, the role of maternal unresponsiveness to paternally derived foetal antigens *Ciba Found Symp on foetal autonomy London* 32-58, 1969
- DAUSSET, J Iso-leuco-anticorps *Acta Haemat* 20 156-166, 1958
- DAUSSET, J , RAPAPORT, F T The role of blood group antigens in human histocompatibility *Ann N Y Acad Sci* 129 408-420, 1966
- DAUSSET, J The genetics of transplantation antigens *Transpl Proc* 3 8-14, 1971
- DAVID, G , VOLEKRINGER, P , MERCIER-PAROT, L Mise en évidence d'une phase de tolérance immunologique postgestative chez la souris *C R Ass Anat* 138 387-391, 1967
- DAVIES, D A L , MANSTONE, A J , VIZA, D C , COLOMBANI, J , DAUSSET, J Human transplantation antigens the HL-A (Hu-1) system and its homology with the mouse H2 system *Transplantation* 6 571-586, 1968
- DICKE, K A Bone marrow transplantation after separation by discontinuous albumin density gradient centrifugation *Thesis, Leiden*, 1970
- DUNSELMAN, G A J Congenitale misvorming van de uterus Resultaten van de metro-plastiek volgens Strassmann *Thesis, Utrecht*, 1959
- EASTMAN, N J Habitual abortion — Progress in gynecology, Grune & Stratton, New York 262-268, 1946
- EATON, M D , SCALA, A R Species source of complement in viral-immune and other cytolytic reactions *Proc Soc Exp Biol Med* 133 615-619, 1970
- EICHWALD, E J , SILMSER, C R Skin *Transpl Bull* 2 148-149, 1955
- ENGLIET, C P , BRITTEN, A The cytotoxic test for leucocyte antibodies A simple and reliable technique *Vox Sang* 10 660-674, 1965
- ENGEFRIET, C P Cytotoxic iso-antibodies against leucocytes *Thesis, Amsterdam*, 1966
- ERNSTROM, U Studies on growth and cytomorphosis in the thymo-lymphatic system *Acta Path Microbiol Scand suppl* 178 1-38, 1965
- FAWCETT, D W The development of mouse ova under the capsule of the kidney *Anat Record* 108 71-91, 1950
- FELLOUS, M , DAUSSET, J Probable haploid expression of HL-A antigens on human spermatozoon *Nature* 225 191-193, 1970
- FERRER, J F Role of the spleen in passive immunological enhancement *Transplantation* 6 167-172, 1968 a
- FERRER, J F Enhancement of the growth of sarcoma 180 in splenectomized and sham-operated AKR mice *Transplantation* 6 160-166, 1968 b
- FLEXNER, S , JOBLING, J W On the promoting influence of heated tumor emulsions on tumor growth *Proc Soc Exp Biol Med* 4 156-157, 1907
- FOX, H Morphological changes in the human placenta following fetal death *J Obstet Gynaec Brit Cwlth* 75 839-843, 1968

- FRANKE, H. Electronenoptische Untersuchungen über die reife und reife Plazenta der Ratte. — *Feinstruktur der Plazenta*. Gustav Fischer, Jena, 1969.
- FRENCH, M. E.; BATHCHELOR, J. R. Immunological enhancement of rat kidney grafts. *Lancet* II: 1103-1106, 1969.
- FUGO, N. W.; BUTCHER, R. L. Overripeness and the mammalian ova. *I. Overripeness and early embryonic development*. *Fertil. Steril.* 17: 804-814, 1966.
- FURTH, R. van.; SCHUIT, H. R. E.; HIJMANS, W. The immunological development of the human fetus. *J. Exp. Med.* 122: 1173-1188, 1965.
- GALASSI, L. Reutilization of maternal nuclear material by embryonic and trophoblastic cells in the rat for the synthesis of deoxyribo nucleic acid. *J. Histochem. Cytochem.* 15: 573-579, 1967.
- GAUTRAY, J. P. Problèmes immunologiques de la gestion et de la reproduction. — *Réproduction humaine*, Masson et Cie., Paris: 488-503, 1968.
- GLENISTER, T. W. The behaviour of trophoblast when blastocysts effect nidation in organ culture. — *The early conceptus, normal and abnormal*, Univ. of St. Andrews, London. E & S Livingstone, Ltd.: 24, 1965.
- GLENISTER, T. W. Discussion: Böving, B. G.: Some mechanical aspects of trophoblast penetration of the uterine epithelium in the rabbit. — *Egg implantation*, Ciba Found. study group, 23: 87, 1966
- GOLDSTEIN, A. L.; ASANUMA, Y.; WHITE, A. The thymus as an endocrine gland: Properties of thymosin, a new thymus hormone. *Recent Progr. Hormone Res.* 26: 505-538, 1970.
- GOODMAN, H. S., MASAITIS, L. Analysis of the isoimmune response to leucocytes: *I. Maternal cytotoxic response to fetal lymphocytes*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126: 599-604, 1967.
- GOVAERTS, A. Tissue culture in the investigation of transplantation antibodies. — *Immunological methods*, ed. J. F. Ackroyd, Blackwell, Oxford: 225-237, 1964.
- GUERRERO, R.; LANCIOT, C. A. Aging of fertilizing gametes and spontaneous abortion *Amer. J. Obstet. Gynec.* 107: 263-267, 1970.
- GUNIBER, O. — *Einführung in die Immunbiologie*. Hippokrates-Verlag, Stuttgart, 1969.
- HAGBARD, L. — *Pregnancy and diabetes mellitus*. C. Thomas, Springfield, 1961.
- HALASZ, N. A. Enhancement of skin homografts in dogs. *J. Surg. Res.* 3: 503-505, 1963.
- HARDY, M. A.; ZISBIATT, M.; LEVINE, N.; GOLDSTEIN, A. L.; LIHLY, F.; WHITE, A. Reversal by thymosin of increased susceptibility of immunosuppressed mice to Moloney sarcoma virus. *Transpl. Proc.* 3: 926-928, 1971.
- HARRIS, T. N., HUMMELER, K.; HARRIS, S. Electron microscopic observations on antibody-producing lymphnode cells. *J. Exp. Med.* 123: 161-172, 1966.
- HAUGHION, G.; NASH, D. R. Specific immunosuppression by minute doses of passive antibody. *Transpl. Proc.* 1: 616-618, 1969.
- HAUSCHKA, T. S. Probable y-linkage of a histocompatibility gene. *Transpl. Bull.* 2: 154-155, 1955.
- HAUSCHKA, T. S.; HOLDRIDGE, B. A. A cytogenetic approach to the y-linked histocompatibility antigen of mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 101: 12-22, 1962.

- HAUSE, L L , PATILLO, R A , SANCIS, R , MATINGLY, R F Cell surface coatings and membrane potentials of malignant and non-malignant cells *Science* 169 601-603, 1970
- HELLSTROM, I , HELLSTROM, K E Demonstration of cellular immunity to human tumor antigens with a colony inhibition technique — Immunity and tolerance in oncogenesis Proc IV Perugia Conf Cancer, 1969 ed L Severi, Perugia, vol I 311-317, 1970
- HILLSTROM, I , HELLSTROM, K E The role of immunological enhancement for the growth of autochthonous tumors *Transpl Proc* 3 721-724, 1971 a
- HELLSTROM, I , HELLSTROM, K E Neonatally induced allograft tolerance may be mediated by serum-borne factors *Nature* 230 49-50, 1971 b
- HILLSTROM, K E , MOLLER, G Immunological and immunogenetic aspects of tumor transplantation *Progr Allergy*, 9 158-245, 1965
- HELLSTROM, K E , HELLSTROM, I Cellular immunity against tumor antigens *Adv Cancer Res* 12 167-223, 1969 a
- HILLSTROM, K E , HELLSTROM, I , BROWN, J Abrogation of cellular immunity to antigenically foreign mouse embryonic cells by a serum factor *Nature* 224 914-915, 1969 b
- HERRIG, A T , SHELDON, W H Minimal criteria required to prove prima facie case of traumatic abortion or miscarriage An analysis of 1000 spontaneous abortions *Ann Surg* 117 596-606, 1943
- HERRIG, A T , LIVINGSTONE, R G Spontaneous, threatened and habitual abortion their pathogenesis and treatment *New Engl J Med* 230 797-806, 1944
- HERRIG, A I Human trophoblast Normal and abnormal A plea for the study of the normal so as to understand the abnormal *Obstet Gynec Survey* 22 712-718, 1967 a
- HERRIG, A T Human trophoblast Normal and abnormal A plea for the study of the normal as to understand the abnormal *Amer J Clin Path* 47 249-268, 1967 b
- HERRIG, A I — Human trophoblast C Thomas, Springfield, 1968
- HESLOP, R W , KROHN, P L , SPARROW, E M The effect of pregnancy on the survival of skin homografts in rabbits *J Endocrin* 10 325-332, 1954
- HEYNER, S , BRINSTER, R L , PALM, J Effect of iso-antibody on pre-implantation mouse embryos *Nature* 222 783-784, 1969
- HILDMANN, W H Weak transplantation barriers *Transpl Proc* 3 76-80, 1971
- HIRSCHHORN, K , BACH, F , RAPPORT, F T , CONVERSL, J M , LAWRENCE, N S The relationship of in vitro lymphocyte compatibility to homograft sensitivity in man *Ann NY Acad Sci* 120 302-306, 1964
- HOFMANN, D — Die Fehlgeburt 2 A Urban & Schwarzenberg, Munchen, 1969
- HOLMER, A J M , TILBERGE, B S , DE BRUYNE, J I , JANSSENS, J , JOOSSE, L A , KLOOSTERMAN, G J , MASIBOOM, J L , PLATF, W P , SIKKLL, A , STOLIE, L A M — Leerboek der verloskunde 4^e dr, van Holkema & Warendorf, Bussum, 1967
- HULLA, J F , MOHR, K , LIFBERMAN, M W Effect of synthetic progestational agents on allograft rejection and circulating antibody production *Endocrinology* 77 897-901, 1965
- HULLA, J F , MOHR, K Trophoblast antigenicity demonstrated by altered challenge graft survival *Science* 161 696-698, 1968
- HUMPHREY, J H , DOURMASHIKIN, R R Electron microscope studies of immune cell lysis *Ciba Found Symp on complement*, London 175-189, 1965

- JACHERIS, D Antikorpersynthese in vitro VII Über die Wirkung informatorischer R N S -Moleküle in zellfreien Systemen aus Milzzellen Z Med Mikrobiol Immunol 153 250-268, 1967
- JAP, P H K Ultrastructural and histochemical investigations on auxiliary liver grafts in rats with some notes on the application to other species Thesis, Nijmegen, 1971
- JAVERT, C T Spontaneous and habitual abortion Mc Graw-Hill Book Company Inc , New York, 1957
- JFKFI, J , WESTBROEK, D L Passive enhancement of skin heterografts Transpl Proc 3 714-716, 1971
- JENSEN, K G Leucocyte antibodies in serums of pregnant women, serology and clinic Vox Sang 7 454-469, 1962
- JENSEN, K G Leucocyte antibodies in serums of pregnant women, serology and clinic II Vox Sang 9 315-332, 1964
- JERUSALEM, C , WFISS, M L , POELS, L Immunologic enhancement in malaria infection (Plasmodium berghei) J Immunol 107 260-268, 1971
- JOHI, C A New etiologic aspects of habitual abortion and infertility, with special reference to the male factor Fertil Steril 17 374-380, 1966
- JONES, B M , KFMP, R B Self-isolation of the foetal trophoblast Nature 221 829-831, 1969
- JONGBLOFT, P H A L M Mental and Physical Handicaps in Connection with Over-ripeness Ovary Thesis, Leiden 1971
- KAHAN, B D , PELLEGRINO, M A , PAPERMASTER, R W , REISFELD, R A Quantitative serologic parameters of purified HL-A antigens Transpl Proc 3 227-230, 1971
- KALISS, N Regression of survival of tumor homografts in mice pretreated with injections of lyophilized tissues Cancer 12 379-382, 1952
- KALISS, N The survival of homografts in mice pretreated with antisera to mouse tissue Ann NY Acad Sci 64 977-993, 1957
- KALISS, N , DAGG, M K Immune response engendered in mice by multiparity Transplantation 2 416-425, 1964
- KALISS, N Immunological enhancement conditions for its expression and its relevance for grafts of normal tissues Ann NY Acad Sci 129 155-163, 1966
- KALISS, N Immunological enhancement as a possible element in the etiology of cancer — Immunity and Tolerance in Oncogenesis Proc IV , Perugia Conf Cancer, 1969 ed L Severi, Perugia, vol II 877-892, 1970
- KIRBY, D R S The influence of the uterine environment on the development of mouse eggs J Embryol Exp Morph 10 496-506, 1962
- KIRBY, D R S , BILLINGTON, W D , BRADBURY, S , GOLDSTEIN, D J Antigen barrier of the mouse placenta Nature 204 548-549, 1964
- KIRBY, D R S , BRADBURY, S The hemo-chorial mouse placenta Anat Record 152 279-281, 1965
- KIRBY, D R S , BILLINGTON, W D , JAMES, D A Transplantation of eggs to the kidney and uterus of immunised mice Transplantation 4 713-718, 1966
- KIRBY, D R S The immunological consequences of extrauterine development of allogeneic mouse blastocysts Transplantation 6 1005-1009, 1968
- KIRBY, D R S Is the trophoblast antigenic? Proc Transpl Soc 1 53-60, 1969
- KIRKELS, V G H J Abortus en aanlegstoornissen Thesis, Nijmegen, 1966
- KISSMEYER-NILSEN, F , OIFSEN, S , PETERSEN, V P , FJELDBORG, O Hyperacute

rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells *Lancet II* 662-665, 1966

KISSMEYER-NIELSEN, F , KJERBYF, K E Lymphocytotoxic micro-technique purification of lymphocytes by flotation — Histocompatibility testing, Munksgaard, Copenhagen 381-383, 1967

KISSMEYER-NIELSEN, F , SVEJGAARD, A , THORSBY, E Possibility of a third sublocus *Transpl Proc* 3 81-84, 1971

KOFNF R , MCKENZIE, I F C , PAINIER, E , SACHS, D M , WINN, H J , RUSSELL, P S Soluble mouse histocompatibility antigens *Transpl Proc* 3 231-233, 1971

KORLN, Z , ABRAMS, G , BEHRMAN, S J Antigenicity of mouse placental tissue *Amer J Obstet Gynec* 102 340-346, 1968 a

KOREN, Z , ABRAMS, G , BEHRMAN, S J The role of host factors in mouse trophoblast tissue growth *Amer J Obstet Gynec* 100 570-575, 1968 b

KORFN, Z , BEHRMAN, S J Organ culture of pure mouse trophoblast *Amer J Obstet Gynec* 100 576-581, 1968 c

KOREN, Z , BEHRMAN, S J , PAINE, P J Antigenicity of trophoblastic cells indicated by fluorescein technique *Amer J Obstet Gynec* 104 50-57, 1969

KORFN, Z , SRIVANABOON, S , BEHRMAN, S J Purification and fractionation of anti-mouse placental serum *Amer J Obstet Gynec* 108 666-669, 1970

LACHMANN P J Complement — Clinical aspects of immunology Blackwell Oxford 384-419, 1968

LANMAN, J T , DINERSTEIN, J , FIKRIG, S Homograft immunity in pregnancy Lack of harm to the fetus from sensitization of the mother *Ann NY Acad Sci* 99 706-716, 1962

LAPIANTF E S , BURRELL, R , WATNE, A L , TAYLOR D L , ZIMMERMANN, B Skin allograft studies in the pouch young of the opossum *Transplantation* 7 67-72 1969

LARSEN, J F , EHRMANN, R L , BIERING, F Electron microscopy of human chorio-carcinoma transplanted into hamster liver *Amer J Obstet Gynec* 99 1109-1124, 1967

LAW, L W Studies of the significance of tumor antigens in induction and repression of neoplastic diseases *Cancer Res* 29 1-21, 1969

LFMPERIE, G Immunization against sarcoma-180 potentiated by RLS stimulation *J Reticuloendothelial Soc* 3 385-397, 1966

LENZ, W Lassen sich Mutationen verhuten — *Akad Wissensch Itt Abh Mathemat-Natur-Wissenschaftl Klasse nr* 4, 1967

LEVENTHAL, B G , MANN, D L , ROGENTINF, G N Sensitization to water-soluble HL-A antigens *Transpl Proc* 3 243-245, 1971

LFVEY, R H Immunological tolerance and enhancement a common mechanism *Transpl Proc* 3 41-48, 1971

LINDEN, S G L van der, MASTBOOM, J L Insulin treatment of latent and potential diabetics during pregnancy *J Obstet Gynaec Brit Cwlth* 78 924-926, 1971

LINSCOTT, W D Effect of cell surface antigen density on immunological enhancement *Nature* 228 824-827, 1970

LIPPMAN, M Transplantation and cytotoxicity changes induced by acid mucopolysaccharides *Nature* 219 33-36, 1968

- LUCAS, Z J Quantitation of HL-A antigens on cell surfaces *Transpl Proc* 3 240-242, 1971
- LUDIN, P M Anterior pituitary gland and lymphoid tissue growth *Acta Endocr* 28 Suppl 40, 1958
- MACDONAID, A , BUSCH, G J , ALEXANDER, J L , PHETEPPLACE, E A , MENZOIAN, J , MURRAY, J E Heparin and aspirin in the treatment of hyperacute rejection of renal allografts in presensitized dogs *Transplantation* 9 1-7, 1970
- MAJINS, J — Clinical diabetes mellitus *Eyre & Spottiswoode*, London, 1968
- MAIPAS, P A study of abortion sequences *J Obstet Gynaec Brit Emp* 45 932-949, 1938
- MARTINEK, J J Ultrastructure of the deciduotrophoblastic interface of the mouse placenta *Amer J Obstet Gynec* 109 424-431, 1971
- MAYER, M M Complement and complement fixation — *Experimental immunology*, ed E A Kabat and M M Mayer 2nd ed C Thomas, Springfield, 133-240, 1961
- McKENZIE, I F C , KOENE, R , WINN, H J Mechanism of skin graft enhancement in the mouse *Transpl Proc* 3 711-713, 1971
- MEDAWAR, P B Immunity to homologous grafted skin *III* The fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue and to the anterior chamber of the eye *Brit J exp Path* 29 58-69, 1948
- MEDAWAR, P B Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates *Symp Soc Exp Biol VII Evolution* 320-338, 1953
- MEDAWAR, P B , SPARROW, E M The effects of adrenocortical hormones, adrenocorticotrophic hormone and pregnancy on skin transplantation immunity in mice *J Endocr* 14 240-256, 1956
- MEDAWAR, P B The Croonian Lecture The homograft reaction *Proc Roy Soc London*, 149B 145-166, 1958
- MEDAWAR, P B Reactions to homologous tissue antigens in relation to hypersensitivity — Cellular and humoral aspects of hypersensitive states, ed H S Lawrence, Hoeber, New York, 1959
- MEDAWAR, P B Opening remarks — *Ciba Found Symp on transplantation*, London, 1-5, 1962
- MEINERT, H , DITTMAR, F W , FORSTER, H , KEMPE, I Pradiabetes und Schwangerschaft *Munch Med Wschr* 108 944-949, 1966
- MILCALF, D — The thymus, its role in immune responses, leukaemia development and carcinogenesis *Springer-Verlag*, Berlin, 1966
- MICHIFUSU, P Haemodialysis or renal transplantation — *Symposium on kidney transplantation* ed Brummelkamp, W H , Greep, J M , De Erven F Bohn, N V , Haarlem 37-42, 1969
- MIKAMO, K Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortion *Amer J Obstet Gynec* 106 243-254, 1970
- MILLER, J F A P Rôle of the thymus in transplantation tolerance and immunity — *Ciba Found Symp on transplantation*, London 384-403, 1962
- MILLER, J F A P Biology of the immune (allergic) response — *Clinical aspects of immunology*, Blackwell, Oxford 289-333, 1968

- MILLER, J F A P , MITCHELL, G F Thymus and antigen-reactive cells *Transpl Rev* 1 3-42, 1969
- MITCHISON, N A The effect of the offspring of maternal immunization in mice *J Genet* 51 406-420, 1953
- MITSUHASHI, S , KURASHIGE, S , KAWAKAMI, M , NOJIMA, T Transfer agent of immunity I Immune ribonucleic acid which induces antibody formation to salmonella flagella, *Jap J Microbiol* 12 261-268, 1968
- MITAI, K K , MICKFY, M R , SPINGAI, D P , TERASAKI, P I Serotyping for homo-transplantation *XVIII Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test* *Transplantation* 6 913-927, 1968
- MOIFER, E , MOLLER, G Quantitative studies of the sensitivity of normal and neoplastic mouse cells to the cytotoxic action of isoantibodies *J Exp Med* 115 527-553, 1962
- MOLLER, E Antagonistic effects of humoral iso-antibodies on the in vitro cytotoxicity of immune lymphoid cells *J Exp Med* 122 11-23, 1965
- MOIFER, G Demonstration of mouse isoantigens at the cellular level by the fluorescent antibody technique *J Exp Med* 114 415-434, 1961
- MOLLER, G Studies on the mechanism of immunological enhancement of tumor homografts I Specificity of immunological enhancement *J Nat Cancer Inst* 30 1153-1175, 1963
- MOLLER, G Immunocompetent cells in graft rejection *Transpl Proc* 3 15-20, 1971
- MORRIS, R , LUCAS, Z J , Immunologic enhancement of rat kidney grafts Evidence for peripheral action of homologous antiserum *Transpl Proc* 3 697-700, 1971
- MOYNIHAN, P C , JACKSON, J F , HARDY, J D Lymphocyte transformation as an in vitro histocompatibility test *Lancet* I 453-455, 1965
- NAJARIAN, J S , MAY, J , COCHRUM, K C , BARONBERG, N , WAY, L W Mechanism of antigen release from canine kidney homotransplants *Ann NY Acad Sci* 129 76-87, 1966
- NOVAK, E R , WOODRUFF, J D — *Gynecologic and Obstetric Pathology* W B Saunders Comp , Philadelphia, 6th ed , 1967
- OCKNER, S A , GUTTMANN, R D , LINDQUIST, R R Renal transplantation in the inbred rat *XIII Modification of rejection by active immunization with bone marrow cells* *Transplantation* 9 30-38, 1970a
- OCKNER, S A , GUTTMANN, R D , LINDQUIST, R R Renal transplantation in the inbred rat *XIV Mechanism of the modified rejection produced by bone marrow cell pretreatment* *Transplantation* 9 39-48, 1970b
- OLDS, P J An attempt to detect H-2 antigens on mouse eggs *Transplantation* 6 478-479, 1968
- OMERS, R J J Over de behandeling van zwangeren met een gestoorde bloedsuiker-curve en de resultaten ten aanzien van de fetal loss Thesis, Groningen 1960
- OVARY, Z The structure of various immunoglobulins and their biologic activities *Ann NY Acad Sci* 129 776-786, 1966
- OVERWEG, J , ENGFRIFT, C P Cytotoxic leucocyte iso-antibodies formed during the first pregnancy *Vox Sang* 16 97-104, 1969
- OZER, J H , WALLACH, D F H H-2 components and cellular membranes *Distinc-*

tions between plasma membrane and endoplasmatic reticulum governed by the H-2 region in the mouse Transplantation 5 652-667, 1967

- PANNEKOEK, M G Enkele opmerkingen over habituele abortus Ned I Verlosk 67 58-66, 1967
- PARKFR, C W , VAVRA, J D Immunosuppression B Administration of specific antibody — Progress in hematology VI Grune & Stratton, New York 19-22, 1969
- PATEL, R , IΓΡΑΣΑΚΙ, P I Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation New Engl J Med 280 735-739, 1969
- PAYNE, R The development and persistence of leucoagglutinins in parous women Blood 19 411-424, 1962
- PAYNE, R , TRIPP, M , WEIGLE, J , BODMER, W , BODMER, J A new leucocyte isoantigen system in man Cold Spring Harb Symp Quant Biol 29 285-295, 1964
- PENROSE, L S , DELHANTY, J D A Triploid cell cultures from a macerated foetus Lancet I 1261-1262, 1961
- PERGEMFANT, E , KADOTANI, T , SATO, H Double trisomy in the spontaneous abortion population Amer J Obstet Gynec 104 984-987, 1969
- POLAND, B J Study of developmental anomalies in the spontaneously aborted fetus Amer J Obstet Gynec 100 501-505, 1968
- POPFA, G , SIMMONS, R L , DAVID, D S , RUSSELL, P S The uterus as a recipient site for parathyroid homotransplantation Transplantation 2 496-502, 1964
- PORTER, J B , BREYERF, E J Studies on the source of antigenic stimulation in the induction of tolerance by parity Transplantation 2 246-249, 1964
- PORTER, K A , JOSEPH, N H , RENDALL, J M , STOLINSKI, C , HOFHN, R J , CALNE, R Y The role of lymphocytes in the rejection of canine renal homotransplants Lab Invest 13 1080-1098, 1964
- PORTER, K A Rejection in treated renal allografts J Clin Path Suppl 20 518-534, 1967
- PRFHN, R T The significance of tumor-distinctive histocompatibility antigens Cross-reacting antigens and neoantigens, with implications for autoimmunity and cancerimmunity Trentin J J (ed), Williams and Wilkins Co, Baltimore 105-117, 1967
- RACE, R R , SANGER, R The ABO blood groups — Blood groups in man Blackwell Oxford, 5th ed 9-86, 1968
- RAMMING, K P , PILCH, Y H Transfer of transplantation immunity by ribonucleic acid Transplantation 7 296-299, 1969
- RAMSFIR, H Homotransplantation — Textbook of immunopathology, Grune & Stratton, New York 189-203, 1968
- RAMSEIER, H — Die Transplantationsreaktion als zellulare Immunitat S Karger Basel, 1969
- RAPP, H J The nature of complement and the design of a complement fixation test — Immunological methods, ed J F Ackroyd, Blackwell scientific publ, Oxford 1-23, 1964
- REEMTSMA, K Verbalization (letter to the Editor) New Engl J Med 272-380 1965
- RICL, C E Discussion — Ciba Found Symp on complement, London, 93-94, 1965

- ROELANTS, G E , GOODMAN, J W The chemical nature of macrophage RNA-antigen complexes and their relevance to immune induction *J Exp Med* 130 557-574, 1969
- ROGERS, B O Transplantation of skin — Transplantation of tissues, vol II ed L A Peer, Baltimore 73-134, 1959
- ROOD, J J van , LEEUWEN, A van , EERNISSE, J G Leucocyte antibodies in sera of pregnant women *Vox Sang* 4 427-444, 1959
- ROOD, J J van , LEEUWEN, A van Leucocyte grouping A method and its application *J Clin Invest* 42 1382-1390, 1963
- ROOD, J J van , LEEUWEN, A van , SCHIPPERS, A M J , VOOYS, W H , FREDERIKS, G , BALNER H , EERNISSE, J G Leucocyte groups the normal lymphocyte transfer test and homograft sensitivity — *Histocompatibility Testing Series Hemat II*, Munksgaard Copenhagen 37-48, 1965
- ROOD J J van, LEEUWEN, A van, BRUNING, J W , EERNISSE, J G Current status of human leucocyte groups *Ann NY Acad Sci* 129 446-466, 1966
- ROOD, J J van Tissue typing and organ transplantation *Lancet* I 1142-1146, 1969
- ROOD J J van , EERNISSE, J G The detection of transplantation antigens in leucocytes — Symposium on kidney transplantation ed Brummelkamp, W H , Greep, J M De Erven F Bohn, N V, Haarlem 5-25, 1969
- RUGH, R — The mouse, its reproduction and development Burgess Publishing Co Minneapolis, 1968
- RUSSELL, P S , WINN, H J Transplantation *New Eng J Med* 282 786-793, 848-854, 896-906, 1970
- RUSSELL, P S Immunological enhancement *Iranpl Proc* 3 960-966, 1971
- RUST, T Schwangerschaft bei zuckerkranken Frauen *Praxis* 55 1361-1367, 1966
- RYDER, R J W , SCHWARZ, R S Immunosuppression by antibody Localization of site of action *J Immunol* 103 970-978, 1969
- SABBADINI, E , SLON, A H Transfer of transplantation immunity with RNA from lymphoid organs of immunized animals — *Advance in transplantation*, Munksgaard, Copenhagen 55-65, 1968
- SANDERSON, A R , CRESSWELL, P , WELSH, K I Implication of carbohydrate in the immunochemical determinant area of HL-A substances *Transpl Proc* 220-223, 1971
- SANFORD, B H An alteration in tumor histocompatibility induced by neuraminidase *Transplantation* 5 1273-1279, 1967
- SCHMORL, G Pathologisch-anatomische Untersuchungen uber Puerperal-Eklampsie Vogel, Leipzig 1893
- SEIGLI, H F , METZGAR, R S Embryonic development of human transplantation antigens *Transplantation* 9 478-486, 1970
- SHREFFLER, D C , SNELL, G D The distribution of thirteen H-2 allo-antigenic specificities among the products of eighteen H-2 alleles *Transplantation* 8 435-450, 1969
- SILVERS, W K , BILINGHAM, R E Genetic background and expressivity of histocompatibility genes *Science* 158 118-119, 1967
- SIMMONS, R L , RUSSELL, P S The antigenicity of mouse trophoblast *Ann NY Acad Sci* 99 717-732, 1962
- SIMMONS, R L , RUSSELL, P S The immunologic problem of pregnancy *Amer J Obstet Gynec* 85 583-593, 1963

- SIMMONS, R L , RUSSEL, P S Bibliography of transplantation of chorioallantoic placenta and trophoblast Transplantation 2 551-556, 1964
- SIMMONS, R L Mechanisms of trophoblast non-antigenicity Fed Proc 25 356, 1966
- SIMMONS, R L , RUSSELL, P S The histocompatibility antigens of fertilized mouse eggs and trophoblast Ann NY Acad Sci 129 35-45, 1966
- SIMMONS, R L , CRUSE, K , MCKAY, D G The immunologic problem of pregnancy *II* Ultrastructure of isogenic and allogeneic trophoblastic transplants Amer J Obstet Gynec 97 218-230, 1967 a
- SIMMONS, R L , OZERKIS, A J The immunologic problem of pregnancy *IV* Histocompatibility antigens of aging mouse trophoblast Amer J Obstet Gynec 99 271-275, 1967 b
- SIMMONS, R L PRICE, A L , OZERKIS, A J The immunologic problem of pregnancy *V* The effect of estrogen and progesterone on allograft survival Amer J Obstet Gynec 100 908-911, 1968
- SIMMONS, R L Histoincompatibility and the survival of the fetus Current controversies Proc Transpl Soc 1 47-52, 1969
- SMITH, R I — The Fetus and Neonate, vol II Biology of gestation, chapter 7 ed N S Assali, Academic Press, New York 323, 1968
- SMORENBERG-SCHOORL, M E , KLOMP, J , SLUYTER, A M C , LEEUW, R de De behandeling van de diabetische zwangere Ned T Verlosk 70 341-348, 1970
- SNELL, G D , WINN, H J , STIMPLING, J H , PARKER, S J Depression by antibody of the immune response to homografts and its role in immunological enhancement J Exp Med 112 293-314, 1960
- SNOO, K de — Leerboek der verloskunde J B Wolters, Groningen, 1930
- SOLOMON, J B — Foetal and neonatal immunology North-Holland Publ Company Amsterdam, 1971
- SPEERT, H Pregnancy prognosis following repeated abortion Amer J Obstet Gynec 68 665-673, 1954
- SPFIRS, R S Rôle of lymphoid and myeloid cells in immunity — The lymphocyte in immunology and haemopoiesis ed J M Yoffey, Edward Arnold Ltd London, 1967
- STEINMULLER, D , HART, E A Passenger leukocytes and induction of allograft immunity Transpl Proc 3 673-675, 1971
- STOLTF, L A M , HOLMER, A J M Abortus, partus immaturus et praematurus — Leerboek der verloskunde, van Holkema & Warendorf, Bussum, 4^e dr 547-573 1967
- SIRATFORD, B F Abnormalities of early human developments Amer J Obstet Gynec 107 1223-1232, 1970
- STRAUS, A , STRAUS, F , ROSEMAN, D Allogeneic „rejection“ of in situ rat kidney using humoral antibody Iranpl Proc 3 570-572, 1971
- STROBER, S , GOWANS, J L The role of lymphocytes in the sensitization of rats to renal homografts J Exp Med 122 347-360, 1965
- SZULMAN, A E The blood group antigene A B and H in tissues of human embryos Proc 9th Congr Int Soc Blood Transf , Mexico 575-577, 1964
- IAKASUGI, M , HILDEMAN, W H Lymphocyte-antibody interactions in immunological enhancement Transpl Proc 1 530-534, 1968
- TERASAKI, P I , MCCLELLAND, J D Microdroplet assay of human serum cytotoxins Nature 204 998-1000, 1964

- TFRASAKI, P I , THRASHIER, D L , HAUBER, T H Scrotyping for homotransplantation *XIII* Immediate kidney transplant rejection and associated preformed antibodies — Advance in tranplantation Munksgaard, Copenhagen 225-229, 1968
- TFRASAKI, P I , MICKY, M R , YAMAZAKI, J N , VREDEVOE, D Maternal-fetal incompatibility *I* Incidence of HL-A antibodies and possible association with congenital anomalies *Transplantation* 9 538-543, 1970
- THOMAS, L , DOUGLAS, G W , CARR, M C The continual migration of syncytial trophoblasts from the fetal placenta into the maternal circulation *Trans Ass Amer Physicians* 72 140-148, 1959
- TIGHE, J R , GARROD, P R , CURRAN, R C The trophoblast of the human chorionic villus *J Path Bact* 93 559-567, 1967
- TYAN, M L , COIF, L J Development of transplantation iso-antigens in the mouse embryo plus trophoblast *Transpl Bull* 30 136-140, 1962
- TYLER, A Approaches to the control of fertility based on immunological phenomena *J Reprod Fertil* 2 473-506, 1961
- UIR, J W , ANDERSON, S G The placenta as a homotransplant *Nature* 194 1292-1293, 1962
- URBACH, G I Fetal-maternal-placental immunologic relationship *Fertil Steril* 21 356-360, 1970
- VEIDMAN, J E Histophysiology and electron microscopy of the immune response Thesis, Groningen, 1970
- VICZIÁN, M , HANCSÓK, M , CZEIZOL, E Bedeutung der Sperma Untersuchungen bei den Gatten habituell abortierender Frauen *Zbl Gynak*, 91 277-284, 1969
- VOISIN, G A , KINSKY, R , JANSEN, F , BERNARD, C Biological properties of antibody classes in transplantation immune sera *Transplantation* 8 618-632, 1969
- WELRI, A J M van der, BROEDERS, G H B , VOOYS, G P , MASTBOOM, J L Meta-static Choriocarcinoma as a Complication of Pregnancy *Obstet Gynec* 35 78-88 1970
- WERF, A J M van der Are lymphocytotoxic iso-antibodies induced by the early human trophoblast? *Lancet* I 595, 1971
- WERF, B A M van der Zwangerschap als transplantatie-verschijnsel Thesis, Nijmegen, 1963
- WHILL, A Influence of endocrine secretions on the structure and function of lymphoid tissue *Harvey Lectures*, 43 43-70, 1947
- WILSON, R E , MAGGS, P R , VANWIJCK, R , SHAIPIACH, T , HOLL-AIFFN, R T J LUKI, P , SIMONIAN, S J Active enhancement of renal allografts in dog and rat by subcellular antigen *Transpl Proc* 3 705-707, 1971
- WINN, H J The immune response and the homograft reaction *Nat Cancer Inst Monograph* No 2, 113-138, 1960
- WINN, H J Effects of complement on sensitized nucleated cells *Ciba Found Symp on complement*, London, 133-154, 1965
- WOODRUFF, M F A Transplantation immunity and the immunological problem of pregnancy *Proc Roy Soc London* 148 68-75, 1958
- WOODRUFF, M F A Allergic response and transplantation, the homograft reaction *Clinical aspects of immunology*, Blackwell, Oxford 476-498, 1968

WORLD HEALTH ORGANISATION Subcommittee on the definition of stillbirth and abortion — Report 2nd session Expert Committee on Health Statistics, Geneva 11-16, 1950

WYNN, R M Fetomaternal cellular relations in the human basal plate An ultra structural study of the placenta Amer J Obstet Gynec 97 832-850, 1967

WYNN, R M Noncellular components of the placenta Amer J Obstet Gynec 103 723-739, 1969

ZFILMAKER, G H , TIMMERMANS, A Development of mouse blastocysts under the kidney capsule of irradiated rats Transplantation 7 437-439, 1969

STELLINGEN

1.

Het is waarschijnlijk dat bij de van ouds bekende hormonaal-actieve ovarium-tumoren (granulosaceltumor, arrhenoblastoom), niet de tumorcellen zelf verantwoordelijk zijn voor de hormoonproductie, doch de thecoïde stroma-reactie.

M. F. FATHALIA The role of the ovarian stroma in hormone production by ovarian tumours *J Obstet Gynaec Brit. Cwlth* 75: 78-83, 1968

2.

Indien abortus-producten teweeggebracht door pathologisch semen een hogere frequentie aan chromosomale afwijkingen zouden vertonen, zou dit een argument zijn voor de veronderstelling, dat chromosomale afwijkingen een oorzaak van abortus kunnen zijn.

3.

De oorzaak van het onvruchtbaar zijn van vrouwelijke dialyse-patiënten verdient nader onderzoek; het herstel van de fertiliteit na niertransplantatie kan anticonceptieve problemen met zich meebrengen.

4.

Indien volwassenen beschikbaar zijn als beenmerg-donoren, kunnen middelgrote stamcelfracties bereid worden, die een voldoende hoeveelheid stamcellen bevatten voor de repopulatie van beenmerg bij kinderen.

K. A. DIKKE. Bone Marrow Transplantation after separation by discontinuous albumin density gradient centrifugation. *Thesis*, Leiden, 1970

5.

Voor een juiste beoordeling van een second-set overleving in een „soft” immunologisch model dienen, vóór het plaatsen van een second-set, eventuele first-set graft resten geheel verwijderd te zijn.

Dit proefschrift

6.

Daar symptomen van een hersenlaesie lange tijd onopgemerkt kunnen blijven, dient evaluatie van de gevolgen van focale epilepsie zich over vele jaren uit te strekken.

A. BRUNON, Focale epilepsie na focipale extractie. *Ned. T. Geneesk.* 115: 2095-2099, 1971.

7.

Een uitvoerig preventief bevolkings-onderzoek naar risico factoren die coronaire haraaktere hartvaten heeft tot gevolg, is dat de hieruit volgende adviezen niet anders zullen zijn dan de algemeen gepropageerde, voor de gehele bevolking (meer lichaamsbeveging; niet meer roken; calorie-arme voeding; ophoepking van verzadigde vetzuren; geregelde ontspanning).

J. NIEVEEN, H. DOORENBOS, J. J. M. L. CIAPPIN, L. A. HARTMAN, J. F. MAY, T. M. TEMMEN-BRAK, J. W. E. VISSER, E. VAN DE WALL, A. A. WOUDE. Risicofactoren voor coronaire hartziekten bij jonge managers. *Ned. T. Geneesk.* 115: 1332-1337, 1971.

8.

Toenemend gebruik van intrauteriene pressaria (I.U.C.D.) geeft aanleiding tot een stijging van de abortus-frequentie.

D. HOFMANN. *Die Fehlgeburt*. 2. A. Urban & Schwarzenberg, München: 156-159, 1969.

9.

De innerlijke gerichtheid van de wetenschap op begrip van de werkelijkheid leidde een ontwikkeling in, die de wetenschap van een fase, waarin zij een vrijwel exclusieve rationele aangelegenheid was, via een rationeel-empirische naar een rationeel-experimentele fase voerde.

A. G. VAN MELSEN. Doelstellingen van de universiteit besproken in de 49e vergadering van de Academische Raad op 31 oktober, 1970 - *Universiteit en Hogeschool*. Kennink en Zoon, Utrecht -1: 263-275, 1971.

10.

De gemiddelde stafbezetting aan Universitaire Klinieken is hier te lande zodanig onvoldoende, dat de aan stafleden opgedragen taken niet naar behoren kunnen worden vervuld: Voortdoring van deze toestand zal ongetwijfeld aanleiding geven tot een toenemende tenachterstelling van het wetenschappelijk onderzoek en een qualiteits-vermindering van het onderwijs.

11.

Ongeremde satisfactie kan ook een vorm van procreatie-beperking zijn.

A. J. M. van der Werf

17 maart 1972

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. J. M. van der Werf'. The signature is written in a cursive style with a large, sweeping loop at the bottom.

