

University of Groningen

Longtransplantatie bij de rat

Marck, Klaas Willem

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1983

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

Citation for published version (APA):

Marck, K. W. (1983). Longtransplantatie bij de rat s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

(Hoofdstuk 1) De resultaten van klinische longtransplantatie zijn slecht in vergelijking met die van nier-, hart- en levertransplantatie. In de periode 1963-1977 werd in de gehele wereld bij in totaal 38 patiënten een longtransplantatie verricht. Het merendeel van deze patiënten overleed binnen twee weken na transplantatie, terwijl de langst durende overleving tien maanden was. Hoopgevend is echter het succes van een klein aantal gecombineerde hart-longtransplantaties, die recent in Stanford, Californië, de Verenigde Staten, werden verricht. De meeste patiënten met een dergelijk transplantaat zijn, enige maanden na transplantatie, nog in leven, enkele inmiddels langer dan een jaar.

De belangrijkste oorzaak van het mislukken van longtransplantatie is uitstoting van het transplantaat. Andere veel voorkomende oorzaken zijn complicaties inherent aan het enkelzijdige transplanteren van een long en complicaties van de bronchusanastomose. Bij een enkelzijdige longtransplantatie wordt de contralaterale, zieke, ontvangerlong in situ gelaten. Kruisinfecties vanuit deze long zouden verantwoordelijk zijn voor een deel van de infecties in het transplantaat die (bij immunosuppressieve therapie) frequent optraden en soms fataal verliepen. Verschillen in elasticiteit en vaatweerstand tussen de in situ gelaten ontvangerlong en het transplantaat hebben bij een aantal patiënten geleid tot een respiratoire insufficiëntie. Problemen met de bronchusanastomose worden veroorzaakt doordat de bloedvoorziening van de donor-bronchusstomp in eerste instantie vanuit de pulmonale circulatie van het transplantaat verzorgd moet worden. Als gevolg van een slechte wondgenezing trad nogal eens een stenose of een dehiscentie op bij de wat langer overlevende patiënten. Waarschijnlijk is het gebruik van corticosteroiden als immunosuppressiva hierbij van invloed geweest.

Uit het voorafgaande blijkt dat het moeilijk is om de uitstoting van een longtransplantaat te voorkomen zonder complicaties te veroorzaken die direct verband houden met de therapie die uitstoting moet tegengaan: klaarblijkelijk is het vaarwater tussen deze Scylla en Charybdis bij longtransplantatie bijzonder nauw.

Een mogelijke verklaring hiervoor hangt samen met het feit dat de long een bijzondere anatomische positie inneemt ten opzichte van organen als de nier, de lever en het hart, zoals wordt uiteengezet in het hierna volgende hoofdstuk.

(*Hoofdstuk 2*) De long staat in open verbinding met de buitenwereld en staat voortdurend bloot aan, al dan niet infectieuze en/of antigene, partikels in de inademingslucht. Als afweermechanisme tegen deze bedreiging van buitenaf bestaat er in de long, naast het mucociliaire apparaat en de alveolaire macrofagen, een specifieke, immunologische afweer. De long bevat dan ook, behalve talrijke lymfocytair aggregaten, gestructureerd lymfoïd weefsel, het "bronchus-associated lymphoid tissue" (BALT). Dit bestaat uit lymfoïde noduli, die in de wand van de bronchi liggen, veelal dicht bij een bifurcatie. Tevens bevinden zich rond de bronchi en de trachea talrijke lymfklieren. Transplantatie van een long brengt derhalve met zich mee dat vele lymfocyten en zelfs goed gestructureerd lymfoïd weefsel „meegetransplanteerd" worden. Het is heel wel denkbaar dat dit de uitstotingsreactie tegen een longtransplantaat bevordert.

De getransplanteerde lymfocyten zouden namelijk als "passenger leucocytes" kunnen bijdragen tot de initiëring van de uitstotingsreactie tegen het transplantaat. Ook zouden meegetransplanteerde lymfocyten zich kunnen richten tegen de ontvanger en een graft-versus-host reactie in gang kunnen zetten. Een dergelijke reactie is onder andere beschreven na transplantatie van de dunne darm en van de milt; beide zijn organen die evenals de long lymfoïd weefsel bevatten. In hoeverre een graft-versus-host reactie van invloed is op een uitstotingsreactie is onbekend.

Een ander mogelijk gevolg van de open verbinding van de long met de buitenwereld is dat de uitstotingsreactie bevordert wordt door een begeleidend bacterieel infect in de getransplanteerde long, analoog aan de specifieke immunostimulatie van bijvoorbeeld de adjuvans-therapie met BCG bij patiënten met een maligniteit.

(*Hoofdstuk 3*) De hierboven naar voren gebrachte veronderstellingen dat donorlymfocyten en een lokale infectie in een longtransplantaat de uitstotingsreactie tegen dit longtransplantaat kunnen bevorderen, hebben een duidelijk immunologisch karakter en dienen derhalve bij voorkeur getoetst te worden in immunogenetisch en bacteriologisch goed gestandaardiseerde dieren. Hiertoe leent het bij longtransplantatie-onderzoek veel gebruikte proefdier, de hond, zich niet of nauwelijks. De rat daarentegen is het proefdier bij uitstek voor dergelijk transplantatie-onderzoek. Omdat er geen geschikt model voor longtransplantatie bij de rat beschikbaar was, werd het in dit proefschrift beschreven onderzoek verricht, met als doel een dergelijk model te ontwikkelen. Hiertoe dienden de volgende vraagstellingen te worden beantwoord:

1. Is orthotop mogelijk?
 2. Is het mogelijk bepalen?
 3. Is er tussen van een ge
- De resultaten opgezet als af

(*Hoofdstuk 4*) voor orthotop werden 129 lo operatiemorta en operatiete anesthesie en mortaliteit ge mortaliteit be loop van het was thrombos de serie isoge hetgeen we, g de rat en long

(*Hoofdstuk 5*) planteerde lon succes werd functie-onder gebruik word nele röntgenf methode om b Op grond van fusiescintigraf Deze methode normale ratte de eerste groe met de result obductie. Dez zien dat slech functioneerde

de buitenwereld en
f antigene, partikels
deze bedreiging van
oparaat en de alveo-
veer. De long bevat
structureerd lymfoïd
(LT). Dit bestaat uit
veelal dicht bij een
de trachea talrijke
nalve met zich mee
oïd weefsel „meege-
t de uitstotingsreac-

s “passenger leuco-
ngsreactie tegen het
ocyten zich kunnen
ctie in gang kunnen
en na transplantatie
die evenals de long
us-host reactie van

van de long met de
ordt door een bege-
ng, analoog aan de
uvans-therapie met

onderstellingen dat
splantaat de uitsto-
rderen, hebben een
bij voorkeur getoetst
gestandaardiseerde
zoek veel gebruikte
ntegen is het proef-
ek. Omdat er geen
chikbaar was, werd
net als doel een der-
nde vraagstellingen

1. Is orthotope linkszijdige longtransplantatie bij de rat operatietechnisch mogelijk?
2. Is het mogelijk bij de rat de functie van een getransplanteerde long te bepalen?
3. Is er tussen de rat en de hond een verschil in het verloop van de uitstoting van een getransplanteerde long?

De resultaten van dit onderzoek zijn beschreven in een viertal hoofdstukken, opgezet als afzonderlijke tijdschriftartikelen.

(Hoofdstuk 4) Hierin wordt de ontwikkelde microchirurgische techniek voor orthotope linkszijdige longtransplantatie bij de rat beschreven. Er werden 129 longtransplantaties verricht. Aanvankelijk bestond er een hoge operatiemortaliteit, veroorzaakt door problemen van anesthesiologische en operatietechnische aard. Door de introductie van een goede inhalatie-anesthesie en verbeteringen van de operatietechniek kon de operatiemortaliteit geleidelijk worden teruggebracht tot 20%. De postoperatieve mortaliteit bedroeg circa 50% en veranderde niet noemenswaardig in de loop van het onderzoek. Een belangrijke oorzaak van postoperatieve dood was thrombose, die vooral optrad in de vena pulmonalis. Dit resulteerde bij de serie isogene transplantaties in een één-maandsoverleving van 36%, hetgeen we, gezien overeenkomstige percentages bij niertransplantatie bij de rat en longtransplantatie bij de hond, aanvaardbaar achten.

(Hoofdstuk 5) Voor onderzoek naar de functie van een bij de rat getransplanteerde long is bronchospirometrie, die in het verleden bij de hond met succes werd toegepast, niet bruikbaar. Omdat tegenwoordig voor long-functie-onderzoek, ook in longtransplantatie-experimenten, veelvuldig gebruik wordt gemaakt van scintigrafie, werd nagegaan of naast de traditionele röntgenfotografie gebruik kon worden gemaakt van een scintigrafische methode om bij de rat de functie van een longtransplantaat te onderzoeken. Op grond van praktische en theoretische voordelen werd gekozen voor perfusiescintigrafie met radioactief „gelabelde” microbolletjes.

Deze methode van functie-onderzoek bleek goed reproduceerbaar te zijn bij normale ratten, ondanks het kleine formaat van deze dieren, en leverde bij de eerste groep getransplanteerde ratten gegevens die goed overeenkwamen met de resultaten van thorax-röntgenfotografie en de waarnemingen bij obductie. Deze gegevens lieten in een groep lang levende ontvangerdieren zien dat slechts enkele transplantaten een maand na transplantatie nog functioneerden. Dit falen van het transplantaat werd waarschijnlijk veroor-

zaakt door "minor" histocompatibiliteitsverschillen tussen donor- en ontvangerdier, daar bij deze experimenten "random-bred" ratten werden gebruikt.

Zeer spoedig na het begin van het perfusie-onderzoek bij getransplanteerde dieren kwam de noodzaak tot resectie van de postcavale kwab van de rechter long naar voren. Wordt dit achterwege gelaten, dan kan verplaatsing van deze kwab naar de linker hemithorax drogbeelden geven, doordat de kwab voor een functionerend transplantaat wordt aangezien.

(Hoofdstuk 6) Vervolgens werd de invloed van zowel de operatie als ook de uitstotingsreactie op de functie van een getransplanteerde long onderzocht. Hiertoe werden isogene en allogene transplantaties verricht bij ingeteelde ratten in plaats van de "random-bred" ratten die bij het eerdere onderzoek waren gebruikt. De perfusie van isogene transplantaten (vergelijkbaar met autotransplantaten) was ten opzichte van een normale linker long direct postoperatief duidelijk slechter, maar enige maanden later vrijwel normaal. Dit kwam goed overeen met de resultaten van de thorax-röntgenfotografie, waarbij de transplantaten aanvankelijk een gesluierd en later een goed lucht-houdend beeld gaven, en met de waarnemingen bij obductie. Hierbij bleken de transplantaten kort na transplantatie oedemateus te zijn en later, afgezien van enige adhesies en atelectase, normaal.

Voor allogene transplantatie werd gebruik gemaakt van twee ingeteelde rattenstammen met een onderling verschillend "major" histocompatibiliteitssysteem. Dit geeft een vaststaand immunogenetisch verschil tussen donor- en ontvangerdieren. De perfusie van de allogene transplantaten kwam direct postoperatief overeen met die van de isogene transplantaten. Vanaf de vierde postoperatieve dag evenwel was de perfusie zonder uitzondering vrijwel tot nul gedaald. Deze afname in perfusie ging samen met een toenemende sluiering op de thoraxfoto's en een bij obductie waargenomen „hepatitis" van de long, kenmerkend voor de uitstoting van een longtransplantaat. Klaarblijkelijk verloopt de uitstotingsreactie bij ingeteelde ratten zo eenvormig dat vanaf een als het ware vaststaand tijdstip na transplantatie de perfusie van het transplantaat in korte tijd afneemt.

(Hoofdstuk 7) Hierin wordt de histopathologie van isogene en allogene transplantaten beschreven. Isogene transplantaten toonden de eerste dagen na transplantatie verspreide gebieden van exsudaat met segmentkernige leucocyten en macrofagen. Opvallend hierbij was het grote aantal type II

alveolaircellen. Bij allogene transplantatie werden de ratten een nagenoeg normale van het functioneren schijnlijk dat de transplantaat u. In de allogene transplantatie gestaag toenemend genomen. Aanvankelijk maar op de vierde rond de bronchiële architectuur van de gaan samen met de gezien de resultaten van de tratie resulteerde in een plantaat.

Opmerkelijk is de histologisch gezien. Hiermee vergeleken longtransplantaten geeft aan dat, doordat de compatibiliteitsverschillen veroorzaakt een seerd transplantaat.

Op grond van de eraan gewijde beelden:
1. Orthotope longtransplantaten mogelijk.
2. Longperfusies van een betrouwbare geteelde long te.
3. Bij de ingeteelde ratten functioneel en normaal hond.

Als slotsom kan worden gezegd dat transplantatie bij de rat een succesvolle is, geschikt voor de studie waarvan de noodzaak

tussen donor- en
"red" ratten werden

getransplanteerde
kwab van de rechter
an verplaatsing van
n, doordat de kwab

operatie als ook de
de long onderzocht.
richt bij ingeteelde
teerdere onderzoek
n (vergelijkbaar met
e linker long direct
ter vrijwel normaal.
k-röntgenfotografie,
later een goed lucht-
actie. Hierbij bleken
zijn en later, afgezien

van twee ingeteelde
"histocompatibili-
sch verschil tussen
gene transplantaten
gene transplantaten.
perfusie zonder uit-
sie ging samen met
bij obductie waarge-
e uitstoting van een
ngsreactie bij inge-
aststaand tijdstip na
rte tijd afneemt.

sogene en allogene
den de eerste dagen
met segmentkernige
grote aantal type II

alveolaircellen met een sterk pyroninofiel cytoplasma, mogelijk wijzend op een toegenomen surfactantproductie. Eén tot twee maanden na transplantatie werden deze afwijkingen niet meer gezien en toonden de transplantaten een nagenoeg normaal beeld. Dit maakt het, tezamen met de resultaten van het functie-onderzoek en de gegevens verkregen bij obductie, waarschijnlijk dat de door de operatie aangerichte schade aan de functie van het transplantaat uiteindelijk gering is.

In de allogene transplantaten werd vanaf de tweede postoperatieve dag een gestaag toenemende infiltratie van vooral mononucleaire leucocyten waargenomen. Aanvankelijk vindt deze infiltratie vooral perivascuair plaats, maar op de vierde postoperatieve dag was er ook een duidelijke infiltratie rond de bronchi en in de alveoli. Tegelijkertijd was op alveolair niveau de architectuur van het longweefsel enigszins aangedaan. Deze veranderingen gaan samen met een belangrijke afname in perfusie van het transplantaat, gezien de resultaten van het scintigrafisch onderzoek. De toenemende infiltratie resulteerde de achtste dag na transplantatie in een necrotisch transplantaat.

Opmerkelijk is de eenvormigheid waarmee, niet alleen functioneel maar ook histologisch gezien, bij de rat de uitstoting van longtransplantaten verloopt. Hiermee vergeleken vertoont de in de literatuur beschreven uitstoting van longtransplantaten bij de hond een aanmerkelijk pluriformer beeld. Dit geeft aan dat, door het gebruik van ingeteelde ratten, het constante histocompatibiliteitsverschil tussen donor en ontvanger een goed gestandaardiseerd transplantatiemodel oplevert.

Op grond van de resultaten van het hierboven beschreven onderzoek en de eraan gewijde beschouwingen zijn de volgende *conclusies* getrokken:

1. Orthotope linkszijdige longtransplantatie bij de rat is operatietechnisch mogelijk.
2. Longperfusiescintigrafie met radioactief „gelabelde“ microbolletjes is een betrouwbare methode om bij de rat de functie van een getransplanteerde long te bepalen.
3. Bij de ingeteelde rat verloopt de uitstoting na allogene longtransplantatie, functioneel en histologisch gezien, meer eenvormig dan bij de (bastaard) hond.

Als slotsom kan gesteld worden dat orthotope linkszijdige longtransplantatie bij de rat een praktisch bruikbaar en goed gestandaardiseerd diermodel is, geschikt voor immunologisch gericht longtransplantatie-onderzoek, waarvan de noodzaak in de inleidende hoofdstukken is aangegeven.