



## **Samenvatting proefschrift Dirk-Jan Slebos**

### **'Pathophysiology and airway inflammation in Bronchiolitis Obliterans after lung transplantation'**

**Promotie 12 november 2003  
Rijksuniversiteit Groningen**

**Promotor: Prof. dr. G.H. Koëter**

Diverse longziekten zoals de erfelijke alfa-1 antitrypsine deficiëntie en cystic fibrosis (taaislijm ziekte), longemfyseem, longfibrose, primaire en secundaire pulmonale hypertensie en een aantal nog zeldzamere longaandoeningen kunnen reeds op jonge leeftijd tot ernstige invaliditeit en sterfte leiden. Op het moment dat één van deze ziekten het eindstadium heeft bereikt is longtransplantatie de enige vorm van behandeling die nog beschikbaar is voor deze patiënten. Jaarlijks ondergaan in Nederland ongeveer 35 mensen een longtransplantatie, en wereldwijd zijn er de afgelopen 15 jaar ongeveer 15.000 patiënten getransplanteerd. Na de transplantatie blijft een longtransplantatiepatiënt echter een zeer onzekere toekomst houden. Daar waar een 'nier' na de transplantatie gemiddeld 10 jaar goed functioneert en de patiënt, als de nier ophoudt met werken daarna in veel gevallen weer worden gedialyseerd, overlijdt de helft van de longtransplantatiepatiënten binnen de eerste 5 jaar na de transplantatie. In de eerste zes maanden na de transplantatie overlijdt al één op de tien ontvangers van een getransplanteerde long. Na een succesvolle transplantatie zijn het vooral infecties in de longen en elders in het lichaam, ernstige nierbeschadiging, het sneller ontstaan van kanker, suikerziekte en door virusinfecties veroorzaakte lymfklierkanker stuk voor stuk voor elke patiënt een continue bedreiging. Het grootste probleem na longtransplantatie is echter het ontstaan van chronische afstoting van de getransplanteerde longen. Dit proces van chronische afstoting van de longen wordt 'bronchiolitis obliterans' genoemd. Deze ziekte kenmerkt zich door een steeds verdere beperking van de longfunctie. Dit heeft als gevolg dat de patiënt veel activiteiten door kortademigheid niet meer kan doen en de long erg gevoelig wordt voor infecties. Uiteindelijk is bronchiolitis obliterans verantwoordelijk voor het overlijden van meer dan de helft van de getransplanteerde patiënten.



Bronchiolitis obliterans ontstaat meestal na het eerste jaar volgend op de longtransplantatie, maar het is niet bekend hoe bronchiolitis obliterans ontstaat. Uit verschillende onderzoeken is gebleken dat veel factoren risico's zijn voor het ontstaan van bronchiolitis obliterans na longtransplantatie: de longen van een 'oudere' donor, een lange tijdsduur tussen de uitname van het orgaan en de transplantatie zelf, een groter aantal acute afstotingsreacties van de longen, virusinfecties, chronische luchtweginfecties, een groot verschil in weefseltypering tussen de donor en ontvanger van de longen en wellicht zelfs de medicijnen die worden gebruikt om de afstoting van de longen te voorkomen. Door al deze schadelijke 'prikkelers' voor de 'nieuwe' longen ontstaat een chronische beschadiging aan de bloedvaten- en vooral de kleinere luchtwegen in de long. Na beschadiging proberen weefselcellen in de long de schade te repareren. Als deze reparatie-reactie overdreven sterk verloopt ontstaat er een ophoping van dode cellen en littekenweefsel in de kleinere luchtwegen van de long, die uiteindelijk hierdoor volledig worden afgesloten. Door deze afsluiting kan er geen lucht meer van en naar het stukje long achter die afsluiting en werkt dus vervolgens niet meer mee aan de ademhaling. Uiteindelijk veroorzaakt dit proces een groot verlies van longfunctie.

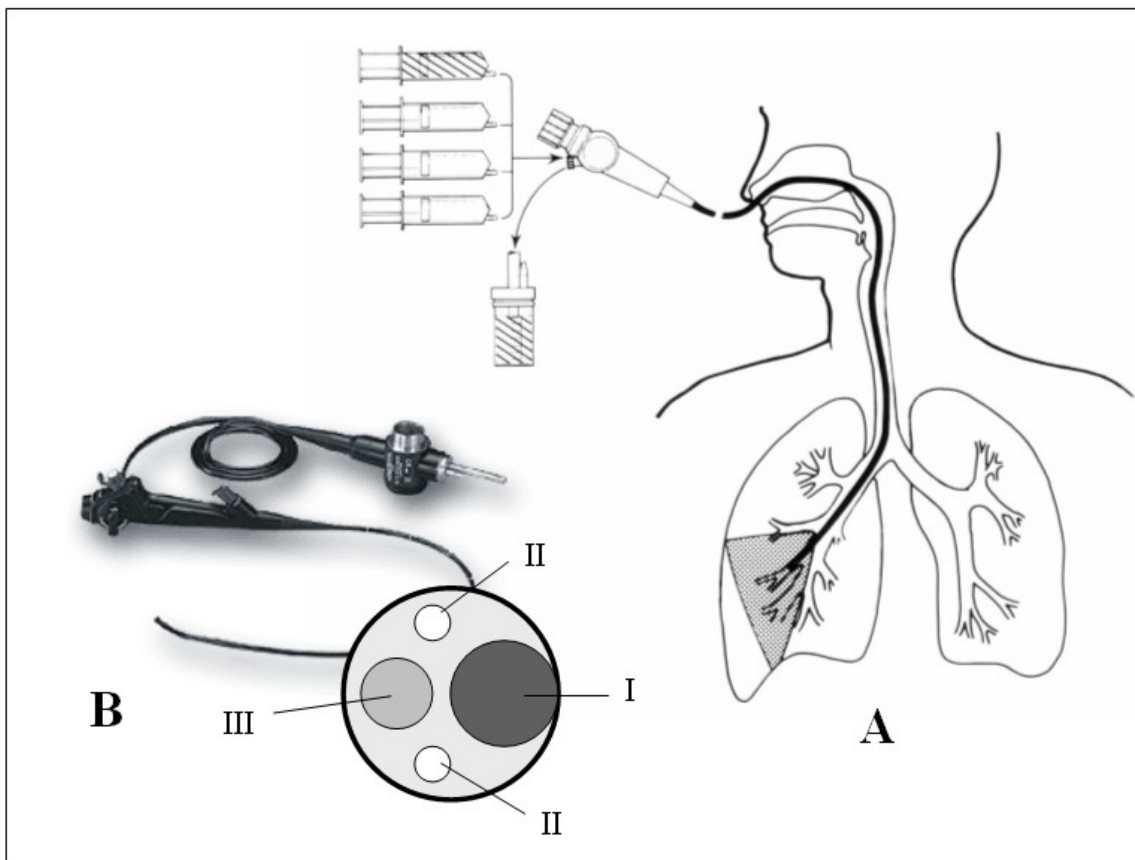
Het grote probleem van het ontstaan van bronchiolitis obliterans is dat het moeilijk op tijd te ontdekken is en dat er geen goede behandeling voor beschikbaar is. Op dit moment wordt aan de hand van het meten van de uitademingsnelheid van de lucht (longfunctie) vastgesteld hoe het met de getransplanteerde longen gaat. Op het moment dat deze uitademingsnelheid blijvend meer dan 20% achteruit is gegaan, is wereldwijd afgesproken dat er dan sprake is van het 'bronchiolitis obliterans syndroom' of kortweg 'BOS'.

Dit proefschrift is geschreven omdat het op dit moment niet goed mogelijk is bronchiolitis obliterans vast te stellen, omdat het niet bekend is hoe bronchiolitis obliterans ontstaat en omdat er eigenlijk geen goede behandeling voor beschikbaar is. Na een algemene inleiding over het ontstaan, het vaststellen en behandelen van bronchiolitis obliterans, behandelt dit proefschrift in het eerste deel het onderzoek naar de ontstekingsreactie in de luchtwegen na longtransplantatie en in deel twee de mogelijke toekomstige toepassing van een nieuwe therapie tegen afstoting na transplantatie.

Om de mate van ontsteking in de long te kunnen onderzoeken wordt er vaak gebruik gemaakt van de bronchoalveolaire lavage.



De bronchoalveolaire lavage is een techniek waarbij een klein gedeelte van de long wordt gespoeld met fysiologische zoutoplossing en onderzocht kan worden op allerlei cellen en eiwitten die in dat vocht mee terug zijn gezogen. Om een bronchoalveolaire lavage te kunnen uitvoeren is een bronchoscopie nodig. Dit is een flexibele dunne slang met een camera en een werkkanaal waardoor het vocht kan worden ingespoten en teruggezogen. In figuur 1 is te zien hoe een bronchoalveolaire lavage wordt uitgevoerd.



Figuur 1: bronchoalveolaire lavage.

Een klein gedeelte van de long wordt gespoeld (A) met behulp van een bronchoscoop (B). De ingespoten hoeveelheid fysiologisch zout (meestal 3-4x 50ml) wordt via de bronchoscoop teruggezogen en opgevangen in een verzamelpot. I-III: dwarsdoorsnede van de bronchoscoop; I: het 'werkkanaal'; II: 'de lichtbronnen'; III: de camera.



Er is tot nu toe al veel onderzoek gedaan met behulp van de bronchoalveolaire lavage om meer inzicht te krijgen in bronchiolitis obliterans na longtransplantatie. Hierbij worden ontstekingscellen en eiwitten bepaald in de bronchoalveolaire lavage vloeistof die is teruggezogen uit de patiënt. Er is echter tot nu toe nog nooit onderzocht wat de normale situatie in de longen is van deze cellen en eiwitten na een longtransplantatie. Daarom zijn we begonnen met het onderzoeken van de normale hoeveelheid en de onderlinge verdeling van de verschillende ontstekingscellen in de longen na longtransplantatie. Hierbij blijkt vooral dat deze erg verschilt van patiënten zonder longtransplantatie, waarschijnlijk als gevolg van het gebruik van medicijnen om afstoting van de longen te voorkomen. Daarnaast veranderen in de eerste twee jaar na de transplantatie de verhoudingen van deze ontstekingscellen sterk. Na het vaststellen van de normale verdeling van de ontstekingscellen in de long na transplantatie, zijn we gaan onderzoeken hoe afwijkend die verdeling van ontstekingscellen is en welke eiwitten met name aanwezig zijn als er bronchiolitis obliterans aanwezig is in de longen. Het blijkt dat met name het percentage neutrofiële granulocyten (een ontstekingscel) en de hoeveelheid interleukine-8 (een eiwit dat een ontstekingsreactie door de neutrofiële granulocyt stimuleert) sterk verhoogd kan zijn bij patiënten met bronchiolitis obliterans. Het uitvoeren van een bronchoalveolaire lavage na longtransplantatie kan dus bijdragen aan het opsporen van bronchiolitis obliterans. Nadat we onderzocht hadden welke cellen en eiwitten kenmerkend waren als er eenmaal chronische afstoting in de longen aanwezig was, zijn we gaan onderzoeken of er in die bronchoalveolaire lavage ook cellen en eiwitten te vinden waren die voorspellend zijn of een patiënt op een later tijdstip een chronische afstoting zal krijgen. Vervolgens laten we zien dat in de eerste bronchoalveolaire lavage na longtransplantatie met name de aanwezigheid van de eosinofiele granulocyt en een sterk verhoogd interleukine-6 gehalte in grote mate voorspellend zijn voor het ontstaan van bronchiolitis obliterans op een later moment. Na het vaststellen van de normaalwaarden in de bronchoalveolaire lavage (na longtransplantatie), na deze vervolgens te hebben onderzocht in bronchiolitis obliterans en de voorspellende factoren voor het ontstaan van bronchiolitis obliterans in de bronchoalveolaire lavage te hebben onderzocht, zijn we gaan onderzoeken welke invloed de medicijnen, die de patiënten gebruiken om te voorkomen dat de long wordt afgestoten, hebben op de aanwezigheid van de diverse ontstekingscellen in de getransplanteerde longen.

De laatste jaren zijn er een groot aantal nieuwe medicijnen beschikbaar gekomen om afstoting van organen na transplantatie te voorkomen. Van deze medicijnen wordt veronderstelt dat ze beter werken, maar dat is tot nu toe nog niet goed onderzocht.



Uit ons onderzoek blijkt dat in de eerste maand na longtransplantatie de ontstekingscellen in de longen erg verschillen wanneer we patiënten onderzoeken die gebruik maken van de 'traditionele' en met de 'nieuwe' medicijnen. Theoretisch lijkt het gebruik van de nieuwe medicijnen tot een betere verhouding van de verschillende ontstekingscellen te leiden. Deze betere verhouding zou in theorie kunnen leiden tot minder infecties en minder afstotingsreacties na longtransplantatie. Om te laten zien dat het gebruik van de bronchoalveolaire lavage als onderzoeksmethode niet alleen voor wetenschappelijk gebruik nuttig is, laten we tevens zien dat we met deze methode ook andere ziekten na longtransplantatie kunnen vaststellen. Bij een patiënt die getransplanteerd is vanwege sarcoïdose in de longen, waren we in staat door middel van het gebruik van de bronchoalveolaire lavage de sarcoïdose opnieuw vaststellen in de getransplanteerde long. Omdat het uitvoeren van de bronchoalveolaire lavage toch een redelijk belastend onderzoek voor de patiënt is, hebben we ook onderzocht of de minder belastende methode van 'sputuminductie' geschikt zou zijn om uit te voeren bij patiënten na longtransplantatie. Naast de bronchoalveolaire lavage is ook sputuminductie een methode om materiaal (met name cellen) uit de luchtwegen te verkrijgen en wordt als zodanig regelmatig gebruikt bij het wetenschappelijk onderzoek naar astma. We hebben laten zien dat deze methode in 93% succesvol is bij patiënten die goed hersteld zijn van de transplantatie, en dat zonder noemenswaardige bijwerkingen. Sputuminductie zou daarom een methode kunnen zijn om patiënten vaker dan nu mogelijk is te onderzoeken, om op die manier meer inzicht te krijgen in het ontstaan van bronchiolitis obliterans na longtransplantatie. Het enige nadeel is dat de samenstelling van de ontstekingscellen in het sputum wel verschillend is ten opzichte van de bronchoalveolaire lavage.

De laatste jaren wordt er steeds meer bekend over de sterke beschermende werking van het eiwit haem oxygenase-1 en het gas koolstof monoxide tegen afstotingsreacties na transplantatie. We zijn allereerst gaan beschrijven wat er tot nu toe bekend is in de wetenschappelijke literatuur over haem oxygenase-1 en koolstof monoxide. Haem oxygenase-1 is het eiwit dat de sturende factor is voor de afbraak van het haemoglobine. Bij die afbraak komt onder andere koolstof monoxide vrij in het lichaam. Hoewel koolstof monoxide bekend is als een verstikkend gas (waardoor wereldwijd nog steeds slachtoffers vallen) is koolstof monoxide in lage concentraties (te vergelijken met de hoeveelheid koolstof monoxide die de ingeademde rook van 10-15 sigaretten per dag bevat) een molecuul dat een beschermende werking heeft bij ontstekingsreacties zoals de afstoting van getransplanteerde organen.



In theorie kan een behandeling gericht op het verhogen van de activiteit van haem oxygenase-1 in het lichaam, of het inademen van een lage concentratie koolstof monoxide wellicht de afstotingsreactie na transplantatie voorkomen. Om in eerste instantie te beoordelen of zowel het haem oxygenase-1 als ook het koolstof monoxide een rol speelt bij het ontstaan van bronchiolitis obliterans hebben we het gehalte aan koolstof monoxide gemeten in de uitgeademde lucht van patiënten na longtransplantatie. Bij de meting van koolstof monoxide hebben wij geen verschil kunnen aantonen tussen patiënten met en zonder bronchiolitis obliterans. Bij het gelijktijdig meten van stikstof monoxide zagen we dat de hoeveelheden stikstof monoxide-gas gemeten in de uitademingslucht van patiënten met BOS hoger was dan van de patiënten zonder BOS. Het stikstof monoxide-gas lijkt een uiting te zijn van de ontstekingsactiviteit die aanwezig is in de luchtwegen bij patiënten met bronchiolitis obliterans. Vervolgens hebben we onderzocht hoeveel haem oxygenase-1 er in de long na de transplantatie voorkomt. Uit dit onderzoek blijkt dat de hoeveelheid haem oxygenase-1 bij patiënten met bronchiolitis obliterans hoger is dan bij longtransplantatiepatiënten die dit niet hebben. Die verhoging kan een reactie zijn op de sterke prikkels die de chronische afstotingsreactie veroorzaakt in de longen. Uit vooronderzoek met zowel opgekweekte cellen van patiënten na een longtransplantatie als met ratten waarin experimentele longtransplantatie is uitgevoerd hebben wij op dit moment al een sterk beschermende werking van haem oxygenase-1 activatie en toediening van een lage concentratie CO kunnen aantonen op zowel een aantal ontstekingsreacties als op de afstoting van getransplanteerde longen in de rat.

Samengevat is bronchiolitis obliterans na longtransplantatie een zeer ernstige aandoening. Bij het ontstaan ervan zijn zeer verschillende factoren van invloed. Al deze factoren veroorzaken een ontstekingsreactie in de long, die uiteindelijk tot het ontstaan van volledig afgesloten kleine luchtwegen leidt. Met behulp van bronchoalveolaire lavage hebben we meer inzicht in de aanwezige ontstekingsreactie bij bronchiolitis obliterans gekregen en we hopen in de komende jaren met nieuwe analysetechnieken dit inzicht verder te verfijnen. Met name gezien de nog steeds zeer sombere levensverwachting van patiënten na longtransplantatie lijkt behandeling met het verhogen van de haem oxygenase-1 activiteit in het lichaam, dan wel met het toepassen van lage concentraties koolstof monoxide een toekomstige reële behandelingsmogelijkheid in de transplantatiegeneeskunde.