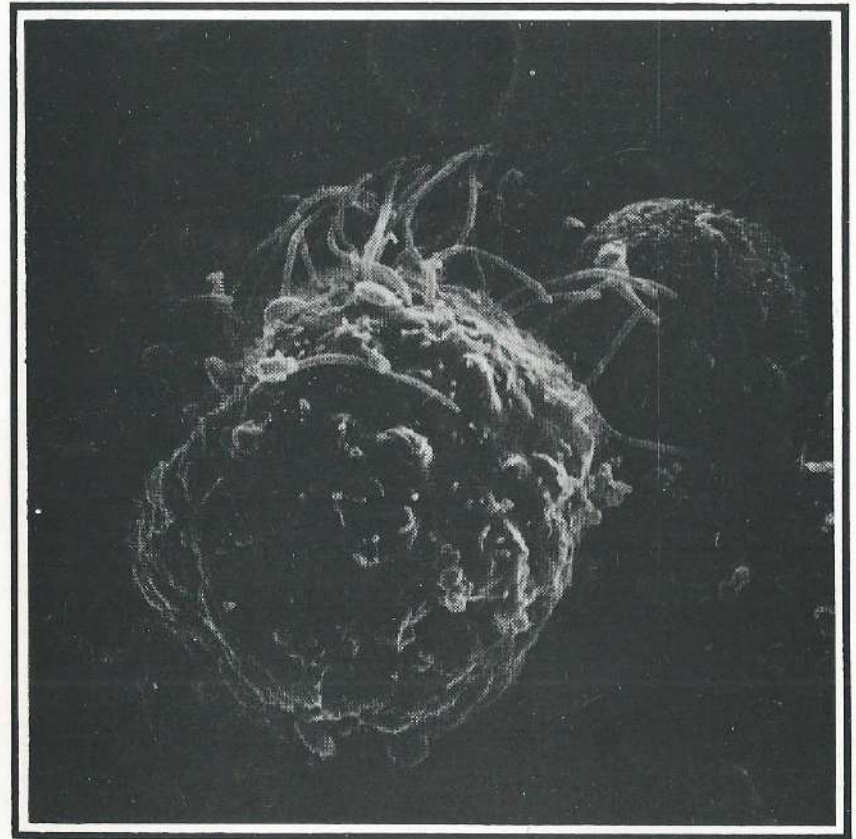




Primaire Ciliaire Dyskinesie

S. van der Baan

Primaire Ciliaire Dyskinesie

S. van der Baan

VRIJE UNIVERSITEIT TE AMSTERDAM

PRIMAIRE CILIAIRE DYSKINESIE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van
doctor in de geneeskunde
aan de Vrije Universiteit te Amsterdam,
op gezag van de rector magnificus, dr. P.J.D. Drenth,
hoogleraar in de faculteit der sociale wetenschappen,
in het openbaar te verdedigen
op vrijdag 7 juni 1985 te 13.30 uur
in het hoofdgebouw der universiteit,
De Boelelaan 1105

door

SIEBEREN VAN DER BAAN

geboren te Amsterdam

Drukkerij Kanters b.v.

Promotor : Prof. dr. L. Feenstra
Copromotor : Dr. A.J.P. Veerman
Referent : Prof. dr. W. Leene

I do not believe an animal is viable without dynein, although dynein arms are sometimes difficult to see".

M.A. Sleigh

Dit onderzoek werd mogelijk gemaakt door een subsidie van het Nederlands Astma Fonds.

Het proefschrift werd bewerkt in de afdeling Keel-, neus- en oorheelkunde van het Academisch Ziekenhuis der Vrije Universiteit (hoofd: Prof. dr. G.B. Snow), in de afdeling Subcellulaire Pathologie van het Pathologisch Instituut van het Academisch Ziekenhuis der Vrije Universiteit (hoofd: Prof. dr. C.J.L.M. Meijer), in het laboratorium voor Histologie en Celbiologie van de Universiteit van Amsterdam, in de afdeling Nucleaire Geneeskunde van het Academisch Ziekenhuis der Vrije Universiteit (hoofd: Dr. G.A.K. Heidendal) en in de afdeling Medische Statistiek van de Faculteit der Geneeskunde van de Vrije Universiteit (hoofd: Dr. Ir. P.D. Bezemer). De foto's van figuur 21 en 22 (hoofdstuk 4) werden vervaardigd door Dr. K.P. Dingemans, afdeling Pathologische Anatomie van het Academisch Medisch Centrum.

Het manuscript werd getypt door Gerrie Buys.

Ik betuig mijn dank aan iedereen die heeft bijgedragen aan het tot stand komen van dit proefschrift.

INHOUD

Inleiding	7
Hoofdstuk 1. Syndroom van Kartagener en primaire ciliaire dyskinesie	9
1.1 Geschiedenis	9
1.2 Etiologie	10
1.3 Prevalentie en genetische aspecten	10-16
1.4 Klinische verschijnselen	21
Hoofdstuk 2. Trilhaarepitheel	27
2.1 Inleiding	27
2.2 De trilhaardragende cel	28
2.3 Morfologie van de trilhaar	31
2.4 Trilhaaractiviteit	34
2.5 Mucus	37
2.6 Histologie en electronen microscopie bij luchtwegaandoeningen	38
Hoofdstuk 3. Mucociliair transport	45
3.1 Inleiding	45
3.2 Normaal mucociliair transport	45
3.3 Factoren die het mucociliair transport kunnen beïnvloeden	46
3.3.1 Fysiologische factoren	47
3.3.2 Vochtigheid en temperatuur	47
3.3.3 Pharmacologische beïnvloeding van het mucociliair transport	48
3.3.4 Het mucociliair transportmechanisme en enkele luchtwegaandoeningen	53
3.3.5 Enkele externe factoren	60
3.4 Diagnostiek van mucociliair transport	62
Hoofdstuk 4. Transmissie electronenmicroscopie	67
4.1 Onderzochte personen	67
4.2 Methode	68
4.3 Resultaten	71
4.3.1 Dyneïne armen	71
4.3.2 Nexine verbindingen	83
4.3.3 Spaken	83
4.3.4 Centrale schede	88
4.3.5 Oriëntatie van de trilharen	91
4.3.6 Afwijkend aantal centrale microtubuli	96
4.3.7 Incomplete microtubuli	100
4.3.8 Transpositie	103
4.4 Conclusies	107
Hoofdstuk 5. Scanning electronenmicroscopie	111
5.1 Inleiding	111
5.2 Materiaal en methode	112
5.3 Resultaten	113
5.4 Bespreking	119
5.5 Conclusies	121

Hoofdstuk 6. Trilhaaractiviteit	123
6.1 Inleiding	123
6.2 Onderzochte personen	124
6.3 Methode	125
6.4 Doel van het onderzoek	128
6.5 Resultaten	128
6.6 Reproduceerbaarheid van de scoringsmethode	141
6.6.1 Opzet	141
6.6.2 Methode	141
6.6.3 Resultaten en conclusies	143
6.7 Conclusies	144
Hoofdstuk 7. Mucociliair transport in de neus	147
7.1 Inleiding	147
7.2 Doelstelling	148
7.3 Methode	148
7.4 Stralingsbelasting	149
7.5 Onderzochte personen	151
7.6 Resultaten	152
7.7 Discussie en conclusies	153
Samenvatting en beschouwingen	159
Summary	163
Literatuur	167

INLEIDING.

Primaire ciliaire dyskinesie is een aangeboren afwijking van de trilharen, waarbij de beweeglijkheid van de trilharen is gestoord. Meestal kunnen ultrastructurele veranderingen van de trilharen hiervoor verantwoordelijk worden gesteld. Door deze afwijking is het belangrijkste reinigingsmechanisme van de luchtwegen, het mucociliair transport, levenslang afwezig. Patiënten met deze aandoening lijden vanaf de eerste levensdagen aan chronische en recidiverende luchtweginfecties, met een overvloedige productie van slijm. Bovendien hebben deze patiënten een grote kans op onherstelbare beschadigingen van hun luchtwegen.

Deze aangeboren afwijking van de trilharen is voor het eerst ontdekt bij patiënten met het syndroom van Kartagener. Voor deze afwijking werd aanvankelijk de naam immotiele cilia syndroom geïntroduceerd. Later bleek dat de trilharen niet alleen onbeweeglijk waren, maar ook een abnormale activiteit konden vertonen. Sindsdien wordt deze afwijking primaire ciliaire dyskinesie genoemd.

Een primaire ciliaire dyskinesie kan niet worden genezen. Het ontbrekende mucociliair transport kan door een aantal geschikte maatregelen voor een belangrijk deel worden gecompenseerd. Door deze maatregelen en door een adequate behandeling van de luchtweginfecties vermindert de ernst van de aandoening en kunnen blijvende beschadigingen worden voorkomen. Het is daarom belangrijk het bestaan van een primaire ciliaire dyskinesie zo vroeg mogelijk vast te stellen.

Doel van dit onderzoek is het aangeven van richtlijnen waarmee in het slijmvlies van de neus een primaire ciliaire dyskinesie kan worden gediagnostiseerd.

In de eerste 3 hoofdstukken wordt een overzicht gegeven van de beschikbare literatuur over de primaire ciliaire dyskinesie, het trilhaar-epitheel en het mucociliair transport. In de hoofdstukken 4 en 5 worden de ultrastructurele veranderingen van de trilharen bij primaire ciliaire dyskinesie beschreven. In hoofdstuk 6 wordt vermeld hoe met een voor dit onderzoek ontwikkelde methode een afwijkende trilhaaractiviteit in slijmvliesbiopten kan worden vastgesteld. In hoofdstuk 7 wordt tenslotte beschreven hoe met de bepaling van het mucociliair transport in de

neus de indicatie tot het verrichten van een slijmvliesbiopsie nauwkeuriger kan worden gesteld.

Hoofdstuk 1

SYNDROOM VAN KARTAGENER EN PRIMAIRE CILIAIRE DYSKINESIE

1.1 GESCHIEDENIS

De eerste beschrijving van een patiënt met recidiverende sinusitiden, bronchiëctasieën en een situs inversus verschijnt in 1904. Siewert beschrijft een man van 21 jaar die onmiddellijk na zijn geboorte was begonnen te hoesten, vanaf zijn 10e jaar gepaard gaand met het opgeven van overvloedig purulent sputum. De ouders van deze patiënt en zijn broer zijn gezond. De man blijkt in lichamelijke en geestelijke ontwikkeling te zijn achtergebleven. Er is sprake van een complete situs inversus, tevens blijken er trommelstokvingers aanwezig. Op grond van de anamnese neemt Siewert aan dat de bronchiëctasieën congenitaal zijn. De tweede publicatie verschijnt in 1909. Oeri beschrijft een vrouw van 46 jaar met een overeenkomstige ziektegeschiedenis.

Door Günther wordt in 1923 voor het eerst het familiair voorkomen van dit ziektebeeld vermeld. Hij beschrijft een gezin met 4 kinderen: 1 dochter met een situs inversus en aangetoonde bronchiëctasieën, 1 dochter met een situs inversus en recidiverende bronchitiden ("bronchiaal catarrh"), terwijl de 2 andere kinderen gezond zijn.

In 1933 worden door Kartagener 4 patiënten beschreven met bronchiëctasieën, sinusitiden, polyposis nasi en een complete situs inversus. Vanaf die tijd staat de trias sinusitiden, bronchiëctasieën en een situs inversus bekend onder de naam syndroom van Kartagener. Twee jaar later, in 1935, beschrijven Kartagener en Horlacher een gezin met 3 kinderen: 2 dochters vertonen het syndroom, de zoon is volkomen gezond (1935-I). Later in dat jaar publiceren zij over hun elfde geval (1935-II). Kartagener neemt aan dat aan de bronchiëctasieën en de sinusitiden eenzelfde, erfelijke afwijking ten grondslag ligt en dat de bronchiëctasieën derhalve congenitaal zijn, een mening die overeenkomt met de opvattingen van de duitse chirurg Sauerbruch (1927). In datzelfde jaar beschrijft Behrmann (1935) een man van 21 jaar met een totale situs inversus, bij wie het opgeven van sputum pas optrad na een pneumonie op de leeftijd van 16 jaar. Dit is de eerste publicatie

waarin aan het congenitaal zijn van de bronchiëctasieën wordt getwijfeld. In 1937 verschijnt de eerste publicatie over de trias in het engels. Adams en Churchill beschrijven 23 patiënten met een situs inversus waarvan 5 patiënten lijden aan recidiverende infecties van de bovenste luchtwegen en bronchiëctasieën. Zij constateren dat bij meer dan 90% van de patiënten met bronchiëctasieën chronische infecties van de bovenste luchtwegen voorkomen en geloven dat de bronchiëctasieën de primaire aandoening zijn en de sinusitiden secundair hieraan, ofwel dat beide afwijkingen een gevolg zijn van eenzelfde aandoening. In 1950 zijn er inmiddels 80 patiënten met de complete trias bekend.

Bergstrom et al (1950) melden voor het eerst dat er binnen een gezin varianten van het syndroom kunnen voorkomen. De auteurs beschrijven een gezin met 6 kinderen: 2 jongens vertonen het complete syndroom, 1 jongen en 1 meisje hebben alleen bronchiëctasieën en sinusitiden zonder een situs inversus, de 2 overige zoons zijn gezond. De vader heeft als volwassene last gekregen van chronische sinusitiden, de moeder is gezond. In 1958 beschrijven Overholt en Bauman een gezin met 4 kinderen: 1 dochter van 5 jaar met een complete trias, 2 zoons met alleen sinusitiden en 1 dochter van 14 jaar met alleen sinusitiden en bronchiëctasieën, zonder een situs inversus. Opmerkelijk is dat de oudste dochter een lobectomie moest ondergaan, terwijl een bronchografie op de leeftijd van 6 jaar nog geen afwijkingen liet zien. De ouders zijn gezond. De variabiliteit van het syndroom binnen hetzelfde gezin wordt later in vele publicaties bevestigd (Cook et al 1962 / Imperato et al 1964 / Logan et al 1965 / Holmes et al 1968 / Aarons en Powel 1969 / Miller en Divertie 1972 / Rott et al 1978 / Elverland 1979 / Gonzales Pineda et al 1981).

1.2 ETIOLOGIE

In zijn eerste publicatie in 1933 stelt Kartagener dat de bronchiëctasieën een congenitale afwijking zijn, waarschijnlijk een gevolg van een congenitaal defect van de bronchuswand. De bronchiëctasieën zijn geen gevolg van de infecties der bovenste luchtwegen; wel is het mogelijk dat aan beide, gelijktijdig voorkomende ziektebeelden een gemeenschappelijke oorzaak ten grondslag ligt. Het zo frequent voorkomen van de bronchiëctasieën bij mensen met een situs inversus én de hoge frequentie

van andere anomalieën bij een situs inversus ondersteunt zijn mening. Adams en Churchill (1937) maken een onderscheid tussen mensen met alléén een situs inversus zonder enige andere afwijkingen (mutatie) en mensen met een situs inversus als onderdeel van een grotere groep anomalieën (monstrum), met bronchiëctasieën en meer congenitale afwijkingen (bronchiëctasieën: een stigma van een foutieve aanleg). Olsen (1943) stelt dat bij patiënten met de trias een aangeboren aanlegstoornis van de bronchuswanden bestaat maar dat bij tenminste de helft van de patiënten exogene factoren zoals een infectie van de gedilateerde bronchi noodzakelijk zijn om de bronchiëctasieën klinisch manifest te maken; bij sommige mensen met een situs inversus is een geërfde afwijking van de tractus respiratorius aanwezig welke predisponeert tot het ontstaan van bronchiëctasieën en sinusitiden. Churchill (1949) poneert dat deze predispositie is gelegen in een pathologisch veranderde secretoire activiteit van de respiratoire mucosa. Hij beschrijft twee kinderen met een situs inversus, agenesie van de neusbijholten en een overvloedige productie van secreet in de bovenste en onderste luchtwegen. Door zorgvuldige medische begeleiding, waaronder fysiotherapie en adequate chemotherapie, werd bij deze kinderen het ontstaan van bronchiëctasieën voorkomen.

In 1950 wint de gedachte dat de bronchiëctasieën secundair zijn aan een bepaalde stoornis van de respiratoire mucosa steeds meer terrein. Nimmer zijn bij een pasgeborene met het syndroom van Kartagener bronchiëctasieën aangetoond. Bij het syndroom staan niet zozeer bronchiëctasieën centraal doch veeleer de gegeneraliseerde bronchitiden (Knox et al 1960). Ook Holmes et al (1968) komen tot de conclusie dat het een aandoening betreft van de gehele tractus respiratorius, en dan met name van het respiratoire epitheel. De symptomatologie van het syndroom wordt veroorzaakt door afsluiting van de luchtwegen door dik, taai secreet. Bij histologisch onderzoek van het epitheel worden slechts aspecifieke ontstekingsverschijnselen gevonden. In zijn latere publicaties, over totaal 334 patiënten met de volledige trias, stelt ook Kartagener (1956 en 1962) dat de bronchiëctasieën secundair kunnen zijn aan een aangeboren defect van de tractus respiratorius. Het is niet mogelijk een anatomisch of histopathologisch onderscheid te maken tussen "gewone" bronchiëctasieën en de bronchiëctasieën van patiënten met een situs inversus (Kartagener en Stucki 1962 / Stauffer 1967). De

precieze aard van deze erfelijke aandoening van de tractus respiratorius blijft nog lange tijd onbekend.

Holmes et al (1968) vinden bij 2 kinderen met het syndroom een tijdelijk tekort aan IgG en een IgA deficiëntie in het serum. Hypersensitiviteit kan niet worden aangetoond. Talrijk zijn de publicaties waarin melding wordt gemaakt van een normale cellulaire en humorale immuniteit bij patiënten met het syndroom van Kartagener (Sharma 1972 / Tendler en Schaarschmidt 1972 / Yarnal et al 1982). Ook Rott et al (1978) vinden een normale cellulaire en humorale immuniteit in een gezin van 10 kinderen, waarvan 2 kinderen het volledige syndroom vertonen en waarvan 5 aan chronisch recidiverende luchtweginfecties lijden. Opmerkelijk is wel dat de 2 kinderen met het volledige syndroom een identiek HLA-type blijken te hebben, terwijl dat van de ouders en de resterende kinderen verschillend is. Er bestaat geen duidelijke correlatie met bloedgroepen (Knox et al 1960 / Cook et al 1962). Bij onderzoek van chromosomen worden veelal normale waarden gevonden (Siebner en Flach 1964 / Logan et al 1965 / Holmes et al 1968 / Katsuhara et al 1972 / Rott 1979).

Reeds in 1952 maakt Torgersen melding van een sterk verminderde fertiliteit bij een man met het syndroom van Kartagener. Dit feit wordt ook in latere publicaties wel onderkend doch geniet weinig aandacht. In 1960 beschrijft Arge 3 mannen en een vrouw met de complete trias, uit 2 gezinnen met een hoge mate van consanguiniteit (de vaders waren broers, de moeders waren zusters; de ouders hadden gemeenschappelijke overgrootouders). Alle mannelijke gezinsleden hadden kinderen, uitgezonderd de 3 mannen met het syndroom van Kartagener. Bij één van deze mannen, getrouwd met een vrouw die uit een eerder huwelijk kinderen had, werd sperma onderzocht: 91% van de lichtmicroscopisch normale spermatozoën bleek onbeweeglijk. De verklaring van deze onbeweeglijkheid laat nog 15 jaar op zich wachten. Dan verschijnen in 1975 praktisch tegelijk 2 publicaties. Pedersen en Rebbe (1975) onderzoeken de spermatozoën van een infertiele man met een situs inversus. De spermatozoën leven maar zijn onbeweeglijk, overigens worden er bij lichtmicroscopisch onderzoek en bij onderzoek van de metabole parameters geen afwijkingen gevonden. Bij electronenmicroscopisch onderzoek (transmissie electronenmicroscopie) blijkt er in de axonemata van de spermatozoën-staarten een totaal gebrek aan dyneïne-armen te be-

staan (zie hoofdstuk 2). De ultrastructuur van de spermatozoën is overigens normaal. Afzelius et al (1975) onderzoeken het zaad van 2 infertiele broers, één met het syndroom van Kartagener en de ander met chronische sinusitiden en bronchiëctasieën. Ook zij vinden in 100% van de onbeweeglijke spermatozoën een totale afwezigheid van het dyneïne. In de twee beschreven publicaties wordt al een verband gelegd tussen de onbeweeglijke spermatozoën-staarten en een mogelijke onbeweeglijkheid van de identiek gebouwde trilharen in de tractus respiratorius. Na deze twee publicaties raakt het onderzoek in een stroomversnelling. In hetzelfde jaar, 1975, tonen Camner et al bij 2 mannen met het syndroom van Kartagener een vrijwel afwezige mucociliaire klaring in de longen aan. Pedersen en Mygind (1976) vinden bij een vrouw met het syndroom van Kartagener een afwezig mucociliair transport in de neus. Bij deze patiënte wordt voor het eerste de afwezigheid van dyneïne in de trilharen van de bovenste luchtwegen vastgesteld. Voor dit ziektebeeld wordt de naam immotiele cilia syndroom geïntroduceerd.

Ruim 70 jaar na de eerste beschrijving van een patiënt met sinusitiden, bronchiëctasieën en een situs inversus kan er voor deze trias een redelijke verklaring worden gegeven: het congenitaal ontbreken van het dyneïne in de trilharen en spermatozoën-staarten veroorzaakt onbeweeglijkheid met als gevolg chronisch recidiverende infecties van de bovenste en onderste luchtwegen, een kans op het ontwikkelen van bronchiëctasieën en een subfertiliteit bij mannen. Door de onbeweeglijkheid van bepaalde embryonale trilharen berust de plaats van de viscera op puur toeval: 50% van de patiënten met het immotiele cilia syndroom vertoont een situs inversus (Afzelius 1976 / Eliasson et al 1977).

In de hierop volgende jaren verschijnt er een reeks publicaties over diverse andere ultrastructurele afwijkingen van trilharen bij patiënten met het immotiele cilia syndroom:

- alleen ontbreken van de binnenste dyneïne armen:

Afzelius en Eliasson 1979-II

Neustein et al 1980

Schneeberger et al 1980

Van der Baan et al 1981

Whitelaw et al 1981

Parker et al 1983

- alleen ontbreken van de buitenste dyneïne armen of de aanwezigheid van rudimentaire buitenste armen:
 - Gerald et al 1978
 - Camner et al 1979
 - Jahrsdoerfer et al 1979
 - Rooklin et al 1980
 - Konradova et al 1982
 - Schidlow et al 1982
 - Lewis 1983
 - Becker et al 1984
- alleen desoriëntatie van de trilharen:
 - Afzelius 1981-II
 - Capeder et al 1982
- ontbreken van axonemata in de trilharen:
 - Baccetti et al 1980
 - Fonzi et al 1982
- ontbreken van spaken:
 - Sturgess et al 1979
 - Schneeberger et al 1980
 - Antonelli et al 1981
 - Corkey et al 1981
 - Lungarella et al 1982
 - Herzon 1983
- abnormale positie van de dyneïne armen:
 - Watanabe en Okuda 1984
- veranderde configuratie van de dyneïne armen (spiegelbeeld):
 - Schidlow et al 1982
- transpositie van een perifeer paar microtubuli naar centraal met ontbreken van de centrale tubuli:
 - Sturgess et al 1980
 - Lungarella et al 1982
 - Herzon 1983
- incomplete microtubuli:
 - Herzon 1981
 - Fischer et al 1984
- ontbreken van nexine verbindingen:
 - Schneeberger et al 1980

Afzelius 1982

- ontbreken van spaakkoppen, één of beide centrale microtubuli en de centrale schede:

Afzelius en Eliasson 1979-II

- geen ultrastructurele afwijkingen:

Herzon en Murphy 1980

Afzelius 1982

Schidlow en Katz 1983

Mygind et al 1983-II

Tevens bleken trilharen zonder dyneïne armen te kunnen bewegen, echter met een lage frequentie, een afgenomen amplitude en een verlies van het metachroon ritme (Pedersen et al 1978 / Pedersen en Mygind 1980 / Veerman et al 1980 / Rossman et al 1980-II / Rutland en Cole 1980 / van der Baan et al 1981 en 1982). Bij het ontbreken van de buitenste dyneïne armen alleen blijkt vaak enige activiteit van de trilharen aanwezig (Camner et al 1979 / Svedberg et al 1981). Bij deze patiënten blijkt er een positieve correlatie te bestaan tussen de slagfrequentie enerzijds en het aantal en de grootte van de buitenste dyneïne armen anderzijds; er is geen relatie tussen de slagfrequentie en de binnenste dyneïne armen (Rutland et al 1983-I). Rossman et al (1980-III en 1981) menen dat de diverse ultrastructurele afwijkingen samengaan met specifieke stoornissen in de trilhaaractiviteit: bij het ontbreken van de dyneïne armen zou alleen het middelste deel van de trilhaar bewegen, bij het ontbreken van de spaken is er alleen activiteit van de basis en de top, bij de aanwezigheid van transpositie beweegt alleen de top van de trilhaar. Deze auteurs vinden dat de slagfrequentie van de trilharen bij een dyneïne deficiëntie lager is dan bij het ontbreken van spaken en/of bij de aanwezigheid van transpositie. Toevoeging van ATPase aan de trilhaarbiopten doet de trilhaaractiviteit toenemen. Pedersen (1983-I) vindt dat een tekort aan buitenste dyneïne armen vooral een lagere slagfrequentie veroorzaakt en dat een tekort aan binnenste dyneïne armen met een verstoorde bouw van het axonema vooral de synchroniciteit verstoort. Een zeer snelle, vibrerende slag met een kleine amplitude wordt gezien bij trilharen zonder specifieke ultrastructurele afwijkingen. Patiënten met het syndroom van Kartagener en hun verwanten, bij wie ultrastructurele afwijkingen in de trilharen

aanwezig zijn, vertonen een geringer percentage cellen met beweeglijke trilharen dan gezonde personen en patiënten met onverklaarbare luchtweginfecties (Rossman et al 1980-III / Mygind et al 1983-II).

De mannelijke subfertiliteit kan door verschillende genetische defecten van de axonemata der spermatozoën-staarten worden veroorzaakt zoals een dyneïne deficiëntie (Pedersen en Rebbe 1975 / Afzelius et al 1975 / Baccetti et al 1975), afwijkingen in aantal en rangschikking van de microtubuli (Sturgess et al 1979) en afwezigheid van axonemata (Baccetti et al 1980). Er bestaat een correlatie tussen de afwijkingen van de trilharen en de spermatozoën-staarten, deze is echter niet absoluut (Camner et al 1979 / Afzelius 1981-I / Jonsson et al 1982).

De trilharen van patiënten met het immotiele cilia syndroom vertonen behalve de genoemde specifieke afwijkingen ook aspecifieke afwijkingen van de ultrastructuur, zoals deze bij iedere chronische luchtweginfectie worden gezien. Het meest frequent worden hierbij afwijkingen in het aantal microtubuli gevonden. De basaallichamen vertonen echter vrijwel altijd een normale bouw, bestaande uit 9 tripletten; hetzelfde geldt voor de centriolen in de spermatozoën en in de leucocyten van deze patiënten. De basaallichamen kunnen wel een desoriëntatie vertonen (Afzelius 1983).

Voor deze heterogene aandoening, waarbij verschillende congenitale afwijkingen in de ultrastructuur van trilharen en spermatozoën-staarten een onbeweeglijkheid of een afwijkend bewegingspatroon veroorzaken, resulterend in een vrijwel afwezig mucociliair transport en in een subfertiliteit, wordt de naam primaire ciliaire dyskinesie voorgesteld (Sleigh et al 1981-I / van As 1982-I).

1.3 PREVALENTIE EN GENETISCHE ASPECTEN

In 1938 verricht Cockayne een literatuurstudie over situs inversus. Op grond van het familiair voorkomen, de verdeling binnen een gezin en de hoge frequentie van consanguiniteit bij de ouders van deze mensen, komt hij tot de conclusie dat een totale situs inversus wordt geërfd als een autosomaal recessief gen. De prevalentie van een situs inversus schat hij tussen 1:9.000 en 1:24.000. In latere publicaties blijkt dat de prevalentie in West-Europa en de V.S. 1:11.000 bedraagt en in Japan 1:4.400 (tabel 1). Dit verschil wordt naar alle waarschijnlijkheid veroor-

zaakt door de hoge frequentie van consanguiniteit binnen de Japanse huwelijken (Katsuhara et al 1972).

tabel 1. Prevalentie van situs inversus

auteurs	onderzoek	aantal onderzochte personen	frequentie van situs inversus
Adams en Churchill (1937)	opnames in ziekenhuis	232.112	1:10.000
Gould (1945)	bevolkingsonderzoek	442.252	1:11.000
Caplan 1946	keuring van recruten	100.000	1:13.000
Torgersen (1949)	bevolkingsonderzoek	139.596	1: 8.000
Lowe en McKeown (1954)	bevolkingsonderzoek	95.362	1: 7.000
Miller en Divertie (1972)	opnames in ziekenhuis	1.300.000	1:12.000
totaal (West-Europa en V.S.)			1:11.000
Kawaba et al (1955)	bevolkingsonderzoek	195.009	1: 4.600
Katsuhara et al (1972)	bevolkingsonderzoek	16.566	1: 4.100
totaal (Japan)			1: 4.400

In zijn eerste publicatie wijst Kartagener (1933) al op het feit dat bij mensen met een situs inversus opmerkelijk vaak bronchiëctasieën kunnen worden aangetoond. In 1935 vindt hij onder 30 mensen met een situs inversus 6 patiënten met bronchiëctasieën. Kautzky publiceert in 1936 een artikel over de etiologie van bronchiëctasieën; van 4 mensen met een situs inversus bleek er 1 bronchiëctasieën te hebben. Adams en Churchill beschrijven in 1937 23 mensen met een situs inversus, waarvan 5 mensen met de complete trias (tabel 2).

tabel 2. Frequentie van bronchiëctasieën bij situs inversus.

auteurs	aantal patiënten met een situs inversus	situs inversus met bronchiëctasieën	percentage
Kartagener en Horlacher (1935)	30	6	20 %
Kautzky (1936)	4	1	25 %
Adams en Churchill (1937)	23	5	21.7%

Deze frequenties worden in latere publicaties over grotere aantallen patiënten bevestigd. In 1943 analyseert Olsen 85 patiënten met een situs

inversus: bij 16.5% kunnen bronchiëctasieën worden aangetoond. Torgersen (1949) vindt bij een bevolkingsonderzoek een percentage van 22,4% en Katsuhara (1972) een percentage van 25% (tabel 3).

tabel 3. Frequentie van bronchiëctasieën bij personen met een situs inversus en bij personen zonder een situs inversus.

auteurs	onderzoek	frequentie van personen met situs inversus	bronchiëctasieën personen zonder situs inversus
Adams en Churchill (1937)	opnames in ziekenhuis	21.7%	0.306%
Olsen (1943)	opnames in ziekenhuis	16.5%	0.3 %
Torgersen (1949)	bevolkingsonderzoek	22.4%	0.5 %
Katsuhara et al (1972)	bevolkingsonderzoek	25.0%	0.17 %
Miller en Divertie (1972)	opname in ziekenhuis	17.9%	0.5 %

Bij mensen met een situs inversus zijn in 16.5% - 25.0% bronchiëctasieën aanwezig, bij mensen zonder een situs inversus in 0.17% - 0.5%. Hoewel er een duidelijke relatie blijkt te bestaan tussen bronchiëctasieën en een situs inversus vormt deze groep patiënten slechts een klein onderdeel van het totaal aantal patiënten met bronchiëctasieën. In een analyse van 215 patiënten met bronchiëctasieën vinden Lindskog en Hubbel (1955) slechts bij 3 mensen (1.4%) een situs inversus. Op grond van bovenstaande gegevens bedraagt de waargenomen prevalentie van het syndroom van Kartagener, uitgaande van de combinatie bronchiëctasieën en een situs inversus, voor Japan 1:18.000 en voor de Westerse landen variërend van 1:29.000 tot 1:68.000 (tabel 4).

tabel 4. Prevalentie van de combinatie bronchiëctasieën en situs inversus

auteurs	onderzoek	prevalentie
Guenther (1923)/Kartagener en Horlacher (1935-II)	secties	1:29.000
Adams en Churchill (1937)	opnames in ziekenhuis	1:45.000
Torgersen (1949)	bevolkingsonderzoek	1:40.000
Kawabe et al (1955)/Katsuhara et al (1972)	bevolkingsonderzoek	1:18.000
Miller en Divertie (1972)/Amjad et al (1974)	opnames in ziekenhuis	1:68.000

Het was al lang bekend dat bij verwanten van patiënten met de trias van Kartagener veel vaker luchtwegaandoeningen voorkwamen dan verwacht mocht worden. Torgersen (1952) beschrijft dat bij 77 broers en zusters van 28 mensen met de trias in 25% bronchiëctasieën aanwezig waren, terwijl dit slechts in 0.6% het geval was bij 496 broers en zusters van mensen met alleen een situs inversus. Tevens blijkt uit zijn onderzoek dat consanguiniteit bij het overerven van de luchtwegaandoening een grotere rol speelt dan bij het overerven van de situs inversus: in gezinnen met de volledige trias werd in 6% een huwelijk tussen neef en nicht en in 16% een huwelijk tussen achterneef en achternicht gevonden, vergeleken met respectievelijk 2.2% en 3.8% bij de gezinnen met alleen een situs inversus. Onder 44 ouders van patiënten met de trias komen bij 18% chronische luchtweginfecties voor, vergeleken met 1% van de ouders van patiënten met alleen een situs inversus. De opvallend hoge frequentie van het syndroom in Japan wordt verklaard door de sterke mate van consanguiniteit binnen de Japanse huwelijken. Onder de Polynesiërs van Nieuw Zeeland, eveneens een groep met veel consanguiniteit blijkt HLA-onderzoek, worden bij 1:167 mensen bronchiëctasieën gevonden. Opmerkelijk is dat de klinische verschijnselen en de ultrastructurele afwijkingen bij deze mensen hetzelfde zijn als bij de patiënten met het syndroom van Kartagener, een situs inversus komt echter bij deze bevolking niet voor (Waite et al 1978 en 1981 / Wakefield en Waite 1980).

De sterke familiale incidentie van het complete syndroom, het niet voorkomen van de complete trias in 2 opeenvolgende generaties, het feit dat broers en zusters (28.9% bij Holmes et al 1968) verschillende combinaties van de onderdelen van het syndroom kunnen vertonen, de hoge frequentie van consanguiniteit onder ogenschijnlijk gezonde ouders (18% bij Moreno en Murphy 1981), het voorkomen van de trias bij monozygote tweelingen (Safian en Mandeville 1959), de afwezigheid van enige seksvoorkeur (Pastore en Olsen 1941), het feit dat verwanten steeds dezelfde ultrastructurele afwijking vertonen (Chao et al 1982) en het feit dat de ultrastructurele afwijkingen die bij patiënten met het syndroom van Kartagener voorkomen ook worden gevonden bij genetische mutaties van muizen en lagere organismen (Afzelius 1963, 1981-III en 1982 / Bryan 1983) maken waarschijnlijk dat het hier om een autosomaal recessieve afwijking gaat (Kartagener 1962 / Holmes et al 1968 / Moreno en Murphy

1981 / Afzelius 1981-II). De variabiliteit waarmee verschillende organen zijn aangedaan is een uiting van het pleiotrope effect van deze afwijking. De hoge frequentie van luchtwegaandoeningen bij ouders (18% bij Torgersen 1952; 12.6% bij Rott 1979, tabel 5) passen moeilijk in dit concept.

tabel 5. Klinische verschijnselen bij 1e-graads verwanten van patiënten met het syndroom van Kartagener (Rott 1979).

	aantal 1e-graads verwanten	luchtweg- infecties	bronchiëctasieën
ouders	103	13 (12.6%)	1 (1%)
broers en zusters	135	31 (23.0%)	15 (11.1%)
kinderen	30	2 (6.7%)	--

Wat betreft het ontbreken van bronchiëctasieën bij de kinderen moet worden aangetekend dat deze afwijkingen zich op latere leeftijd kunnen ontwikkelen.

De waargenomen frequentie van het syndroom van Kartagener bedraagt voor de Westerse landen variërend van 1:29.000 tot 1:68.000, voor Japan 1:18.000. Gaat men echter uit van een erfelijke aandoening van trilharen en spermatozoën-staarten, die in ongeveer 50% gepaard gaat met een situs inversus, die leidt tot chronisch recidiverende luchtweg-infecties en mannelijke subfertiliteit, predisponerend tot het ontstaan van bronchiëctasieën, dan moet de frequentie van deze aandoening tussen de 1:14.500 en 1:34.000 liggen (Japan 1:9.000). Op grond hiervan kan een gen-frequentie worden berekend van 1:120 - 1:184 (Japan 1:94), met een frequentie van heterozygoten van 1:60 - 1:92 (Japan 1:47) als het zou gaan om een niet-heterogeen syndroom; dit laatste lijkt niet het geval want er zijn verschillende ultrastructurele varianten beschreven (Rott 1979).

Het is een opvallend hoge prevalentie voor een aandoening die mannelijke patiënten subfertil of infertil maakt. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat er ongeveer 100 genen betrokken zijn bij de opbouw van een axonema met meer dan 130 verschillende polypeptiden. Een mutatie van één van de vele genen zou de verschijnselen kunnen geven (Piperno et al 1977 / Afzelius 1982). Het is ook mogelijk dat bij de opbouw van het dyneïne in trilharen en in spermatozoën verschillende genen zijn betrokken, waardoor bij sommige patiënten de beweeglijkheid

van trilharen en spermatozoën in verschillende mate is aangetast (Lungarella et al 1982).

1.4 KLINISCHE VERSCHIJNSELEN

De belangrijkste symptomen van het syndroom van Kartagener zijn het chronisch hoesten en het opgeven van overvloedige hoeveelheden mucoïd en mucopurulent sputum. Kenmerkend is het vroege tijdstip waarop anamnestic deze verschijnselen beginnen. In de literatuur zijn hiervan talrijke voorbeelden te vinden:

- "Husten unmittelbar nach der Geburt" (Siewert 1904)
- "Das Leiden habe mit dem Geburtstag begonnen" (Kartagener 1933)
- "A toujours toussé" (Weill et al 1948)
- "Bronchitis all his life" (Conway 1951)
- "Cough since birth" (Dickey 1953)

Kinderen worden vaak kort na de geboorte opgenomen in verband met asphyxie, atelectase en bronchopneumonieën. Anamnestic wordt vaak gesproken van een vruchtwateraspiratie (Schoemperlen en Carey 1963 / Monnet 1978 / Guerrant et al 1978 / Whitelaw et al 1981). Daarnaast treden, zeker op jonge leeftijd, verschijnselen van de bovenste luchtwegen op de voorgrond: chronische rhino-sinusitiden met taaie helderwitte rhinorrhoe, agenesie en hypoplasie van de sinus frontales, polyposis nasi, hyposmie, frontaal gelocaliseerde hoofdpijn, otitis media serosa met een geleidingsverlies en een verminderde pneumatisatie van het mastoid (Safian en Mandeville 1959 / Holmes et al 1968 / Sethi 1975 / Jahrsdoerfer et al 1979 / Turner et al 1981 / Yarnal et al 1982).

De frequentie van acute purulente ontstekingen van neusbijholten en middenoor lijkt niet verhoogd (Pedersen en Mygind 1982). Volgens Ernstson et al (1984) maken deze patiënten in hun jeugd wel frequenter een acute purulente otitis media door, bij een vrijwel continu aanwezige otitis media serosa; na adolescentie resteert een atelectatisch trommelvlies met een luchthoudend middenoor en een gering geleidingsverlies. Anamnestic is vaak sprake van herhaalde kaakspoelingen en paracenteses.

Rond het derde jaar beginnen dilataties van de bronchi op te treden,

eerst cilindrisch en later sacculair (Holmes et al 1968 / Rott 1979). Meestal zijn beide longen gelijkmatig aangedaan, het frequentst in de onderkwabben. Chronische bronchitis is een constant gegeven, niet zelden kan al op jonge leeftijd emphyseem worden aangetoond. Bij onderzoek van de longfunctie worden obstructieve afwijkingen gevonden, slecht reagerend op bronchodilatoren en gepaard gaand met een verlaagd zuurstofgehalte van het arteriële bloed (Mossberg et al 1978-II en 1982 / Corkey et al 1981 / Turner et al 1981 / Gatzemeier en Seidenberg 1983). De longfunctie gaat in de loop der tijd meest langzaam achteruit, vergelijkbaar met de verslechtering van de longfunctie zoals deze ook wordt gezien bij patiënten met mucoviscoïdose zonder pancreasinsufficiëntie (Kollberg et al 1978 / Corkey et al 1981). Trommelstokvingers kunnen aanwezig zijn. Mucociliaire klaring in de bovenste en onderste luchtwegen is praktisch afwezig. Beta₂-sympaticomimetica geven hierbij slechts een geringe verbetering (Camner et al 1975 / Kollberg et al 1978 / Rossman et al 1980-I / Sturgess et al 1980 / Kärjä et al 1982). Bij het ontstaan van bronchiëctasieën verergeren de pulmonale symptomen. Er is geen correlatie aantoonbaar tussen de ernst van de klinische verschijnselen en de ernst van de dyneïne deficiëntie (Chao et al 1982).

De diagnose syndroom van Kartagener wordt het meest in de tweede en derde decade gesteld, als de ernst van de bronchiëctasieën opname in een ziekenhuis noodzakelijk maakt. Op dat tijdstip is bij gemiddeld 30% van de patiënten een segment-resectie of een lobectomie noodzakelijk (Rott 1979 / Capeder et al 1982). Verwacht mag worden dat dit percentage zal afnemen bij een vroegere herkenning van de ziekte.

De jongste patiënt die in de literatuur worden beschreven is een pasgeborene bij wie de diagnose op grond van rhinorrhoe, atelectase, cyanose en een totale situs inversus na een etmaal werd gesteld (Nichamin 1956). De oudste patiënt is een man van 88 jaar die werd opgenomen in verband met een pneumonie (Amjad et al 1974).

De situs inversus is meestal compleet. Kartagener en Horlacher (1935-II) beschrijven een patiënt met een normaal gelocaliseerde maag en lever, Dickey (1953) beschrijft een patiëntje met alleen een dextrocardie, in de serie van Miller en Divertie (1972) blijkt bij 3 van de 19 patiënten alleen een thoracale situs inversus aanwezig. Holmes et al (1968), Teichberg et al (1982) en Parker et al (1983) publiceren over

patiënten met alleen een abdominale situs inversus. Linkshandigheid komt bij personen met het syndroom van Kartagener of met een situs inversus niet vaker voor.

Malformaties

Er bestaan talrijke publicaties over andere congenitale malformaties bij patiënten met het syndroom van Kartagener:

- hartmalformaties: Bergstrom et al 1950
Dickey 1953
Divekar 1956
Holmes et al 1968
Sethi 1975
- longmalformaties: Mayo en Lexington 1961
Aarons en Powel 1969
Amjad et al 1974
- tr. urogenitalis: Kartagener en Horlacher 1935-I
Bergstrom et al 1950
Erasmus 1952
Holmes et al 1968
Capeder et al 1982
- skeletmalformaties: Aimes 1948
Conway 1951
- oogafwijkingen: Segal et al 1963
Rott et al 1978
Svedbergh et al 1981
- binnenoor: Kartagener 1933
Lake en Sharma 1973
- mucoviscoïdose: Brown en Smith 1959
Burnell en Robertson 1974
- polysplenie: Schidlow et al 1982
Teichberg et al 1982

Een uitgebreid overzicht van de literatuur over andere congenitale malformaties bij patiënten met het syndroom van Kartagener wordt gegeven door Rott (1979). De frequentie waarmee andere malformaties

voorkomen bij patiënten met het syndroom van Kartagener verschilt waarschijnlijk niet veel van de gemiddelde bevolking. De frequentie ligt bij een geïsoleerde situs inversus beduidend hoger (Cockayne 1938 / Olsen 1943 / Holmes et al 1968 / Katsuhara et al 1972 / Afzelius en Mossberg 1980-I). Een moeilijk in te schatten rol speelt de consanguiniteit onder de ouders van deze patiënten.

Functie van neutrophiele granulocyten

Diverse publicaties zijn gewijd aan de functie van neutrophiele granulocyten bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie. Het basaallichaam van trilharen komt sterk overeen met de centrioles en algemeen wordt aangenomen dat microtubuli rond de centrioles een rol spelen bij de motiliteit en phagocytose van de granulocyten (Malech et al 1976). Caleb et al (1977) vinden een verminderde chemotaxis bij een patiëntje van 13 maanden. Lupin en Misko (1978) vinden bij 2 patiënten een licht verminderde bactericide capaciteit van de neutrophiele granulocyten, alle overige functies blijken normaal. Malech et al (1979) melden een abnormale migratie van neutrophiele granulocyten bij 4 patiënten met een overigens normale ultrastructuur van de granulocyten en een normaal aantal microtubuli.

In de studies van Afzelius et al (1980-II) en van Palmblad et al (1982) blijkt bij 4 van de 8 patiënten alleen na stimulatie met serum en/of E.Coli-factor de migratie-capaciteit van de granulocyten verminderd, met een verstoorde oriëntatie. De afgenomen migratie is bij deze patiënten niet te stimuleren met ascorbine-zuur zoals bij patiënten met de ziekte van Chediak-Higashi, waarbij een stoornis in het cyclisch GMP resulteert in een defecte aanmaak van microtubuli waardoor de chemotaxis en bactericide capaciteit afneemt (Oliver 1976). Knudsen et al (1983) vinden een geringe stoornis in de functies die verband houden met de motiliteit zoals de mobilisatie, de chemotaxis en de phagocytose van de staphylococcus aureus, terwijl de bactericide capaciteit normaal is. Neffen et al (1980) vinden bij 6 patiënten een verminderde huidreactie op bacteriële antigenen, Candida Albicans en PPD. Alle in vitro testen van cellulaire en humorale immuniteit zijn echter normaal.

Tegenover de beschreven publicaties staan de studies van Gibney en Herbert (1980), Corkey et al (1982) en Pullan et al (1983). Deze au-

teurs vinden bij patiënten met een aangetoonde primaire ciliaire dyskinesie een normale migratie, phagocytose, bactericide capaciteit en degranulatie van lysozomen van neutrophiele granulocyten.

Het is mogelijk dat bij bepaalde patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie de recidiverende luchtweginfecties niet alleen worden veroorzaakt door een afgenomen mucociliaire klaring, maar mede worden veroorzaakt door een gestoorde functie van de neutrophiele granulocyten; de afwijkingen in de granulocyten-functies kunnen misschien een gevolg zijn van de chronisch recidiverende infecties.

Fertiliteit

De fertiliteit van vrouwen met primaire ciliaire dyskinesie is waarschijnlijk niet verminderd ondanks het ontbreken van dyneïne in de trilharen van de tuba Fallopii (Imperato et al 1964 / Afzelius 1978-II en 1981-II / Jean et al 1979 / Renckens 1979). In de literatuur wordt geen melding gemaakt van een verhoogde frequentie van ectopische zwangerschappen. De subfertiliteit van mannelijke patiënten wordt veroorzaakt door de sterk verminderde beweeglijkheid van de spermatozoën (Arge 1960 / Afzelius et al 1975, 1976 en 1979-I / Sturgess et al 1979). Sporadisch worden mannelijke patiënten met kinderen beschreven, zonder dat er nauwkeurig onderzoek naar het vaderschap wordt vermeld (Logan et al 1965 / Rott 1979). Een geringe beweeglijkheid is waargenomen bij spermatozoën waarvan alleen de buitenste dyneïne armen ontbreken (Camner et al 1979). Tevens is het denkbaar dat bij sommige patiënten de beweeglijkheid van de trilharen meer is aangetast dan de beweeglijkheid van de spermatozoën. Jonsson et al (1982) beschrijven een mannelijke patiënt met een gezonde zoon; bij onderzoek blijkt het dyneïne in de trilharen van neus en bronchi totaal afwezig, de spermatozoën tonen een normale beweeglijkheid en ultrastructuur. Verschillen in dyneïne deficiëntie tussen trilharen en spermatozoën bij eenzelfde patiënt zijn beschreven (Lungarella et al 1982).

Hoofdstuk 2

TRILHAAREPITHEEL

2.1 INLEIDING

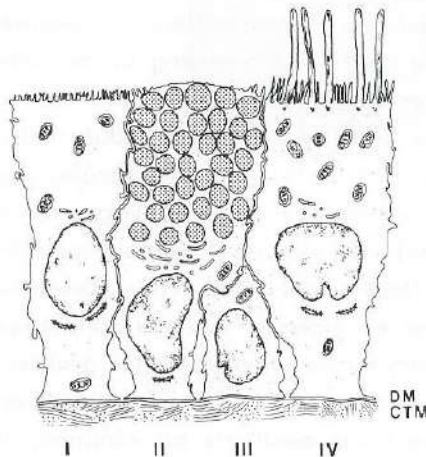
Vaak wordt gelezen dat de eerste beschrijving van bewegende trilharen afkomstig is van Antoni van Leeuwenhoek in zijn 18e brief naar The Royal Society te Londen. Van Leeuwenhoek zond het origineel van zijn brief naar Henry Oldenburg die de brief tot ongeveer de helft inkortte en hem vertaalde voor de Transactions (Observations on Animalcula seen in rain, well, sea and snow water. Phil. Trans. 12, 821-831, 1677). Purkinje en Valentin (1835) echter beweren in hun monografie over de trilhaarbeweging dat de ontdekker van het trilhaarepitheel de zeeuwse geneesheer Antonius de Heide was, die de trilhaarbeweging bij mosselen beschreef en daar enkele jaren later verslag van deed (Anatome Mytuli, Belgicè Mossel, structuram elegantem ejusque motum mirandum exponens, 1683) (Lindeboom 1980). De eerste beschrijving van verplaatsing van water door trilhaaractiviteit bij kikkervisjes is afkomstig van de schotse fysioloog William Sharpey (1830). Enkele jaren daarna verschijnt het werk van Purkinje en Valentin (1835) waarin de trilhaarbeweging wordt beschreven als een fundamenteel en algemeen verschijnsel, zowel aan uitwendige als aan inwendige vliezen bij hoger en bij lager georden- de dieren voorkomend, en publiceert Sharpey (1835) gegevens over mucociliair transport in de neus en de sinus maxillaris bij konijnen. In 1871, 16 jaar na de eerste beschrijving van de indirecte laryngoscopie door Garcia, bericht Henry Veale over mucociliair transport in de larynx, door hem waargenomen met een spiegel.

Vanaf 1922 is het vooral Proetz die het functioneren van het trilhaar- epitheel en de betekenis ervan voor de bovenste luchtwegen bij de mens bestudeert (Proetz 1953), samen met Hilding (1931 en 1932) en Lucas (1933).

2.2 DE TRILHAARDRAGENDE CEL

Trilhaardragende cellen komen verspreid in het lichaam voor: de tractus respiratorius, delen van de ependymbekleding van de ventrikels en de canalis centralis van het ruggemerg, de ductuli efferentes op de grens van de testis en de epididymis, de bekleding van de tuba Fallopii bij de fimbriae en in de pars ampullaris, delen van de cervix en de saccus lacrimalis.

Het respiratoir epitheel is een niet-verhoornend meerrijig cilindrisch epitheel. In vroegere studies werden enkele cellen in dit epitheel beschreven: trilhaardragende cellen, slijmbekercellen, cellen met een borstelzoom en basale cellen (fig 1). Spoendlin (1959) vermeldt dat de

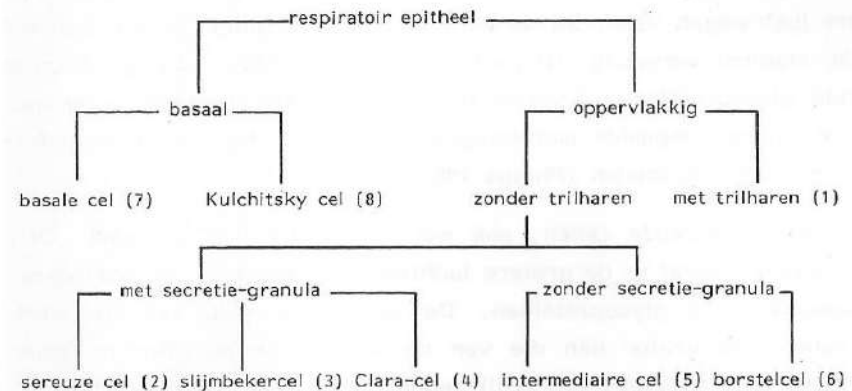


figuur 1.

Tekening van respiratoir epitheel onder de transmissie electronenmicroscop. I cel met een borstelzoom. II slijmbekercel. III basale cel. IV trilhaardragende cel.

uit: N. Mygind, Nasal Allergy, p. 9. Blackwell Sci. Publ. 1979.

cellen met een borstelzoom microvilli bezitten en dat in het cytoplasma vaak secretie-granula kunnen worden gezien, zodat deze cel zowel een resorberende functie als ook een secernerende functie bezit. Hij stelt dat deze cellen kunnen transformeren in slijmbekercellen. Rhodin (1966) beschrijft ook nog intermediaire cellen met een sterke mitose-activiteit, ontstaan uit de basale cellen. In latere studies worden door de betere electronenmicroscopie meer cellen ontdekt en kan de structuur van deze cellen nauwkeuriger worden beschreven (fig 2).



figuur 2. Cellen van het respiratoir epitheel (naar: P.K. Jeffery en L.M. Reid, The respiratory mucous membrane; in: Respiratory Defense Mechanisms, part 1, p 200, 1976) M. Dekker, Inc. New York.

1. Trilhaardragende cellen zijn de meest frequent voorkomende cellen in het respiratoir epitheel. Zij komen in de gehele tractus respiratorius voor, inclusief middenoor en tuba Eustachii, met uitzondering van het voorste één-derde deel van het cavum nasi, delen van de nasopharynx, oropharynx, hypopharynx, het grootste deel van de epiglottis, de stembanden, plicae ary-epiglotticae, de distale delen van de bronchioli respiratorii en de alveoli. Van perifeer naar centraal in de tractus respiratorius komen er relatief meer trilhaardragende cellen voor, de trilharen worden langer en per cel worden meer trilharen gezien: in de neus gemiddeld 50 trilharen per cel, in de trachea gemiddeld 200 per cel. Tussen de trilharen worden talrijke microvilli gezien, met een mogelijke resorberende functie. Trilhaardragende cellen dragen waarschijnlijk bij tot de vorming van de periciliaire laag (paragraaf 2.5). In het apicale deel van het cytoplasma van deze cellen worden tussen de wortels van de trilharen talrijke mitochondriën gezien.

De ontwikkeling van trilhaardragende cellen vindt bij de menselijke foetus plaats tussen de 9e en de 16e week; zij kan worden gezien als de eerste stap in de differentiatie van embryonaal epitheel naar respiratoir epitheel (Larsen en Tos 1982).

Voor een gedetailleerde beschrijving van de morfologie en de functie van de trilharen wordt verwezen naar de paragrafen 2.3 en 2.4.

2. Epitheliale sereuze cellen. Deze cellen komen voornamelijk in de

grotere luchtwegen voor. Bij de mens zijn zij waarschijnlijk alleen in het foetale stadium aanwezig (Hayashi en Huber 1980). Zij produceren neutrale glycoproteïnen, lysozym en de epitheliale transfer factor van het IgA. Onder bepaalde omstandigheden kunnen deze cellen transformeren in slijm-bekercellen (Phipps 1981).

3. Epitheliale muceuze cellen, ook wel slijmbekercellen genoemd. Deze cellen worden vooral in de grotere luchtwegen gevonden. Zij produceren voornamelijk zure glycoproteïnen. De secretie-granula van de slijm-bekercellen zijn groter dan die van de sereuze cellen. Onrijpe slijm-bekercellen zijn soms met microvilli bedekt (Watson en Brinkman 1964).

4. Clara-cellen, ook wel bronchiolaire secretoire cellen genoemd, komen bij de mens voornamelijk in de terminale bronchioli voor. De precieze aard van de secretie is nog onbekend, mogelijk zijn het glycoproteïnen of lipiden. Bij beschadiging van het epitheel kunnen de Clara-cellen als stamcel voor de andere cel-soorten fungeren.

5. Intermediaire cellen. Deze spoelvormige cellen komen in de hele tractus respiratorius voor. Zij bevatten geen secretie-granula of trilharen en zij kunnen in de andere celtypes differentiëren.

6. Borstelcellen. In tegenstelling tot de intermediaire cellen is het oppervlak van deze cel bedekt met een borstelzoo van microvilli. Het cytoplasma bevat geen secretie-granula. De functie van deze cellen is onbekend, mogelijk dat zij door resorptie bijdragen tot de diepte van de periciliaire laag (zie ook paragraaf 2.5).

7. Basale cellen. Deze cellen rusten op de basaalmembraan. In deze laag wordt de grootste mitose-activiteit gezien. Vanuit deze cellen ontwikkelen zich de andere epitheliale cellen.

8. Kulchitsky cel. Ook deze cel reikt meestal niet tot het lumen van de luchtwegen. In de bronchi komt deze cel bij volwassenen voor, doch zij wordt vaker gezien bij prematuren. De betekenis van deze cel is nog niet duidelijk; er zijn aanwijzingen dat zij betrokken is bij de opname van amines en dat zij bij een hypoxie secretoire granula met serotonine secerneert.

ad 1 en 6. De functie van de microvilli is niet precies bekend. Per cel komen 300-400 microvilli voor, met een lengte van 2 micrometer en een diameter van 0.1 micrometer. Per cel hebben alle microvilli eenzelfde lengte. Tussen de cellen onderling bestaat er een verschil in de lengte van de microvilli; dit hangt samen met de leeftijd van de cel. Dit verschil in lengte wordt nauwelijks tussen de trilharen van aangrenzende cellen gezien. Microvilli lijken derhalve langzamer te groeien dan trilharen (Greenwood en Holland 1972/Mygind 1973 en 1975).

Mogelijk spelen microvilli een rol bij resorptie en dragen zij daardoor bij tot de diepte van de periciliaire laag (paragraaf 2.5).

Bij een sereuze otitis media worden langere microvilli gezien met gedilateerde toppen, zich normaliserend na het plaatsen van trommelvlies-buisjes (Møller en Dalen 1979 en 1981).

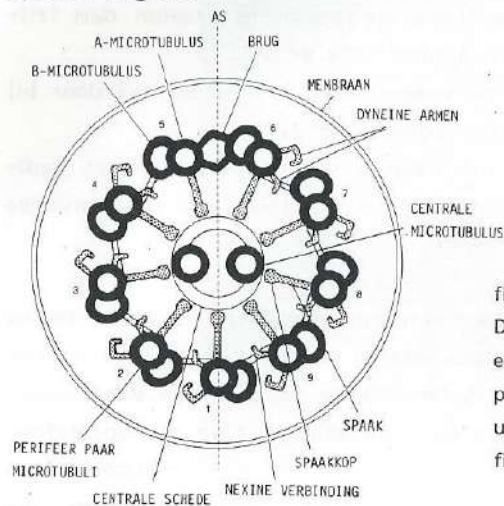
Het respiratoir epitheel wordt door een basaalmembraan en een lamina elastica gescheiden van de submucosa waarin de tubulo-alveolaire klieren zijn gelegen. Deze klieren zijn de belangrijkste producenten van mucus. De klieren bevatten muceuze cellen die voornamelijk zure glycoproteïnen produceren en sereuze cellen welke neutrale en zure glycoproteïnen produceren. In de neusbijholten worden minder klieren gevonden, die bovendien kleiner zijn; tevens zijn er minder epitheliale secretoire cellen (Proctor 1983). Vóór in de neus, bij het ostium internum, komen submucosale klieren voor met alleen sereuze cellen, die lijken op speekselklieren.

2.3 MORFOLOGIE VAN DE TRILHAAR

Op enkele uitzonderingen na is de bouw en de functie van trilharen in het hele dierenrijk hetzelfde (Fawcett en Porter 1954/Allen 1968).

Een trilhaar bestaat uit 3 delen: een schacht, een basis en wortels. De schacht wordt axonema genoemd en bestaat uit microtubuli die in cytoplasma zijn gelegen, omgeven door een uitstulping van de celmembraan. De microtubuli zijn gerangschikt in een karakteristiek 9+2 patroon: 9 perifeer gelegen microtubuli-paren rond 2 centraal gelegen microtubuli (Rhodin 1966). De centrale microtubuli worden omgeven door een centrale schede (fig 3). De paren bestaan uit een complete A-microtubulus met 13 filamenten en een incomplete B-microtubulus met 11 filamenten

(Tilney et al 1973). De lengte van trilharen op humaan respiratoir epitheel is ± 6 micrometer. De trilhaar heeft een diameter van 0.25 micrometer, de diameter van het axonema bedraagt 0.20 micrometer. Tussen de longitudinaal verlopende microtubuli bestaan 3 soorten transversaal lopende verbindingen: dyneïne armen, nexine verbindingen en spaken (fig 3).



figuur 3.

Dwarsdoorsnede van het axonema van een trilhaar, kijkend vanaf het celoppervlak naar de top van de trilhaar, uit: P. Satir, How cilia move. Scientific American, 231, p. 46, 1974.

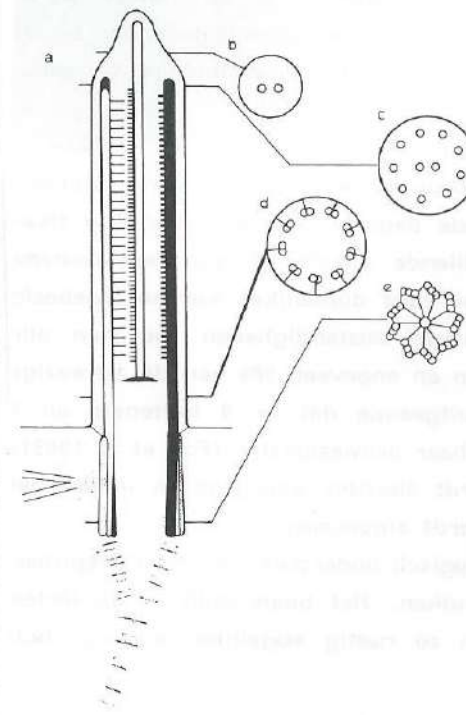
De dyneïne armen ontspringen om de 17 nanometer vanaf de A-microtubulus in de richting van de B-microtubulus van het aangrenzende paar. De dyneïne armen bestaan uit minstens 2 enzymen, met eenzelfde ATPase activiteit maar met een verschillend molecuulgewicht en met verschillende antigene eigenschappen (Gibbons en Rowe 1965/ Ogawa en Gibbons 1976). Ook bestaan er verschillen tussen de binnenste en de buitenste dyneïne armen: de buitenste dyneïne armen bestaan uit meer segmenten, hebben een gecompliceerde structuur en laten zich door bepaalde stoffen selectief uit de trilharen verwijderen (Allen 1968/ Gibbons en Gibbons 1973/Warner et al 1977/Goodenough en Heuser 1982). De ATPase activiteit wordt in het axonema niet alleen ter plaatse van de dyneïne armen gezien maar in mindere mate ook bij de spaak-koppen (Ogawa en Gibbons 1976/Gibbons 1982).

De nexine verbindingen zijn structuren met een lengte van 30 nanometer die als de sporten van een ladder tussen de A-microtubuli zijn gelegen of een verbinding vormen tussen de A-microtubulus van het ene paar en de B-microtubulus van het andere paar.

De spaken hebben een lengte van 36 nanometer en zijn gelegen tussen de A-microtubuli en de centrale schede. Zij ontspringen meestal op een reguliere afstand van 32 nanometer, dit patroon kan echter per organisme verschillen. In een dwarsdoorsnede lijken de spaken bij de centrale schede te eindigen in brede spaakkoppen.

De centrale schede bestaat uit 2 groepen gebogen staafjes met een lengte van 18 nanometer die telkens op een onderlinge afstand van 16 nanometer van de centrale microtubuli ontspringen en 2 spiraalvormige draden vormen (Pedersen 1970/Hilding en Heywood 1971). De spaak-koppen lijken contact te maken met de centrale schede.

Het beschreven axonema wordt ook in de staart van spermatozoën gevonden. In de top van de trilhaar eindigen de B-microtubuli het eerst, terwijl de dyneïne armen op dat niveau eveneens verdwijnen. De 2 centrale microtubuli zijn over het algemeen het langst (fig 4).



figuur 4.

(a) lengtedoorsnede van het axonema van een trilhaar. De A-microtubulus is zwart, de B-microtubulus en een van de 2 centrale microtubuli zijn wit, de C-microtubulus is gestippeld. In de linker helft van de lengtedoorsnede zijn de nexine verbindingen en de staafjes van de centrale schede weergegeven, rechts zijn de dyneïne armen afgebeeld. (b) t/m (e) zijn de dwarsdoorsnedes zoals die op de aangegeven niveaus kunnen worden gezien. De afbeelding van figuur 3 is een dwarsdoorsnede van het grootste, centrale deel van het axonema.

uit: M.A. Sleight, The Nature and function of respiratory tract cilia. in: Respiratory defense Mechanisms, part 1, p. 256, M. Dekker Inc. New York 1976.

Het axonema eindigt in een basaallichaam en ondergaat op dit niveau enkele veranderingen (fig 4). Bij het celoppervlak verdwijnen eerst de dyneïne armen. Na circa 150 nanometer eindigen de centrale microtubuli,

na nog eens 200 nanometer loopt het axonema in het cytoplasma van de cel en krijgen de perifere paren een derde C-microtubulus (Wakefield en Waite 1981). Dichtbij het celoppervlak worden op de buitenkant van de trilhaarmembraan één of meer rijen puntjes gezien, de "halsketting" genoemd. Deze puntjes zijn de bevestigingsplaatsen voor de op dit niveau voorkomende Y-verbindingen tussen de membraan en de perifere paren. De rangschikking van de tripletten verandert enigszins waarbij de A-microtubuli het meest centraal komen te liggen.

De structuur van het basaallichaam komt sterk overeen met de bouw van de centriole welke een rol speelt bij de celdeling. Vanaf het basaallichaam verlopen dwarsgestreepte wortels in de richting van de apicaal gelegen mitochondriën en de celkern. Bij hogere diersoorten bevindt zich halverwege het basaallichaam een basale voet, met aan de top een aantal microtubuli die zich in het cytoplasma van de cel uitstrekken. De basale voet geeft de richting aan van de slagfase van de trilhaar (paragraaf 2.4). Deze verankering van de trilhaar wordt ook gevonden bij de gemodificeerde cilia in de haarcellen van het audio-vestibulaire systeem.

Het is nauwelijks bekend wat men van het axonema van een trilhaar in een slijmvliesbiopt kan zien. Een goede afbeelding van de microtubuli, dyneïne armen en spaken wordt mede bepaald door de gebruikte fixatievloeistoffen en kleurstoffen. De verschillende structuren van het axonema zouden door het gebruik van tannine zuur duidelijker worden afgebeeld (Levison et al 1983). Onder optimale omstandigheden zou men alle buitenste dyneïne armen kunnen zien en ongeveer 50% van de aanwezige binnenste dyneïne armen, ervan uitgaande dat er 9 buitenste en 9 binnenste dyneïne armen in een trilhaar aanwezig zijn (Fox et al 1983). De morfologie van het axonema wordt slechter weergegeven indien het biopt tijdens een luchtweginfectie wordt afgenomen.

Een en ander is reden om bij morfologisch onderzoek van trilhaarepithel steeds dezelfde chemicaliën te gebruiken. Het biopt moet bij patiënten met een luchtwegaandoening in een zo rustig mogelijke fase van hun ziekte worden afgenomen.

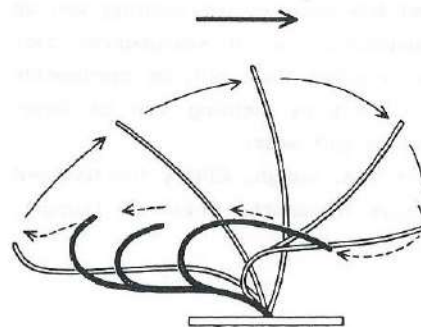
2.4 TRILHAARACTIVITEIT

De beweging van de trilhaar komt tot stand doordat de perifere paren

langs elkaar glijden waarbij tijdelijke mechano-chemische verbindingen worden gevormd. De incomplete B-microtubulus glijdt naar de top van de trilhaar, de complete A-microtubulus glijdt naar de basis. De microtubuli veranderen hierbij niet in lengte. Door de nexine verbindingen blijft de structuur van het axonema behouden en door de spaken wordt de glijdende beweging omgezet in een buiging van de trilhaar (Satir 1965 en 1968 / Bornens 1983).

De energie voor deze beweging wordt geleverd door hydrolyse van ATP door het dyneïne. Voor een optimale activatie van dit enzym is onder andere Mg^{++} noodzakelijk, terwijl de slagfrequentie mede wordt gereguleerd door de intracellulaire concentratie Ca^{++} (Eckert en Murakami 1972 / Takahashi 1982). De activiteit van het dyneïne kan worden geremd door EDTA (Machemer 1977). De snelheid waarmee de paren langs elkaar glijden en de frequentie van de trilhaarslag is evenredig met de hoeveelheid dyneïne en de concentratie ATP; na extractie van de buitenste dyneïne armen, overeenkomend met 60 - 65% van de totale hoeveelheid dyneïne, daalt de slagfrequentie met 50%, terwijl het slagpatroon onveranderd blijft (Gibbons en Gibbons 1973 / Gibbons 1982 / Rutland et al 1983-I). In aanwezigheid van ATP verandert de positie van de buitenste dyneïne arm, de verbinding tussen de buitenste arm en de aangrenzende B-microtubulus en de verbinding tussen de dyneïne armen onderling (Goodenough en Heuser 1982).

De trilhaarslag bestaat uit 3 fasen: een slagfase (effective stroke), een rustfase en een herstelfase (recovery stroke) (fig 5). Tijdens de slag-

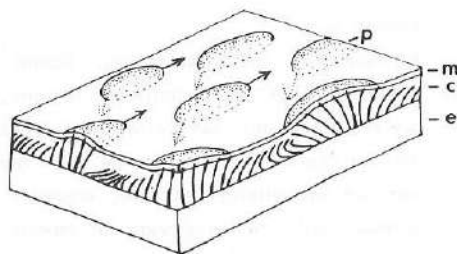


figuur 5.

Schema van de trilhaarslag. Dunne, ononderbroken pijl: slagfase. Dunne, onderbroken pijl: herstelfase (voltrekt zich in een andere dimensie dan die van de afbeelding). Dikke, ononderbroken pijl: richting van de mucusstroom.

uit: P. Satir, How cilia move. Scientific American, 231, p.45, 1974.

fase beweegt de licht gebogen trilhaar zich over een hoek van $30^\circ - 40^\circ$ naar voren, in een vlak loodrecht op het celoppervlak. Op het hoogtepunt van deze beweging komt de top van de trilhaar, bij sommige diersoorten bekleed met haakjes, over een boog van $5^\circ - 8^\circ$ in contact met de vlokken mucus die op de periciliaire laag drijven. De vlokken mucus worden hierdoor iets opgetild en er treedt voortstuwing van de mucus op. De richting van deze slag staat loodrecht op een lijn die door de 2 centrale microtubuli van de trilhaar kan worden getrokken. De trilharen op één cel bewegen synchroon. Aan het eind van de slagfase blijft de trilhaar enige tijd in een rustfase liggen, met de top in de richting van de mucusstroom wijzend. De duur van deze fase wordt mede bepaald door de slagfrequentie (Sanderson en Sleigh 1981-I en 1982-II). De herstelfase is het begin van een nieuwe trilhaarslag. Hierbij wordt het vlak van de slagfase verlaten en beweegt de trilhaar zich in een slappe, gebogen toestand over 180° opzij en naar achteren totdat hij weer met een slagfase kan beginnen. De herstelfase speelt zich geheel af in de periciliaire laag en duurt 2-3 x zo lang als de slagfase. Tijdens de herstelfase worden aangrenzende velden trilhaardragende cellen aangezet tot bewegen, zodat er een metachroon bewegingspatroon ontstaat: over het respiratoir epitheel lopen golfbewegingen met een lengte van 20-40 micrometer, de hoek tussen de richting van de mucusstroom en de richting van deze golfbewegingen bedraagt 135° (Ross en Corrsin 1974/Sleigh 1981-II) (fig 6).



figuur 6.

Diagram van een stukje trilhaarepitheel (e). Tijdens het hoogtepunt van de trilhaarslag wordt de mucus-laag (m) iets opgetild. De richting van de mucusstroom wordt weergegeven door de ononderbroken pijl, de gestippelde pijl geeft de richting van de metachrone golf weer.

uit: M.A. Sleigh, Ciliary function and mucus transport. Chest 80 (suppl), p. 794, 1981.

De slagfrequentie van de trilharen neemt van perifeer naar centraal in de tractus respiratorius toe. De slagfrequentie in de grotere luchtwegen zoals neus, trachea en de grote bronchi bedraagt 13-27 Hz; in het middenoor, de kleine bronchi en de bronchioli is zij 7-12 Hz. Ook op eenzelfde niveau kunnen echter verschillen in slagfrequentie worden gevonden tussen de naast elkaar gelegen velden trilhaardragende cellen (van As 1980). Er bestaat een positieve correlatie tussen de slagfrequentie in de neus en de slagfrequentie in de trachea, zowel bij gezonde personen als ook bij patiënten met diverse longaandoeningen (Rutland en Cole 1982-I/Baum et al 1982/Low et al 1984). Bij gezonde personen bestaat er een positieve correlatie tussen de slagfrequentie van de trilharen in de neus en de grootte van de buitenste en de binnenste dyneïne armen (Rutland en Cole 1983-I).

2.5 MUCUS

Zonder slijm is mucociliair transport niet mogelijk. Na wegwassen van het slijm blijft de trilhaaractiviteit onveranderd, maar vindt er geen mucociliair transport meer plaats. Het mucociliair transport herstelt zich weer nadat er een adequate hoeveelheid normaal slijm op de trilhaardragende cellen is aangebracht (Sadé et al 1970/Reimer et al 1978-II).

Algemeen wordt aangenomen dat de slijmlaag in de tractus respiratorius uit 2 delen bestaat: een bovenste mucus-laag met een hoge visco-elastische (gel-laag) en een onderste periciliaire laag met een lage visco-elastische (sol-laag) (Lucas en Douglas 1934). Het is niet bekend of de scheiding tussen de 2 lagen volledig is en hoe zij tot stand komt. De trilhaarbeweging speelt zich af in de waterige periciliaire laag. Alleen tijdens het hoogtepunt van de slagfase komen de toppen van de trilharen in contact met de vlokken mucus die op de sol-laag drijven. Tijdens de trilhaarslag treedt er een geringe verplaatsing op van de periciliaire laag waardoor hydrodynamische krachten een weinig bijdragen tot een verplaatsing van de mucus (Cheung en Jahn 1976-I/ Sleigh 1976).

Geringe veranderingen in de viscositeit van de mucus blijken de transportsnelheid nauwelijks te beïnvloeden. De viscositeit en de dikte van de periciliaire laag zijn wel van grote invloed (Ross en Corrsin 1974/

Puchelle et al 1980). De periciliaire laag wordt voor een deel gevormd door de trilhaardragende cellen (Reid et al 1982), de dikte wordt mede bepaald door resorptie via de op trilhaardragende cellen en borstelcellen voorkomende microvilli en door osmotisch transport van water en electrolyten (Petruson et al 1984).

De bovenste mucus-laag (gel) bestaat uit vlokken die van perifeer naar centraal in aantal en in grootte toenemen (van As 1980/Dudley en Cherry 1980). Perifeer in de tractus respiratorius dragen de Clara-cellen waarschijnlijk bij tot de vorming van de mucus. Meer centraal nemen de submucosale klieren en in mindere mate ook de slijmbekercellen het grootste deel voor hun rekening.

De gel-laag bestaat uit water, anorganische zouten en macromoleculen (tabel 1).

Tabel 1. Bestanddelen van mucus (gel)

- water	95%
- anorganische zouten	1%
- macromoleculen	4%
- mucus glycoproteïnen	25-50%
- proteïnen	10-25%
- vetten	20-30%

2.6 HISTOLOGIE EN ELECTRONENMICROSCOPIE BIJ LUCHTWEGAANDOENINGEN

Bij de meeste luchtwegaandoeningen worden een aantal gemeenschappelijke veranderingen in het epitheel gezien: metaplasie naar plaveisel-epitheel met verlies van trilhaardragende cellen en een toeneming van het aantal slijmbekercellen, verdikking van de basaalmembraan, hypertrophie en hyperplasie van de submucosale klieren. Bij de metaplasie naar plaveisel-epitheel wordt het oppervlak van de slijmbekercellen platter en groter, met meer stompe microvilli en een verminderde productie van mucus, waarna het oppervlak tenslotte wordt bekleed met richels. Het blijkt dat plaveiselcellige metaplasie ook bij jonge, gezonde mensen kan voorkomen en dat de metaplasie toeneemt met het stijgen van de leeftijd. De plaveiselcellige metaplasie is waarschijnlijk reversibel (Boysen 1982). In de trilhaardragende cellen wordt dilatatie gezien van de cisternae van het endoplasmatisch reticulum en van het Golgi-appa-

raat met swelling van de mitochondriën, toeneming van het aantal lysozomen en verlies van trilharen. Het cytoplasma gaat uitstulpen in het luchtweglumen en in de verwijde intercellulaire ruimtes, soms met meer (2-40) complete of incomplete axonemata (samengestelde trilharen-compound cilia). De veranderingen in de submucosale klieren betreffen voornamelijk hypertrophie van de muceuze cellen.

Van de trilharen zelf kunnen 3 groepen afwijkingen worden onderscheiden:

- A. afwijkingen waarvan wordt aangenomen dat zij genetisch zijn bepaald. Deze specifieke afwijkingen resulteren in een dysfunctie van de trilharen met als gevolg recidiverende luchtweginfecties:
 1. totaal of gedeeltelijk ontbreken van dyneïne armen
 2. ontbreken van nexine verbindingen
 3. ontbreken van spaken
 4. transpositie
 5. desoriëntatie van de trilharen
- B. afwijkingen waarvan (nog) niet met zekerheid vaststaat in welke groep (A of C) zij thuishoren:
 1. afwijkend aantal centrale microtubuli
 2. incomplete microtubuli
- C. aspecifieke afwijkingen die bij de meeste luchtweginfecties kunnen worden gevonden en waarvan algemeen wordt aangenomen dat zij secundair zijn:
 1. verschillende afwijkingen in het 9+2 patroon, met een afwijkend aantal perifere en/of centrale microtubuli
 2. overmaat aan cytoplasma
 3. vesikels of slierten van de membraan van de trilhaar
 4. samengestelde trilharen (compound cilia)
 5. intracellulair gelegen trilharen

Toelichting:

A-1: een dyneïne deficiëntie is voor het eerst beschreven bij patiënten met het syndroom van Kartagener en bij sommige van hun verwanten (zie hoofdstuk 1). Het is echter niet bekend wanneer van

een dyneïne deficiëntie kan worden gesproken (zie ook paragraaf 4.3.1). Bovendien zijn de dyneïne armen ook bij gezonde mensen en bij patiënten met andere luchtweginfecties niet altijd te zien. Fox en Bull (1979) vinden bij gezonde personen in 4% van de nasale trilharen geen dyneïne armen. Corbeel et al (1981) vinden bij kinderen met recidiverende luchtweginfecties en bronchiëctasieën een afwezigheid van de binnenste dyneïne armen en een gedeeltelijk ontbreken van de buitenste dyneïne armen; deze afwijkingen herstelden zich geheel na adequate therapie. Maurizi et al (1984) vinden bij patiënten met een allergische rhinopathie enkele trilharen zonder herkenbare dyneïne armen. De auteurs van deze 3 publicaties vermelden niets over de beweeglijkheid van deze trilharen.

A-2: Afzelius (1982) beschrijft een patiënt bij wie veel trilharen, met een "normaal" aantal dyneïne armen, een totaal verstoorde bouw van het axonema vertonen. De auteur meent dat deze afwijking wordt veroorzaakt door een tekort aan nexine verbindingen, dit tekort zou een oorzaak voor primaire ciliaire dyskinesie zijn. De beweeglijkheid van deze trilharen is niet onderzocht. Het is overigens niet bekend wanneer van een tekort aan nexine verbindingen kan worden gesproken (zie ook paragraaf 4.3.2).

A-3: het ontbreken van spaken met een verplaatsing van de centrale microtubuli is voor het eerst beschreven door Sturgess et al (1979) bij 3 kinderen uit één gezin, met een afwezig mucociliair transport en onbeweeglijke spermatozoën. Deze afwijking zou in al de onderzochte trilharen aanwezig zijn. Herzon (1981) vindt deze afwijking in enkele trilharen van een patiënt met een rhinitis medicamentosa en in de trilharen van een patiënte met een sinusitis maxillaris, de auteur stelt dat deze configuratie ook een verworven afwijking kan zijn. Het is niet bekend hoeveel spaken in normale trilharen kunnen worden gezien en wanneer van een tekort aan spaken kan worden gesproken (zie ook paragraaf 4.3.3).

A-4: transpositie, het ontbreken van de 2 centrale microtubuli met verplaatsing van een perifeer paar naar centraal, is voor het eerst beschreven door Sturgess et al (1980) bij 2 kinderen uit één

gezin. Deze afwijking bleek voornamelijk in het midden en in de top van de trilharen aanwezig en ging gepaard met een abnormaal traag mucociliair transport en een verminderde beweeglijkheid van de spermatozoën. Sindsdien wordt transpositie vaak als een genetisch bepaalde afwijking beschouwd die een primaire ciliaire dyskinesie kan veroorzaken. Fox et al (1981) en Smallman (1984-II) vinden transpositie in respectievelijk 70% en 40% van de trilharen van een patiënt met een bronchuscarcinoom; de auteurs vermelden in hun publicaties niets over de trilhaaractiviteit of het mucociliair transport in de longen. Bovendien kan transpositie in enkele trilharen worden gezien bij gezonde personen, patiënten met primaire ciliaire dyskinesie op basis van een dyneïne deficiëntie en bij patiënten met andere luchtweginfecties (zie ook paragraaf 4.3.8).

A-5: algemeen wordt aangenomen dat normale trilharen op doorsnede min of meer parallel zijn georiënteerd, met onderlinge rotatie verschillen van 5° - 25° (Eliasson et al 1977). Door velen wordt een grotere afwijking in de oriëntatie als een primaire, specifieke trilhaarafwijking beschouwd (zie paragraaf 4.3.5). De oriëntatie van de trilharen in een biopt hangt echter mede af van het tijdstip waarop de trilharen tijdens de trilhaarslag worden gefixeerd. Satir (1963) stelt dat tijdens een normaal metachroon bewegingspatroon een verschil in oriëntatie van 90° kan worden gevonden. Bij gezonde personen kan een slechte oriëntatie van de trilharen worden gevonden (Jahrsdoerfer et al 1979/Wisseman et al 1981). Fox et al (1980) vermelden dat bij gezonde mensen slechts 60% van de trilharen een parallelle oriëntatie vertoont; bij chronische infecties kan een verschil in oriëntatie van 0° tot 90° worden gevonden.

B-1: bij morfologisch onderzoek van trilharen kunnen dwarsdoorsnedes worden gezien met een 9+0 structuur, zonder dyneïne armen. Dit gebeurt wanneer de trilharen op een te laag niveau, vlak boven het celoppervlak, worden getroffen (zie paragraaf 2.3 en paragraaf 4.3.6). Wakefield en Waite (1980) en Waite et al (1981) vinden bij Polynesiërs met bronchiëctasieën, met vrijwel afwezig mucociliair transport en onbeweeglijke spermatozoën, in ongeveer 25% van de onderzochte trilharen één of geen centrale microtubuli bij de

aanwezigheid van enkele dyneïne armen. Deze auteurs beschouwen een afwijkend aantal centrale microtubuli met aanwezige dyneïne armen als een genetisch bepaalde, primaire trilhaarafwijking die een primaire ciliaire dyskinesie kan veroorzaken. Fox et al (1981 en 1983) melden dat deze afwijking ook bij gezonde personen en bij patiënten met diverse longaandoeningen kan worden aangetroffen; deze onderzoekers beschouwen de beschreven bouw van het axonema als een specifieke afwijking in het aantal microtubuli (zie ook paragraaf 4.3.6 en paragraaf 4.3.7).

B-2: incomplete microtubuli worden door Herzon (1981) en door Fischer et al (1984) beschreven bij een patiënt met astma. Het gaat hierbij voornamelijk om incomplete B-microtubuli. De afwijking lijkt samen te gaan met een afwijkend aantal centrale microtubuli (zie ook paragraaf 4.3.6 en paragraaf 4.3.7).

C-1: afwijkingen in het aantal microtubuli: alle combinaties zijn beschreven: 9+3 / 2+9+2 / 10+4 / 9+0 etc. Bij ontbrekende centrale microtubuli moet rekening worden gehouden met een te lage dwarsdoorsnede door de trilharen. Dit kan worden gecontroleerd aan de hand van de dyneïne armen, deze eindigen immers iets eerder dan de 2 centrale microtubuli (zie paragraaf 2.3).

C-4: Lupin en Misko (1978) beschouwen samengestelde trilharen als een primaire afwijking bij patiënten met het syndroom van Kartagener; overigens wordt in de literatuur deze afwijking als een specifiek gevolg van infecties beschouwd.

De afwijkingen C-1 t/m C-5 kunnen worden gevonden bij:

- chronische rhinitiden en sinusitiden (Albegger 1978/Herzon 1981/ Greenstone et al 1983-I), bij ongeveer 4% van de onderzochte trilharen (Fox et al 1980 / Rossman et al 1983).
- chronische bronchitis (Friedman en Bird 1971 / Howell et al 1980/ Konradova et al 1982) en wel bij gemiddeld 3,7% van de trilharen (Katz en Holsclaw 1980 / Fox et al 1983). Bij patiënten met een chronische bronchitis is het percentage trilharen met een afwijkend aantal microtubuli significant groter dan bij gezonde personen; overigens kan het percentage van deze specifieke afwijkingen plaatselijk verschillen (Fox et al 1981).

- chronische otitis media (Neustein et al 1979)
- primaire ciliaire dyskinesie (Afzelius 1979 / Schneeberger et al 1980/ Pedersen et al 1981 / Konradova et al 1982). Afwijkingen in het aantal perifere en/of centrale microtubuli komen bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie significant vaker voor dan bij patiënten met andere luchtwegaandoeningen en gezonde personen (Rutland et al 1983-III). Nielsen et al (1983) vinden een gemiddeld percentage van 13,7%.
- sereuze otitis media, reversibel na middenoordrainage (Møller en Dalen 1979 en 1981).
- mucoviscidose (Katz en Holsclaw 1980 / Konradova et al 1982 / Rutland et al 1983-III). Bij mucoviscidose worden met transmissie elektronenmicroscopie geen specifieke ultrastructurele afwijkingen gezien.
- allergische rhinopathie en polyposis nasi (Fox et al 1980 / Takasaka 1980 / Herzon 1983 / Maurizi et al 1984).
- astma, samen met hypertrophie van de gladde spieren en met veel mucus en eosinophile granulocyten in het luchtweglumen. Opmerkelijk is dat bij patiënten met een rustig en stabiel astma dezelfde afwijkingen worden gevonden als bij patiënten die ten gevolge van een status astmatics overleden; de histopathologische afwijkingen blijken hier dus weinig reversibel (Katz et al 1978/Wanner 1981/ Lewis et al 1983).
- bij bronchuscarcinoom en langdurig roken (Ailsby en Ghadially 1973 / McDowell et al 1976).
- tijdens carcinogenesis in de luchtwegen bij proefdieren (Harris 1974).
- bronchiëctasieën (Waite et al 1978 en 1981 / Corbeel et al 1981).
- rhinitis medicamentosa (Herzon 1983).
- retinitis pigmentosa. Het percentage nasale trilharen met een afwijkend aantal microtubuli (gemiddeld 7,4%) is bij patiënten met een retinitis pigmentosa significant groter dan bij gezonde personen (Arden en Fox 1979 / Fox et al 1983).

Het blijkt echter dat deze specifieke afwijkingen ook bij normale mensen en dieren kunnen voorkomen. Satir (1962) en Afzelius (1963) melden reeds dat bij weekdieren sporadisch trilharen met een afwijkend

aantal microtubuli kunnen voorkomen. Afwijkende axonemata en samengestelde trilharen worden gevonden in de bovenste en de onderste luchtwegen van gezonde mensen en dieren (Kawabata en Paparella 1969 / McDowell et al 1976 / Torikata et al 1976). Fox en Bull (1979) vinden bij beoordeling van 20 trilharen uit de neus van gezonde personen in 3% een afwijkend aantal microtubuli. In een latere studie uit 1983 vinden zij bij het beoordelen van minimaal 500 dwarsdoorsnedes per persoon in het neusslijmvlies 2.9% trilharen met een afwijkend aantal microtubuli en in het bronchusslijmvlies 2.4%; de verschillen tussen neus en bronchi zijn niet significant. Bij rokers, bij patiënten met een longcarcinoom en bij patiënten met chronische luchtweginfecties is het gemiddelde percentage significant hoger (3.7%). Deze bevindingen komen overeen met die van Wisseman et al (1981) die bij gezonde kinderen in 3 - 5% van de onderzochte trilharen uit de trachea en bronchi de beschreven afwijkingen vinden, vaak met een opmerkelijke desoriëntatie en overeenkomend met de bevindingen bij gezonde volwassenen en bij kinderen met diverse luchtwegaandoeningen (met uitzondering van primaire ciliaire dyskinesie). In de studies van Rutland et al (1983-III) en van Rossman et al (1983) worden vergelijkbare percentages genoemd.

Hoofdstuk 3

MUCOCILIAIR TRANSPORT.

3.1 INLEIDING

Onder normale omstandigheden zijn de luchtwegen distaal van de carina vrij van pathogene microorganismen. Chronisch recidiverende luchtweginfecties kunnen een uiting zijn van een slecht functionerende mucociliaire klaring van de luchtwegen waardoor de pathogene microorganismen zich op het respiratoir epitheel kunnen nestelen. Mede onder invloed van bacteriële toxinen beschadigt het epitheel en treedt er een circulus vitiosus op met een progressieve vermindering van mucociliair transport; obliteratie van bronchioli, neusbijholten en middenoor; activatie van macrophagen met vrijkomen van proteolytische enzymen en klinische verschijnselen van obstructieve longaandoeningen. Tenslotte kunnen er beschadigingen van het middenoor, emfyseem en bronchiëctasieën ontstaan.

Het mucociliair transportmechanisme bestaat uit twee onderdelen: mucus en bewegende trilharen. Mucus en trilhaaractiviteit zijn reeds in hoofdstuk 2 besproken. In dit hoofdstuk zullen achtereenvolgens worden behandeld:

- normaal mucociliair transport (3.2)
- factoren die het mucociliair transportmechanisme kunnen beïnvloeden (3.3)
- diagnostiek van mucociliair transport (3.4)

3.2 NORMAAL MUCOCILIAIR TRANSPORT

De snelheid van het mucociliair transport houdt verband met de localisatie in de tractus respiratorius. De transportsnelheid in de trachea is gemiddeld 10-24 mm/min, in de neus gemiddeld 4.5-7 mm/min, in de buis van Eustachius 0.7-1.1 mm/min en in de bronchioli 0.5-2 mm/min. Tussen individuen heerst een grote variabiliteit, per individu zijn de waarden redelijk constant (Proctor et al 1973 / Yeates et al 1975 /

Wilkey et al 1980). De toeneming van de transportsnelheid van perifeer naar centraal wordt mede veroorzaakt doordat centraal in de tractus respiratorius relatief meer trilhaardragende cellen voorkomen met meer trilharen per cel (Serafini et al 1976 en 1977), bovendien zijn deze trilharen langer (Greenwood en Holland 1972) en zij hebben een hogere slagfrequentie. Bij vertakkingen in de bronchiaalboom kan een tijdelijke stasis van het mucociliair transport optreden. Tenslotte kan de mucus in de perifere longdelen een andere samenstelling hebben dan de mucus in de meer centrale delen van de tractus respiratorius. In de neus is de transportsnelheid het grootst op de bodem (Hilding 1931 / Lucas en Douglas 1934), de transportsnelheid neemt naar dorsaal toe (Quinlan et al 1969). Er bestaat een positieve correlatie tussen de waargenomen slagfrequentie en de transportsnelheid voor iedere deel van de tractus respiratorius (van As 1982-II). In de kleinere luchtwegen blijkt de dalende transportsnelheid evenredig te zijn met het kleinere aantal trilhaardragende cellen.

Bij vrijwel alle groepen patiënten en bij gezonde personen wordt in 20% een abnormaal traag mucociliair transport in de neus gevonden. Dit is waarschijnlijk een gevolg van een, vaak reversibele, beschadiging van de nasale mucosa zoals bij een virale rhinitis. Bij patiënten die een laryngectomie hebben ondergaan, waardoor de neus minder wordt blootgesteld aan schadelijke invloeden, worden deze lage waarden niet gevonden (Quinlan et al 1969 / Andersen et al 1971 / Proctor 1983). Na verloop van enkele weken gaat dit verschil weer verloren (Sakakura et al 1983). Dat de neus sterk onder invloed staat van externe factoren blijkt ook uit het feit dat bij monozygote tweelingen een positieve correlatie bestaat tussen het tracheo-bronchiale mucociliair transport maar niet tussen het nasale mucociliair transport (Camner et al 1972 / Andersen et al 1974-II).

3.3 FACTOREN DIE HET MUCOCILIAIR TRANSPORT KUNNEN BEINVLOEDEN.

Bij de bestudering van factoren die het mucociliair transportmechanisme kunnen beïnvloeden, zoals luchtwegaandoeningen of pharmaca, is het niet altijd mogelijk een onderscheid te maken tussen invloed op de mucusproductie, wijzigingen in de samenstelling van de mucus, veranderingen van de sol-gel verhouding, invloed op de trilhaaractiviteit of

een beschadiging van het respiratoir epitheel.

3.3.1 Fysiologische factoren

Bij gezonde mensen daalt de mucociliaire klaring tijdens slaap en stijgt de klaring bij lichamelijke inspanning.

Veranderingen in het zuurstofgehalte van de ingeademde lucht blijken niet veel invloed te hebben. Reimer et al (1981) vinden bij proefdieren alleen een verminderde mucociliaire activiteit bij een gelijktijdige verlaging van het zuurstofgehalte in het arteriële bloed en in de ingeademde lucht.

In enkele studies wordt terloops vermeld dat de mucociliaire klaring afneemt bij het stijgen van de leeftijd zonder dat duidelijk is of de onderzochte personen langer hebben gerookt of langduriger in een streek met veel luchtverontreiniging hebben gewoond.

3.3.2 Vochtigheid en temperatuur

Het mucociliair transportmechanisme in de neus is veel minder gevoelig voor veranderingen in de vochtigheid van de ingeademde lucht dan dat van de lagere luchtwegen. Veranderingen in de relatieve vochtigheidsgraad van 10% tot 70% bij een temperatuur van 23°C hebben bij gezonde mensen geen invloed op het nasale mucociliair transport (Andersen et al 1972 / Proctor en Andersen 1976 / Kärjä et al 1982). In de trachea treedt bij een relatieve vochtigheidsgraad van 30% eerst een stijging van de mucusproductie op, later gevolgd door een reversibele daling van de trilhaaractiviteit en het mucociliaire transport. Deze wijzigingen worden veroorzaakt door een toegenomen viscositeit van de mucus, de intracellulaire activiteit van de trilhaardragende cellen blijft onveranderd (Toremalm et al 1975 en 1980).

Het mucociliair transportmechanisme in de neus functioneert optimaal bij een omgevingstemperatuur van 23°C. Variaties tussen 7°C en 39°C geven geringe en tijdelijke dalingen van de transportsnelheid. Voor de lagere luchtwegen varieert de optimale temperatuur van 34°C tot 40°C (Mercke et al 1974-II en 1974-III / Proctor et al 1977 / Kärjä et al 1982). Boven de 40°C treedt een toenemende desoriëntatie en beschadiging van de trilharen op (von Mecklenburg et al 1974).

3.3.3 Pharmacologische beïnvloeding van het mucociliair transport

Cholinerge agonisten (acetylcholine, pilocarpine, methacholine) stimuleren in vivo en in vitro, bij locale en bij systemische toediening de longklaring, het mucociliair transport in de trachea en de trilhaaractiviteit bij patiënten en bij proefdieren met een toeneming van de mucusproductie (Camner et al 1974 / Wanner et al 1975 / Wanner 1977). De stijging van de slagfrequentie is afhankelijk van de dosis en blijkt reversibel (Hybbinette en Mercke 1982-I en 1982-IV). De gelijktijdig optredende bronchoconstrictie verhindert een therapeutische toepassing. De cholinerge antagonist atropine vertraagt bij patiënten en bij proefdieren, na locale of na systemische toediening, de longklaring en het mucociliair transport in de trachea (Yeates et al 1974-II en 1975 / Sackner et al 1976 / Whiteside et al 1984) met een daling van de slagfrequentie en een verminderde mucusproductie (Iravani 1968 / Blair en Woods 1969 / Iravani en Melville 1976). Hybbinette en Mercke (1982-IV) vinden dat atropine alleen de stijging van mucociliaire activiteit na toediening van methacholine doet afnemen maar op de fysiologische activiteit geen invloed heeft. Het ipratropium bromide geeft bij patiënten met obstructieve longaandoeningen een bronchodilatatie en een meer perifere depositie van ingeademde deeltjes maar heeft geen meetbare invloed op het mucociliair transport in de trachea en op de longklaring (Pavia et al 1979-II en 1980 / Foster et al 1983); bij gezonde personen heeft deze stof geen invloed op het mucociliair transport in de neus (Ohi et al 1984).

Adrenerge agonisten (adrenaline, orciprenaline en noradrenaline) geven bij proefdieren in vivo en in vitro, bij locale en bij systemische toediening, een reversibele en van de dosis afhankelijke stijging van de slagfrequentie (Yanaura et al 1979 / Hybbinette en Mercke 1982-I). Dopamine remt de trilhaaractiviteit in vitro bij proefdieren (Maruyama et al 1983). De niet-selectieve beta-adrenoceptor agonist isoprenaline en de selectieve beta₂-adrenoceptor agonisten salbutamol en terbutaline geven bij mensen en bij proefdieren, in vivo en in vitro, in iedere toedieningsvorm een stijging van de longklaring en het mucociliair transport in de trachea (Blair en Woods 1969 / Yeates et al 1975 / Camner et al 1976) met een grotere slagfrequentie (van As 1974 / Yanaura et al 1979 / Verdugo et al 1980 / Hybbinette en Mercke 1982-II) en een toeneming

van de mucusproductie (Iravani en Melville 1974). Dit gebeurt in mindere mate ook bij aandoeningen zoals chronische bronchitis, mucoviscidose en astma, vooral als de toediening via een aerosol geschiedt (Santa Cruz et al 1974 / Woods et al 1974 / Mossberg et al 1976-I en 1976-II / Weiss et al 1981). De stijging van de longklaring na stimulatie met een beta₂-adrenoceptor agonist bij gezonde personen komt voornamelijk op rekening van de perifere longdelen. Dit verklaart mogelijk het geringe effect bij obstructieve longaandoeningen (Foster et al 1980 en 1981). Het effect van deze stoffen wordt minder naarmate de ernst van de genoemde luchtwegaandoeningen toeneemt. De beta₁-adrenoceptor agonist prenalterol heeft geen invloed op de trilhaaractiviteit (Hybbinette en Mercke 1982-II).

De alpha₁-adrenoceptor agonist phenylephrine en de alpha₂-adrenoceptor agonist oxymetazoline geven bij proefdieren in vivo, na systemische toediening, een daling van de slagfrequentie (Hybbinette en Mercke 1982-II) en in vitro een daling van de trilhaaractiviteit in de trachea (Dudley en Cherry 1977). Saketkhoo et al (1978) vinden bij lokaal gebruik van phenylephrine bij mensen een sneller mucociliair transport in de neus.

De niet-selectieve beta-adrenoceptor antagonist propranolol en de niet-selectieve alpha-adrenoceptor antagonist phentolamine hebben bij proefdieren, na systemische toediening, geen invloed op de mucociliaire activiteit in vivo; het propranolol geeft bij locale toediening op dierlijk en humaan trilhaarepitheel in vitro een irreversibele ciliostasis (van de Donk 1982).

Mediatoren

Histamine geeft in abnormaal hoge concentraties een stijging van de trilhaaractiviteit op dierlijk trilhaarepitheel (Wanner et al 1983-III). Bij atopische proefdieren wordt na inhalatie in vivo een stijging van de longklaring gezien (Wanner et al 1975). Lokaal toegediende anti-histaminica geven in vitro een irreversibele stopzetting van de trilhaaractiviteit bij proefdieren (van de Donk 1982), bij systemische toediening wordt een daling van het mucociliair transport in de neus van gezonde personen gezien (Peerless en Noiman 1980).

Serotonine en prostaglandines stimuleren wel de productie van mucus

maar hebben na systemische toediening geen duidelijke invloed op de trilhaaractiviteit bij proefdieren (Hybbinette en Mercke 1982-I). Acetylsalicylzuur geeft bij gezonde personen na orale toediening een daling van de longklaring en van het mucociliair transport in de trachea, waarschijnlijk gebeurt dit door inhibitie van de prostaglandine-synthese waardoor de mucusproductie afneemt (Gerrity et al 1983). Bij patiënten met astma en een aspirine-overgevoeligheid blijkt de trilhaaractiviteit in een slijmvliesbiopsie tijdens contact met aspirine niet te veranderen (Lewis et al 1983).

Mediatoren zoals leukotrien C_4 en, in mindere mate, prostaglandine E_1 en E_2 geven bij allergische patiënten een daling van de mucociliaire klaring door een sterkere mucusproductie hoewel de slagfrequentie van de trilharen in slijmvliesbiopsies van proefdieren na lokale toediening tijdelijk stijgt (Wanner et al 1983-I en 1983-III).

Bij een allergische reactie wordt het vrijkomen van mediators voorkomen door natrium-cromoglycaat. Het cromoglycaat zelf heeft bij gezonde personen en bij allergische patiënten geen invloed op het mucociliair transport; bij allergische patiënten kan deze stof een daling van het mucociliair transport door contact met het allergeen voorkomen (Wanner 1983-I).

Beïnvloeding van het mucociliair transport door enkele frequent gebruikte pharmaca.

Locaal toegediende decongestiva kunnen een toxische invloed op de trilhaaractiviteit uitoefenen; naar alle waarschijnlijkheid wordt dit effect grotendeels veroorzaakt door de gebruikte conserveringsmiddelen en is het schadelijke effect mede afhankelijk van de zuurgraad van het middel. Met name conserveringsmiddelen die kwik bevatten veroorzaken in vitro een irreversibele stopzetting van de trilhaaractiviteit. Het phenylephrine en het oxymetazoline blijken het minst schadelijk te zijn (van de Donk 1982). Een combinatie van een decongestivum en een anti-histaminicum geeft in vitro een onherstelbare stopzetting van de trilhaaractiviteit met een daling van het mucociliair transport in vivo (Peerless en Noiman 1980 / van de Donk 1982).

Locaal anaesthetica zoals lidocaïne, cocaïne en tetracaïne geven bij mensen en bij proefdieren, in vivo en in vitro, afhankelijk van de

gebruikte concentratie een tijdelijke of irreversibele stopzetting van de trilhaaractiviteit (Manawadu et al 1978). Lidocaïne is het minst schadelijk (Ewert 1967 / Dudley en Cherry 1978-II / Rutland et al 1981-II en 1982-III). Robert et al (1980) vinden na gebruik van een lidocaïne spray een daling van het mucociliair transport in de neus welke grotendeels bleek te voorkomen door ATP aan de spray toe te voegen.

Algemeen anaesthetica zoals halothaan en enfluraan verminderen bij mensen en bij proefdieren het mucociliair transport in de neus en in de trachea, bij enfluraan is deze daling na zes uur nog maar gedeeltelijk reversibel (Forbes 1976 / Forbes en Horrigan 1977 / Cavaliere et al 1983).

Ammonium-chloride, kalium-jodide en bromhexine kunnen bij proefdieren de productie van mucus en de activiteit van trilharen stimuleren, de hiervoor benodigde doses zijn echter veel hoger dan de normale therapeutische doseringen. Een toeneming van de trilhaaractiviteit wordt alleen in vitro op dierlijk epitheel gezien (Iravani en Melville 1974 / Melville et al 1980). Acetylcysteïne geeft in vitro op dierlijk epitheel in lage concentraties een stijging van de trilhaaractiviteit, in hoge concentraties een reversibele daling (Dudley en Cherry 1977 / Dreisin en Mostow 1979 / Melville et al 1980). Deze veranderingen zijn een gevolg van veranderingen in de samenstelling of in de hoeveelheid mucus, de intra-cellulaire activiteit van de trilhaardragende cellen blijft hetzelfde (Yanaura et al 1981). Bromhexine geeft in vivo bij proefdieren, in hoge doseringen en via systemische toediening, geen veranderingen in de trilhaaractiviteit (Cunnarson et al 1984). Bromhexine geeft een snellere longklaring bij gezonde mensen, bij patiënten met een chronische bronchitis of met obstructieve longaandoeningen (Thomson et al 1974 / Pavia et al 1979-I). Voor het S-carboxy-methylcysteïne kan dit effect alleen bij een chronische bronchitis met een traag mucociliair transport worden aangetoond (Clarke et al 1980 / Köhler et al 1982). Mucolytica kunnen de mucociliaire klaring nadelig gaan beïnvloeden wanneer de mucus te waterig wordt (Puchelle et al 1980).

Bij barbituraten zoals pentobarbital wordt een dosis-afhankelijke daling in de slagfrequentie gezien met een verminderde mucociliaire klaring (Wanner 1977).

Bij lokaal gebruik van corticosteroïden zoals prednisolon wordt een lichte stijging van de trilhaaractiviteit bij proefdieren gezien, het be-

clomethason heeft geen invloed op de nasale mucociliaire activiteit bij de mens. Bij patiënten met een stabiel astma geven systemisch toegediende corticosteroïden een betere longklaring ondanks een meer perifere depositie van de ingeademde deeltjes (Agnew et al 1983).

Bij narcotica zoals codeïne en morphine treedt bij proefdieren een daling van de slagfrequentie op met een verminderde mucociliaire klaring (Iravani en Melville 1976).

Methyl-xanthines als theophylline en aminophylline geven in vitro bij proefdieren een stijging van de slagfrequentie, mucusproductie en mucociliair transport. Bij patiënten met chronisch obstructieve longaandoeningen wordt een significante stijging van het mucociliair transport voornamelijk in de trachea en de grote bronchi gezien (Sutton et al 1981 / Vastag et al 1982).

Locaal toegediende antimicrobiële middelen zoals penicilline en streptomycine geven in dierexperimenteel onderzoek een geringe en reversibele daling van de trilhaaractiviteit, alleen het effect van bacitracine blijkt onherstelbaar (van de Donk 1982).

Glycosiden zoals digitoxine en digitamine stimuleren bij proefdieren de trilhaaractiviteit en het mucociliair transport (Wanner 1977).

De mogelijke beïnvloeding van het mucociliair transportmechanisme door pharmaca wordt nog eens in de tabellen 1,2 en 3 weergegeven.

tabel 1. Mogelijke beïnvloeding van het mucociliair transportmechanisme via het autonome zenuwstelsel (+ = stimulatie / - = remming)

pharmacon	trilhaar-activiteit	mucociliair transport	mucus-productie
CHOLINERGE AGONISTEN (acetylcholine)	+	+	+
CHOLINERGE ANTAGONISTEN (atropine)	-	-	-
ADRENERGE AGONISTEN			
- adrenaline	+		
- B-sympaticomimetica	+	+	+
- B ₂ -sympaticomimetica	+	+	+
- A ₁ -sympaticomimetica	-	+	
- A ₂ -sympaticomimetica	-		
ADRENERGE ANTAGONISTEN			
- B-sympaticolytica	-		

tabel 2. Mogelijke beïnvloeding van het mucociliair transportmechanisme door mediators (+ = stimulatie / - = remming)

pharmacon	trilhaar-activiteit	mucociliair transport	mucus-productie
Histamine	+	+	
Serotonine			+
Prostaglandine E ₁ en E ₂	+	-	+
Leukotrien C ₄	+	-	+

Tabel 3. Mogelijke beïnvloeding van het mucociliair transportmechanisme door enkele frequent gebruikte pharmaca (+ = stimulatie / - = remming).

pharmacon	trilhaar-activiteit	mucociliair transport	mucus-productie
Decongestiva	-		
Locaal anaesthetica	-	-	
Inhalatie anaesthetica (halothaan/enfluraan)		-	
Expectorantia/mucolytica	+/-	+/-	+
Barbituraten (pentobarbital)	-	-	
Corticosteroïden	+	+	
Narcotica (codeïne/morphine)	-	-	
Methyl-xanthines (aminophylline/theophylline)	+	+	+
Antibiotica (locaal gebruik)	-		
Glycosiden	+	+	
Anti-histaminica	-	-	
Acetylsalicylzuur		-	

3.3.4. Het mucociliair transportmechanisme en enkele luchtwegaandoeningen.

Luchtweginfecties.

Na een virale rhinitis wordt gedurende 3 tot 8 weken een verminderd mucociliair transport in de neus gevonden met een geringer percentage

trilhaardragende cellen. De slagfrequentie en de synchronisatie per cel zijn nauwelijks veranderd (Sakakura et al 1973/Petruson en Hansson 1982/Pedersen et al 1983-II). De daling van de transportsnelheid blijkt niet in verband te staan met de ernst van de symptomen. Bovendien vormt een laag-normale transportsnelheid in de neus bij gezonde personen geen predispositie voor het ontstaan van een neusverkoudheid, een normaal functionerend mucociliair transportmechanisme vormt geen bescherming tegen een virale rhinitis (Ginzl en Illum 1980 en 1981). Patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie krijgen niet vaker een virale rhinitis (Mygind et al 1983).

Na een pneumonie ten gevolge van influenza A of mycoplasma pneumoniae wordt gedurende drie maanden een abnormaal trage longklaring gevonden (Camner et al 1973-II/Jarstrand et al 1974). Infectie van trilhaarepithel met influenza B vergroot de remming van de trilhaaractiviteit welke door sigarettenrook wordt veroorzaakt (Ballenger 1981). Bij infectie van dierlijk trilhaarepithel met mycoplasma pneumoniae, haemophilus influenzae of met pseudomonas aeruginosa wordt door bepaalde toxinen het epithel beschadigd met verlies van trilhaardragende cellen en een verminderde trilhaaractiviteit (Denny 1974/Gabridge et al 1978/ Reimer et al 1980/Baker 1982).

Bij een chronische sinusitis wordt een traag mucociliair transport in de neus gevonden (Rutland en Cole 1981/Sakakura et al 1983), terwijl de trilhaaractiviteit ter plaatse normaal is (Reimer et al 1978-III). Opvallend is wel dat bij aanwezigheid van bronchiëctasieën de slagfrequentie in het nasale epithel van patiënten met een sinusitis duidelijk is verminderd (Greenstone et al 1983-I/Mackay et al 1983). Mucus uit de neus van patiënten met een chronische sinusitis geeft een significant trager mucociliair transport op dierlijk trilhaarepithel dan mucus van gezonde personen (Majima et al 1983). Purulent sputum heeft een grote viscositeit en bevat enzymen zoals elastase en neutraal-protease die op dierlijk en menselijk epithel een remming van de trilhaaractiviteit veroorzaken, later gevolgd door beschadiging van het respiratoir epithel. Na behandeling met antibiotica verdwijnt dit effect weer (Tegner et al 1979/Smallman et al 1984-I).

Kärjä et al (1983) vinden bij kinderen met chronische luchtweginfecties in 67% een abnormaal traag mucociliair transport in de neus; van deze groep blijkt 97% een sereuze otitis media of een recidiverende otitis

media purulenta te hebben met afwezig mucociliair transport in de buis van Eustachius, wat zich overigens enkele weken na plaatsing van trommelvliesbuisjes weer normaliseert.

Chronische bronchitis.

Bij een chronische bronchitis wordt meer mucus geproduceerd en is het mucociliair transport in de trachea en bronchi verminderd (Camner et al 1973-I / Santa Cruz et al 1974 / Goodman et al 1978 / Mossberg 1980-II en 1980-IV). Een sneller mucociliair transport wordt alleen op dierlijk trilhaarepithel in vitro gevonden (Ceasay et al 1983).

Bij chronische bronchitis treedt verlies van trilhaardragende cellen op met hypertrophie van submucosale klieren, hyperplasie van slijmbekercellen en een verdikking van de basaalmembraan. Deze epitheliale veranderingen zijn gelijk aan die welke bij chronische luchtverontreiniging kunnen worden gevonden.

Naast gebieden met een verminderde en gedesoriënteerde trilhaaractiviteit worden ook gebieden met een normale trilhaaractiviteit en zelfs een versneld mucociliair transport gevonden (van As 1982-II). De slagfrequentie in slijmvliesbiopten is niet significant lager, wel is het aantal cellen met bewegende trilharen meestal duidelijk verminderd (Konietzko et al 1981).

Behalve verlies van trilharen en een grotere hoeveelheid mucus spelen ook veranderingen in de visco-elastische eigenschappen van de geproduceerde mucus en transsudatie of exsudatie van plasma-eiwitten een rol. Sputum van patiënten met een chronische bronchitis vertraagt het mucociliair transport op dierlijk trilhaarepithel, na verwijdering van de mucus normaliseert zich de trilhaaractiviteit (Melville et al 1980 / Puchelle et al 1980). In deze mucus wordt veelal een lage ratio secretair IgA/serum IgA gevonden, een teken van infectieuze beschadiging van het respiratoir epithel (Puchelle et al 1980).

Deze lage ratio kan worden verbeterd met de beta₂-adrenoceptor agonist terbutaline (Sadoul et al 1981). Bij een stijging van het aantal leucocyten in het sputum daalt de mucociliaire klaring nog meer. De daling van het mucociliair transport is evenredig met de ernst en de duur van de bronchitis (Puchelle et al 1981-II).

Mossberg et al (1978-I) vinden bij patiënten met emphyseem op basis van

een α_1 -antitrypsine deficiëntie geen tragere longklaring, mogelijk een gevolg van een meer centrale depositie van de ingeademde deeltjes. Bij een gelijktijdige bronchitis daalt de longklaring significant. Bij patiënten met bronchiëctasieën en bronchitiden wordt ondanks een centrale depositie van de geïnhalde deeltjes een significant tragere longklaring gevonden in vergelijking met gezonde personen, de klaring komt overeen met de longklaring van patiënten die alleen aan een chronische bronchitis lijden (Lourenco et al 1972 / Rossman et al 1978). Bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en bij groepen Polynesiërs met bronchiëctasieën zijn het mucociliair transport in de neus en de longklaring vrijwel afwezig. Bij deze groepen patiënten is een chronische bronchitis een constant gegeven, vaak zijn er tekenen van chronisch obstructieve longaandoeningen en emphyseem (Rossman et al 1978 / Mossberg 1978-II en 1982-II). Bij deze groepen patiënten is sprake van een pathologische trilhaaractiviteit op basis van specifieke ultrastructurele afwijkingen (zie hoofdstuk 1 en 2). Bij patiënten met een chronische bronchitis is de longklaring door hoesten ongeveer gelijk aan of groter dan de longklaring door het mucociliair transportmechanisme, bij gezonde personen is de longklaring door hoesten significant minder (Puchelle et al 1980 / Lauque et al 1984).

Allergie en astma

Bij patiënten met astma zijn in een rustige periode zonder klachten de longklaring en het mucociliair transport in de neus verminderd (Mezey et al 1978 / Bateman et al 1983). Tijdens contact met het allergeen treedt een nog sterkere daling op, onafhankelijk van een eventueel optredend bronchospasme (Wanner et al 1975 en 1983-I / Ahmed et al 1981). Hetzelfde verschijnsel wordt gezien bij patiënten met een allergische rhinopathie, contact met het allergeen heeft bij patiënten zonder allergie geen invloed. Ook bij een rhinitis vasomotorica is het mucociliair transport in de neus verminderd (Robert et al 1980).

De daling van het mucociliair transport bij een allergische reactie komt tot stand door mediators, zij kan worden voorkomen door natrium-cromoglycaat. Acetylcholine en histamine zijn hiervoor niet verantwoordelijk, beide stoffen geven bij allergische proefdieren een sneller mucociliair transport in de trachea (Wanner et al 1975). Histamine heeft

bij een allergische rhinopathie geen invloed op het nasale transportmechanisme. Het slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A of leukotrieën $C_4/D_4/E_4$) blijkt een belangrijke rol te spelen: na toediening van een specifieke SRS-A-antagonist wordt niet alleen een daling van het mucociliair transport voorkomen maar blijkt de transportsnelheid zelfs te kunnen stijgen na contact met het allergeen, zonder dat deze antagonist een eventuele bronchoconstrictie beïnvloedt. Mogelijk dat andere mediators zoals histamine het mucociliair transport onder deze omstandigheden kunnen stimuleren (Sackner 1978 / Maurer et al 1982). Dit geldt voor de lagere luchtwegen, voor de neus zijn veel minder studies beschikbaar met veelal tegenstrijdige resultaten (Wanner 1983-I). De SRS-A-antagonist heeft zelf geen invloed op het mucociliair transport. Het natrium-cromoglycaat heeft bij gezonde personen en bij allergische patiënten geen invloed op het mucociliair transport; ook deze stof kan een daling van de transportsnelheid na provocatie voorkomen. De daling van het mucociliair transport door mediators wordt niet veroorzaakt door een verminderde trilhaaractiviteit: bij contact met het allergeen blijft de slagfrequentie gelijk (Greenstone et al 1983-II) of er treedt een stijging van de slagfrequentie op (Maurer et al 1982). Met name het leukotrien C_4 , en in mindere mate het prostaglandine E_1 en E_2 , stimuleren de trilhaaractiviteit met behoud van de onderlinge coördinatie (Wanner et al 1983-III). Deze stijging van de slagfrequentie kan worden geblokkeerd door het cromoglycaat of een leukotrien-antagonist. De daling van het mucociliair transport bij een atopie wordt voornamelijk veroorzaakt door een grotere productie van mucus en een toeneming van het aantal slijmbekercellen (Watanabe et al 1981). Na contact met het specifieke allergeen vindt een stijging plaats van de productie van glycoproteïnen, vooral door de leukotrieën C_4 en D_4 . Inhalatie van leukotrien D_4 geeft bij allergische proefdieren een daling van het mucociliaire transport in de trachea (Russi et al 1983). Tevens kunnen mediators het transport van water door het respiratoir epitheel beïnvloeden en daarmee de diepte van de periciliaire laag veranderen (Wanner 1983-II).

In het sputum van astma-patiënten kan tijdens exacerbaties van de ziekte in de sol-fractie een factor worden gevonden met een molecuulgewicht van 6000-9000 die op humaan en/of dierlijk trilhaarepitheel een tijdelijke daling van het mucociliair transport veroorzaakt zonder morfologische

veranderingen (Dulfano et al 1982-I en 1982-II). Tijdens remissies verdwijnt deze factor weer uit het sputum en verliest dit sputum zijn waterige karakter.

De longklaring bij patiënten met astma verbetert onder invloed van beta₂-adrenoceptor agonisten (Mossberg et al 1976-II). Bij een allergische rhinopathie wordt na behandeling met beclomethasone aerosol weer een toeneming van het aantal trilhaardragende cellen gezien (Elwany et al 1983).

Mucoviscoïdose.

Bij patiënten met mucoviscoïdose is het mucociliair transport in de neus en in de trachea meestal vertraagd (Wood et al 1975 / Yeates et al 1976 / Rutland en Cole 1981-I). Ook de longklaring is veelal verminderd (Kollberg et al 1978), maar soms kan door hoesten en door een centrale depositie van de ingeademde deeltjes een normaal en zelfs een sneller mucociliair transport worden gevonden (Sanchis et al 1973 / Thomson et al 1973). Het mucociliair transport wordt door beta₂-adrenoceptor agonisten gestimuleerd (Wood et al 1974) en kan door houdingsdrainage worden verbeterd; dit laatste wordt bij gezonde personen niet waargenomen (Wong et al 1977). Er bestaat geen duidelijke correlatie tussen het verminderde mucociliair transport en de klinische verschijnselen, longfunctie en prognose (Wanner 1981-III). Bij patiënten met mucoviscoïdose wordt in de neusslijmvliesbipten een normale trilhaaractiviteit gevonden (Spock et al 1967 / Rutland en Cole 1981). Bij electronenmicroscopisch onderzoek van het trilhaarepithel worden geen specifieke afwijkingen gezien (Simel et al 1980 / Tegner en Toremalm 1981-I / Konradova et al 1982).

De belangrijkste afwijkingen worden gevonden in de mucus. Het aantal slijmbekercellen en de productie van mucus nemen toe. De mucus verandert door meer glycoproteïnen, meer plasma-transsudaat en DNA, minder water en door wijzigingen in de concentraties van electrolyten. Er worden echter geen duidelijke verschillen gevonden in de rheologische eigenschappen van het sputum van patiënten met mucoviscoïdose, chronische bronchitis en bronchiëctasieën (Puchelle et al 1979).

Veel onderzoek is verricht naar een bij mucoviscoïdose voorkomende factor welke de trilhaaractiviteit beïnvloedt. Het bestaan van deze

factor en de specificiteit voor mucoviscoïdose staan nog geenszins vast. Spock et al (1967) ontdekken in het serum van patiënten met mucoviscoïdose een euglobuline die op dierlijk epitheel een dyskinesie van trilharen veroorzaakt. De concentratie van deze stof is in het serum van homozygoten sterker dan in het serum van heterozygoten. Het bestaan van een dergelijke factor wordt door andere onderzoekers bevestigd en de stof blijkt ook voor te komen in speeksel, urine en fibroblasten (Conover et al 1973-I / Bowman et al 1975 en 1980 / Blitzer en Shapira 1982). Na applicatie van deze factor op dierlijk trilhaar-epitheel wordt eerst hypersecretie van mucus gezien, gevolgd door dyskinesie van de trilharen waarna tenslotte de trilhaaractiviteit geheel verdwijnt. Bij electronenmicroscopisch onderzoek van het gebruikte trilhaarepithel worden geen specifieke afwijkingen gezien (Bauer et al 1976). Het sputum van patiëntjes met mucoviscoïdose vermindert het mucociliair transport op trilhaarepithel van gezonde dieren, dit effect is nog sterker indien het sputum geïnfecteerd is (Puchelle et al 1979). Uit het onderzoek van Cheung en Jahn (1977-II) blijkt echter dat de veranderingen van de trilhaaractiviteit een secundair effect is en alleen optreedt na een door het serum geïnduceerde celbeschadiging en cytolysis. Rossman et al (1977) melden dat in vivo de dyskinesie en de daling van het mucociliair transport bij mensen alleen kunnen optreden als er een ontstekingsreactie in het epitheel heeft plaats gevonden zodat de factor, mogelijk geassocieerd met het IgG of het IgM, het epitheel door exsudatie heeft kunnen bereiken. Kennedy et al (1982) vinden dat de remming van de trilhaaractiviteit nauw samenhangt met het complement-systeem, na inactivatie van het C'3a en het C'5 gaat het effect verloren.

Een factor met dezelfde activiteit wordt echter ook gevonden in het serum van gezonde personen, in het serum van patiënten met andere respiratoire aandoeningen en met auto-immuunziektes, en in het serum van gezonde proefdieren (Conover et al 1973-II / Wilson en Fudenberg 1977 / Sanderson en Sleight 1981-I). Tegner et al (1981-I en 1981-II) kunnen in het serum en in de fibroblasten van patiënten met mucoviscoïdose geen enkele factor ontdekken die de functie of de morfologie van dierlijk trilhaarepithel beïnvloedt. Rutland et al (1983-II) vinden dat serum van gezonde mensen en van patiënten met mucoviscoïdose alleen de trilhaaractiviteit in dierlijk epitheel vermindert, maar in vitro

geen invloed heeft op de slagfrequentie in slijmvliesbiopten uit de neus en de trachea van gezonde personen of van patiënten met mucoviscidose. Thans is nog geen van de assays met dierlijk trilhaarepitheel geschikt voor een betrouwbare screening op heterozygoten of voor prenatale diagnostiek (Bowman et al 1980).

Bij de besproken respiratoire aandoeningen gaan hoesten en houdingsdrainage een belangrijke rol spelen bij het schoonhouden van de luchtwegen. Patiënten met een chronische bronchitis kunnen door middel van een productieve hoest, fysiotherapie en houdingsdrainage een vrijwel normale longklaring bereiken. Het hoesten kan als klaringsmechanisme pas effectief werken bij een toegenomen secretie in de luchtwegen, bij gezonde personen spelen een niet-productieve hoest en houdingsdrainage geen rol (Mossberg en Camner 1980-I / Puchelle et al 1980).

3.3.5 Tot slot worden nog enkele externe factoren besproken die het mucociliair transport kunnen beïnvloeden.

Trauma.

Tijdens intubatie veroorzaakt de druk van de cuff een ischaemische necrose van het respiratoir epitheel. Naast verlies van trilharen treedt metaplasie naar plaveiselepitheel op en kan het mucociliair transport dalen, zeker als de metaplasie circulair is (Paegle et al 1973 / Paegle en Bernard 1975 / Sackner et al 1975). De snelheid van het mucociliair transport is 4-8 weken na de extubatie weer normaal (Belson 1983). Soms wordt na een intubatie tijdelijk een versneld mucociliair transport gevonden, waarschijnlijk ten gevolge van vernieuwing van het beschadigde trilhaarepitheel. Eenzelfde effect valt soms ook na bronchoscopie waar te nemen (Landa et al 1980). Na curettage van trilhaarepitheel treedt herstel op door migratie van trilhaardragende cellen vanuit de periferie en door differentiatie van basale cellen. Door deling van de centrioles ontstaan talrijke basaallichamen die naar het celoppervlak migreren en waaruit vervolgens nieuwe trilharen ontstaan. Het celoppervlak is gedurende de eerste dagen bedekt met microvilli. Bij proefdieren wordt na vijf dagen weer een normaal trilhaardragend epitheel gevonden (Hilding en Hilding 1966 / Keenan et al 1983). Een volledig herstel van mucociliair transport wordt pas na zes weken tot enkele maanden ge-

zien, afhankelijk van de gebruikte diersoort (Hayashi en Huber 1980).

Bestraling

Na bestraling van trilhaarepitheel wordt gedurende een bepaalde tijd een toeneming van de slagfrequentie gezien, die langer aanhoudt naarmate de dosering hoger is geweest. Zo wordt bijvoorbeeld na een bestraling van 7000 rad gedurende 185 sec. een toeneming van de slagfrequentie gezien (Baldetorp et al 1976). Na de stijging van de slagfrequentie treedt een verminderde productie van mucus op met een daling van de slagfrequentie, eveneens afhankelijk van de dosering. Fujiwara et al (1972) melden bij dierlijk trilhaarepitheel na een bestraling van respectievelijk 500 en 3000 rad een terugkeer naar de normale slagfrequentie na respectievelijk 1.5 en 2.5 uur. Na 7000 rad werd gedurende 3 uur geen trilhaaractiviteit meer waargenomen. Bij een bestraling van 4000 rad en meer worden morfologische veranderingen gezien: desoriëntatie en fusie van trilharen, met de vorming van vesikels in de celmembraan en toeneming van het aantal slijmbekercellen. De membranen van de mitochondriën zwellen en de mitochondriën gaan dichter bij de basaallichamen van de trilharen liggen (Baldetorp et al 1976).

Luchtverontreiniging.

Kortdurend contact met sigarettenrook, stikstofdioxide en zwaveldioxide geeft eerst een stijging van de slagfrequentie, gevolgd door een daling van de trilhaaractiviteit met verlies van coördinatie, een toeneming van de mucusproductie en een verminderd mucociliair transport (Ballenger 1981 / Wolff et al 1981). Dit wordt in de neus en in de lagere luchtwegen gezien, zowel bij proefdieren als ook bij mensen (Andersen et al 1974-I / Clarke 1980 / Mossberg 1980-I / Reid et al 1982). Na langduriger contact worden tevens morfologische veranderingen gezien zoals verlies van trilhaardragende cellen, hyperplasie van slijmbekercellen en plaveiselcellige metaplasie met hypertrophie van de submucosale klieren (Dahlgren et al 1972 / Irander et al 1980). Deze epitheliale veranderingen kunnen worden voorkomen door phenylmethyloxadiazole (PMO) en phenylbutazone, beide non-steroïde anti-inflammatoire stoffen. De epitheliale veranderingen dragen tevens bij tot een verminderd muco-

ciliair transport in de neus en in de longen.

Bij langdurige rokers wordt een daling van de longklaring en een traag mucociliair transport in de trachea gevonden, terwijl onderzoek van de longfunctie toch nog normale waarden laat zien (Goodman et al 1978). Bij rokers met een chronische bronchitis blijkt de afgenomen longklaring nog slechts gedeeltelijk reversibel, ook na langdurig staken van het roken (Camner et al 1973-III).

Langdurig contact met houtstof bij arbeiders in de meubelindustrie geeft een vertraagd mucociliair transport in de neus met een verhoogde incidentie van metaplasie naar plaveiselepitheel. Dit predisponeert mogelijk tot het ontstaan van adenocarcinomen van de neus en van de neusbijholten (Black et al 1974). Contact met zware metalen, met name cadmium en nikkel, geeft een verminderde trilhaaractiviteit en verlies van ATP in de epitheliale cellen (Gabridge et al 1982).

Bij patiënten die een laryngectomie hebben ondergaan wordt post-operatief gedurende 3-4 weken een sneller mucociliair transport in de neus gevonden (Ewert 1965 / Simon et al 1977).

3.4. DIAGNOSTIEK VAN HET MUCOCILIAIR TRANSPORT

In het mucociliair transportmechanisme spelen twee factoren een rol: trilharen en mucus. Bij de bestudering van dit systeem kan men de verplaatsing van mucus meten en/of de daaraan ten grondslag liggende trilhaaractiviteit.

Trilhaaractiviteit

De trilhaaractiviteit kan zowel in vivo als in vitro worden bestudeerd. De slagfrequentie en het ritme kunnen worden vastgesteld door registratie van de reflecties van schuin invallend licht (Mercke et al 1974-I / Toremalm et al 1974 / Reimer et al 1977 en 1978-I) of door registratie van de onderbrekingen van een lichtstraal door het biopt (Dalhamn et al 1962 / Rylander 1962 / Yager et al 1978 / Pedersen en Mygind 1980 / Rutland en Cole 1980-II / Roth en Ostfeld 1984). Bij de meeste studies wordt de trilhaaractiviteit in de bedekkende slijmlaag geregistreerd waardoor in feite mucociliaire activiteit wordt bestudeerd.

Verplaatsing van mucus

De verplaatsing van mucus kan worden bestudeerd door één of meer deeltjes op de mucus te deponeren en door vervolgens de verplaatsing van deze deeltjes te registreren. De snelheid van het mucociliair transport kan worden berekend door de afgelegde weg te delen door de benodigde tijd. Als deeltjes kunnen worden gebruikt: een smaakstof (Andersen et al 1974-II), een kleurstof (van Ree en van Dishoeck 1962 / Ewert 1967), teflon plaatjes (Yergin et al 1978) en radio-actieve deeltjes (Proctor en Wagner 1965 / Quinlan et al 1969 / Guillermin et al 1971 / Kärjä et al 1982 / van der Baan 1982 en 1983). Voor deze laatste methode blijkt 0.02 ml vloeistof met een minimale activiteit van 10 microCi het meest betrouwbaar.

Aan de beschreven methodes zijn enkele bezwaren verbonden:

- 1) bij iedereen komen gebieden met een snel transport naast gebieden met een langzaam transport voor (Yeates et al 1975 / Proctor 1983). Bij gebruik van één deeltje zou een onjuiste weergave van het geheel kunnen worden verkregen.
- 2) de grootte en de chemische eigenschappen van de gebruikte deeltjes bepalen de diffusie in de gel-laag en in de sol-laag van de mucus en kunnen zo de metingen beïnvloeden.
- 3) de patiënt wordt blootgesteld aan straling, bovendien zou de radio-activiteit de werking van de trilharen en de productie van mucus kunnen beïnvloeden.
- 4) de methode is invasief, zeker bij bepaling van het transport in trachea en bronchi.
- 5) mucociliair transport in kleinere bronchi en bronchioli kan met deze methodes veelal niet worden bepaald.
- 6) bij obstructie van een neusgang door een anatomische afwijking zoals een septumdeviatie is het mucociliair transport aanzienlijk vertraagd (Quinlan et al 1969 / Cinzel en Illum 1980). Tijdens de neuscycli treedt bij congestie in een neusgang een daling van de mucusproductie op waardoor het mucociliair transport afneemt (Puchelle et al 1981-I).

Bij de bepaling van de mucociliaire klaring van de longen worden de radio-actieve deeltjes via een aerosol geïnhaled waarna op geregelde tijden de totale radio-activiteit over de longvelden en over de trachea

wordt gemeten. Op deze manier wordt de klaring per tijd berekend als percentage van de ingeademde hoeveelheid radio-activiteit (Camner 1971/ Yeates et al 1974-I / Gans et al 1981). De depositie van de radio-activiteit wordt bepaald door de grootte van de gebruikte deeltjes, de diepte van de ademhaling, de volumestroom en de longfunctie.

Ook deze methode heeft nadelen:

- 1) het is niet eenvoudig om een constante grootte van de deeltjes en een stabiele verbinding tussen de deeltjes en het radio-nuclide te verkrijgen.
- 2) bij obstructieve longaandoeningen is de depositie van de geïnhaalde deeltjes anders dan bij gezonde longen, zodat het mogelijk is dat alleen de snellere klaring uit de centrale luchtwegen wordt geregistreerd.

Correlatie tussen de diverse methodes.

Bij de bepaling van het mucociliair transport in de neus moet terdege rekening worden gehouden met de gebruikte stof. Een teflon-schijfje of een met technetium beladen harsdeeltje lost niet op en geeft dus alleen de verplaatsing van de bovenste gel-laag weer, een radio-actieve albumine-oplossing of saccharine lost gedeeltelijk op waardoor ook een eventueel transport via de onderste sol-laag wordt weergegeven. De bevindingen met de diverse methodes zijn wisselend. Andersen et al (1974-II) en Puchelle et al (1981-I) vinden bij gezonde mensen een positieve correlatie tussen de bepaling van nasaal mucociliair transport met een radio-actief harsdeeltje en de bepaling met saccharine, Sakakura et al (1983) vinden bij gezonde mensen een positieve correlatie en bij patiënten met een sinusitis géén correlatie tussen de beide methodes. Yergin et al (1978) gebruiken voor de meting van nasaal mucociliair transport een teflon-schijfje en saccharine, zij vinden géén correlatie tussen de twee metingen. Andersen et al (1974-III) vinden geen correlatie tussen de longklaring en het met een radio-actief harsdeeltje bepaalde nasale transport, er blijkt wel een zwak-positieve correlatie te bestaan tussen de longklaring en het met saccharine bepaalde nasale transport. Rossman et al (1978) vinden een positieve correlatie tussen de longklaring en het met een druppel radio-actief albumine bepaalde nasale transport.

ONDERZOEK

Het onderzoek van het trilhaarepitheel van patiënten met chronisch recidiverende luchtweginfecties richt zich in deze studie op de ultrastructuur, de beweeglijkheid en de functie van de trilharen.

Steeds hebben wij hiervoor het slijmvlies van de neus genomen.

Er worden 2 groepen patiënten en 1 groep gezonde personen onderzocht:

- Patiënten met het syndroom van Kartagener (= chronisch recidiverende infecties van de bovenste en onderste luchtwegen en een situs inversus. De aanwezigheid van bronchiëctasieën is mede afhankelijk van de ernst en de duur van de luchtwegaandoening en wordt daarom niet in deze omschrijving opgenomen (zie hoofdstuk 1).
- Patiënten met onverklaarde infecties van de bovenste en onderste luchtwegen, zonder een situs inversus.
- Gezonde mensen zonder luchtwegaandoeningen en zonder een situs inversus.

Het onderzoek van de ultrastructuur wordt beschreven in de hoofdstukken 4 en 5. De bestudering van de trilhaarbewegingen in de biopten wordt beschreven in hoofdstuk 6 en de metingen van het mucociliair transport worden vermeld in hoofdstuk 7.

Hoofdstuk 4

TRANSMISSIE ELECTRONENMICROSCOPIE.

4.1 ONDERZOCHE PERSONEN

Er worden 3 groepen onderzocht:

- a. Patiënten met het syndroom van Kartagener (n=13).

Selectiecriteria: het voorkomen van chronisch recidiverende infecties van de bovenste en/of onderste luchtwegen met een situs inversus.

- b. Patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=87).

Selectiecriteria: het voorkomen van chronisch recidiverende luchtweginfecties zonder een situs inversus, na uitsluiting van allergie, mucoviscidose, immuundeficiënties en α_1 -antitrypsine deficiëntie. Enkele personen uit deze groep blijken een verwante te hebben met het syndroom van Kartagener.

- c. Gezonde personen (n=23).

Selectiecriteria: geen enkele luchtwegaandoening, geen situs inversus.

Tussen de 3 groepen bestaan geen verschillen in het aantal rokers.

Over de onderzochte groepen moeten een aantal opmerkingen worden gemaakt:

1. De groep gezonde personen bestaat uit medewerkers van het ziekenhuis, jonge volwassenen zonder luchtwegaandoeningen. Zij zijn uit heel Nederland afkomstig. Er bestaat geen onderlinge verwantschap in deze groep.
2. Van de groep patiënten met het syndroom van Kartagener blijken 5 van de 13 patiënten (= 38.5%) in Volendam te zijn geboren. Tussen deze 13 patiënten bestaat geen 1e of 2e graads verwantschap.
3. Van de 87 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties zijn 15 patiënten (= 17.2%) in Volendam geboren. Twee van de 87 patiënten blijken een broer met het syndroom van Kartagener te hebben. Tussen 8 van de 87 patiënten bestaat een 1e graads verwantschap (broer-zuster), tussen 4 van de 87 patiënten bestaat een 2e graads verwantschap (neef-nicht).

Overwegingen

De grootte van de groep gezonde personen maakt het moeilijk om statistisch verantwoorde uitspraken te doen over "normale waarden" (Rümke en Bezemer 1972).

De genetische aspecten (Volendam) en de verwantschap tussen patiënten uit de 2 groepen met luchtweginfecties maken het enerzijds discutabel deze groepen als representatieve steekproeven met elkaar te vergelijken, anderzijds spelen aspecten als een genetisch isolaat en verwantschap juist bij een genetisch bepaalde ziekte als primaire ciliaire dyskinesie een belangrijke rol.

Rekening houdend met het bovenstaande lijkt het gerechtvaardigd de 3 groepen met elkaar te vergelijken. De resultaten van het statistisch vergelijkend onderzoek moeten echter met enige voorzichtigheid worden betracht. De conclusies hebben een meer oriënterend dan definitief karakter.

4.2 METHODE

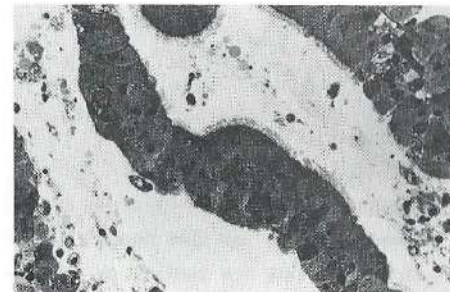
Inleiding

Verschillende ultrastructurele afwijkingen, zoals een dyneïne deficiëntie en de verplaatsing van een perifeer paar microtubuli naar centraal bij het ontbreken van de centrale microtubuli (transpositie) worden verantwoordelijk gesteld voor het voorkomen van primaire ciliaire dyskinesie. Uit de thans bekende literatuur kan echter niet worden opgemaakt wanneer van een dyneïne deficiëntie kan worden gesproken. Tevens moet worden opgemerkt dat een aantal van deze afwijkingen zoals transpositie voorkomen bij andere luchtwegaandoeningen zoals astma en tuberculose (zie hoofdstuk 2) en dat zij incidenteel zelfs bij gezonde personen kunnen worden gevonden. De frequentie van deze afwijkingen wordt echter zelden vermeld, zodat ook hierbij een betrouwbaar onderscheid tussen normaal en abnormaal niet mogelijk is. Daarom is in deze studie gekozen voor een kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur.

De ultrastructuur van de trilharen wordt bestudeerd in het trilhaar-

epitheel van de neus met behulp van de transmissie elektronenmicroscopie. De biopten worden afgenomen door enkele malen met een scherpe curette langs de achterste helft van de concha inferior te strijken. Er wordt hierbij geen decongestivum of lokaal anaestheticum gebruikt. Enkele dagen voor het onderzoek wordt het eventuele gebruik van intra-nasale medicatie zoals neusdruppels en spray's gestaakt. Tevens wordt er naar gestreefd de patiënten in een zo rustig mogelijke fase van hun luchtwegaandoening te onderzoeken. Het weefsel wordt opgevangen in een weefselmedium (Gey BSS, Gibco), waarna de trilhaaractiviteit wordt onderzocht (zie hoofdstuk 6).

De slijmvliesbiopten worden na bestudering van de trilhaaractiviteit eerst gefixeerd in 2% glutaraaldehyde met een fosfaatbuffer en vervolgens in 1.3% osmiumtetroxide met een collidinebuffer. Na spoelen met alcohol-oplossingen van 50% en 70% worden de biopten gedehydreerd in een alcohol-reeks met een oplopende concentratie van 70% tot 100%. Hierna worden de biopten in Epon geïmpregneerd en ingebed. De localisatie van de trilharen in het biopt wordt vastgesteld in half-dunne coupes van 1 micrometer, gesneden met een LKB III Ultratome en gekleurd met toluïdine-blauw (figuur 1). De ultra-dunne coupes worden

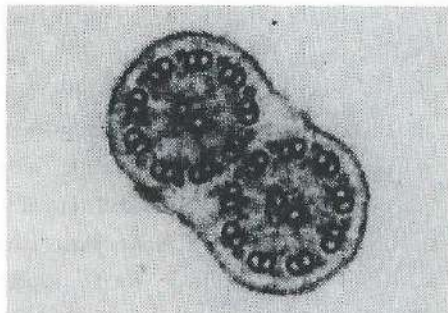


figuur 1.

Neusslijmvlies van een patiënt met primaire ciliaire dyskinesie. Half-dunne coupe (vergroting 25x).

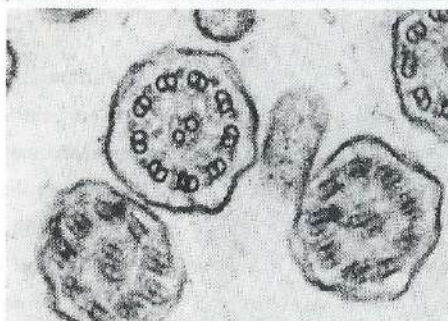
eveneens gesneden met een LKB III Ultratome in een dikte van 50-60 nm. De coupes worden gekleurd met uranylacetaat en loodcitraat. De coupes worden onder een Zeiss EM-109 elektronenmicroscop bekeken. De ultrastructuur van de trilharen is onderzocht op dwarsdoorsneden met een vergroting van 90.000x - 130.000x (figuren 2 t/m 5).

Van ieder biopt worden minimaal 20 dwarsdoorsneden van trilharen gefotografeerd. De foto's worden beoordeeld zonder enige kennis van de ziektegeschiedenis van de betreffende persoon. Met behulp van een



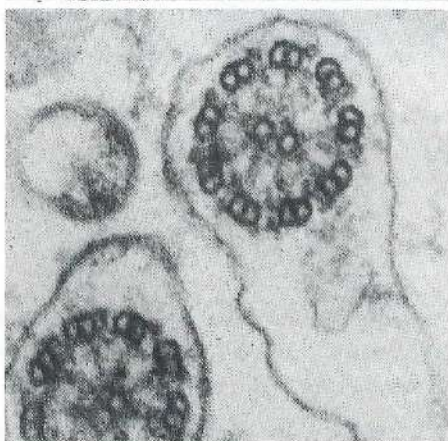
figuur 2.

Twee trilharen met een normale ultrastructuur binnen één membraan ("compound cilia"). Opname van een gezond persoon (vergroting 120.000x).



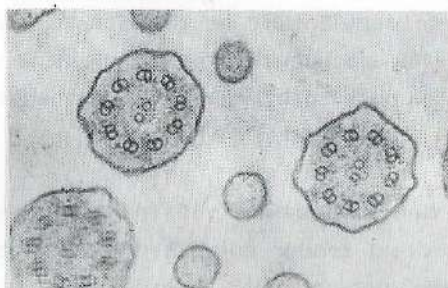
figuur 3.

Trilhaar met een normale ultrastructuur. Opname van een patiënte met chronisch recidiverende luchtweginfecties (vergroting 110.000x).



figuur 4.

Twee trilharen met een normale ultrastructuur van een patiënt met luchtweginfecties. Opvallende slierten van de membraan (vergroting 110.000x).



figuur 5.

Twee trilharen met slechts enkele dyneïne armen. De centrale microtubuli vertonen een parallelle oriëntatie. Patiënt met een primaire ciliaire dyskinesie (vergroting 90.000x).

speciaal ontworpen tabel worden voor ieder biopt een aantal structuren geteld. Er wordt hierbij gelet op de aanwezigheid van:

1. het aantal buitenste dyneïne armen per trilhaar (paragraaf 4.3.1)
2. het aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar (paragraaf 4.3.1)
3. het aantal nexine verbindingen per trilhaar (paragraaf 4.3.2)
4. het aantal spaken per trilhaar (paragraaf 4.3.3.)
5. het percentage trilharen met een centrale schede (paragraaf 4.3.4)
6. het percentage parallel georiënteerde trilharen (paragraaf 4.3.5)
7. het percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli (paragraaf 4.3.6)
8. het percentage trilharen met incomplete microtubuli (paragraaf 4.3.7)
9. het percentage trilharen met transpositie (paragraaf 4.3.8)

Voor het tellen van de structuren 1 t/m 4 zijn steeds 20 trilharen gekozen met de beste afbeelding van een dwarsdoorsnede. De percentages bij 5 t/m 9 gelden voor 20-50 trilharen. Op grond van deze steekproeven worden conclusies getrokken voor het trilhaarepitheel van de betreffende persoon.

Statistische methoden

In deze studie wordt de frequentie van een aantal ultrastructurele afwijkingen onderzocht. Het blijkt dat met name bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie uitbijters voorkomen. Teneinde de groepen zo goed mogelijk te vergelijken zal in dit onderzoek van verdelingsvrije statistische methoden gebruik worden gemaakt. Hiermee hangt samen dat als kengetallen de spreidingsbreedte en de mediaan worden weergegeven. Statistische toetsen vinden plaats bij een tweezijdige onbetrouwbaarheidsdrempel van 5%. Resultaten worden dus "significant" genoemd als de overschrijdingskans p hoogstens gelijk is aan 0.05. Als $p < 0.01$ of zelfs < 0.001 wordt dit tevens aangegeven. De toegepaste methode wordt steeds bij het betreffende resultaat vermeld (Armitage 1971).

4.3 RESULTATEN

4.3.1 Dyneïne armen

De berekende aantallen buitenste en binnenste dyneïne armen per tril-

haar worden voor de gezonde personen weergegeven in tabel 1 en voor de patiënten met het syndroom van Kartagener in tabel 2.

De kengetallen voor de gezonde personen worden weergegeven in tabel 3, voor de patiënten met het syndroom van Kartagener in tabel 4 en voor de groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties in tabel 5.

De verdeling van de aantallen buitenste en binnenste dyneïne armen wordt voor de 3 groepen nog eens weergegeven in de figuren 6 en 7.

Rekening houdend met de overwegingen van paragraaf 4.1 (zie pagina 68) en de verdeling van de dyneïne armen, zoals weergegeven in figuur 6 en figuur 7, worden de laagste waarden van de groep gezonde personen voorlopig als ondergrens van "normaal" aangenomen.

tabel 1. Het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij gezonde personen (n=23).

	buitenste dyneïne armen per trilhaar	binnenste dyneïne armen per trilhaar
1	8.2	3.1
2	8.4	2.5
3	7.6	3.6
4	8.1	2.2
5	6.6	2.9
6	8.2	2.6
7	7.4	2.2
8	7.9	4.0
9	8.0	2.9
10	8.7	3.8
11	8.8	4.6
12	8.6	3.0
13	6.9	3.1
14	8.2	3.2
15	8.0	4.0
16	8.2	3.5
17	7.2	3.0
18	8.1	3.2
19	7.8	3.6
20	8.4	4.0
21	8.0	3.8
22	6.8	3.4
23	8.0	3.0

tabel 2. Het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met het syndroom van Kartagener (n=13).

	buitenste dyneïne armen per trilhaar	binnenste dyneïne armen per trilhaar
1	0.2	0
2	0.4	0
3	6.7	2.6
4	0	0.7
5	0.4	0.2
6	0.5	2.1
7	0.4	0.5
8	0.1	0.6
9	7.8	0.2
10	4.6	0.1
11	1.2	0.3
12	0.3	0.8
13	0.4	2.6

tabel 3. Spreidingsgebied en mediaan van het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij gezonde personen (n=23).

	spreidingsbreedte	mediaan
buitenste dyneïne armen	5.6 - 8.8	8.0
binnenste dyneïne armen	2.2 - 4.6	3.2

tabel 4. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met het syndroom van Kartagener (n=13).

	spreidingsbreedte	mediaan
buitenste dyneïne armen	0 - 7.8	0.4
binnenste dyneïne armen	0 - 2.6	0.5

tabel 5. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=87).

	spreidingsbreedte	mediaan
buitenste dyneïne armen	0 - 8,8	7,6
binnenste dyneïne armen	0 - 5,6	2,6

In de groep van 13 patiënten met het syndroom van Kartagener blijken 2 patiënten een normaal aantal buitenste dyneïne armen te hebben en 2 patiënten een normaal aantal binnenste dyneïne armen. Het gaat hier om 3 patiënten:

- nr. 3 (6,7 buitenste dyneïne armen/2,6 binnenste dyneïne armen)
- nr. 9 (7,8 buitenste dyneïne armen/0,2 binnenste dyneïne armen)
- nr.13 (0,4 buitenste dyneïne armen/2,6 binnenste dyneïne armen)

aantal buitenste dyneïne armen per trilhaar

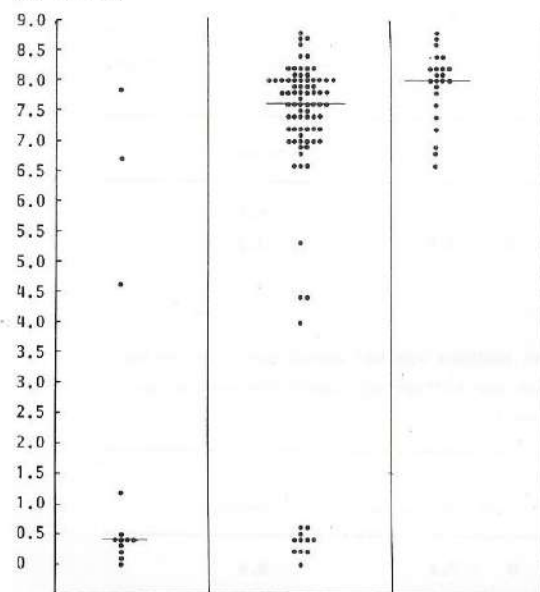


fig 6. Aantal buitenste dyneïne armen per trilhaar
— = mediaan

onderzochte personen

patiënten met het syndroom van Kartagener (n = 13) patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n = 87) gezonde personen (n = 23)

aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar

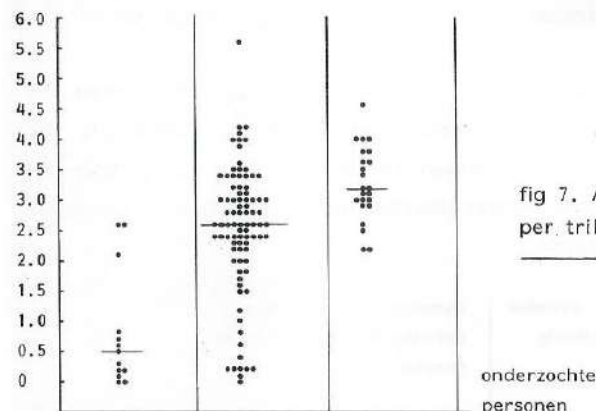


fig 7. Aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar
— = mediaan

patiënten met het syndroom van Kartagener (n = 13) patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n = 87) gezonde personen (n = 23)

Slechts 1 patiënt heeft dus zowel een normaal aantal buitenste dyneïne armen als een normaal aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar. In de groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties kunnen 6 groepen worden onderscheiden (fig. 6 en 7):

- 11 patiënten met een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen (0 - 0,6)
- 4 patiënten bij wie een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen onzeker is (4,0 - 5,3)
- 72 patiënten zonder een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen (6,6 - 8,8)
- 12 patiënten met een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen (0 - 1,2)
- 9 patiënten bij wie een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen onzeker is (1,5 - 2,0)
- 66 patiënten zonder een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen (2,2 - 5,6)

De berekende correlatiecoëfficiënt tussen het aantal buitenste dyneïne armen per trilhaar en het aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar is

voor de gezonde personen en voor de patiënten met het syndroom van Kartagener niet significant (rangcorrelatiecoëfficiënt van Spearman). Het aantal buitenste dyneïne armen zegt niets over het aantal binnenste dyneïne armen.

Hieruit volgt dat bij het beoordelen van het aantal dyneïne armen bij een patiënt met luchtweginfecties steeds zowel de buitenste als de binnenste dyneïne armen moeten worden betrokken. Op grond hiervan wordt de groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties verdeeld volgens onderstaande kruistabel:

buitenste dyneïne armen binnenste dyneïne armen	geen dyneïne deficiëntie	dyneïne deficiëntie onzeker	dyneïne deficiëntie	
geen dyneïne deficiëntie	65	0	1	66
dyneïne deficiëntie onzeker	6	0	3	9
dyneïne deficiëntie	1	4	7	12
	72	4	11	87

Mede door het ontbreken van een significante correlatie tussen het aantal buitenste dyneïne armen en het aantal binnenste dyneïne armen kunnen de volgende definities worden opgesteld:

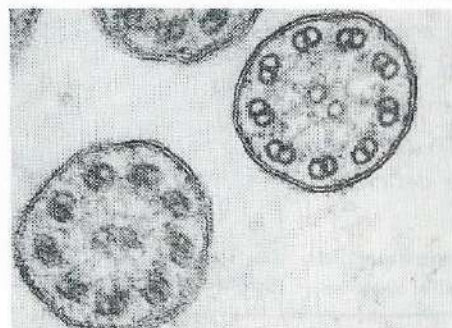
- geen efficiëntie of een onzekere efficiëntie van de buitenste dyneïne armen en geen efficiëntie of een onzekere efficiëntie van de binnenste dyneïne armen = geen dyneïne efficiëntie.
- efficiëntie van de buitenste en/of een efficiëntie van de binnenste dyneïne armen = een dyneïne efficiëntie.

Uit de kruistabel blijkt dat 16 patiënten van de groep met onverklaarde luchtweginfecties volgens de beschreven definities een dyneïne efficiëntie bezitten. Tevens blijken alle patiënten met onverklaarde luchtweginfecties te kunnen worden ingedeeld in een groep zonder dyneïne efficiëntie of in een groep met dyneïne efficiëntie, er blijven geen

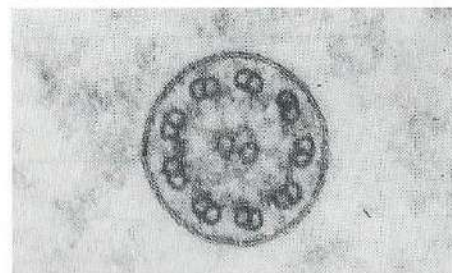
patiënten over met een onzekere dyneïne efficiëntie. Het is denkbaar dat bij een grotere groep gezonde personen de ondergrenzen anders komen te liggen. Het blijkt echter dat ook bij verschuiven van de gehanteerde ondergrenzen alle patiënten met onverklaarde luchtweginfecties worden ingedeeld in een groep zonder dyneïne efficiëntie of in een groep met dyneïne efficiëntie. De methode blijft ook dan haar waarde behouden.

De groep van 13 patiënten met het syndroom van Kartagener kan als volgt worden ingedeeld:

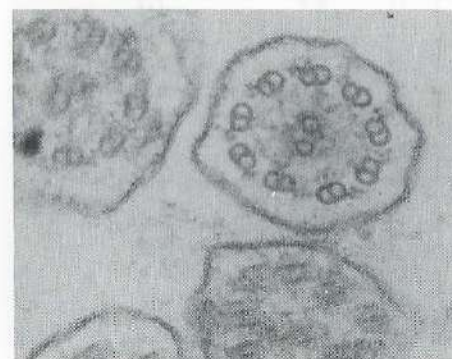
- 10 patiënten met een efficiëntie van de buitenste en de binnenste



figuur 8.
Patiënt met het syndroom van Kartagener. De buitenste buitenste en de binnenste dyneïne armen ontbreken (vergroting 120.000x).



figuur 9.
Patiënt met het syndroom van Kartagener. De buitenste dyneïne armen ontbreken (vergroting 125.000x).



figuur 10.
Patiënt met het syndroom van Kartagener. De binnenste dyneïne armen ontbreken (vergroting 120.000x).

dyneïne armen (figuur 8)

- 1 patiënt met een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen (figuur 9)
- 1 patiënt met een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen (figuur 10)
- 1 patiënt zonder een dyneïne deficiëntie

De groep van 87 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties kan als volgt worden ingedeeld:

- 14 patiënten met een deficiëntie van de buitenste en binnenste dyneïne armen (inclusief patiënten met een deficiëntie van de buitenste of binnenste dyneïne armen en een onzekere deficiëntie van de binnenste of de buitenste dyneïne armen)
- 1 patiënt met een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen
- 1 patiënt met een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen
- 71 patiënten zonder een dyneïne deficiëntie

tabel 6. Het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=29)

syndroom van Kartagener			dyneïne deficiëntie		
buitenste dyneïne armen per trilhaar	binnenste dyneïne armen per trilhaar		buitenste dyneïne armen per trilhaar	binnenste dyneïne armen per trilhaar	
1	0.2	0	14	0.4	1.8
2	0.4	0	15	5.3	0.6
3	6.7	2.6	16	0.4	0
4	0	0.7	17	6.6	1.2
5	0.4	0.2	18	0.6	1.7
6	0.5	2.1	19	0.4	0.1
7	0.4	0.5	20	4.4	0.2
8	0.1	0.6	21	4.0	1.0
9	7.8	0.2	22	0.2	0.4
10	4.6	0.1	23	0.5	0.2
11	1.2	0.3	24	0.6	2.4
12	0.3	0.8	25	0.2	0.2
13	0.4	2.6	26	0.2	0.2
			27	0.4	0.8
			28	4.4	0.2
			29	0	2.0

tabel 7. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=29)

		spreidingsbreedte	mediaan
patiënten met het syndroom van Kartagener (n=13)	buitenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 7.8	0.4
	binnenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 2.6	0.5
patiënten met een dyneïne deficiëntie, zonder situs inversus (n=16)	buitenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 6.6	0.5
	binnenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 2.4	0.5
patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=29)	buitenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 7.8	0.4
	binnenste dyneïne armen per trilhaar	0 - 2.6	0.5

tabel 8. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal buitenste en binnenste dyneïne armen per trilhaar bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=71)

	spreidingsbreedte	mediaan
buitenste dyneïne armen per trilhaar	6.6 - 8.8	7.6
binnenste dyneïne armen per trilhaar	1.5 - 5.6	2.8

Door de groep van 13 patiënten met het syndroom van Kartagener aan te vullen met de 16 patiënten met een dyneïne deficiëntie, ontstaat er een groep van 29 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie:

- 13 patiënten met het syndroom van Kartagener (12 patiënten met een dyneïne deficiëntie en 1 patiënt zonder dyneïne deficiëntie)

- 16 patiënten met chronisch recidiverende luchtweginfecties en een dyneïne deficiëntie, zonder een situs inversus.

De aantallen dyneïne armen bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie worden weergegeven in tabel 6, de bijbehorende kengetallen in tabel 7. De kengetallen van de resterende groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=71) staan in tabel 8.

Discussie

Algemeen wordt aangenomen dat een dyneïne deficiëntie een primaire ciliaire dyskinesie kan veroorzaken. Bij het vaststellen van een dyneïne deficiëntie kunnen zich echter een aantal problemen voordoen:

- 1) het aantal afgebeelde dyneïne armen kan worden beïnvloed door de gebruikte chemicaliën (Fox et al 1983 / Levison et al 1983)
- 2) een infectie van het slijmvlies kan de afbeelding van het axonema, inclusief de dyneïne armen, ongunstig beïnvloeden (Corbeel et al 1981)
- 3) er bestaan nauwelijks gegevens over het aantal dyneïne armen dat men in het slijmvlies van gezonde personen en van patiënten met luchtweginfecties kan aantreffen. Dit maakt het vaststellen van een dyneïne deficiëntie bijzonder moeilijk. In de publicatie van Nielsen et al (1983) wordt dit geïllustreerd: de auteurs vinden bij gezonde personen 6.5 - 8.6 buitenste dyneïne armen per trilhaar en 2.5 - 8.2 binnenste dyneïne armen per trilhaar. Wanneer zij de laagste waarden van de gezonde personen als grens aannemen, blijken 18 van de 27 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie een normaal aantal buitenste dyneïne armen te hebben en 20 van de 27 patiënten een normaal aantal binnenste dyneïne armen. Het hoge aantal patiënten met een normaal aantal dyneïne armen wordt wellicht verklaard doordat 8 van de 27 patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie een volstrekt normale ultrastructuur van de trilharen zouden vertonen. De auteurs maken niet duidelijk op welke gronden zij bij hun patiënten een dyneïne deficiëntie of een primaire ciliaire dyskinesie vaststellen. In de publicatie van Rutland et al (1983-III) wordt gesteld dat patiënten met het syndroom van Kartagener significant

minder dyneïne armen hebben dan patiënten met bronchiëctasieën, patiënten met mucoviscidose, rokers en gezonde niet-rokers. Maar ook in deze publicatie wordt niet vermeld wanneer van een dyneïne deficiëntie kan worden gesproken.

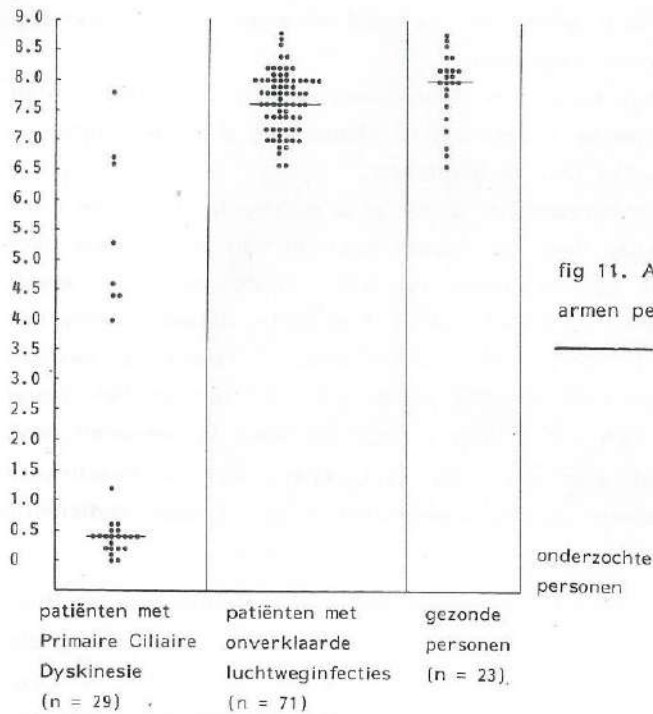
De eerste 2 problemen kunnen worden ondervangen door de biopten steeds op dezelfde wijze te fixeren en te kleuren en door het slijmvlies in een zo rustig mogelijke fase te bioteren.

Wij menen dat in dit onderzoek het derde probleem op betrouwbare wijze kan worden ondervangen door de laagste waarden van de gezonde personen als ondergrens aan te nemen en door steeds zowel het aantal buitenste dyneïne armen als het aantal binnenste dyneïne armen te beoordelen. Er blijkt immers geen significante correlatie te bestaan tussen het aantal buitenste dyneïne armen per trilhaar en het aantal binnenste dyneïne armen per trilhaar, noch bij gezonde personen noch bij patiënten met het syndroom van Kartagener. Met de beschreven methode kan bij patiënten met luchtweginfecties een dyneïne deficiëntie worden vastgesteld.

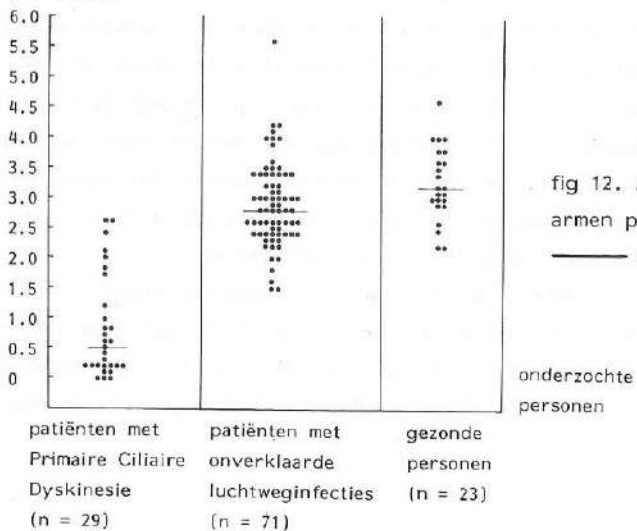
Tot slot moet worden benadrukt dat de diagnose primaire ciliaire dyskinesie bij deze 29 patiënten is gesteld op grond van de aanwezigheid van het syndroom van Kartagener en/of de aanwezigheid van een dyneïne deficiëntie. In de groep van 13 patiënten met het syndroom van Kartagener bevindt zich 1 patiënt zonder een dyneïne deficiëntie. Patiënten met het syndroom van Kartagener hebben dus niet altijd een dyneïne deficiëntie. Dit gegeven wordt ook in de literatuur enkele malen vermeld (Herzon en Murphy 1980 / Mygind 1983-II / Schidlow en Katz 1983). Men mag aannemen dat dit geldt voor de totale groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie. Er bestaat dus een kleine kans dat bij electronenmicroscopisch onderzoek van de dyneïne armen bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties een deel van de patiënten met primaire ciliaire dyskinesie niet als zodanig wordt onderkend.

Dit is mogelijk een argument om bij het electronenmicroscopisch onderzoek ook andere facetten van de ultrastructuur te betrekken (de paragrafen 4.3.2 tot en met 4.3.8) en is een indicatie om het electronenmicroscopisch onderzoek aan te vullen met de bestudering van de tril-

aantal buitenste dyneïne armen
per trilhaar



aantal binnenste dyneïne armen
per trilhaar



haaractiviteit (hoofdstuk 6) en het mucociliair transport (hoofdstuk 7). Voor de rest van het elektronenmicroscopisch onderzoek wordt nu een aangepaste groepsindeling gehanteerd:

- 1) patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=29)
- 2) patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=71)
- 3) gezonde personen (n=23)

De verdeling van de buitenste en de binnenste dyneïne armen over deze 3 groepen wordt nog eens weergegeven in de figuren 11 en 12.

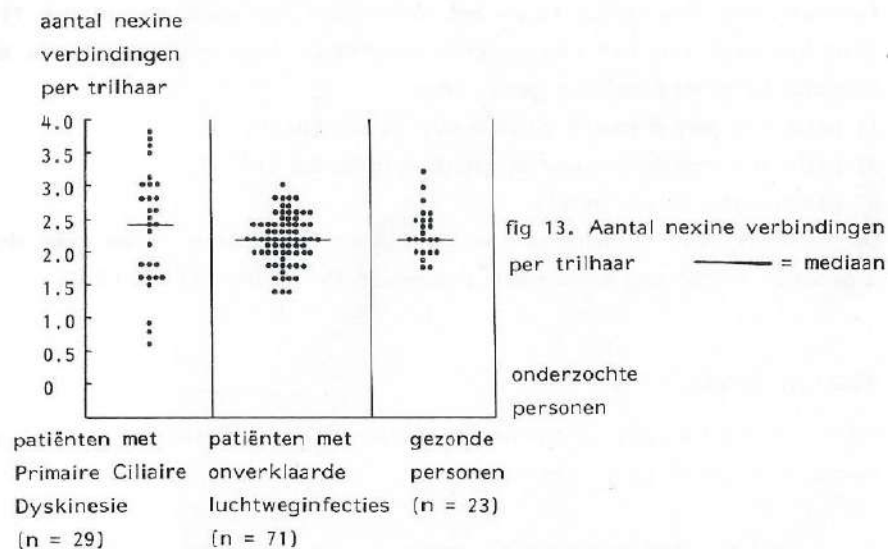
4.3.2 Nexine verbindingen

Bij het tellen van het aantal nexine verbindingen per trilhaar worden de volgende waarden berekend (tabel 9):

tabel 9. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal nexine verbindingen per trilhaar.

groep		spreidingsbreedte	mediaan
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	0.6 - 3.8	2.4
2) onverklaarde luchtweginfecties	n=71	1.4 - 3.0	2.2
3) gezonde personen	n=23	1.8 - 3.2	2.2

Tussen de 3 groepen bestaan geen significante verschillen qua mediaan aantal nexine verbindingen per trilhaar (toets van Kruskal en Wallis). De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 13 weergegeven. De betekenis van deze bevindingen wordt aan het eind van paragraaf 4.3.3 besproken.



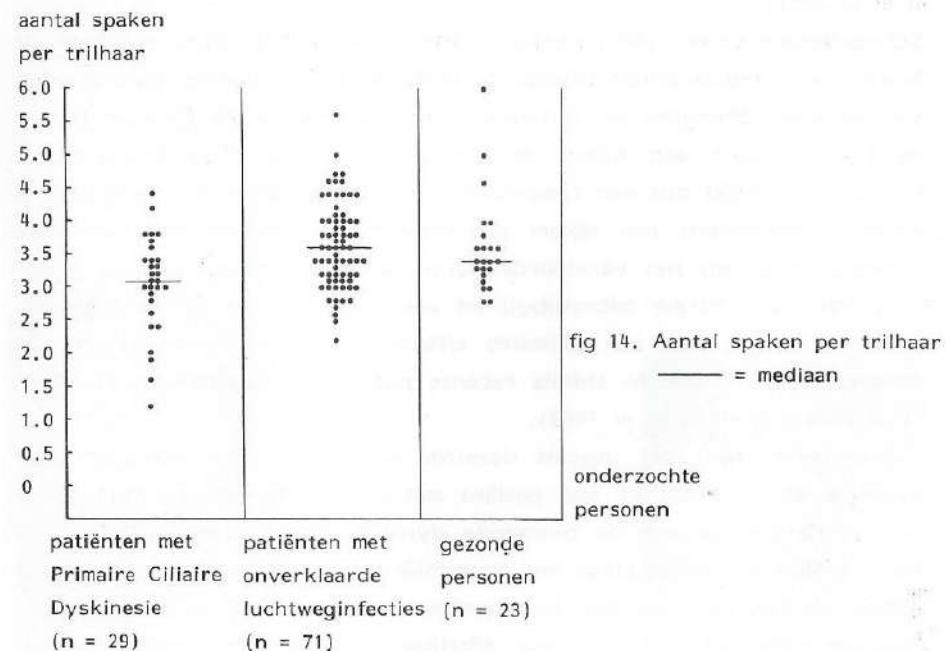
4.3.3 Spaken

Bij het tellen van het aantal spaken per trilhaar worden de volgende waarden berekend (tabel 10):

tabel 10. Spreidingsbreedte en mediaan van het aantal spaken per trilhaar.

groep		spreidingsbreedte	mediaan
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	1.2 - 4.4	3.1
2) onverklaarde luchtweg- infecties	n=71	2.2 - 5.6	3.6
3) gezonde personen	n=23	2.8 - 6.0	3.4

Bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie is het mediane aantal spaken per trilhaar significant kleiner ($p < 0.05$). Tussen patiënten met onverklaarde luchtweginfecties en gezonde personen bestaat geen significant verschil (toets van Wilcoxon). De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 14 weergegeven.



Discussie bij 4.3.2 en 4.3.3

Tijdens de beweging van een trilhaar zorgen de nexine verbindingen en de spaken ervoor dat de configuratie van het axonema in stand blijft. Door deze structuren wordt de glijdende beweging van de microtubuli omgezet in een buiging van het axonema (zie hoofdstuk 2, paragraaf 4). De spaakkoppen bezitten enige ATPase activiteit. Tijdens de trilhaarslag ontstaan mogelijk tijdelijke verbindingen tussen de spaakkoppen en de centrale schede.

Sturgess et al (1979) beschrijven voor het eerst enkele patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie welke door het ontbreken van spaken wordt veroorzaakt. Deze afwijking zou in alle trilharen voorkomen. De auteurs vermelden niet hoeveel trilharen zijn beoordeeld. In deze trilharen zonder spaken is de bouw van het axonema verstoord, veelal met excentrisch gelegen centrale microtubuli en verplaatsing van een perifeer paar microtubuli naar centraal. Dyneïne armen zouden aanwezig zijn. Het voorkomen van deze ultrastructurele afwijkingen wordt later door andere onderzoekers bevestigd (Schneeberger et al 1980 / Antonel-

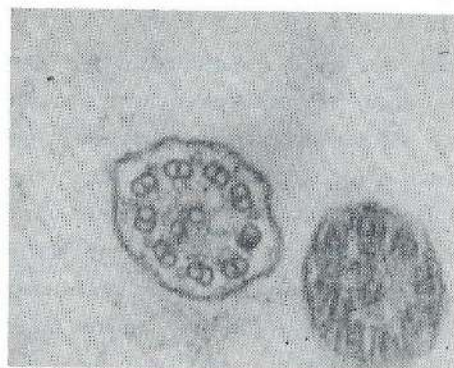
li et al 1981).

Schneeberger et al (1980) merken echter al op dat in deze trilharen de binnenste dyneïne armen blijken te ontbreken. Bij nadere beschouwing van de door Sturgess en Antonelli gepubliceerde foto's lijkt er inderdaad een tekort aan binnenste dyneïne armen in deze trilharen te bestaan. Er blijkt dus een combinatie van ultrastructurele afwijkingen te kunnen voorkomen: een tekort aan spaken, een tekort aan binnenste dyneïne armen en een verstoorde bouw van het axonema met verplaatsing van de centrale microtubuli en een deel van de perifere paren. Deze combinatie kan een primaire ciliaire dyskinesie veroorzaken. De combinatie wordt ook in enkele recente publicaties beschreven (Levison et al 1983 / Nielsen et al 1983).

Het is interessant dat precies dezelfde beelden worden vertoond door Neustein et al (1980) bij een patiënt met het syndroom van Kartagener en een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen, door Wakefield en Waite (1980) bij Polynesiërs met bronchiëctasieën, door Konradova et al (1982) bij een patiëntje met het syndroom van Kartagener en een "partieële" dyneïne deficiëntie en door Afzelius (1982) bij een patiënt met een mogelijke deficiëntie van de nexine verbindingen. In deze publicaties wordt geen aandacht besteed aan de spaken.

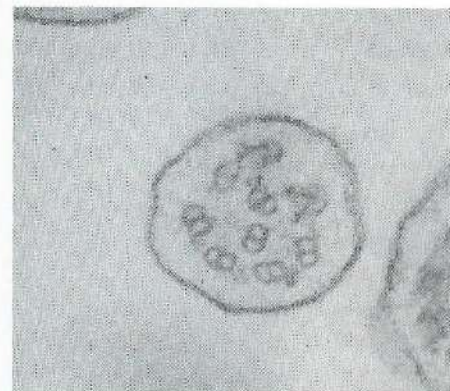
Het probleem is nu dat in geen van de genoemde artikelen wordt beschreven wanneer er sprake is van een tekort aan spaken, een tekort aan nexine verbindingen en een tekort aan binnenste dyneïne armen. Bovendien wordt nergens vermeld hoeveel trilharen deze afwijkingen vertonen.

In ons onderzoek blijken bij 3 patiënten met een primaire ciliaire dys-



figuur 15.

Patiënt met een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen. Het axonema van deze trilhaar heeft nog een redelijk normale configuratie, alleen de 2 centrale microtubuli liggen excentrisch. Er zijn nog enkele spaken te herkennen (vergroting 120.000x).



figuur 16.

Dezelfde patiënt van figuur 15. De bouw van dit axonema is totaal verstoord. Er zijn geen nexine verbindingen en spaken meer te herkennen. De 2 centrale microtubuli zijn verdwenen, 2 perifere paren zijn naar centraal verplaatst (transpositie, zie paragraaf 4.3.8). De binnenste dyneïne armen ontbreken (vergroting 120.000x).

kinesie opvallend veel trilharen met een totaal verstoorde bouw van het axonema aanwezig (figuur 15 en 16). Deze patiënten zijn niet met elkaar verwant. Bij de andere patiënten en de gezonde personen zijn dergelijke afwijkingen in de bouw van het axonema niet gevonden. Van alle onderzochte personen blijken juist deze 3 patiënten een klein aantal nexine verbindingen te hebben. Bij 2 van de 3 patiënten wordt tevens een klein aantal spaken gevonden. Bovendien hebben deze patiënten een tekort van vooral de binnenste dyneïne armen (tabel 11):

tabel 11. Nexine verbindingen, spaken, dyneïne armen en afwijkende axonemata.

	nexine verbindingen	spaken	percentage afwijkende axonemata	buitenste dyneïne armen	binnenste dyneïne armen	situs inversus
patiënt 9	0.9	2.6	14.3%	7.8	0.2	+
patiënt 10	0.6	1.2	18.2%	4.6	0.1	+
patiënt 28	0.8	1.6	56.9%	4.4	0.2	-

Men kan zich voorstellen dat bij deze 3 patiënten het hoge percentage afwijkende axonemata samen met de deficiëntie van vooral de binnenste dyneïne armen de beweeglijkheid van de trilharen verstoort. In hoofdstuk 6 zal worden nagegaan of deze combinatie afwijkingen is gecorreleerd aan een bijzondere trilhaaractiviteit in het biopt. Ook na uitsluiting van deze 3 patiënten blijft het mediane aantal spaken bij de patiënten met primaire ciliaire dyskinesie significant het kleinst ($p < 0.05$).

Bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie zijn in het algemeen minder spaken in de trilharen te herkennen. Bovendien blijkt bij een aantal van deze patiënten het tekort aan spaken samen te gaan met een tekort aan nexine verbindingen, een tekort aan binnenste dyneïne armen en een hoog aantal trilharen met een afwijkend axonema. De aanwezigheid van deze combinatie afwijkingen kan alleen door kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur met zekerheid worden aangetoond.

4.3.4 Centrale schede

Bij het tellen van het percentage trilharen met een centrale schede worden de volgende waarden berekend (tabel 12):

tabel 12. Spreidingsbreedte en mediaan van het percentage trilharen met een centrale schede. Aantal personen bij wie 100% van de onderzochte trilharen een centrale schede vertoont.

groep		spreidingsbreedte	mediaan	aantal personen met 100%
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	74% - 100%	95%	11
2) onverklaarde luchtweginfecties	n=71	80% - 100%	100%	47
3) gezonde personen	n=23	83% - 100%	100%	20

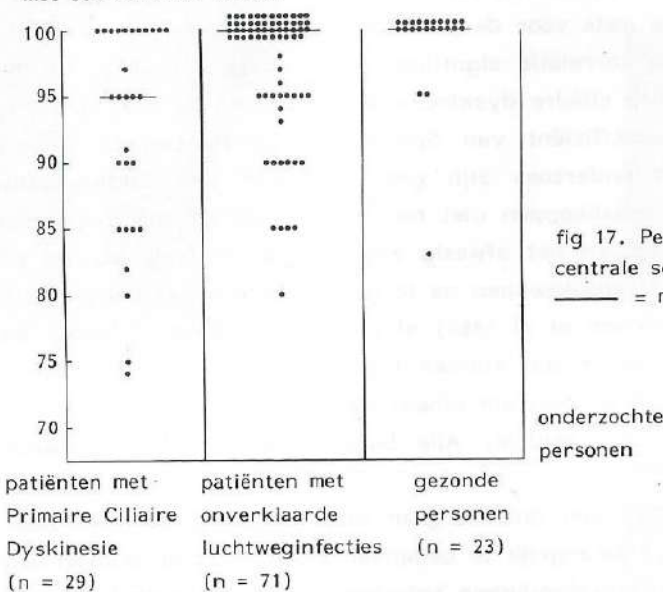
Omdat bij veel personen 100% van de onderzochte trilharen een centrale schede vertoont (zie tabel 12) wordt voor de statistische toetsing gebruik gemaakt van de χ^2 -toets voor gemiddelden van scores. De onderzochte personen worden als volgt verdeeld:

- <90% trilharen met een centrale schede
- 90%-99% trilharen met een centrale schede
- 100% trilharen met een centrale schede

Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan significante verschillen in

het percentage trilharen met een duidelijk herkenbare centrale schede ($p < 0.001$). Het percentage is in het algemeen het kleinst bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en het grootst bij gezonde personen. Het verschil tussen patiënten met onverklaarde luchtweginfecties en gezonde personen is niet significant. De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 17 weergegeven.

percentage trilharen met een centrale schede



Discussie

In de literatuur over primaire ciliaire dyskinesie wordt nauwelijks aandacht besteed aan de centrale schede van de trilharen. Afzelius en Eliasson (1979-II) beschrijven 2 patiënten bij wie de centrale schede ontbreekt. Bij de ene patiënt ontbreken vaak ook de centrale microtubuli, bij de andere patiënt ontbreken tevens de spaakoppen. Svedbergh et al (1981) beschrijven een patiënt bij wie alleen de centrale schede ontbreekt, de trilharen zijn overigens normaal.

Het is onbekend hoe vaak de centrale schede van trilharen in het slijm-

vlies van gezonde personen en van patiënten met luchtweginfecties kan worden waargenomen. In dit onderzoek blijkt dat de centrale schede niet altijd wordt afgebeeld, ook niet bij gezonde personen. Bij luchtweginfecties neemt het aantal trilharen zonder centrale schede toe, het meest uitgesproken bij primaire ciliaire dyskinesie.

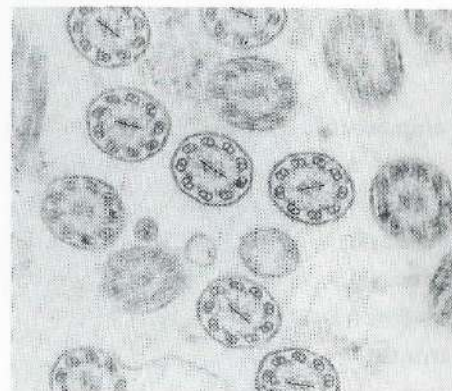
In verband met de beschreven bevindingen van Afzelius en Eliasson is in deze studie de rangcorrelatiecoëfficiënt tussen het percentage trilharen zonder centrale schede en het percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli berekend. Voor de gezonde personen en in mindere mate voor de patiënten met de onverklaarde luchtweginfecties is deze correlatie significant positief ($p < 0.001$), bij de patiënten met primaire ciliaire dyskinesie is een correlatie niet aantoonbaar (rangcorrelatiecoëfficiënt van Spearman). De fixatie- en kleurmethode die in dit onderzoek zijn gebruikt laten een verantwoorde beoordeling van de spaakkoppen niet toe. Het is daarom onmogelijk een eventueel verband tussen het afwezig zijn van de centrale schede en het ontbreken van de spaakkoppen na te gaan. Wellicht dat het gebruik van tanninezuur (Levison et al 1983) of magnesium-ATPase (Popper en Jakse 1983) hier uitkomst zou kunnen bieden. Het is niet aannemelijk dat het ontbreken van de centrale schede een artefact is door de fixatie of de kleuring van het weefsel. Alle biopten zijn op dezelfde wijze behandeld.

Meer waarschijnlijk lijkt het hier te gaan om een gevolg van infecties. In dit verband is het belangrijk te bedenken dat tijdens de trilhaarslag waarschijnlijk tijdelijke verbindingen ontstaan tussen de centrale schede en de spaakkoppen. Indien de centrale schede tijdens een infectie van het slijmvlies verloren gaat zal dit de trilhaaractiviteit niet ten goede komen en kan er een vicieuze cirkel ontstaan: het mucociliair transport neemt af, de kans op infecties stijgt, er gaan nog meer centrale schedes verloren en de trilhaaractiviteit wordt nog slechter. Dit zou dan verklaren waarom het ontbreken van de centrale schede bij primaire ciliaire dyskinesie, een ziekte waarbij het mucociliair transport gedurende het hele leven ontbreekt, het meest voorkomt. Het ontbreken van de centrale schede komt bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie significant vaker voor dan bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties. De afwijking kan echter ook voorkomen bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties en bij gezonde personen.

Derhalve lijkt het niet verantwoord de diagnose primaire ciliaire dyskinesie uitsluitend op deze afwijking te stellen.

4.3.5 Oriëntatie van de trilharen

Voor de beoordeling van de oriëntatie wordt een lijn getrokken door de 2 centrale microtubuli (figuur 18 en 19). Er wordt van een parallelle

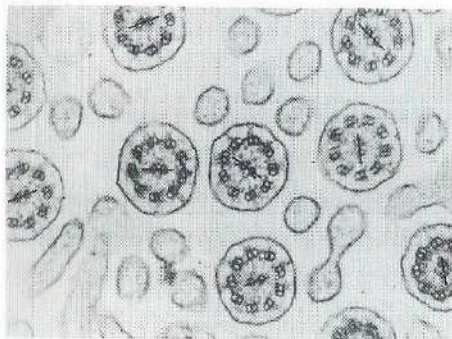


figuur 18.
Patiënt met een deficiëntie van de buitenste dyneïne armen. De trilharen vertonen een redelijk parallelle oriëntatie (vergroting 66.000x).

oriëntatie tussen trilharen gesproken indien de hoek tussen deze lijnen kleiner is dan 25° . Bij het beoordelen van de oriëntatie van de trilharen worden de volgende percentages gevonden (tabel 13):

tabel 13: Spreidingsbreedte en mediaan van het percentage trilharen met een parallelle oriëntatie. Aantal personen bij wie 100% van de onderzochte trilharen een parallelle oriëntatie vertoont.

groep		spreidingsbreedte	mediaan	aantal personen met
				100%
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	17% - 100%	68%	2
2) onverklaarde luchtweginfecties	n=71	50% - 100%	94%	28
3) gezonde personen	n=23	64% - 100%	100%	13



figuur 19.
Patiënt met een deficiëntie van de
buitenste en de binnenste dyneïne
armen. De trilharen vertonen een
duidelijke desoriëntatie (vergroting
66.000x).

Omdat bij veel personen 100% van de onderzochte trilharen een parallelle oriëntatie vertoont (tabel 13) wordt voor de statistische toetsing gebruik gemaakt van de χ^2 -toets voor gemiddelden van scores. De onderzochte personen worden als volgt verdeeld:

- <90% trilharen met een parallelle oriëntatie
- 90%-99% trilharen met een parallelle oriëntatie
- 100% trilharen met een parallelle oriëntatie

Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan significante verschillen in het percentage trilharen met een parallelle oriëntatie ($p < 0,001$).

Het percentage is het kleinst bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en het grootst bij gezonde personen. Ook tussen elk tweetal groepen blijken de verschillen significant ($p < 0,05$). De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 20 weergegeven.

Discussie

Algemeen wordt aangenomen dat trilharen onder normale omstandigheden min of meer parallel georiënteerd zijn. Een parallelle oriëntatie is onontbeerlijk voor een goed mucociliair transport (zie ook hoofdstuk 2). Een desoriëntatie van de trilharen werd aanvankelijk als een specifiek verschijnsel van primaire ciliaire dyskinesie beschouwd (Afzelius 1979 / Howell et al 1980 / Schneeberger et al 1980). Er zijn patiënten beschreven bij wie de diagnose primaire ciliaire dyskinesie alleen op desoriëntatie van de trilharen is gesteld (Afzelius 1981-II / Capeder et al 1982). Herzon (1981) beschrijft echter een desoriëntatie van de trilharen bij chronische sinusitis maxillaris. Iravani en van As (1972) hebben bij gezonde proefdieren een desoriëntatie van de trilharen kunnen veroor-

percentage trilharen
met een parallelle
oriëntatie

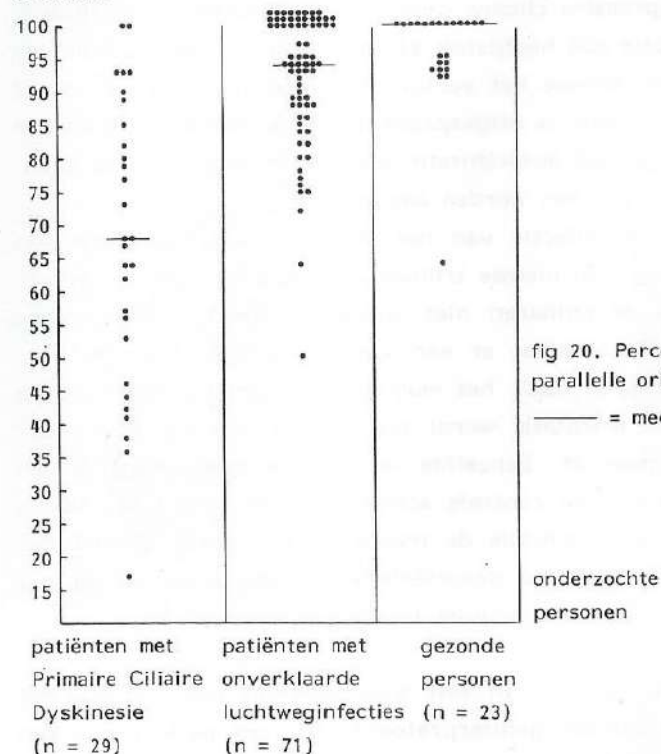


fig 20. Percentage trilharen met een
parallelle oriëntatie
— = mediaan

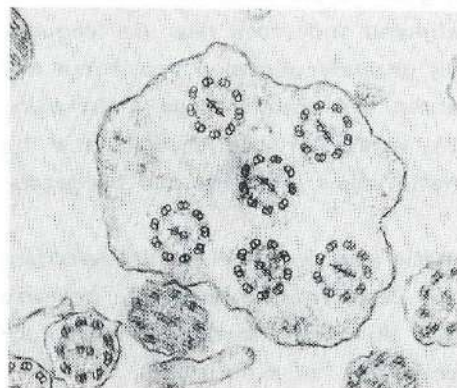
zaken door bronchitis te induceren. Bovendien blijkt uit publicaties van Jahrsdoerfer et al (1979), Fox et al (1980) en Wisseman et al (1981) dat desoriëntatie van de trilharen ook bij gezonde personen kan voorkomen. In de literatuur ontbreekt een vergelijkend onderzoek naar de frequentie waarmee desoriëntatie voorkomt bij gezonde personen, patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties. Alleen Nielsen et al (1983) vermelden dat desoriëntatie bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie vaker voorkomt dan bij gezonde personen.

Uit ons onderzoek blijkt dat desoriëntatie van de trilharen niet specifiek is voor primaire ciliaire dyskinesie. Desoriëntatie komt bij primaire ciliaire dyskinesie wel vaker voor dan bij onverklaarde luchtweginfecties. Bij gezonde personen komt desoriëntatie het minst voor.

Desoriëntatie van naast elkaar gelegen trilharen in een biopt kan een uiting zijn van verschillende posities die deze trilharen vlak voor de fixatie innemen. Bij primaire ciliaire dyskinesie ontbreekt de coördinatie tussen de trilharen (zie ook hoofdstuk 6). Men mag dus verwachten dat bij primaire ciliaire dyskinesie het verschil in stand tussen naast elkaar liggende trilharen het meest is uitgesproken. In hoofdstuk 5 zal worden nagegaan of een dergelijke desoriëntatie tussen de trilharen met scanning electronenmicroscopie kan worden aangetoond.

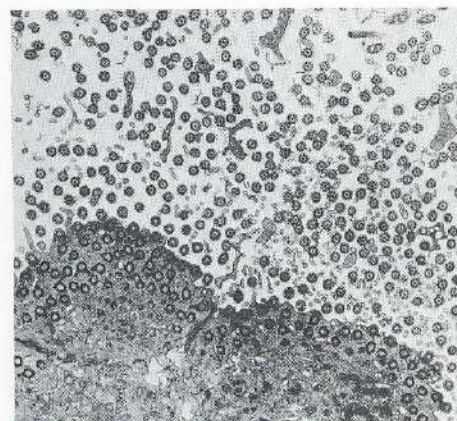
Het is mogelijk dat een infectie van het slijmvlies de regeneratie van trilharen of de vorming van nieuwe trilharen zodanig beïnvloedt dat een goede oriëntatie van de trilharen niet optreedt (Sleigh 1983). Indien deze hypothese juist is ontstaat er een vicieuze cirkel: door de desoriëntatie van de trilharen daalt het mucociliair transport, de kans op infectie neemt toe, de oriëntatie wordt nog slechter en het mucociliair transport neemt nog meer af. Eenzelfde mechanisme speelt mogelijk een rol bij het ontbreken van de centrale schede (paragraaf 4.3.4). Omdat bij een primaire ciliaire dyskinesie de trilharen nooit goed zullen functioneren krijgen afwijkingen als desoriëntatie van de trilharen en het ontbreken van de centrale schede juist bij deze ziekte een kans zich te ontwikkelen.

De oriëntatie van de trilharen in een slijmvliesbiopt moet echter met enige voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Bij een patiënt met een primaire ciliaire dyskinesie kan een parallelle oriëntatie tussen de trilharen worden gezien (figuur 21). Het zou betrouwbaarder zijn de oriëntatie van de trilharen te beoordelen aan de richting van de basale voetjes (Sleigh 1983). Bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie



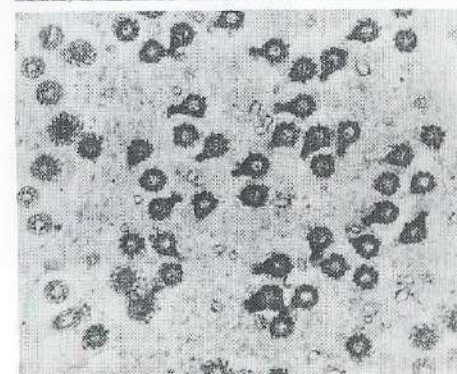
figuur 21.

Patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een tekort aan buitenste en binnenste dyneïne armen. De 6 trilharen binnen één membraan ("compound cilia") zijn desondanks redelijk parallel georiënteerd (vergroting 56.500x).



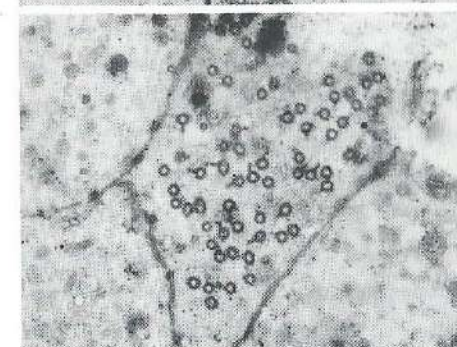
figuur 22.

Dezelfde patiënte van figuur 21. Op deze overzichtsopname is een desoriëntatie van de basale voetjes te zien, hoewel de axonemata plaatselijk parallel georiënteerd blijken te zijn (figuur 21) (vergroting 7.550x).



figuur 23.

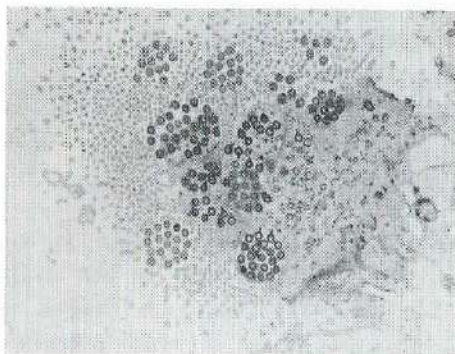
Patiëntje met een tekort aan buitenste en binnenste dyneïne armen. Er is een desoriëntatie van de basale voetjes te zien (vergroting 24.000x).



figuur 24.

Neusslijmvlies van een gezond persoon. De trilharen vertoonden hier geen ultrastructurele afwijkingen. De basale voetjes zijn desondanks gedesoriënteerd (vergroting 12.000x).

kan zo inderdaad een desoriëntatie worden vastgesteld (figuren 22 en 23). Maar ook bij gezonde personen (figuur 24) en bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (figuur 25) kunnen de basale voetjes een desoriëntatie vertonen. Ondanks de significante verschillen lijkt het daarom niet verantwoord een biopt uitsluitend op de oriëntatie van de trilharen te beoordelen.



figuur 25.

Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De trilharen vertoonden een normale ultrastructuur, de basale voetjes in de groepen trilharen zijn niettemin gedesoriënteerd (vergroting 7.550x).

4.3.6 AFWIJKEND AANTAL CENTRALE MICROTUBULI

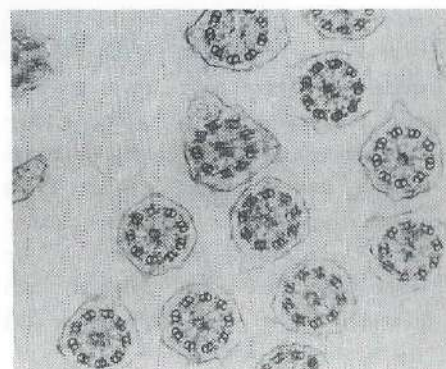
Vlak boven het celoppervlak ondergaat het axonema van de trilhaar enkele veranderingen: eerst verdwijnen de dyneïne armen, na 150 nm eindigen de centrale microtubuli en na nog eens 200 nm loopt het axonema in het cytoplasma van de cel en krijgen de perifere paren een derde C-microtubulus (zie hoofdstuk 2). De dikte van de ultra-dunne coupes bedraagt 50-60 nm. Het is theoretisch mogelijk enkele dwarsdoorsnedes te krijgen met een normaal aantal centrale microtubuli, maar zonder dyneïne armen, en wel over een afstand van 2-3 coupes. Als de trilharen op een nog lager niveau worden aangetroffen kunnen er dwarsdoorsnedes worden verkregen zonder centrale microtubuli en zonder dyneïne armen, over een afstand van 3-4 coupes. Het is onwaarschijnlijk dat in een biopsie veel trilharen op deze wijze worden gefotografeerd, maar de beschreven dwarsdoorsnedes kunnen in een normaal biopsie worden gevonden.

Indien men de hierboven beschreven veranderingen in het axonema als normaal beschouwt dan moeten dwarsdoorsnedes zonder centrale microtubuli of met 1 centrale microtubulus en een aantal dyneïne armen dat niet verschilt van het aantal dyneïne armen in de overige dwarsdoorsnedes met 2 centrale microtubuli afwijkend worden genoemd. In deze paragraaf wordt vermeld hoeveel procent van de gefotografeerde trilharen een dergelijke afwijkende bouw vertoont (tabel 14).

tabel 14. Spreidingsbreedte en mediaan van het percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli.

groep		spreidingsbreedte	mediaan
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	0% - 39%	5%
2) onverklaarde luchtweginfecties	n=71	0% - 58%	7%
3) gezonde personen	n=23	0% - 65%	6%

Trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli zijn aanwezig bij gezonde personen (figuur 26), bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie (figuur 27) en bij patiënten met onverklaarde luchtweg-



figuur 26.

Neusslijmvlies van een gezond persoon. Veel trilharen hebben een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete B-microtubuli (zie ook paragraaf 4.3.7) (vergroting 66.000x)

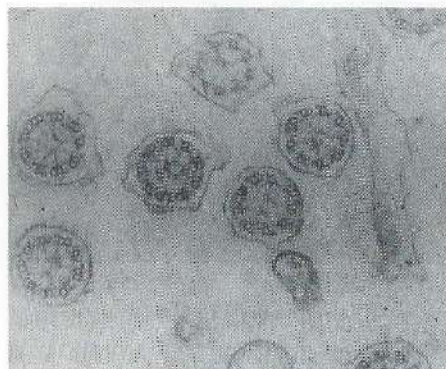


figuur 27.

Neusslijmvlies van een patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een deficiëntie van buitenste en binnenste dyneïne armen. Enkele trilharen vertonen een afwijkend aantal centrale microtubuli. Incomplete B-microtubuli worden ook in de trilharen met een normaal aantal centrale microtubuli gezien (vergroting 66.000x).

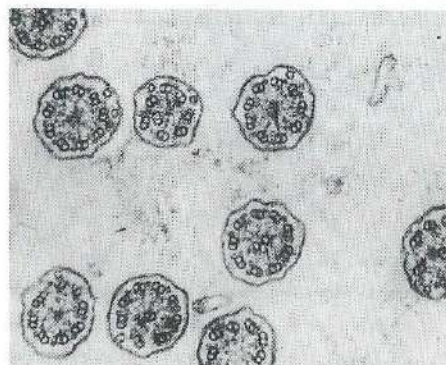
infecties zonder dyneïne deficiëntie (figuren 28 en 29). De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 30 weergegeven.

Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan geen significante verschillen



figuur 28.

Patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De trilharen hebben een afwijkend aantal centrale microtubuli. Van de B-microtubuli zijn veelal nog slechts restanten aanwezig. Gezien de afbeelding van de membranen kan worden vermoed dat autolyse van de trilharen hierbij een rol speelt (vergroting 66.000x).



figuur 29.

Patiënte met onverklaarde luchtweginfecties. In het neusslijmvlies worden vlak bij elkaar diverse afwijkingen gezien: ontbrekende centrale microtubuli, verplaatsing van een perifeer paar microtubuli naar centraal (transpositie, zie paragraaf 4.3.8), extra perifeer gelegen microtubuli (aspecifiek verschijnsel bij infecties). De membranen van deze trilharen zijn overigens intact (vergelijk figuur 28) (vergroting 66.000x).

in het mediane percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli (toets van Kruskal en Wallis). Een afwijkend aantal centrale microtubuli gaat vaak samen met incomplete microtubuli van de perifere paren (zie paragraaf 4.3.7). De betekenis van een afwijkend aantal centrale microtubuli wordt aan het eind van paragraaf 4.3.7 besproken.

percentage trilharen
met een afwijkend
aantal centrale
microtubuli

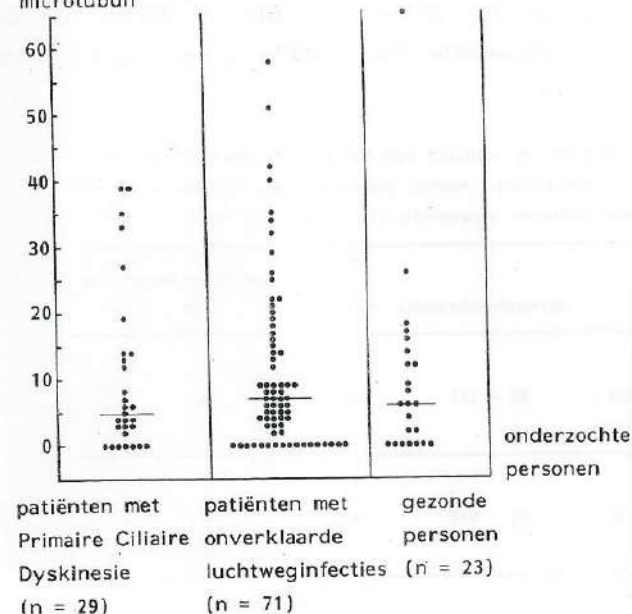


fig 30. Percentage trilharen met afwijkend aantal centrale microtubuli.
— = mediaan

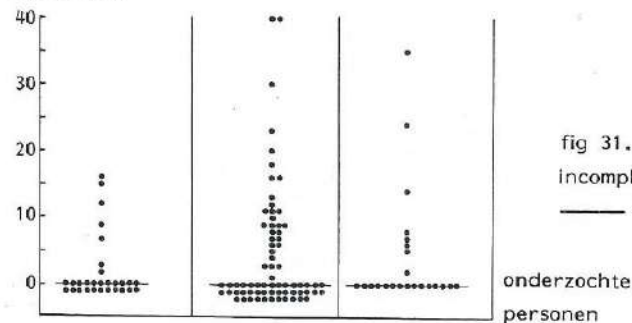
4.3.7 Incomplete microtubuli

In sommige dwarsdoorsnedes van trilharen kunnen incomplete microtubuli worden aangetroffen (figuren 26, 27 en 28). Bij het tellen van de percentages trilharen met incomplete microtubuli worden de volgende aantallen berekend (tabel 15).

tabel 15. Spreidingsbreedte en mediaan van het percentage trilharen met incomplete microtubuli. Aantal personen bij wie 0% van de onderzochte trilharen incomplete microtubuli vertoont.

groep		spreidingsbreedte	mediaan	aantal personen met 0%
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	0% - 16%	0%	22
2) onverklaarde luchtweg-infecties	n=71	0% - 40%	0%	41
3) gezonde personen	n=23	0% - 35%	0%	15

percentage trilharen met incomplete microtubuli



patiënten met Primaire Ciliaire Dyskinesie (n = 29)

patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n = 71)

gezonde personen (n = 23)

fig 31. Percentage trilharen met incomplete microtubuli.
— = mediaan

Bij veel van de onderzochte personen blijkt 0% van de onderzochte trilharen incomplete microtubuli te vertonen (tabel 15). Daarom wordt voor de statistische toetsing gebruik gemaakt van de χ^2 -toets voor gemiddelden van scores. De onderzochte personen worden als volgt verdeeld:

- > 10% trilharen met incomplete microtubuli
- 1%-10% trilharen met incomplete microtubuli
- 0% trilharen met incomplete microtubuli

Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan geen significante verschillen. De verdeling van de 3 groepen wordt in figuur 31 weergegeven.

Discussie bij 4.3.6 en 4.3.7

De betekenis van een afwijkend aantal centrale microtubuli en van incomplete microtubuli is niet duidelijk. In de literatuur en in correspondentie met andere onderzoekers worden zeer verschillende verklaringen voor deze afwijkingen beschreven:

- in de trilharen van protozoa wordt wel eens 1 centrale microtubulus gezien. Er zijn hierbij aanwijzingen dat de 2 centrale microtubuli niet gelijk eindigen doordat zij bij de trilhaarbeweging langs elkaar glijden. In meercellige organismen wordt dit normaal niet gevonden (Hausmann en Fischer-Defoy 1978).
- Een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete microtubuli zijn waarschijnlijk een gevolg van autolysis voordat de fixatie begint (Afzelius, pers. mededeling 1984).
- Een afwijkend aantal centrale microtubuli is mogelijk een aspecifieke variant van de normale bouw, afhankelijk van de buiging van de trilhaar. Incomplete microtubuli worden vaak in slecht gefixeerde biopten met gezwollen trilharen gezien en zijn waarschijnlijk een artefact (Lee, pers. mededeling 1984).
- Een afwijkend aantal centrale microtubuli kan een genetisch bepaalde stoornis in de bouw van het axonema zijn (Sleigh, pers. mededeling 1984).
- Een afwijkend aantal centrale microtubuli is waarschijnlijk het gevolg van een locale ontsteking van het slijmvlies. De slagfrequentie van deze trilharen lijkt normaal (Rutland et al 1982-IV).
- Incomplete microtubuli zijn beschreven bij 2 patiënten met astma

(Herzon 1981 / Fischer et al 1984).

- Een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete microtubuli zijn het gevolg van degradatie van de trilhaar door een bacteriële infectie of door autolysis (Sturgess, pers. mededeling 1984).
- Een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete microtubuli zijn abnormaal en kunnen een onbeweeglijkheid of dyskinesie van de trilharen veroorzaken (Wakefield, pers. mededeling 1984).

(B.A. Afzelius, Universiteit van Stockholm, Zweden)

(R.M.K.W. Lee, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada)

(M.A. Sleight, Department of Biology, University of Southampton, Engeland)

(J.M. Sturgess, Hospital for sick children, Toronto, Ontario, Canada)

(J.St.J. Wakefield, Wellington Hospital, University of Otago, Wellington, Nieuw-Zeeland)

Als deze afwijkingen in vivo aanwezig zijn is het mogelijk dat de trilhaaractiviteit hierdoor wordt verstoord en dat bij een groot percentage trilharen met deze afwijkingen het mucociliair transport abnormaal traag verloopt. In hoofdstuk 6 zal worden nagegaan of er een verband aantoonbaar is tussen de incidentie van deze afwijkingen enerzijds en de trilhaaractiviteit anderzijds.

Bij het kwantitatief onderzoek van deze afwijkingen blijkt het volgende:

- De 2 afwijkingen worden vaak samen in een biopt gezien. Er blijkt een significant positieve rangcorrelatie te bestaan tussen het percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli en het percentage trilharen met incomplete microtubuli ($p < 0.001$), (rangcorrelatiecoëfficiënt van Spearman).
- De 2 afwijkingen worden veelal in dezelfde trilharen gezien (zie figuren 26, 27 en 28).
- Er bestaan geen significante verschillen tussen de percentages van deze afwijkingen bij gezonde personen, patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties.
- Bij de incomplete microtubuli gaat het steeds om een defect van de B-microtubulus, tegenover de buitenste dyneïne arm van het aangrenzende paar.
- De afwijkingen worden meestal gezien op foto's waarop de trilharen

niet fraai zijn afgebeeld, waarbij met name defecten in de membraan worden gezien. Dit geldt voor patiënten met luchtweginfecties (fig. 28 en voor gezonde personen (fig. 26).

Mede gezien deze bevindingen gaat het hier waarschijnlijk om afwijkingen die een gevolg zijn van degeneratie van de trilharen door autolysis. Bij mucoviscidose is de incidentie van deze afwijkingen gecorreleerd met de tijdsduur na het overlijden en de ernst van de autolysis (Sturgess en Turner 1984). Het is onbekend waarom juist de B-microtubulus bij autolysis kapot gaat. Het lijkt gerechtvaardigd te concluderen dat een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete microtubuli geen rol spelen bij de trilhaaractiviteit en geen diagnostische betekenis hebben.

4.3.8 Transpositie

Transpositie wordt gedefiniëerd als de verplaatsing van een perifeer paar microtubuli naar centraal bij ontbrekende centrale microtubuli (figuren 29, 32 en 33). De afwijking wordt voor het eerst in 1980 beschreven door Sturgess et al bij twee verwanten. De afwijking bleek in de meeste trilharen en spermatozoën-staarten aanwezig. Dyneïne armen en spaken zouden normaal aanwezig zijn. Het mucociliair transport was zeer traag, de beweeglijkheid van de spermatozoën bleek gereduceerd tot 10%. Sturgess et al stellen dat transpositie een primaire ciliaire dyskinesie kan veroorzaken, ondanks een normaal aantal dyneïne armen. Dit wordt later door enkele onderzoekers bevestigd (Parker et al 1983). In deze publicaties ontbreken echter gegevens over de frequentie waarmee dit fenomeen voorkomt. Lungarella et al (1982) beschrijven transpositie bij een patiënt met het syndroom van Kartagener. Het blijkt hierbij om een



figuur 32.
Patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De scherp afgebeelde trilhaar heeft 9 perifere paren en 1 centraal gelegen paar microtubuli (vergroting 110.00x).

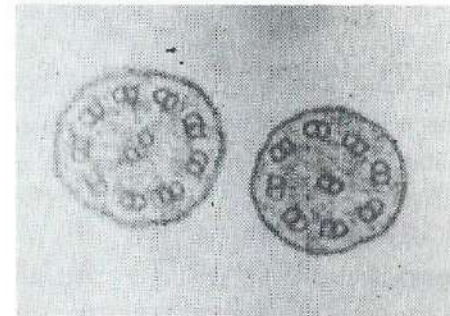
afwijking te gaan die slechts in enkele trilharen voorkomt. Bovendien vertonen de trilharen niet alleen verplaatsing van een perifeer paar microtubuli maar ook verplaatsing van de aanwezige centrale microtubuli en een tekort aan binnenste dyneïne armen. Dit is dus geen echte transpositie, het beeld komt veel meer overeen met de afwijkingen die in tabel 11 zijn beschreven: afwijkende axonemata met een tekort aan nexine verbindingen, spaken en binnenste dyneïne armen.

In veel publicaties wordt transpositie in enkele trilharen gezien zonder dat de auteurs dit specifiek vermelden. De afwijking wordt daarin als één van de aspecifieke veranderingen in het aantal microtubuli beschouwd. Dit is het geval bij gezonde personen (McDowell et al 1976 / Fox et al 1980), bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (Katz et al 1977 / Afzelius 1979 / Howell et al 1980) en bij patiënten met andere luchtweginfecties (Fox et al 1983 / Ahonen en Valavirta 1983). Het zegt derhalve niets indien transpositie in enkele trilharen voorkomt. Alleen een vergelijkend onderzoek naar de frequentie waarmee deze afwijking bij gezonde personen en bij patiënten met luchtweginfecties voorkomt kan inzicht in de betekenis verschaffen. In deze studie worden voor de 3 groepen de volgende frequenties gevonden (tabel 16):

tabel 16. Spreidingsbreedte en mediaan van het percentage trilharen met transpositie. Aantal personen bij wie 0% van de onderzochte trilharen transpositie vertoont.

groep		spreidingsbreedte	mediaan	aantal personen met 0%
1) primaire ciliaire dyskinesie	n=29	0% - 36%	0%	16
2) onverklaarde luchtweginfecties	n=71	0% - 7%	0%	46
3) gezonde personen	n=23	0% - 4%	0%	21

Omdat bij veel van de onderzochte personen 0% van de trilharen transpositie vertoont wordt voor de statistische toetsing gebruik gemaakt van



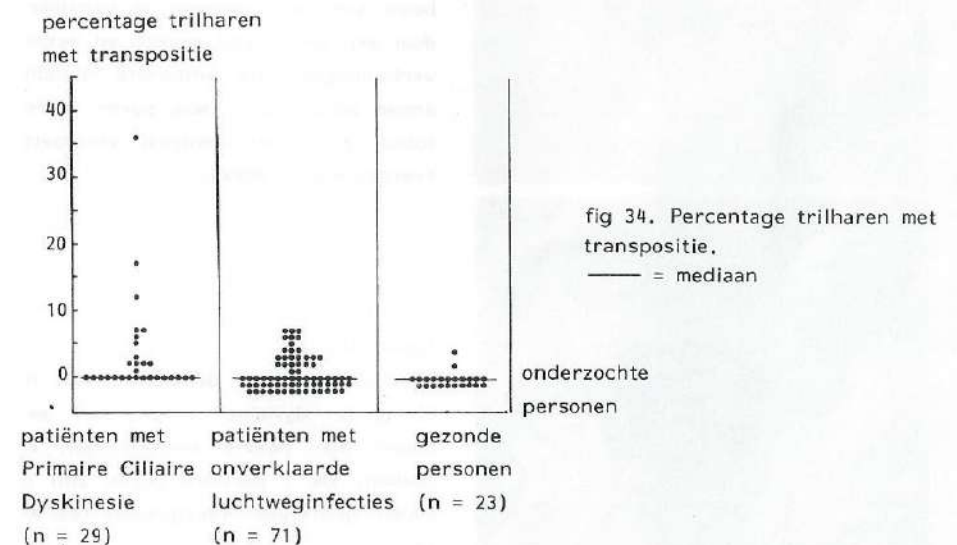
figuur 33.

Patiëntje met primaire ciliaire dyskinesie op basis van een tekort aan buitenste en binnenste dyneïne armen. Eén trilhaar heeft de normale 9+2 structuur, de andere trilhaar vertoont transpositie met 8 perifere paren en 1 centraal gelegen paar (vergroting 130.000x).

de χ^2 -toets voor gemiddelden van scores. De onderzochte personen worden als volgt verdeeld:

- >5% trilharen met transpositie
- 1%-5% trilharen met transpositie
- 0% trilharen met transpositie

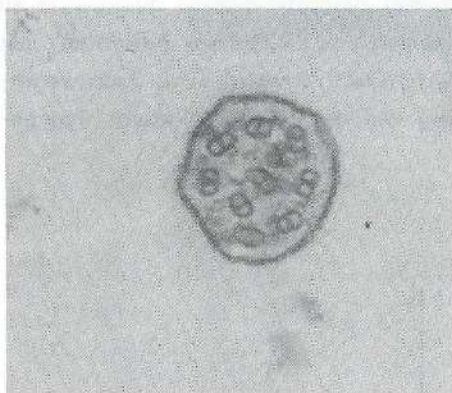
Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan significante verschillen in het percentage trilharen met transpositie ($p < 0.01$). Het percentage is in het algemeen het grootst bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en het kleinst bij gezonde personen. Het verschil tussen patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties is niet significant. De verdeling van de 3 groepen wordt weergegeven in figuur 34.



Discussie

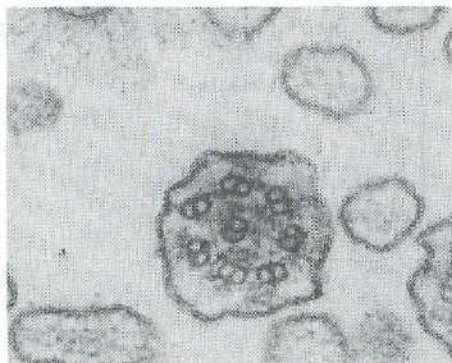
In dit onderzoek blijkt dat transpositie niet specifiek is voor primaire ciliaire dyskinesie. Transpositie wordt in geïnfecteerd slijmvlies vaker gezien dan in gezond slijmvlies. De afwijking komt bij primaire ciliaire dyskinesie vaker voor dan bij onverklaarde luchtweginfecties. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van Rutland et al (1983-III) en van Nielsen et al (1983), waarbij transpositie dan wordt beschouwd als een aspecifieke afwijking in het aantal microtubuli.

In de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie bevinden zich 3 patiënten met een opvallend hoog percentage trilharen waarin transpositie voorkomt (respectievelijk 12%, 17% en 36%) (figuren 16, 35 en 36). Men kan zich voorstellen dat de aanwezigheid van transpositie in zoveel trilharen met de aanwezige deficiëntie van de binnenste dyneïne armen bijdraagt tot het slecht functioneren van deze trilharen. Het is tevens opmerkelijk dat juist deze 3 patiënten al eerder opvielen door



figuur 35.

Dezelfde patiënte van figuur 16. De bouw van het axonema is verstoord door een tekort aan spaken en nexine verbindingen. De binnenste dyneïne armen ontbreken. Twee paren microtubuli zijn naar centraal verplaatst (vergroting 95.000x).



figuur 36.

Patiëntje met een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen, en een tekort aan nexine verbindingen en spaken. De 7 perifere paren zijn in elkaar gedrongen (vergroting 105.000 x).

een bijzonder laag aantal nexine verbindingen, een laag aantal spaken en opvallend veel trilharen met een totaal verstoorde bouw van het axonema (zie tabel 11, paragraaf 4.3.2 en 4.3.3). Wellicht is transpositie slechts mogelijk in trilharen waarvan de normale structuur van het axonema door een tekort aan nexine verbindingen en spaken verloren is gegaan. Het is interessant na te gaan of juist deze trilharen een bijzondere activiteit vertonen. Dit zal in hoofdstuk 6 worden bestudeerd.

Conclusie

Transpositie in enkele trilharen is waarschijnlijk een aspecifiek verschijnsel van luchtweginfecties. Dit verschijnsel is het meest uitgesproken bij een ernstige en chronische aandoening als primaire ciliaire dyskinesie. Transpositie krijgt vooral een kans bij een verstoorde bouw van het axonema door een tekort aan nexine verbindingen en spaken. Indien veel trilharen deze afwijkende axonemata bezitten dan kan dit, samen met een dyneïne deficiëntie, bijdragen tot een dyskinesie van de trilharen.

4.4 CONCLUSIES

Alleen na een vergelijkend kwantitatief onderzoek van zowel de buitenste als de binnenste dyneïne armen bij patiënten met het syndroom van Kartagener en bij gezonde personen kan bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties op betrouwbare wijze een dyneïne deficiëntie worden vastgesteld. Patiënten met het syndroom van Kartagener hebben niet altijd een dyneïne deficiëntie. Derhalve mag worden aangenomen dat niet alle patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie, zonder een situs inversus, een dyneïne deficiëntie bezitten. Er bestaan geen significante verschillen in het mediane aantal nexine verbindingen per trilhaar tussen patiënten met primaire ciliaire dyskinesie, patiënten met onverklaarde luchtweginfecties en gezonde personen. Patiënten met primaire ciliaire dyskinesie hebben een significant kleiner mediaan aantal spaken per trilhaar, terwijl tussen gezonde personen en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties geen significant verschil bestaat. Het is mogelijk dat het kleinere aantal spaken bij primaire ciliaire dyskinesie

bijdraagt tot de gestoorde trilhaarbeweging.

Uit dit kwantitatief onderzoek blijkt dat verlies van de centrale schede en verlies van de parallelle oriëntatie tussen trilharen vaker voorkomen in geïnfecteerd slijmvlies. Deze veranderingen zijn het meest uitgesproken bij primaire ciliaire dyskinesie, hetgeen verwacht mag worden van een aandoening waarbij het belangrijkste reinigingsmechanisme van de luchtwegen levenslang ontbreekt. Het ontbreken van een centrale schede of een desoriëntatie van de trilharen is echter geenszins specifiek voor primaire ciliaire dyskinesie.

Een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete B-microtubuli zijn afwijkingen die naar alle waarschijnlijkheid berusten op autolysis van het weefsel voordat de fixatie begint. Er bestaan geen significante verschillen in de frequenties waarmee deze afwijkingen in gezond en in geïnfecteerd slijmvlies voorkomen.

Transpositie komt in geïnfecteerd slijmvlies vaker voor dan in gezond slijmvlies. De aanwezigheid van transpositie in enkele trilharen is niet specifiek voor primaire ciliaire dyskinesie. Bij een aantal patiënten met primaire ciliaire dyskinesie komt transpositie echter in opvallend veel trilharen voor. Er lijkt een aparte categorie patiënten met primaire ciliaire dyskinesie te bestaan, bij wie transpositie vaak kan optreden omdat de betreffende trilharen hun structuur door een tekort aan nexine verbindingen en spaken hebben verloren. Deze afwijkende axonemata lijken met de deficiëntie van de binnenste dyneïne armen verantwoordelijk voor de dyskinesie van deze trilharen.

Het elektronenmicroscopisch onderzoek levert bij de ene patiënt met het syndroom van Kartagener zonder dyneïne deficiëntie geen afwijkingen op waarop de diagnose primaire ciliaire dyskinesie kan worden gesteld. De ultrastructuur van de trilharen blijkt in alle opzichten normaal te zijn. Wellicht dat onderzoek van de trilhaarbewegingen de primaire ciliaire dyskinesie bij deze patiënt kan aantonen (hoofdstuk 6).

Bij de meeste patiënten met primaire ciliaire dyskinesie komen diverse ultrastructurele afwijkingen voor. Een aantal van deze afwijkingen zoals een dyneïne deficiëntie en mogelijk ook een tekort aan spaken veroorzaken de gestoorde beweeglijkheid van de trilharen, waardoor het mucociliair reinigingsmechanisme ontbreekt. Dit resulteert in recidiverende infecties van het slijmvlies, waardoor andere afwijkingen zoals een

ontbrekende centrale schede en desoriëntatie van de trilharen juist bij deze aandoening frequent kunnen voorkomen.

Bij primaire ciliaire dyskinesie worden ultrastructurele afwijkingen gezien die ook bij patiënten met andere luchtweginfecties en bij gezonde personen kunnen voorkomen. Een aantal van deze afwijkingen komen bij primaire ciliaire dyskinesie echter vaker voor.

De diagnose primaire ciliaire dyskinesie kan bij het histo-pathologisch onderzoek van het trilhaarepitheel alleen door kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur worden gesteld.

Hoofdstuk 5

SCANNING ELECTRONENMICROSCOPIE.

5.1 INLEIDING

Bij de bestudering van het respiratoir epitheel met behulp van het scanning electronenmicroscop zijn meestal 3 soorten cellen te herkennen: trilhaardragende cellen, cellen die bedekt zijn met microvilli en slijmbekercellen. De onderlinge verhouding in aantallen tussen deze soorten cellen verschilt per localisatie (Albegger 1978 en 1979). De bewegingen en de ordening van de trilharen in een biopt zijn onmiddellijk na de biopsie niet anders dan wanneer het biopt enige tijd in een weefselmedium is bewaard. Voor de stand van de trilharen is de aanwezigheid of afwezigheid van submucosa zonder invloed (Sanderson en Sleigh 1981-II). In het tracheaslijmvlies van gezonde proefdieren blijkt onder het scanning electronenmicroscop dat de meeste trilharen in de rustfase verkeren en met de toppen in de richting van de mucusstroom wijzen (Sleigh 1981-II). Lenz (1972) meldt echter dat in slijmvliesbiopten van gezonde personen gedesoriënteerde, met elkaar vervlochten trilharen kunnen worden gezien.

Bij infectie van het slijmvlies worden onder het scanning electronenmicroscop een aantal veranderingen gezien (Mygind 1975/ Albegger 1978 en 1979):

1. het aantal slijmbekercellen neemt toe
2. het preparaat kan bedekt blijven met slijm, een uiting van een verhoogde productie van taai slijm en
3. verlies van trilharen. Er kan metaplasie van de trilhaardragende cellen optreden: de cellen krijgen een glad oppervlak ("kinderhoofdjes") en op den duur ontstaat plaveiselepitheel
4. regeneratie van trilharen kan optreden: op cellen, bedekt met microvilli, zijn een aantal korte trilharen te zien
5. de trilharen zijn vaak platgedrukt door mucus of door zwelling van het slijmvlies; zij kunnen onregelmatig verdikt zijn en vertonen soms een overmaat aan cytoplasma.

Deze veranderingen zijn niet specifiek voor een bepaalde luchtwegaan-

doening. De destructie en het verlies van trilharen zijn bij aandoeningen zoals een atopische rhinopathie, een rhinitis vasomotorica (Mygind 1974 en 1975) en mucoviscidose (Simel et al 1980/ Konradova et al 1982) meer uitgesproken dan bij gezonde personen. Er is alleen een kwantitatief verschil.

Een kenmerk van primaire ciliaire dyskinesie is een verlies van coördinatie tussen naast elkaar gelegen trilharen (zie ook hoofdstuk 6: trilhaaractiviteit). Door de geringe coördinatie zijn de bewegingen van de trilharen inefficiënt, hetgeen resulteert in een ontbreken van mucociliair transport (zie ook hoofdstuk 7). Men zou verwachten dat het verlies van de onderlinge coördinatie resulteert in een slechte oriëntatie van de trilharen in een slijmvliesbiopt. Dit blijkt bij onderzoek onder het transmissie electronenmicroscop slechts ten dele het geval te zijn. Het verlies van een parallelle oriëntatie van de axonemata der trilharen is bij een primaire ciliaire dyskinesie groter dan bij onverklaarde luchtweginfecties; een dergelijke (tweedimensionale) desoriëntatie is echter geenszins specifiek voor ciliaire dyskinesie (zie hoofdstuk 4, paragraaf 4.3.5).

In dit hoofdstuk wordt met behulp van scanning electronenmicroscopie bestudeerd of slijmvliesbiopten van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie zich kenmerken door een ruimtelijke (driedimensionale) desoriëntatie van de trilharen. Tevens zal worden nagegaan of bij een primaire ciliaire dyskinesie ook andere afwijkingen onder het scanning electronenmicroscop kunnen worden waargenomen waarmee het bestaan van een primaire ciliaire dyskinesie kan worden vermoed.

5.2 MATERIAAL EN METHODE

Voor deze studie met het scanning electronenmicroscop zijn neusslijmvliesbiopten van de volgende personen onderzocht:

- a) 10 gezonde personen
- b) 10 patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie
- c) 10 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties

ad a) het betreft gezonde vrijwilligers, zonder luchtwegaandoeningen

ad b) het gaat om 9 patiënten met een dyneïne deficiëntie (zie hoofdstuk

4) en om 1 patiënt met een normale ultrastructuur van de tril-

haren maar met een abnormale trilhaaractiviteit (zie hoofdstuk 6)
ad c) het betreft 10 patiënten met chronisch, recidiverende luchtweginfecties zonder ultrastructurele afwijkingen in de trilharen en met een normale trilhaaractiviteit.

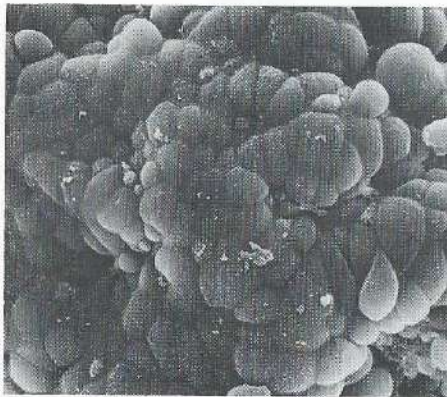
Bij alle onderzochte personen is ook onderzoek met het transmissie electronenmicroscop verricht; van alle biopten is de trilhaaractiviteit bekend. Tussen de onderzochte personen bestaan geen verschillen in rookgewoontes.

Het onderzoek geschiedt in een klinisch zo rustig mogelijke fase van de luchtwegaandoening. De biopten worden met een scherpe curette van de concha inferior afgestreken, zonder gebruik te maken van een lokaal anaestheticum of een decongestivum. Het slijmvlies wordt opgevangen in Gey's Balanced Salt Solution (B.B.S. Gibco Ltd, pH 7.2). Na beoordeling van de trilhaaractiviteit onder het lichtmicroscop (hoofdstuk 6) worden de slijmvliesbiopten gefixeerd in 1% glutaraaldehyde in een Sørensen- buffer 1/15 M. Na twee maal wassen met een sucrose-buffer (320 mOsm) worden de biopten gedehydrateerd in een alcoholreeks met een oplopende concentratie van 20% tot 100%. De alcohol wordt uit het preparaat gespoeld met vloeibare CO₂, waarna het kritisch punt-drogen kan plaatsvinden. Door middel van "sputteren" met versnelde argon-ionen wordt het preparaat bedekt met een uniforme goudlaag. Het preparaat is nu geschikt voor scanning electronenmicroscopie. Er is in dit onderzoek gebruik gemaakt van een Cambridge SEM type 2A microscop, met een vergroting van 1000x, 3200x en 3400x. Van ieder biopt zijn steeds de gebieden met de meeste trilhaardragende cellen gefotografeerd. Van ieder biopt zijn 15-25 opnames gemaakt.

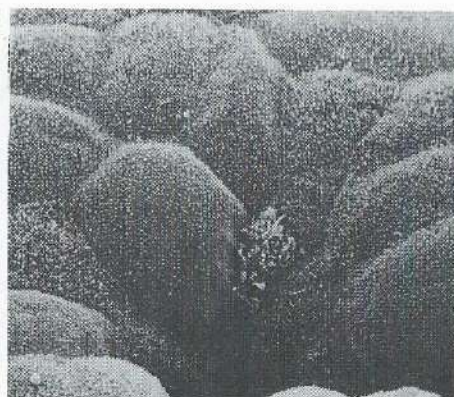
5.3 RESULTATEN

Bij luchtweginfecties worden er in de slijmvliesbiopten minder trilharen gezien dan normaal. Dit kan in extreme gevallen leiden tot biopten waarop nauwelijks trilharen te herkennen zijn; deze biopten lijken dan alleen te bestaan uit cellen die bedekt zijn met microvilli. Soms kunnen bij een sterkere vergroting nog een paar korte trilharen worden gezien. Dit wordt geïllustreerd in de figuren 1 en 2, opnames van een patiëntje met onverklaarde luchtweginfecties.

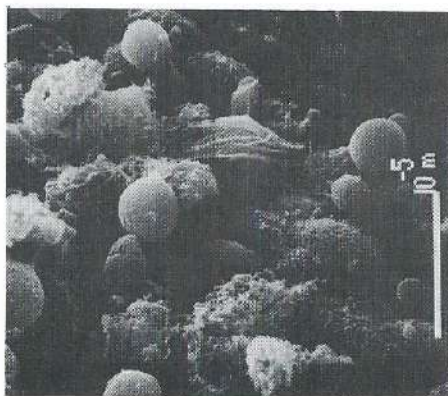
Bij infecties van het slijmvlies worden vaker vlokken secreet op de



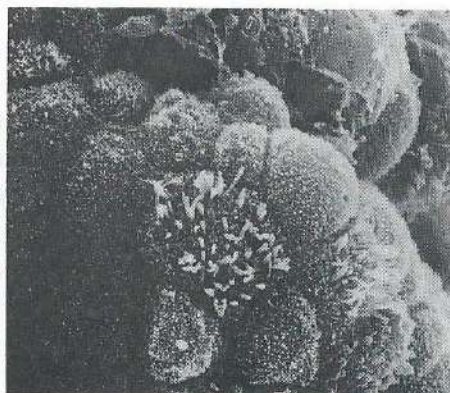
figuur 1.
Neusslijmvlies van een patiëntje met onverklaarde luchtweginfecties. Er zijn geen trilhaardragende cellen te herkennen (vergroting 1000x).



figuur 2.
Hetzelfde slijmvlies van figuur 1. Bij een sterkere vergroting zijn enkele korte trilharen te zien (vergroting 3400x).



figuur 3.
Neusslijmvlies van een patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie. Slijmbekercellen zijn bedekt met korrelige vlokken sereet. Enkele cellen vertonen bolvormige uitstulpingen van het cytoplasma (vergroting 3200x).



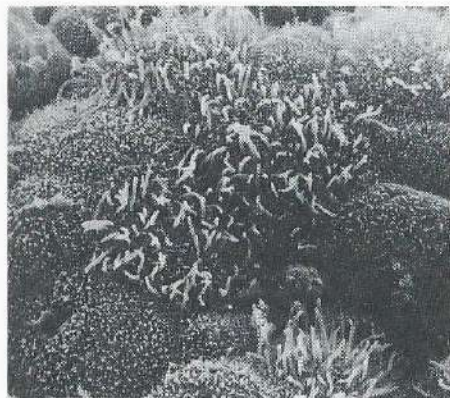
figuur 4.
Neusslijmvlies van een patiënt met een primaire ciliaire dyskinesie. Tussen cellen bedekt met microvilli zijn 2 cellen zichtbaar met enkele korte, gedesorienteerde trilharen (regeneratie) (vergroting 3200x).

slijmbekercellen gezien (figuur 3, opname van een patiënte met primaire ciliaire dyskinesie). Volgens Lim en Shimada (1971) zijn deze vlokken een teken van degeneratie van de slijmbekercellen, volgens Mygind (1975) zijn zij een bewijs van toegenomen secretie. Soms kunnen er op het geïnfecteerde slijmvlies gladde, bolvormige uitstulpingen van de epitheliale cellen worden gezien, veroorzaakt door een chronische irritatie van het slijmvlies (Mygind 1975) (figuur 3).

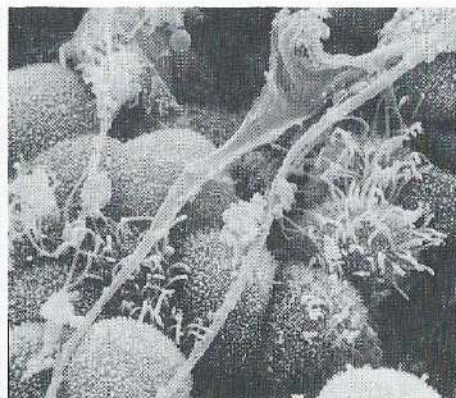
Bij infecties gaan niet alleen trilharen verloren, maar er treedt ook regeneratie van trilharen op. Dit is onder het scanning electronenmicroscoop te zien als de aanwezigheid van enkele, nog korte trilharen op een cel die overigens bedekt is met microvilli (figuur 2, 4 en 5). Zowel bij primaire ciliaire dyskinesie (figuur 4) als bij onverklaarde luchtweginfecties (figuur 5) lijken deze "jonge" trilharen (nog) gedesorienteerd. Het verlies van trilharen, de toegenomen secretie van de slijmbekercellen, de bolvormige uitstulpingen van cytoplasma en de regeneratie van trilharen worden bij patiënten met luchtweginfecties vaker gezien dan bij gezonde personen. Deze afwijkingen zijn echter geenszins specifiek voor een primaire ciliaire dyskinesie; zij blijken bij een primaire ciliaire dyskinesie ook niet vaker voor te komen.

Bij scanning electronenmicroscopisch onderzoek van gezond slijmvlies zou volgens de meeste gegevens uit de literatuur weinig of geen slijm meer op de trilharen aanwezig zijn. In ons onderzoek hebben wij wat dat betreft geen verschillen kunnen aantonen tussen patiënten met luchtweginfecties en gezonde personen. In figuur 6 is een opname te zien van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties: de cellen zijn bedekt met slijmdraden en vlokken sereet; er worden slechts weinig trilharen gezien, de trilharen zijn kort en gedesorienteerd (regeneratie). In de figuren 7, 8 en 9 wordt steeds hetzelfde beeld gezien: grote aantallen trilharen, gedeeltelijk bedekt door slijm. De opname van figuur 7 is van een patiënte met onverklaarde luchtweginfecties, de opname van figuur 8 betreft een patiënte met primaire ciliaire dyskinesie en de opname van figuur 9 is van een gezond persoon. De desoriëntatie van de trilharen in deze 3 bipten is opvallend.

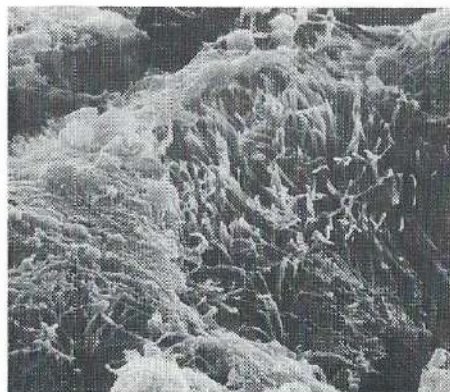
Losliggende cellen blijken vaak een desoriëntatie van de trilharen te vertonen. De geringe vitaliteit van deze cellen is hiervoor misschien verantwoordelijk. In figuur 10 (een opname van een gezond persoon) en in figuur 11 (een opname van een patiënt met onverklaarde luchtweg-



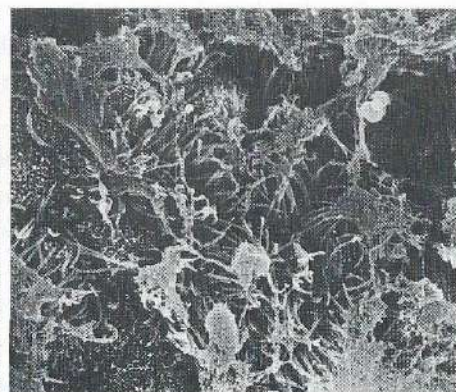
figuur 5.
Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. Een aantal cellen met korte, regenererende trilharen (vergroting 3400x).



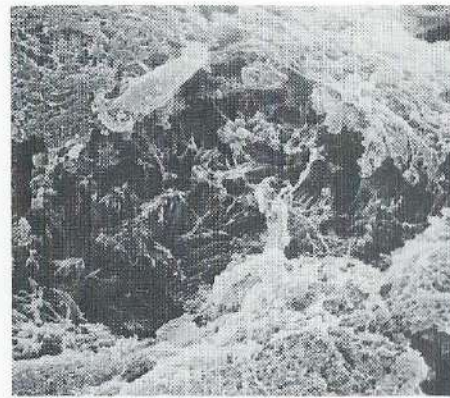
figuur 6.
Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De cellen zijn bedekt met slijmdraden. Tevens zijn vlokken secreet zichtbaar. Enkele cellen vertonen regeneratie van trilharen (vergroting 3200x)



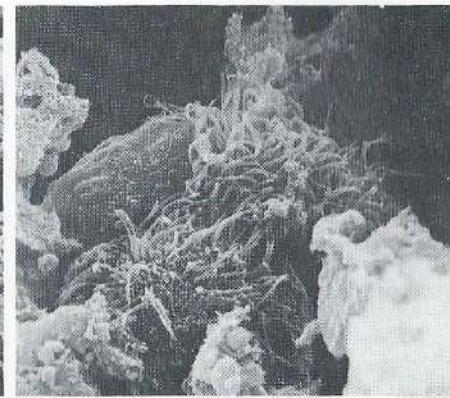
figuur 7.
Neusslijmvlies van een patiënte met onverklaarde luchtweginfecties. De gedesorienteerde trilharen zijn bedekt met slijm (vergroting 3200x).



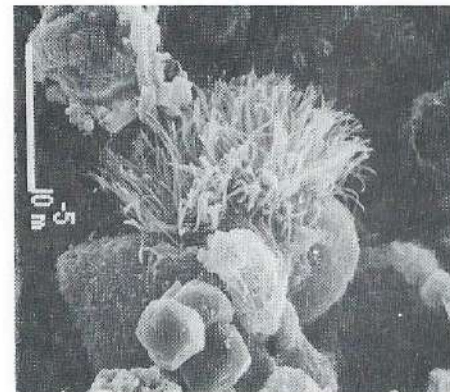
figuur 8.
Neusslijmvlies van een patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie. Dezelfde afwijkingen als in figuur 7 (vergroting 3200x).



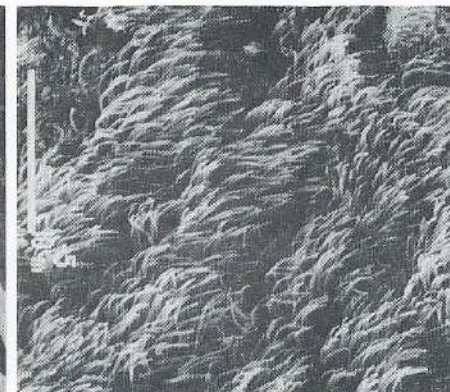
figuur 9.
Neusslijmvlies van een gezond persoon. Dezelfde afwijkingen als in de figuren 7 en 8 (vergroting 3200x).



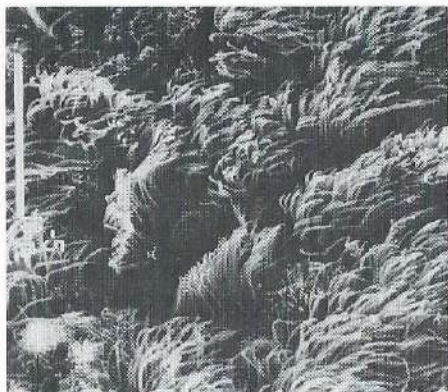
figuur 10.
Neusslijmvlies van een gezond persoon. Twee losliggende cellen met een sterke desoriëntatie van de trilharen (vergroting 3200x).



figuur 11.
Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. Een losliggende cel met gedesorienteerde trilharen (vergroting 3200x).



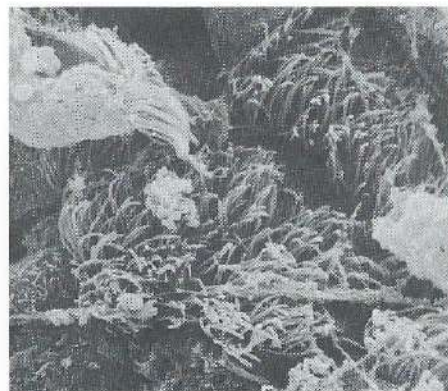
figuur 12.
Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De parallel georiënteerde trilharen bevinden zich aan het eind van de slagfase of in de rustfase (vergroting 3400x).



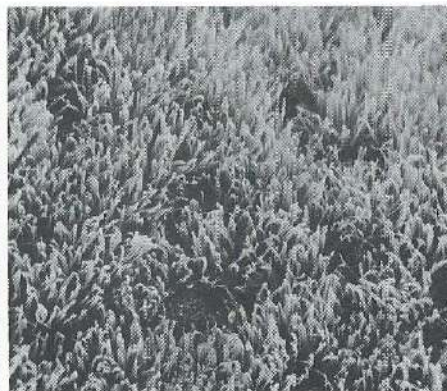
figuur 13.
Neusslijmvlies van dezelfde patiënt als in figuur 12. De meeste trilharen bevinden zich aan het eind van de slagfase. Links-onder zijn 2 cellen te zien waarvan de trilharen zich in de herstelfase of aan het begin van de slagfase bevinden (vergroting 3400x).



figuur 14.
Neusslijmvlies van een patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie. Er is een redelijk parallelle oriëntatie van de trilharen aanwezig (vergroting 3200x).



figuur 15.
Neusslijmvlies van dezelfde patiënte als in figuur 14. Een redelijk parallelle oriëntatie van de trilharen. Links-boven een losse, waarschijnlijk dode trilhaardragende cel (vergroting 3200x).

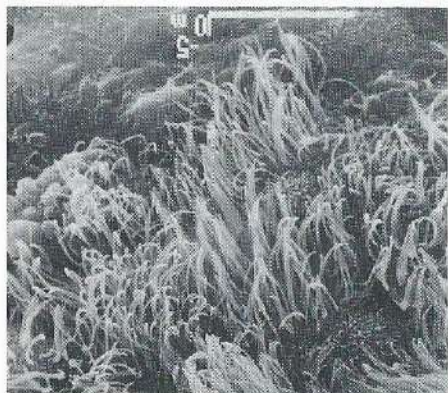


figuur 16.
Neusslijmvlies van een patiëntje met een primaire ciliaire dyskinesie. Er is geen manifeste desoriëntatie van de trilharen (vergroting 3200x).

infecties) is een sterke desoriëntatie van de trilharen aanwezig; beide personen vertoonden een normale ultrastructuur en een normale activiteit van de trilharen. In de figuren 12 en 13 is een fraaie parallelle oriëntatie van de trilharen te zien. De toppen van de trilharen wijzen allen in de richting van de mucusstroom, de fixatie heeft plaatsgevonden tijdens de slagfase of tijdens de rustfase aan het eind van de slagfase. De bipten zijn afkomstig van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. Een dergelijk fraaie afbeelding van een parallelle oriëntatie werd ook op intacte stukjes epitheel in de bestudeerde bipten van het neusslijmvlies zelden gevonden, noch bij gezonde personen, noch bij patiënten met luchtweginfecties. In deze studie bleek in de bipten van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie zeker geen manifeste desoriëntatie van de trilharen aanwezig. In de figuren 14 en 15, opnames van een patiënte met een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een dyneïne deficiëntie, vertonen de trilharen een redelijk parallelle oriëntatie. In figuur 16 wordt eveneens een redelijk parallelle oriëntatie van de trilharen gezien; dit patiëntje heeft een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een tekort aan binnenste dyneïne armen en een tekort aan spaken en nexine verbindingen, waardoor veel trilharen afwijkende axonemata vertonen met transpositie (hoofdstuk 4, paragraaf 4.3.3 en 4.3.8). Hoewel het mogelijk is dat de trilharen in dit laatste bipt een wat "indifferentie" positie innemen als uiting van de verminderde beweeglijkheid kan van een duidelijke desoriëntatie zeker niet worden gesproken. Het ontbreken van duidelijke verschillen in de oriëntatie van de trilharen tussen patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties wordt nog eens geïllustreerd wanneer de opnames in de figuren 14, 15 en 16 worden vergeleken met de opnames in de figuren 17 en 18. Deze twee laatste opnames zijn afkomstig van 2 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties, met een normale ultrastructuur en een normale beweeglijkheid van de trilharen.

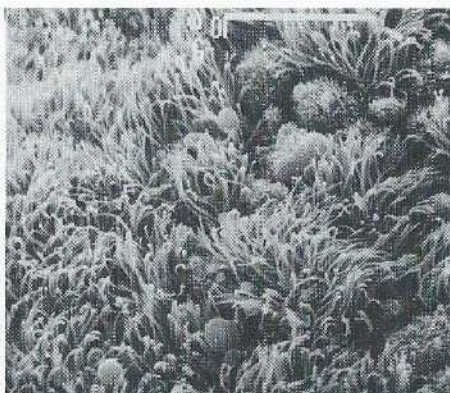
5.4 BESPREKING

Men moet bij de interpretatie van afwijkingen in slijmvliesbipten onder het scanning electronenmicroscop voorzichtig zijn. Door de verschillende bewerkingen van het bipt en door het krimpen van het weefsel (met



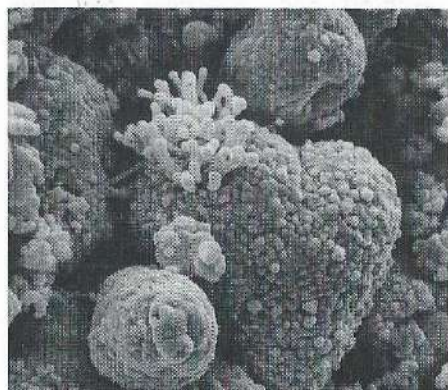
figuur 17.

Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De oriëntatie van de trilharen verschilt niet duidelijk met de beelden in de figuren 14, 15 en 16 (vergroting 3200x).



figuur 18.

Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. Dezelfde bevindingen als in figuur 17.



figuur 19.

Een cel met enkele korte trilharen. Een abnormaal hobbelig oppervlak door het "sputteren" met goud (vergroting 3400x).



figuur 20.

Neusslijmvlies van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties. De toppen van de trilharen zijn veelal met elkaar verkleefd, waarschijnlijk een gevolg van de bewerking van het weefsel (vergroting 3200x).

20%-25%) kunnen artefacten ontstaan. De lengte van de trilharen wordt kleiner, de diameter blijft veelal onveranderd. Soms kunnen de cellen en de trilharen een hobbelig oppervlak vertonen (figuur 19); dit is waarschijnlijk een gevolg van het "sputteren" met goud. Een dergelijk hobbelig oppervlak wordt bij transmissie electronenmicroscopie niet gezien. In veel publicaties en bij enkele patiënten in dit onderzoek is te zien dat de toppen van de trilharen op enkele naast elkaar gelegen cellen met elkaar zijn verkleefd waardoor als het ware bundels worden gevormd (Barber en Boyde 1968/ Greenwood en Holland 1972/ Lenz 1972/ Theopold et al 1984) (figuur 20). Door de meeste auteurs wordt ook dit als een artefact beschouwd. Vriesdrogen van het weefsel zou de kans op artefacten het meest reduceren (Mygind en Bretlau 1973/ Barlow en Sleight 1979).

Er worden in dit onderzoek geen verschillen gevonden tussen bipten van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie en bipten van patiënten met onverklaarde luchtweginfecties. In het trilhaarepithel van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie wordt een verlies en regeneratie van trilharen gezien, met een verhoogde activiteit van slijmbekercellen. Deze afwijkingen komen echter evenveel voor bij andere luchtweginfecties. In de bipten van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie wordt vaak een redelijke tot goede ruimtelijke oriëntatie van de trilharen gezien; tussen de bipten van patiënten met primaire ciliaire dyskinesie en bipten van patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bestaan geen duidelijke verschillen wat betreft de oriëntatie van de trilharen.

De bevindingen uit dit onderzoek stemmen overeen met de weinige gegevens die uit de literatuur bekend zijn. Bertrand en van Reepingen- Degen (1981) onderzochten een patiënt met een primaire ciliaire dyskinesie. Zij konden alleen een verlies van trilharen vaststellen. Theopold et al (1984) onderzochten 4 patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie: zij vonden een redelijke oriëntatie van de trilharen, die soms met elkaar waren verkleefd.

5.5 CONCLUSIES

Bij scanning electronenmicroscopisch onderzoek van neusslijmvliesbipten, afgenomen en bewerkt volgens de in dit hoofdstuk beschreven

methodes, worden geen specifieke aanwijzingen voor een primaire ciliaire dyskinesie gevonden.

Bij de diagnostiek van primaire ciliaire dyskinesie speelt scanning electronmicroscopie dus geen rol van betekenis.

Hoofdstuk 6

TRILHAARACTIVITEIT

6.1 INLEIDING

In hoofdstuk 1 wordt de activiteit van normale trilharen beschreven. Hierbij kunnen een aantal facetten worden onderscheiden:

- de slagfrequentie van de trilharen varieert binnen zekere grenzen (7-27 Hz)
- trilharen van één cel bewegen synchroon; tussen aangrenzende velden met trilhaardragende cellen bestaat een metachroon bewegingspatroon
- trilharen voltooien steeds een volledige slag

In de literatuur wordt vermeld dat ultrastructurele afwijkingen zoals een dyneïne deficiëntie of het ontbreken van spaken een onbeweeglijkheid van trilharen kunnen veroorzaken. Tevens wordt beschreven dat trilharen met deze afwijkingen weliswaar kunnen bewegen maar dan met een lage frequentie, een verlies van de onderlinge coördinatie en met een verminderde amplitude (hoofdstuk 1). Er zijn patiënten met primaire ciliaire dyskinesie beschreven bij wie alleen het middelste deel van de trilharen beweegt en patiënten bij wie alleen de toppen van de trilharen bewegen met verlies van coördinatie en amplitude (Rossman et al 1981). Een tekort aan buitenste dyneïne armen zou vooral een lage slagfrequentie veroorzaken, een tekort aan binnenste dyneïne armen met een verstoorde bouw van het axonema zou vooral de coördinatie verstoren. Trilharen van patiënten met het syndroom van Kartagener zonder ultrastructurele afwijkingen zouden een zeer snelle slag vertonen met een kleine amplitude (Pedersen 1983). Het bewegingspatroon van de trilharen in een biopt kan een afwijking vertonen in één of meer van de drie eerder genoemde facetten. Bij de bestudering van de trilhaaractiviteit moet daarom altijd aan elk van deze drie facetten aandacht worden geschonken.

De slagfrequentie en de coördinatie tussen de trilharen kunnen worden berekend door registratie van reflecties van schuin invallend licht of

door registratie van de onderbrekingen van een lichtstraal door het biopt (zie hoofdstuk 3). Door de trilhaaractiviteit op een snellopende film vast te leggen en deze film vervolgens vertraagd af te draaien kunnen het slagpatroon en de amplitude van de trilhaarslag nauwkeurig worden geanalyseerd. Voor deze methode zijn goede biopten met intacte stukjes epitheel noodzakelijk. Meestal wordt daarvoor bronchusepitheel gebruikt. Een dergelijk onderzoek kost echter veel tijd en behoeft ingewikkelde apparatuur.

De biopten waarmee in ons onderzoek wordt gewerkt zijn afkomstig uit de neus. Zij worden zonder anaestheticum afgenomen. Dit heeft als voordeel dat het onderzoek poliklinisch kan gebeuren, zonder veel bezwaren voor de patiënt. Het nadeel is dat het soort biopt minder geschikt blijkt voor alle beschreven methodes van onderzoek. Daarom is voor dit onderzoek gezocht naar een andere manier om de trilhaaractiviteit te beoordelen: met behulp van beelden welke op een videoband zijn opgenomen wordt aan de slagfrequentie, de onderlinge coördinatie en de amplitude een "score" toegekend.

6.2 ONDERZOCHE PERSONEN

In deze studie wordt de trilhaaractiviteit bestudeerd bij de volgende drie groepen:

1. patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=23).

Deze groep bestaat uit 10 patiënten met het syndroom van Kartagener en een dyneïne deficiëntie, 1 patiënt met het syndroom van Kartagener zonder een dyneïne deficiëntie en 12 patiënten met luchtweginfecties en een dyneïne deficiëntie, maar zonder een situs inversus.

2. patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=64).

Deze groep bestaat uit 64 patiënten met luchtweginfecties, zonder ultrastructurele afwijkingen, zonder een situs inversus.

3. gezonde personen (n=20).

Al deze personen behoren tot de 3 groepen bij wie transmissie electronmicroscopisch onderzoek is verricht (hoofdstuk 4). De trilhaaractiviteit is derhalve bestudeerd in biopten waarvan de ultrastructuur van de trilharen eveneens is onderzocht. De opzet van dit onderzoek was zodanig dat van zoveel mogelijk patiënten zowel de trilhaaractiviteit als

de ultrastructuur van de trilharen is onderzocht. Bij een aantal patiënten was dit niet mogelijk omdat de elders afgenomen slijmvliesbiopten in glutaraaldehyde gefixeerd naar ons werden opgestuurd, zodat de trilhaaractiviteit niet meer kon worden bestudeerd. Tussen de 3 onderzochte groepen bestaan geen verschillen in rookgewoontes.

6.3 METHODE

De patiënten worden in een zo rustig mogelijke fase van hun luchtwegaandoening onderzocht. Enkele dagen voor het onderzoek wordt het eventuele gebruik van neusdruppels of neusspray's gestaakt. De stukjes trilhaarepitheel worden met een scherpe curette van de concha inferior afgestroken en opgevangen in het weefselmedium Gey's Balanced Salt Solution (BSS Gibco Ltd, pH 7.2). De biopten worden in enkele druppels van het medium op een objectglas van een Zeiss lichtmicroscop gebracht. Er wordt met een vergroting van 400x gekeken. Het onderzoek vindt plaats bij kamertemperatuur (23°C-25°C).

Van iedere patiënt worden bij voorkeur intacte stukjes epitheel bekeken om de beoordeling van de trilhaaractiviteit zo weinig mogelijk te laten beïnvloeden door losse, dode, trilhaardragende cellen. Er is zorgvuldig op gelet dat in ieder biopt de verhouding tussen het aantal losse cellen en het aantal cellen dat op intacte stukjes epitheel naast elkaar is gerangschikt niet al te veel verschilt. Ondanks deze voorzorgen is niet uit te sluiten dat een enigszins vertekend beeld kan zijn ontstaan, mede omdat het aantal cellen per biopt nogal verschilt (tabel 1, 2 en 3).

Met behulp van een op de microscoop gemonteerde camera (Grundig SN 70 B) wordt de trilhaaractiviteit in het biopt op een videoband vastgelegd (National Videorecorder NV-9210). Hierbij worden de verschillende trilhaarbewegingen in het biopt zo evenredig mogelijk afgebeeld.

De opnames van patiënten met luchtweginfecties en van gezonde personen zijn willekeurig over de videobanden verdeeld. De onderzoeker weet bij het bekijken van de beelden niet van wie een bepaalde opname is. De videobanden worden op elk van de drie punten beoordeeld:

- slagfrequentie
- coördinatie tussen de trilharen
- amplitude van de trilhaarslag

- | | | |
|---|-----------------|------------|
| a. de slagfrequentie wordt semi-kwantitatief gewaardeerd in vier gradaties: | nul | (0 punt) |
| | zeer laag | (1 punt) |
| | laag | (2 punten) |
| | hoog | (3 punten) |
| b. de coördinatie wordt semi-kwantitatief gewaardeerd in drie gradaties: | afwezig | (0 punt) |
| | matig | (1 punt) |
| | goed | (2 punten) |
| c. de amplitude wordt semi-kwantitatief gewaardeerd in twee gradaties: | abnormaal klein | (0 punt) |
| | normaal | (1 punt) |

ad. a. Criterium voor "nul":

een volstrekte onbeweeglijkheid van de trilharen op een cel.

Criterium voor "zeer laag":

de trilharen op een cel vertonen een zeer traag verlopende slag die één seconde of langer duurt en die lijkt op een vertraagde weergave van een normale trilhaarslag.

Criterium voor "laag":

de trilharen op een cel hebben een slagfrequentie die gemakkelijk met het ongewapende oog is te tellen, van enkele malen per seconde.

Criterium voor "hoog":

de slagfrequentie van de trilharen op een cel kan niet meer met het ongewapende oog worden geteld.

ad. b. Criteria voor "afwezige coördinatie" zijn:

1. de trilharen op een cel bewegen in willekeurige richtingen en/of
2. de trilharen op een cel hebben een

volstrekt onregelmatige slagfrequentie en/of

3. de trilharen op een cel bewegen met een totaal verschillende amplitude of vertonen een totaal verschillend slagpatroon.

of: 4. de trilharen op een cel zijn onbeweeglijk.

Criteria voor "matige coördinatie" zijn:

1. enkele trilharen op een cel bewegen in een andere richting en/of

2. tussen de trilharen op een cel bestaan geringe verschillen in slagfrequentie en/of

3. enkele trilharen op een cel met een overigens "goede" coördinatie bewegen niet of vertonen een afwijkend slagpatroon.

Criteria voor "goede coördinatie" zijn:

1. alle trilharen op een cel bewegen in dezelfde richting en

2. alle trilharen op een cel hebben vrijwel dezelfde slagfrequentie en

3. alle trilharen op een cel vertonen eenzelfde slagpatroon en

4. er zijn geen onbeweeglijke trilharen op een cel.

ad. c. Criterium voor "abnormaal kleine amplitude":

de trilharen op een cel voltooien slechts een deel van een normale slag.

Criterium voor "normale amplitude":

de trilharen op een cel voltooien een volledige slag.

De gebruikte schaal voor de beoordeling van de trilhaaractiviteit is speciaal voor dit onderzoek ontworpen.

Voor ieder biopt wordt de gemiddelde frequentie, de gemiddelde coördinatie en de gemiddelde amplitude berekend door de som van de scores te delen door het aantal beoordeelde cellen. Op deze manier wordt een getal per cel verkregen. Met nadruk zij hier vermeld dat het getal voor de slagfrequentie een waardering inhoudt en NIET het aantal slagen per seconde weergeeft.

6.4 DOEL VAN HET ONDERZOEK

Deze scoringsmethode van de trilhaaractiviteit beoogt antwoord te geven op de volgende vragen:

1. kan met deze scoringsmethode een verschil worden aangetoond tussen biopten van gezonde personen en biopten van patiënten met primaire ciliaire dyskinesie.
2. kan met deze scoringsmethode de trilhaaractiviteit in een biopt van een patiënt met luchtweginfecties op betrouwbare wijze als normaal of als passend bij primaire ciliaire dyskinesie worden geclassificeerd.
3. kan met deze scoringsmethode een betrouwbare selectie plaatsvinden tussen biopten waarvan electronenmicroscopisch onderzoek moet worden verricht en biopten waarbij het onderzoek van de ultrastructuur achterwege kan worden gelaten.

6.5 RESULTATEN

Van 20 gezonde personen en 23 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie zijn slijmvliesbiopten op de beschreven wijze beoordeeld. De resultaten worden weergegeven in tabel 1 en tabel 2.

De aldus berekende activiteit bij gezonde personen en bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie wordt vergeleken met de trilhaaractiviteit bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (tabel 3). De resultaten hiervan worden weergegeven in de figuren 1, 2 en 3.

tabel 1. Gemiddelde score van de trilhaaractiviteit per cel bij gezonde personen (n=20. Aantal beoordeelde cellen per persoon 7-73).

	spreidingsbreedte	mediaan
slagfrequentie	1.9 - 3.0	2.6
coördinatie	0.9 - 2.0	1.8
amplitude	0.6 - 1.0	0.9

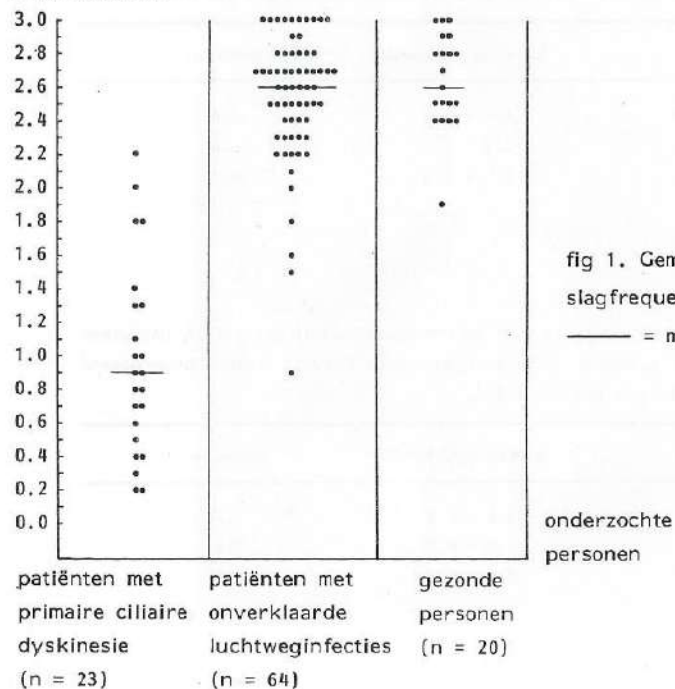
tabel 2. Gemiddelde score van de trilhaaractiviteit per cel bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=23. Aantal beoordeelde cellen per patiënt 7-59).

	spreidingsbreedte	mediaan
slagfrequentie	0.2 - 2.2	0.9
coördinatie	0.0 - 0.9	0.0
amplitude	0.0 - 0.8	0.2

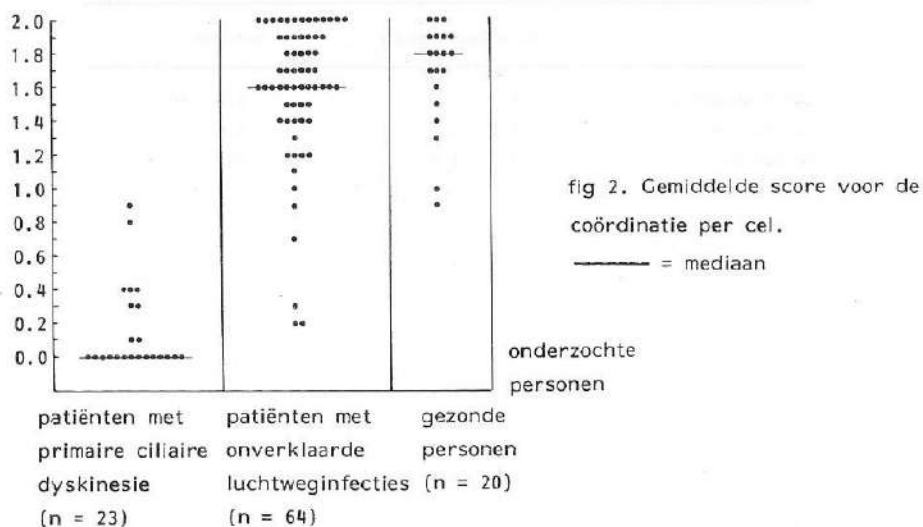
tabel 3. Gemiddelde score van de trilhaaractiviteit per cel bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=64. Aantal beoordeelde cellen per patiënt 5-99).

	spreidingsbreedte	mediaan
slagfrequentie	0.9 - 3.0	2.6
coördinatie	0.2 - 2.0	1.6
amplitude	0.2 - 1.0	0.9

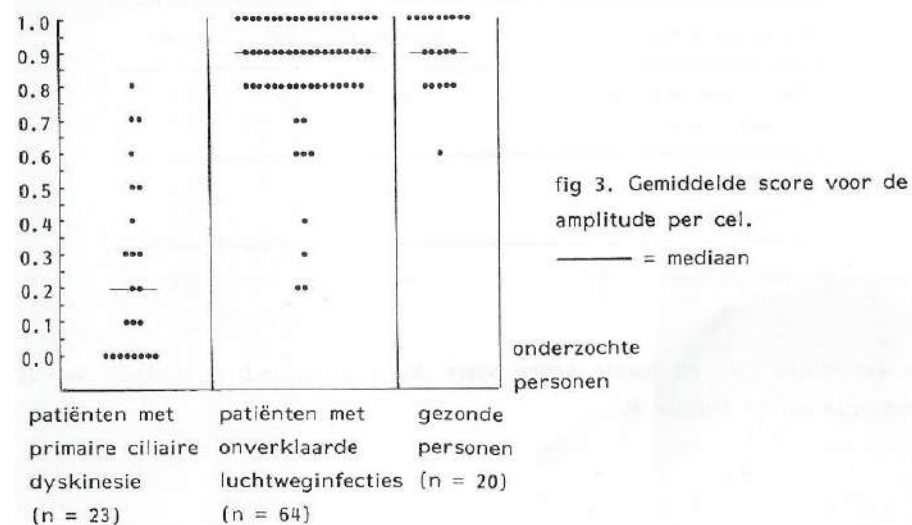
score van de
slagfrequentie



score van de
coördinatie



score van de
amplitude

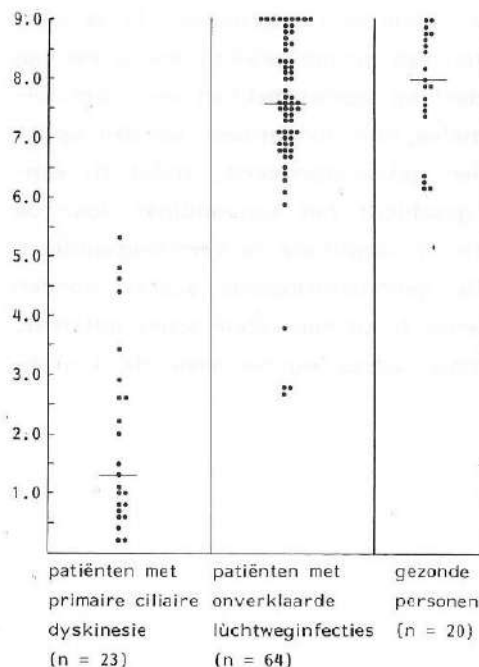


Bij het beoordelen van de trilhaaractiviteit in een biopt moeten steeds de slagfrequentie en de coördinatie en de amplitude worden betrokken. Derhalve wordt voor ieder biopt een totale score berekend. Er is géén reden om aan één van de drie facetten een groter gewicht toe te kennen dan aan de andere. De drie afzonderlijke scores hebben een verschillend punten-bereik, zij kunnen derhalve niet zondermeer worden opgeteld. De scores moeten eerst worden getransformeerd, zodat zij eenzelfde punten-bereik krijgen. Dit geschiedt het eenvoudigst door de score voor slagfrequentie, coördinatie en amplitude te vermenigvuldigen met respectievelijk 1, 1½ en 3. De getransformeerde scores worden vervolgens opgeteld zodat er voor ieder biopt een totale score ontstaat. De berekende kengetallen van de totale scores worden voor de 3 groepen weergegeven in tabel 4.

tabel 4. Spreidingsbreedte en mediaan van de gemiddelde totale score per cel.

onderzochte groep	spreidingsbreedte	mediaan
patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=23)	0.2 - 5.3	1.3
patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=64)	2.7 - 9.0	7.6
gezonde personen (n=20)	6.2 - 9.0	8.0

De verdeling van de totale score voor de 3 onderzochte groepen wordt weergegeven in figuur 4.



Discussie

Het blijkt mogelijk met de gebruikte methode een verschil aan te tonen tussen de trilhaaractiviteit bij gezonde personen enerzijds en patiënten met primaire ciliaire dyskinesie op basis van een dyneïne deficiëntie en/of de aanwezigheid van het syndroom van Kartagener anderzijds (doelstelling 1, paragraaf 6.4). Dit verschil is evident (zie figuur 4). Wanneer naar de 3 facetten van de trilhaaractiviteit afzonderlijk wordt gekeken (figuren 1, 2 en 3) blijken bij 5 personen in de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie 1 of 2 van de 3 facetten een "normale" waarde te vertonen. Door de 3 facetten van de trilhaaractiviteit gezamenlijk te beoordelen "scoort" géén enkele patiënt met primaire ciliaire dyskinesie "normaal".

Uit figuur 4 blijkt tevens dat het gebied van de patiënten met onverklaarde luchtweginfecties uit 2 duidelijk gescheiden stukken bestaat, waarvan het ene gebied nagenoeg samenvalt met het gebied van de gezonde personen, en waarvan het andere in het gebied van de patiënten met primaire ciliaire dyskinesie valt. Het eerst genoemde gebied is iets breder dan dat van de gezonde personen; dit is niet verwonderlijk omdat het op meer waarnemingen is gebaseerd.

Aanvullende gegevens over de 4 patiënten met een abnormaal lage score:

- F.d.H. (geb.dat. 24.9.1944) (mnl.). Totale score: 2.7. Hele leven chronisch recidiverende sinusitiden. Verschillende kaakspoelingen. Chronische otitis media serosa met een geleidingsverlies van 50 dB. In het 37e jaar operatie volgens Luc de Lima beiderzijds. Longfunctie: obstructieve stoornissen. Atopie voor huisstofmijt. Antigeenselectieve defecten in de functie van de T-lymphocyten. Fertiliteit: onbekend. Ultrastructuur van de trilharen: dyneïne armen normaal (7.6 / 1.8), 58% van de trilharen heeft een afwijkend aantal centrale microtubuli, 12% van de trilharen heeft incomplete microtubuli, 3% van de trilharen vertoont transpositie. Het hoge percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli is opvallend.
- R.L. (geb.dat. 25.10.1971) (mnl.). Totale score: 2.8. Vanaf de geboorte luchtweginfecties. In de 9e maand adenotomie, in het 2e jaar her-adenotomie. Vele middenoordrainages, talloze kaakspoe-

lingen. In het 8e jaar Claoué-operatie beiderzijds. Longfunctie: obstructieve stoornissen. Broertje van patiënt met het syndroom van Kartagener (totale score 2.6). Beide bezitten een normaal aantal dyneïne armen (respectievelijk 6.7/2.6 en 7.9/2.8).

Ultrastructuur van de trilharen: in 8% van de trilharen een afwijkend aantal centrale microtubuli, in 3% van de trilharen incomplete microtubuli.

- T.U. (geb.dat. 25.4.1948) (vrl.). Totale score: 2.8. Vanaf de geboorte rhinosinitiden. Polyposis nasi. Chronisch frontaal gelocaliseerde hoofdpijn. Hypoplasie van de sinus frontales. Chronische purulente bronchitiden. Vele operaties: septumcorrecties, operaties volgens Caldwell-Luc beiderzijds, poliepectomies, operaties volgens Luc de Lima beiderzijds, in het 11e jaar lobectomie LOK in verband met bronchiëctasieën, in het 35e jaar resectie lingula in verband met bronchiëctasieën. 1 gezonde dochter.

Ultrastructuur van de trilharen: dyneïne armen normaal (6.8/3.0), in 9% van de trilharen incomplete microtubuli.

- F.V. (geb.dat. 4.9.1948) (mnl.). Totale score: 3.8. Vanaf de kinderleeftijd recidiverende rhinosinitiden. Verschillende kaakspelingen. Atopie voor huisstofmijt en graspollen. In het 10e jaar resectie RMK en in het 21e jaar resectie LOK in verband met bronchiëctasieën. Infertiel (reden onbekend).

Ultrastructuur van de trilharen: dyneïne armen normaal (8.0/3.0), in 20% van de trilharen een afwijkend aantal centrale microtubuli, 11% van de trilharen vertoont incomplete microtubuli.

Bij deze 4 patiënten blijkt het mucociliair transport in de neus bij herhaling (vrijwel) afwezig (zie hoofdstuk 7). Geen van deze 4 patiënten komt uit Volendam. Bij deze 4 patiënten is de bestudering van de trilhaaractiviteit na enkele maanden nog eens herhaald: dit leverde dezelfde afwijkende bevindingen op.

Op grond van de anamnestiche gegevens kan bij deze 4 patiënten een primaire ciliaire dyskinesie worden vermoed. Door het onderzoek van de trilhaaractiviteit, waarbij bij herhaling een abnormaal lage score wordt gevonden, wordt dit vermoeden bevestigd. Het is wel opvallend dat de totale score van de trilhaaractiviteit bij deze 4 patiënten boven de mediaan van de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie ligt. Het

broertje van één van deze 4 patiënten, met het syndroom van Kartagener en een normale ultrastructuur, heeft een totale score van 2.6, eveneens boven de mediane waarde van de groep. De hoge scores van deze 5 patiënten, die een normale ultrastructuur van de trilharen hebben, worden grotendeels veroorzaakt door een relatief hoge slagfrequentie. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van Pedersen (1983) (zie paragraaf 6.1.).

Er zijn duidelijke indicaties dat met dit onderzoek de trilhaaractiviteit in een biopsie van een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties op betrouwbare wijze als normaal of als passend bij primaire ciliaire dyskinesie kan worden geclassificeerd (doelstelling 2, paragraaf 6.4.).

De groep van 23 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie wordt nu aangevuld met 4 patiënten die een normale ultrastructuur van de trilharen hebben maar een abnormale trilhaaractiviteit. Primaire ciliaire dyskinesie wordt nu als volgt gedefiniëerd: de aanwezigheid van een dyneïne deficiëntie en/of de aanwezigheid van een abnormale trilhaaractiviteit, met of zonder een situs inversus.

Uit figuur 4 blijkt dat het gebied waarbinnen de waarden van gezonde personen vallen en het gebied waarbinnen de waarden van patiënten met primaire ciliaire dyskinesie vallen duidelijk gescheiden zijn. De waarden van de trilhaaractiviteit bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties worden overeenkomstig gescheiden. Op grond hiervan kan worden gesteld dat het elektronenmicroscopisch onderzoek bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bij wie de totale score van de trilhaaractiviteit (nagenoeg) in het normale gebied valt achterwege kan blijven. Hetzelfde geldt voor patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bij wie de totale score duidelijk in het abnormale gebied valt. Het tijdrovende elektronenmicroscopisch onderzoek kan dan gereserveerd blijven voor patiënten met onverklaarde luchtweginfecties, bij wie de totale score van de trilhaaractiviteit tussen het normale gebied en het abnormale gebied zou blijken te vallen (doelstelling 3, paragraaf 6.4.). In deze studie kwam een dergelijke totale score overigens niet voor. Een zodanige selectie zal een aanzienlijke besparing in tijd en geld opleveren.

Tot slot wordt onderzocht of een aantal afwijkingen die opvielen bij het vergelijkend kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur (hoofdstuk 4)

samengaan met een opvallende trilhaaractiviteit in de biopten. Het gaat hierbij om de volgende biopten:

- 1) biopten waarin veel trilharen een afwijkend axonema met transpositie en een deficiëntie van vooral de binnenste dyneïne armen vertonen
- 2) biopten waarin veel trilharen geen duidelijke centrale schede bezitten
- 3) biopten waarin veel trilharen een desoriëntatie vertonen
- 4) biopten waarin veel trilharen een afwijkend aantal centrale microtubuli bezitten
- 5) biopten waarin veel trilharen incomplete microtubuli vertonen.

- 1) In de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie bevinden zich 3 patiënten met een combinatie ultrastructurele afwijkingen: weinig nexine verbindingen, weinig spaken, veel afwijkende axonemata, veel trilharen met transpositie en een deficiëntie van vooral de binnenste dyneïne armen (zie tabel 11 en paragraaf 4.3.8, hoofdstuk 4). Bij 2 van deze 3 patiënten is de trilhaaractiviteit bestudeerd (tabel 5).

tabel 5. Gemiddelde score van de trilhaaractiviteit per cel bij 2 patiënten met veel afwijkende axonemata en veel transpositie.

	slagfrequentie	coördinatie	amplitude	totale score
patiënt 9	1.3	0.4	0.5	3.4
patiënt 10	1.4	0.0	0.2	2.0

Met de gebruikte methode om de trilhaaractiviteit te beoordelen wordt de abnormale trilhaaractiviteit bij deze patiënten wel onderkend, er zijn echter geen aanwijzingen voor het bestaan van de bijzondere combinatie ultrastructurele afwijkingen.

- 2) In de 3 onderzochte groepen bevinden zich 6 personen bij wie in veel trilharen geen duidelijke centrale schede valt waar te nemen (zie ook figuur 7, hoofdstuk 4). Bij 5 van deze 6 personen is de trilhaaractiviteit bestudeerd (tabel 6).

Het ontbreken van de centrale schede in de trilharen is waarschijnlijk een gevolg van infectie van het trilhaarepitheel (zie paragraaf 4.3.4). Aangenomen mag worden dat de afwezigheid van een centrale schede de activiteit van de trilhaar niet ten goede komt. Desondanks

tabel 6. Gemiddelde score van de trilhaaractiviteit per cel bij 5 personen met veel trilharen zonder een centrale schede.

percentage trilharen zonder centrale schede	slagfrequentie	coördinatie	amplitude	totale score	luchtweg-aandoening
25%	0.3	0.0	0.1	0.6	primaire ciliaire dyskinesie
20%	0.6	0.0	0.0	0.6	primaire ciliaire dyskinesie
20%	2.8	1.9	0.9	8.3	onverklaarde luchtweginfecties
18%	2.2	0.4	0.6	4.6	primaire ciliaire dyskinesie
17%	3.0	1.9	1.0	8.8	geen (gezond)

is het niet mogelijk met de gebruikte scoringsmethode uit de drie onderzochte groepen die personen te selecteren bij wie veel trilharen een centrale schede missen.

- 3) In de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie is het percentage parallel geöriënteerde trilharen significant het kleinst (zie paragraaf 4.3.5). Men kan zich voorstellen dat een desoriëntatie van de trilharen de trilhaaractiviteit nadelig beïnvloedt. Bovendien zal de slechte coördinatie tussen de trilharen een desoriëntatie bevorderen. In tabel 7 wordt de trilhaaractiviteit weergegeven bij de 5 patiënten uit de groep patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie die de slechtste oriëntatie van de trilharen vertonen.

tabel 7. Gemiddelde score voor de trilhaaractiviteit per cel bij 5 patiënten met een slechte oriëntatie van de trilharen.

percentage parallel geöriënteerde trilharen	slagfrequentie	coördinatie	amplitude	totale score
17%	0.6	0.0	0.0	0.6
36%	1.4	0.0	0.2	2.0
38%	2.2	0.4	0.6	4.6
41%	0.8	0.0	0.0	0.8
42%	1.3	0.4	0.5	3.4

Het blijkt niet mogelijk om met de gebruikte scoringsmethode uit de

groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie de patiënten met een opvallend slechte oriëntatie van de trilharen te selecteren.

4) In tabel 8 wordt de trilhaaractiviteit weergegeven van de 5 personen

tabel 8. Gemiddelde score voor de trilhaaractiviteit per cel en een afwijkend aantal centrale microtubuli.

percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli.	slag-frequentie	coördinatie	amplitude	totale score	luchtweg-aandoening
65%	3.0	1.9	1.0	8.8	geen (gezond)
58%	1.5	0.2	0.3	2.7	primaire ciliaire dyskinesie
51%	2.6	0.9	0.8	6.4	onverklaarde luchtweg-infecties
42%	3.0	2.0	1.0	9.0	onverklaarde luchtweg-infecties
40%	2.5	1.7	0.8	7.4	onverklaarde luchtweg-infecties

met het hoogste percentage trilharen met een afwijkend aantal centrale microtubuli.

De betekenis van deze bevindingen wordt na punt 5) besproken.

5) In tabel 9 wordt de trilhaaractiviteit weergegeven van de 5 personen met het hoogste percentage trilharen met incomplete microtubuli. Een afwijkend aantal centrale microtubuli en incomplete microtubuli worden naar alle waarschijnlijkheid veroorzaakt door autolysis van de trilharen. Het is niet waarschijnlijk dat deze afwijkingen de trilhaaractiviteit beïnvloeden. Met behulp van de gebruikte scoringsmethode worden dan ook geen aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van deze veranderingen in biopten van het trilhaarepitheel.

tabel 9. Gemiddelde score voor de trilhaaractiviteit per cel en incomplete microtubuli.

percentage trilharen met incomplete microtubuli	slag-frequentie	coördinatie	amplitude	totale score	luchtweg-aandoening
40%	2.7	1.7	0.8	7.6	onverklaarde luchtweg-infecties
40%	2.7	1.6	0.9	7.8	onverklaarde luchtweg-infecties
35%	3.0	1.9	1.0	8.8	geen (gezond)
30%	3.0	2.0	1.0	9.0	onverklaarde luchtweg-infecties
24%	2.6	1.7	0.9	7.8	geen (gezond)

6.6. REPRODUCEERBAARHEID VAN DE SCORINGSMETHODE^o

6.6.1 Opzet

Om de reproduceerbaarheid van de methode te onderzoeken zijn de videobanden ook door een tweede onderzoeker bestudeerd. Deze onderzoeker was niet op de hoogte van de door de eerste onderzoeker aan de cellen toegekende scores. Wederom werd er "blind" beoordeeld, dat wil zeggen de onderzoeker wist niet of het te bestuderen biopt er één van een gezond persoon of één van een patiënt was. Uiteraard hanteerde de tweede onderzoeker bij de beoordeling van de cellen dezelfde criteria als de eerste onderzoeker.

Vier patiënten uit de groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties zijn aan de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie toegevoegd, vanwege een lage score van de trilhaaractiviteit. Het aantal patiënten met primaire ciliaire dyskinesie bedraagt derhalve 27. Van de 60 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties konden maar bij 55 patiënten de scores van de twee onderzoekers worden vergeleken, omdat 5 scoringslijsten van de tweede onderzoeker niet meer beschikbaar waren.

6.6.2 Methode

De mate van overeenstemming tussen de twee onderzoekers is voor ieder facet van de trilhaaractiviteit en voor ieder van de drie onderzochte groepen in één waarde uitgedrukt. Hierbij is per cel de score van beide onderzoekers vergeleken: er is dus geen rekening gehouden met de verschillende aantallen cellen per persoon. In deze paragraaf wordt aan de hand van een voorbeeld uitgelegd hoe deze waarden worden berekend en hoe zij moeten worden geïnterpreteerd.

Per facet van de trilhaaractiviteit en per onderzochte groep zijn tabellen opgesteld die laten zien hoeveel cellen door de eerste onderzoeker de score X en door de tweede onderzoeker de score Y toegewezen kregen.

^o Dit onderzoek kwam tot stand in samenwerking met J.J.P. Nauta en T.D. Bezemer, afdeling Medische Statistiek, Vrije Universiteit.

Als voorbeeld wordt de tabel weergegeven met de score van de slagfrequentie bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (tabel 10).

tabel 10. Score van de slagfrequentie bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=55) voor totaal 1520 beoordeelde cellen.

TWEEDE ONDER- ZOEKER	EERSTE ONDERZOEKER				
	0	1	2	3	totaal
0	94	0	0	0	94
1	0	36	9	1	46
2	0	31	209	57	297
3	0	0	24	1059	1083
totaal	94	67	242	1117	1520

In de ideale situatie dat de twee onderzoekers voor elke cel tot dezelfde score zouden komen staan op de niet-diagonaalplaatsen uitsluitend nullen. Meestal is dit niet het geval, zo ook in dit voorbeeld.

Omdat niet alle verschillen in score even ernstig zijn worden aan de aantallen in tabel 11 gewichten toegewezen, variërend van 0 voor maximale verschillen tot 1 voor overeenstemming (tabel 11).

tabel 11. De toegewezen gewichten aan de scores van tabel 10.

	0	1	2	3
0	1	2/3	1/3	0
1	2/3	1	2/3	1/3
2	1/3	2/3	1	2/3
3	0	1/3	2/3	1

De gewogen aantallen zijn gesommeerd en vervolgens genormeerd tot een waarde $o(w)$ tussen 0 en 1 door de som te delen door het totale aantal cellen (in dit voorbeeld 1520).

Hoewel deze waarde als een aanduiding voor de mate van overeenstemming kan worden beschouwd - hoe dichter in de buurt van 1, hoe beter de overeenstemming - is zij niet de meest geschikte aanduiding. Deze waarde is te optimistisch: de overeenstemming zal immers voor een deel toeval zijn. Om hiervoor te corrigeren wordt de situatie beschouwd

waarin de toevallige overeenstemming naar verwachting het hoogst zal zijn: als twee onderzoekers de scores volstrekt willekeurig toegekend hebben. De mathematische statistiek leert, dat als de rij- en kolomtotaal bekend zijn, de op grond van deze aanname te verwachten aantallen in de tabel geschat kunnen worden. Met deze geschatte aantallen is op de eerder beschreven wijze een tweede waarde, $c(w)$, berekend. Vervolgens is het volgende quotiënt bepaald:

$$\frac{o(w) - c(w)}{1 - c(w)}$$

Deze grootte wordt de kappa-coëfficiënt genoemd, zij drukt de mate van overeenstemming beter uit dan $o(w)$ (Schouten, 1982). De grootte kan elke waarde tussen -1 en +1 aannemen. In deze studie zijn alleen de positieve waarden van belang. De overeenstemming tussen de twee onderzoekers is uitsluitend toevallig bij een waarde 0, de overeenstemming is volledig bij een waarde +1.

6.6.3 Resultaten en conclusies

De berekende kappa-coëfficiënten voor de 3 facetten van de trilhaaractiviteit bij de 3 onderzochte groepen worden weergegeven in tabel 12.

tabel 12. Kappa-coëfficiënten voor de 3 facetten van de trilhaaractiviteit.

	patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=27)	patiënten met onverklaarde luchtwegin- fecties (n=55)	gezonde personen (n=20)
slagfrequentie	0.86	0.88	0.83
coördinatie	0.58	0.75	0.71
amplitude	0.70	0.75	0.77

De kappa-coëfficiënten zijn hoog, met uitzondering van de coëfficiënt voor de coördinatie van de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie. Dit impliceert dat de mate van overeenstemming tussen de twee onderzoekers goed is. De overeenstemming blijkt het best te zijn bij het beoordelen van de slagfrequentie en het slechtst bij het beoordelen van de coördinatie, met name bij de groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie. Om na te gaan wat de oorzaak is van deze lage waarde (0.58) is naar de bijbehorende tabel gekeken (tabel 13).

tabel 13. Score van de coördinatie bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=27) voor totaal 884 beoordeelde cellen.

TWEDE ONDER- ZOEKER	EERSTE ONDERZOEKER			
	0	1	2	totaal
0	637	20	0	657
1	59	46	4	109
2	26	57	35	118
totaal	722	123	39	884

Uit de tabel blijkt dat de tweede onderzoeker vaker een hogere score toekent. Dit wordt ook in een aantal andere tabellen gezien, zij het in mindere mate. Mogelijk is de overeenstemming te verbeteren door nog scherpere afspraken te maken over de scoring.

Tussen de groep gezonde personen en de groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bestaat een duidelijke overeenkomst wat betreft de kappa-coëfficiënten. De groep patiënten met primaire ciliaire dyskinesie is kennelijk het moeilijkst om te beoordelen.

Wij hebben in deze paragraaf niet alle tabellen opgenomen, als voorbeelden zijn alleen de tabellen met de beste overeenstemming (tabel 10) en met de slechtste overeenstemming (tabel 13) weergegeven.

6.7 CONCLUSIES

Dit onderzoek geeft een duidelijke indicatie dat met de gebruikte methode de trilhaaractiviteit in een biopt van het neusslijmvlies op betrouwbare wijze als normaal of als abnormaal, passend bij primaire ciliaire dyskinesie, kan worden geclassificeerd.

Het elektronenmicroscopisch onderzoek kan gereserveerd blijven voor biopten waarvan de totale score van de trilhaaractiviteit tussen het gebied van gezonde personen en het gebied van patiënten met primaire ciliaire dyskinesie zou blijken te vallen. De grenzen van deze gebieden kunnen met meer zekerheid worden afgebakend naarmate er meer gezonde personen en meer patiënten met primaire ciliaire dyskinesie zijn onderzocht.

Trilharen met een dyneïne deficiëntie vertonen een abnormale activiteit.

Een abnormale activiteit kan ook worden aangetroffen bij trilharen zonder ultrastructurele afwijkingen. Deze trilharen blijken een relatief hoge slagfrequentie te hebben. Overigens worden er bij het scoren van de trilhaaractiviteit geen aanwijzingen gevonden voor andere ultrastructurele afwijkingen dan een dyneïne deficiëntie.

Bij het beoordelen van de trilhaaractiviteit volgens de beschreven methode worden er tussen twee onderzoekers slechts geringe afwijkingen gevonden. De methode is dus reproduceerbaar en generaliseerbaar.

MUCOCILIAIR TRANSPORT IN DE NEUS.

7.1 INLEIDING

In deze studie wordt het mucociliair transport in de neus bepaald. Er is voor de neus gekozen omdat de bestudering van de trilhaaractiviteit en de ultrastructuur van de trilharen eveneens in het neusslijmvlies plaatsvindt. Bovendien is het een eenvoudige methode. Voor de bestudering van het mucociliair transport in de longen via een aërosol heeft men deeltjes nodig met een constante grootte (groter dan 5 micron) en met een stabiele verbinding met een radionuclide, de depositie van de geïnhalerde deeltjes kan bovendien worden beïnvloed door eventuele obstructieve luchtwegaandoeningen. Voor het meten van mucociliair transport in de trachea met een radio-actief harsdeeltje of een teflon-schijfje moet de patiënt een scopie ondergaan (zie ook hoofdstuk 3).

In eerste instantie is getracht het mucociliair transport in de neus te bepalen met methyleen-blauw en/of saccharine. Bij deze methode wordt een druppel van de gebruikte stof op de neusbodem gelegd. Vervolgens wacht men op het moment dat de blauwe kleurstof in de rhinopharynx verschijnt of op het moment dat de onderzochte persoon, na regelmatig slikken, een zoete smaak waarneemt. Deze methode bleek bij een aantal gezonde personen niet te voldoen. Het proeven van de saccharine is subjectief en wordt niet altijd duidelijk aangegeven. De concentratie van saccharine die nodig is om goed te proeven kan een brandende sensatie op het neusslijmvlies geven. Dit laatste is in overeenstemming met de bevindingen van Yergin et al (1978). Om het transport van methyleen-blauw te objectiveren is rhinoscopia posterior noodzakelijk, hetgeen zeker bij kinderen niet altijd lukt.

Wij kozen daarom in deze studie voor een methode met radio-actief materiaal om het nasale mucociliair transport te bepalen.

7.2 DOELSTELLING

Bij een patiënt met onverklaarde luchtweginfecties kan een primaire ciliaire dyskinesie alleen worden vastgesteld door bestudering van de ultrastructuur en/of de activiteit van trilharen in het respiratoir epitheel. Met name het elektronenmicroscopisch onderzoek is zeer arbeidsintensief en duur. Bovendien moet de patiënt een biopsie ondergaan. Het is daarom belangrijk de indicatie tot het verrichten van dit onderzoek zo nauwkeurig mogelijk te stellen. Met de bepaling van het mucociliair transport in de neus wordt getracht criteria vast te stellen waarmee een selectie kan plaatsvinden tussen patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bij wie een biopsie van het slijmvlies moet worden afgenomen en patiënten bij wie een biopsie achterwege kan worden gelaten.

7.3 METHODE

Het mucociliair transport wordt bepaald met colloidaal humaan serum albumine (Albucoll-SCINTIMED^R, gemiddelde diameter van de deeltjes 50 nm, maximale diameter 220 nm), beladen met Technetium-99m (0.5-1.0 mCi/ml). Een druppel van 10-20 microliter (overeenkomend met ± 10 microCi) wordt met behulp van een doseerpipet (quik-set micro/ pettor SMI) onder zicht op de bodem van de neus gedeponneerd, 1 cm achter de kop van de concha inferior. Een kleine bron Technetium (5 microCi, 2 mm $\varnothing$) wordt op de neuspunt en op het mastoid bevestigd. Deze bronnen dienen als referentie-punten. Bij kleine kinderen kunnen de bronnen ook op het voorhoofd en op het achterhoofd worden geplaatst. De patiënt rust met de zijkant van het hoofd tegen een collimator en met behulp van een gamma camera wordt het mucociliair transport in de neus bepaald. In dit onderzoek is met twee systemen gewerkt: Picker Dyna 4 camera, field of view 29 cm, resolutie 0.5 cm, high sensitive collimator, en een Siemens Cardiac camera, field of view 18 cm, resolutie 0.6 cm, low energy all purpose (leap) collimator. De camera wordt afgesteld op de foto-plek van Technetium, met een window van 20%. De verplaatsing van het radio-actieve materiaal wordt visueel gevolgd via de persistence scope, de studie wordt voortijdig afgebroken als de radio-activiteit het palatum molle heeft bereikt. Gedurende het onderzoek mag de patiënt de neus niet "ophalen". De patiënt wordt verzocht

het hoofd zo stil mogelijk te houden en door de mond te ademen. De afstand tussen de twee uitwendige bronnen wordt evenwijdig aan de neusgang gemeten. Data acquisitie vindt plaats met behulp van een dedicated computer systeem, Digital PDP 11-34 of PDP 11-03, matrix 64x64 word mode, 1 frame per minuut, gedurende maximaal 20 minuten. De transportsnelheid kan worden berekend door de verplaatsing van de voorste grens van de radio-activiteit ten opzichte van de bronnen te delen door de benodigde tijd (cm/min) waarbij de afstand tussen de twee uitwendige bronnen als referentie wordt gebruikt. Eventuele bewegingen van het hoofd tijdens het onderzoek kunnen bij het berekenen van de transportsnelheid worden gecorrigeerd door de aanwezigheid van de twee bronnen.

In dit onderzoek is het volgende protocol gevolgd:

- de patiënten worden in een zo rustig mogelijke fase van hun luchtwegaandoening onderzocht
- enkele dagen voor het onderzoek wordt het gebruik van intranasale medicatie gestaakt
- het onderzoek gebeurt voor iedereen omstreeks hetzelfde tijdstip van de dag (15.00-16.00 uur)
- het transport wordt steeds bepaald in de neusgang met de minste obstructie
- de ruimte waarin het onderzoek wordt verricht heeft een constante temperatuur van 23°-25° C en een vochtigheidsgraad van 40%-50%. De patiënt krijgt voldoende gelegenheid te "acclimatiseren" (ongeveer 15 minuten)
- bij een duidelijk waarneembaar transport op de gamma camera wordt het onderzoek niet meer herhaald. Als bij een patiënt de druppel colloid niet duidelijk wordt verplaatst wordt het onderzoek na enkele weken opnieuw verricht. Voor deze patiënt wordt de uitslag van het tweede onderzoek als transportsnelheid aangehouden.

7.4 STRALINGSBELASTING

De hoeveelheid radio-actief materiaal om het mucociliair transport goed te kunnen meten is empirisch vastgesteld op 10 microCi Tc-99m. De stralingsbelasting tijdens dit onderzoek is afhankelijk van de snelheid

van het mucociliair transport en van de halfwaardetijd van het radio-nuclide. Om een indruk van deze stralingsbelasting te krijgen is de volgende proef gedaan.

Een druppel Technetium-oplossing in water (10 microCi) wordt op een stukje filtreerpapier gebracht. Op dit papier heeft de druppel een doorsnede van 5 mm. Na drogen wordt in het midden van het gebied een TLD-chip (thermoluminescentie dosimeter, LiF) bevestigd waarmee de uitgezonden straling na een bepaalde tijd kan worden gemeten. De activiteit op een bepaald tijdstip t (A_t) kan ook worden berekend met behulp van de formule $A_t = A_0 \cdot 2^{-t/t_{1/2}}$ (A_0 is de activiteit op het tijdstip 0, $t_{1/2}$ is de halfwaardetijd van het radionuclide. De halfwaardetijd van Technetium is 6 uur).

Er zijn aan deze proef een aantal onvolkomenheden verbonden:

- er wordt aangenomen dat bij een afwezig mucociliair transport de radio-activiteit in de neus aanwezig blijft totdat de radio-activiteit volledig is vervallen. Dit zal in de praktijk niet het geval zijn omdat door snuiten of "ophalen" de slijmlaag met de radio-activiteit al eerder uit de neus kan worden verwijderd.
- er wordt aangenomen dat de druppel colloid zich op het filtreerpapier verspreidt zoals op het neusslijmvlies. Dit zal niet helemaal het geval zijn.
- de berekende stralingsbelasting geldt voor een stuk epitheel met een diameter van 5 mm, waarbij wordt aangenomen dat de radio-activiteit direct op het epitheel ligt. Dit is niet helemaal juist omdat de meeste radio-activiteit op de slijmlaag blijft drijven, slechts een gering deel diffundeert in de slijmlaag naar het epitheel.
- er wordt aangenomen dat bij aanwezig mucociliair transport de druppel in zijn geheel wordt verplaatst. Een gering deel van het colloid diffundeert echter in de slijmlaag en blijft achter.

Rekening houdend met de beschreven onvolkomenheden kan de stralingsbelasting (mRem) worden berekend als functie van de transport-snelheid. Deze functie wordt weergegeven in figuur 1. Uit de resultaten van deze proef kan worden geconcludeerd dat bij de gebruikte hoeveelheid Technetium een stukje slijmvlies van 5 mm Ø bij een afwezig mucociliair transport maximaal 300 mRem ontvangt. Ter vergelijking, bij een röntgenopname van de neusbijholten ontvangt het hele beeldvlak per

stralings-
belasting (mRem)

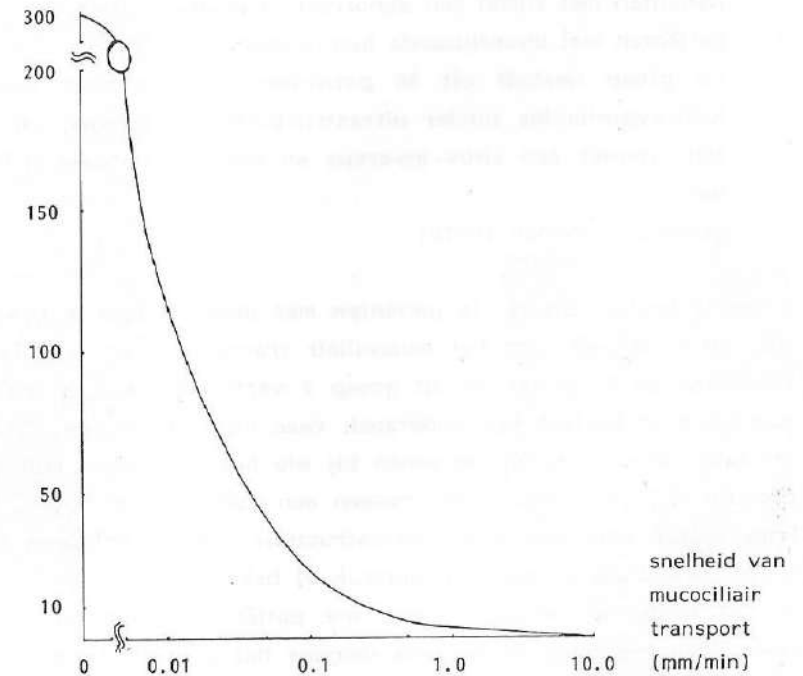


fig 1. Stralingsbelasting en mucociliair transport.

opname 200-300 mRem.

Hoewel deze proef slechts een indruk van de stralingsbelasting geeft lijkt de gebruikte methode hierin acceptabel.

7.5 ONDERZOCHE PERSONEN

In deze studie wordt het nasale mucociliair transport volgens het beschreven protocol (paragraaf 7.3) bepaald bij de volgende groepen:

1. patiënten met primaire ciliaire dyskinesie (n=16)

Deze groep bestaat uit 2 patiënten met een situs inversus + een dyneïne deficiëntie + een abnormale trilhaaractiviteit, 1 patiënt met

- een situs inversus + een abnormale trilhaaractiviteit, 9 patiënten met een dyneïne deficiëntie + een abnormale trilhaaractiviteit en 4 patiënten met alleen een abnormale trilhaaractiviteit.
2. patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (n=46)
De groep bestaat uit 46 patiënten met chronisch recidiverende luchtweginfecties zonder ultrastructurele afwijkingen van de trilharen, zonder een situs inversus en met een normale trilhaaractiviteit.
3. gezonde personen (n=18)

Groep 1 bestaat uit de 16 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie bij wie het onderzoek van het mucociliair transport twee maal kon worden verricht. De 46 patiënten uit groep 2 vertoonden meteen een duidelijk transport òf hebben het onderzoek twee maal ondergaan. Groep 3 bestaat uit al de gezonde personen bij wie het mucociliair transport werd bepaald, zij vertoonden allen meteen een duidelijk transport. Van al de onderzochte personen is de ultrastructuur van de trilharen (hoofdstuk 4) en de trilhaaractiviteit (hoofdstuk 6) bekend.

In dit hoofdstuk worden alleen die patiënten besproken bij wie het mucociliair transport in de neus volgens het protocol is onderzocht. Bij sommige patiënten kon het onderzoek niet worden verricht in verband met de leeftijd (peuters) of een mogelijke zwangerschap. Anderen bleken niet gemotiveerd het onderzoek voor een tweede maal te ondergaan in verband met de reisafstand. Van een aantal patiënten werden bipten van het neusslijmvlies naar ons opgestuurd.

Tussen de onderzochte groepen bestaan geen verschillen in rookgewoontes.

7.6 RESULTATEN

Het nasale mucociliair transport is volgens protocol bepaald bij:

- 16 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie
- 46 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties
- 18 gezonde personen

De berekende kengetallen van de transportsnelheid worden weergegeven in tabel 1.

tabel 1. Snelheid van het mucociliair transport in de neus.

groep	aantal personen	spreads-breedte (cm/min)	mediaan (cm/min)	gemiddelde waarde (cm/min)
patiënten met primaire ciliaire dyskinesie	16	0 - 0.07	0.02	0.02
patiënten met onverklaarbare luchtweginfecties	46	0 - 1.59	0.30	0.38
gezonde personen	18	0.23 - 1.20	0.54	0.59

De gemiddelde waarde van de transportsnelheid wordt hier vermeld om een vergelijking te kunnen maken met de gegevens uit de literatuur. De verdeling van de 3 groepen wordt nog eens weergegeven in figuur 2.

7.7 DISCUSSIE EN CONCLUSIES.

De snelheid van het mucociliair transport in de neus bij de gezonde personen in deze studie heeft een gemiddelde waarde van 0.59 cm/min. Deze waarde komt overeen met de gemiddelde transportsnelheid van kleurstof, saccharine of radio-actieve deeltjes in de neus van gezonde personen (van Ree en van Dishoeck 1962/ Andersen et al 1972-1974/ Proctor en Andersen 1976/ Puchelle et al 1981-1). Alleen Kärjä et al (1982) vinden met radio-actief albumine een hogere waarde (0.90 cm/min).

In de literatuur wordt vermeld dat ook bij gezonde personen niet altijd mucociliair transport in de neus kan worden aangetoond. Dit bleek in onze studie niet het geval: bij alle gezonde personen kon al bij het eerste onderzoek een duidelijk waarneembaar transport worden gezien. Dit kan wellicht worden verklaard door het gevolgde protocol. Het is immers bekend dat een aantal factoren het mucociliair transport in de neus nadelig kunnen beïnvloeden (zie ook hoofdstuk 3):

- luchtweginfecties
- intra-nasaal toegediende medicijnen

nasaal

mucociliair

transport (cm/min)

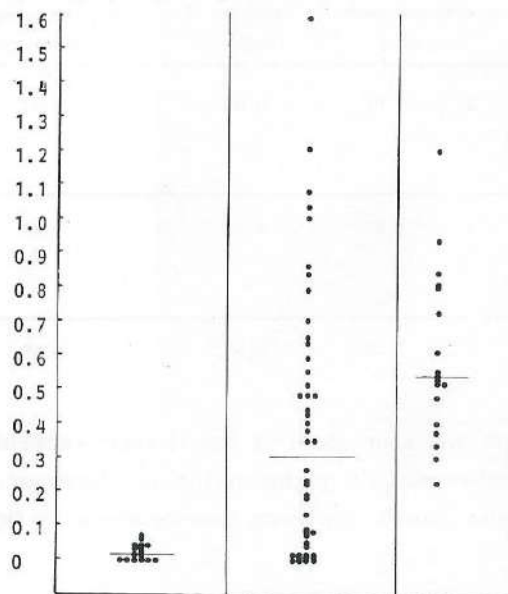


fig 2. Mucociliair transport in de neus (cm/min)

----- = mediaan

onderzochte groepen

patiënten met
Primaire Ciliaire
Dyskinesie
(n = 16)

patiënten met
onverklaarde
luchtweginfecties
(n = 46)

gezonde
personen
(n = 18)

- obstructie van een neusgang door de neuscyclus of door anatomische afwijkingen
- vochtigheid en temperatuur van de ingeademde lucht

Bij het bepalen van het mucociliair transport in de neus volgens ons protocol wordt een mogelijke beïnvloeding door deze factoren zoveel mogelijk voorkomen. Overigens beïnvloeden de meeste van deze factoren het mucociliair transport slechts tijdelijk, het éénmalig aantonen van een abnormaal traag mucociliair transport zegt derhalve niet zoveel.

Bij de 16 patiënten met primaire ciliaire dyskinesie varieert de berekende transportsnelheid van 0 tot 0.07 cm/min, met een gemiddelde waarde van 0.02 cm/min. Bij al deze 16 patiënten is het mucociliair transport tweemaal gemeten. Steeds bleek de transportsnelheid minder dan 0.1 cm/min. Bij 9 andere patiënten met primaire ciliaire dyskinesie, die niet in de resultaten van dit hoofdstuk worden beschreven, kon het mucoci-

liair transport slechts éénmaal worden gemeten; de snelheid varieerde bij deze 9 patiënten van 0 tot 0.08 cm/min, met een gemiddelde waarde van 0.02 cm/min. Bij géén van de patiënten met primaire ciliaire dyskinesie was op de camera een manifeste verplaatsing van het radio-actief colloid zichtbaar, bij de berekening van de transportsnelheid werden steeds waarden gevonden die kleiner zijn dan 0.1 cm/min. Het is de vraag of een zo geringe verplaatsing van het radio-actief colloid niet door luchtstroming tijdens de onbewuste neusademhaling wordt veroorzaakt. Het is onwaarschijnlijk dat een berekende transportsnelheid van 0.1 cm/min of minder effectief is.

Op grond van de bevindingen bij gezonde personen en bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie in deze studie, zoals weergegeven in figuur 2, en rekening houdend met de gegevens uit de literatuur kan de volgende indeling worden gemaakt:

- transportsnelheid ≥ 0.2 cm/min : normaal
- transportsnelheid tussen 0.1 en 0.2 cm/min : dubieus
- transportsnelheid ≤ 0.1 cm/min : abnormaal

Uit dit onderzoek kan de conclusie worden getrokken dat patiënten met luchtweginfecties op basis van een primaire ciliaire dyskinesie (een dyneïne deficiëntie en/of een abnormale trilhaaractiviteit, met of zonder een situs inversus) een abnormaal traag mucociliair transport in de neus vertonen (≤ 0.1 cm/min). Bij de bepaling van het nasale mucociliair transport volgens het gebruikte protocol wordt bij primaire ciliaire dyskinesie geen vals-positieve uitslag verkregen; deze methode kan dus als screeningsmethode dienen: er wordt zo bij primaire ciliaire dyskinesie niet ten onrechte afgezien van een biopsie van het neusslijmvlies.

De groep 46 patiënten met onverklaarde luchtweginfecties (zonder een situs inversus, zonder ultrastructurele afwijkingen van de trilharen, met een normale trilhaaractiviteit) kan nu als volgt worden verdeeld:

- 19 patiënten met een normaal transport bij de eerste meting (41.3%)
- 7 patiënten met een abnormaal traag transport bij de eerste meting en een normaal transport bij de tweede meting (15.2%)
- 3 patiënten met een dubieus normaal transport bij de eerste meting, bij deze patiënten kon het onderzoek helaas niet worden herhaald (6.5%)
- 17 patiënten met een bij herhaling abnormaal traag transport (37%)

In ons onderzoek kan bij ruim een-derde van de patiënten met chro-

nisch recidiverende luchtweginfecties géén nasaal mucociliair transport worden aangetoond, ondanks een normale ultrastructuur en een normale activiteit van de trilharen in het neusslijmvlies. Verlies van trilharen met metaplasie naar plaveiselepitheel en veranderingen in de mucus moeten hiervoor verantwoordelijk worden gesteld. Bij onze groep patiënten met onverklaarde luchtweginfecties zou volgens het protocol bij ruim 56% van een biopsie kunnen worden afgezien.

De meeste patiënten met luchtweginfecties in dit onderzoek werden naar ons verwezen nadat zij elders al uitvoerig waren onderzocht en/of op grond van familie-gegevens. Derhalve kunnen op grond van deze resultaten geen conclusies worden getrokken over de kans dat een abnormaal traag mucociliair transport in de neus wordt veroorzaakt door een primaire ciliaire dyskinesie.

Voor het onderzoek van het mucociliair transport in de neus bij patiënten met onverklaarde luchtweginfecties wordt het volgende protocol voorgesteld:

- 1) de patiënt moet in een zo rustig mogelijke fase van de luchtwegaandoening worden onderzocht
- 2) het gebruik van intra-nasale medicatie moet enkele dagen voor het onderzoek worden gestaakt
- 3) het onderzoek moet zo mogelijk omstreeks hetzelfde tijdstip van de dag geschieden teneinde een storende invloed van de neuscyclus zo veel mogelijk te beperken
- 4) het mucociliair transport wordt bepaald in de neusgang met de minste obstructie
- 5) in de ruimte waarin het onderzoek wordt verricht moet een constante temperatuur (zo mogelijk tussen 23° en 25° C) en een constante vochtigheidsgraad heersen om de uitslagen van de verschillende metingen te kunnen vergelijken. De patiënt moet de gelegenheid krijgen te acclimatiseren.
- 6) bij een normaal transport (≥ 0.2 cm/min), in eerste of in tweede instantie, wordt van een biopsie afgezien
- 7) indien het mucociliair transport bij herhaling een dubieuze waarde vertoont (tussen 0.1 en 0.2 cm/min) moet een biopsie van het slijmvlies worden overwogen
- 8) indien het mucociliair transport bij herhaling abnormaal traag

verloopt (≤ 0.1 cm/min) wordt een biopsie van het slijmvlies afgenomen.

Door de bepaling van het mucociliair transport in de neus, volgens het beschreven protocol en met de gebruikte methode, kan een selectie plaatsvinden tussen patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bij wie een biopsie van het neusslijmvlies moet worden genomen en patiënten met onverklaarde luchtweginfecties bij wie een biopsie achterwege kan worden gelaten (doelstelling van dit onderzoek, paragraaf 7.2)

SAMENVATTING EN BESCHOUWINGEN.

Primaire ciliaire dyskinesie is een aangeboren afwijking waarbij trilharen en spermatozoën niet of afwijkend beweeglijk zijn. De afwijking is voor het eerst beschreven in 1975 bij patiënten met het syndroom van Kartagener: chronische luchtweginfecties, bronchiëctasieën en een situs inversus. Later is gebleken dat ongeveer 50% van alle patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie een situs inversus vertoont. Het overlevingspatroon is waarschijnlijk autosomaal-recessief. Door deze afwijking ontbreekt het mucociliair transport in de luchtwegen en is de fertiliteit van mannelijke patiënten sterk verminderd of afwezig.

Het mucociliair transport is het belangrijkste reinigingsmechanisme van de luchtwegen. De neusbijholten en het middenoor zijn voor een belangrijk deel afhankelijk van het mucociliair transport; in de longen wordt slijm daarnaast ook nog verplaatst door de differentiële luchtstroming tijdens de in- en expiratie. Bij afwezig mucociliair transport hoopt het slijm zich in de luchtwegen op; dit predisponert tot luchtweginfecties en blijvende beschadigingen.

Primaire ciliaire dyskinesie wordt gekenmerkt door een overvloedige productie van slijm in de bovenste en de onderste luchtwegen, reeds optredend tijdens de eerste levensdagen. Er is sprake van chronische en recidiverende rhino-sinusitiden, chronische otitis media serosa en recidiverende pneumonieën; vaak treedt atelectase in de longen op. Na de eerste levensjaren raken de klachten van de bovenste luchtwegen veelal op de achtergrond; er resteert vaak een atelectatisch middenoor met een geleidingsverlies. De longproblemen gaan dan vooral het klinisch beeld bepalen: chronische bronchitis met chronisch obstructieve longafwijkingen en een kans op het ontstaan van emphyseem en bronchiëctasieën.

In deze studie werd onderzoek naar de aanwezigheid van een primaire ciliaire dyskinesie verricht bij patiënten met chronisch recidiverende luchtweginfecties, na uitsluiting van frequenter voorkomende aandoeningen, zoals allergie, mucoviscidose, immuundeficiënties en een α_1 -antitrypsine deficiëntie.

Onderzoek van het respiratoir epitheel met de lichtmicroscop laat bij primaire ciliaire dyskinesie géén specifieke afwijkingen zien. De meeste patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie vertonen echter wel speci-

fieke ultrastructurele veranderingen in de trilharen (hoofdstuk 4). Het gaat hierbij om een tekort aan buitenste dyneïne armen en/of een tekort aan binnenste dyneïne armen. Bij patiënten met een dyneïne deficiëntie zijn in de trilharen minder spaken aanwezig dan bij patiënten zonder een dyneïne deficiëntie. Bij een aantal patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie op basis van een deficiëntie van de binnenste dyneïne armen worden in veel trilharen afwijkende axonemata gezien met transpositie, veroorzaakt door een tekort aan nexine verbindingen en spaken. Een tekort aan dyneïne armen en de betekenis van de besproken afwijkingen kan slechts worden vastgesteld na een vergelijkend kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie, patiënten met andere luchtweginfecties en gezonde personen (hoofdstuk 4). Ultrastructurele afwijkingen zoals een desoriëntatie van de trilharen, een verlies van de centrale schede en het voorkomen van transpositie in enkele trilharen komen bij patiënten met primaire ciliaire dyskinesie wel vaker voor dan bij patiënten met andere luchtweginfecties; deze afwijkingen worden echter veroorzaakt door de infectie van het slijmvlies, ze zijn niet specifiek voor primaire ciliaire dyskinesie. Een aantal patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie vertoont een normale ultrastructuur van de trilharen. Met behulp van het beschreven onderzoek van de ultrastructuur onder de transmissie electronenmicroscopie kunnen richtlijnen worden opgesteld waarmee een primaire ciliaire dyskinesie kan worden vastgesteld.

De scanning electronenmicroscopie blijkt niet van belang bij het vaststellen van een primaire ciliaire dyskinesie (hoofdstuk 5).

Alle patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie hebben een abnormale trilhaaractiviteit. Het blijkt mogelijk een afwijkende trilhaaractiviteit in biopten van het neusslijmvlies vast te stellen met behulp van de semi-kwantitatieve methode, zoals beschreven in dit proefschrift (hoofdstuk 6). Met deze methode wordt een score toegekend aan de slagfrequentie van de trilharen, de coördinatie tussen de trilharen en de amplitude van de trilhaarslag. Voor deze methode is wel enige expertise vereist. De methode blijkt reproduceerbaar en generaliseerbaar.

Het mucociliair transport in de neus is in dit onderzoek bepaald met een druppel radio-actief albumine (hoofdstuk 7). De stralingsbelasting van dit onderzoek blijkt erg laag. De gebruikte methode bezit een hoge sensitiviteit: bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie kan geen

mucociliair transport in de neus worden aangetoond. De methode heeft een geringe specificiteit: bij ruim 1/3 van de patiënten met onverklaarde luchtweginfecties kan geen mucociliair transport in de neus worden aangetoond, ondanks een normale ultrastructuur en een normale activiteit van de trilharen in het neusslijmvlies.

Op basis van de resultaten, beschreven in dit proefschrift, kunnen voor de diagnostiek van een primaire ciliaire dyskinesie de volgende richtlijnen worden opgesteld:

1. de patiënten moeten worden geselecteerd op basis van de anamnese, familiegegevens en voorafgaand onderzoek.
2. met behulp van radio-actief albumine wordt het mucociliair transport in de neus bepaald. Bij een aantoonbaar mucociliair transport in de neus, in eerste of in tweede instantie, is geen primaire ciliaire dyskinesie aanwezig; er kan worden afgezien van biopsie van het slijmvlies.
3. is nasaal mucociliair transport bij herhaling niet aantoonbaar dan wordt een biopt van het neusslijmvlies afgenomen voor een semi-kwantitatieve beoordeling van de trilhaaractiviteit door een ervaren onderzoeker.
4. zou na de beoordeling van de trilhaaractiviteit nog onzekerheid over de diagnose bestaan dan kan kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur met de transmissie electronenmicroscopie worden overwogen.

Het moet worden benadrukt dat bij sommige patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie een volstrekt normale ultrastructuur van de trilharen wordt gevonden. Voor de beschreven diagnostiek kan in principe ook de mucociliaire klaring van de longen en het slijmvlies van trachea of bronchi worden gebruikt.

Bij een aangetoonde primaire ciliaire dyskinesie kunnen blijvende beschadigingen van de luchtwegen worden voorkomen door infecties adequaat te bestrijden en door de afvoer van slijm zo veel mogelijk te bevorderen. Herhaalde paracenteses en kaakspoelingen hebben hier geen zin. Veeleer valt het plaatsen van trommelvliesbuisjes en het aanleggen van een ruime rhino-antrostomie onder de concha inferior te overwegen. Er zijn aanwijzingen dat geluidsgolven met een frequentie van 8 - 20 Hz de verwijdering van slijm uit de neus kunnen bevorderen (George et al 1984). Verwijdering van de abnormale hoeveelheid slijm uit de lagere

luchtwegen kan worden bevorderd door fysiotherapie, houdingsdrainage en een goede hoesttechniek. Periodieke ademhaling via een masker met positieve expiratoire druk (pep) kan hierbij mogelijk een ondersteunende rol spelen (Falk et al 1984, Tønnesen en Støvring 1984). Toediening van ATP en ATPase aan trilhaarepitheel van patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie doet in vitro de activiteit van de trilharen toenemen (Rossman et al 1978, Lewis et al 1983). Het is echter niet bewezen dat de coördinatie tussen trilharen hiermee ook verbetert; mucociliair transport is na toediening van deze pharmaca bij patiënten met een primaire ciliaire dyskinesie nooit aangetoond. Door de verwijdering van slijm zo goed mogelijk te laten verlopen vermindert de kans op luchtweginfecties en kunnen bronchiëctasieën worden voorkomen (Crofton 1966, Michel et al 1976, Gatzemeier en Seidenberg 1984).

SUMMARY.

Primary ciliary dyskinesia is a congenital disorder of cilia and spermatozoa resulting in immobility or abnormal motility. The mode of inheritance probably is autosomal-recessive. As a consequence, the most important clearing mechanism of the respiratory tract, the mucociliary clearance, is lacking. Patients with primary ciliary dyskinesia therefore suffer from chronic recurrent infections of the respiratory tract, starting within the first few days of life. A primary ciliary dyskinesia predisposes to irreversible damage of the respiratory tract like emphysema and bronchiectasis. The development of these disabling changes can be prevented by adequate physiotherapy. An early diagnosis of primary ciliary dyskinesia is therefore important.

In this thesis guide lines are developed by which the existence of primary ciliary dyskinesia can be ascertained through examination of a biopsy of the nasal mucosa.

Most patients with this condition show ultrastructural abnormalities in their cilia as seen with transmission electronmicroscopy. The presence of ultrastructural abnormalities and their specificity for primary ciliary dyskinesia can only be proved by a comparative quantitative investigation of the ultrastructure of cilia in patients with primary ciliary dyskinesia, in patients with respiratory tract infections of unknown etiology and in healthy individuals. In chapter 4 such an investigation is described. After statistical analysis of the results it appears that most patients with primary ciliary dyskinesia have a deficiency of the outer and/or the inner dynein arms. The way to establish such a deficiency is described. In cilia with a dynein deficiency significant less radial spokes can be seen than in cilia without a dynein deficiency. We did not find a difference in the number of nexin links per cilium between patients and healthy individuals. Loss of the central sheath and of the orientation between cilia occur more often in the infected mucosa, most frequently in patients with primary ciliary dyskinesia. Loss of the central sheath and desorientation are not specific for primary ciliary dyskinesia, however, these changes probably are the result of respiratory infections. An abnormal number of central microtubuli and incomplete B-microtubuli result from autolysis of the tissue before fixation starts. We could not find a significant difference in the frequency of

these changes between the infected mucosa and the healthy mucosa. Transposition of a peripheral pair of microtubuli with absence of the central microtubuli can usually be seen in some cilia, more often so in the infected mucosa. Transposition is not a specific feature of primary ciliary dyskinesia. Some patients with a primary ciliary dyskinesia on the basis of an inner dynein arm deficiency however, display a striking high percentage of cilia with a total disfigurement of the axonema and with transposition. Earlier in our investigations these patients proved to have very few nexin links and radial spokes in their cilia. We believe that transposition in a substantial amount can occur only in cilia with a loss of the normal axonemal architecture, caused by a shortage of nexin links and radial spokes. It is only in these cilia that transposition adds with a deficiency of the inner dynein arms to the dyskinesia. Finally, it must be stressed that some patients with a primary ciliary dyskinesia show a complete normal ultrastructure of their cilia.

It appears that scanning electronmicroscopy does not play a substantial role in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia (chapter 5).

All patients with a primary ciliary dyskinesia display an abnormal activity of the cilia in their mucosal biopsies. In this study the ciliary activity in the biopsies was recorded on videotape and thereafter the frequency, the coordination and the amplitude of the ciliary beat were determined with a semi-quantitative method (chapter 6). With this method, for which a certain expertise is required, a clear discrimination between normal and pathological ciliary activity could be established, even in patients with a normal ultrastructure. A rather high degree of interobserver agreement was found.

Mucociliary clearance in the nose was determined with the help of a drop radio-active albumine. The method shows a high sensitivity. In none of the patients with primary ciliary dyskinesia nasal mucociliary clearance could be demonstrated. The specificity on the other hand is rather low. In more than one-third of the patients with respiratory tract infections of unknown etiology no nasal mucociliary clearance could be demonstrated despite normal ciliary activity and normal ciliary ultrastructure. Determination of the nasal mucociliary clearance therefore can serve as a screening method.

On the basis of the results obtained in this study we propose the

following guide lines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia in nasal mucosa:

1. Patients are to be selected on the basis of their medical history and previous investigations.
2. If a normal mucociliary clearance in the nose can be demonstrated there is no primary ciliary dyskinesia and a biopsy of nasal mucosa is therefore not necessary.
3. If nasal mucociliary clearance can not be demonstrated, even after a repeated examination, a biopsy of nasal mucosa should be taken for semi-quantitative examination of ciliary activity.
4. Should the examination of ciliary activity not result in a definitive diagnosis, then a quantitative investigation of the ciliary ultrastructure with transmission electronmicroscopy can be considered.

REFERENTIES.

1. Aarons G.H. en Powell I.J. (1969). *Postgrad. Med. J.* 45: 736-744. The familial occurrence of the Kartagener triad in Jamaica.
2. Adams R. en Churchill E.D. (1937). *J. Thor. Surg.* 7: 206-217. Situs Inversus, sinusitis, bronchiectasis. A report of five cases, including frequency statistics.
3. Afzelius B.A. (1963). *J. Ultrastr. Res.* 9: 381-392. Cilia and flagella that do not conform to the 9+2 pattern. I: Aberrant members within normal populations.
4. Afzelius B.A., Eliasson R., Johnsen Ø. en Lindholmer C. (1975). *J. Cell. Biol.* 66: 225-232. Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa.
5. Afzelius B.A. (1976). *Science* 193: 317-319. A human syndrome caused by immotile cilia.
6. Afzelius B.A. (1977). *New. Engl. J. Med.* 297: 1012. Letter to the Ed.
7. Afzelius B.A. en Camner P. (1978). *Fertil. Steril.* 29: 72-74. On the function of cilia in the female reproductive tract.
8. Afzelius B.A. (1979-I). *Int. Rev. Exp. Pathol.* 19: 1-43. The immotile-cilia syndrome and other ciliary diseases.
9. Afzelius B.A. en Eliasson R. (1979-II). *J. Ultrastr. Res.* 69: 43-52. Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile cilia syndrome.
10. Afzelius B.A. en Mossberg B. (1980-I). *Thorax* 35 ; 6: 401-404. Immotile cilia.
11. Afzelius B.A., Ewetz L., Palmblad J., Uden A.M. en Venizelos N. (1980-II). *Acta Med. Scand.* 208: 145-154. Structure and function of neutrophil leucocytes from patients with the immotile cilia syndrome.
12. Afzelius B.A. (1981-I). *Am. Rev. Resp. Dis.* 124: 107-109. Immotile cilia syndrome and ciliary abnormalities induced by infection and trauma.
13. Afzelius B.A. (1981-II). *Am. J. Hum. Genet.* 33 ; 6: 852-864. Genetical and ultrastructural aspects of the immotile cilia syndrome.
14. Afzelius B.A. (1981-III). Genetic disorders of cilia. In: *International Cell Biology 1980-1981*, 440-447, ed. by Schweiger H.G. Berlin-Heidelberg. Springer-Verlag, 1981.
15. Afzelius B.A. (1982). *Eur. J. Resp. Dis. suppl.* 118: 117-122. Immotile cilia syndrome: ultrastructural features.
16. Afzelius B.A. (1983). *J. Submicr. Cytol.* 15: 111-114. Basal bodies in the immotile-cilia syndrome.
17. Agnew J.E., Bateman J.R.M., Sheahan N.F., Lennard-Jones A.M., Pavia D. en Clarke S.W. (1983). *Bull. Eur. Physiopathol. Resp.* 19: 37-41. Effect of oral corticosteroids on mucus clearance by cough and mucociliary transport in stable asthma.
18. Ahmed T., Greenblatt D.W., Birch S., Marchette B. en Wanner A. (1981). *Am. Rev. Resp. Dis.* 124: 110-114. Abnormal mucociliary transport in allergic patients with antigen-induced bronchospasm: role of slow reacting substance of anaphylaxis.
19. Ahonen A. en Valavirta K. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64: 460-463. Ultrastructure of cilia in pulmonary tuberculosis.
20. Ailsby R.L. en Ghadially F.N. (1973). *J. Pathol.* 109: 75-78. Atypical cilia in human bronchial mucosa.
21. Aimes M.A. (1948). *Presse Méd.* 56: 501. Syndrome de Kartagener.
22. Albegger K.W. (1978). *Laryng. Rhinol.* 57: 395-405. Zilienveränderungen bei chronischer Sinusitis Maxillaris.
23. Albegger K.W. (1979). *Allergologie* 2 ; 3: 95-100. Zur Morphologie des normalen und entzündlich veränderten Filmmerepithels.
24. Allen R.D. (1968). *J. Cell. Biol.* 37: 825-831. A reinvestigation of cross sections of cilia.
25. Amjad H., Richburg F.D. en Adler E. (1974). *JAMA* 227 ; 12: 1420-1422. Kartagener Syndrome. Case report in an elderly man.
26. Andersen I.B., Lundqvist G.R. en Proctor D.F. (1971). *Arch. Environ. Health* 23: 408-420. Human nasal mucosal function in a controlled climate.
27. Andersen I.B., Lundqvist G.R. en Proctor D.F. (1972). *Am. Rev. Resp. Dis.* 106: 438-449. Human nasal mucosal function under four controlled hu-

- midities.
28. Andersen I.B., Lundqvist G.R., Jensen P.L. en Proctor D.F. (1974-I). Arch. Environ. Health 28: 31-39. Human response to controlled levels of sulphur dioxide.
 29. Andersen I.B., Camner P., Jensen P.L., Philipson K. en Proctor D.F. (1974-II). Am. Rev. Resp. Dis. 110: 301-305. Nasal clearance in monozygotic twins.
 30. Andersen I.B. en Camner P. (1974-III). Arch. Environ. Health 29: 290-293. A comparison of nasal and tracheobronchial clearance.
 31. Antonelli M., Modesti A., Angelis M. de, Marcolini P., Lucarelli N. en Crifio S. (1981). Acta Paediatr. Scand. 70: 571-573. Immobile cilia syndrome: radial spokes deficiency in a patient with Kartagener's triad.
 32. Arden G.B. en Fox B. (1979). Nature 279: 534-536. Increased incidence of abnormal nasal cilia in patient with retinitis pigmentosa.
 33. Arge E. (1960) Lancet 1: 412-414. Transposition of the viscera and sterility in men.
 34. Armitage P. (1971). Statistical methods in medical research. Blackwell Sci. Publ. Oxford.
 35. As A. van (1974). Respiration 31: 146-151. The role of selective B_2 -adrenoceptor stimulants in the control of ciliary activity.
 36. As A. van (1980). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. III: 21-24. Pulmonary airway defence mechanisms: an appreciation of integrated mucociliary activity.
 37. As A. van (1982-I). Am. Rev. Resp. Dis. 125 ; 2: 269. Immobile cilia syndrome? (letter).
 38. As A. van (1982-II). Adv. Esp. Med. Biol. 144: 417-418. Regional variations of mucus clearance in normal and in bronchitic mammalian airways.
 39. Baan S. van der, Feenstra L., Weltevreden E., Leene W. en Veerman A.J.P. (1981). Prog. Resp. Res. 17: 187-189. Kartagener's syndrome: different basic defects in cilia?
 40. Baan S. van der, Veerman A.J.P., Weltevreden E. en Feenstra L. (1982). Ned. Tijdschr. Geneesk. 126 ; 52: 2376-2379. Primaire ciliaire dyskinesie: trilhaaractiviteit en ultrastructuur bij 11 patienten met het syndroom van Kartagener.
 41. Baan S. van der, Veerman A.J.P., Weltevreden E. en Feenstra L. (1983). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl. 127: 91-95. Kartagener's syndrome: clinical symptoms and laboratory studies.
 42. Baccetti B., Burrini A., Pallini V., Renieri T., Rosatie F. en Menchini Fabris G.F. (1975). J. Submicr. Cytol. 7: 349-359. The short-tailed human spermatozoa. Ultrastructural alterations and dynein absence.
 43. Baccetti B., Burrini A. en Pallini V. (1980). Andrologia 12 ; 6: 525-532. Spermatozoa and cilia lacking axoneme in an infertile man.
 44. Baker N.R. (1982). Can. J. Microbiol. 28 ; 2: 248-255. Role of exotoxin A and proteases of pseudomonas aeruginosa in respiratory tract infections.
 45. Baldetorp L., Huberman D., Hakansson C.H. en Toremalm N.G. (1976). Acta Radiol. Ther. Physiol. Biol. 15: 225-232. Effects of ionizing radiation on the activity of the ciliated epithelium of the trachea.
 46. Baldetorp L., Mecklenburg C. von en Hakansson C.H. (1977). Cell. Tis. Res. 180: 421-431. Ultrastructural alterations in ciliary cells exposed to ionizing radiation. A scanning and transmission electron microscopic study.
 47. Ballenger J.J. (1981). Laryngoscope 91 ; 10: 1622-1626. Some effects of the respired environment on the nose.
 48. Barber V.C. en Boyde A. (1968). Ztschr. Zellforsch. 84: 269-284. Scanning electron microscopic studies of cilia.
 49. Barlow D.I. en Sleigh M.A. (1979). J. Microsc. 115: 81-95. Freeze substitution for preservation of ciliated surfaces for scanning electron microscopy.
 50. Bateman J.R.M., Daunt K.M., Newman S.P., Pavia D. en Clarke S.W. (1979). Lancet febr. 10: 294-297. Regional lung clearance of excessive bronchial secretions during chest physiotherapy in patients with stable chronic airways obstruction.
 51. Bateman J.R.M., Pavia D., Sheahan N.F., Agnew J.E. en Clarke S.W. (1983). Thorax 38: 463-467. Impaired tracheobronchial clearance in patients with mild stable asthma.
 52. Baum G.L., Roth Y., Teichtahl H., Aharonson E. en Priel Z. (1982). Am. Rev. Resp. Dis. suppl. 125: 244. Ciliary beat frequency of respiratory mucosal cells: comparison of nasal and tracheal sampling sites.
 53. Baur P.S., Brinkley B.R. en Bowman B.H. (1976). Tex. Rep. Biol. Med. 34; 1: 155-174. Effects of cystic fibrosis serum ciliary inhibitor on oyster gill ultrastructure: analysis by scanning and transmission electron microscopy.
 54. Becker B., Morgenroth K., Reinhardt D. en Irlich G. (1984). Respiration 46: 180-186. The dyskinetic cilia syndrome in childhood. Modifications of ultrastructural patterns.
 55. Behrmann A. (1935). Beitr. Klin. Tub. 86: 161. Ueber die Symptomentrias Situs Inversus, Bronchiectasien und Polyposis Nasi.
 56. Belson T.P. (1983). Laryngoscope 93: 549-555. Cuff induced tracheal injury in dogs following prolonged intubation.
 56. Bergstrom W.H., Cook C.D., Scannell J. en Berenberg W. (1950). Pediatrics 6: 573-580. Situs inversus, bronchiectasis and sinusitis, report of a family with two cases of Kartagener's triad and two additional cases of bronchiectasis among six siblings.
 57. Bertrand B. en Reepinghen-Degen A. van (1981). Acta Oto-rhino-laryng. Belg. 35: 139-147. Cils et pathologie ciliaire. Images en microscopie électronique.
 58. Black A., Evans J.C., Hadfield E.H., Macbeth R.G., Morgan A en Walsh M. (1974). Br. J. Industr. Med. 31: 10-17. Impairment of nasal mucociliary clearance in woodworkers in the furniture industry.
 59. Blair A.M.J.N. en Woods A. (1969). Br. J. Pharm. 35: 379-380. The effects of isoprenaline, atropine and disodium cromoglycate on ciliary motility and mucous flow measured in vivo in cats.
 60. Blitzer M.G. en Shapira E. (1982). Pediatr. Res. 16 ; 3: 203-208. A purified serum glycopeptide from controls and cystic fibrosis patients. I. Comparison of their mucociliary activity on rabbit tracheal explants.
 61. Bloom W. en Fawcett D.W. (1970). A textbook of histology W.B. Saunders Comp. Philadelphia.
 62. Bornens M. (1983). J. Submicr. Cytol. 15: 289-294. Radial-spoke system and bending production: a plausible mechanism.
 63. Bowman B.H., Lankford B.J., Fuller G.M., Carson S.D., Kurosky A. en Barnett D.R. (1975). Biochem. Biophys. Res. Comm. 64 ; 4: 1310-1315. Cystic fibrosis: the ciliary inhibitor is a small polypeptide associated with immunoglobulin G.
 64. Bowman B.H., Barnett D.R., Carson S.D. en McNeely M.C. (1980). Fed. Proc. 39; 14: 3195-3200. Studies of cystic fibrosis utilizing mucociliary activity in oyster gills.
 65. Boysen M. (1982). Virchows Arch. (Cell. Pathol.) 40: 279-294. The surface structure of the human nasal mucosa. 1: ciliated and metaplastic epithelium in normal individuals.
 66. Brown N.M. en Smith A.N. (1959). Br. Med. J. 17 October. Kartagener's syndrome with fibrocystic disease.
 67. Bryan J.H.D. (1983). Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 399: 265-275. The immobile cilia syndrome. Mice versus man.
 68. Brunell R.H. en Robertson E.F. (1974). Am. J. Dis. Child. 127: 746-747. Cystic fibrosis in a patient with Kartagener syndrome.
 69. Caleb M., Lecks H., South M.A. en Norman M.E. (1977). New Engl. J. Med. 297: 1012-1013. Letter to the Ed.
 70. Camner P. (1971). Environ. Physiol. 1: 137-154. The production and use of test aerosols for studies of human tracheobronchial clearance.
 71. Camner P., Philipson K. en Friberg L. (1972). Arch. Environ. Health 24: 82-87. Tracheobronchial clearance in twins.
 72. Camner P., Mossberg B. en Philipson K. (1973-I). Scand. J. Resp. Dis. 54: 272-281. Tracheobronchial clearance and chronic obstructive lung disease.
 73. Camner P., Jarstrand C. en Philipson K. (1973-II). Am. Rev. Resp. Dis. 108: 131-135. Tracheobronchial clearance in patients with influenza.
 74. Camner P., Philipson K. en Arvidsson T. (1973-III). Arch. Environ. Health 26: 90. Withdrawal of cigarette smoking.
 75. Camner P., Strandberg K. en Philipson K. (1974). Arch. Environ. Health 29: 220-224. Increased mucociliary transport by cholinergic stimulation.

76. Camner P., Mossberg B. en Afzelius B.A. (1975). *Am. Rev. resp. Dis.* 112: 807-809. Evidence of congenitally nonfunctioning cilia in the tracheobronchial tract in two subjects.
77. Camner P., Strandberg K. en Philipson K. (1976). *Arch. Environ. Health* 39: 79-82. Increased mucociliary transport by adrenergic stimulation.
78. Camner P., Afzelius B.A., Eliasson R. en Mossberg B. (1979). *Int. J. Androl.* 2: 211-224. Relation between abnormalities of human sperm flagella and respiratory tract disease.
79. Camner P., Mossberg B. en Afzelius B.A. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl. 127: 57-63. Measurements of tracheo-bronchial clearance in patients with immotile-cilia syndrome and its value in differential diagnosis.
80. Capeder J., Mueller W., Dalquen P. en Campana A. (1982). *Dtsch. Med. Wochenschr.* 107: 1635-1639. Kartagener-Syndrom. Ein Beitrag zur Pathogenese und Therapie.
81. Caplan S.M. (1946). *Nav. Med. Bull.* 46 ; 7: 1011-1016. Dextrocardia with situs inversus. Report of eight cases with a review of the literature on dextrocardia.
82. Cavaliere F., Schiavello R., Masieri S. en Passali D. (1983). *Acta Anaesth. Belg.* 34: 33-39. Mucociliary flow in the nose during general and epidural anaesthesia.
83. Ceasay S.M., Melville G.N., Mills J.L. en Wray S.R. (1983). *Respiration* 44: 184-188. Comparative observations of mucus transport velocity in health and diseases.
84. Chao J., Turner J.A.P. en Sturgess J.M. (1982). *Am. Rev. Resp. Dis.* 126: 302-305. Genetic heterogeneity of dynein-deficiency in cilia from patients with respiratory disease.
85. Cheung A.T.W. en Jahn T.L. (1976-I). *Pediatr. Res.* 10: 140-144. High speed cinemicrographic studies on rabbit tracheal (ciliated) epithelia: determination of the beat pattern of tracheal cilia.
86. Cheung A.T.W. en Jahn T.L. (1976-II). *Pediatr. Res.* 10: 144-147. High speed cinemicrographic studies on rabbit tracheal (ciliated) epithelia: cytolytic effect of cystic fibrosis serum on tracheal epithelial cells.
87. Churchill E.D. (1949). *J. Thor. Surg.* 18: 279-293. The segmental and lobular physiology and pathology of the lung.
88. Clarke S.W., Thomson M.L. en Pavia D. (1980-I). *Eur. J. Resp. Dis.* 61 suppl. 110: 179-191. Effect of mucolytic and expectorant drugs on tracheo-bronchial clearance in chronic bronchitis.
89. Clarke S.W. en Pavia D. (1980-II). *Br. J. Clin. Pharm.* 9: 537-546. Lung mucus production and mucociliary clearance: methods of assessment.
90. Cockayne E.A. (1938). *Quat. J. Med.* 7: 479-493. The genetics of transposition of the viscera.
91. Conover J.H., Bonforte R.J., Hathaway P., Paciuc S., Conod E.J., Hirschhorn K. en Kopel F.B. (1973-I). *Pediatr. Res.* 7: 220-223. Studies on ciliary dyskinesia factor in cystic fibrosis. I: Bioassay and heterozygote detection in serum.
92. Conover J.H., Conod E.J. en Hirschhorn K. (1973-II). *Lancet*: 1194. Ciliary-dyskinesia factor in immunological and pulmonary disease.
93. Conway B.J. (1951). *Arch. Dis. Childh.* 26: 253. A congenital factor in bronchiectasis.
94. Cook C.D., Geller F., Hutchison G.B., Gerald P. en Allen F.H. (1962). *Am. J. Hum. Genet.* 14: 290-294. Blood grouping in three families with Kartagener's syndrome.
95. Corbeel L., Cornillie F., Lauweryns J. en Berghe C. van den (1981). *Arch. Dis. Childh.* 56: 929-933. Ultrastructural abnormalities of bronchial cilia in children with recurrent airway infections and bronchiectasis.
96. Corkey C.W.B., Levison H. en Turner J.A.P. (1981). *Am. Rev. Resp. Dis.* 124: 544-548. The immotile cilia syndrome. A longitudinal survey.
97. Corkey C.W.B., Minta J.O., Turner J.A.P. en Biggar W.D. (1982). *J. Lab. Clin. Med.* 99 ; 6: 838-844. Neutrophil function in the immotile cilia syndrome.
98. Crofton J. (1966). *Br. Med. J.* 26: 783-785. Bronchiectasis. Treatment and prevention.
99. Cutz E., Levison H. en Cooper D.M. (1978). *Histopathology* 2: 407-421. Ultrastructure of airways in children with asthma.
100. Dahlgren S.E., Dalen H. en Dalhamn T. (1972). *Virchows Arch. (Cell. Pathol.)* 11: 211-223. Ultrastructural observations on chemically induced inflammation in guinea pig trachea.
101. Dalhamn T. en Rylander R. (1962). *Nature* 196: 592-593. Frequency of ciliary beat measured with a photo-sensitive cell.
102. Denny F.W. (1974). *J. Infect. Dis.* 192 ; 2: 93-100. Effect of a toxin produced by haemophilus influenzae on ciliated respiratory epithelium.
103. Dickey L.B. (1953). *Dis. Chest* 23: 657-666. Kartagener's syndrome in children.
104. Divekar M.V. (1956) *Ind. J. Med. Sci.* 10: 102-113. Kartagener's syndrome.
105. Donk H.J.M. van de (1982). Nasal medication and ciliary movement. *Ac. Proefschrift, Amsterdam.*
106. Dreislin R.B. en Mostow S.R. (1979). *J. Lab. Clin. Med.* 93: 674-678. Sulfhydryl-mediated depression of ciliary activity: an adverse effect of acetylcysteine.
107. Dudley J.P. en Cherry J.D. (1977). *Pediatr. Res.* 11: 904-906. The effect of mucolytic agents and topical decongestants on the ciliary activity of chicken tracheal organ cultures.
108. Dudley J.P. en Cherry J.D. (1978-I). *Laryngoscope* 88: 110-116. Effects of topical nasal decongestants on the cilia of a chicken embryo tracheal organ culture system.
109. Dudley J.P. en Cherry J.D. (1978-II). *Ann. Otol.* 87: 533-537. Effect of topical anesthetics on ciliary activity of chicken embryo tracheal organ cultures. Study using total immersion and intratracheal injection.
110. Dudley J.P. en Cherry J.D. (1980). *Otolaryng. Head Neck Surg.* 88: 439-441. Scanning electron microscopic demonstration of goblet cell discharge and mucous layer on nasal ciliated respiratory epithelium.
111. Dulfano M.J., Luk C.K., Beckage M. en Wooten O. (1982-I). *Clin. Sci.* 63: 393-396. Ciliary inhibitory effects of asthma patients' sputum.
112. Dulfano M.J. en Luk C.K. (1982-II). *Thorax* 37: 646-651. Sputum and ciliary inhibition in asthma.
113. Eckert R. en Murakami A. (1972). *J. Physiol.* 226: 699-711. Calcium dependence of ciliary activity in the oviduct of the salamander neoturus.
114. Eliasson R., Mossberg B., Camner P. en Afzelius B.A. (1977). *New Engl. J. Med.* 297 ; 1: 1-6. The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility.
115. Elverland H.H. (1979). *Acta Otolaryng. suppl.* 360: 129-130. Kartagener's syndrome: a reappraisal.
116. Elwany S., Talaat M. en Helmy A. (1983). *J. Laryng. Otol.* 97: 165-176. Allergic nasal mucosa following topical treatment with beclomethasone dipropionate aerosol.
117. Erasmus L.D. (1952). *S. Afr. Med. J.* 26: 429-433. Situs inversus viscerum and bronchiectasis.
118. Ernstson S., Afzelius B.A. en Mossberg B. (1984). *Acta Otolaryng.* 97: 83-92. Otolgic manifestations of the immotile-cilia syndrome.
119. Ewert G. (1965). *Acta Otolaryng. suppl.* 200: 1-62. On the mucus flow rate in the human nose.
120. Ewert G. (1967). *Ann. Otol.* 76: 359-368. The effect of two topical anesthetic drugs on the mucus flow in the respiratory tract.
121. Falk M., Kelstrup M., Andersen J.B., Kinoshita T., Falk P., Støvring S. en Gøthgen I. (1984). *Eur. J. Resp. Dis.* 65: 423-432. Improving the ketchup bottle method with positive expiratory pressure, PEP, in cystic fibrosis.
122. Fawcett D.W. en Porter K.R. (1954). *J. Morph.* 94 ; 2: 221-281. A study of the fine structure of ciliated epithelia.
123. Fawcett D.W. (1954). *Laryngoscope* 64: 557-567. The study of epithelial cilia and sperm flagella with the electron microscope.
124. Fischer L., Burri P.H., Bauer W., Kraemer R. en Sauter K. (1984). *Schweiz. Med. Wochenschr.* 114: 610-619. Wie nützlich ist die Untersuchung der Zilienultrastruktur des Respirationstraktes zur Diagnose eines 'Immotile cilia' Syndroms?

125. Fonzi L., Lungarella G. en Palatresi R. (1982). *Eur. J. resp. Dis.* 63: 558-563. Lack of kinocilia in the nasal mucosa in the immotile-cilia syndrome.
126. Forbes A.R. (1976). *Anesthesiology* 45: 59-63. Halothane depresses mucociliary flow in the trachea.
127. Forbes A.R. en Horrigan R.W. (1977). *Anesthesiology* 46: 319-321. Mucociliary flow in the trachea during anesthesia with enflurane, ether, nitrous oxide and morphine.
128. Forrest J.B., Rossman C.M., Newhous M.T. en Ruffin R. (1979). *Am. Rev. Resp. Dis.* 120: 511-515. Activation of nasal cilia in immotile cilia syndrome.
129. Foster W.M., Langenback E. en Bergofsky E.H. (1980). *J. Appl. Physiol.* 48: 965-971. Measurement of tracheal and bronchial mucus velocities in man: relation to lung clearance.
130. Foster W.M., Langenback E. en Bergofsky E.H. (1981). *Chest* 80 suppl. 6: 877-880. Respiratory drugs influence lung mucociliary clearance in central and peripheral ciliated airways.
131. Foster W.M., Langenback E., Glaser M.L. en Bergofsky E.H. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl.: 554-557. Acute effect of ipratropium bromide at therapeutic dose on mucus transport of adult asthmatics.
132. Fox B. en Bull T.B. (1979). *J. Clin. Pathol.* 9. Electron microscopic structure of human cilia: what is normal?
133. Fox B., Bull T.B. en Arden G.B. (1980). *J. Clin. Pathol.* 33: 327-335. Variations in the ultrastructure of human nasal cilia including abnormalities found in retinitis pigmentosa.
134. Fox B., Bull T.B., Makey A.R. en Rawbone R. (1981). *Chest* 80 suppl.: 796-799. The significance of ultrastructural abnormalities of human cilia.
135. Fox B., Bull T.B. en Oliver T.N. (1983). *Eur. J. Resp. Dis* 64 suppl. 127: 11-18. The distribution and assessment of electron-microscopic abnormalities of human cilia.
136. Friedmann I. en Bird E.S. (1971). *Laryngoscope* 81: 1852-1868. Ciliary structure, ciliogenesis, microvilli. Electron microscopy of the mucosa of the upper respiratory tract.
137. Fujiwara K., Hakansson C.H. en Toremalm N.G. (1972). *Acta Radiol. Ther. Physiol. Biol.* 11 ; 6: 513-520. Influence of ionizing radiation on ciliary cell activity in the respiratory tract.
138. Gabridge M.G., Gunderson H., Schaeffer S.L. en Barden-Stahl Y.D. (1978). *Infect. Immun.* 21: 333-336. Ciliated respiratory epithelial monolayers: new model for mycoplasma pneumoniae infection.
139. Gabridge M.G., Dougherty E.P., Gladd M.F. en Meccoli R.A. (1982). *In Vitro* 18: 1023-1032. Effects of heavy metals on structure, function and metabolism of ciliated respiratory epithelium in vitro.
140. Gans E.H., Efraim K.H. en Hoekstra A. (1981). *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 125 ; 14: 567. Longonderzoek met radioactieve aerosolen.
141. Gatzemeier U. en Seidenberg J. (1983). *Mschr. Kinderheilk.* 131 ; 1: 42-44. Bronchiektasen bei Kartagener-Syndrom. Indikation zur Operation?
142. George R.J.D., Moore-Gillon V. en Geddes D.M. (1984). *Lancet* juli 7: 10-12. High frequency oscillations improve nasal mucociliary transport.
143. Gerald P.S., Schuster S.R., Ruckman R.N. en Schneeberger E.E. (1978). *Pediatr. Res.* 12: 515. Ciliary morphology and cardiac malrotation.
144. Gerrity T.R., Cotromanes E., Garrard C.S., Yeates D.B. en Lourenco R.V. (1983). *New Engl. J. Med.* 308: 139-141. The effect of aspirin on lung mucociliary clearance.
145. Gibbons I.R. en Rowe A.J. (1965). *Science* 149: 424-426. Dynein: a protein with adenosine triphosphatase activity from cilia.
146. Gibbons B.H. en Gibbons I.R. (1973). *J. Cell. Sci.* 13: 337-357. The effect of partial extraction of dynein arms on the movement of reactivated sea-urchin sperm.
147. Gibbons I.R. (1982). *Prog. Clin. Biol. Res.* 80: 87-93. Dynein ATPases.
148. Gibney R.T.N. en Herbert F.A. (1980). *J. Ir. Med. Assoc.* 73: 87-90. Kartagener's syndrome: abnormal ciliary ultrastructure in sibs.
149. Ginzel A. en Illum P. (1980). *Rhinology* 18: 177-181. Nasal mucociliary clearance in patients with septal deviation.
150. Ginzel A. en Illum P. (1981). *HNO-Prax.* 6 ; 1: 31-37. Messung des Schleimtransportes in der Nase an Gesunden und im Anschluss an eine Erkältung mittels des Saccharin-sky-blue-Tests.
151. Gonzales Pineda R. (1981). *Bull. Med. Hosp. Infant. Mex.* 38 ; 5: 793-806. Kartagener's syndrome. Review of the literature and report of 4 cases in 3 families.
152. Goodenough U.W. en Heuser J.E. (1982). *J. Cell. Biol.* 95 ; 3: 798-815. Substructure of the outer dynein arm.
153. Goodman R.M., Yergin B.M., Landa J.F., Colinviaux M.H. en Sackner M.A. (1978). *Am. Rev. Resp. Dis.* 117: 205-214. Relationship of smoking history and pulmonary function tests to tracheal mucous velocity in non-smokers, young smokers, ex-smokers and patients with chronic bronchitis.
154. Gould D.M. (1945). *JAMA* 753: 127. Nontuberculous lesions found in mass x-ray surveys.
155. Greenstone M., Stanley P., MacWilliam L., Dewar A., Cox T., MacKay I. en Cole P.J. (1983-I). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl.: 457-459. Mucociliary function and ciliary ultrastructure in patients presenting with rhinitis to Brompton Hospital Nose Clinic.
156. Greenstone M., Cooper P., Warner J. en Cole P.J. (1983-II). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl.: 449-450. Effect of acute antigenic challenge on nasal ciliary beat frequency.
157. Greenwood M. en Holland P. (1972). *Lab. Invest.* 27: 296-304. The mammalian respiratory tract surface. A scanning electron microscopic study.
158. Guenther H. (1923). *Biol. Zentralbl.* 43: 175. Die biologische Bedeutung der Inversionen.
159. Guerrant J.L., Douty T., Tegtmeyer C. en Jahrsdoerfer R.A. (1978). *New Engl. J. Med.* 298: 282. Bronchiectasis in the immotile-cilia syndrome.
160. Guiliem R., Morcellet J.L., Riu R., Renon P., Badre R. en Hee J. (1971). *Ann. Oto-Laryng.* (Paris) 88: 303-310. Etude du drainage mucociliaire nasal chez l'homme par scintigraphies séquentielles d'une particule au Technetium 99m.
161. Gunnarsson M., Hybbinette J.C. en Mercke U. (1984). *Rhinology* 22: 223-231. Mucolytic agents and mucociliary activity.
162. Handelsman D.J., Conway A.J., Boylan L.M. en Turtle J.R. (1984). *New Engl. J. Med.* 310: 3-9. Obstructive azoospermia and chronic sinopulmonary infections.
163. Harris C.C. (1974). *J. Pathol.* 114: 17-19. Atypical cilia in the tracheo-bronchial epithelium of the hamster during respiratory carcinogenesis.
164. Hausmann K. en Fischer-Defoy D. (1978). *Cell. Biol. Int. Rep.* 2 ; 5: 475-478. Unequal ending of the central microtubules at the axosome in the cilia of ciliates.
165. Hayashi M. en Huber C.L. (1980). *Semin. Resp. Med.* 1 ; 3: 233-239. Airway defenses.
166. Hendry W.F., Whitfield H.N., Stansfeld A.G., Pryse-Davies J., Ryder T.A., Knight R.K., Pavia D., Bateman J.R.M. en Clarke S.W. (1978). *Lancet* 11: 1152. Defects in Young syndrome and Kartagener's syndrome.
167. Herzon F.S. en Murphy S. (1980). *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 89: 81-83. Normal ciliary ultrastructure in children with Kartagener's syndrome.
168. Herzon F.S. (1981). *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 90 suppl. 83 ; 3: 2. Upper respiratory tract ciliary ultrastructural pathology.
169. Herzon F.S. (1983). *Laryngoscope* 93: 63-67. Nasal ciliary structural pathology.
170. Hilding A. (1931). *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 6: 258-287. Ciliary activity and course of secretion currents in the nose.
171. Hilding A. (1932). *Arch. Otolaryng.* 15: 157-166. The physiology of drainage of nasal mucus.
172. Hilding D.A. en Hilding A.C. (1966). *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 75: 281-294. Ultrastructure of tracheal cilia and cells during regeneration.
173. Hilding D.A. en Heywood P. (1971). *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 80: 206-312. Ultrastructure of middle ear mucosa and organization of ciliary matrix.
174. Holmes L.B., Blennerhassett J.B. en Austen K.F. (1968). *Am. J. Med. Sci.* 255: 13-28. A reappraisal of Kartagener's syndrome.
175. Howell J.T., Schochet S.S. en Goldman A.S. (1980). *Arch. Pathol. Lab.*

- Med. 104: 52-55. Ultrastructural defects of respiratory tract cilia associated with chronic infections.
176. Hybbinette J.C. en Mercke U. (1982-I). *Acta Otolaryng.* 93: 151-159. A method for evaluating the effect of pharmacological substances on mucociliary activity in vivo.
 177. Hybbinette J.C. en Mercke U. (1982-II). *Acta Otolaryng.* 94: 121-130. Effects of sympathomimetic agonists and antagonists on mucociliary activity.
 178. Hybbinette J.C. en Mercke U. (1982-III). *Acta Otolaryng.* 93 ; 5-6: 465-473. Effects of the parasympathomimetic drug metacholine and its antagonist atropine on mucociliary activity.
 179. Imperato P.J., Palanca L.M. en Fernandez J.P. (1964). *Am. Rev. Resp. Dis.* 90: 111-115. Successful treatment with the mucolytic agent acetylcysteine.
 180. Irander K., Hellquist H.B., Elding Ch. en Odkvist L.M. (1980). *Acta Otolaryng.* 90: 452-459. Upper airway problems in industrial workers exposed to oil mist.
 181. Iravani J. (1968). *Beitr. Klin. Tub.* 138: 313-324. Das Filmmerepithel.
 182. Iravani J. en Melville G.N. (1974). *Respiration* 31: 350-357. Mucociliary function of the respiratory tract as influenced by drugs.
 183. Iravani J. en Melville G.N. (1976). *Pharm. Ther.* (B) 2: 471-492. Mucociliary function in the respiratory tract as influenced by physiochemical factors.
 184. Iravani J. en As. A. van (1972). *J. Pathol.* 106: 81-93. Mucus transport in the tracheobronchial tree of normal and bronchitic rats.
 185. Jahrsdoerfer R., Feldman P.S., Rubel E.W., Guerrant J.L., Eggleston P.A. en Selden R.F. (1979). *Laryngoscope* 89: 769-778. Otitis media and the immotile cilia syndrome.
 186. Jarstrand C., Camner P. en Philipson K. (1974). *Am. Rev. Resp. Dis.* 110: 415-419. *Mycoplasma pneumoniae* and tracheobronchial clearance.
 187. Jean Y., Langlais J., Roberts K.D., Chapdelaine A. en Bleau G. (1979). *Fertil. Steril* 31: 349-350. Fertility of a woman with non-functional ciliated cells in the Fallopian tubes.
 188. Jeffery P.K. en Reid L.M. (1976). The respiratory mucous membrane, in: *Respiratory Defense Mechanisms*, part. I: 193-245. Ed. Brain J.D., Proctor D.F., Reid L.M., Marcel dekker inc. New York.
 189. Jonsson M.S., McCormick J.R., Gillies C.G. en Condos B. (1982). *New Engl. J. Med.* 307: 1131-1133. Kartagener's syndrome with motile spermatozoa.
 190. Kärjä J., Nuutinen J. en Karjalainen P. (1982). *Arch. Otolaryng.* 109: 99-101. Radioisotopic method for measurement of nasal mucociliary activity.
 191. Kärjä J., Nuutinen J. en Karjalainen P. (1983). *Acta Otolaryng.* 95: 544-546. Mucociliary function in children with secretory otitis media.
 192. Kartagener M. (1933). *Beitr. Klin. Tub.* 83: 489-501. Zur Pathogenese der Bronchiektasien. 1: Bronchiektasien bei situs viscerum inversus.
 193. Kartagener M. en Horlacher A. (1935-I). *Beitr. Klin. Tub.* 87: 331. Zur pathogenese der Bronchiektasien, situs viscerum inversus und Polyposis nasi in einem Falle familialer Bronchiektasien.
 194. Kartagener M. en Horlacher A. (1935-II). *Schweiz. Med. Wochenschr.* 16: 782. Bronchiektasien bei Situs viscerum inversus.
 195. Kartagener M. en Muellly P. (1956). *Schweiz. Ztschr. Tub.* 13: 166-191. Bronchiektasien bei Situs viscerum inversus.
 196. Kartagener M. en Stucki P. (1962). *Arch. Pediatr.* 79: 193-207. Bronchiectasis with situs inversus.
 197. Katsuhara K., Kawamoto S., Wakabayashi T. en Belsky J.L. (1972). *Chest* 61: 56-61. Situs inversus totalis and Kartagener's syndrome in a Japanese population.
 198. Katz S.M., Damjanov I., Carver J., Spitzer S., Mason D., Kauffman L.A. en Solnick P. (1977). *New Engl. J. Med.* 297: 1011-1013. Kartagener's syndrome and abnormal cilia. Letter to the editor.
 199. Katz S.M. en Holtsclaw D.S. (1980). *Am. J. Clin. Pathol.* 73 ; 5: 682-685. Ultrastructural features of respiratory cilia in cystic fibrosis.
 200. Kautzky A. (1936). *Fortschr. Geb. Roentgenstr.* 54: 219. Neuere Bronchographische Ergebnisse bei Ektasien der Bronchien.
 201. Kawabata I. en Paparella M. (1969). *Acta Otolaryng.* 67: 511-515. Atypical cilia in normal human and guinea pig middle ear mucosa.
 202. Kawabe S., Mine H. en Morikubo H. (1955). *J. Nichidai Igaku* 14: 496. Statistical analysis of heterotaxia, a report of three cases.
 203. Keenan K.P., Wilson T.S. en McDowell E. (1983). *Virchows Arch. (Cell Pathol.)* 43: 213-240. Regeneration of hamster tracheal epithelium after mechanical injury.
 204. Kennedy J.R., Lin K.D. en Duckett K.E. (1982). *Prog. Clin. Biol. Res.* 80: 71-75. Serum complement (C'3a and C'5)- induced inhibition of rabbit tracheal cilia.
 205. Knox C., Murray S. en Strang L. (1960). *Ann. Hum. Genet.* 24: 137-140. A family with Kartagener's syndrome: linkage data.
 206. Knudsen B.B., Valerius N.H. en Pedersen M. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl.: 476-478. Neutrophil function in primary ciliary dyskinesia.
 207. Köhler D., Siebold A., Daikeler G., Fischer J. en Matthijs H. (1982). *Atemw. Lungenkrkh.* 8: 201-204. Einfluss von Carbocystein und Cystanin auf die mukoziliäre clearance der Lunge.
 208. Kollberg H., Mossberg B., Afzelius B.A., Philipson K. en Camner P. (1978). *Scand. J. Resp. Dis.* 59: 297-306. Cystic fibrosis compared with the immotile-cilia syndrome.
 209. Konietzko N., Nakhosteen J.A., Mizera W., Kasperek R. en Hesse H. (1981). *Chest* 80 suppl.: 855-858. Ciliary beat frequency of biopsy samples taken from normal persons and patients with various lung diseases.
 210. Konradova V., Vavrova V., Hlouskova Z., Tomanek A. en Houstek J. (1982). *Eur. J. Resp. Dis.* 63: 516-525. Ultrastructure of bronchial epithelium in children with chronic or recurrent respiratory diseases.
 211. Lake K. en Sharma O.P. (1973). *Chest* 64: 661-663. Kartagener's syndrome and deaf-mutism: an unusual association.
 212. Landä J.F., Epstein S. en Sackner M.A. (1980). *Chest* 77: 452-453. Effects of bronchoscopy on mucociliary transport.
 213. Larsen P. en Tos M. (1982). *Rhinology* 20: 138-143. Development of the ciliary epithelium in the human nose.
 214. Lauque D., Aug F., Puchelle E., Karcher G., Tournier J.M., Bertrand A., Polu J.M. en Sadoul P. (1984). *Bull. Eur. Physiopathol. Resp.* 20: 145-149. Efficacité de la clairance mucociliaire et de la toux chez le bronchitique.
 215. Lenz H. (1972). *Ztschr. Laryng. Rhinol.* 51: 618-632. Die räumliche Darstellung von Zilien der menschlichen Nasenschleimhaut mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskops.
 216. Levison H., Mindorff C.M., Chad J., Turner J.A.P., Sturgess J.M. en Stringer D.A. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl. 127: 102-116. Pathophysiology of the ciliary motility syndromes.
 217. Lewis F.H., Beals T.F., Carey T.E., Baker S.R. en Mathews K.P. (1983). *Chest* 83 ; 3: 487-490. Ultrastructural and functional studies of cilia from patients with asthma, aspirin intolerance and nasal polyps.
 218. Lichtenstein J.R. (1972). *Birth Defects* 8: 223-225. Kartagener syndrome in sibs.
 219. Lim D.J. en Shimada T. (1971). *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 80: 319-329. Secretory activity of normal middle ear epithelium. Scanning and transmission electron microscopic observations.
 220. Lindeboom G.A. (1980). *Ned. Tijdschr. Gen.* 124: 839-841. De ontdekking van het trilhaarepithel door Antonius de Heide (1683).
 221. Lindskog C.E. en Hubbell D.S. (1955). *Surg. Gyn. Obstet.* 100: 643-650. An analysis of 215 cases of bronchiectasis.
 222. Logan W.D., Abbott O.A. en Hatcher C.R. (1965). *Dis. Chest* 48: 613-616. Kartagener's triad.
 223. Lourenco R.V., Loddenkemper R. en Carton R.W. (1972). *Am. Rev. Resp. Dis.* 106: 857-866. Patterns of distribution and clearance of aerosols in patients with bronchiectasis.
 224. Low P.P., Luk C.K., Dulfano M.J. en Finch P.J.P. (1984). *Am. Rev. Resp. Dis.* 130: 497-498. Ciliary beat frequency of human respiratory tract by different sampling techniques.
 225. Lowe C.R. en McKeown T. (1954). *Ann. Eugenet.* 18: 267. An investigation of dextrocardia with and without transposition of abdominal viscera, with report of a case in one monozygotic twin.

226. Lucas A.M. (1933). Arch. Otolaryng. 18: 516-524. Principles underlying ciliary activity in the respiratory tract.
227. Lucas A.M. en Douglas L.C. (1934). Arch. Otolaryng. 20: 518-541. Principles underlying ciliary activity in the respiratory tract.
228. Lungarella G., Fonzi L. en Burrini A.G. (1982). Ultrastr. Pathol. 3: 319-323. Ultrastructural abnormalities in respiratory cilia and sperm tails in a patient with Kartagener's syndrome.
229. Lupin A.J. en Misko G.J. (1978). J. Otolaryng. 7 ; 2: 95-102. Kartagener syndrome with abnormalities of cilia.
230. Machemer H. (1977). Fortschr. Zool. 24: 195-210. Motor activity and bioelectric control of cilia.
231. Mackay I., Stanley P., Greenstone M., Holmes P. en Cole P.J. (1983). J. Laryng. Otol. 97: 925-931. A nose clinic: initial results.
232. Majima Y., Sakakura Y., Matsubara T., Murai S. en Miyoshi Y. (1983). Biorheology 20: 251-262. Mucociliary clearance in chronic sinusitis: related human nasal clearance and in vitro bullfrog palate clearance.
233. Malech H.L., Root R.K. en Gallin J.I. (1976). Fed. Proc. 24: 314A. Centriole, microtubule and microfilament orientation during human polymorphonuclear leucocyte (PMN) chemotaxis (CTX).
234. Malech H.L., Englander L., Zakhireh B., Gallin J. en Root R. (1979). Clin.-Res. 27: 590A. Abnormal polymorphonuclear neutrophil (PMN) function in Kartagener's syndrome (KS).
235. Manawadu B.R., Mostow S.R. en LaForce F.M. (1978). Anesth. Analg. 57: 448-452. Local anesthetics and tracheal ring ciliary activity.
236. Maruyama I., Yamamoto T., Ochi J., Nakai Y. en Yamada S. (1983). Eur. J. Pharm. 90: 325-331. Dopaminergic innervation and inhibition of ciliary movement in the ciliated epithelium of frog palatine mucosa.
237. Maurer D.R., Sielczak M., Oliver W., Abraham W.M. en Wanner A. (1982). J. Appl. Physiol. 52 ; 4: 1018-1023. Role of ciliary motility in acute allergic mucociliary dysfunction.
238. Maurizi M., Paludetti G., Almadori G., Ottaviani F. en Zappone C. (1984). Rhinology 22: 233-240. Ciliary ultrastructure and nasal mucociliary clearance in chronic and allergic rhinitis.
239. Mayo P. en Lexington K. (1961). J. Thor. Cardiovasc. Surg. 42: 39-42. Kartagener's syndrome.
240. McDowell E.M., Barrett L.A., Harris C.C. en Trump B.F. (1976). Arch. Pathol. Lab. Med. 100: 429-436. Abnormal cilia in human bronchial epithelium.
241. Mecklenburg C. von, Mercke U., Hakansson C.H. en Toremalm N.G. (1974). Cell Tiss. Res. 148: 45-46. Morphological changes in ciliary cells due to heat exposure. A scanning electron microscopic study.
242. Melville G.N., Ismail S. en Sealy C. (1980). Respiration 40: 329-336. Tracheobronchial function in health and disease. Effect of mucolytic substances.
243. Mercke U., Hakansson C.H. en Toremalm N.G. (1974-I). Acta Otolaryng. 78: 118-123. A method for standardized studies of mucociliary activity.
244. Mercke U., Hakansson C.H. en Toremalm N.G. (1974-II). Acta Otolaryng. 78: 444-450. The influence of temperature on mucociliary activity. Temperature range 20°C-40°C.
245. Mercke U. (1974-III). Acta Otolaryng. 78: 253-258. The influence of temperature on mucociliary activity. Temperature range 40°C-50°C.
246. Mercke U. (1975). Acta Otolaryng. 79: 133-139. The influence of varying air humidity on mucociliary activity.
247. Mezey R.J., Cohn M.A., Fernandez R.J., Januszkiewicz A.J. en Wanner A. (1978). Am. Rev. Resp. Dis. 118: 677-684. Mucociliary transport in allergic patients with antigen-induced bronchospasm.
248. Michel L., Lantin F. en Vandepierre J. (1976). Br. J. Surg. 63: 494-496. Surgical treatment of bronchiectasis in Kartagener's syndrome.
249. Miller M.E., Norman M.E., Koblenzer P.J. en Schonauer T. (1973). J. Lab. Clin. Med. 82: 1-8. A new familial defect of neutrophil movement.
250. Miller R.D. en Divertie M.B. (1972). Chest 62 ; 2: 130-135. Kartagener's syndrome.
251. Möller P. en Dalen H. (1979). Acta Otolaryng. suppl. 360: 198-203. Middle ear mucosa in cleft palate children. A scanning electron microscopic study.
252. Möller P. en Dalen H. (1981). Acta Otolaryng. 91 ; 1-2: 95-110. Ultrastructure of the middle ear mucosa in secretory otitis media (SOM).
253. Monnet P. (1978). Arch. Fr. Pediatr. 35: 607-619. Situs inversus et bronchopneumopathies au long cours, des la periode neonatale.
254. Moreno A. en Murphy E.A. (1981). Am. J. Med. Genet. 8: 305-313. Inheritance of Kartagener syndrome.
255. Mossberg B., Strandberg K., Philipson K. en Camner P. (1976-I). Scand. J. Resp. Dis. 57: 281-289. Tracheobronchial clearance and beta-adrenoceptor stimulation in patients with chronic bronchitis.
256. Mossberg B., Strandberg K., Philipson K. (1976-II). Scand. J. Resp. Dis. 57: 119. Tracheobronchial clearance in bronchial asthma. Response to beta-adrenoceptor stimulation.
257. Mossberg B. en Hanngren A. (1977). Mount Sinai J. Med. 44 ; 6: 837-843. Kartagener's syndrome: a ciliary immotility syndrome.
258. Mossberg B., Philipson K. en Camner P. (1978-I). Scand. J. Resp. Dis. 59: 1-7. Tracheobronchial clearance in patients with emphysema associated with alpha₁-antitrypsin deficiency.
259. Mossberg B., Afzelius B.A., Eliasson R. en Camner P. (1978-II). Scand. J. Resp. Dis. 59: 55-65. On the pathogenesis of obstructive lung disease. A study on the immotile cilia syndrome.
260. Mossberg B. (1980-I). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 107: 51-58. Human tracheo- bronchial clearance by mucociliary transport and cough.
261. Mossberg B. (1980-II). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 108: 8-11. Cough and mucociliary transport.
262. Mossberg B. (1980-III). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 108: 37-39. Mucociliary transport in chronic bronchitis.
263. Mossberg B. (1980-IV). Eur. J. Resp. Dis. 61: 243-244. Tracheobronchial clearance in chronic bronchitis.
264. Mossberg B. en Camner P. (1980-V). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 111: 18-20. Mucociliary transport and cough as clearance mechanisms in obstructive lung disease.
265. Mossberg B. en Camner P. (1980-VI). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 110: 47-55. Mucociliary transport and cough as tracheobronchial clearance mechanisms in pathological conditions.
266. Mossberg B. (1982). Eur. J. Resp. Dis. suppl. 118: 111-115. Immotile cilia syndrome: clinical features.
267. Mygind N. en Bretlau P. (1973). Acta Allerg. 28: 9-27. Scanning electron microscopic studies of the human nasal mucosa in normal persons and in patients with perennial rhinitis. I: cilia and microvilli.
268. Mygind N., Bretlau P. en Sørensen H. (1974). Acta Otolaryng. 78: 436-443. Scanning electron microscopic studies of nasal polyps.
269. Mygind N. (1975). Rhinology 13: 57-75. Scanning electron microscopy of the human nasal mucosa.
270. Mygind N., Pedersen M. en Nielsen M.H. (1983). Acta Otolaryng. 95: 688-694. Primary and secondary ciliary dyskinesia.
271. Nakhosteen J.A. en Vieira J. (1982). Atemw. Lungenkrkh. 8 ; 4: 184-185. Auswirkung mechanischen Reizes und akuter Zigarettenrauchexposition auf die tracheale mukoziliäre Klärgeschwindigkeit.
272. Neffen H., Oehling A. en Crisci C.D. (1980). Respiration 40: 161-167. Kartagener's syndrome. A report of six cases with special reference to humoral and cellular immunity.
273. Neustein H.B., Church J. en Cohen S. (1979). JAMA 241: 2423. Dysmorphology of cilia. Association with chronic suppurative respiratory disease.
274. Neustein H.B., Nickerson B. en O'Neal M. (1980). Am. Rev. Resp. Dis. 122: 979-981. Kartagener's syndrome with absence of inner dynein arms of respiratory cilia.
275. Nichamin S.J. (1956). JAMA 161 suppl. 10: 966-968. Kartagener's syndrome in a newborn infant.
276. Nielsen M.H., Pedersen M., Christensen B. en Mygind N. (1983). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl. 127: 19-30. Blind quantitative electron microscopy of cilia from patients with primary ciliary dyskinesia and from normal subjects.
277. Oeri R. (1909). Frankf. Ztschr. Pathol. 3: 393-398. Zur Kasuistik des Situs

- viscerum inversus totalis.
278. Ogawa K. en Gibbons I.R. (1976). *J. Biol. Chem.* 251: 5793-5801. Dynein 2. A new adenosine triphosphatase from sea-urchin sperm flagella.
 279. Ohi M., Sakakura Y., Murai S. en Miyoshi Y. (1984). *Rhinology* 22: 241-246. Effect of ipratropium bromide on nasal mucociliary transport.
 280. Oliver J.M. (1976). *Am. J. Pathol.* 85: 395-412. Impaired microtubule function correctable by cyclic GMP and cholinergic agonists in the Chediak-Higashi syndrome.
 281. Olsen A.M. (1943). *Am. Rev. Tub.* 47: 435-439. Bronchiectasis and dextrocardia. Observations on the aetiology of bronchiectasis.
 282. Overholt E.L. en Bauman D.F. (1958). *Ann. Intern. Med.* 48: 574-579. Variants of Kartagener's syndrome in the same family.
 283. Paegle R.D., Ayres S.M. en Davis S. (1973). *Arch. Surg.* 106: 31-34. Rapid tracheal injury by cuffed airways and healing with loss of ciliated epithelium.
 284. Paegle R.D. en Bernhard W.N. (1975). *Anesth. Analg.* 54: 340-344. Squamous metaplasia of tracheal epithelium associated with high-volume low pressure airway cuffs.
 285. Palmblad J., Uden A., Venizelos N. en Afzelius B.A. (1982). *Adv. Exp. Med. Biol.* 141: 49-59. Neutrophil migration and orientation under agarose: findings in patients with the immotile cilia syndrome and effects of cytochalasin B and vinblastine.
 286. Parker G.S., Mehlum D.L. en Bacher-Wetmore B. (1983). *Laryngoscope* 93: 573-577. Ciliary dyskinesia: the immotile cilia syndrome.
 287. Pastore P.N. en Olsen A.M. (1941). *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 16: 593-599. Absence of frontal sinuses and bronchiectasis in identical twins.
 288. Pavia D., Clarke S.W. en Thomson M.L. (1979-I). *Am. Rev. Resp. Dis.* 119: 157. Effects of mucolytic and expectorant agents on tracheobronchial clearance in chronic bronchitis.
 289. Pavia D., Bateman J.R., Sheahan N.F. en Clarke S.W. (1979-II). *Thorax* 34: 501-507. Effect of ipratropium bromide on mucociliary clearance and pulmonary function in reversible airways obstruction.
 290. Pavia D., Bateman J.R., Sheahan N.F. en Clarke S.W. (1980). *Eur. J. Resp. Dis.* 61: 245-253. Clearance of lung secretions in patients with chronic bronchitis. Effect of terbutaline and ipratropium bromide aerosols.
 291. Pedersen H. (1970). *J. Ultrastr. Res.* 33: 451-462. Observations on the axial filament complex of the human spermatozoon.
 292. Pedersen H. en Rebbe H. (1975). *Biol. Reprod.* 12: 541-544. Absence of arms in the axonema of immobile human spermatozoa.
 293. Pedersen H. en Mygind N. (1976). *Nature* 262: 494-495. Absence of axonemal arms in nasal mucosa cilia in Kartagener's syndrome.
 294. Pedersen M., Mygind N. en Pedersen H. (1978). *Lancet*: 893. Letter to the editor.
 295. Pedersen M. en Mygind N. (1980). *Br. J. Dis. Chest* 74: 239-244. Ciliary motility in the immotile cilia syndrome. First results of microphoto-oscillographic studies.
 296. Pedersen M., Morkassel E., Nielsen M.H. en Mygind N. (1981). *Chest* 80 suppl. 6: 858-860. Kartagener's syndrome: preliminary report on cilia structure, function and upper airway symptoms.
 297. Pedersen M. en Mygind N. (1982). *Clin. Otolaryng.* 7: 6: 373-380. Rhinitis, sinusitis and otitis media in Kartagener's syndrome (primary ciliary dyskinesia).
 298. Pedersen M. (1983-I). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl. 127: 78-90. Specific types of abnormal ciliary motility in Kartagener's syndrome and analogous respiratory disorders.
 299. Pedersen M., Sakakura Y., Winther B., Brofeldt S. en Mygind N. (1983-II). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl. 128: 355-364. Nasal mucociliary transport, number of ciliated cells and ciliary beating pattern in naturally acquired common cold.
 300. Peerless S.A. en Noiman A.H. (1980). *Laryngoscope* 90: 11: 1852-1864. Etiology of otitis media with effusion: antihistamines-decongestants.
 301. Petruson B. en Hansson H. (1982). *Acta Otolaryng.* 94: 563-569. Function and structure of the nasal mucosa after 6 weeks' use of nose-drops.
 302. Petruson B., Hansson H. en Karlsson G. (1984). *Arch. Otolaryng.* 110: 576-581. Structural and functional aspects of cells in the nasal mucociliary system.
 303. Phipps R.J. (1981). The airway mucociliary system. in: *International review of physiology. Respiratory Physiology III*, vol. 23 Ed. Widdicombe J.G. Univers. Park Press Baltimore.
 304. Piperno G., Huang B. en Luck D.J.L. (1977). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 1600-1604. Two-dimensional analysis of flagellar proteins from wild-type and paralysed mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*.
 305. Popper H. en Jakse R. (1982). *Wiener Klin. Wochenschr.* 94: 370-372. Diagnose und Aspekte zur Pathogenese des Kartagener Syndroms an Hand von Nasenschleimhautbiopsien.
 306. Proctor D.F. en Wagner H.N. (1965). *Arch. Environ. Health* 11: 366-371. Clearance of particles from the human nose.
 307. Proctor D.F., Andersen I.B. en Lundqvist G.R. (1973). *Arch. Intern. Med.* 131: 132-139. Clearance of inhaled particles from the human nose.
 308. Proctor D.F. en Andersen I.B. (1976). *Rhinology* 14: 11-17. Nasal mucociliary function in normal man.
 309. Proctor D.F., Andersen I.B. en Lundqvist G.R. (1977). *Resp. Phys.* 30: 109-124. Human nasal mucosal function at controlled temperatures.
 310. Proctor D.F. (1983). *Laryngoscope* 93: 58-62. Nasal mucous transport and our ambient air.
 311. Proetz A.W. (1953). *Essays on the applied physiology of the nose.* Ann. Publ. Comp. St. Louis.
 312. Puchelle E., Gautry Ph., Brocard O., Bordignon P. en Olive D. (1979). *Arch. Fr. Pédiatr.* 36: 9: 959-960. Anomalies rhéologiques de la sécrétion bronchique et de la fonction mucociliaire chez des enfants atteints de mucoviscidose.
 313. Puchelle E., Zahm J.M., Girard F., Bertrand A., Polu J.M., Aug F. en Sadoul P. (1980). *Eur. J. Resp. Dis.* 61: 254-264. Mucociliary transport in vivo and in vitro. Relations to sputum properties in chronic bronchitis.
 314. Puchelle E., Aug F., Pham Q.T. en Bertrand A. (1981-I) *Acta Otolaryng.* 91: 297-303. Comparison of three methods for measuring nasal mucociliary clearance in man.
 315. Puchelle E., Zahm J.M. en Aug F. (1981-II). *Biorheology* 18: 3-6: 659-666. Viscoelasticity, protein content and ciliary transport rate of sputum in patients with recurrent and chronic bronchitis.
 316. Pullan C.R., Robertson D.M., Milner A.D., Robinson G., Perkins A. en Campbell A.C. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl.: 466-469. Investigation of children with abnormal cilia.
 317. Purkinje J.E. en Valentin G. (1835). *De phaenomeno generali et fundamentali motus vibratorii continui in membranis cum externis tum internis animalium plurimorum et superiorum et inferiorum ordinum obvi.* Wratislaviae (Breslau).
 318. Quinlan M.F., Salman S.D., Swift D.L., Wagner H.N. en Proctor D.F. (1969). *Am. Rev. Resp. Dis.* 99: 13-23. Measurement of mucociliary function in man.
 319. Ree J.H.L. van en Dishoeck H.A.E. van (1962). *Pract. Otorhinol. Laryng.* 24: 383-390. Some investigations on nasal ciliary activity.
 320. Reid L., Bhaskar K. en Coles S. (1982). *Adv. Exp. Med. Biol.* 144: 369-391. Clinical aspects of respiratory mucus.
 321. Reimer A., Hakansson C.H., Mercke U. en Toremalm N.G. (1977). *Acta Otolaryng.* 83: 491-497. The mucociliary activity of the upper respiratory tract. I. A method for use in experimental studies on human material.
 322. Reimer A. en Toremalm N.G. (1978-I). *Acta Otolaryng.* 86: 283-288. The mucociliary activity of the upper respiratory tract. II. A method for in vivo studies on maxillary sinus mucosa of animals and human beings.
 323. Reimer A., Mecklenburg C. von en Toremalm N.G. (1978-II). *Acta Otolaryng.* suppl. 355: 1-20. The mucociliary activity of the upper respiratory tract. III. A functional and morphological study on human and animal material with special reference to maxillary sinus disease.
 324. Reimer A., Klementsson K., Ursing J. en Wretling B. (1980). *Acta Otolaryng.* 90: 5-6: 462-469. The mucociliary activity of the respiratory tract.
 325. Reimer A., Huberman D., Klementsson K. en Toremalm N.G. (1981). *Acta*

- Otolaryng. 91: 139-148. The mucociliary activity of the respiratory tract. II. Experiments on the effect of changing pO₂ and PCO₂ in ambient atmosphere and arterial blood.
326. Renckens C. (1979). Ned. Tijdschr. Geneesk. 123 ; 43: 1882. Trilharen met en zonder beweging.
 327. Rhodin J.A.G. (1966). Am. Rev. Resp. Dis. 93: 1-15. The ciliated cell. Ultrastructure and function of the human tracheal mucosa.
 328. Robert J., Laurens M.H., Simeons P., Thouvenot P. en Wayoff M. (1980). Path. Biol. 28 ; 3: 181-184. Etude du drainage mucociliaire nasal par méthode radioisotopique.
 329. Rooklin A.R., McGeedy S.J., Mikaelian D.O., Soriano R.Z. en Mansmann H.C. (1980). Pediatrics 66 ; 4: 526-531. The immotile cilia syndrome: a cause of recurrent pulmonary disease in children.
 330. Ross S.M. en Corrsin S. (1974). J. Appl. Physiol. 37: 333-340. Results of an analytical model of mucociliary pumping.
 331. Rossman C., Dolovich J., Dolovich M., Wilson W. en Newhouse M.T. (1977). Pediatrics 90: 579-584. Cystic fibrosis-related inhibition of mucociliary clearance in vivo in man.
 332. Rossman C.M., Forrest J.B., Ruffin R.E. en Newhouse M.T. (1978). Am. Rev. Resp. Dis. 117: 172. Ciliary motility in bronchiectasis without Kartagener syndrome (abstract).
 333. Rossman C.M., Forrest J.B., Ruffin R.E. en Newhouse M.T. (1980-I). Am. Rev. Resp. Dis. 121: 1011-1016. Immotile cilia syndrome in persons with and without Kartagener syndrome.
 334. Rossman C.M., Forrest J.B. en Newhouse M.T. (1980-II). Lancet June 21: 1360. Motile cilia in "immotile cilia" syndrome.
 335. Rossman C.M., Forrest J.B., Lee R.M.K.W. en Newhouse M.T. (1980-III). Chest 78: 580-582. The dyskinetic cilia syndrome. Ciliary motility in immotile cilia syndrome.
 336. Rossman C.M., Forrest J.B., Lee R.M.K.W., Newhouse A.F. en Newhouse M.T. (1981). Chest 80 suppl.: 860-865. The dyskinetic cilia syndrome.
 337. Rossman C.M., Lee R.M.K.W., Forrest J.B. en Newhouse M.T. (1983). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl. 127: 64-70. Nasal cilia in normal man, primary ciliary dyskinesia and other respiratory disease: analysis of motility and ultrastructure.
 338. Roth Y. en Ostfeld E. (1984). J. Laryng. Otol. 98: 853-856. Ciliary beat frequency of human middle-ear mucosa measured in vitro.
 339. Rott H.D., Warnatz H., Pasch-Hilgers R. en Weigl A. (1978). Hum. Genet. 43: 1-11. Kartagener's syndrome in sibs: clinical and immunologic investigations.
 340. Rott H.D. (1979). Hum. Genet. 46: 249-261. Kartagener's syndrome and the syndrome of immotile cilia.
 341. Rümke C.L. en Bezemer P.D. (1972). Ned. Tijdschr. Geneesk. 116: 1224-1230. Methoden voor de bepaling van normale waarden. 1. Algemene beschouwingen en beschrijving van enkele gangbare parameters.
 342. Russi E., Yerger L., Marchette B. en Abraham W.M. (1983). Fed. Proc. 42: 908. Late phase bronchoconstriction following non-immunologic mast cell degranulation in allergic sheep.
 343. Rutland J. en Cole P.J. (1980-I). Lancet 2: 859. Ciliary dyskinesia.
 344. Rutland J. en Cole P.J. (1980-II). Lancet: 564-565. Non-invasive sampling of nasal cilia for measurement of beat frequency and study of ultrastructure.
 345. Rutland J. en Cole P.J. (1981-I). Thorax 36: 654-658. Nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency in cystic fibrosis compared with sinusitis and bronchiectasis.
 346. Rutland J., Griffin W. en Cole P.J. (1981-II). Chest 80 suppl.: 865-867. Nasal brushing and measurement of ciliary beat frequency. An in vitro method of evaluating pharmacologic effects on human cilia.
 347. Rutland J., Griffin W.M. en Cole P.J. (1982-I). Am. Rev. Resp. Dis. 125: 100-105. Human ciliary beat frequency in epithelium from intrathoracic and extrathoracic airways.
 348. Rutland J., Dewar A., Cox T. en Cole P.J. (1982-II). J. Clin. Pathol. 35: 357-359. Nasal brushing for the study of ciliary ultrastructure.
 350. Rutland J., Griffin W.M. en Cole P.J. (1982-III). Br. J. Clin. Pharm. 13: 679-683. An in vitro model for studying the effects of pharmacological agents on human ciliary beat frequency: effect of lignocaine.
 351. Rutland J., Cox T., Dewar A., Cole P.J. en Warner J.O. (1982-IV). Br. J. Dis. Chest 76: 185-188. Transitory ultrastructural abnormalities of cilia.
 352. Rutland J., Cox T., Dewar A., Rehahn M. en Cole P.J. (1983-I). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl.: 470-472. Relationship between dynein arms and ciliary motility in Kartagener's syndrome.
 353. Rutland J., Penketh A., Griffin W., Hodson M., Batten J. en Cole P.J. (1983-II). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl.: 451-453. Lack of effect of cystic fibrosis serum on human ciliary motility.
 354. Rutland J., Cox T., Dewar A., Cole P.J. (1983-III). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl. 127: 71-77. Screening for ciliary dyskinesia: a spectrum of defects of motility and structure.
 355. Sackner M.A., Hirsch J. en Epstein S. (1975). Chest 68: 774-777. Effect of cuffed endotracheal tubes on tracheal mucous velocity.
 356. Sackner M.A., Chapman G.A. en Dougherty R.D. (1976). Am. Rev. Resp. Dis. 113 suppl.: 131. Effects of nebulized Sch 1000 and atropine sulfate on tracheal mucous velocity and lung mechanics in anesthetized dogs.
 357. Sackner M.A. (1978). Ann. Otol. 87: 474-483. Mucociliary transport.
 358. Sadé J., Eliezer N., Silberberg A. en Nevo A.C. (1970). Am. Rev. Resp. Dis. 102: 48-52. The role of mucus in transport by cilia.
 359. Sadé J. (1971). Ann. Otol. 80: 336-341. Mucociliary flow in the middle ear.
 360. Sadoul P., Puchelle E., Zahm J.M., Jacquot J., Aug F. en Polu J.M. (1981). Chest 80 ; 6: 885-889. Effect of terbutaline on mucociliary transport and sputum properties in chronic bronchitis.
 361. Safian L.S. en Mandeville F.B. (1959). J. Flor. Med. Assoc. 45: 1143-1148. Kartagener's syndrome in identical male twins and a female sibling: report of cases, with comment on pathology and familial manifestations.
 362. Sakakura Y., Sasaki Y., Hornick R.B., Tago Y., Schwartz A.R., Wagner H.N. en Proctor D.F. (1973). Ann. Otol. 82: 203-211. Mucociliary function during experimentally induced rhinovirus infection in man.
 363. Sakakura Y., Ukai K., Majima Y., Murai S., Harada T. en Miyoshi Y. (1983). Acta Otolaryng. 96: 167-173. Nasal mucociliary clearance under various conditions.
 364. Sakethkoo K., Yergin B.M., Januszkiewicz A., Kovitz K. en Sackner M.A. (1978). Am. Rev. Resp. Dis. 118: 251-254. The effect of nasal decongestants on nasal mucous velocity.
 365. Sanchis J., Dolovich M., Rossman C.M., Wilson W. en Newhouse M.T. (1973). New Engl. J. Med. 288: 651-654. Pulmonary mucociliary clearance in cystic fibrosis.
 366. Sanderson M.J. en Sleigh M.A. (1981-I). Pediatr. Res. 15: 219-228. Serum proteins agglutinate cilia and modify ciliary coordination.
 367. Sanderson M.J. en Sleigh M.A. (1981-II). J. Cell. Sci. 47: 331-347. Ciliary activity of cultured rabbit tracheal epithelium; beat pattern and metachrony.
 368. Santa Cruz R., Landa J., Hirsch J. en Sackner M.A. (1974). Am. Rev. Resp. Dis. 109: 458-463. Tracheal mucous velocity in normal man and patients with obstructive lung disease; effects of terbutaline.
 369. Satir P. (1962). J. Cell Biol. 12: 181-184. On the evolutionary stability of the 9+2 pattern.
 370. Satir P. (1963). J. Cell Biol. 18: 345-365. Studies on cilia: the fixation of the metachronal wave.
 371. Satir P. (1965). The living cell, readings from Scientific American, chapter 5: 53-61. Cilia. W.H. Freeman and company, San Francisco and London.
 372. Satir P. (1965). J. Cell Biol. 26: 805-834. Studies on cilia. III Examination of the distal region of the ciliary shaft and the role of the filaments in motility.
 373. Satir P. (1968). J. Cell Biol. 39: 77-94. Studies on cilia. III Further studies on the cilium tip and a "sliding filament" model of ciliary motility.
 374. Satir P. (1974). Scientific American 231 ; 4: 44-52. How cilia move.
 375. Sauerbruch F. (1927). Arch. Klin. Chir. 148: 721. Geciteerd door Kartagener 1933.
 376. Schidlow D.V., Katz S.M., Turtz M.G., Donner R.M. en Capasso S. (1982).

- Pediatrics 100 ; 3: 401-403. Polysplenia and Kartagener syndrome in a sibship: association with abnormal respiratory cilia.
377. Schidlow D.V., en Katz S.M. (1983). New Engl. J. Med. 308 ; 10: 595. Immotile cilia syndrome.
378. Schneeberger E.E., McCormack J., Issenberg H.J., Schuster S.R. en Gerald P.S. (1980). J. Ultrastr. Res. 73: 34-43. Heterogeneity of ciliary morphology in the immotile cilia syndrome in man.
379. Schoemperlen C.B. en Carey S.L. (1963). Am. Rev. Resp. Dis. 88: 698-702. Kartagener's syndrome.
380. Schouten H.J.A. (1982). Statist. Neerl. 36: 45-61. Measuring pairwise inter-observer agreement when all subjects are judged by the same observers.
381. Segal P., Kikiela M., Mrzyglod S. en Zeromska-Zbierska I. (1963). Am. J. Ophthalm. 55: 1043-1049. Kartagener's syndrome with familial eye changes.
382. Serafini S.M., Wanner A. en Michaelson E.D. (1976). Bull. Eur. Physiopathol. Resp. 12: 415-422. Mucociliary transport in central intermediate size airways: effect of aminophylline.
383. Serafini S.M. en Michaelson E.D. (1977). Bull. Eur. Physiopathol. Resp. 13: 551-559. Length and distribution of cilia in human and canine airways.
384. Sethi B.R. (1975). J. Laryng. Otol. 89: 183-188. Kartagener's syndrome and its otological manifestations.
385. Sharma O.P. (1972). New York State J. Med. 72: 1057-1061. Kartagener's syndrome. Immunologic investigations.
386. Sharpey W. (1830). Edinb. Med. Surg. J. 34: 113-122. On a peculiar motion excited in fluids by the surfaces of certain animals.
387. Sharpey W. (1835). Edinb. New Phil. J. 19: 114-129. Account of the discovery by Purkinje and Valentin of ciliary motions in reptiles and warm-blooded animals; with remarks and additional experiments.
388. Siebner H. en Flach A. (1964). Mschr. Kinderheilk. 112: 465-466. Chromosomenbefunde bei der Kartagener'schen trias.
389. Siewert A.K. (1904). Berl. Klin. Wochenschr. 41: 139-141. Ueber einen Fall von Bronchiektasie bei einem Patienten mit Situs inversus viscerum.
390. Simel D.L., Ingram P., Mastin J.P., Pratt P.C., Spock A. en Shelburne J.D. (1980). Am. Rev. Resp. Dis. 121: 302. Cystic fibrosis: scanning electron microscopic observations.
391. Simon H., Drettner B. en Jung B. (1977). Acta Otolaryng. 83: 378-390. Messung des Schleimhauttransportes in menschlichen Nase mit ^{51}Cr markierten Harzkügelchen.
392. Sleigh M.A. (1976). The nature and action of respiratory tract cilia. in: Respiratory Defense Mechanisms, part 1, 247-288, ed. Brain J.D., Proctor D.F. en Reid L.M. Marcel Dekker inc. New York.
393. Sleigh M.A. et al. (1981-I). Lancet August 29: 476. Primary ciliary dyskinesia. Letter to the editor.
394. Sleigh M.A. (1981). Chest 80 suppl.: 791-795. Ciliary function in mucus transport.
395. Sleigh M.A. (1983). Eur. J. Resp. Dis. 64 suppl. 127: 157-161. Kartagener's syndrome, ciliary defects and ciliary function.
396. Smallman L.A., Hill S.L. en Stockley R.A. (1984-I). Thorax 39: 663-667. Reduction of ciliary beat frequency in vitro by sputum from patients with bronchiectasis: a serine proteinase effect.
397. Smallman L.A. (1984-II). Lancet April 28: 965-966. Microbutular abnormalities of cilia in acquired pulmonary diseases.
398. Spock A., Heick H.M.C., Cress H. en Logan W.S. (1967). Pediatr. Res. 1: 173-177. Abnormal serum factor in patients with cystic fibrosis of the pancreas.
399. Spoendlin H. (1959). Pract. Otorhinol. Laryng. 21: 484-498. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am respiratorischen Epithel der oberen Luftwege.
400. Stauffer U.G. (1967). Beitr. Klin. Tub. 135: 15-26. Ein Fall von Bronchiektasen bei Situs viscerum inversus (Kartagener'sches Syndrom).
401. Sturgess J.M., Chao J., Wong J., Aspin N. en Turner J.A.P. (1979). New Engl. J. Med. 300 ; 2: 53-56. Cilia with defective radial spokes. A cause of human respiratory disease.
402. Sturgess J.M., Chao J. en Turner J.A.P. (1980). New Engl. J. Med. 303 ; 6: 318-322. Transposition of ciliary microtubules. Another cause of impaired ciliary motility.
403. Sturgess J.M. en Turner J.A.P. (1984). Persp. Pediatr. Pathol. 8 ; 2: 133-161. Ultrastructural pathology of cilia in the immotile cilia syndrome.
404. Sutton P.P., Pavia D., Bateman J.R.M. en Clarke S.W. (1981). Chest 80 suppl. 6: 889-892. The effect of oral aminophylline on lung mucociliary clearance in man.
405. Svedbergh B., Jonsson V. en Afzelius B.A. (1981). Graefes Archiv. Ophthalm. 215: 265-272. Immotile cilia syndrome and the cilia of the eye.
406. Takahasi K. (1982). Prog. Clin. Biol. Res. 80: 195-198. The control of ciliary activity.
407. Takasaka T. (1980). Ann. Otol. 89: 37-45. Atypical cilia of the human nasal mucosa.
408. Tegner H., Ohlsson K., Toremalm N.G. en Mecklenburg C. von (1979). Rhinology 17: 199-206. Effect of human leukocyte enzymes on tracheal mucosa and its mucociliary activity.
409. Tegner H., Toremalm N.G. (1981-I). Rhinology 19 ; 3: 115-120. On cystic fibrosis factor (CFF) and its proposed influence on mucociliary activity.
410. Tegner H., Ceder O., Roomans G.M., Kollberg H. en Toremalm N.G. (1981-II). Acta Paediatr. Scand. 70 ; 5: 629-633. Effects of cystic fibrosis serum and cell culture medium on the mucociliary activity of the respiratory tract. An in vitro study in rabbits.
411. Teichberg S., Markowitz J., Silverberg M., Aiges H., Schneider K., Kahn E. en Daum F. (1982). Pediatrics 100 ; 3: 399-401. Abnormal cilia in a child with the polysplenia syndrome and extrahepatic biliary atresia.
412. Tendler H. en Schaarschmidt G. (1972) Ztschr. Erkr. Atmungsorg. 137: 161-166. Kongenitale Bronchiektasie bei Situs inversus (Kartagener-Syndrom).
413. Theopold H.M., Jahnke V. en Schminko I. (1984). Laryng. Rhinol. Otol. 63: 33-40. Zur Feinstruktur der Zilien bei Kartagener-Syndrom.
414. Thomson M.L., Pavia D., Short M.D. en Norman A.P. (1973). New Engl. J. Med.: 749-750. Lung clearance in two patients with cystic fibrosis.
415. Thomson M.L., Pavia D., Gregg I. en Stark J.E. (1974). Br. J. Dis. Chest 68: 21-27. Bromhexine and mucociliary clearance in chronic bronchitis.
416. Tilney L.G., Bryan J., Bush D.J., Fujiwara K., Mooseker M.S., Murphy D.B. en Snyder D.H. (1973). J. Cell Biol. 59: 267-275. Microtubules: evidence for 13 protofilaments.
417. Tønnessen P. en Støvring S. (1984). Eur. J. Resp. Dis. 65: 419-422. Positive expiratory pressure (PEP) as lung physiotherapy in cystic fibrosis: a pilot study.
418. Toremalm N.G., Hakansson C.H., Mercke U. en Dahlerus B. (1974). Acta Otolaryng. 78: 247-252. Mucociliary wave pattern. An analysis of surface light reflections.
419. Toremalm N.G., Mercke U. en Reimer A. (1975). Rhinology 13: 113-120. The mucociliary activity of the upper respiratory tract.
420. Toremalm N.G. (1980). Eur. J. Resp. Dis. 61 suppl. 107: 41-49. Factors influencing the mucociliary activity in the respiratory tract.
421. Torgersen J. (1949). Arch. Pathol. 47: 566-593. Genetic factors in asymmetry and in the development and pathological changes of lungs, heart and abdominal organs.
422. Torgersen J. (1952). Schweiz. Med. Wochenschr. 82: 770-771. The triad of Kartagener. A contribution to its hereditary and developmental basis.
423. Torikata C., Takeuchi H., Yamaguchi H. en Kageyama K. (1976). Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 371: 121-129. Abnormal cilia in the bronchial mucosa.
424. Turner J.A.P., Corkey C.W.B., Lee J.Y.C., Levison H. en Sturgess J.M. (1981). Pediatrics 67 ; 6: 805-810. Clinical expressions of immotile cilia syndrome.
425. Vastag E., Kohler D., Fischer J., Daikeler G. en Matthys H. (1982). Atemw. Lungenkrkh. 8 ; 4: 205-208. Der Einfluss von Hexoprenalin und Aminophyllin auf den ziliären Schleimtransport des Bronchialsystems bei Patienten mit chronisch obstruktiven Atemwegserkrankungen.
426. Veale H. (1871). Lancet 2: 121-122. On the movement of mucus in the trachea

- and larynx.
427. Veerman A.J.P., Baan S. van der, Weltevreden E., Leene W. en Feenstra L. (1980). *The Lancet* august 2: 266. Cilia: immotile, dyskinetic, dysfunctional. Letter to the editor.
 428. Verdugo P., Johnson N.T. en Tam P.Y. (1980). *J. Appl. Physiol.* 48: 868-871. B-adrenergic stimulation of respiratory ciliary activity.
 429. Waite D.A., Steele R., Ross I., Wakefield J.J. St., Mackay J. en Wallace J. (1978). *Lancet*: 132-133. Cilia and sperm tail abnormalities in Polynesian bronchiectasis.
 430. Waite D.A., Wakefield J.J. St., Mackay J.B. en Ross I.T. (1981). *Chest* 80 suppl. 6: 896-898. Mucociliary transport and ultrastructural abnormalities in Polynesian bronchiectasis.
 431. Wakefield J.J. St. en Waite D.A. (1980). *Am. Rev. Resp. Dis.* 121: 1003-1010. Abnormal cilia in Polynesians with bronchiectasis.
 432. Wakefield J.J. St. en Waite D.A. (1981). *Am. Rev. Resp. Dis.* 123: 141-143. Abnormal cilia in Polynesians with bronchiectasis.
 433. Wanner A., Zarzecki S., Hirsch J. en Epstein S. (1975). *J. Appl. Physiol.* 39: 950-957. Tracheal mucous transport in experimental canine asthma.
 434. Wanner A. (1977). *Am. Rev. Resp. Dis.* 116: 73-125. Clinical aspects of mucociliary transport.
 435. Wanner A. (1981-I). *J. Astma Res.* 18 ; 1: 27-29. Tracheobronchial mucus: abnormalities related to asthma and its treatment.
 436. Wanner A. (1981-II). *Ztschr. Erkr. Atmungsorg.* 157 ; 3: 252-255. Mucociliary dysfunction in bronchial asthma.
 437. Wanner A. (1981-III). *Chest* 80 suppl.: 867-870. Alteration of tracheal mucociliary transport in airway disease.
 438. Wanner A. (1983-I). *Laryngoscope* 93 ; 1: 68-70. Allergic mucociliary dysfunction.
 439. Wanner A. (1983-II). *J. All. Clin. Immun.* 72: 347-350. Allergic mucociliary dysfunction.
 440. Wanner A., Maurer D., Abraham W.M., Szeplafusi Z. en Szelczak M. (1983-III). *J. All. Clin. Immun.* 72: 663-667. Effects of chemical mediators of anaphylaxis on ciliary function.
 441. Warner F.D., Mitchell D.R. en Perkins C.R. (1977). *J. Mol. Biol.* 114: 367-384. Structural conformation of the ciliary ATPase dynein.
 442. Warwick W.J. (1983). *Eur. J. Resp. Dis.* 64 suppl. 127: 162-167. Mechanisms of mucous transport.
 443. Watanabe K. en Watanabe I. (1981). *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 90 ; 31: 204-209. Changes of nasal epithelial cells and mucus layer after challenge of allergen.
 444. Watanabe Y. en Okuda M. (1984). *Rhinology* 22: 193-199. Ultrastructural study of immotile cilia syndrome.
 445. Watson J.H.L. en Brinkman G.L. (1964). *Am. Rev. Resp. Dis.* 90: 851-866. Electron microscopy of the epithelial cells of normal and bronchitic human bronchus.
 446. Wayoff M., Foliguet B., Bigel M.L., Cordonnier J.C. en Lardenet J. (1982). *Ann. Oto-laryng.* (Paris) 99: 257-261. L'intérêt du syndrome d'immotilité ciliaire en O.R.L.
 447. Weill J., Lallemand M. en Leveque B. (1948). *Bull. Mém. Soc. Med. Hop. Paris* 54: 71. Un cas de syndrome de Kartagener.
 448. Weiss Th., Dorow P. en Felix R. (1981). *Prax. Pneumol.* 35: 327-330. Regionale mukoziliäre Clearance bei Patienten mit Small Airway Disease.
 449. Whitelaw A., Evans A. en Corrin B. (1981). *Arch. Dis. Childh.* 56: 432-435. Immotile cilia syndrome: a new cause of neonatal respiratory distress.
 450. Whiteside M.E., Lauredo I., Chapman G.A., Ratzan K.R., Abraham W.M. en Wanner A. (1984). *Bull. Eur. Physiopathol. Resp.* 20: 347-351. Effect of atropine on tracheal mucociliary clearance and bacterial counts.
 451. Wilkey D.D., Lee P.S., Hass F.J., Gerrity T.R., Yeates D.B. en Lourenco R.V. (1980). *Arch. Environ. Health* 35: 294-303. Mucociliary clearance of deposited particles from the human lung: intra- and inter-subject reproducibility, total and regional lung clearance, and model comparisons.
 452. Wilson C.B. en Fudenberg H.H. (1977). *Nature* 266: 463-466. Ciliary dyskinesia factors in cystic fibrosis and asthma.
 453. Wisseman C.L., Simel D.L., Spock A. en Shelburne J.D. (1981). *Arch. Pathol. Lab. Med.* 105: 552-555. The prevalence of abnormal cilia in normal pediatric lungs.
 454. Wolff R.K., Muggenburg B.A. en Silbauch S.A. (1981). *Am. Rev. Resp. Dis.* 123: 291-294. Effect of 0.3 and 0.9 microm. sulfuric acid aerosols on tracheal mucous clearance in beagle dogs.
 455. Wong J.W., Keens T.G., Wannamaker E.M., Crozier D.N., Levison H. en Aspin N. (1977). *Pediatrics* 60 ; 2: 146-152. Effects of gravity on tracheal mucus transport rates in normal subjects and in patients with cystic fibrosis.
 456. Wood R.E., Wanner A. en Hirsch J.A. (1974). *Pediatr. Res.* 8: 471. Measurement of mucociliary airway clearance in patients with cystic fibrosis and its stimulation by terbutaline.
 457. Yager J., Tzeng-Ming C. en Dulfano M.J. (1978). *Chest* 73 ; 5: 637-633. Measurement of frequency of ciliary beats of human respiratory epithelium.
 458. Yanaura S., Imamura N., Hosokawa T., Takeda H. en Misawa M. (1979). *J. Pharm. Dyn.* 2: 266-272. Drug effects on electrical activities of the canine tracheal ciliated cells.
 459. Yanaura S., Imamura N. en Misawa M. (1981). *Japan. J. Pharm.* 31: 957-965. Effects of expectorants on the canine tracheal ciliated cells.
 460. Yarnal J.R., Golish J.A., Ahmad M. en Tomashefski J.F. (1982). *Postgrad. Med.* 71: 195-197, 200-202, 209-211, 215-217. The immotile cilia syndrome. Explanation for many a clinical mystery.
 461. Yeates D.B., Warbick A. en Aspin N. (1974-I). *Int. J. Appl. Rad. Isotop.* 25: 578-580. Production of $^{99}\text{Tc}^m$ labelled albumin microspheres for lung clearance studies and inhalation scanning.
 462. Yeates D.B., Aspin N., Levison H. en Bryan A.C. (1974-II). *Fed. Proc.* 33: 365. Measurements of mucociliary tracheal transport rates in man.
 463. Yeates D.B., Aspin N., Levison H., Jones M.T. en Bryan A.C. (1975). *J. Appl. Physiol.* 39: 487-495. Mucociliary tracheal transport rates in man.
 464. Yeates D.B., Sturgess J.M., Kahn S.R., Levison H. en Aspin N. (1976). *Arch. Dis. Childh.* 51: 28-33. Mucociliary transport in trachea of patients with cystic fibrosis.
 465. Yergin B.M., Saketkhoo K., Michaelson E.D., Serafini S.M., Kovitz K. en Sackner M.A. (1978). *J. Appl. Physiol.* 44 ; 6: 964-968. A roentgenographic method for measuring nasal mucous velocity.
 466. Young D. (1970). *Rep. Fertil.* 23: 541-542. Surgical treatment of male infertility.

11. Kinderen zijn zeer gebaat bij voldoende nachtrust van hun ouders.
12. De hooggeleerde Joachim Sickbock heeft géén gelijk: in de wetenschap kan fatsoen wel degelijk een rol spelen (Marten Toonder, De Ombrenger, 7328, 1971).

7 juni 1985

S. van der Baan.

VRIJE UNIVERSITEIT TE AMSTERDAM

PRIMAIRE CILIAIRE DYSKINESIE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van
doctor in de geneeskunde
aan de Vrije Universiteit te Amsterdam,
op gezag van de rector magnificus, dr. P.J.D. Drenth,
hoogleraar in de faculteit der sociale wetenschappen,
in het openbaar te verdedigen
op vrijdag 7 juni 1985 te 13.30 uur
in het hoofdgebouw der universiteit,
De Boelelaan 1105

door

SIEBEREN VAN DER BAAN

geboren te Amsterdam

Drukkerij Kanters b.v.

Promotor : Prof. dr. L. Feenstra
Copromotor : Dr. A.J.P. Veerman
Referent : Prof. dr. W. Leene

STELLINGEN

1. Primaire ciliaire dyskinesie moet zo vroeg mogelijk worden vastgesteld; na het stellen van de diagnose moet de patiënt levenslang worden begeleid. Daardoor kunnen de ernst en de complicaties van deze aandoening worden verminderd.
2. Primaire ciliaire dyskinesie kan met behulp van de transmissie electronenmicroscopie alleen worden vastgesteld na een vergelijkend kwantitatief onderzoek van de ultrastructuur der trilharen bij patiënten met het syndroom van Kartagener, patiënten met andere luchtweginfecties en gezonde personen.
3. Door middel van een semi-kwantitatieve score van de trilhaaractiviteit in slijmvliesbiopten, volgens nauwkeurig omschreven criteria, kan een primaire ciliaire dyskinesie worden vastgesteld, ook bij trilharen zonder ultrastructurele afwijkingen.
4. Bij een normal mucociliair transport in de neus is geen primaire ciliaire dyskinesie aanwezig.
5. Bij de introductie van nieuwe, lokaal in de luchtwegen toe te dienen geneesmiddelen verdient het aanbeveling meer aandacht te besteden aan de mogelijke schadelijke invloed van de gebruikte stoffen op de trilhaaractiviteit.
6. Alvorens het advies tot een gehoorverbeterende ingreep wordt gegeven dient de kans te worden geschat dat in het betreffende oor een gehoorwinst wordt bereikt die het gehoor tenminste binnen 10 dB van het gehoor in het spraakgebied van het contralaterale oor brengt.
7. Bij jonge kinderen kan wisselend gehoorverlies op basis van recidiverende otitis media serosa leiden tot een achterstand in hun ontwikkeling. Dit effect is nog sterker als het kind ook een andere stoornis in zintuigelijke waarneming of een geestelijke handicap heeft.
8. In de problematiek rond incest komt men steeds vaker de term "ervaringsdeskundige" tegen. Dit is een misleidende term: iemand die incest heeft ervaren is niet altijd deskundige in de hulpverlening op dit gebied.
9. Een meningeaal recidief van leukemie dient altijd door middel van immunologisch onderzoek van cellen in de liquor cerebrospinalis te worden bevestigd.
10. Een chirurg die een kwaadaardige tumor verwijdert dient volledig op de hoogte te zijn van de mogelijkheden der reconstructieve chirurgie.