

PROBLEMEN ROND HET RETROSPECTIEF EN PROSPECTIEF ONDERZOEK NAAR AANGEBOREN AFWIJINGEN*)

G. J. SCHADE

*Uit de kliniek
voor Mondheelkunde
en Chirurgische prothetiek
(Wilhelmina Gasthuis)
van de Universiteit
van Amsterdam.
Hoofd: Prof. M. Hut.*

Inleiding

In een poging om enige onderzoeksmethoden naar de oorzaken van aangeboren afwijkingen in het algemeen te omschrijven, hebben wij reeds enige genetische en epidemiologische aspecten behandeld met betrekking tot de spleten in het gebied van de lip, de kaak en het verhemelte. In aansluiting hierop bespreken wij enige problemen rondom de retro- en prospectieve onderzoeksmethoden aan de hand van enige voorbeelden.

Schadelijke effecten van agentia op de mens

Van verschillende agentia is bekend, dat zij aangeboren afwijkingen in de mens kunnen veroorzaken, als de moeder ze gebruikt in het vroege stadium van haar zwangerschap. Verschillende pogingen zijn gedaan bij de mens, ten einde op medicamenteuze wijze abortus op te wekken. Ook de besmetting met het rubella virus en de folinezuur-deficiënte voedingen kunnen bij de mens aangeboren afwijkingen veroorzaken. Het toxoplasma-organisme en de synthetische progestinen, welke aangewend werden in de behandeling van dreigende of habituele abortus, werden als teratogeen (= vruchtbeschadigend) voor de mens onderkend.

Murphy (1929) stelde na een uitgebreid literatuuronderzoek vast, dat veel kinderen geboren werden met microcefalie en andere skeletafwijkingen na bestraling van het bekken in verband met maligne tumoren. Ook een onderzoek naar de gevolgen van de atoombommen in Japan, waarbij 11 zwangere vrouwen van de 4e tot en met de 17e week aan de directe bestraling werden blootgesteld, leverde 4 kinderen op met microcefalie, skeletafwijkingen en gespleten verhemelten. Thiersch (1952) gaf aminopterine aan 24 zwangere vrouwen

om op medicamenteuze wijze abortus op te wekken daar, waar een chirurgische ingreep niet toegestaan was. Vier van de foetussen hadden afwijkingen aan het centrale zenuwstelsel, gezicht en schedel en bovendien hadden zij allen een gespleten verhemelte. Nadien zijn er literatuurgegevens bekend geworden van vrouwen, die aminopterine namen om abortus op te wekken, waarbij men uiteraard lang niet altijd de gelegenheid had om de invloed op de vrucht vast te stellen, maar waarbij toch vele afwijkingen werden geregistreerd.

Bongiovanni (1950) deed een literatuuronderzoek en verzamelde 260 gevallen, waarin een dosis corticosteroiden was toegediend. Hij vond 8 doodgeboren kinderen, 15 vroegtijdig geboren kinderen en 2 kinderen met een gespleten verhemelte. Popert (1962) vond in een vergelijkbare serie van 21 zwangerschappen 1 kind met een gespleten verhemelte.

Het retrospectief onderzoek

De problemen rondom het retrospectief onderzoek kunnen wij het best illustreren aan de hand van het effect van het gebruik van het slaapmiddel thalidomide. Lenz en Knapp deden in 1962 de opzienbarende ontdekking, dat er verband bestond tussen het gebruik van het slaapmiddel thalidomide en het frequent voorkomen van focomelie. Men zag toen in, dat men een geneesmiddel op een meer wetenschappelijk verantwoorde wijze moest gaan onderzoeken. Uit de verschillende publikaties (Lenz en Knapp, 1962; McBride, 1961) kunnen wij concluderen:

1. dat farmaca, welke onschuldig zijn voor de volwassene mogelijk een teratogene werking kunnen hebben op de foetus, vooral in de periode van de organo-genesis, d.w.z. de tweede maand van de zwangerschap;
2. dat men zelfs na 6000 geboorten nog niet direct de

*) In aansluiting op het artikel: „Enige genetische aspecten van spleten in de lip, de kaak en het verhemelte” (Ned. T. Tandheelk. 78 (1971), oktober, pag. 352-355).

relatie zag tussen het gebruik van dit slaapmiddel en haar mutilerende werking op de foetus.

Er zijn 5 gevallen bekend van gespleten verhemelte na gebruik van thalidomide (Zimmerman en Soergel). Zelfs na uitgebreid retrospectief onderzoek bij de moeders van dergelijke kinderen, bleek het erg moeilijk om thalidomide als de mogelijke oorzaak aan te wijzen. Men noemde namelijk thalidomide pas op de achtste plaats als antwoord op de vraag, welke kalmeringsmiddelen men gebruikt had. Bij verder onderzoek bleek ook, dat slechts 24 % van de moeders thalidomide uit een groep van slaapmiddelen kon aanwijzen, hoewel het bij allen vastgesteld was, dat zij werkelijk ook dit middel gebruikt hadden. Als thalidomide uitdrukkelijk genoemd werd, kan slechts 70 % van de groep personen zich herinneren, dat zij dit medicament ook werkelijk aangewend hadden in de eerste periode van hun zwangerschap. Bovendien kon 11 % zich de tijd niet herinneren, wanneer zij het gebruikt hadden. Acht procent van de ondervraagde groep kon zich herinneren, dat men het middel in huis had, zonder het te gebruiken. Uiteindelijk kon men slechts bij 8 % van de moeders bij dit onderzoek vaststellen, dat zij het werkelijk ingenomen hadden (Cohlan, 1966). Dit percentage illustreert de moeilijkheid bij de retrospectieve onderzoeksmethode.

Indien een afwijking relatief weinig voorkomt, is het zeer moeilijk bij retrospectief onderzoek een causale relatie vast te stellen. In Nederland zijn 25 kinderen geboren met dergelijke afwijkingen, 14 jongens en 11 meisjes. Van dit totaal zijn 9 patiënten overleden (Dijkhuis e.a., 1963). Totaal kon men in 9 gevallen vaststellen, dat er proefmonsters gebruikt waren. Tot deze patiënten behoorden 3 kinderen van artsen. De nadelige gevolgen zijn beperkt gebleven o.a. door de terughoudendheid van de artsen ten aanzien van nieuwe geneesmiddelen in het algemeen en door het feit, dat het geneesmiddel nog niet was vrij gegeven voor de verstrekking in het ziekenfondspakket.

De beperking van de methoden voor het testen van de geneesmiddelen op proefdieren kwam wel zeer duidelijk tot uiting, daar bleek, dat het effect van thalidomide niet of zeer moeilijk te reproduceren was. Het werd bekend dat bij de mens thalidomide in veel lagere dosering teratogeen moest zijn, dan bij het konijn (Somers). Slechts bij bepaalde apen is het mogelijk (Delahunt en Larsen) met betrekkelijk lage doseringen

(5 mg/kg) een effect te verkrijgen. In de resusaap (*Macacus mulattus*) stierven alle embryonen af na toediening van thalidomide (Lucey en Behrmann). Afgezien van de vraag of een bepaalde apenstam precies zo reageert als de mens, heeft men te maken met het algemene probleem, dat slechts middelen met een zeer sterke teratogene werking in de proefdieren zijn op te sporen. Een voorbeeld kan dit mogelijk verduidelijken. Als men er van uit gaat, dat in een onbehandelde proefdierpopulatie 2 % van alle dieren misvormd geboren wordt – dit is de z.g. spontane frequentie – en men wil met een waarschijnlijkheid van 95 % een farmacon opsporen, dat de kans op afwijkingen verhoogt tot 10 %, dan moet men minimaal 240 drachtige dieren behandelen, waarbij men het risico loopt van 5 %, dat men een niet-schadelijke stof voor schadelijk aanziet (Gebhardt, 1969). Het is duidelijk, dat het niet mogelijk is, proeven van dergelijke omvang op apen te verrichten.

Een ander belangrijk probleem bij dit onderzoek is het feit, dat niet alle afwijkingen te bepalen zijn. Het is vrijwel onmogelijk elk orgaan van ieder embryo te gaan onderzoeken. Ook moet men zich realiseren, dat bepaalde teratogene agentia niet slechts anatomische afwijkingen, maar ook biochemische veranderingen en dergelijke kunnen veroorzaken. Uit een en ander mag geconcludeerd worden, dat dergelijke onderzoeken op proefdieren slechts aanwijzingen, maar nooit uitsluitel kunnen geven over een mogelijk teratogeen effect bij de mens. Wel kan men met behulp van ervaring, verkregen in deze onderzoeken, trachten experimenteel embryologisch onderzoek te doen. Wil men in het algemeen de aard van de werking van een stof goed onderzoeken, dan is het uitgesloten, dat men een mengsel van stoffen toedient. Men krijgt in dat geval te maken met effecten als additie, potentiatie, non-interactie en interferentie. Het voorbeeld van additie is de snelle stijging van het percentage afwijkingen, wanneer men b.v. het moederdier laat vasten. Een voorbeeld van potentialiteit is het gecombineerde effect van twee agentia, waarbij men een hoger percentage afwijkingen krijgt, dan de som van de individuele effecten. Een voorbeeld van non-interactie is het effect waarbij twee stoffen elkaars teratogene werking geheel of gedeeltelijk teniet doen. Een voorbeeld van interferentie is het effect, waarbij een stof de teratogene werking van een ander doet verminderen, onafhankelijk van het feit of de eerste stof zelf wel of geen teratogene eigenschappen bezit.

Het prospectieve onderzoek

Ook de prospectieve wijze van onderzoeken heeft zijn beperkingen. Het belangrijkste nadeel van het prospectieve onderzoek is de grote aantallen patiënten en gegevens welke men moet verzamelen om tot enige statistisch verantwoorde conclusies te kunnen komen. Wij hebben gezien, dat spleten in de lip, de kaak en het verhemelte bij ongeveer 1 : 500 geboorten voorkomen. Men zou dan 50.000 zwangerschappen moeten onderzoeken, om slechts 100 gevallen met een dergelijke afwijking te kunnen verzamelen. Wil men dan uit deze 100 gevallen nog conclusies kunnen trekken omtrent de mogelijke oorzaken, dan blijkt dit aantal toch nog betrekkelijk klein te zijn. Een andere moeilijkheid is het feit, dat men in het prospectieve onderzoek de juiste vragen moet stellen, gebaseerd op experimenteel en retrospectief onderzoek, om de juiste antwoorden te kunnen verwachten. Als men de juiste vragen niet stelt, wordt het wel bijzonder moeilijk om toch achter het positieve antwoord te kunnen komen. Dit kan men alleen verwachten als de afwijking in een ongebruikelijk hoge frequentie voorkomt. Tot op heden is het nog niet mogelijk geweest om met behulp van het prospectieve onderzoek een teratogene factor te identificeren.

Discussie en conclusies

Er zijn reeds enige agentia geïdentificeerd, waarvan bekend is, dat zij specifiek bij de mens aangeboren afwijkingen kunnen veroorzaken. Voorlopig zijn die slechts van belang, om de extrapolatie mogelijk te maken van experimenteel verkregen gegevens van de mens. Ze vertegenwoordigen echter een zeer klein percentage, misschien niet meer dan 1 % van alle afwijkingen, zodat hun preventie van zeer geringe invloed is op het totale percentage afwijkingen. Ook kunnen wij stellen, dat we het liefst alle geneesmiddelen bij een diersoort, welke het meest verwant is aan de mens, nl. de aap, zouden willen onderzoeken. Echter alleen die middelen met een zeer sterke teratogene werking zijn bij proefdieren op te sporen. Onderzoek op proefdieren geeft derhalve slechts een aanwijzing, doch nooit uitsluitend over een mogelijk teratogeen effect in de mens. Noch het retrospectieve onderzoek, noch het prospectieve onderzoek zijn derhalve effectieve middelen om achter de mogelijke oorzaken van aangeboren afwijkingen te kunnen komen.

Wij kunnen met behulp van experimenteel onderzoek (Schade en Gebhardt, 1969) voorzichtig trachten een evenwicht te vinden tussen het type en de dosis van een

stof en de tijd, waarin deze gegeven moet worden aan het zwangere proefdier, ten einde een bepaalde aangeboren afwijking te induceren.

Samenvatting:

Enige facetten van de problematiek rondom het retrospectief en prospectief onderzoek naar aangeboren afwijkingen, werden aan de hand van enige voorbeelden besproken.

Het gebruik van het slaapmiddel thalidomide illustreerde de problemen bij het testen van geneesmiddelen, de risico's voor de zich ontwikkelende vrucht en de betrekkelijkheid bij het retrospectieve onderzoek naar de oorzaak van de afwijkingen.

De nadelen van het prospectieve onderzoek zijn van dien aard, dat het tot op heden nog niet mogelijk is geweest een teratogene factor op dergelijke wijze te identificeren.

Summary:

Title: Problems in retrospective and prospective studies of congenital anomalies.

Some problems in retrospective and prospective studies of congenital anomalies are discussed with reference to a number of examples.

The sedative and hypnotic thalidomide is discussed to illustrate the problems encountered in testing drugs, the risk to the developing foetus, and the relativity of retrospective studies of the cause of anomalies.

The disadvantages of prospective studies are such that it has so far been impossible in this way to identify a teratogenic factor.

Literatuur:

1. *Bongiovanni, A. M., di George, A. M., Grumbach, M. M.* (1959): Masculinisation of the female infant associated with estrogenic therapy alone during gestation. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.* 19: 1004.
2. *Cohlan, S. Q.* (1966): Teratogenic agents and human congenital malformations. Workshop teratology. Copenhagen.
3. *Dijkhuis* (1962): Commissie Ned. Ver. Kindergeneeskunde. Geneeskundige Hoofdsinspectie. Misvormingen na gebruik van thalidomide-preparaten in Nederland, II.
4. *Corner, G. W.* (1960): Congenital malformations: the problem and the task. 1st Int. Congress on congenital malformations. Ed. M. Fishbein, Lippincott, Philadelphia, 314 p.
5. *Fraser, F. C., Fainstat, T. O., Kalter, H.* (1953): Experimental production of congenital defects with particular reference to cleft palate. Neo-natales studies 2: 43.
6. *Fraser, F. C., Warburton, D.* (1964): No association of emotional stress or vitamin supplement during pregnancy to cleft lip or palate in man. *Plast. & Reconstr. Surg.* Vol. 33: 395.
7. *Gebhardt, D. O. E.* (1969): Onderzoekingen over aangeboren afwijkingen veroorzaakt door chemische factoren. *Chemisch Weekblad* no. 18, mei.
8. *Giroud, A.* (1966): Historical background of mammalian teratology. Int. Workshop in Teratology. Copenhagen.
9. *Lenz, W.* (1961): Diskussionsbemerkung. Tagung der Rhein-Westfäl. Kinderärztervereinigung, Dusseldorf.

10. Lenz, W., Knapp, K. (1962): Die Thalidomide Embryopathie. Dtsch. Med. Wochenschrift 87: 1232.
11. McBride, W. G. (1961): Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet 2: 1358.
12. Murphy, D. P. (1929): Outcome of 625 pregnancies in women subjected to pelvic radium or roentgen irradiation. Am. J. Obst. & Gynaec. 18: 179.
13. Nishimura, H. (1964): Chemistry and prevention of congenital anomalies. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
14. Popert, A. J. (1962): Pregnancy and adrenal cortical hormones. Brit. Med. J. 1: 967.
15. Schade, G. J. (1971): Enige epidemiologische aspecten van spleten in het gebied van de lip, de kaak en het verhemelte. Ned. T. Tandheelk. 78: 300.
16. Schade, G. J. (1971): Enige genetische aspecten van spleten in het gebied van de lip, de kaak en het verhemelte. Ned. T. Tandheelk. 78: 352.
17. Schade, G. J., Gebhardt, D. O. E. (1969): Is there an optimal stage for the induction of cleft palate in the mouse? The Cleft Palate Journal 6: 373.
18. Thiersch, J. B. (1952): Therapeutic abortions with a folic acid antagonist 4-aminopteroylglutamic acid (4-amino P.G.A.) administered by the oral route. Am. J. Obst. & Gynaec. 63: 1298.
19. Warkany, I. (1960): Environmental teratogenic factors. 1st Int. Conference on congenital malformations. Ed. M. Fishbein, Lippincott, Philadelphia: 314 p.

Overschiestraat 160,
Amsterdam.

DE STATISCHE BOTCAVITEIT (STAFNE)

*Uit de kliniek voor Mondheekunde
van de rijksuniversiteit te Groningen.
Hoofd: Prof. Dr. G. Boering.*

M. V. UIL

Inleiding

Bij het röntgenologisch onderzoek van de onderkaak wordt soms in het corpus mandibulae bij toeval een ronde of ovale circumschripte radiolucentie gevonden. De lokalisatie hiervan is in de regel caudaal van de canalis mandibulae in een gebied, dat zich uitstrekt van de eerste molaar tot aan de angulus.

Literatuur

Stafne beschreef in 1942 als eerste 35 van deze afwijkingen, waaraan zijn naam werd verbonden. Operatieve exploratie werd door hem niet verricht. Hij was aanvankelijk van mening dat de oorzaak was gelegen in resten kraakbeen, die de vorming van bot zouden hebben verhinderd. Deze resten zouden afkomstig zijn van het gewrichtskraakbeen. Rushton en Cantab (1946) brachten hier tegenin, dat slechts in de zeer vroege kinderjaren het dichtstbijzijnde kraakbeen inderdaad dat van het gewricht is, maar dat dit tijdens de groei in craniale richting opschuift. Dit betekent dat men de afwijking eerder in de ramus mandibulae dan in het corpus zou mogen verwachten. Dit nu is niet in overeenstemming met de werkelijkheid. De mogelijkheid dat deze resten afkomstig zouden kunnen zijn van

het kraakbeen van Meckel wordt nergens genoemd. Rushton en Cantab veronderstellen dat confluentie van resten van traumatische botkysten en gelijktijdig verlies van de linguale corticale begrenzing de concaviteit zou doen ontstaan.

In 1944 wordt deze afwijking voor het eerst operatief benaderd door Peterson. Hij trof een geheel lege impressie in de linguale corticalis van de mandibula aan, dus geen volledig door benige wanden omgeven kysteholte. Biopsie en aansluitend histo-pathologisch onderzoek van de benige begrenzing van de concaviteit leverden geen bijzonderheden op.

Jacobs (1955), Fordyce (1956), Choukas en Toto (1960), Amaral en Jacobs (1960), Hayes (1961), Mack en Woodward (1969) e.a., vonden in de linguale uitholling een deel van de glandula submandibularis. In enkele gevallen werd de operatieve ingreep vooraf gegaan door sialografisch onderzoek, waarbij echter niet in alle gevallen een duidelijke samenhang tussen de afwijking en de klier kon worden vastgesteld. Desondanks trokken Seward (1960) en Stafne (1958), die toen 113 gevallen had geobserveerd, uit hun onderzoeken de conclusie dat de concaviteit vrijwel zeker