



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Peripheral nerve graft architecture affects regeneration

Vleggeert-Lankamp, Carmen Lia Anne-Marie

Citation

Vleggeert-Lankamp, C. L. A. -M. (2006, December 14). *Peripheral nerve graft architecture affects regeneration*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/5566>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/5566>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

SUMMARY IN DUTCH (SAMENVATTING)

Het belangrijkste doel bij het chirurgisch herstel van een perifere zenuwdoorsnijding is om het uitgroeiende axon terug te geleiden naar zijn doelorgaan, om dit te reinnerven. Als het niet mogelijk is om de zenuwstompen direct aan elkaar te zetten kan het defect overbrugd worden met zenuwweefsel van de patient zelf, een zogenaamde 'autograft', of met een synthetisch implantaat. Onderzoek op dit gebied richt zich op het verbeteren van de eigenschappen van een synthetisch zenuw implantaat met als doel zenuwherstel door een dergelijk implantaat te verbeteren totdat dit herstel vergelijkbaar of zelfs beter is dan met een autograft.

In dit proefschrift is een overzicht gegeven van de bestaande evaluatiemethoden om zenuwherstel te beoordelen. Hieruit blijkt dat het bestuderen van de zenuwmorfometrie (i.e. aantal zenuwvezels, dichtheid van zenuwvezels, N-ratio [= ratio van oppervlak van totaal van doorsneden van gemyeliniseerde zenuwvezels en oppervlakte van totale zenuw doorsnede]), van de succes ratio (= ratio van graft waardoorheen doorgroei heeft plaatsgevonden en totaal aantal geïmplanteerde grafts), van de CMAP (compound muscle action potential), van het gewicht van de spier en van een uitgebreide looppatroon allen voldoende gegevens opleveren om kleine verschillen in regeneratie op te sporen. Er is echter ook een aantal methoden die dat onderscheidend vermogen niet heeft en die derhalve geen rol dienen te spelen in de evaluatie van regeneratie.

Het palet van evaluatiemethoden dat gebruikt kan worden ten einde regeneratie door een synthetisch zenuw implantaat goed te kunnen beoordelen, blijkt geen methode te bevatten die het voortgeleiden van de actiepotentiaal goed evalueert, terwijl dit toch een van de belangrijkste, zo niet de belangrijkste taak is van het axon. Derhalve hebben wij een *in vitro* electrofysiologische evaluatiemethode ontwikkeld die de electrofysiologische eigenschappen van de gemyeliniseerde A α - en A β -axonen afzonderlijk in kaart brengt. Met behulp van de parameters die met deze methode bepaald konden worden bleken subtiele verschillen in regeneratie, zoals die optreden na implantatie van verschillende synthetische grafts, goed onderscheiden te kunnen worden. Bovendien konden de electrofysiologische data aan de eveneens in A α - en A β -vezels uitgesplitste morfometrische data worden gecorreleerd. Met name deze correlatie verschaftte nieuw inzicht in de veranderingen die optreden in regenererende axonen.

Een set evaluatiemethoden, te weten zenuwmorfologie, *in vitro* electrofysiologie en spiermorfologie, werd toegepast om te achterhalen of de aanwezigheid van porien in en de biodegradeerbaarheid van synthetische grafts ook daadwerkelijk gunstige eigenschappen zijn, zoals wordt aangenomen. Het is gebleken dat, vooropgesteld dat er een weefselbrug gevormd werd, regeneratie door microporeuze ϵ -caprolacton nerve grafts beter was op alle onderzochte gebieden. De vorming van een weefselbrug, een *conditio sine qua non* voor herstel, trad echter juist bij deze microporeuze caprolacton buisjes niet consequent op. Daarom

werd het effect van porositeit nogmaals onderzocht, nu met buisjes vervaardigd van een copolymeer van trimethyleencarbonaat en ϵ -caprolacton waardoor in alle gevallen doorgroei optrad. Opnieuw waren de resultaten van de poreuze buis beter, hetgeen bleek uit de kortere refractaire periode en de hogere drempelpotentiaal van de geregenereerde vezels. Een kortere refractaire periode stelt de zenuwvezel in staat om sneller een nieuwe actiepotentiaal voort te geleiden en zorgt daarmee voor een adequater contact tussen de aansturende zenuwcel en het doelorgaan. De waarneming dat de refractaire periode korter was dan verwacht mocht worden op basis van de afgenomen gemiddelde zenuwvezel diameter, werd geduid als een regeneratie strategie erop gericht om een zo gunstig mogelijk functioneren te realiseren ondanks de sterke afname van de vezeldiameter. De hogere drempelpotentiaal vermindert de waarschijnlijkheid dat er spontane actiepotentialen worden gegenereerd. Gezien het feit dat hyperexciteerbaarheid, c.q. een lage drempelpotentiaal en veel spontane actiepotentialen, gerelateerd lijkt aan neuropatische pijn, wordt een hogere drempelpotentiaal door ons beschouwd als een gunstige eigenschap. We postuleerden dat de aanwezigheid van microporiën de regenererende zenuwvezels een gunstig milieu verschaft om zo de maturatie van zenuwvezels te bevorderen. Aanpassingen in de ionkanaal samenstelling ter hoogte van de knopen van Ranvier liggen naar alle waarschijnlijkheid ten grondslag aan deze electrofysiologische veranderingen.

Dezelfde evaluatiemethoden werden gebruikt om de invloed van de degradeerbaarheid van een synthetisch zenuw implantaat op het regeneratieproces te onderzoeken. Ook nu bleek dat het de electrofysiologische eigenschappen waren die differentieerden tussen een degradeerbaar en een niet degradeerbaar synthetisch zenuw implantaat. Gemyeliniseerde zenuwvezels die regeneerden door een degradeerbare buis hadden een kortere refractaire periode en een gunstiger voortgeleide lading. Theoretisch is het voordeel van een degradeerbare graft dat er minder compressie is op de regenererende zenuw en dat de vreemd-lichaam-reactie minder lang duurt. Kennelijk leidt dit tot de regeneratie van axonen die electrofysiologisch gunstiger eigenschappen hebben.

Er werd tevens gekeken naar de veranderingen die optraden in gereïnnerveerde spieren. De bevindingen hielpen om een idee te krijgen over de preferentiele architectuur van een synthetisch zenuw implantaat. Het viel op dat in spieren die gereïnnerveerd werden door autografts (die eigenlijk slechts bestaan uit een verzameling van kleine buisjes die gevormd worden door de zogenaamde 'basal lamina scaffolds') een ander patroon van spiervezels ontstond in vergelijking met spieren die gereïnnerveerd werden door zenuwen die geïmplant waren met (holle) synthetische zenuw implantaten. In autografted spieren werden clusters van spiervezels van hetzelfde type (type I) waargenomen, in tegenstelling tot de individueel voorkomende type I vezels bij synthetisch geïmplant spieren. Uit de literatuur, en ook uit onze eigen waarnemingen, is bekend dat regenererende axonen zich vertakken. Indien de vertakkingen van een 'moederaxon' optreden terwijl het axon door een klein buisje ('basal lamina scaffold') groeit, zijn deze vertakkingen gedwongen bij elkaar te blijven en zullen derhalve aanleiding geven tot een clustering van alle spiervezels die door het 'moederaxon' worden

gereïnnerveerd. Aangezien het wenselijk lijkt om de vertakte zenuwvezels die uit hetzelfde neuron komen bij elkaar te houden om ze naar hetzelfde doelorgaan te geleiden, lijkt het wenselijk om een synthetisch zenuw implantaat te ontwikkelen dat die potentie heeft. Dat zou bijvoorbeeld kunnen door een synthetische zenuw implantaat te vullen met vele kleine buisjes waarin de vertakkende axonen bij elkaar gehouden kunnen worden.

Tenslotte is gekeken of de gebruikte biomaterialen compatibel zijn met Schwann cellen. Schwann cellen zullen onvermijdelijk in het implantaat aanwezig zijn omdat ze er naar toe migreren vanuit de proximale en distale zenuwstompen. Schwann cellen produceren groei factoren die zenuwregeneratie bevorderend zijn, en zijn noodzakelijk voor het functioneren van de zenuw. Uit de bestudering van de interactie van Schwann cellen met biomaterialen is gebleken dat er geen toxische reactie optreedt, dat Schwann cellen goed hechten aan de biomaterialen en er op delen. Tevens is gekeken hoe de interactie van Schwann cellen met verschillende coatings en matrices is. Het is gebleken dat een Schwann cel overal aan hecht, maar dat de cellen sneller delen op fibronectine, laminine en poly-D-lysine. Het lijkt dus nuttig om bij het maken van een eventuele matrix in een synthetisch zenuw implantaat deze materialen te gebruiken.

De gegevens gepresenteerd in dit proefschrift maken in ieder geval duidelijk dat het buitengewoon lastig is om te zeggen wat goed is en wat slecht met betrekking tot regeneratie. Het wordt steeds duidelijker dat er nog veel fenomenen in het veld van perifere zenuwregeneratie zijn die onvoldoende worden begrepen. Onze mening is dat verder onderzoek zich in eerste instantie zou moeten richten op het invullen van deze hiaten in deze kennis in plaats van op het willekeurig implanteren en evalueren van een continue stroom van steeds nieuwe synthetische zenuw implantaten met steeds wisselende eigenschappen.

