



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The role of inflammation in sciatica: the contradictory effect of macrophages

Djuric, N.

Citation

Djuric, N. (2021, November 4). *The role of inflammation in sciatica: the contradictory effect of macrophages*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3239007>

Version: 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/1887/3239007>

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



Summary in Dutch

Samenvatting

Ischias ten gevolge van een lumbale hernia wordt hoogstwaarschijnlijk niet alleen veroorzaakt door een mechanische compressie van de zenuwwortel, maar ook door pijn inducerende componenten van een ontstekingsproces. Deze ontstekingsreactie kan worden geïnitieerd door macrofagen wanneer zij de gehernieerde discus infiltreren. Echter kunnen macrofagen ook een gunstig effect hebben op het herstel, middels het resorberen van het gehernieerde discus materiaal. Hiermee speelt de aanwezigheid en het gedrag van macrofagen dus een cruciale rol in zowel de pijn beleving als het herstel proces. Het gedrag van de macrofagen is afhankelijk van hun differentiatie, welke kan worden gepolariseerd tot M1 en M2 macrofagen: M1 wordt geassocieerd met een pro-inflammatoir proces terwijl M2 met een anti-inflammatoir proces wordt geassocieerd. In een systematisch literatuur onderzoek demonstreerde we dat hoge concentraties van M1 gerelateerde pro-inflammatoire cytokines (TNF- α , TNFR1, IL-6, IL-8, IFN- γ) associeerde met hogere pijn scores. Daarnaast lieten we ook zien dat hoge concentraties van M2 gerelateerde anti-inflammatoire cytokines IL-4 en IL-10 associeerde met lagere pijnscores. Voor TGF- β werden geen associaties gevonden. Tevens werd de aanwezigheid van macrofagen (CD68) geassocieerd met lagere pijn scores tijdens de follow-up periode.

Nu het duidelijk is dat macrofaag infiltratie in de disc van belang is voor het klinische herstel, hebben we hun relevantie voor het herstel verder gevalideerd door middel van radiologisch bewijs. Met behulp van een retrospectieve histologische studie hebben we bekeken hoe macrofaag infiltratie de resorptie snelheid op MRI beïnvloedde tussen baseline en 1 jaar na de operatie.

Daarna zijn we, met dezelfde dataset, doorgegaan met het vinden van markers die de omvang van de macrofaag infiltratie en hun gedrag kunnen voorspellen. De eerste marker waar het oog op viel was het type hernia, waarbij complete uitdrijving (extrusie) werd vergeleken met uitpuiling (protrusie). Hierbij werd de hypothese gesteld dat extrusie zou resulteren in een omvangrijkere macrofaag infiltratie; aangezien dit type een grotere blootstelling heeft aan de systemische circulatie. De tweede marker was de aanwezigheid van Modic Changes (MC), die symbool staan voor fibrotische / inflammatoire veranderingen in de eindplaat. Van MC word geloofd dat ze correleren met een pro-inflammatoire omgeving, waardoor er een hoger percentage M1 macrofagen wordt verwacht en dus slechtere klinische uitkomsten bij een grotere hoeveelheid macrofagen.

De uitkomsten van dit onderzoek toonden ten eerste dat de mate van macrofaag infiltratie groter was in extrusie in vergelijking met protrusie disci. Ten tweede, met betrekking tot de klinische uitkomsten, vonden we dat de aanwezigheid van MC bepalend was voor het gedrag van macrofagen: Bij degene zonder MC resulteerde macrofaag infiltratie (CD68) in een vermindering van been pijn tijdens de follow-up na de operatie. Het tegenovergestelde effect was te zien bij patiënten met MC2, waar patiënten met macrofaag infiltratie significant meer door pijn werden belemmerd in hun dagelijkse leven in verlegijking met patiënten zonder inflammatie.

Wanneer de data vervolgens werd gesplit voor extrusies en protrusies, werd hetzelfde effect gezien op de klinische uitkomsten bij extrusies, terwijl bij protrusies geen significante resultaten werden gevonden. Samen genomen laat dit zien dat macrofaag infiltratie het meest voorkomt bij extrusies en dat dit voor de meeste patiënten betekent dat de hernia sneller resorbeert en de pijn sneller afneemt. Aan de andere kant wordt bij patiënten met MC een nadelig effect van macrofagen vastgesteld, wat resulteert in een langzamer herstel na de operatie.

Zoekende naar een gevoeliger marker voor ontstekingen dan extrusie van de discus, evalueerde we de betrouwbaarheid van gadolinium aankleuring op MRI als een marker voor macrofaag infiltratie. De mate van ontsteking, gemeten als hoeveelheid macrofagen, werd niet geassocieerd met gadolinium aankleuring van de zenuw of discus. Gadolinium werd dus beschouwd als een onbetrouwbare indicator om ontstekingen van de discus of zenuw wortel vast te stellen in patiënten met sciatica. Omdat MC associeerden met een nadelig effect van macrofaag infiltratie op de klinische uitkomsten, hebben we ons verder verdiept in de pathofysiologie van hernia's met MC in de aanliggende eindplaat. Aangezien MC een pathologie is van de eindplaat, zijn de effecten van eindplaat avulsie ook nader onderzocht. Eindplaat avulsie is een mechanisme van herniatie waarbij de integriteit van de disc verloren gaat door een scheur in de eindplaat in plaats van een scheur in de annulus fibrosus. In onze Proteomic en bioinformatica studie vonden we dat MC associeerden met een verandering in eiwit expressie in de nucleus pulposus, deze verandering symboliseerde een vermindering in de 'detoxificatie van reactive oxygen species (ROS)' (een vermindering in het onschadelijk maken van schadelijke producten) en een vermindering in de aanwezigheid van het complement systeem en immuun systeem.

Daarentegen werd avulsie van de eindplaat, in vergelijking met een annulus scheur, geassocieerd met een toename van coagulatie en detoxificatie van ROS. Samengenomen kan avulsie van de eindplaat gezien worden als een traumatisch letsel van de eindplaat waarna een wondgenezing proces van het lichaam volgt, terwijl MC een afname van een gezond immuunsysteem symboliseert, welke wordt veroorzaakt door een afname in kwantiteit of door een verandering in functionaliteit/differentiatie. Wanneer deze bevinding wordt gecombineerd met de eerdere bevindingen waarbij MC associeerde met een negatief voorspellende waarde van macrofaag infiltratie op de klinische uitkomsten, is een verandering in differentiatie profiel de meest aannemelijke oorzaak voor de gevonden 'afname van een gezond immuun systeem'. Dit differentiatie profiel is nader uitgezocht in een histologische pilot studie. In lijn met de verwachtingen toonde de resultaten van deze studie dat M2 (CD163+) het dominerende type macrofaag was in discus samples en dat het percentage M2 lager lag in patiënten met MC in vergelijking met degene zonder MC.

In deze studie hebben we gedemonstreerd dat macrofagen een cruciale rol spelen in lumbale discus hernia's, in de meeste gevallen differentiëren macrofagen naar M2 waardoor ze het resorptieproces van de discus bevorderen en de patiënten sneller van hun ischias klachten af zijn. Maar bij patiënten met MC differentiëren ze minder naar M2, wat leidt tot een toename in belemmeringen in het dagelijkse leven en een langzamer herstel. De pathofysiologie die ten gronde ligt aan de nadelige effecten van MC wordt nog steeds niet helemaal begrepen. Recente studies toonden aan dat MC geassocieerd zijn met bacteriële infecties van de discus, hetgeen een bekende trigger is voor een shift in differentiatie profiel van M2 naar M1 en dus een verklaring zou kunnen zijn voor het afwijkende differentiatieprofiel bij MC patiënten. Samen genomen zijn er 3 subgroepen hernia patiënten, die elk een eigen behandelingsstrategie nodig hebben: Ten eerste, de groep met hernia's zonder macrofaag infiltratie, waarbij de hernia waarschijnlijk langzaam spontaan zal resorberen en de patiënt zal baten bij een vroege operatie. Ten tweede, een groep met een M2 dominante inflammatie response, waarbij de hernia waarschijnlijk spontaan zal resorberen waardoor deze groep het meeste baat zal hebben bij een conservatief beleid. Ten derde, patiënten met een nadelige M1 gedomineerde inflammatie response, waarbij het onwaarschijnlijk is dat de hernia spontaan resorbeert en een operatie ook de klachten niet volledig weg zal halen; aangezien er dan een ontstekingsreactie achter kan blijven die de zenuw blijft irriteren. Deze derde groep heeft wellicht een additionele antibiotica behandeling nodig indien er sprake is van een infectie; wanneer de inflammatie daarentegen een autologe aard heeft, is een arthrodese operatie wellicht aan de orde.

Voordat zulke gepersonaliseerde behandelstrategieën kunnen worden geïmplementeerd, dienen we eerst niet-invasieve biomarkers te identificeren middels MRI of bloed samples, die macrofaag infiltratie en differentiatie kunnen herkennen met hoge sensitiviteit en specificiteit. Verder zal ook de invloed van bacteriën en andere oorzaken op macrofaag differentiatie in de discus verder moeten worden onderzocht. Daarom bevat het laatste hoofdstuk een nieuw studie protocol dat gericht is op het vinden van deze biomarkers en het ontrafelen van de factoren die macrofaag differentiatie beïnvloeden: "Effect of Infection, Modic and Inflammation on Clinical Outcomes in Radiculopathy" (EIMICOR). Hopelijk kunnen we met de resultaten van deze nieuwe trial gepersonaliseerde behandelingsstrategieën gaan implementeren die de hersteltijd en de ziektelast van alle patiënten significant zullen verbeteren.