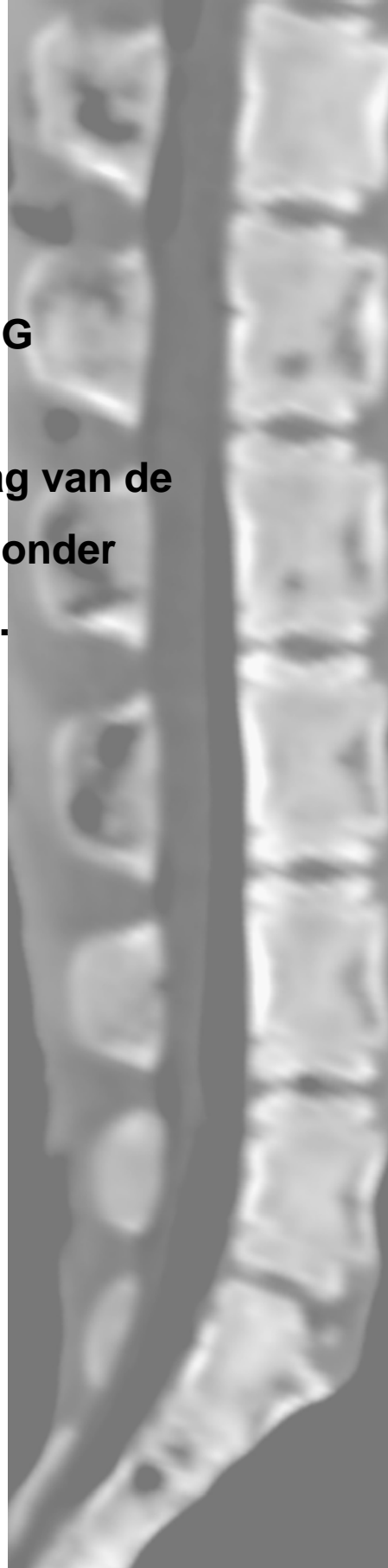


## **SAMENVATTING**

**Het mechanisch gedrag van de  
tussenwervelschijf onder  
duurbelasting.**



De wervelkolom geeft structuur aan de romp; het is een van de hoofdstructuren van het steun- en bewegingsapparaat. De wervelkolom is flexibel en geeft zo bewegingsvrijheid aan het lichaam. Om deze rol te kunnen vervullen moet de wervelkolom, en alle onderdelen waaruit zij is opgebouwd, in staat zijn om de optredende mechanische belasting te dragen. De belasting op de wervelkolom komt voornamelijk voort uit de werking van buik- en rugspieren en wordt in mindere mate veroorzaakt door het gewicht van hoofd en romp. De grootte van deze spierkracht wordt bepaald door voorkomende dagelijkse activiteiten. Zo is, tijdens een onderzoek van de groep van Wilke, de laagste belasting gemeten tijdens liggen en de hoogste belasting tijdens tillen. De belasting op de wervelkolom was tijdens het tillen 25 keer hoger dan tijdens liggen. Uit dit onderzoek blijkt tevens dat, *in vivo*, de belasting op de wervelkolom nooit nul is.

De wervelkolom is opgebouwd uit 24 wervels. De zeven cervicale wervels bevinden zich in het halsgebied, 12 thoracale wervels bevinden zich in het borstgebied en 5 lumbale wervel bevinden zich in het buikgebied. Het verschil tussen enerzijds thoracale wervels en anderzijds de lumbale en cervicale wervels is de aanwezigheid van gewrichtsvlakken voor de ribben op de thoracale wervels. Verder neemt de grootte van de wervellichamen toe naarmate ze lager in de wervelkolom zitten. Tenslotte is de stand van de gewrichtsvlakken aan de achterzijde, de facetgewrichten, afhankelijk van de positie in de wervelkolom. Deze gewrichtsvlakken bepalen in welke richtingen de wervelkolom kan bewegen.

Elk van de wervels is met de naastliggende wervels verbonden doormiddel van een tussenwervelschijf (in het vervolg afgekort tot tws). De tussenwervelschijven zijn de flexibele elementen van de wervelkolom en zorgen voor de beweeglijkheid van de romp. De wervels kunnen tijdens het voor- en achterwaarts buigen bewegen in de flexie/extensie richting, bij het zijdelings buigen bewegen in de latero-flexie richting en bij een draai beweging van de romp draaien om haar eigen as. De mate van

bewegelijkheid, per richting, is afhankelijk van de plaats van de wervel in de wervelkolom.

De tussenwervelschijf kan worden onderverdeeld in drie delen: de nucleus pulposus, de annulus fibrosus en de beide eindplaten.

De nucleus pulposus is de geleïachtige kern van de tussenwervelschijf. De nucleus is opgebouwd uit proteoglycanen (lange ketens van water aantrekkende moleculen), uit collageenvezels (vooral collageen type I), maar vooral uit water. Ongeveer 80% van het gewicht van de nucleus bestaat uit water. De onderlinge verhouding van de bestanddelen van de nucleus is leeftijdsafhankelijk. Echter, het watergehalte van de tussenwervelschijf is ook afhankelijk van de belasting op de tws. Het watergehalte daalt onder belasting maar is na een nacht rusten weer toegenomen tot het oorspronkelijke niveau.

De annulus fibrosus is een ringvormige structuur die de nucleus pulposus in radiale richting opsluit. De annulus is opgebouwd uit rondlopende lagen collageenvezels (vooral collageen type II). In elke laag lopen de collageenvezels parallel aan elkaar. Deze vezels lopen van de onderste eindplaat van de bovenliggende wervel naar de bovenste eindplaat van de wervel eronder. De hoek die de vezels met de eindplaat maken is afhankelijk van de plaats in de tussenwervelschijf, deze hoek varieert tussen de 20 en 40 graden. De hoek die de vezels ten opzichte van de eindplaat maken draait in elke opeenvolgende laag om. Met andere woorden: vanuit de nucleus gezien wisselt de richting van de vezels van gemiddeld +30 graden naar -30 graden. De opbouw van de annulus, met zijn gelaagde structuur en met zijn afwisselende vezelrichtingen, zorgt ervoor dat de nucleus vloeistofdruk kan opbouwen en zo dat de externe belasting door de tws gedragen kan worden. Het laatste onderdeel van de tws is de eindplaat. De eindplaten sluitende nucleus pulposus, aan boven- en onderzijde, af van het wervellichaam. Het wervellichaam bestaat uit sponsachtig bot gevuld met beenmerg. De eindplaat zelf bestaat uit vezelig kraakbeen, de vezels van de annulus zijn in

de beide eindplaten verankerd. Als de wervelkolom wordt belast, loopt de druk in de nucleus op. Hierdoor stult de nucleus in zowel de radiale als in verticale richting uit.

De voornaamste belasting op een wervelsegment, dat uit twee wervellichamen en de tussenwervelschijf bestaat, is een compressiekracht die van eindplaat naar eindplaat loopt. Ten gevolge van de externe belasting wordt in de nucleus pulposus een vloeistofdruk opgebouwd hierdoor worden de collageenvezels van de annulus fibrosus op trek belast. De proteoglycanen, de negatief geladen moleculen in de nucleus die het water vasthouden, kunnen onder belasting minder water binden en laten het overtollige water los. Dit water gaat via de annulus of de eindplaten terug in het lichaam. Doordat er water uit de nucleus verdwijnt, neemt de concentratie van proteoglycanen toe. Het verschil in osmotische waarde tussen de nucleus en zijn omgeving neemt dus toe en hiermee het vermogen van de nucleus om mechanische belastingen te dragen. De nucleus blijft water uitscheiden totdat de uitwendige compressie belasting in evenwicht is met het dragende vermogen van de nucleus. Met andere woorden, totdat evenwicht is bereikt met de osmotische druk van de nucleus. Tegelijkertijd met het uitstromen van vloeistof uit de nucleus worden de vezels van de annulus door de trekkracht opgerekt. De tws verliest hoogte en de hydrostatische druk in de tws neemt af. In deze processen speelt tijd een belangrijke rol. Het vervormen van de tws in de tijd, als gevolg van een constante duurbelasting, wordt kruip genoemd. Het gecombineerde proces van oprekken van de annulus en het in en uit stromen van vloeistof van de nucleus is een complex proces waaraan alle bouwstenen van de tussenwervelschijf hun bijdrage leveren.

De wervelkolom is één van de eerste structuren die aan het begin van de ontwikkeling wordt aangelegd. Reeds 14 dagen na conceptie is de tws in aanleg aanwezig. Dit is het begin van een lang ontwikkelingsproces dat pas

voltooid is als men lichamelijk volgroeid is. Gedurende deze groei veranderen zowel de grootte als de belasting van de tws. De tws is de grootste structuur in het lichaam dat niet door het vaatstelsel (bloedvaten) van voeding wordt voorzien. De tws is niet gevasculariseerd, dit houdt in dat het transport van voedingsstoffen van en naar de cellen van de tws via een diffusieproces verloopt. De cellen in de nucleus hebben derhalve een laag metabolisme. Hierdoor zijn de nucleuscellen niet goed in staat om optredende schade aan de structuur van de tws te herstellen. De kwaliteit en functionaliteit van de tws gaat in de loop van de jaren achteruit. Deze verminderde functie of degeneratie wordt bij de meerderheid van oudere mensen gevonden. De degeneratie wordt gezien als een mogelijke bron van pijnklachten. Het is daarmee niet verwonderlijk dat de meerderheid van de mensen gedurende een periode van hun leven last krijgen van (lage)rugpijn. Per jaar krijgt 17% van de Nederlanders last van lage rug pijn. Het is daarmee één van de grote sociaal-economische kostenposten in Nederland. In Nederland alleen leverde dit in 1991 een bedrag van 1.4 miljard euro aan kosten op.

Het doel van het wervelkolomonderzoek binnen het VU Medisch Centrum is het verbeteren van de behandeling van lage rugpijn en, zo mogelijk, het voorkomen er van. De tussenwervelschijf speelt een belangrijke rol in de mechanica van de wervelkolom en bij het ontstaan van lage rugpijn. Daarom is een grondige kennis van de mechanica van de tws noodzakelijk om het zjuist geschetste doel te bereiken. In de literatuur, echter, wordt het mechanische gedrag vooral beschreven vanuit kortdurende testen en veelal vanuit een onbelaste toestand. Hierdoor wordt er te weinig rekening gehouden met de belastingsgeschiedenis van de tws. Het doel van het onderzoek dat in dit proefschrift staat beschreven, is het opvullen van deze lacune in kennis. De titel en leidraad van dit proefschrift is de invloed van duurbelasting op het mechanisch gedrag van de lumbale tussenwervelschijf *in vitro*.

In het tweede hoofdstuk wordt getoond dat alle delen van een wervelsegment (dus bot, eindplaat en de verbindende zachte weefsels) een rol spelen in de totale vervorming van de tussenwervelschijf. De vervorming ten gevolge van een duurbelasting gaat in de loop van de tijd naar een constante eindwaarde. De tijdconstante is de tijd die het proces nodig heeft om twee-derde van deze eindwaarde te bereiken. De verwachting is dat elk van de afzonderlijke delen van een segment een andere tijdconstante heeft. In deze studie vergelijken we de bijdrage van de verschillende delen aan de totale vervorming van het segment. Hiervoor hebben we naast een wervelsegment en een tussenwervelschijf ook een losse wervel getest. Behalve naar het verschil in mechanisch gedrag van de afzonderlijke delen, wordt in deze studie ook gekeken naar het verschil in mechanisch gedrag tussen bot van het wervellichaam met en zonder eindplaten. Hiervoor zijn met een holle boor botpluggen uit het wervellichaam geboord. Alle groepen zijn op een vergelijkbaar belastingsniveau getest (drie cycli, elk bestaande uit een belastingfase; gedurende 15 minuten een statische druk van 2.0 MPa en een rustfase; gedurende 30 minuten onbelast). De verschillende delen, bot, eindplaat en tussenwervelschijf blijken een verschillend mechanisch gedrag te vertonen. De tijdconstante van de verschillende groepen varieert sterk. De botstructuur van het wervellichaam heeft een korte tijdconstante (de tijdconstante van bot is ongeveer 0.02 minuut). Het kruipproces van het bot is relatief snel op zijn eindwaarde, de tijd speelt hierdoor een slechts beperkte rol bij het belasten van bot. Hierna volgt het kruipen van de eindplaat (de tijdconstante van bot + beide eindplaten is ongeveer 0.25 minuut) en tenslotte duurt het kruipen van de weke delen het langst (de tijdconstante van de gehele tussenwervelschijf is bijna een uur). Het gevolg is dat in een segment bot en eindplaat gedurende de vroege kruipfase een rol spelen, terwijl gedurende de late kruipfase vooral de zachte weefsels vervormen. Uit de resultaten blijkt verder dat de vervorming van de eindplaat groot genoeg is om een rol te spelen in de totale

vervorming van een segment. Het laatste heeft consequenties voor de test opzet voor mechanische testen van bewegingssegmenten in het algemeen, in geval van een mechanische test moet het bewegingssegment bestaan uit de tws en beide naastliggende, halve, wervellichamen en niet zoals vaak wordt gedaan een tws met de gehele naastliggende wervels met de buitenste eindplaten er nog aan vast.

In het derde hoofdstuk laten we zien dat het herstel van de hoogte van de tussenwervelschijf, na wegnemen van de belasting, niet even snel verloopt als het verlies van hoogte tijdens het belasten. Bij de mens is de lengte van de rustperiode is niet gelijk aan de belastingsduur. Mensen hebben een dagnachtritme dat ook in het krachtenspel in de wervelkolom doorwerkt. Van de 24 uur in een dag wordt ongeveer twee derde deel van de tijd actief gebruikt en slechts een derde gerust. Ondanks het verschil in rust en belastingsduur heeft het lichaam na 24 uur weer haar uitgangssituatie bereikt. Het verlies aan lichaamslengte, wat door de dagelijkse belasting is ontstaan, is na voldoende (nacht)rust weer hersteld. Met andere woorden, de vloeistof die ten gevolge van het belasten uit de tussenwervelschijf is weggestroomd, is na rust weer opgenomen.

Dit is in tegenspraak met de *in vitro* experimenten van de hoofdstukken twee en drie. Tijdens deze experimenten was de duur van de rust tweemaal zo lang als duur van de belasting. Ondanks de langere hersteltijd was het verlies aan hoogte na ontlasten niet gecompenseerd. Gedurende de drie belastingcycli (elke cyclus bestond uit 15 minuten belasten en 30 minuten rust) bleek de tussenwervelschijf hoogte te verliezen. De kuipkrommen gedurende de herstelfase waren echter vrijwel identiek. Tevens nam de hydrostatische druk in de nucleus af gedurende de belastingsfase en herstelde niet gedurende de rust. Dit is in tegenspraak met het dagelijkse belastingspatroon. In eerste instantie hebben wij de verklaring hiervoor gezocht in obstructie van de eindplaat. In de eindplaat lopen kanaaltjes van het wervellichaam naar de nucleus. Als deze kanaaltjes aan de buitenzijde

geblokkeerd zijn door bijvoorbeeld bloedstolsels zouden deze met name het instromen kunnen belemmeren en zo het herstel vertragen. Op deze manier zou er een verschil kunnen ontstaan tussen *in vivo* en *in vitro* mechanisch gedrag. De studie laat zien dat de eindplaat mogelijk een rol speelt in de verschillen tussen *in vivo* en *in vitro* mechanisch gedrag.

In de studie van het vierde hoofdstuk is gekeken naar de invloed van de eindplaat op het herstel. In hoofdstuk drie was de externe belasting een statische compressiekracht, de belasting varieerde niet in de tijd. Echter, de belasting in het dagelijks leven varieert continu. Gezien de tijdconstante van het mechanisch gedrag van een segment is de verwachting niet dat dit een wezenlijk verschil maakt op het herstel, desondanks is ook dit aspect in de studie van hoofdstuk vier meegenomen.

In deze studie zijn de geteste wervelkolommen afkomstig uit geiten. De tussenwervelschijven zijn in vier groepen verdeeld. Twee groepen hebben een statisch belastingsprotocol ondergaan (2.0 MPa) en de andere twee groepen een dynamisch protocol (sinusvormig, gemiddelde druk 2.0 MPa, 0.5 Hz). Zowel de statische als de dynamische groep is onderverdeeld in twee subgroepen: een groep met een open eindplaat en een groep met een afgesloten eindplaat.

Het testprotocol bestaat uit twee delen: het eerste deel is een belastingsprotocol wat vergelijkbaar is met het protocol uit het vorige hoofdstuk en het tweede deel bestaat uit een enkele belastingscyclus gevolgd door een lange rust periode van 10 uur. Voorafgaand aan het tweede deel van de test is elke tussenwervelschijf uit de opstelling genomen. Waarna de beide eindplaten van tussenwervelschijven uit de groep met afgesloten eindplaat zijn dicht gesmeerd met siliconenpasta, terwijl de eindplaten van de rest zijn vrij gebleven.

Gedurende het eerste deel van de test vertoonden alle groepen een verlies aan hoogte en een toename van compressiestijfheid. Er was in deze fase dus geen verschil met de bevindingen uit eerdere experimenten. De



resultaten van het experiment bevestigen dat *in vitro* dynamische belasting geen effect heeft op het herstel gedurende de rustfase. De verwachting was dat gedurende het tweede deel van de test, de 10 uur durende herstelfase, er een verschil zou ontstaan tussen de groepen met een afgesloten en de open eindplaat. Tenslotte, één van de routes voor de vloeistofstroom is afgesloten. Het verschil tussen de groep met afgesloten en open eindplaat bleek echter marginaal te zijn. De mechanische eigenschappen zijn na de lange rustperiode in beide groepen terug op de uitgangswaarde. Een tussenwervelschijf kan kennelijk wel herstellen, maar dat duurt erg lang. Het verschil in mechanische eigenschappen, was statistisch gezien niet significant. Kennelijk is de rol van de eindplaat inzake het herstel van de tussenwervelschijf klein.

Deze resultaten laten zien dat de invloed van de eindplaat niet kan verklaren dat, *in vitro*, het herstel van de tussenwervelschijf achter blijft bij het inzakken ervan. Het volledig herstel *in vivo*, waarbij er 16 uur belast wordt tegenover 8 uur rust, suggereert dat de stroomsnelheid van vloeistof die de tussenwervelschijf ingaat hoger moet zijn dan van vloeistof die eruit stroomt. Dit is in tegenspraak met het gedrag dat in voorgaande experimenten wordt getoond: onvoldoende herstel zelfs als de rustfase tweemaal zo lang is als de belastingsfase.

Als door een externe belasting vloeistof uit de tussenwervelschijf wordt geperst verandert de concentratie aan proteoglycanen in de nucleus en daarmee de elektrische lading van de nucleus (dwz de osmolariteit). Om de verschillen in stroomsnelheid tussen de in- en uitstroom van vloeistof te onderzoeken, hebben wij in hoofdstuk vijf de effecten die ontstaan door verschil in osmotische waarden gescheiden van het effect dat ontstaat door het mechanisch belasten. Gedurende de eerste fase van de test is een compressiekracht van 150, 300, 600 of 850N op de tussenwervelschijf gezet. Deze kracht is gedurende de hele test van 66 uur op de tussenwervelschijf blijven staan. De test is onderverdeeld in drie fasen. De

eerste fase van 18 uur is gebruikt om een evenwicht tussen de osmotische druk van de nucleus en de uitwendige kracht te bereiken. Aan het begin van de tweede fase, die 24 uur duurt, is de osmolariteit van de vloeistof waarin de test wordt uitgevoerd verlaagd. De verwachting is dat gedurende deze fase de vloeistof weer de tussenwervelschijf instroomt. Aan het begin van de derde en laatste fase van 24 uur is de osmolariteit weer terug gebracht op het oorspronkelijke niveau. De vloeistofstroom zou hierdoor moeten omkeren, de tws moet de vloeistof weer uitscheiden.

De tussenwervelschijf verloor snel hoogte op de eerste dag, herwon traag een deel van de hoogte op de tweede dag en verloor deze hoogte weer tijdens de derde dag. Het gemeten hoogteverschil is afhankelijk van de grootte van de aangebrachte belasting: hoe hoger de belasting, hoe lager de hoogtewinst. Van de verschillende testfasen is de tijdconstante van de hoogteverandering bepaald. Het hoogteverlies tijdens het aanpassen aan de mechanische belastingen, gedurende de eerste dag, gaat het snelst (tijdconstante 1 uur). Ook in de volgende twee fasen, waarin vloeistof in en uitstroomt door osmose verschillen, blijkt hoogteverlies sneller te gaan dan hoogtewinst (tijdconstante van instroom 8.6 uur, van uitstroom 7.2 uur). Deze getallen laten duidelijk zien dat de aanpassingen aan de osmoseverschillen gedurende de laatste twee testfasen veel trager zijn dan het aanpassen aan de mechanische belasting.

Deze uitkomst suggereert dat het hoogteverlies zoals is beschreven in eerdere hoofdstukken vooral wordt veroorzaakt door het snel oprekken van de annulus vezels gecombineerd met een snel vloeistofverlies door het actief uitpersen van vloeistof door de belasting. Het herstel daarentegen kan worden opgedeeld in een snel, elastisch, herstel van de opgerekte annulus vezels en een passief, traag instromen van vloeistof.

Tijdens eerdere experimenten werd gedurende een cyclisch belastingsprotocol, waarbij de rustperiode langer duurde dan de belastingsperiode, geen evenwicht bereikt. De hypothese was dat dit werd veroorzaakt doordat

dat de eindplaat verstopt was door bloedstolsels. De veronderstelling was dat de eindplaat hierdoor vloeistof wel naar buiten zou doorlaten maar niet naar binnen. Dit model wordt echter niet ondersteund door de resultaten uit hoofdstuk 4. Een verstopte eindplaat lijkt niet de oorzaak te zijn van het verschil in het mechanisch gedrag tussen belasten en rust. Om de invloed van de eindplaat nader te onderzoeken zijn de tussenwervelschijven voor het experiment van hoofdstuk 6 in twee groepen verdeeld. De eerste groep is behandeld met heparine, dit middel zorgt ervoor er geen bloedstolsel gevormd worden, de tweede groep was niet behandeld.

Tijdens deze studie wordt de tws belast volgens een belastingsregime waarbij de belastingsfase, net als in het dagnachtritme van de mens, tweemaal zo lang is als de rustfase. De totale testduur is 24 uur. De totale testduur is opgedeeld in acht belastingscycli. Elke cyclus bestaat uit een belastingsfase (2 uur, sinusvormig 0.5Hz en een gemiddelde druk: 0.5MPa) gevolgd door een rustfase (1 uur, statische belasting, druk: 0.2MPa).

Het mechanische gedrag van de tussenwervelschijf stabiliseerde zowel in de heparine groep als in de controle groep na drie cycli. In de daarop volgende cycli werd het hoogteverlies van de belastingsfase gecompenseerd in de herstelfase. Deze bevinding ondersteunt de hypothese dat het hoogteverlies vooral komt door een snel vloeistofverlies gecombineerd met het snel oprekken van de annulus vezels terwijl de rustfase wordt gekenmerkt door een snel herstel van de opgerekte annulus vezels en een traag instromen van vloeistof in de nucleus.

Er is geen verschil gevonden tussen de resultaten van de groep behandeld met heparine en de groep zonder heparine, derhalve wordt de hypothese dat de eindplaatroute voor vloeistofstroom geblokkeerd was door bloedstolsels niet door de resultaten ondersteund.

De resultaten, die in dit proefschrift zijn gepresenteerd, kunnen vertaald worden naar het gedrag van de tussenwervelschijf in het dagelijkse leven.

De respons van een tussenwervelschijf op een mechanische belasting wordt mede bepaald door zijn belastingsgeschiedenis. De dikte en de stijfheid van de tussenwervelschijf variëren in dezelfde dagelijkse cyclus als de waterinhoud van de nucleus. De interne verdeling van de belasting in de tussenwervelschijf is ook hiervan afhankelijk. Het is denkbaar dat schade aan de eindplaat te vermijden is door 's ochtends, op het moment dat de waterinhoud van de nucleus het hoogst is, piek belastingen te vermijden.

De resultaten uit dit onderzoek hebben ook gevolgen voor het *in vitro* onderzoek naar de mechanica van de tussenwervelschijf in het algemeen. *In vivo* zijn de mechanische eigenschappen van de tussenwervelschijf afhankelijk van het meetmoment in de dag-nacht cyclus, dus van de belastingsgeschiedenis voor dat moment. Evenzo zijn de resultaten van *in vitro* onderzoek afhankelijk van de belastingsvoorgeschiedenis. Het voorbelasten, voorafgaande aan het eigenlijke onderzoek, bepaalt de uitkomst ervan. Daarom moet het onderzoek, via deze voorbelasting, gericht zijn op een gekozen moment in de dag-nacht cyclus van de mens.

Bij een meerderheid van de ouderen wordt in een of meer tussenwervelschijven degeneratie gevonden. Degeneratie is een risicofactor voor rugpijn, Dit houdt in dat de kans op rugpijn in een groep met degeneratie groter is dan in een groep zonder degeneratie. Degeneratie wordt mogelijk veroorzaakt doordat de nucleuscellen, na het bereiken van volwassenheid, niet in staat zijn om afbraak van en schade aan de tws te compenseren. De dagelijkse belastingen kunnen leiden tot schade aan de tussenwervelschijf en zo degeneratie te bespoedigen. Echter, het niet belasten van de wervelkolom is geen optie omdat de wervelkolomcellen belasting nodig hebben om goed te functioneren. Het lijkt er dus op dat ouder worden gepaard zal gaan met degeneratie van de tws. In deze visie is degeneratie van de tussenwervelschijf geen ziekteverschijnsel maar een natuurlijk onderdeel van het ouder worden. Dit verandert natuurlijk als de degeneratie gepaard gaat met pijnklachten. Gegeven het algemeen

voorkomen van degeneratie en het ontbreken van een één-op-één relatie tussen degeneratie en pijnklachten zal er niet gezocht moeten worden naar methodes om degeneratie in het algemeen te voorkomen, maar naar methodes om de klachten te verhelpen bij de groep die er nadelige gevolgen van ondervindt. Het ondersteunen van de lichaamseigen reparatiefunctie, bijvoorbeeld door het injecteren van eigen vetstamcellen, om zo de tussenwervelschijfstructuur te reconstrueren, is een mogelijk een veelbelovende therapie voor deze groep.

De kennis opgedaan in dit promotieonderzoek, is nodig voor het ontwikkelen van deze nieuwe behandelwijzen.

