

# Patiënt-specifieke biologische eigenschappen om de klinische uitkomst van voorste-kruisbandreconstructies te voorspellen: een in vitro microweefselplatform

**Citation for published version (APA):**

van Vijven, M., van Groningen, B., Kimenai, J. N., van der Steen, M., van Doeselaar, M., Janssen, R. P. A., Ito, K., & Foolen, J. (2020). Patiënt-specifieke biologische eigenschappen om de klinische uitkomst van voorste-kruisbandreconstructies te voorspellen: een in vitro microweefselplatform. *Medisch Journaal van het Maxima Medisch Centrum*, 49(2), 68-70. <https://www.mmc.nl/wp-content/uploads/2021/01/medisch-journaal-02-2020.pdf>

**Document status and date:**

Gepubliceerd: 01/01/2020

**Document Version:**

Uitgevers PDF, ook bekend als Version of Record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.tue.nl/taverne](http://www.tue.nl/taverne)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[openaccess@tue.nl](mailto:openaccess@tue.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Patiënt-specifieke biologische eigenschappen om de klinische uitkomst van voorste-kruisbandreconstructies te voorspellen: een in vitro microweefselplatform

## Auteurs

M. van Vijven

MSc: promovendus Biomedische Technologie<sup>1,2</sup>

drs. B. van Groningen

AIOS-Orthopedie<sup>3</sup>

J.N. Kimenai

MSc: tijdens het onderzoek masterstudent

Biomedische Technologie<sup>1</sup>

dr. M.C. van der Steen

onderzoekscoördinator Orthopedie<sup>3,4</sup>

ing. M. van Doeselaar

analist<sup>1</sup>

dr. R.P.A. Janssen

orthopedisch chirurg, opleider Orthopedie<sup>1,3,5</sup>

prof. dr. K. Ito

professor Biomedische Technologie<sup>1,2</sup>

dr. ir. J. Foolen

assistent-professor Biomedische Technologie<sup>1,2</sup>

## Trefwoorden

Voorste-kruisbandreconstructies, hamstringpees-autograaft, patiënt-specifieke screening, in vitro diagnostisch micro-weefselplatform

## Introductie

Jaarlijks worden in Nederland ongeveer 9000 voorste-kruisbandreconstructies uitgevoerd, vaak met een autograaft van een semitendinosuspees, al dan niet in combinatie met een gracilispees.<sup>1</sup> In de jaren na de operatie remodelleert deze graft totdat de structuur meer lijkt op die van de originele voorste kruisband. Remodellering gebeurt in grofweg drie fasen: de vroege-genezingsfase, de proliferatiefase en de ligamentisatiefase.<sup>2</sup> In de vroege-genezingsfase (ongeveer de eerste vier weken na de operatie)

## Hoofdpunten

- Patiënt-specifieke ceileigenschappen uit weefsel voor hamstringpees-autografts zijn relevant voor de klinische uitkomst van voorste-kruisbandreconstructies.
- Een grote verscheidenheid aan patiënt-specifieke ceileigenschappen gerelateerd aan weefselremodellering kan worden gemeten in een in vitro micro-weefselplatform.
- Het intact blijven of lostrekken van de micro-weefsels en de collageen-I-productie laten een leeftijdsafhankelijkheid zien die vergelijkbaar is met de klinische leeftijdsafhankelijkheid van graft-ruptuur.

zorgt de afwezigheid van detecteerbare revascularisatie voor celnecrose in de graft. Necrotische cellen scheiden onder andere matrix metalloproteinases (MMPs) uit. MMPs breken collageen in de extracellulaire matrix – vooral collageen-I, wat parallel aan de belastingsrichting van het weefsel ligt – af. In de proliferatiefase (ongeveer de tweede en derde maand na de operatie) komen myofibroblasten uit de synoviale vloeistof de graft binnen. Deze myofibroblasten zijn gekenmerkt door expressie van  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA), in tegenstelling tot de oorspronkelijke fibroblasten uit de graft, die gekenmerkt zijn door expressie van tenomoduline. De myofibroblasten produceren relatief veel MMPs en collageen-III, wat willekeurig georiënteerd neergelegd wordt. Tezamen zorgen deze ontwikkelingen ervoor dat de sterkte van de graft afneemt. Tijdens de ligamentisatiefase (tot twee jaar na de operatie) herstelt het fibroblast-achtige celfenotype in de graft zich grotendeels. Deze cellen oriënteren zich parallel aan de belastingsrichting, en produceren collageen-I, eveneens parallel aan de belastingsrichting. Hierdoor neemt de graftsterkte weer toe, maar deze bereikt zelden de sterkte van de oorspronkelijke voorste kruisband.<sup>2</sup>

In het algemeen zijn de klinische resultaten van voorste-kruisbandreconstructies goed.<sup>2</sup> De graft scheurt echter bij ongeveer 10%, en bij patiënten jonger dan 20 jaar loopt dit op tot 30% van de patiënten.<sup>3</sup> In hoeverre patiënt-specifieke verschillen in weefselremodellering het risico op graft-ruptuur beïnvloeden is niet bekend. Het doel van dit onderzoek was daarom het identificeren van

<sup>1</sup> Orthopedische Biomechanica, Faculteit Biomedische Technologie, TU Eindhoven.

<sup>2</sup> Instituut voor Complexe Moleculaire Systemen, TU Eindhoven.

<sup>3</sup> Orthopedie & Traumatologie, Máxima MC.

<sup>4</sup> Orthopedie, Catharina Ziekenhuis Eindhoven.

<sup>5</sup> Fontys Hogeschool Eindhoven.



Figuur 1.

Schematisch overzicht van het micro-weefselplatform. Aan het systeem met tien paaltjes (grijs) werd een celsuspensie in collageen-I-gel (roze) toegevoegd. In de daaropvolgende 48 uur remodelleerden de cellen de gel tot een micro-weefsel. Het weefsel werd losgemaakt bij de buitenste vier paaltjes, resulterend in weefselremodellering in de volgende 48 uur.

weefselremodellering-gerelateerde patiënt-specifieke eigenschappen van cellen uit hamstringpezen met potentiële voorspellende waarde voor graft-ruptuur in een in vitro micro-weefselplatform.

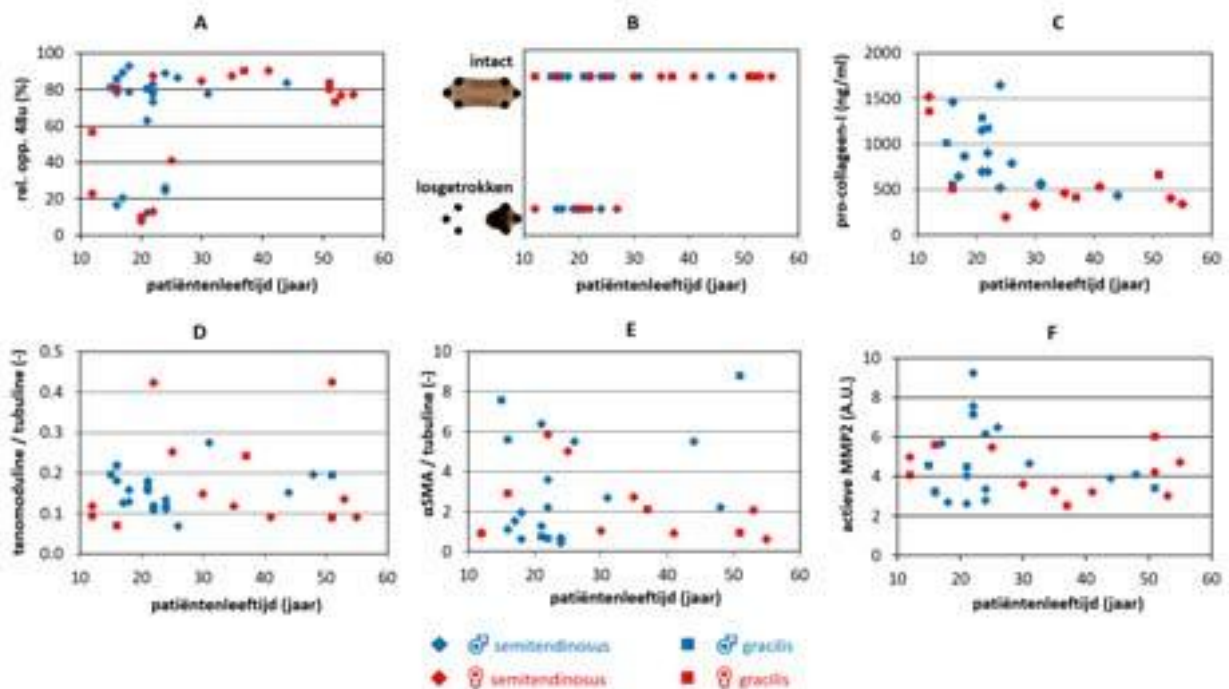
## Methode

Bij 36 patiënten, 12-55 jaar oud, werden peescellen verkregen uit restmateriaal van een semitendinosus- en/of gracilispees na een voorste kruisbandreconstructie met hamstringpees-autograft. Deze cellen werden in (rat) collageen-I-gels gezaaid, zodat op een platform met tien micro-paaltjes weefselvormen (figuur 1).<sup>4</sup> Door het weefsel bij de buitenste vier paaltjes los te maken werd remodellering geïnduceerd, en dit werd gedurende de eerstvolgende 48 uur gemeten met behulp van lichtmicroscopie. Na die 48 uur werd de productie van collageen-I bepaald met een enzyme-linked immunosorbent assay voor (humaan) pro-collageen-I. Eiwitexpressie van peesmarker tenomoduline en myofibroblastmarker  $\alpha$ SMA werden bepaald met Western blot, en genormaliseerd naar het huishoudeiwit tubuline. Van MMP2 werd de expressie gemeten met

gelatinase-zymografie. Voor alle read-outs werd lineaire regressie uitgevoerd met patiëntenleeftijd, geslacht en peestype als onafhankelijke variabelen.

## Resultaten

De resultaten van alle beschreven read-outs zijn uitgezet tegen de patiëntenleeftijd, en weergegeven in figuur 2, met onderscheid aangegeven voor patiëntengeslacht (kleur) en peestype (symbolen). Micro-weefsels behorende bij jongere patiënten (tot 25-30 jaar) remodelleerden sterker ( $p=0.012$ ), en trokken zich soms zelfs los van de paaltjes, wat vaker gebeurde ( $p=0.042$ ) dan bij micro-weefsels behorende bij oudere patiënten. Bij alle patiënten waarvan cellen uit zowel de semitendinosus- als de gracilispees beschikbaar waren, was de uitkomst wat betreft intacte of losgetrokken micro-weefsels voor beide pezen gelijk. Collageen-I-productie was significant hoger in jonge patiënten ( $p=0.010$ ), met een sterke afname voor patiënten ouder dan 25 jaar. Patiënt-specifieke variatie in tenomoduline-,  $\alpha$ SMA- en MMP2-expressie was aanwezig, maar niet



Figuur 2.

Resultaten voor alle read-outs uitgezet tegen de patiëntenleeftijd: A) relatieve resterende weefseloppervlakte (van boven af gezien) als gevolg van de tweede 48 uur remodellering; B) intacte/losgetrokken weefsels; C) pro-collageen-I-expressie; D) tenomoduline-expressie; E)  $\alpha$ SMA-expressie; F) MMP2-expressie. Onderscheid is aangegeven voor patiëntengeslacht ( $\text{♀}$  = rood;  $\text{♂}$  = blauw) en peestype (semitendinosuspees = ruit; gracilispees = vierkant).

leeftijdafhankelijk ( $p=0.64$ ;  $p=0.50$ ;  $p=0.48$ ). Geen van de gemeten read-outs was afhankelijk van het geslacht van de patiënt of het peestype.

## Discussie

Patiënt-specifieke remodelling-gerelateerde eigenschappen van humane hamstringpeescellen zijn met het gepresenteerde micro-weefselplatform gemeten. Leeftijdafhankelijkheid is gevonden voor micro-weefsels die lostrokken van de paaltjes en collageen-I-productie, beide met een drempelwaarde van rond de 25 jaar voor 'jongere' tegenover 'oudere' patiënten. Dit is in lijn met de literatuur, waar ondanks dat het grootste risico op graft-ruptuur meestal is gerapporteerd voor patiënten tot 20 jaar, een geleidelijke afname in risico tussen de 18 en 25 jaar ook is beschreven.<sup>3,5</sup> Door de gelijkenissen in leeftijdafhankelijkheid tussen het risico op graft-ruptuur zoals beschreven in de literatuur en het lostrekken van de micro-weefsels en de collageen-I-productie hebben die read-outs de grootste potentie om in de toekomst het patiënt-specifieke risico op graft-ruptuur te kunnen voorspellen. De consistentie tussen de semitendinosus- en gracilispees bij patiënten waarvan beide pezen beschikbaar waren, onderstreept de patiënt-specificiteit van het intact blijven dan wel lostrekken van de micro-weefsels. Een patiënt-specifieke voorspelling van het risico op graft-ruptuur gebaseerd op remodelling-gerelateerde ceileigenschappen zou onder andere de mogelijkheid bieden om revalidatieprogramma's op maat te maken voor de patiënt. Hiervoor zullen de uitkomsten uit het in vitro platform echter eerst vergeleken moeten worden met de klinische uitkomst – graft-ruptuur of intacte graft, stabiliteitsbepaling van de knie door de orthopedisch chirurg en patient reported outcome measures – van de voorste-kruisbandreconstructies bij deze patiënten.

Een uitgebreidere versie van dit artikel is gepubliceerd in:

Van Vijven, M., Van Groningen, B., Kimenai, J.N., Van der Steen, M.C., Van Doeselaar, M., Janssen, R.P.A., Ito, K., Foolen, J. (2020). Identifying potential patient-specific predictors for anterior cruciate ligament reconstruction outcome – a diagnostic in vitro tissue remodeling platform. *Journal of Experimental Orthopaedics*, 7(48).

## Literatuur

1. FC Kruisband (2020). Feiten & Cijfers. Geraadpleegd op 1 oktober 2020, van <https://fckruisband.nl/inzichten/feiten-cijfers/>.
2. Janssen, R.P.A. & Scheffler, S.U. (2018). Graft Remodeling & Ligamentization after ACL reconstruction. In: C.C. Prodromos (Red.), *The anterior cruciate ligament: reconstruction and basic science* (pp. 342-347). Philadelphia, Verenigde Staten: Saunders, an Imprint of Elsevier, Inc.
3. Webster KE, Feller JA, Leigh WB, Richmond AK. Younger patients are at increased risk for graft rupture and contralateral injury after anterior cruciate ligament reconstruction. *The American Journal of Sports Medicine* 2014;42:641-647.
4. Van Vijven M, Van Groningen B, Kimenai JN, Van der Steen MC, Van Doeselaar M, Janssen RPA, Ito K, et al. Identifying potential patient-specific predictors for anterior cruciate ligament reconstruction outcome – a diagnostic in vitro tissue remodeling platform. *Journal of Experimental Orthopaedics* 2020;7;48.
5. Shelbourne KD, Gray T, Haro M. Incidence of subsequent injury to either knee within 5 years after anterior cruciate ligament reconstruction with patellar tendon autograft. *The American Journal of Sports Medicine* 2009;37:246-251.