

Herstel van beschadigde perifere zenuwen en de invloed daarop van neuropeptiden

W. H. GISPEN EN F. G. I. JENNEKENS

INLEIDING

In het perifere zenuwstelsel overbruggen de zenuwcellen vaak grote afstanden. De zeer lange zenuwceluitlopers geleiden snel signalen van cellichaam naar innervatiegebied en omgekeerd. De uitgestrektheid van het systeem brengt echter met zich mee dat het zeer kwetsbaar is. Het aantal oorzaken van perifere neuropathieën is dan ook legio. Gelukkig hebben de uitlopers of axonen een opmerkelijk vermogen tot herstel. Nauwelijks is de continuïteit van een axon onderbroken, of het proximale deel dat de verbinding met het cellichaam heeft behouden, vertoont uitgroei. Het gaat op zoek naar de opnieuw te innerveren cel. Gegeven het aantal moeilijkheden dat het uitgroeiende axon op zijn weg heeft te overwinnen is het verbluffend dat reïnnervatie zo vaak plaatsvindt. Toch blijft volledig functioneel herstel veelal uit of gelukt slechts zeer ten dele.

De behandeling van perifere neuropathieën is gericht op het wegnemen van de oorzaak van de aandoening of de herstel belemmerende factoren. Nieuwe ontwikkelingen in het inzicht in het proces van axonale regeneratie en reïnnervatie bieden echter ook de mogelijkheid om het herstelproces als zodanig te stimuleren. Herstelprocessen na axonale beschadiging lijken sterk op processen die bij de groei van axonen tijdens de ontwikkeling van het zenuwstelsel een rol spelen. Vooral zijn daarbij allerlei groeifactoren en cel-cel contacten van belang. Dit inzicht heeft geleid tot het experimenteel toetsen van de mogelijkheid dat zulke groeifactoren ook het herstel van beschadigde axonen zouden versnellen. In dit verband kan het werk met 'nerve growth factor'¹ en gangliosiden worden genoemd.

Het dierexperimentele onderzoek dat in dit artikel wordt besproken baseert zich op de veronderstelling dat neurotrofe factoren in het algemeen groeiprocessen bevorderen en dat dus juist zullen doen wanneer een zenuw wordt beschadigd. Melanocortinen zijn een voorbeeld van de laatste klasse van verbindingen, en hun potentiële belang voor de behandeling van perifeer zenuwletsel en neuropathieën zal in het bijzonder worden besproken.

MELANOCORTINEN

Melanocortinen zijn peptiden die behoren tot de familie van de hypofysaire hormonen (adrenocorticotroop hormoon (ACTH) en melanocyten-stimulerend hormoon (MSH)). Ze spelen een rol bij de adaptatie aan veranderingen in het inwendige en (of) uitwendige milieu van een organisme. In het begin van de zestiger jaren vond D. de Wied dat deze peptidehormonen niet alleen perifere organen stimuleerden, maar dat ze ook een directe werking op het zenuwweefsel uitoefenden. In 1969 formuleerde hij in zijn neuropeptideconcept de idee dat in zenuwweefsel uit propeptiden kleinere peptiden zouden kunnen worden gevormd, die de functie van het zenuwstelsel in detail zouden kunnen besturen. In 1978 suggereerde hij voorts dat veel psychopathologie terug te voeren zou zijn op een verstoorde lokale neuropeptidebalans die met behulp van een peptidetherapie te corrigeren zou zijn.

Thans is er een uitgebreide scala van effecten van melanocortinen op zenuwweefsel beschreven die, samengevat, op een verhoging van de plasticiteit van het zenuwstelsel wijzen. In de context van dit artikel kan neurale plasticiteit het eenvoudigst opgevat worden als het vermogen om de schade ten gevolge van zenuwletsel te herstellen. Het leek daarom aannemelijk na te gaan of melanocortinen groeistimulerend op beschadigde perifere zenuwen zouden werken. Alvorens daarover onderzoek bij de mens te verrichten, was het noodzakelijk om gegevens te verzamelen in diermodellen. In 1978 begonnen wij, in samenwerking met W. A. Bijlsma en P. Schotman, dit dierexperimentele onderzoek in Utrecht.

In dit korte overzicht rapporteren wij de vorderingen die de laatste tijd gemaakt zijn bij de behandeling van aandoeningen van perifere zenuwen. Nader onderzoek over soortgelijk onderzoek bij de mens is gerechtvaardigd en gewenst.

HERSTEL VAN DE N. ISCHIADICUS VAN DE RAT NA AFKLEMMING

In veel studies over de neurotrofe werking van neuropeptiden wordt gebruik gemaakt van een zgn. afklemlletsel van de N. ischiadicus. De zenuw wordt lokaal met behulp van een pincet samengeknepen maar niet doorgesneden. Het gedeelte van de zenuw distaal van het letsel degeneriert volgens de wet van Waller. De afstervende axonen verdwijnen en uit de proximale zenuwstam groeien nieuwe axonen uit om uiteindelijk de spieren weer te innervieren. Herstel van een afklemlletsel gaat bij de rat redelijk snel en efficiënt, doordat de door de cellen van Schwann gevormde buizen waarin zich de zenuwuitlopers bevonden, door het afklemmen niet kapot gaan.

Rijksuniversiteit, faculteit der Geneeskunde, Rudolf Magnus Instituut voor Farmacologie en Instituut voor Moleculaire Biologie en Medische Biotechnologie, afd. Moleculaire Neurobiologie, Postbus 80.063, 3508 TB Utrecht.

Prof.dr. W.H. Gispen, farmacoloog.

Academisch Ziekenhuis, Kliniek voor Neurologie, Laboratorium voor Neuromusculaire Ziekten, Utrecht.

Prof.dr. F.G.I. Jennekens, neuroloog.

Correspondentie-adres: prof.dr. W.H. Gispen.

Functioneel herstel kan op verschillende manieren gemeten worden. Door De Koning et al. is een zeer accurate methode voor het meten van de terugkeer van sensibiteit in de voetsool ontwikkeld.² Door middel van lokaal toegediende stroomstootjes kan nauwkeurig het herstel van de sensorische functie worden gevolgd omdat een rat onmiddellijk reflexmatig zijn poot zal terugtrekken wanneer hij het stroomstootje voelt. Afhankelijk van de plaats van het letsel zal de rat in ongeveer drie weken weer een normale 'pootreflex' op de stimulus hebben. Als echter onmiddellijk na het aanbrengen van het letsel om de dag subcutaan in μg -hoeveelheden $\alpha\text{-MSH}$ of Org.2766 (een ACTH₄₋₉-analogon) wordt toegediend, dan wordt de herstelperiode met zo'n 10-20% verkort. Hoewel dit op zichzelf niet direct een drastisch effect lijkt, werd het wel zeer reproduceerbaar ook door andere onderzoeksgroepen in zowel Nederland als Amerika vastgesteld.¹

Ook het vrije gebruik van de poot, gemeten aan het vrije looppatroon, herstelt zich sneller na behandeling met peptiden.³ Onmiddellijk na afklemmen van een N. ischiadicus zal de rat de betrokken poot niet correct neerzetten, de voet sleept en toont geen teenspreiding. Wanneer nu de voetsoolen van de achterpoot van de rat in fotografische ontwikkelaar worden gedoopt en de rat vervolgens op fotografisch papier wordt geplaatst, zal de rat een spoor van zwarte voetafdrukken achterlaten, die naderhand op hun kwaliteit kunnen worden beoordeeld (figuur 1). In de dagen direct na de operatie zal er van de gekwetste poot geen voetafdruk verschijnen. Na zo'n 10-14 dagen is er wel een afdruk maar nog geen teenspreiding en na zo'n 3 weken is de voetafdruk van de gekwetste poot weer normaal en tevens is dan ook de staplengte normaal geworden. Ook nu laat de peptidetherapie zien dat de ratten eerder en beter het normale gebruik van hun poot terugkrijgen. Dit toont dat het peptide-effect zichtbaar is onder omstandigheden waarin het dier vrij beweegt.

Longitudinaal neurofysiologisch onderzoek van de zenuwgeleidingssnelheden van de gekwetste N. ischiadicus leverde op dat de peptidebehandeling de geleidingsnelheid van de zenuw verhoogt.³ Dit effect was nog maanden na afloop van een twee weken durende peptidebehandeling zichtbaar.

Histologisch onderzoek op licht- en elektronenmicro-

scopisch niveau, eerst verricht door Bijlsma et al.⁴ en later door Verhaagen et al.,⁵ toonde aan dat peptidebehandeling resulteerde in een vermeerderde uitgroei van gemyeliniseerde zenuwvezels vanuit het proximale gedeelte van de zenuw.

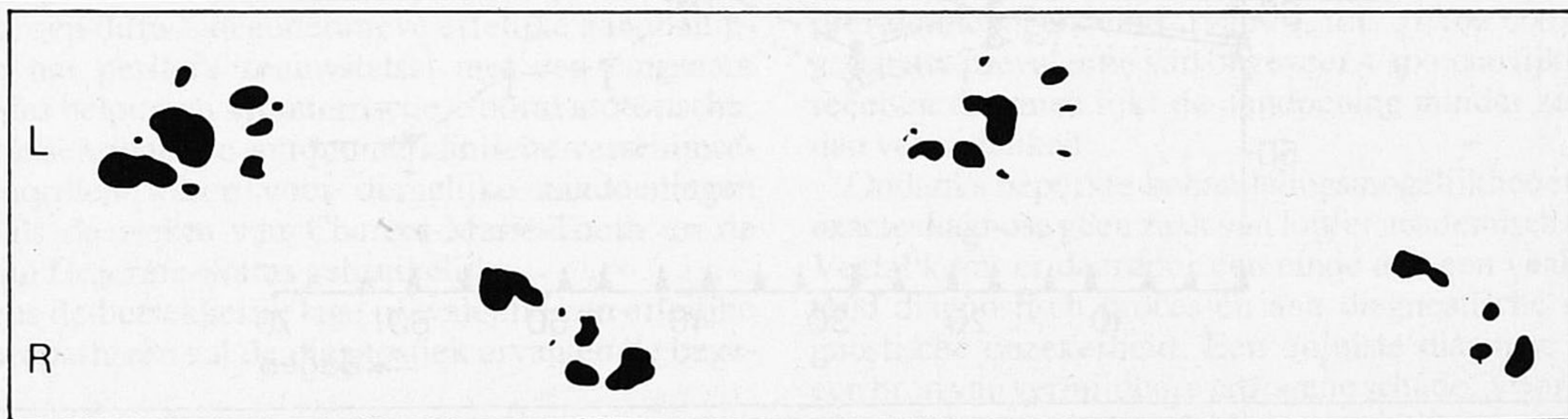
HERSTEL VAN DE N. ISCHIADICUS VAN DE RAT NA DOORSNIJDING

Herstel na doorsnijding verloopt trager dan na afklemming, omdat niet alleen de continuïteit van de axonen maar ook die van de buizen waarin zich de axonen bevinden wordt verbroken. Vanuit het proximale deel van een doorgesneden zenuw moeten de uitgroeiende axonen zich een weg door de wond heen banen naar het begin van het distale deel en daar binnengroeien in een door Schwann-cellen gevormde buis. Kuiters et al. doorsneden de N. ischiadicus bij de rat en hechtten vervolgens de proximale en distale delen door middel van een perineurale draad. De herstelperiode zoals gemeten aan de pootreflex bleek ongeveer tweemaal zo lang te zijn als als na een afklemletsel. Een zelfde peptidebehandeling als boven beschreven leidde wederom tot een duidelijke maar kleine verkorting van de herstelperiode.

In de neurochirurgische kliniek wordt herstel vaak mede bewerkstelligd door om de gehechte zenuw een siliconbuisje te plaatsen. In het diemodel maakten Edwards et al. van zo'n buisjestechniek gebruik om het peptide lokaal aan het verwonde weefsel te kunnen aanbieden. Rondom een gehechte, doorgesneden N. ischiadicus wordt eerst een met $\alpha\text{-MSH}$ beladen binnenbuisje van Accurel-polypropyleen en vervolgens een siliconbuisje geschoven. Dat bevorderde het functionele herstel van de doorgesneden zenuw aanzienlijk,⁶ zoals bleek uit de reflextest en uit meting van zenuwgeleidingssnelheden.

Het plaatsen van een buisje dat niet biologisch afbreekbaar is, heeft natuurlijk nadelen. Van der Zee et al. plaatsten daarom rondom de zenuw uitsluitend een met peptide gedrenkte gelatine-wikkel.⁷ Deze wikkel wordt binnen 14 dagen geheel afgebroken. Alleen als de wikkel rondom de wond werd geplaatst, en dus niet wanneer de met peptide gedrenkte wikkel rondom de contralaterale controlezenuw werd geplaatst, werd een versneld functioneel herstel gemeten.

Deze bevindingen wijzen er dus op dat ook in de



FIGUUR 1. Looppatroon van een rat. De N. ischiadicus van de rechter achterpoot (R) werd gekwetst door afklemming. Zoals de figuur, vervaardigd 11 dagen na dit letsel, aantoont bestaat nog een groot verschil tussen de afdruk van de gekwetste en de niet-gekwetste poot.

chirurgische kliniek van perifere zenuwletsels lokale toediening van het peptide aan de zenuwond een verbetering van de prognose voor herstel kan betekenen.

KRITISCHE PERIODE DOSIS-WERKING EN TOEDIENINGSWIJZE; TOXICITEIT

Belangrijk voor de kliniek is de vraag wanneer en hoe het peptide kan worden toegediend om optimaal effect te sorteren. Uit onderzoek van Edwards et al. bleek dat na een mechanische beschadiging van de perifere zenuw bij de rat de subcutane toediening van het peptide zo snel mogelijk dient te gebeuren.⁸ Wanneer na een afklemletsel een week werd gewacht met de toediening van het peptide had dit geen effect meer. Een behandeling die binnen uren na het plaatsen van het letsel aanving behoeft slechts één week te worden voortgezet om optimaal herstel te verkrijgen.

Een complicerende factor bij het eventuele klinische toepassen van de peptidetherapie is dat de dosis-werkingscurve geen normaal S-vormig verloop heeft, maar dat de curve een optimum vertoont waar dosering onder en boven 1-10 µg/kg lich.gew. van de rat minder of geen effect heeft.² De achtergrond van deze omgekeerde U-vormige curve, die overigens voor veel dosis-werkingsrelaties van neuropeptiden op hersenen en gedrag geldt, valt buiten het bestek van dit artikel. Wel volgt hieruit waarom het belangrijk is toekomstig klinisch onderzoek altijd te laten voorafgaan door een 'dose finding'-studie.

Een orale toedieningsweg zou uiteraard de voorkeur hebben boven een subcutane injectie. Verschillende onderzoekers vonden echter dat orale toediening geen invloed had op het herstel van beschadigde perifere zenuwen. Zowel Dekker et al.⁹ als Van der Zee et al.⁷ vonden dat er een alternatief is voor herhaalde subcutane injecties. Eenmalige plaatsing van een osmotisch minipompje onder een huidplooi dat voor langzame toediening van het peptide zorgt, is voldoende. Nadeel van deze methode is, dat na enige tijd het lege pompje weer moet

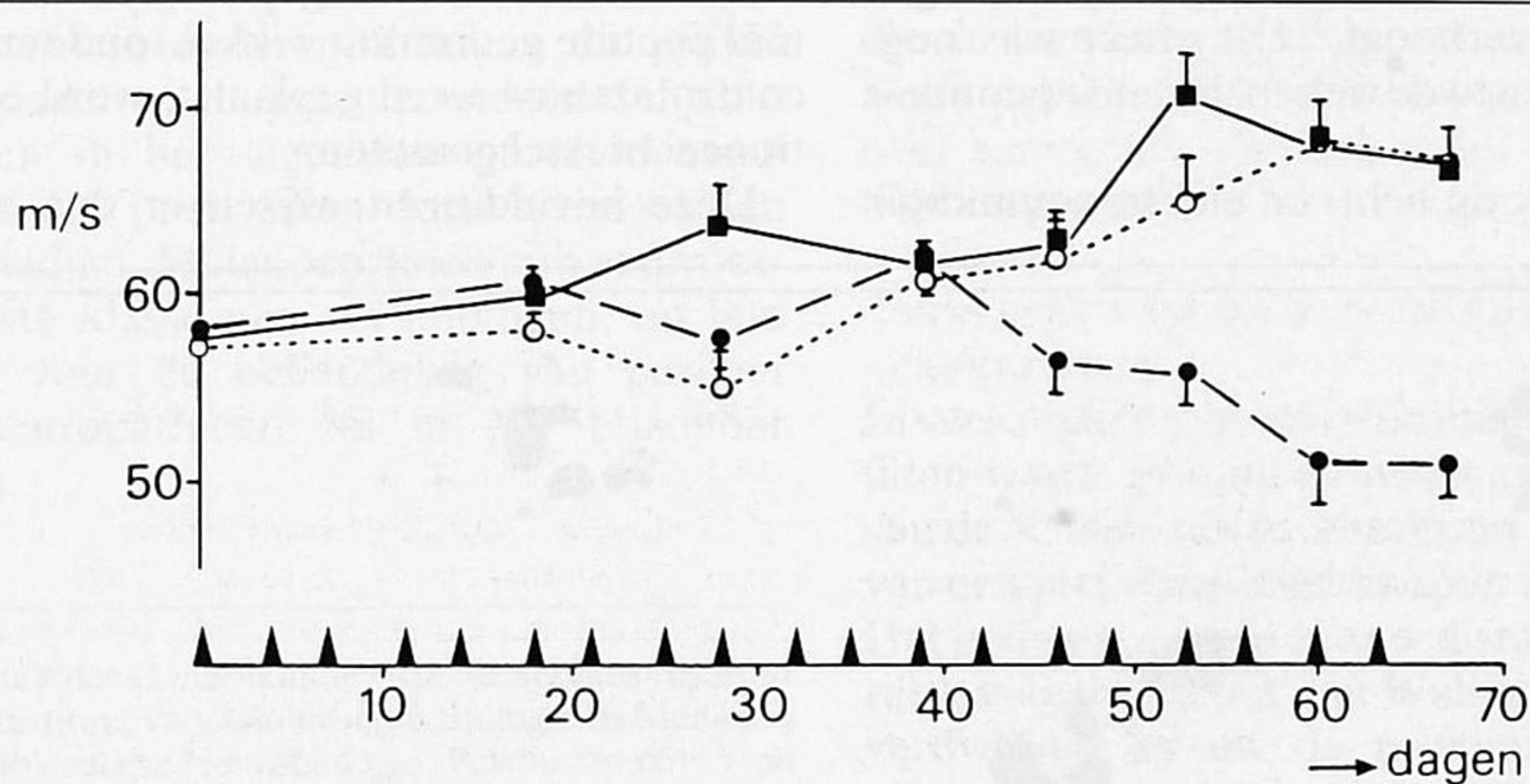
worden verwijderd. Onlangs werd echter vastgesteld dat een eenmalige injectie van microsferen van een bioafbreekbaar polymeer beladen met peptiden even goed werkzaam was als herhaalde subcutane injecties. Vooralsnog lijkt dit de beste en klinisch goed toepasbare toedieningsweg van het peptide.^{7,9}

Org.2766 – het ACTH₄₋₉-analogon – werd voor andere doeleinden dan hier beschreven door D.de Wied in samenwerking met Greven van Organon Int. B.V. ontwikkeld. Uit gegevens over eventuele toxiciteit na subchronische toediening bij de mens mag verwacht worden dat deze peptiden zonder risico bij volwassen vrijwilligers en patiënten gedurende lange periodes kunnen worden toegediend in de geringe doseringen zoals die worden gebruikt in het proefdiermodel.

Herstel of preventie van een toxische neuropathie

In de afgelopen jaren werden aanwijzingen gevonden dat melanocortinen neurotroof zouden werken omdat ze een signaal in het natuurlijke axonale regeneratieprogramma zouden versterken of nabootsen.⁸ Vandaar dat er in het diermodel ook gezocht is naar de betekenis van neuropeptidetherapie voor aandoeningen van perifere zenuwen die samenhangen met neuro-intoxicatie.

Cisplatine is een van de doeltreffendste middelen ter behandeling van o.a. ovariumcarcinomen. Naast de nefrotoxische werking is de neurotoxiciteit de belangrijkste factor bij de toepassing van dit cytostaticum. Veel patiënten krijgen reeds spoedig verschijnselen van een sensibele neuropathie en bij relatief hoge cumulatieve doseringen kan dit tot ernstige loopstoornissen leiden. In samenwerking met de oncoloog J.P.Neijs werd het effect van Org.2766 op 'cisplatineneuropathie' onderzocht. De neuropathie werd nagebootst door chronische toediening van cisplatine aan ratten^{10,11} en de geleidingssnelheid van perifere zenuwen werd longitudinaal bepaald. Na een cumulatieve dosering van ongeveer 13 mg/kg lich.gew. toonden de behandelde ratten een duidelijke remming van de sensibele geleidingssnelheid, terwijl de motorische geleidingssnelheid langs de N. ischiadicus onveranderd bleef. Dit model komt goed overeen met de bevin-



FIGUUR 2. Tijdscurve van de met de H-reflex samenhangende sensibele geleidingssnelheid in meter per seconde van drie groepen ratten. De waarden zijn gemiddelden met standaardafwijkingen: ■: controleratten (n = 9); ○: met cisplatine behandelde ratten (n = 8) (▲ = markeert intraperitoneale injectie van 1 mg/kg lichaamsgewicht); ●: met cisplatine en Org.2766 behandelde ratten (n = 11). Het peptide (10 µg) werd 4 × per week subcutaan gegeven. (Met toestemming overgenomen uit De Koning et al.)¹⁰

dingen bij mensen maar laat slechts waarneming toe van één aspect van een cisplatineneuropathie. De remming van de sensibele begeleiding van de N. ischiadicus werd opgeheven door ratten behalve cisplatine ook Org.2766 toe te dienen (om de 48 uur 1 of 10 µg Org.2766) (figuur 2). Uit herhaalde controle-experimenten bleek steeds weer dat het peptide bij proefdieren niet interfereerde met de anti-tumorwerking van de cisplatinetherapie.

PERSPECTIEVEN

Neuropeptiden kunnen een belangrijk herstel bevorderend effect hebben op aandoeningen van perifere zenuwen. De grootte van dit effect varieert in het diermodel enigszins en is afhankelijk van de aard van de aandoening en de wijze van toediening. Zeer opvallend zijn de resultaten in het diermodel bij een iatrogene neuropathie, veroorzaakt door cisplatine. Deze laatste waarneming rechtvaardigt een proefonderzoek bij mensen; onder leiding van J.P.Neijs is bij patiënten die met cisplatine worden behandeld een dose finding-studie opgezet; verschillende centra in Nederland nemen deel aan dit onderzoek. De eerste resultaten zullen in 1988 ter beschikking zijn.

De auteurs zijn bijzondere dank verschuldigd aan J.H.Brakkee, biotechnicus, en H.Veldman, histologisch analist, voor hun medewerking aan de beschreven onderzoekingen en voor hun daarbij getoonde inventiviteit en kritische zin. Dit onderzoek werd gedeeltelijk gefinancierd door het Prinses Beatrixfonds en het Koningin Wilhelmina Fonds.

LITERATUUR

¹ Dekker A, Gispens WH, Wied D de. Axonal reparation, growth factors and neuropeptides. *Life Sci* 1987; 41: 1667-78.

- ² Koning P de, Brakkee JH, Gispens WH. Methods for producing a reproducible crush in the sciatic and tibial nerve of the rat and rapid and precise testing of return of sensory function: beneficial effects of melanocortins. *J Neurol Sci* 1986; 74: 237-46.
- ³ Koning P de, Gispens WH. Org.2766 improves functional and electrophysiological aspects of regenerating sciatic nerve in the rat. *Peptides (Fayetteville)* 1987; 8: 415-22.
- ⁴ Bijlsma WA, Jennekens FGI, Schotman P, Gispens WH. Stimulation by ACTH(4-10) of nerve fiber regeneration following sciatic nerve crush. *Muscle Nerve* 1983; 6: 104-12.
- ⁵ Verhaagen J, Edwards PM, Jennekens FGI, Schotman P, Gispens WH. Early effect of an ACTH(4-9) analog (Org.2766) on regenerative sprouting demonstrated by the use of neurofilament binding antibodies isolated from a serum raised by α -MSH immunization. *Brain Res* 1987; 404: 142-150.
- ⁶ Edwards PM, Kuiters RRF, Boer GJ, Gispens WH. Recovery from peripheral transection is accelerated by local application of α -MSH by means of microporous Accurel® polypropylene tubes. *J Neurol Sci* 1986; 74: 171-6.
- ⁷ Zee CEEM van der, Brakkee JH, Gispens WH. α -MSH and Org.2766 in peripheral nerve regeneration: different routes of delivery. *Eur J Pharmacol* 1988. Ter perse.
- ⁸ Edwards PM, Zee CEEM van der, Verhaagen J, Schotman P, Jennekens FGI, Gispens WH. Evidence that the neurotrophic actions of α -MSH may derive from its ability to mimic the actions of a peptide formed in degenerating nerve stumps. *J Neurol Sci* 1984; 64: 333-40.
- ⁹ Dekker AJAM, Princen MM, Nijs H de, Leede LGJ de, Broekkamp CLE. Acceleration of recovery from sciatic nerve damage by the ACTH(4-9) analog Org.2766: different routes of administration. *Peptides (Fayetteville)*. Ter perse.
- ¹⁰ Koning P de, Neijts JP, Jennekens FGI, Gispens WH. Org.2766 protects from cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Exp Neurol* 1987; 97: 746-50.
- ¹¹ Gerritsen van der Hoop R, Koning P de, Boven E, Neijts JP, Jennekens FGI, Gispens WH. Efficacy of the neuropeptide Org.2766 in the prevention and treatment of cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988. Ter perse.

Aanvaard op 4 januari 1988

Hereditaire motorische en sensorische polyneuropathieën

E.M.G. JOOSTEN

INLEIDING

Onder de naam hereditaire motorische en sensorische polyneuropathieën (HMSN) classificeert Dyck een heterogene groep diffuse degeneratieve erfelijke aandoeningen van het perifere zenuwstelsel met een langzaam progressief beloop en symmetrische, vooral motorische, maar ook sensibele en autonome klinische verschijnselen.¹ Voordien waren voor dergelijke aandoeningen namen als de ziekte van Charcot-Marie-Tooth en de ziekte van Dejerine-Sottas gebruikelijk.

Wegens de betrekkelijk lage prevalentie van erfelijke polyneuropathieën zal de diagnostiek ervan en de bege-

leiding van patiënten voor vele medici geen dagelijks werk zijn. Overigens worden voor bijv. het meest voorkomende Charcot-Marie-Tooth-syndroom wisselende prevalenties genoemd (van 0 tot 41/100.000!). Een geschatte prevalentie van ongeveer 5/100.000 lijkt echter reëel en daarmee lijkt de aandoening minder zeldzaam dan velen denken.

Ondanks beperkte behandelingsmogelijkheden is een exacte diagnose geen zaak van louter academisch belang. Veelal komt er daardoor een einde aan een vaak belastend diagnostisch proces en aan diagnostische en prognostische onzekerheid. Een onjuiste diagnose is vaak een bron van vermijdbare iatrogene schade. Voor genetische advisering en begeleiding van patiënt en familie is inzicht in diagnose en prognose belangrijk. Lang niet altijd is de diagnostiek eenvoudig. De reden van verwijzing kan weinig specifiek zijn:

Sint Radboudziekenhuis, Instituut voor Neurologie, Reinier Postlaan 4, 6525 GC Nijmegen.
Dr.E.M.G.Joosten, neuroloog.