

# VU Research Portal

## Chondrocytes and chondrons for tissue engineering of cartilage

Vonk, L.A.

2010

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Vonk, L. A. (2010). *Chondrocytes and chondrons for tissue engineering of cartilage*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **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

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## **ALGEMENE SAMENVATTING**

## **ALGEMENE SAMENVATTING**

Kraakbeen vervult een belangrijke functie in het bewegingsapparaat; het zorgt voor een glad en enigszins indrukbaar oppervlak zodat gewrichten gemakkelijk kunnen bewegen en dat de krachten uitgeoefend op een gewricht op een goede manier verdeeld worden. Kraakbeen wordt in verschillende vormen op verschillende locaties in het lichaam aangetroffen. Zo zijn bijvoorbeeld de uiteinden van botten in gewrichten bekleedt met articulaire kraakbeen. Naast dit gewrichtskraakbeen zijn in de knie extra kraakbeenschijven aanwezig, de menisci, die van belang zijn bij de verdeling van de krachten die op het kniegewricht uitgeoefend worden. In de rug tussen de wervellichamen bevinden zich ook

kraakbeenschijven. Deze zogenaamde tussenwervelschijven bestaan uit een gel-achtige nucleus pulposus die omsloten wordt door de annulus fibrosus en zij maken een zekere beweeglijkheid van de rug mogelijk.

Kraakbeen bestaat voor het overgrote deel uit extracellulaire matrix (ECM) waarin collagenen en proteoglycanen de meest voorkomende eiwitten zijn. Deze componenten zijn van wezenlijk belang voor goed functionerend kraakbeen. Binnen de extracellulaire matrix van het kraakbeen bevinden zich de cellen, de chondrocyten, die het kraakbeen vormen en onderhouden.

Een van de tekortkomingen van kraakbeen is een zeer gering vermogen om zichzelf te herstellen bij beschadigingen. Relatief kleine beschadigingen kunnen invloed hebben op de rest van het kraakbeen en dit kan mettertijd tot artrose leiden. Hoewel kraakbeenletsel niet levensbedreigend is, heeft het wel grote invloed op het functioneren van betrokkene en op de kwaliteit van leven. Kraakbeenletsels kunnen voor pijn, gewrichtszwellingen, en een sterk verminderde mobiliteit zorgen. De behandelopties voor deze letsels zijn vooral gericht op pijnbestrijding. Als conservatieve behandeling zoals fysiotherapie en leefstijlaanpassingen geen oplossing bieden, dan wordt er overgegaan tot chirurgisch ingrijpen. De meeste operatieve ingrepen zijn gericht op het verwijderen van beschadigd weefsel, hetgeen niet leidt tot herstel van het weefsel. Eigenlijk zou het weefsel wel hersteld moeten worden om het kraakbeen weer optimaal te kunnen laten functioneren. Het doel van *tissue engineering* is om weefsels te herstellen en daarbij de functionaliteit van weefsels te behouden. Dit maakt *tissue engineering* van kraakbeen veelbelovend voor de behandeling van kraakbeenletsels.

De centrale doelstelling van dit proefschrift was om verschillende aspecten van kraakbeenproductie door cellen te onderzoeken in het kader van het herstel van kraakbeendefecten. Het vezelige netwerk (collageen) dat door cellen geproduceerd wordt om te gebruiken voor herstel van kraakbeen is vaak van mindere kwaliteit dan het collageen in kraakbeen. Juist het collageene netwerk zorgt voor de belangrijke biomechanische eigenschappen van kraakbeen en als deze eigenschappen achteruit gaan, volgt kraakbeenafbraak. Daarom werd de aandacht in dit proefschrift vooral gevestigd op de productie en de afbraak van het collageene netwerk.

Om het collageene netwerk optimaal na te kunnen maken, moeten de eigenschappen van dit netwerk bekend zijn. Daarom geven wij in **hoofdstuk 2** kwantitatieve informatie over de biochemische samenstelling van verschillende kraakbeenweefsels (articulair kraakbeen, meniscus, nucleus pulposus en annulus fibrosus). Daarnaast zijn ook de genexpressie niveaus (van genen die coderen voor enzymen die betrokken zijn bij de synthese en de afbraak van de ECM) van chondrocyten uit deze kraakbeenweefsels onderzocht. Er werden grote verschillen gevonden zowel in de biochemische samenstelling van de verschillende kraakbeenweefsels als in de genexpressie niveaus van de verschillende chondrocyten. Een juiste expressie van de collageen-modificerende enzymen is van groot belang om een collageen-netwerk te produceren met de juiste biomechanische eigenschappen. De expressie van de enzymen die betrokken zijn bij de cross-linking van collageen verschilde sterk tussen de chondrocyten afkomstig uit de verschillende soorten kraakbeen.

Aangezien afbraak van kraakbeen onder andere veroorzaakt kan worden door een gebrek aan voedingsstoffen, onderzochten we in **hoofdstuk 3** het effect van de afwezigheid van glucose op de ECM productie en celdood van zowel chondrocyten (afkomstig uit verschillende kraakbeenweefsels) als van huidfibroblasten. Chondrocyten reageerden sneller op de afwezigheid van glucose dan huidfibroblasten en zij deden dit door het activeren van een endoplasmatisch reticulum (ER) stress respons. De expressie van type I en II collageen was verminderd terwijl de expressie van de meeste modificerende enzymen was toegenomen. Dit komt overeen met de algemene reactie op ER-stress waarbij de expressie van eiwitten die uitgescheiden moeten worden, wordt verminderd terwijl de expressie van moleculen die kunnen helpen bij het verwerken van slecht- of ongevouwen eiwitten worden verhoogd. Als ER-stress langere tijd aanhoudt, dan kan dit tot celdood (apoptose) leiden. Hoewel de chondrocyten gevoeliger waren voor de afwezigheid van glucose, waren er minder apoptotische chondrocyten na behandeling met tunicamycin (een chemische ER-stress veroorzaker) in vergelijking met huidfibroblasten. Dit duidt erop dat chondrocyten beter bestand zijn tegen ER-stress. Een tekort aan glucose is dus zeer ongewenst in kraakbeen *tissue engineering* omdat er geen ECM geproduceerd wordt en de cellen in apoptose gaan. Als de oorspronkelijke kraakbeenafbraak

veroorzaakt wordt door een tekort aan voedingsstoffen, dan is het waarschijnlijk dat cellen die in een dergelijke omgeving geïmplanteerd worden om het letsel te herstellen niet optimaal kunnen functioneren.

Dragermaterialen (*scaffolds*) die opgebouwd zijn uit collageen worden regelmatig gebruikt om kraakbeen te herstellen. Van dergelijke *scaffolds* is bekend dat zij ook enige negatieve eigenschappen hebben. Zo kunnen zij worden samengetrokken door de cellen die in het materiaal zitten. Deze samentrekking resulteert in een verlies van contact tussen het geïmplanteerde *scaffold* en het omliggende weefsel hetgeen de kans op succesvolle integratie aanzienlijk verkleint. Ook kan collageen de expressie van MMP-13 (een enzym dat collageen afbreekt) verhogen wat kan leiden tot de afbraak van de *scaffold*. In **hoofdstuk 4** werd bestudeerd of de aanwezigheid van type I of type II collageen de contractie en de afbraak van de matrix beïnvloedt. Wij vonden dat chondrocyten type I collageen, maar geen type II collageen, gels samentrokken. Tegelijk met deze contractie werd ook de expressie van Mmp-13 en -14 verhoogd en vond er afbraak van de matrix plaats. Deze bevindingen ondersteunen het idee dat de samenstelling van de *scaffold* van cruciaal belang is voor de respons van de cellen die er in uitgezet worden.

In **hoofdstuk 5** onderzochten wij of het behouden van de pericellulaire matrix de kraakbeen productie verbeterde. Voor kraakbeen *tissue engineering* worden vaak chondrocyten gebruikt, maar in het weefsel zelf worden de cellen omgeven door een pericellulaire matrix en het is bekend dat cellen sterk beïnvloed worden door hun omgeving. In **hoofdstuk 5** zijn naast chondrocyten ook chondronen onderzocht. Chondronen zijn chondrocyten met hun eigen pericellulaire matrix. Chondronen bleken meer proteoglycanen uit te scheiden dan chondrocyten en het collageen dat door de chondronen geproduceerd werd bevatte cross-links. Mmp-13 werd zeer sterk tot expressie gebracht door de chondrocyten maar niet door de chondronen. Het behouden van de pericellulaire matrix heeft dus een positief effect op de kraakbeenproductie.

In **hoofdstuk 6** vonden wij dat de pericellulaire matrix de expressie van Mmp-13 tegenging die geïnduceerd wordt door contact met collageen en wij veronderstellen dat dit komt doordat er geen direct contact tussen cellen en collageen mogelijk is. Aangetoond werd dat de collageenreceptoren integrine  $\alpha 1$  en discoidine domain receptor 2 betrokken zijn bij de regulatie van Mmp-13 expressie na contact met collageen. Ook de intracellulaire kinases PKC, FAK, MEK en JNK bleken een rol te spelen bij de verhoging van de expressie van Mmp-13 door contact met collageen.

Samenvattend concluderen wij dat chondronen meer geschikt zijn voor kraakbeen *tissue engineering* dan chondrocyten. Het lijkt erop dat de interacties die plaatsvinden tussen de chondrocyten en hun pericellulaire matrix optimale condities verschaffen voor kraakbeenproductie. Zo stimuleert de pericellulaire matrix de aanmaak van extracellulaire matrix, verhoogt het de kraakbeenachtige eigenschappen van de cellen en het verhindert de afbraak van de extracellulaire matrix.