

# MOTORNEURON ÅTERBILDAR AXONER EFTER CNS-SKADA

Kirurgi vid fall av rotavulsion återställer motorik

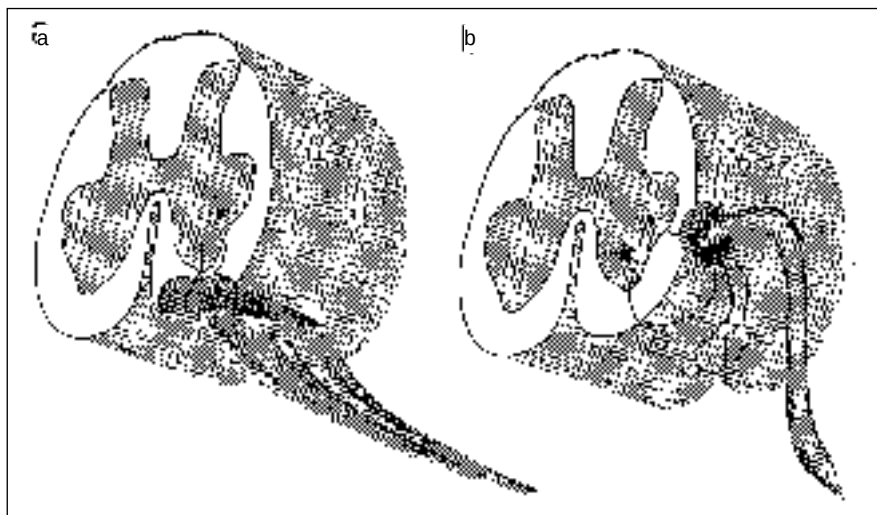
**Grundläggande djurstudier har tidigare visat att spinala motorneuron förmår åstadkomma en kraftfull axonal regeneration genom ett ryggmärgsår. Denna förmåga har legat till grund för utvecklingen av en kirurgisk metod för behandling av fall där ryggmärgens ventralrötter avulserats från ryggmärgsytan. Förlamningar efter denna typ av skada har tidigare ansetts obotliga.**

**Genom att implantera lossryckta ventralrötter tillbaka in i ryggmärgen kan en väg för axonväxt erbjudas motorneuronen. I djurmodeller, nyligen även i ett första patientfall, har återkomst av motoriska funktioner i förlamad muskulatur efter sådan kirurgisk behandling påvisats.**

**Figur 1.** Schematiska bilder över tvärsnitt genom ryggmärgen.

a. Läget för det snitt i ryggmärgens ventrala vita substans som studerats och exempel på regenerativ aktivitet i ett skadat motorneuron.

b. En avulserad ventralrot har anslutits till ryggmärgens laterala-ventrala del med efterföljande axonutväxt ut i ventralroten från skadade motorneuron.



Den skada som uppstår när spinala nervrötter rycks loss från ryggmärgen, så kallad avulsionsskada, liknar i flera avseenden de traumatiska ryggmärgsskadorna. Prognosen har betraktats som mycket ogynnsam och de drabbade patienterna har ej kunnat erbjudas någon kurativ behandling.

Nyligen har emellertid en kirurgisk metod att behandla avulsionsskada beskrivits för klinisk användning [1]. Denna metod har tagits fram genom djurexperimentella studier över de regenerationsbetingelser som råder i eller nära övergången mellan ryggmärg och nervrötter, som också bildar övergång mellan de centrala (CNS) och perifera (PNS) delarna av nervsystemet. Det är väl känt att förmågan att reparera skador på nervbanor skiljer sig mycket mellan dessa två delar. I PNS finns en miljö som efter en mekanisk skada verkar befrämja återväxt av nervcellernas axoner, medan en liknande skada i CNS inte ger samma möjligheter till regeneration.

De motoriska nervcellerna i ryggmärgen (motorneuronen) ligger med sina cellkroppar och första delen av sina axoner i CNS, medan den längsta delen av axonerna återfinns inom PNS, dvs i ryggmärgens ventralrötter, spinalnerverna och de perifera nerverna. Genom denna fördelning kan motorneuronen åstadkomma en axonal regeneration och reinnervation av muskulatur efter

## Författare

STAFFAN CULLHEIM

docent, universitetslektor, institutionen för neurovetenskap, Karolinska institutet, Stockholm

THOMAS CARLSTEDT

docent, överläkare, Royal National Orthopaedic Hospital Trust, Stanmore, England

ROLF HALLIN

docent, överläkare, avdelningen för klinisk neurofysiologi, Huddinge sjukhus

HANS LINDÅ

med dr, ST-läkare, neurologiska kliniken, Huddinge sjukhus

MÄRTEN RISLING

docent, universitetslektor, institutionen för neurovetenskap, Karolinska institutet, Stockholm.

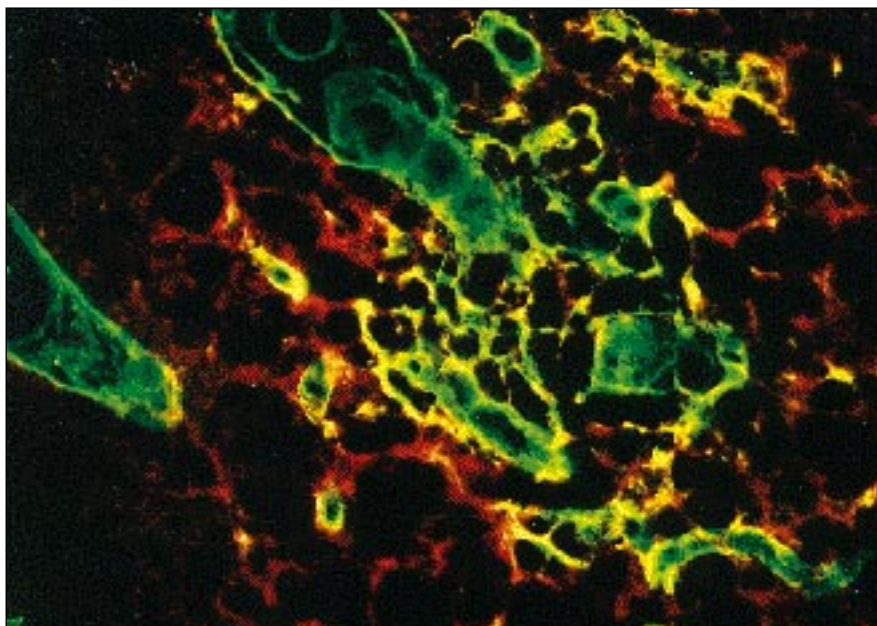
perifer nervskada, särskilt efter kirurgi som syftar till att ansluta avskurna nervändar till varandra, vid behov via nervimplantat.

De skador där ventralrötter avulserats, dvs slitits loss från ryggmärgsytan, har dock som nämnts betraktats som omöjliga att åtgärda, eftersom skadan legat mycket nära cellkroppen vid gränsen till CNS. I själva verket har man utgått ifrån att motorneuron som skadas på detta sätt dör till följd av skadan eller i varje fall är oförmögna till regeneration.

## Överraskande upptäckt

För ungefär femton år sedan gjordes den överraskande upptäckten att motorneuron har en god förmåga att överleva och producera nya axoner även efter en mycket proximal axonskada. På försöksdjur kunde vi med hjälp av en intracellulär märkningsteknik visa att motorneuron efter en skärskada inne i ryggmärgens ventrala vita substans förmådde överbrygga skadan med nya axonala utskott [2] (Figur 1a).

Sådana utskott kunde därefter uppsöka och växa in i ventralrötter. Det gick att beräkna antalet överlevande motorneuron efter denna skada till ungefär 50



**Figur 2.** Immunhistokemisk bild från ett ärr i ryggmargens ventrala vita substans. Närvaro av immunreaktivitet demonstreras för laminin (grönt) och tenascin (rött).

procent [3], varav troligen en majoritet åstadkom en axonväxt genom skadan.

### Vilka faktorer befrämjar regeneration?

Vi har därefter försökt finna de egenskaper hos motorneuronet och skadeområdet som medger, eller till och med befrämjar, regenerationen. En uppenbar befrämjande faktor utgörs av den peri-

fera nervmiljö som finns i ventralroten strax utanför ärrområdet i ryggmargen. Motorneuronens nya axoner måste emellertid passera genom ett ärr som strukturellt är av centralnervs karaktär

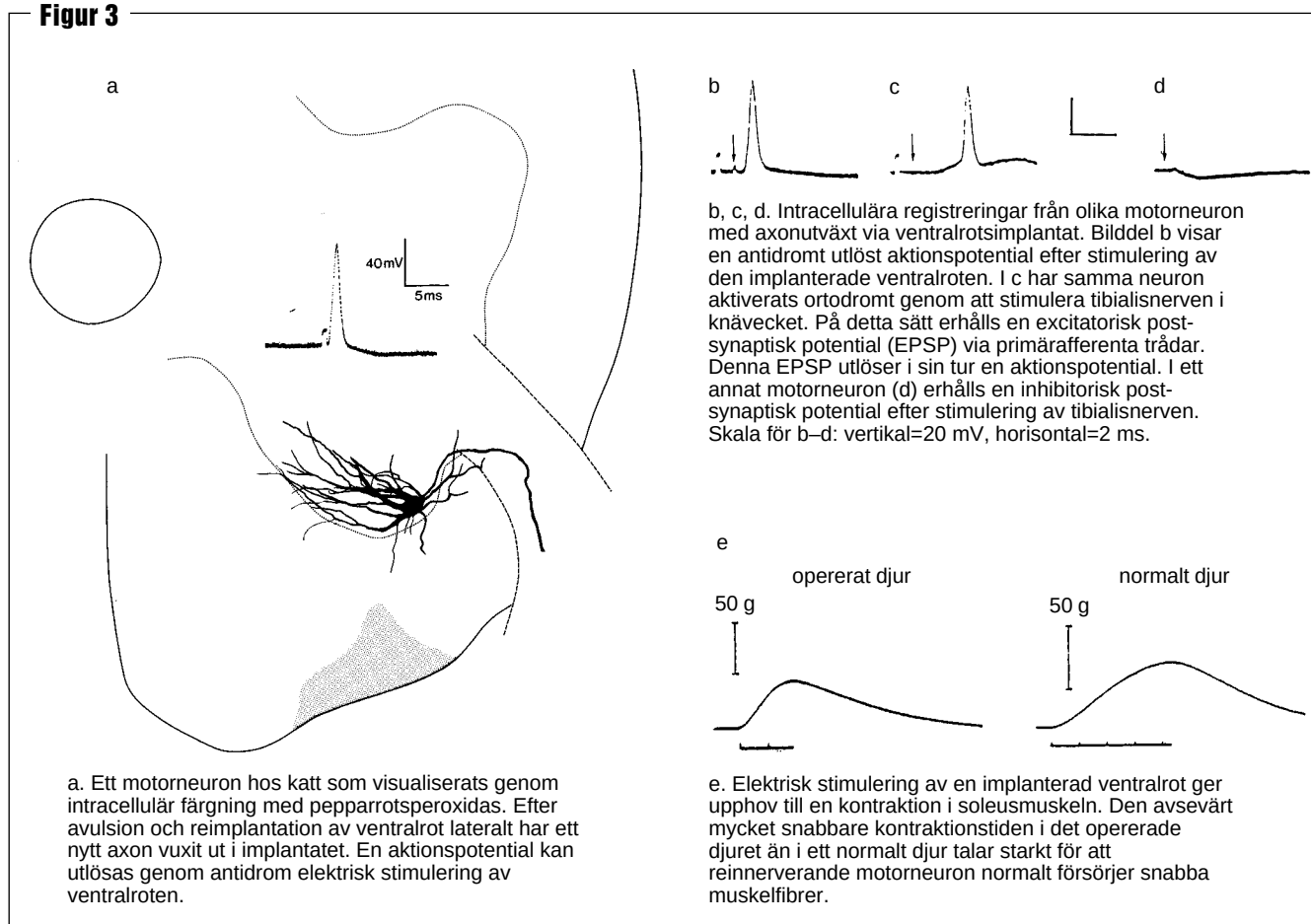
[2]. Följaktligen hittar man här gliaceller, såsom astrocyter och även oligodendrocyter, som myeliniserar de nya axonerna.

Eftersom centralnervösa gliaärr betraktats som hindrande för axonväxt var det av intresse att studera huruvida ärr i vår skademodell skilde sig från andra ärr, där man ej funnit någon axonal återväxt.

En av de egenskaper som utmärker ärr i den aktuella skademodellen visade sig vara en mycket långvarig defekt i blod-hjärnbarriären, som kan kvarstå i åtminstone två år efter skadetillfället [4]. I andra typer av skador har man noterat betydligt kortvarigare barriärdefekter, mellan fyra och sex veckor [5]. Vad detta betyder för den regenerativa verksamheten är oklart, men det är intressant att man i ärr med kortvarig barriärdefekt kan se en produktion av nya axonala utskott, »sprouts», i ärr under ungefär lika lång tid som defekten varar [5].

En möjlig orsak till den livliga regenerativa aktiviteten i vår skademodell skulle alltså kunna vara att blodburna nervväxtstimulerande substanser, som normalt är avstängda från nervvävnaden, faktiskt svämmar ut i ärrområdet. Tesen att sådana substanser skulle kunna vara av betydelse understöds av det faktum att stora mängder receptorer för

**Figur 3**



de s k neurotrofinerna (lågaffinitetsreceptorn p75 samt trunkerad trkB) uttrycks av astrocyter och celler med ursprung från pia mater i ärrområdet [6, 7]. Axonal utväxt kräver även närvaro av matrixmolekyler med adhesiva egenskaper. I det av oss studerade ärrområdet återfinns en rad sådana molekyler, bl a laminin, tenascin och olika typer av kollagen, ofta anordnade i rörformationer, i vilka man kan se nya axoner växa [8] (Figur 2).

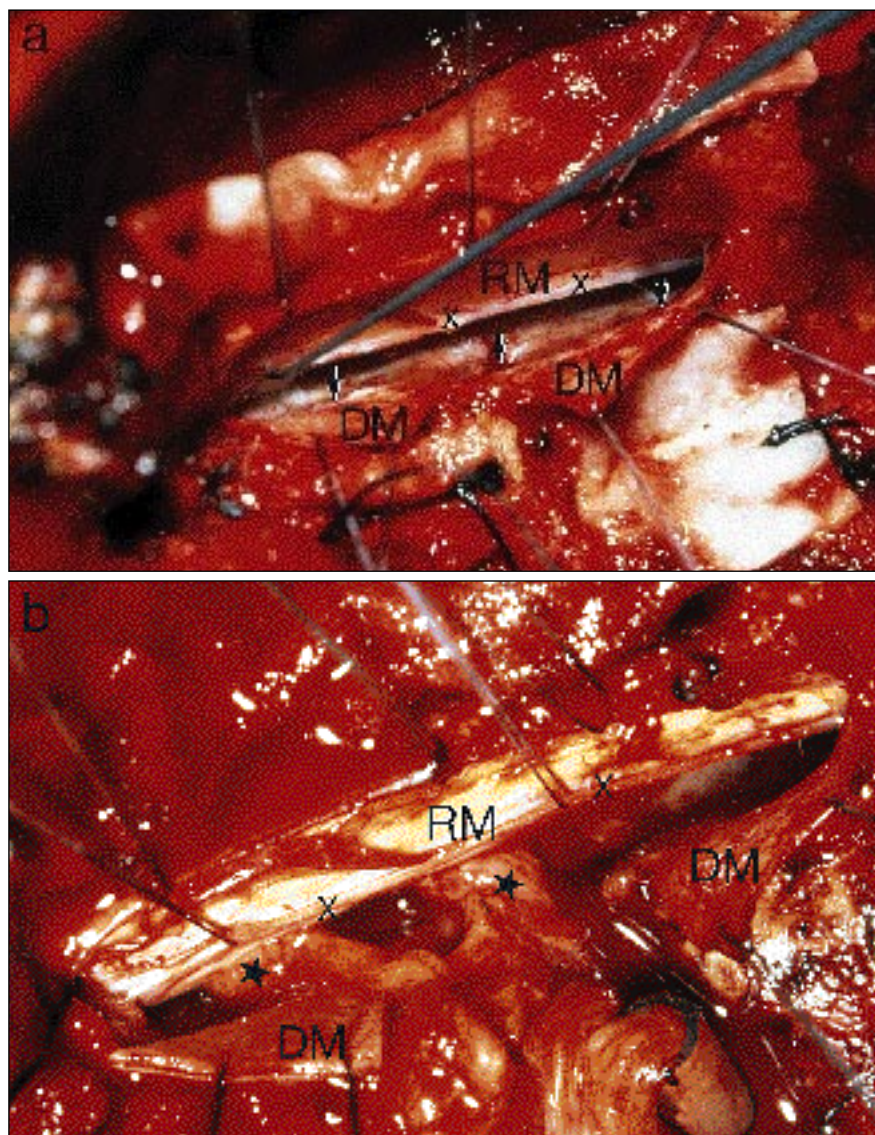
### Gynnsam växtmiljö

Sammantaget kan man alltså utan vidare påstå att den miljö som erbjuds efter en mekanisk skada i ryggmärgens ventrala vita substans i hög grad verkar befrämja utväxt av axonala utskott från skadade motorneuron. Motorneuronen själva verkar också ytterst villiga att producera nya axoner. Som exempel kan nämnas att man under en utväxtfas kan hitta flera myeliniserade axoner från ett och samma motorneuron, varav åtminstone ett har sitt ursprung från dendritträdets [9], som ju normalt mottar information från inkommande nervtrådar. Övriga delar av dendriterna minskar i storlek, liksom antalet synaptiska förbindelser, särskilt på de centrala delarna av motorneuronen [3, 10].

Man får alltså intrycket att den axonala regenerativa verksamheten prioriteras av motorneuronen på bekostnad av den del av cellens verksamhet som har med transmittormedierad kommunikation att göra. Denna omställning avspeglas också i en ökad mRNA-expression av tillväxtassocierade proteiner, såsom GAP-43 [11], och en nedreglering av mRNA för transmittorrelaterade enzymer och receptorer [12].

För att kunna analysera vad som åstadkommer den gynnsamma växtmiljön i äret och den kraftfulla regenerativa aktiviteten hos motorneuronen har vi under senare tid börjat använda cellkulturer av såväl stödjeceller (astrocyter, schwannska celler) som motorneuron från råttor. Avsikten är att undersöka diffusibla substansers effekt på de olika inblandade cellulära elementen och deras produktion av tillväxtrelaterade proteiner och peptider. I detta arbete har man att ta hänsyn till det paradoxala förhållandet att rättans motorneuron i kultur tillhör de känsligaste celltyperna som över huvud taget går att finna hos däggdjur. Man är därför hänvisad till att göra dessa studier på motorneuron som tas från råttembryon av en mycket bestämd embryonal ålder (E15).

Svårigheten att arbeta med dessa kulturer avspeglas också i det faktum att man tidigare använt dem enbart för studier av olika substansers effekt på överlevnaden av motorneuronen [13]. Vi har dock i samverkan med professorerna



**Figur 4.** Peroperativa patientbilder som visar nedre delen av halsryggmärgen efter hemilaminectomi och duraincision.

a. Inga spinala rötter ses i det subdurala rummet. Pilarna visar de tomma intervertebrala hålen.

b. Nervtransplantat bestående av delar från n suralis har implanterats till ryggmärgens främre del. Hållsuture har satts i denticulatlignamentet för att kunna manövrera ryggmärgen under implantationsförfarandet. DM= dura mater, X= denticulatlignament, \*= implanterade nervtransplantat.

Hans Thoenens och Dan Lindholms forskningsgrupper i Martinsried, Tyskland, nyligen lyckats börja använda tekniken för att studera mekanismer för reglering av en neuropeptid (CGRP) i motorneuron [14].

### Djurexperiment för att efterlikna skadan hos människa

Som en direkt följd av att motorneuronen hade visats ha en stor regenerativ förmåga efter ryggmärgsskada inledde vi en serie djurexperiment, där syftet var att efterlikna den skada hos människa som omnämndes i inledningen, nämligen avulsion av ventralrötter från ryggmärgsytan. Dessa skador uppträder efter stort traktionsvåld i övre extremiteten – hos vuxna företrädesvis efter motorcykelolyckor, hos nyfödda som förlossningskomplikation. Vi utförde sålunda avulsioner av lumbala ventralrötter med motorisk försörjning av bakenets muskler hos råttor och katt. De avulserade rötterna replanterades därefter in i ryggmärgens laterala del genom en liten öppning i pia mater (Figur 1b)

och syddes fast i omgivande pia. Efter mellan tre och sex månader undersöktes reinnervationen av opererade rötter morfologiskt efter axonalt upptag av märkningssubstans i de opererade ventralrötterna och retrograd transport till cellkroppar i ryggmärgen [15], eller efter direkt intracellulär märkning av enskilda motorneuron [16].

På detta sätt kunde vi visa att en stor mängd neuron, troligen motorneuron, har förmågan att låta nya axoner växa ut i de opererade ventralrötterna. Genom att elektriskt stimulera de replanterade ventralrötterna blev det också möjligt att visa att dessa nya axoner kan ta funktionell kontakt med denerverad muskulatur och åstadkomma muskelkontraktioner [15, 16].

Ett villkor för att motorneuron som innerverar förlamad muskulatur via replanterade ventralrötter skall åstadkomma meningsfull muskelaktivitet är att motorneuronen är sammanlänkade med andra neuron i kedjor eller nätverk. Genom intracellulär registrering från enskilda nervceller blev det möjligt att visa att regenererande motorneuron kan vara insatta i reflexbågar med såväl excitatorisk som inhibitorisk verkan på motorneuronen [16] (Figur 3).

Vad gäller motorneuronens förmåga att hitta fram till samma muskel som den ursprungligen innerverade tydde dock resultaten från råttor och katt på att precisionen är dålig, med en betydande grad av korsinnervation, vilket kan få negativa funktionella konsekvenser.

Nästa steg blev experiment på apa, där ventralrötter från nedre delen av halsryggmärgen med projektion till armen avulserades och replanterades på samma sätt som på råttor och katt [17]. Morfologisk identifiering av motorneuron medelst retrograd märkningsteknik visade att regenererade axoner från en stor mängd motorneuron kunde återfinnas i en liten muskelnerv i armen; i själva verket var antalet uppmärkta motorneuron större på skadesidan än på den intakta sidan. Detta skulle kunna tyda på att motorneuron efter reimplantation av ventralrot producerar flera axoner i olika nervgrenar.

Det viktigaste resultatet från dessa studier var dock att aporna efter en initial reinnervationsfas, då agonistisk och antagonistisk muskulatur ko-kontraherades, så småningom blev förmögna att åstadkomma adekvata volontära rörelser i framför allt proximala muskelgrupper i armen.

### Den första patienten

Resultaten från de djurexperimentella studierna var så uppmuntrande att vi beslöt pröva metoden på humana fall av ventralrotsavulsion. Den första patienten som opererades var en 25-årig man

som vid en motorcykelolycka utsattes för ett kraftigt kaudalt riktat trauma mot vänster skuldra. Samtliga ventrala och dorsala rötter från C6 till och med T1 blev härvid avulserade.

Vid operationen, som utfördes inom en månad efter skadetillfället, kunde C6-rötterna återfinnas i det subdurala rummet intill ryggmärgen, medan övriga rötter (C7–T1) hade ryckts ut ur ryggmärgskanalen (Figur 4). Direkt reimplantation av C6 ventralrot in i ryggmärgen var möjlig. För att återskapa kontinuitet mellan ryggmärgen och C7-roten användes flera strängar av n. suralis. De reimplanterade nervernas läge retinerades med vävnadslimmet Tissel.

De första tecknen till reinnervation i C6- och C7-segmentens naturliga innervationsområde var reinnervationspotentialer i bicepsmuskeln. Dessa kunde demonstreras omkring nio månader efter operationen. Den första kliniska funktionen sågs ca 15 månader postoperativt. Muskelstyrkan återkom där efter successivt, särskilt i bicepsmuskeln, men också i m. deltoideus, m. triceps och m. brachioradialis.

För att bestämma i vad mån den ej avulserade C5-roten hade bidragit till återkomsten av funktion i bicepsmuskeln, gjordes en selektiv blockad av denna nervrot. Kraften i deltoideusmuskeln försvann då nästan totalt, medan mycket liten påverkan kunde registreras i bicepsmuskeln. Styrkan i armbågsböjningen uppskattades till M4 (enligt MRC 0–5 [18]). Patienten hade praktisk nytta av denna återvunna kraft både på fritiden och i sitt arbete som bilmekaniker. Aktiviteten i de olika muskler som reinnerverats på detta sätt var dock alltid kopplad så att ko-kontraktioner var vanliga. Detta första fall publicerades i *The Lancet* i november förra året [1].

### En mycket speciell nervcellspopulation

En förklaring till den goda axonala regenerationen i vår skademodell skulle kunna ligga i att motorneuronen utgör en mycket speciell nervcellspopulation. För att undersöka möjligheten att även andra typer av neuron kan åstadkomma axonväxt under liknande förhållanden gjordes experiment på vuxen råttor, där en tvärsnittslesion utfördes i ryggmärgens baksträng [19]. Med spärmolekyler och immunhistokemi kunde vi visa att uppåtledande primärafferenta nervtrådar genererade nya axonutskott inom ärrområdet, men att dessa nervtrådar gjorde halt vid den intakta vävnaden på andra sidan äret. Om man förlängde äret genom att kombinera tvärsnittsskadan med en kraniellt riktad longitudinell lesion utefter baksträngen växte

dock nybildade axoner betydligt längre. Denna växt skedde i ärrvävnaden.

Det verkar alltså som om det traumatiskt betingade gliaäret i båda de studerade lesionerna erbjuder en gynnsam miljö för axonväxt, medan den degenerationszon som uppträder sekundärt distalt om en lesion på grund av den distala axonstumpens död, s.k. wallersk degenerationszon, verkar negativt på axonväxt. Utifrån dessa perspektiv ter det sig onekligen lockande att försöka hitta sätt att påverka den wallerska zonen så att den förändras till den mer växtbefrämjande typ av CNS-vävnad som återfinns i de mekaniska ären. Ett första steg i en sådan process är att så detaljerat som möjligt identifiera de olika slag av växtrelaterade substanser och signalmolekyler som verkar i de mekaniska lesionsområdena.

Det är självklart ett mycket stort avstånd från grundläggande studier av begränsade skador av den typ vi här har redovisat till att finna vägar att förbättra den regenerativa förmågan hos bancyttem i ryggmärg som drabbats av stort kontusionsvåld. Det är dock vår förhoppning att fortsatta studier av de beskrivna skademodellerna skall kunna bidra till större kunskap om de omständigheter som kan få även en CNS-miljö hos den vuxne att verka befrämjande för axonal återväxt.

Nyligen publicerade resultat verkar stödja hypotesen att nervbanor av betydelse för motorisk kontroll under vissa omständigheter kan regenereras efter ryggmärgsskada [20].

### Referenser

1. Carlstedt T, Grane P, Hallin RG, Norén G. Return of function after spinal cord implantation of avulsed spinal nerve roots. *Lancet* 1995; 346: 1323-5.
2. Risling M, Cullheim S, Hildebrand C. Reinnervation of the ventral root L7 from ventral horn neurons following intramedullary axotomy in the adult cat. *Brain Res* 1983; 280: 15-23.
3. Lindå H, Risling M, Shupliakov O, Cullheim S. Changes in the synaptic input to lumbar motoneurons after intramedullary axotomy in the adult cat [dissertation, Hans Lindå]. Stockholm: Karolinska institutet, 1993.
4. Risling M, Lindå H, Cullheim S, Franson P. A persistent defect in the blood-brain barrier after ventral funiculus lesion in adult cats: implications for CNS regeneration. *Brain Res* 1989; 494: 13-21.
5. Kiernan JA. Axonal and vascular changes following injury to the rat's optic nerve. *J Anat* 1985; 141: 139-54.
6. Risling M, Fried K, Lindå H, Cullheim S, Meier M. Changes in nerve growth factor receptor-like immunoreactivity in the spinal cord after ventral funiculus lesion in adult cats. *J Neurocytol* 1992; 21: 79-93.
7. Frisén J, Verge VMK, Cullheim S, Persson H, Fried K, Middlemas DS et al. Increased levels of trkB mRNA and trkB protein-like immunoreactivity in the injured rat and cat

- spinal cord. Proc Natl Acad Sci 1992; 89: 11282-6.
8. Risling M, Fried K, Lindå H, Carlstedt T, Cullheim S. Regrowth of motor axons following spinal cord lesions. Distribution of laminin and collagen in the CNS scar tissue. Brain Res Bull 1993; 30: 405-11.
  9. Lindå H, Risling M, Cullheim S. »Dendraxons» in regenerating motoneurons in the cat: do dendrites generate new axons after central axotomy? Brain Res 1985; 358: 329-33.
  10. Lindå H, Cullheim S, Risling M. Light and electron microscopic study of lumbar motoneurons after intramedullary axotomy in the adult cat. J Comp Neurol 1992; 318: 188-208.
  11. Lindå H, Piehl F, Dagerlind Å, Verge VMK, Arvidsson U, Cullheim S et al. Expression of GAP-43 mRNA in the adult mammalian spinal cord under normal conditions and after different types of lesions, with special reference to motoneurons. Exp Brain Res 1992; 91: 284-95.
  12. Piehl F, Tabar G, Cullheim S. Expression of NMDA receptor mRNAs in rat motoneurons is down-regulated after axotomy. Eur J Neurosci 1995; 7: 2101-10.
  13. Hughes RA, Sendtner M, Thoenen H. Members of several gene families influence survival of rat motoneurons in vitro and in vivo. J Neurosci Res 1993; 36: 663-71.
  14. Piehl F, Ji RR, Cullheim S, Hökfelt T, Lindholm D, Hughes RA. Fibroblast growth factors regulate calcitonin gene-related peptide mRNA expression in rat motoneurons after lesion and in culture. Eur J Neurosci 1995; 7: 1739-50.
  15. Carlstedt T, Lindå H, Cullheim S, Risling M. Reinnervation of hind limb muscles after ventral root avulsion and implantation in the lumbar spinal cord of the adult rat. Acta Physiol Scand 1986; 128: 645-6.
  16. Cullheim S, Carlstedt T, Lindå H, Risling M, Ulfhake B. Motoneurons reinnervate skeletal muscle after ventral root implantation into the spinal cord of the cat. Neuroscience 1989; 29: 725-33.
  17. Carlstedt T, Hallin RG, Hedström KG, Nilsson-Remahl I. Functional recovery in primates with brachial plexus injury after spinal cord implantation of avulsed ventral roots. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1993; 56: 649-54.
  18. Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system. London: HMSO, 1954.
  19. Frisén J, Fried K, Sjögren AM, Risling M. Growth of ascending spinal axons in CNS scar tissue. Int J Dev Neurosci 1993; 4: 461-75.
  20. Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. Science 1996; 273: 510-3.

## SÄRTRYCK ur LÄKARTIDNINGEN

### ■ TILLVÄXTFAKTORER

Alla kroppens celler reagerar på olika signalämnen i omgivningen. De kallas tillväxtfaktorer. 12 artiklar speglar forskning och tillämpning. 56 sidor. 90 kr.

### ■ MISSÖDEN, MISSTAG, MISSBRUK

Hur löser man konflikter vid missöden i vården? 21 artiklar om problemläkare, läkarproblem, ansvarsfrågor och patientförsäkringen. 80 sidor. 75 kr.

### ■ VÅLD OCH AGGRESSIVITET

Våldet möter läkare på skilda nivåer inom vården. Det kan också drabba dem själva. 26 artiklar ger ett brett perspektiv på våld och aggressivitet. 84 sidor. 95 kr.

### ■ MEDICINENS SPRÅK

Ett urval från Läkartidningens språkspalt under fyra år. Både stort och smått, dagsländor och "eviga" sanningar om sådana finns i språket. 32 sidor. 95 kr.

### ■ ENLIGT MIN ERFARENHET

32 korta, praktiskt inriktade artiklar med anknytning till vårdens vardag. Diagnostik, terapi, exempel på prevention och ledningsfrågor. 48 sidor. 55 kr.

### ■ REHABILITERING

Gränsen mellan behandling och rehabilitering är inte skarp. Allt kliniskt arbete syftar till att främja ett normalt liv, vilket belyses i 27 artiklar. 96 sidor. 85 kr.

### ■ TRAUMATISK STRESS

Riskerna för att människor skall utsättas för traumatisk stress i form av extrema påfrestningar har ökat i vårt moderna samhälle. 14 artiklar. 40 sidor. 50 kr.

Härmed beställs

..... ex Tillväxtfaktorer

..... ex Missöden, misstag, missbruk

..... ex Våld och aggressivitet

..... ex Medicinens språk

..... ex Enligt min erfarenhet

..... ex Rehabilitering

..... ex Traumatisk stress

Namn .....

Adress .....

Insändes till Läkartidningen, Box 5603, 114 86 Stockholm. Telefax 08 - 20 76 19