

# VU Research Portal

## Normal versus hypertrophic wound healing

Butzelaar, L.

2015

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

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

Butzelaar, L. (2015). *Normal versus hypertrophic wound healing: Does early inflammation determine final outcome?*.

### **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)







# Hoofdstuk 9

---

Nederlandse samenvatting

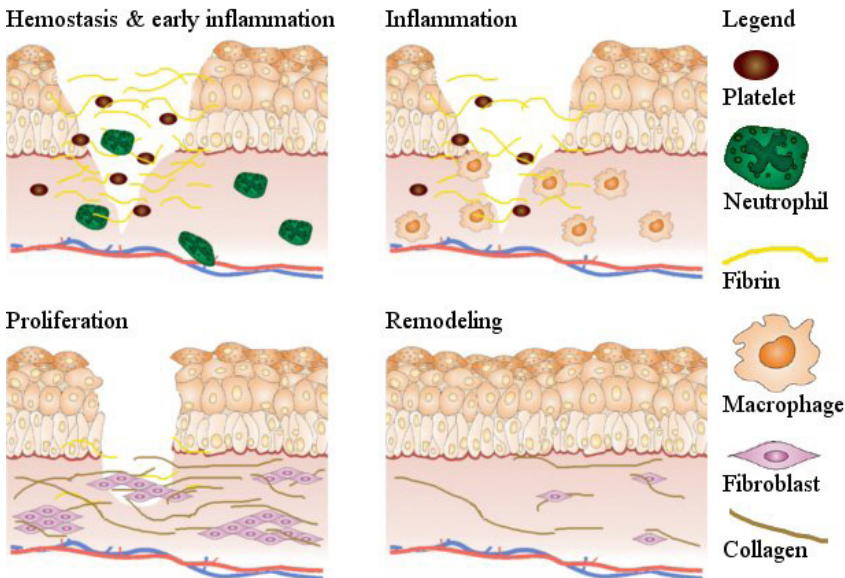
Normale versus hypertrofe wondgenezing  
Beïnvloedt de vroege inflammatie  
het uiteindelijke litteken?



## Inleiding en doelstellingen

Hypertrofe littekens zijn dik, stug, rood en kunnen klachten geven zoals jeuk en pijn. Deze littekens ontstaan vaak na brandwonden, maar treden ook op na bijvoorbeeld operaties. Ondanks de grote aantallen wetenschappelijke onderzoeken naar hypertrofe littekens, blijft de exacte oorzaak van dit probleem onbekend. Mede daardoor is er nog altijd geen optimale behandeling voor deze nare littekens.

Wanneer er een verwonding van de huid ontstaat, moet dit defect zo snel mogelijk worden gerepareerd om doodbloeden en infectie te voorkomen. Reparatie (wondgenezing) resulteert altijd in een litteken dat grotendeels bestaat uit bindweefsel. Normale wondgenezing bestaat uit grofweg vier fasen die elkaar opvolgen, maar elkaar ook deels overlappen. Als eerste moet het bloeden worden gestopt door de bloedplaatjes (haemostase). Binnen enkele uren beginnen bloedplaatjes, geactiveerde bloedvatwanden en noodsignalen uit de huid ontstekingscellen aan te trekken (inflammatie). Deze ontstekingscellen reinigen de wond door de wond te ontdoen van niet levensvatbaar weefsel en ziekteverwekkers. Na enkele dagen begint de proliferatie fase, waarbij het defect in de huid opgevuld wordt met jong littekenweefsel. Als laatste wordt het jonge littekenweefsel omgevormd tot volwassen littekenweefsel (remodellering/maturatie). Deze laatste fase neemt zeker een jaar in beslag. Zie ook **figuur 1**.



**Figuur 1: wondgenezing** Als eerste treedt haemostase op, direct daarna inflammatie, gevolgd door proliferatie vanaf ongeveer 3 dagen en als laatste remodellering.

Als er te veel littekenweefsel wordt aangemaakt, ontstaat er een hypertroof litteken. De huidige opvatting is dat dit wordt veroorzaakt door een ontsporing van het wondgenezingsproces. Er zou een hevige inflammatie (ontsteking) zijn, een overvloedige aanmaak van littekenweefsel en een gestoorde remodellering. Wanneer normale wondgenezing precies omslaat in hypertrofe wondgenezing is nog onbekend. Het vroegste tijdpunt van hypertrofe wondgenezing dat tot nu toe is onderzocht, ligt op twee weken na verwonding.

Het is ook onduidelijk of hypertrofie-vormende individuen geprogrammeerd zijn om hypertrofe littekens aan te maken. We noemen dat predispositie. Het is wel algemeen bekend dat Aziatische en Negroïde personen vaker hypertrofe littekens aanmaken dan bijvoorbeeld Kaukasische personen. Ook bepaalde leeftijdsgroepen vormen vaker hypertrofe littekens. Het is opvallend dat hypertrofie-vormers niet op elke plaats op het lichaam hypertrofe littekens aanmaken. Mogelijk spelen locale factoren daarom ook een rol in het ontstaan van deze littekens.

Dit proefschrift verschaft meer inzicht in zowel lokale als systemische (het gehele lichaam beïnvloedende) factoren die een rol spelen in het ontstaan van hypertrofe littekens. Ook wordt de vroege hypertrofe wondgenezing onderzocht. De verworven kennis moet richting geven aan toekomstig onderzoek en bijdragen aan de ontwikkeling van behandelingen voor littekenhypertrofie.

## Inhoud van het proefschrift

Er zijn al meerdere risicofactoren voor het ontstaan van littekenhypertrofie beschreven. Een bekend voorbeeld daarvan is een Afrikaanse of Aziatische ethnische achtergrond. In **hoofdstuk 2** worden risicofactoren opgesomd die tot nu toe zijn beschreven in de wetenschappelijke literatuur. Er wordt ook besproken hoe de risicofactoren de verschillende fasen van de wondgenezing kunnen beïnvloeden.

In **hoofdstuk 3** worden risicofactoren voor littekenhypertrofie onderzocht in patiënten die een open hart operatie ondergingen. Bij de meeste open hart operaties wordt de patiënt aangesloten op een hart-long machine. De operatie zelf, maar ook de hart-long machine veroorzaken een inflammatoire reactie in het hele lichaam. Die reactie zou lokaal in de huid de wondgenezing kunnen beïnvloeden. Het effect van verschillende hart-long machines op littekenvorming wordt bestudeerd in **hoofdstuk 4**.

In de wetenschap bestaat het idee dat littekenvorming in elk weefsel in het lichaam optreedt, bijvoorbeeld ook in de kransslagaderen van het hart. De manier waarop verdikkingen in kransslagaderen (kransslagader verkalking) ontstaan, lijkt op de manier waarop littekenhypertrofie ontstaat. Daarom wordt in **hoofdstuk 5** gekeken of kransslagader verkalking en littekenhypertrofie aan elkaar gerelateerd zijn.

Tot op de dag van vandaag is er geen onderzoek gedaan naar wat er precies gebeurt

tijdens de hele vroege fase van hypertrofe wondgenezing. Om licht te werpen op de processen die dan optreden, wordt in **hoofdstuk 6** de immunreactie tijdens de vroege hypertrofe wondgenezing vergeleken met de immunreactie tijdens de vroege normale wondgenezing.

Huid van verschillende locaties op het lichaam wordt blootgesteld aan verschillende invloeden zoals zonlicht (UV straling), ziekteverwekkers, maar ook mechanische factoren zoals rek. Daarom heeft huid op verschillende plaatsen op het lichaam verschillende eigenschappen. Dikke littekens lijken vaker op bepaalde plekken op het lichaam te ontstaan: voorkeursplaatsen. Om te onderzoeken of de huid eigenschappen op die voorkeursplaatsen een rol kunnen spelen in het ontstaan van dikke littekens wordt in **hoofdstuk 7** de huid opbouw van voorkeursgebieden voor dikke littekens bestudeerd.

## Samenvatting van de resultaten

### *1. Factoren die in het hele lichaam optreden*

#### *1.1. Risicofactoren voor littekenhypertrofie*

In **hoofdstuk 2** werd in de wetenschappelijk literatuur gezocht naar bekende risicofactoren voor het ontstaan van littekenhypertrofie. Het wetenschappelijk bewijs voor veel van die risicofactoren is niet sterk. De risicofactoren die met matig sterk tot sterk bewijs zijn aangetoond zijn: jonge leeftijd, bacteriën in de wond en rek (risicofactoren voor littekenhypertrofie); chemotherapie en roken (beschermen tegen littekenhypertrofie).

Een ander probleem in het onderzoeken van deze risicofactoren is het feit dat er geen overeenstemming bestaat over de exacte definitie van littekenhypertrofie. Daardoor is het niet altijd duidelijk of de beschreven littekens in de wetenschappelijke literatuur ook daadwerkelijk hypertrofe littekens zijn. Dat bemoeilijkt het vergelijken van onderzoeken over littekenhypertrofie. In mijn proefschrift wordt steeds de volgende definitie van littekenhypertrofie gebruikt: littekenweefsel dat minstens 1 mm boven huid niveau is verheven, maar niet buiten de grenzen van de originele wond treedt.

Bij patiënten die een open hart operatie ondergaan, maakt de hart chirurg een snede boven het borstbeen. Uiteindelijk wordt de snede een litteken. Ongeveer 30% van de patiënten ontwikkelt een hypertroof litteken. Dat maakt deze patiënten zeer geschikt voor onderzoek naar littekenhypertrofie. Risicofactoren voor littekenhypertrofie in deze patiënten groep worden beschreven in **hoofdstuk 3** en bestaan uit body mass index en ethnische afkomst. Daarnaast blijkt ongemak van het litteken (pijn en jeuk) 4 maanden na verwonding een voorspeller te zijn voor het optreden van littekenhypertrofie na 1 jaar. Beschermende factoren, aan de andere kant, zijn bloeddruk medicatie en medicatie tegen bloedarmoede. Al deze factoren beïnvloeden één of meerdere fases van de wondgenezing.

### *1.2. Inflammatoire reactie en het ontstaan van littekenhypertrofie*

Zoals eerder genoemd, kunnen zowel operaties als hart-long machines een inflammatoire reactie veroorzaken in het hele lichaam. Deze reactie zou de wondgenezing kunnen beïnvloeden. Er bestaan grofweg twee typen hart-long machine: de conventionele (CECC) en de minimale (MECC). Het is bekend dat MECC een minder hevige inflammatoire reactie teweeg brengt dan CECC. In **hoofdstuk 4** werden de invloeden van beide typen hart-long machine op littekenvorming onderzocht. Daarbij werden geen verschillen opgemerkt, wat suggereert dat de inflammatoire reactie in het gehele lichaam geen of niet voldoende invloed heeft op de lokale wondgenezing in de huid. Een kanttekening hierbij is dat patiënten die aan de CECC werden aangesloten ook medicijnen kregen die de inflammatoire reactie dempen. Daarom is het lastig om keiharde conclusies te trekken.

### *1.3. Onstaat littekenhypertrofie in alle weefsels? – relatie met kransslagaderverkalking*

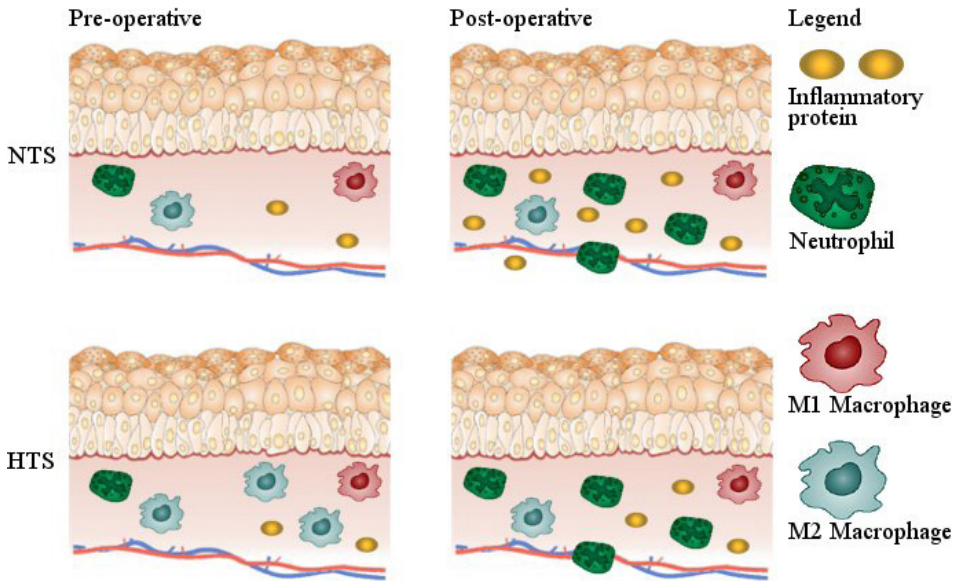
Elk weefsel in het lichaam kan littekens aanmaken. Om te onderzoeken of dat ook het geval kan zijn voor hypertrofe littekens werd in **hoofdstuk 5** de relatie tussen littekenhypertrofie en kransslagader- en bypass verkalking bekeken in hart patiënten. Ondanks het feit dat deze aandoeningen meerdere gemeenschappelijke kenmerken hebben, werd een relatie ertussen niet aangetoond. Deze bevinding vertelt ons dat patiënten die littekenhypertrofie maken in de huid niet zonder meer ook littekenhypertrofie vormen in andere weefsels.

## *2. Locale factoren*

### *2.1. Locale factoren en begin van ontstaan - vroege hypertrofe versus vroege normale wondgenezing*

De processen die optreden tijdens de vroege hypertrofe wondgenezing werden opgehelderd in **hoofdstuk 6**. De strategie om de hele vroege wondgenezing te onderzoeken, is zeer vernieuwend. In tegenstelling tot de huidige opvatting dat littekenhypertrofie ontstaat door een buitensporige lokale inflammatoire reactie, liet de vroege hypertrofe wondgenezing juist een verminderde inflammatoire reactie zien (**figuur 2**). Verschillende inflammatoire eiwitten waren in verminderde mate aanwezig tijdens de vroege hypertrofe- ten opzichte van normale wondgenezing (**figuur 2** “post-operative”). Het is mogelijk dat deze verminderde respons ervoor zorgt dat de inflammatie niet op tijd wordt “uitgezet”. Daardoor duurt de inflammatoire fase langer en kan deze gedurende langere tijd factoren produceren die de opbouw van littekenweefsel stimuleren.

Naast de verminderde inflammatoire reactie werden ook grotere aantallen M2 macrofagen gezien in huid die hypertrofe littekens produceerde (**figuur 2** “pre-operative”). M2 macrofagen onderdrukken inflammatie en zijn ook door andere onderzoekers in verband gebracht met littekenvorming.



**Figuur 2: vroege inflammatoire reactie in normale- en hypertrofe wondgenezing** NTS = normale litteken groep, HTS = hypertrofe litteken groep, Pre-operative = aan het begin van de operatie, post-operative = aan het eind van de operatie (3 uur na verwonding). Aan het begin van de operatie zijn er meer M2 macrofagen in de huid van mensen die littekenhypertrofie ontwikkelen, maar 3 uur na verwonding is het aantal M2 macrofagen in beide groepen weer gelijk. De hoeveelheid inflammatoire eiwitten neemt in beide groepen toe gedurende de eerste 3 uur na verwonding, maar deze toename is beduidend groter in de normale- vergeleken met de hypertrofe litteken groep.

## 2.2. Locale factoren die vatbaar maken voor dikke littekens - voorkeursgebieden versus controle gebieden: verschillen in eigenschappen

Een overzicht van huid eigenschappen op verschillende plaatsen op het lichaam wordt gegeven in **hoofdstuk 7**. Er werd gekeken naar eigenschappen van het bindweefsel, maar ook naar immuun cel aantallen en – typen. Er werd ook gekeken naar deze eigenschappen in voorkeursgebieden voor dikke littekenvorming versus controle gebieden. Omdat er geen consensus is over welke locaties voorkeursgebieden zijn voor littekenhypertrofie en omdat gedegen wetenschappelijk onderzoek daarnaar ontbreekt, was het helaas niet mogelijk om huid eigenschappen te onderzoeken die aanleiding zouden kunnen geven voor het ontstaan van littekenhypertrofie. In plaats daarvan werden voorkeursgebieden voor keloid, een ander vorm van dikke littekens, onderzocht. Er is namelijk wel overeenstemming over de voorkeursgebieden voor keloid vorming. In voorkeursgebieden werden andere bindweefsel eigenschappen gezien dan in controle gebieden. Ook werden minder inflammatie-stimulerende macrofage (M1) gezien in de voorkeursgebieden. De lage aantallen M1 macrofagen

zouden een rol kunnen spelen in de inflammatoire fase van de wondgenezing, waarbij het tekort aan deze cellen mogelijk de inflammatoire reactie onderdrukt. Samenvattend spelen de eigenschappen van de huid mogelijk een rol in het ontstaan van dikke littekens.

## Evaluatie van de resultaten (discussie)

De meest belangrijke boodschap van dit proefschrift is de bevinding dat de inflammatoire reactie in de vroege hypertrofe wondgenezing verminderd is ten opzichte van de vroege normale wondgenezing (**figuur 2** en **hoofdstuk 6**). Deze observatie lijkt in strijd te zijn met de huidige opvatting dat juist een hevige inflammatoire reactie leidt tot littekenhypertrofie. Echter, andere leden van onze onderzoeksgroep verkregen vergelijkbare resultaten die het nieuwe concept ondersteunen dat een verminderde (vroege) inflammatoire respons gerelateerd is aan littekenhypertrofie. Deze bevinding wordt verder ondersteund door de observatie van andere onderzoeksgroepen dat een vertraagde inflammatoire reactie leidt tot fibrose (een overmaat aan bindweefsel) in andere weefsels.

Drie uur na verwonding werden in de huid verminderde concentraties van inflammatoire eiwitten gemeten in hypertrofie-vormende patiënten vergeleken met patiënten die normale littekens ontwikkelen. De verminderde aantallen inflammatie-onderdrukkende (M2) macrofagen in de huid van hypertrofie-vormers hebben daar mogelijk aan bijgedragen.

Echter, men moet wel in het achterhoofd houden dat hypertrofie vorming een dynamisch proces is. Dat betekent dat, wil men de mechanismen die tot littekenhypertrofie leiden goed kunnen ontrafelen, het gehele proces onderzocht moet worden, te beginnen op enkele uren na verwonding. Zoals beschreven in dit proefschrift begint de hypertrofe wondgenezing met een verminderde inflammatoire reactie in de huid. Op latere tijdstippen in dit proces hebben andere onderzoekers juist een toegenomen inflammatoire respons waargenomen. Onze observatie dat jeuk en pijn vier maanden na verwonding voorspellend waren voor littekenhypertrofie past mogelijk in dit plaatje (**hoofdstuk 3**). Pijn en jeuk kunnen namelijk worden veroorzaakt door inflammatoire eiwitten. Op dit moment in het wondgenezingsproces (vier maanden na verwonding) is of wordt littekenhypertrofie zichtbaar met het blote oog. Littekenhypertrofie uit zich dan in toegenomen roodheid en verdikking van het litteken. Dit wordt onder andere veroorzaakt door een toegenomen aantal bloedvaten. Toename van bloedvaten is ook geobserveerd in littekenvorming in andere weefsels en wordt waarschijnlijk veroorzaakt door geactiveerde bloedvaten. Uiteindelijk neemt de roodheid af samen met het aantal cellen in het litteken. Echter, omdat de cellen die littekenweefsel aanmaken, de myofibroblasten, blijven bestaan, wordt er nog steeds littekenweefsel aangemaakt. Ook bij littekenvorming in andere weefsels dan de huid wordt deze omslag gezien. Deze vormen van littekenvorming hebben in elk geval één ding gemeen: de activatie van bloedvaten. De geactiveerde bloedvaten zorgen er onder andere



voor dat ontstekingscellen uit de bloedbaan kunnen treden om vervolgens naar de wond te migreren. Ook kunnen geactiveerde bloedvaten de aanmaak van nieuwe bloedvaten stimuleren, wat de roodheid in hypertrofe littekens veroorzaakt. Verder bestaat er het idee dat geactiveerde bloedvaten ook een rol spelen in het aanmaken van littekenweefsel. Dit past allemaal in het plaatje van het ontstaan van littekenhypertrofie in de huid.

Bloedvaten worden geactiveerd door inflammatoire eiwitten. De verlaagde concentraties die we van deze eiwitten hebben gemeten in hypertroof littekenweefsel zorgen er mogelijk voor dat de inflammatoire reactie niet groot genoeg wordt om een stop signaal te genereren. Daardoor stopt de inflammatoire respons mogelijk niet op het juiste moment, maar blijft juist doorsluimeren met als gevolg een langduriger afgifte van inflammatoire eiwitten dan normaal. Deze eiwitten activeren dan langdurig de bloedvaten en stimuleren langer de aanmaak van nieuwe bloedvaten en littekenweefsel. Dit uit zich als roodheid en verdikking van het litteken.

De lokale inflammatoire respons die in de huid plaatsvindt, zou de systemische (het hele lichaam betreffende) respons kunnen beïnvloeden. Uitgebreide brandwonden (lokaal; in de huid) kunnen bijvoorbeeld de systemische inflammatoire respons verschuiven naar een anti-inflammatoire respons, waardoor brandwond patiënten zeer vatbaar worden voor infecties. Aangezien het lokale milieu duidelijk het systemische milieu kan beïnvloeden, is het omgekeerde misschien ook mogelijk, met andere woorden de systemische inflammatoire respons zou de reactie in de huid kunnen beïnvloeden en daarmee mogelijk ook de littekenvorming. Helaas is er in de wetenschappelijke literatuur weinig bekend over de invloed van het systemische milieu op het lokale milieu met betrekking tot hypertrofe littekenvorming. In dit proefschrift zagen we aan het begin van de operatie hogere concentraties van het eiwit CCL-2 in het bloed (systemisch milieu) van patiënten die hypertrofe littekens vormen. CCL-2 is een inflammatoir eiwit. Echter, dit zagen we niet terug in de huid (lokaal milieu; **hoofdstuk 6**). Ook in **hoofdstuk 4** correleerde de systemische respons niet met de lokale respons. Dit is in overeenstemming met het feit dat wetenschappelijke onderzoeken naar andere inflammatoire aandoeningen van de huid ook geen relatie konden aantonen tussen de lokale en de systemische situatie.

Wat betreft de behandeling voor littekenhypertrofie, geven onze resultaten aan dat toekomstige behandelingen toegespitst moeten worden op de individuele patiënt (afhankelijk van zijn/haar profiel van risicofactoren) en daarnaast gericht moeten zijn op specifieke momenten van het hypertrofe wondgenezingsproces. In de vroege stadia van hypertrofe wondgenezing moet ernaar worden gestreefd de lokale inflammatoire reactie te stimuleren om een normale (vroege) inflammatoire respons mogelijk te maken. Echter, op latere tijdstippen is juist remming nodig van de inflammatoire reactie, aangezien de inflammatoire reactie in hypertrofe wondgenezing niet vanzelf stopt. Als deze aanbevelingen worden opgevolgd, is het wellicht mogelijk om de processen die littekenhypertrofie veroorzaken zodanig om te vormen dat er uiteindelijk een normaal litteken ontstaat.

## Conclusies en aanbevelingen voor de toekomst

De resultaten in dit proefschrift bevestigen dat de inflammatoire reactie een belangrijke rol speelt in het ontstaan van littekenhypertrofie. Slechts drie uur na verwonding waren al verschillen zichtbaar tussen de inflammatoire respons in normale wondgenezing en die in hypertrofe wondgenezing, waarbij de inflammatoire respons in de hypertrofe wondgenezing minder hevig was dan in de normale wondgenezing.

Echter, toekomstig onderzoek naar het ontstaan van littekenhypertrofie zou zich niet alleen moeten concentreren op de zeer vroege inflammatoire respons, maar zich ook richten op andere belangrijke tijdstippen in de wondgenezing. Op die manier kan het dynamische proces van hypertrofe littekenvorming verder worden ontrafeld. Het zou ook interessant zijn om gelijktijdig de systemische inflammatoire reactie te onderzoeken om de (mogelijke) interactie tussen het lokale en het systemische milieu op te helderen.

Ook strekt het zeer tot aanbeveling een eenvoudig toepasbare klinische definitie te ontwikkelen, opdat onderzoeken naar littekenhypertrofie gemakkelijker en betrouwbaarder met elkaar vergeleken kunnen worden.

Verder zouden de resultaten die in dit proefschrift worden beschreven, ook onderzocht moeten worden in brandwond patiënten, aangezien brandwonden vaak tot littekenhypertrofie leiden. Hierbij zou de hypertrofe wondgenezing in brandwonden niet alleen moeten worden vergeleken met de normale wondgenezing, maar ook met hypertrofe wondgenezing in operatieve wonden. De wijze waarop brandwonden ontstaan verschilt immers van de wijze waarop operatieve wonden ontstaan en het is interessant om te onderzoeken hoe deze verschillende traumamechanismen de littekenvorming beïnvloeden.



Steenschuur, Leiden; view on Hogewoerdsbrug by night