

# Histologische aspecten van hydrofibers

<b>Auteur:</b>	Drs. R.P. Dutrieux
<b>Vertaald/bijgewerkt:</b>	
<b>Nieuwsbrief:</b>	8 oktober 1999
<b>Pagina:</b>	25-27
<b>Jaargang:</b>	
<b>Nummer:</b>	
<b>Toestemming:</b>	Convatec
<b>Illustraties:</b>	
<b>Bijzonderheden:</b>	Symposium Wondinfectie en brandwonden
<b>Kernwoorden:</b>	brandwonden hydrofibers histologie producten produkten
<b>Literatuur:</b>	1. R.P. Dutrieux, M.M.C. Bosch, G. Sutedja, L.P. Kok and M.E. Boon. Confocal microscopy in Diagnostic pathology Three dimensional Confocal Microscopy: Volume investigation of biological specimen Chapter 16 Academic press Inc. (1994) 2. L.C. Junqueira, J. Carneiro en R.O. O'Kelly Functionele histologie Wetenschappelijke uitgeverij Bunge (1990) 3. G. Majno en I. Joris. Cells, tissues and disease Blackwell Science (1996) 4. M.J. Hoekstra, P Hupkens, R.P. Dutrieux, M.M.C. Bosch, T.A. Brans and R.W. Kreis. A comparative burn wound model in the New Yorkshire pig for the histopathological evaluation of local therapeutic regimens: Silver Sulfadiazine cream as a standard. British Journal of plastic surgery; vol46: 585-589 (1993)

Om een eerste indruk te krijgen omtrent de werking van hydrofibers (Aquacel®) werd microscopisch onderzoek verricht zowel naar het "ruwe materiaal" als naar de vezels in interactie met het wondbed, het laatste zowel na applicatie als na implantatie. Omdat in deze eerste fase nog geen sprake was van een goed gestructureerd dierexperimenteel onderzoek was het aanbod van relevante weefselpreparaten beperkt en noodzakelijkerwijs afkomstig uit verschillende experimenten van verschillende onderzoekers. Daarnaast moet worden vastgesteld dat een aantal eigenschappen, inherent aan conventionele lichtmicroscopie, de mogelijkheden om dit instrument aan te wenden voor onderzoek naar de morfologie en functie van hydrofibers (Aquacel®) sterk beperken:

1. Er is een reeks van bewerkingen nodig voordat preparaten ontstaan die onder de conventionele microscoop kunnen worden beoordeeld. In deze bewerkingen, waaronder fixeren, dehydrerende alcohol reeksen en verhitten, kunnen vorm en functie van vezels significant veranderen zodat theoretisch data gegenereerd kunnen worden die weinig meer met de oorspronkelijke vezels gemeen hebben.
2. Indien conventionele microscopie wordt aangewend om de interactie tussen de vezels en het wondoppervlak te bestuderen kunnen de bovengenoemde bewerkingen bovendien ongewenste artefacten induceren zoals loslaten, oplossen van bepaalde substanties en verlies van epitopen. Het gebruik van vriescoupe materiaal i.p.v. fixatie vermindert een aantal van deze nadelen maar gaat ten koste van een slechtere morfologie.
3. Voor conventionele licht microscopie is het noodzakelijk dat preparaten zo dun mogelijk

gesneden worden, in de orde van enkele micrometers. Dit is niet het gevolg van het feit dat het apparaat werkt volgens een doorvallend licht principe en dikkere preparaten de lichtpassage belemmeren. Ook bij gebruik van een sterkere lamp die door dikkere preparaten heen schijnt ontstaat een wazig beeld. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat de optiek slechts in staat is om 1 vlak, het zogeheten focusvlak, scherp weer te geven. De aanwezige weefsellagen hieronder en boven, derhalve de niet in focus liggende lagen, zullen het beeld vertroebelen omdat zij op het netvlies onscherp over het focusvlak heen projecteren. Door het gebruik van dunne coupes worden deze onscherpe vlakken weliswaar fysiek weggesneden echter ten koste van de ruimtelijke informatie. In conventionele lichtmicroscopie zullen lange vezels derhalve als korte fragmentjes, indien precies dwars aangesneden door het microtoom zelfs als puntjes, worden afgebeeld.

Teneinde deze technische onvolkomenheden te overwinnen werd bij het "ruwe materialen" onderzoek vooral gebruik gemaakt van Confocale Laser Scan Microscopie (CLSM). Deze techniek maakt het mogelijk om binnenin een 3-D weefselmassa 1 enkel focusvlak met een dikte in de orde van 0.4 micrometer te scannen, zonder eerder beschreven overprojectie van onder- en bovenliggende weefsellagen. Het verkregen beeld kan op de harde schijf van de computer worden opgeslagen. Door meerdere van deze scherp afgebeelde lagen over elkaar heen te projecteren kan de ruimtelijke structuur van het materiaal worden gereconstrueerd (1). Naast het grote voordeel van ruimtelijk inzicht in het materiaal is ook de kans op artefacten sterk gereduceerd omdat de autofluorescerende eigenschappen van de vezels weefselbewerking vooraf vrijwel overbodig maakt.

In dit onderzoek blijkt het "ruwe materiaal" opgebouwd uit een random weving van lange, compacte vezels met een dikte van 40 tot 50 micrometer. Toevoeging van waterige eosine veroorzaakt macroscopisch een toegenomen transparantie. Microscopisch blijkt dit veroorzaakt door een uitzonderlijk sterke wateropname van de vezels, vergelijkbaar met het corpus vitreum (glasachtig lichaam oog; 2 ). Toevoeging van alcohol-eosine heeft een tegengesteld effect door ontwatering van de vezels.

CLSM onderzoek naar de interactie tussen de Hydrofibers (Aquacel®) en het wondbed beperkt zich tot de eerste 2 post operatieve dagen (POD 1 en POD 2) na middel diepe huidexcisies in 8-12 weken oude mannelijk Wistar ratten. De film met Hydrofibers (Aquacel®) was hierbij gefixeerd op het wondbed met behulp van zijden tape. In deze eerste twee dagen werd een hecht contact gezien tussen het wondoppervlak en de vezels. Opvallend hierbij is dat de vezels zich alle in dezelfde richting lijken te oriënteren nl. loodrecht op het wondoppervlak en dicht aaneengesloten. Waarschijnlijk is dit het gevolg van verdamping aan het buitenoppervlak waardoor in de vezels een capillaire vloeistofstroom ontstaat. Bij dezelfde soort proefdieren werd op latere dagen alleen conventioneel lichtmicroscopisch (vriesmateriaal) onderzoek verricht. Op plaatsen waar de vezels nog in direct contact stonden met het wondoppervlak werden granulocyten en soms ook kolonies micro-organismen in de interfibrillaire ruimten aangetroffen. Ook een specifieke immunologische kleuring op zure fosfatase, een produkt van granulocyttaire degranulatie, toonde sterke positiviteit in de interfibrillaire ruimte. Het grensvlak tussen de Hydrofibers (Aquacel®) en het wondbed bevatte een relatief bescheiden hoeveelheid granulocyten. Het lijkt er der-halve op dat bij gebruik van de hydrofibers (Aquacel®) het wondbed enerzijds in mindere mate acuut ontstoken raakt terwijl anderzijds de aanwezige onstekingscellen, micro-organismen en wondvocht met daarin eiwitsplitsende enzymen en mogelijk ook ontstekings mediators uit het wondbed worden gedraineerd.

Op nog latere dagen bleken de hydrofibers (Aquacel®) plaatselijk ook van het wondbed te zijn losgeraakt. Het wondbed werd op die plaatsen bedekt door een brede fibrinoïde laag met aan het oppervlak een smalle, bandvormige laag granulocytair debris. Dit beeld wekt sterk de indruk dat de granulocyten door de drainerende eigenschappen van de vezels fysiek van het dieper gelegen wondbed worden gescheiden. Potentieel heeft deze scheiding een preventieve werking op het ontstaan van aspecifieke secundaire weefsel schade, een wondtechnisch gezien negatief verschijnsel waarmee influx van neutrofielen normaliter gepaard gaat (3). Het dieper gelegen wondbed bestond uit tamelijk rustig granulatieweefsel zonder resten van hydrofibers (Aquacel®).

Naast een duidelijke interactie met het granulerende wondbed werd ook een fysieke relatie met ingroeïende neo-epidermis gezien. Daar waar de Hydrofibers (Aquacel) direkt aansloten op het ingroeïende neo-epitheel ontstonden soms diepe neo-epitheliale invaginaties die hydrofibers (Aquacel®) omsloten. Door de matige morfologie van de vriescoupe kunnen deze abusievelijk worden aangezien voor sub-epitheliale inclusies van partikels van het materiaal. Nadere inspectie laat echter een epitheliale omsluiting zien en op latere dagen blijken deze partikels ook niet meer zichtbaar. Waarschijnlijk werden zij door het ingroeïende en uitrijpende epitheel uiteindelijk weer losgelaten. Het diepere granulerende wondbed toonde een rustig aspect.

Hoewel de kans op Hydrofiber (Aquacel®) partikelinclusie in het excisie wondbed niet groot lijkt toonden varkensexperimenten dat het ontstaan van dit fenomeen onder bepaalde omstandigheden niet onmogelijk is. In een waarschijnlijk van meet af aan sterker geprikkeld wond, het genezende wondbed van een geëxcideerde brandwond (4), werd in de eerste dagen een heftige uitgroei van granulatieweefsel gezien reikend tot in de onderste interfibrillaire ruimten. Na loskomen van de Hydrofiber laag bleken partikels ervan ingesloten te zijn geraakt in het granulatieweefsel. Het lot van deze partikels is op dit moment niet geheel duidelijk. Een experiment waarbij een massa Hydrofibers werd geogst 14 dagen na subcutane implantatie, toonde een sterke infiltratie van reuscellige macrofagen. Een duidelijke interactie tussen vezels en reparerende cellen was er niet en fibrose beperkte zich tot de directe omgeving. Op grond van dit beeld mag wellicht worden verwacht dat deze ingesloten geraakte vezel partikels op korte termijn uit het granulerende wondbed zullen zijn geresorbeerd.

De beperkingen van dit eerste histologische onderzoek in acht nemend concludeer ik dat:

- Hydrofibers (Aquacel®) unieke vocht- en celresorberende eigenschappen lijken te hebben die mogelijk een verklaring vormen voor gunstige klinische wondgenezing parameters.
- Hydrofiber (Aquacel®) partikels, onder bepaalde omstandigheden geïncorporeerd geraakt in het granulerende wondbed, hieruit waarschijnlijk vrij snel geresorbeerd zullen worden.
- De tot nu toe verkregen data een nader, systematisch gestructureerd onderzoek naar de werking van Hydrofibers (Aquacel®) rechtvaardigen.

Drs. R.P. Dutrieux, patholoog anatoom, BovenIJ Ziekenhuis Amsterdam