

Dermis substituten ter voorkoming van littekens bij diepe huiddefecten

Dr. H.J.C. de Vries *

Diep dermale huiddefecten zoals derdegraads brandwonden, decubituswonden en ulcera cruris kunnen na de genezing lelijke littekens achterlaten. Er kunnen contracturen ontstaan die vooral in de buurt van gewrichten tot een invaliderende dwangstand van het desbetreffende gewricht leiden. In dit artikel wordt nader ingegaan op het voorkomen van deze late complicaties bij diepe huiddefecten met behulp van huidvervangende materialen. Op de afdeling Dermatologie van het AMC in Amsterdam is reeds enige jaren geëxperimenteerd met dermissubstituten. Deze huidvervangers worden vervaardigd uit biodegradeerbaar materiaal en worden afgebroken zodra de nieuwe dermis is voltooid. Belangrijke eisen waaraan een dermissubstituut moet voldoen zijn: juiste porie grootte, elasticiteit en juiste afbreeksnelheid. Een dermissubstituut gemaakt van collageen en elastine, beide eiwitten die voorkomen in de normale huid, blijkt in staat om littekenvorming en contracturen in diepe huidwonden tegen te gaan. De genezing kan verder worden verbeterd wanneer bindweefselcellen worden toegevoegd aan het dermissubstituut. Via een unieke methode kan zonder kweekstappen een cellulair dermissubstituut worden gefabriceerd dat in staat is wondcontractie en littekenformatie in diepe huiddefecten te minimaliseren.

Inleiding

Diepe huidwonden zoals derdegraads brandwonden, maar ook decubituswonden en ulcera cruris, genezen zeer traag. Wanneer uiteindelijk met veel geduld en inspanning het defect is gesloten, valt het cosmetische resultaat vaak tegen. De wonden zijn vervangen door littekenweefsel en verder kunnen contracturen optreden die de bewegingsvrijheid van gewrichten belemmeren (figuur 1). Met de huidige behandeling van diepe huidverwondingen zijn deze complicaties, te weten trage genezing, littekenformatie en wondcontracturen, niet te voorkomen.

Het kenmerk van een diepe huidwond is de afwezigheid van zowel opperhuid (epidermis) als lederhuid (dermis). Het belang van epidermis bestaat uit de bescherming van het lichaam tegen schadelijke stoffen en straling (zoals UV-licht). De dermis heeft velerlei functies: zij geeft bescherming tegen mechanische stoot en trekkrachten die op het lichaam inwerken. Verder huist een gecompliceerd immuunapparaat in de dermis die ziektekiemen moet buiten houden. Via allerlei gevoelsorgaantjes is dermis een belangrijk orgaan voor de tastzin.

Bij een diepe huidverwonding verdwijnen ter plekke al deze beschermende factoren en functies. Het lichaam is in staat de epidermis volledig te herstellen. Nieuwe epidermale cellen groeien met een snelheid van 1 tot 2 mm per dag vanaf de wondrand over het wondop-

pervlak uit. Bij grote wonden kan dit dus enige tijd duren maar bij het uitblijven van complicaties worden alle wonden bedekt met epidermis. Wat betreft het herstel van dermaalweefsel is het lichaam tot minder in staat. Hogere diersoorten kunnen geen nieuwe lederhuid maken wanneer deze ernstig wordt beschadigd. Hiervoor in de plaats wordt littekenweefsel aangelegd en dit weefsel is ontsierend en lang niet zo soepel en elastisch als normale dermis.

Dermissubstituten

Er zijn op verschillende plaatsen in de wereld reeds diverse pogingen ondernomen om de vorming van littekenweefsel in diep wonden tegen te gaan en de regeneratie van normale lederhuid te stimuleren. Eén methode om dit te bewerkstelligen is via acellulaire dermissubstituten. Hierbij fungeert het dermissubstituut als ware het een "steiger" die gebruikt wordt bij restauratiewerkzaamheden. In de wond wordt een sponsachtige poreuze structuur (het dermissubstituut) geplaatst die cellen uit de omgevende intacte huid in het wondgebied leidt en beïnvloedt. In een tweede, meer geavanceerde methode worden aan het dermissubstituut lichaamseigen cellen toegevoegd (figuur 2a en 2b). Het dermissubstituut verleent hierbij steun aan cellen die voor implantatie in de matrix zijn gezaaid. Deze cellen zijn van de patiënt zelf en dienen vooraf te worden vermeerderd in een kweeklaboratorium. In het

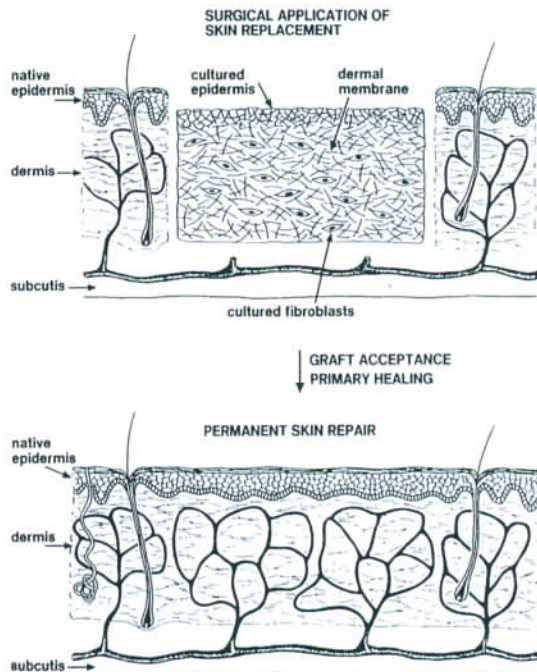
wondgebied fungeert dit cellulaire dermissubstituut als tijdelijk weefsel en schept een optimale situatie voor de vorming van nieuwe dermis. Deze dermis dient uiteindelijk betere eigenschappen te bezitten dan het littekenweefsel wat normaal wordt aangelegd in wonden.



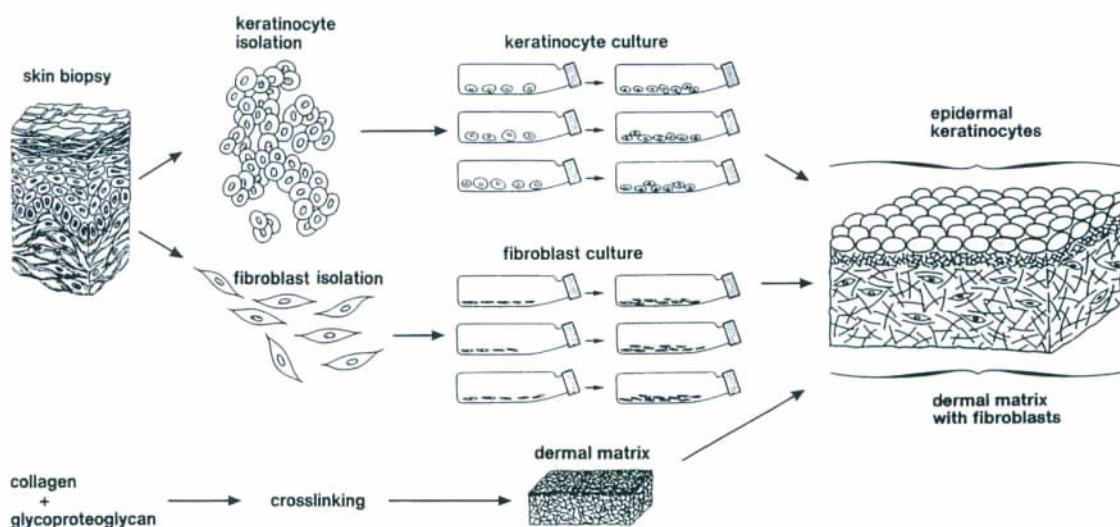
Figuur 1. Ernstige 3e graads verbranding van de rug. Ondanks de toepassing van split skin mesh grafts heeft dit 16-jarig meisje ernstige littekens overgehouden aan haar verwondingen.

Dermis substitutie

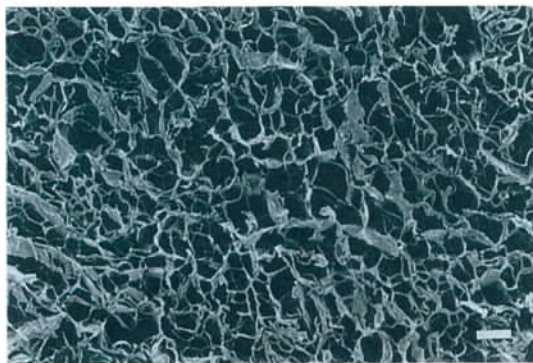
In de eerste fase van ons onderzoek zijn verschillende biodegradeerbare poreuze matrices getoetst als dermaal substituut in diep dermale huiddefecten (figuur 3). Deze materialen werden uitgetest bij varkens in een één trans-



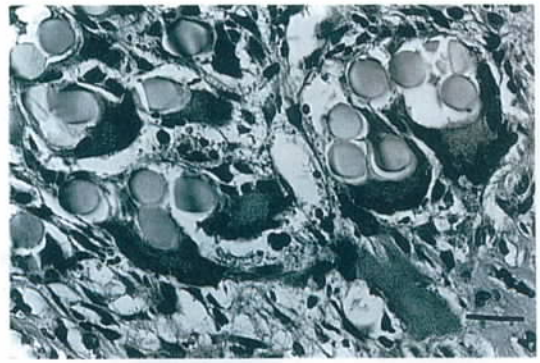
Figuur 2b. Het cellulaire substituut wordt vervolgens in de wond geplaatst waarna het de continuïteit van het defect herstelt. (Uit *Leg Ulcers: diagnosis and treatment*, Ed. W. Westerhof, pagina 345, 1993, Elseviers, Amsterdam, met permissie van de uitgever.)



Figuur 2a. Uit een stukje huid van de patiënt worden huidcellen geïsoleerd die in het laboratorium in ongeveer 3 weken tijd worden vermeerderd via kweek stappen. De cellen worden vervolgens in het dermis substituut gezaaid.

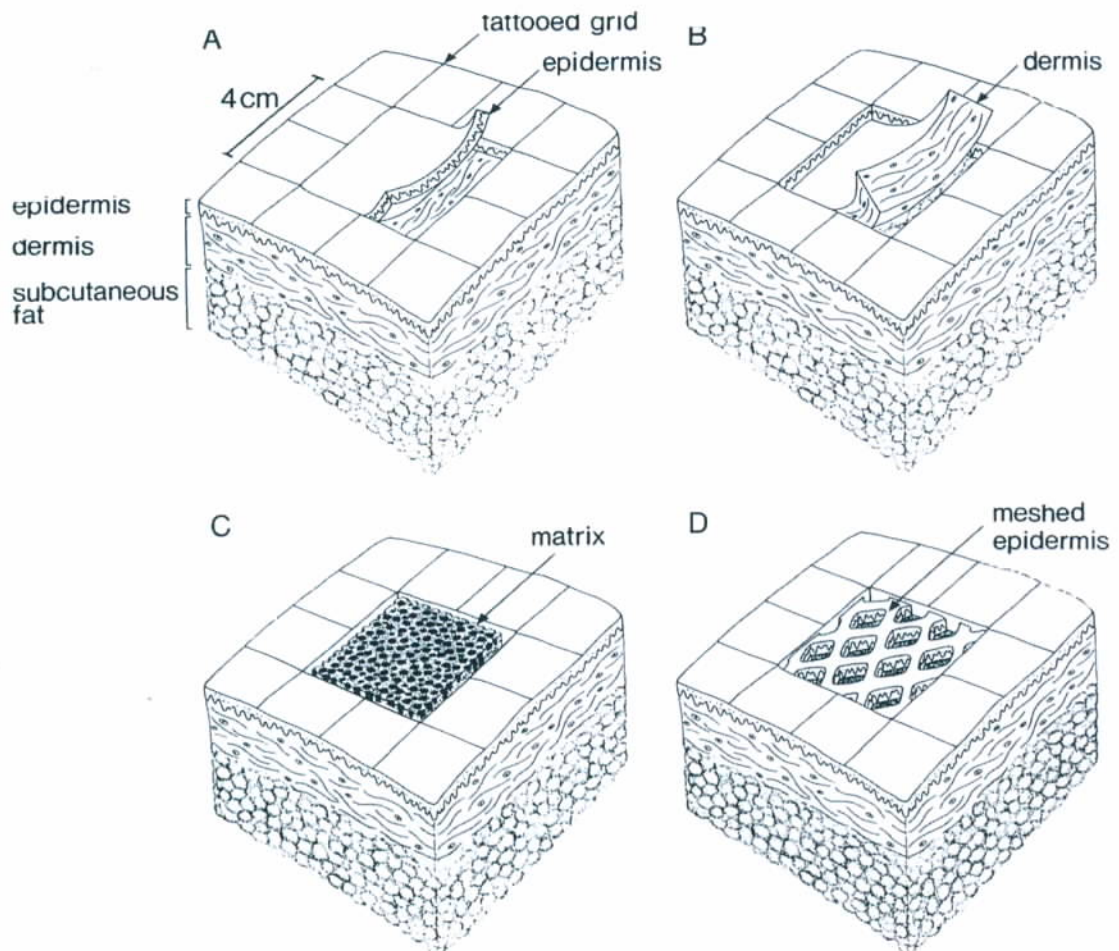


Figuur 3. Scanning electronen microscopie van een collageen matrix. Dermis substituten zijn poreuze structuren aangezien cellen moeten kunnen ingroeien. Hier een natieve collageen matrix welke werd gebruikt als dermis in onze experimenten. Maatstreep = 40 μ m.



Figuur 5. Vreemd lichaam reactie tegen polyglactin vezels. Niet alle biodegradeerbare substituten bleken geschikt als dermis vervanger. Vicryl® induceerde reuscelformatie en uiteindelijk ernstige litteken formatie. Maatstreep = 25 μ m.

operation procedure

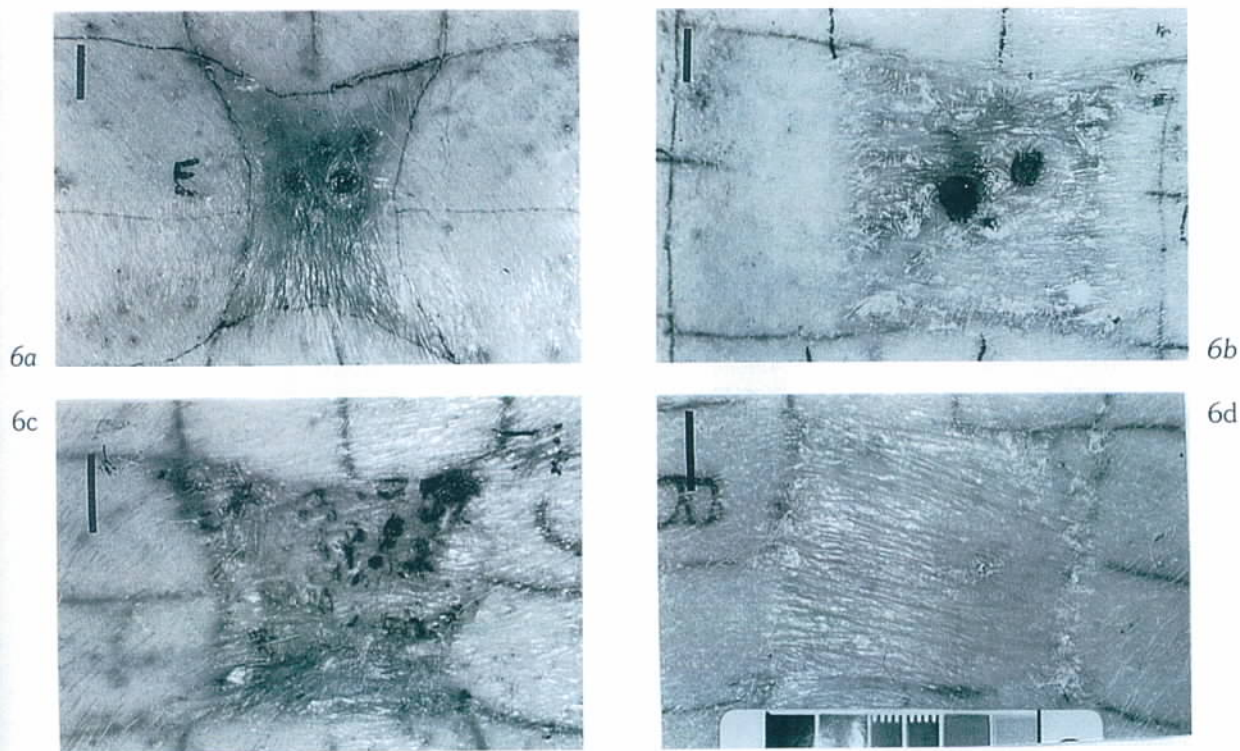


Figuur 4. Operatie procedure bij varkensexperimenten. Verschillende dermale matrices zijn getest in een diemodel. Een raster werd aangebracht om wondcontracties te kunnen bepalen.
a SSG (Split Skin Graft) wordt verwijderd uit het wondgebied.
b De gehele dermis wordt verwijderd uit het wondgebied.
c De dermis wordt vervangen door het te testen materiaal.
d Het materiaal wordt bedekt met gemeshde SSG's.

plantatiemodel (figuur 4). Wondcontractie (is contractuur vorming) was een belangrijke parameter en kan worden beschouwd als een indirecte indicator voor dermale regeneratie; wanneer weefselregeneratie heeft plaats gevonden leidt dit tot verminderde wondcontractie. De artificiële matrixen gemaakt van polyether-urethaan en polyglactin bleken ongeschikt omdat zij een vreemdlichaam reactie induceerden (figuur 5). Hierdoor nam wondcontractie toe. Glutaaraldehyde gefixeerde collageen matrixen bleken toxisch voor dermale cellen en gaven eveneens aanleiding tot vreemdlichaam reacties en daaruit voortkomende verlittekening. Een matrix van niet-gedenatureerd gereconstitueerd collageen veroorzaakte geen vreemdlichaam reactie. Dit materiaal regenereerde nieuwe dermis en was beter in staat wondcontractie te voorkomen (figuur 6a en 6b). Om verlittekening te verminderen is het van cruciaal belang om ontstekingsreacties tegen het geïmplanteerde materiaal te voorkomen.

Naast deze dierexperimenten werden de

eigenschappen van de dermale substituten in het laboratorium bestudeerd. Materiaaleigenschappen zoals celbinding, celproliferatie, materiaalcontractie en degradatiesnelheid kunnen in dit systeem op eenvoudige, reproduceerbare en snelle wijze worden bekeken. Getest werden: gereconstitueerde collageen materialen zowel niet gefixeerd al behandeld met glutaraldehyde, aluminiumdehyde of ace-taat. Verder werden matrixen getest welke waren opgebouwd uit natieve collageen vezels, in combinatie met extracellulaire matrix eiwitten zoals elastine, hyaluronzuur of fibronectine. de in deze studie geëvalueerde chemisch gefixeerde sponzen bleken allen cytotoxisch te zijn. Onder celkweek omstandigheden bleken de gereconstitueerde matrixen snel te worden gedegradeerd. Materialen opgebouwd uit natieve collageen vezels waren daarentegen erg stabiel. De toevoeging van elastine aan dit type matrix ver-minderde contractie van het materiaal en reduceerde de degradatie van het collageen.



Figuur 6. Kosmetisch resultaat van verschillende dermissubstituten. Na 6 weken werd gekeken naar contractie van de wondranden en het oppervlak van de herstelde wonden.

a Polyether urethaan induceerde een vreemd lichaam reactie en uiteindelijk veel wondcontractie.
b Niet-gedenatureerd collageen gaf geen vreemd lichaam reactie en daardoor veel minder wondcontractie.

c Natief collageen met fibronectine gaf ernstige littekenformatie en wondcontractie.

d Het beste resultaat werd bereikt met een dermissubstituut gemaakt van natief collageen met elastine. Een gladde, stevige huid werd aangelegd die weinig afwijkt van de omringende intacte huid. Er trad weinig wondcontractie op.

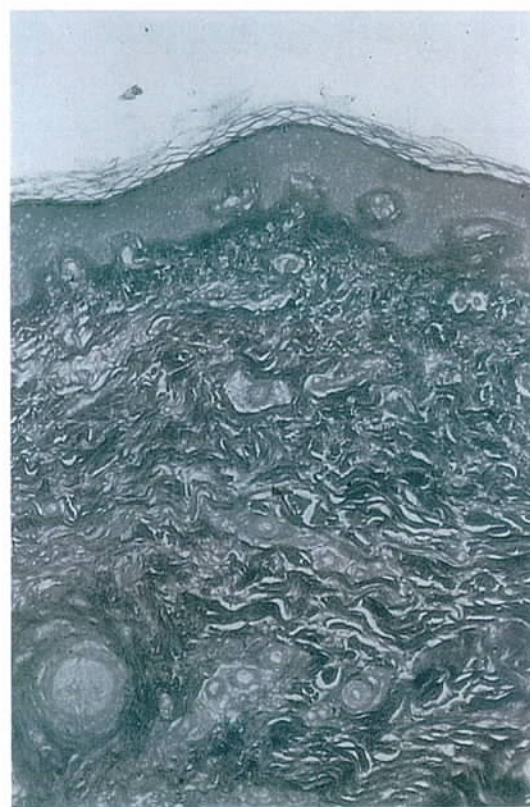
In een volgende stap werden de natieve collageen sponzen getest in het eerder beschreven varkensmodel. Het effect van de extracellulaire matrix moleculen elastine, hyaluronzuur en fibronectine gekoppeld aan natieve collageen matrixen werden eveneens bestudeerd.

Natieve collageen matrixen behandeld met elastine, hyaluronzuur en fibronectine verhoogden de weerstand tegen afbraak aanzienlijk zonder dat hierdoor een chronische ontstekingsreactie werd veroorzaakt. Fibronectine behandelde matrixen gaven echter aanleiding tot cosmetisch onaanvaardbare littekens (figuur 6c). Matrixen behandeld met hyaluronzuur werden geïnvadeerd door grote aantallen myofibroblasten (cellen met contractile eigenschappen). Dit gaf aanleiding tot meer verlittekening en wondcontractie (figuur 6d). Natieve collageen matrixen behandeld met elastine verminderden de wondcontractie en een verbeterde dermale architectuur.

Na deze dierexperimenten was de tijd aangebroken om te bekijken hoe de natieve colla-

geen sponzen zich zouden gedragen in mensen. Hiervoor werd een intra-individuele klinische studie opgezet bij patiënten die werden opgenomen op de afdeling Dermatologie vanwege een *ulcus cruris*. Diep dermale stansbiopsie wondjes, niet het *ulcus* zelf, werden gesubstitueerd met de verschillende matrixen. Controle wonden ontvingen geen dermale matrix. De wonden behandeld met collageen/elastine matrixen hadden een gunstig effect op de dermale architectuur. De collageen bundels vertoonden een willekeurige organisatie vergeleken met de controle wonden (figuur 7a en 7b). De conclusie luidde dat, in overeenstemming met de resultaten uit de dierexperimenten, natieve collageen matrixen behandeld met elastine, een verbeterde dermale regeneratie en vermindering van wondcontractie bewerkstelligen.

Na het bewezen succes van natief collageen in combinatie met elastine wilden wij dit type substituuut gebruiken als een cellulair substituuut. Het dermissubstituut kan worden geperfectioneerd door behalve een poreuze sponsstruc-



Figuur 7. Dermale regeneratie met een collageen/elastine dermis substituuut.

a Littekenweefsel wordt gekenmerkt door evenwijdig verlopende collageenbundels. Dit is duidelijk te zien in die wonden die geen substitutie kregen.

b Wonden gesubstitueerd met collageen/elastine matrices lieten een netwerk van collageen vezels zien. Dit netwerk treft men ook aan in gezonde huid en verleent soepelheid, trekkracht en elasticiteit aan het weefsel. Maatstreep = 50 μ m.



Figuur 8. Kosmetisch resultaat van het cellulair substituuat. Met behulp van een collageen/elastine matrix, ingezaaid met bindweefselcellen, heeft in dit diepe huiddefect vrijwel littekenloze genezing plaatsgevonden zonder wondcontractie.

tuur tevens huidcellen in de matrix aan te brengen. De ingezaaide cellen voorkomen de migratie van myofibroblasten, cellen die littekenweefsel en contractie veroorzaken en normaal gesproken de wond binnen groeien. Hierdoor ontstaat een andere populatie cellen ter plekke die nieuw weefsel van een betere kwaliteit produceert. Naast het plaatsen van de steiger worden bij wijze van spreke gespecialiseerde arbeiders bijgeleverd. Deze hypothese is getoetst in een reeks dierexperimenten waarbij bindweefselcellen uit onderhuidsvet van de patiënt zelf in ons collageen/elastine dermissubstituut werden gezaaid. De combinatie deed diepe huidwonden vrijwel littekenloos genezen (figuur 8). Dermale substituten bevolkt met bindweefselcellen uit vetweefsel zijn gemakkelijk binnen enkele uren te fabriceren op de operatiekamer. Dit maakt de onmiddellijke behandeling van diep dermale huid defecten mogelijk wat een voordeel vormt boven eerder beschreven cellulaire dermale substituten welke bewerkelijke en langdurige cellweek methoden vereisen.

Conclusie

De kennis opgedaan uit de hierboven beschreven experimenten maken deel uit van een betrekkelijk nieuwe wetenschapstak, tissue engineering (weefseltechniek) genaamd. Tissue engineering houdt zich bezig met het vervaardigen van kunstmatige weefsels, neomorphics, ter vervanging van defecten in het lichaam.

Neomorphics zijn orgaan substituten die het lichaam als incubator gebruiken voor celgroei en weefselregeneratie. Naast neomorphics voor de vervanging van huid wordt er tevens gewerkt aan andere weefsels zoals lever- en zenuwweefsel. De basis voorwaarden waaraan een dermaal neomorphisch dient te voldoen zijn:

- een matrix structuur voor ingroeïende cellen, welke de formatie van littekenweefsel tegen gaat;
- stam cellen die binnen de matrix structuur bijdragen aan de regeneratie van nieuw functioneel weefsel;
- het organisme zelf dat dient als incubator en het dermaal neomorphisch voorziet van alle benodigde nutriënten en cytokinen voor optimale dermale regeneratie. Kennis opgedaan binnen dit nieuwe vakgebied lijken een klinisch toepasbaar substituuat voor diepe huiddefecten binnen afzienbare tijd mogelijk te maken.

* Dr. H.J.C. de Vries, afdeling Dermatologie, Academisch Medisch Centrum te Amsterdam.

Voordracht gehouden tijdens het WCS Congres te Utrecht d.d. 21 november 1995.

Literatuur

- Burke JF, Yannas IV, Quinby WC, Bondoc CC and Jung WK. Succesful use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury. *Ann Surg* 1993; 194:413.
- Tompkins RG and Burke JF. Burn wound closure using permanent skin replacement materials. *World-J-Surg*, 1992; 16:47-52.
- de Vries HJC, Mekkes JR, Middelkoop E, Hinrichs WLJ, Wildevuur CHR and Westerhof W. Dermal substitutes for full thickness wounds in a one-stage grafting model. *Wound Rep Reg*, 1993; 1:244-252.
- de Vries HJC, Mekkes JR, Middelkoop E, Dutrieux RP, Wildevuur CHR and Westerhof W. Dermal regeneration in native non cross-linked collagen sponges with different extracellular matrix molecules. *Wound Rep Reg*, 1994; 2:37-47.
- de Vries HJC, Zeegelaar JE, Middelkoop E, Gijsbers G, van Marle J, Wildevuur CHR and Westerhof W. Reduced wound contraction and scar formation in punch biopsy wounds. Native collagen dermal substitutes, a clinical study. *Br-J-Dermatol*, 1994; 132:690-697.
- de Vries HJC, Middelkoop E, Hoen M, Wildevuur CHR and Westerhof W. Stromal cells from subcutaneous adipose tissue seeded in a native collagen/elastin dermal substitute reduce wound contraction in full thickness skin defects. *Lab Invest*, 1995; 73:532-540.
- Middelkoop E, de Vries HJC, Ruuls L and Westerhof W. Adherence, proliferation and collagen turnover by human fibroblasts seeded into different types of collagen sponges. *Cell Tiss Res*, 1995, 280:447-453.
- Yannas IV and Burke JF. Design of an artificial skin. Basic design principles. *J-Biomed-Mater-Res*, 1980; 14:65-81.