

De inflammatoire respons en littekenhypertrofie: een goed begin is het halve werk

L. Butzelaar*

Na verwonding van de huid ontstaat normaliter na enige tijd een normaal litteken dat niet boven de huid verheven is en meestal licht van kleur is. In bepaalde gevallen kan verwonding van de huid echter resulteren in een hypertroof litteken. Deze littekens zijn verheven boven huidniveau, hebben een rode kleur en voelen stug aan (1) (foto 1).

Wondgenezing is een zeer complex proces dat bestaat uit verschillende opeenvolgende en deels overlappende fasen. In het normale wondgenezingsproces initieert een verwonding de inflammatoire respons (ontstekingsreactie), waarbij verschillende immuuncellen en eiwitten betrokken zijn. Deze inflammatoire respons is nodig om de wond te ontdoen van debris en pathogenen. Daarnaast geeft de inflammatie signalen af die nodig zijn om de granulatiefase te starten. Tijdens de granulatiefase wordt nieuw weefsel in de wond opgebouwd om het defect te dichten en worden nieuwe bloedvaten aangelegd. Als laatste vindt de maturatiefase plaats, waarin het granulatiweefsel contraheert en wordt geremodelleerd tot een vlak en dun litteken (2). De oorzaak van hypertrofe littekens ligt volgens de wetenschappelijke literatuur in een ontsparing van het normale

wondgenezingsproces. Er wordt beschreven dat een hevige inflammatoire respons zou leiden tot een overmaat aan granulatiweefsel, hetgeen uiteindelijk resulteert in hypertrofe littekens (2). Hoewel er al veel onderzoek is verricht naar littekenhypertrofie, is er nog niet gekeken naar het vroege deel van het wondgenezingsproces: de vroege inflammatoire respons. In onze studie hebben we onderzocht of de immunologische situatie op drie uur na verwonding een relatie heeft met het ontstaan van littekenhypertrofie. We hebben daartoe stukjes huid afgenomen bij patiënten die een open hartoperatie ondergingen, gemiddeld drie uur nadat de incisie ter plaatse van het borstbeen gemaakt was. In deze bipten hebben we gekeken naar genen, eiwitten en cellen die betrokken zijn bij de inflammatoire respons. We hebben de patiënten vervolgens een jaar lang gevolgd om te zien of er een normaal of een hypertrofisch litteken ontstond.

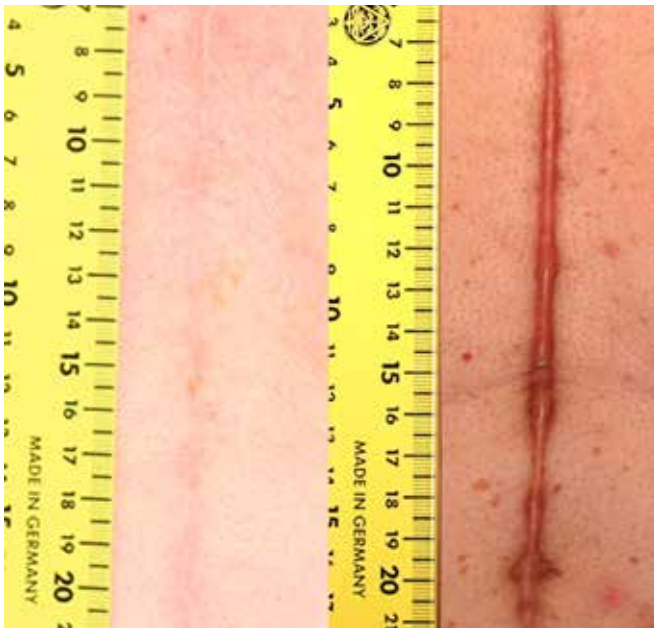


Foto 1. Representatieve foto's van deelnemers uit de groep met een normaal (links) en met een hypertrofisch (rechts) litteken, een jaar na open hartoperatie

Studiepopulatie en verzameling van de gegevens

Nadat onze prospectieve observationele studie werd goedgekeurd door de medisch ethische toetsingscommissie, hebben we patiënten geïncludeerd die een electieve open hartoperatie ondergingen door middel van een incisie ter hoogte van het borstbeen. Patiënten die al een litteken hadden op deze plaats of die een bindweefselstoornis hadden, werden niet geïncludeerd, omdat dit invloed zou kunnen hebben op de normale wondgenezing. Bij alle patiënten werd de incisie op een vergelijkbare manier gemaakt en de wond op dezelfde manier behandeld.

Voordat de incisie gemaakt werd (t 0h), namen we bloed (plasma) af bij de patiënten. Direct nadat de incisie werd gemaakt (t 0h), namen we de eerste huidbipten af en vlak voor het sluiten van de wond (t 3h), gemiddeld drie uur later, namen we wederom huidbipten af. Ook namen we op dit tijdstip drainvocht af bij de patiënten.

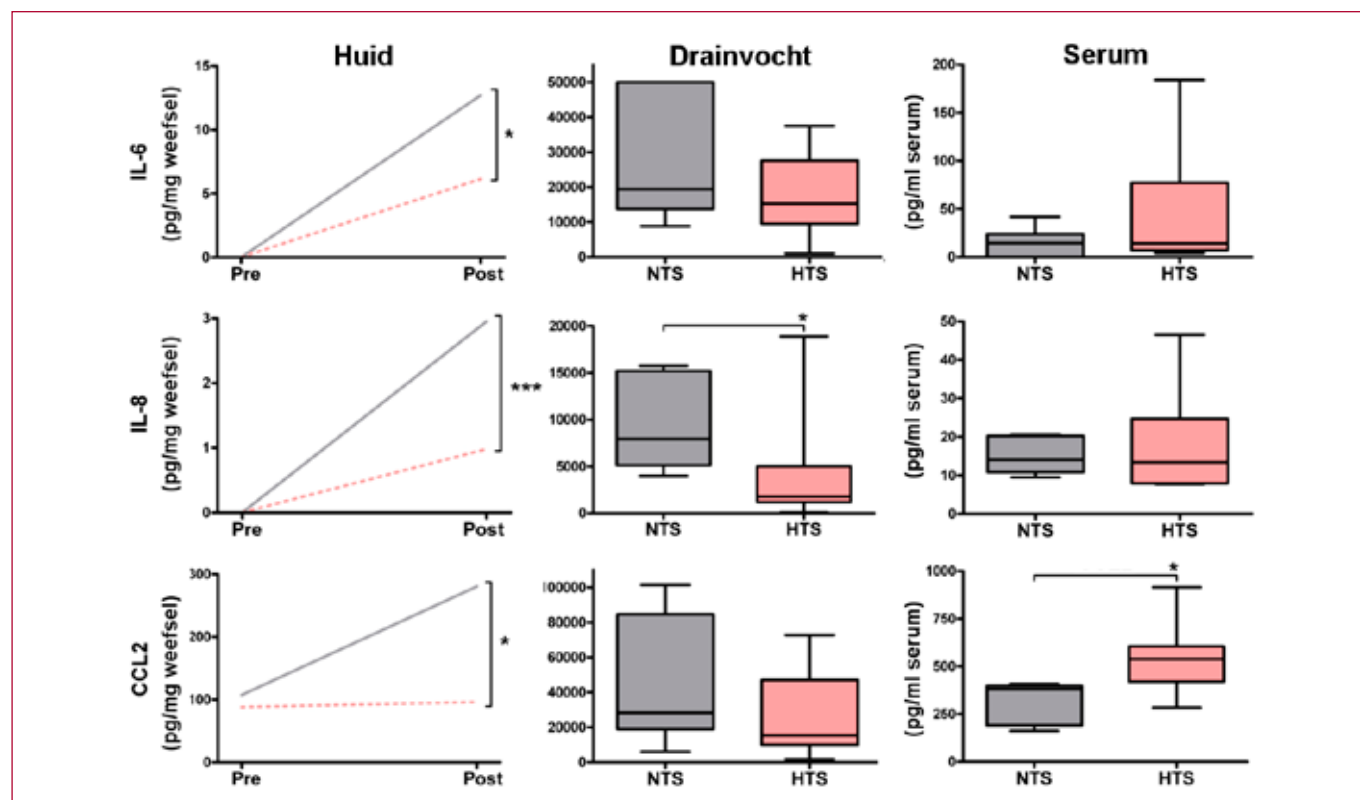
Vervolgens volgden we de patiënten een jaar lang, waarbij

we het uiterlijk van hun littekens vastlegden en de diameters van hun littekens opmaten op de plaats waar de biopten waren afgenomen. We scoorden de littekens op de bioptplaatsen ofwel normaal (NTS) ofwel hypertroof (HTS). We scoorden een litteken als hypertroof als het minimaal 1 mm boven huidniveau verheven was en niet buiten de grenzen van de oorspronkelijk wond trad (3). Ook namen we steeds gestandaardiseerde foto's van de littekens, zodat een team van plastisch chirurgen deze konden beoordelen. We onderzochten het plasma, de biopten en het drainvocht van patiënten die tijdens de volledige follow-up periode een volledig normaal litteken hadden en van patiënten die tijdens de gehele follow-up littekenhypertrofie hadden op de plaats waar het huidbiopt was afgenomen. Materialen van patiënten die enkele maanden na de operatie een hypertrofisch litteken hadden dat na een jaar normaal was geworden, hebben we nu niet onderzocht. We wilden namelijk een zo duidelijk mogelijk beeld krijgen van de verschillen tussen de vroege normale en vroege hypertrofe wondgenezing. We onderzochten door middel van PCR welke genen actief waren in de huidstukjes op t 0h en t 3h. Hierbij keken we naar genen die betrokken zijn bij de inflammatie, de angiogenese (bloedvatnieuwvorming) en de mitogenese (celvermeerdering). Ook keken we naar de hoeveelheid eiwitten in de huidbiopten door middel van immunoassays. We concen-

treerden ons op eiwitten die van belang zijn bij het opstarten van de inflammatoire respons en het aantrekken van neutrofielen (een type witte bloedlichaampjes) (4). We bepaalden ook de eiwitconcentraties in het plasma en het drainvocht. Als laatste onderzochten we de huidbiopten op de aanwezigheid van neutrofielen. Deze witte bloedcellen zijn betrokken bij de vroege inflammatoire respons. We kleurden de neutrofielen aan met immunofluorescente stoffen, zodat we ze onder de microscoop konden detecteren.

Resultaten

In totaal ontwikkelde 28% van de patiënten littekenhypertrofie in het bioptgebied. Geen van de patiënten ontwikkelde een keloid. De resultaten van de huidbiopten weerspiegelden het lokale wondgenezingsmilieu tijdens de operatie, het drainvocht gaf een beeld van het postoperatieve regionale milieu en het plasma was een indicatie voor het preoperatieve systemische milieu. De basiskarakteristieken van beide groepen waren vergelijkbaar, behalve het aantal rokers. In de NTS groep (normaal litteken) rookten meer patiënten dan in de HTS groep (hypertrofisch litteken). We hebben de huidbiopten onderzocht op de expressie van 44 verschillende genen. We zagen tijdens de operatie in beide groepen een stijging van de expressie van verschillende genen die met name betrokken zijn bij de inflamma-



tie. We zagen daarbij nauwelijks significante verschillen tussen de NTS- en de HTS-groep. Omdat in de huidbiopten de expressie van genen die betrokken zijn bij de inflammatie steeg tijdens de operatie, verwachtten we dat de concentraties van inflammatoire eiwitten in de huidbiopten ook zouden stijgen tijdens de operatie. We zagen inderdaad een stijging van inflammatoire eiwitconcentraties in beide groepen, maar het viel op dat de concentraties aan het eind van de operatie significant lager waren in huid van de HTS-groep vergeleken bij de NTS-groep. Ook in het drainvocht, dat het post-operatieve regionale milieu weergeeft, detecteerden we lagere concentraties inflammatoire eiwitten in de HTS-groep. In het serum (preoperatief systemisch milieu) zagen we in de HTS-groep juist hogere concentraties van sommige inflammatoire eiwitten. De eiwitconcentraties in de huid, het drainvocht en het serum zijn afgebeeld in figuur 1.

Nadat de inflammatoire respons is begonnen na verwonding, komen als eerste de neutrofielen (een type witte bloedcellen) ter plaatse (1,2). Toen we de aantallen neutrofielen bestudeerden in de huidbiopten, constateerden we dat er postoperatief inderdaad meer neutrofielen aanwezig waren in de NTS- en HTS-groep. Er was geen significant verschil tussen beide groepen.

Conclusie

Onze bevinding dat de expressie van inflammatoire genen in het wondgebied steeg tijdens de eerste paar uur na verwonding, klopt met hetgeen er in de wondgenezingsliteratuur wordt beschreven (1). Om te kijken of de stijging in genexpressie ook gevolgd werd door een stijging op eiwit-niveau, onderzochten we ook de concentraties van inflammatoire eiwitten. En zoals verwacht zagen we inderdaad een stijging van deze eiwitconcentraties. Echter, de postoperatieve concentraties in de HTS-groep waren significant lager dan in de NTS-groep. Zie ook figuur 1.

Hoewel de literatuur met name suggereert dat een uit de hand gelopen inflammatoire respons tot littekenhypertrofie leidt, observeerden wij het tegenovergestelde

Aangezien we geen significante verschillen vonden in genexpressies tussen de NTS- en de HTS-groep, kunnen we het verschil in postoperatieve eiwitconcentraties niet toeschrijven aan een verschil in genexpressie (transcriptie). Mogelijk wordt het verschil veroorzaakt op een ander niveau, namelijk het opbouwen van de eiwitten (translatie).

Inflammatoire eiwitten zorgen onder andere ook voor het rekruteren van immuuncellen (witte bloedcellen), waarvan

neutrofielen als eerste naar de wond migreren (1,2). Op celniveau zagen we (nog) geen significante verschillen. De betekenis van de verhoogde concentratie inflammatoir eiwit in preoperatief serum moet nog verder worden onderzocht. Wellicht kan dit in de toekomst als voorspellende test dienen voor het ontstaan van littekenhypertrofie. Toekomstig onderzoek zou daarnaast de vroege wondgenezing nog verder moeten uitdiepen, enerzijds door uitbreider naar eiwitconcentraties en inflammatoir celgedrag te kijken, anderzijds door de vroege wondgenezing verder te vervolgen over de tijdspanne van minimaal twee dagen.

Hoewel de literatuur met name suggereert dat een uit de hand gelopen inflammatoire respons tot littekenhypertrofie leidt, observeerden wij het tegenovergestelde (2,5,6,7). Onze bevindingen dat er lagere concentraties van inflammatoire eiwitten aanwezig zijn in de hypertrofe wondgenezing dan in de normale wondgenezing doen vermoeden dat een verminderde inflammatoire respons juist resulteert in hypertrofische littekens. Echter, eerdere onderzoeken hebben zich niet op de zeer vroege wondgenezing gericht, terwijl wij de eerste drie uur van de wondgenezing onderzocht hebben. Daarnaast hebben wij de 'hypertrofe' wondgenezing vergeleken met de normale wondgenezing, terwijl de meeste onderzoekers hypertrofische littekens hebben vergeleken met normale huid. Ook heeft eerder werk uit onze onderzoeksgroep een minder hevige inflammatoire respons laten zien in relatie tot littekenhypertrofie, wat de huidige bevindingen ondersteunt (8,9). De verminderde inflammatoire respons die gerelateerd is aan littekenhypertrofie kan het gevolg zijn van een niet goed op gang komende of van een onderdrukte inflammatie. Mogelijk veroorzaakt de gereduceerde inflammatoire respons een verlenging van de inflammatoire fase, waardoor er een vertraagde re-epithelialisatie ontstaat. Een vertraagde re-epithelialisatie is in verband gebracht met het ontstaan van hypertrofische littekens (2,10). Dit zou betekenen dat men ter voorkoming van littekenhypertrofie de inflammatie juist moet stimuleren tijdens de vroege wondgenezing in plaats van deze te remmen. In conclusie kunnen we op basis van onze resultaten zeggen dat een verminderde concentratie van inflammatoire eiwitten verband houdt met het ontstaan van hypertrofische littekens. Deze bevinding biedt een zeer vernieuwende kijk op het vroege hypertrofe wondgenezingsproces.

Dit artikel is een bewerking van het artikel 'Inhibited early immunologic response is associated with hypertrophic scarring', *Exp Dermatol*, 2016;25:797-804. Het onderzoek werd financieel gesteund door de Nederlandse Brandwonden Stichting.

Literatuur

1. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. **The basic science of wound healing.** *Plast Reconstr Surg*, 2006;117:12S-134S.
2. van der Veer WM, Bloemen MC, Ulrich MM, et al. **Potential cellular and molecular causes of hypertrophic scar formation.** *Burns*, 2009;35:15-29.
3. van der Veer WM, Niessen FB, Ferreira JA, et al. **Time course of angiogenic response during normotrophic and hypertrophic scar formation in humans.** *Wound Repair Regen*, 2011;19:292-301.
4. Zarbock A, Polanowska-Grabowska RK, Ley K. **Platelet-neutrophil-interactions: linking hemostasis and inflammation.** *Blood Rev*, 2007;21:99-111.
5. Niessen FB, Spauwen PH, Schalkwijk J, et al. **On the nature of hypertrophic scars and keloids: A review.** *Plast Reconstr Surg*, 1999;104:1435-58.
6. Wang J, Hori K, Ding J, et al. **Toll-like receptors expressed by dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring.** *J Cell Physiol*, 2011;226:1265-73.
7. Liu XJ, Xu MJ, Fan ST, et al. **Xiamenmycin attenuates hypertrophic scars by suppressing local inflammation and the effects of mechanical stress.** *J Invest Dermatol*, 2013;133:1351-60.
8. van den Broek LJ, van der Veer WM, de Jong EH, et al. **Suppressed inflammatory gene expression during human hypertrophic scar compared to normotrophic scar formation.** *Exp Dermatol*, 2015;doi:10.1111/exd.12739.
9. Niessen FB, Andriessen MP, Schalkwijk J, et al. **Keratinocyte-derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars.** *J Pathol*, 2001;194:207-16.
10. Low QE, Drugea IA, Duffner LA, et al. **Wound healing in MIP-1alpha(-/-) and MCP-1(-/-) mice.** *Am J Pathol*, 2011;159:457-63.

* *Liselotte Butzelaar, arts-promovenda afdeling plastische reconstructieve en handchirurgie, VUmc, Amsterdam*