



Wiskundige modellering van contractuur en hypertrofie bij brandwonden

F. Vermolen, D. Koppenol, F. Niessen, P. van Zuijlen*

Huidwonden kunnen voor de patiënt vervelende hypertrofe littekens en contracturen opleveren. In dit artikel beschrijven we de toepassing van wiskundige modellen om de processen van littekenvorming en het ontstaan van contracturen te simuleren. Het huidige artikel is weinig wiskundig van aard, maar geeft wel weer hoe de wiskundige modellen toegepast kunnen worden.

Inleiding

Over de wereld heen zijn gemiddeld elf miljoen mensen slachtoffer van brandwonden. In pakweg zeshonderdduizend gevallen is de brandwond zo ernstig dat de patiënt eraan komt te overlijden. Bij diepere brandwonden kunnen lelijke rode, stugge, jeukende en pijnlijke littekens ontstaan. Deze hypertrofische littekens kunnen met plastische chirurgie nog niet altijd goed behandeld worden. Een ander bijeffect van brandwondgenezing is de vorming van contracturen die ervoor zorgen dat de huid van patiënten blijvende vervormingen en spanningen opdoet, waardoor de patiënt belemmerd wordt in mobiliteit. Dit probleem wordt veroorzaakt doordat fibroblasten (de belangrijkste cellen in de lederhuid, die ook verantwoordelijk zijn voor de productie van fibreus weefsel) en myofibroblasten (een tussenvorm die ook eigenschappen van spiercellen hebben) aan het weefsel trekken waardoor de rand van de wond naar binnen wordt getrokken.

Als echter de vervormingen zo groot zijn, dan herstelt de huid zich niet meer

Men noemt dit contractie, ofwel het samentrekken van de huid. In het geval dat de vervormingen in de huid klein zijn, zal de huid zich wel weer grotendeels herstellen nadat de brandwond genezen is. Als echter de vervormingen zo groot zijn, en dat kan gebeuren in diepe, ernstige brandwonden, dan herstelt de huid zich niet meer. De patiënt heeft dan last van een blijvende vervorming. Als deze vervorming ook nog de mobiliteit van de patiënt aantast, dan spreekt men van een contractuur.

Om beter te voorspellen onder welke omstandigheden zich hypertrofie en/of contractuur voordoet, proberen we de biologische mechanismen die ten grondslag liggen aan de hypertrofie-of contractuur te kwantificeren. Zodoende kan

de opgebouwde theorie rond deze procesvorming omgebouwd worden tot getalmatige relaties en daarmee kan een vergelijking gemaakt worden met experimentele (in vivo en in vitro) waarnemingen. Deze modellen zijn in het algemeen zo complex van aard dat rigoreuze wiskundige technieken onontbeerlijk zijn. Vergeleken met de toepassing van wiskunde in de natuurkunde en techniek, staat de toepassing van wiskundige technieken in de modellering van biomedische processen nog relatief in de kinderschoenen.

Gedurende de laatste decennia is voortgang gemaakt met wiskundige modellen in het simuleren van wondgenezing, orgaanontwikkeling, wondcontractuur, helen van botbreuken en in de vorming van carcinoma. Dit soort modellen worden op verschillende schalen toegepast, maar ook de aard van de modellen is totaal verschillend. De meest kleinschalige modellen gaan uit van individuele cellen of behandelen zelfs slechts één cel of een gedeelte ervan. Andere celmodellen zijn gebaseerd op de migratie en deformatie (vervorming) van cellen. Hier kan men bijvoorbeeld denken aan het modelleren van kankercellen die zich een weg banen door kleine openingen in extracellulair materiaal en bloedvaten, om zich zodoende te verspreiden over het lichaam van een patiënt. Op een iets grotere schaal kan men kijken naar koloniën van cellen waarin iedere individuele cel een gegeven geometrie heeft, maar wel in staat is te delen, af te sterven, te migreren of te differentiëren naar een ander phenotype (celtype). Hierin kan men onderscheid maken tussen modellen waarin cellen iedere willekeurige ruimtelijke positie kunnen innemen (continue modellen) of modellen waarin cellen zich enkel op discrete posities in de ruimte kunnen bevinden (lattice modellen zoals cellular automata modellen waarin de cellular Potts modellen een belangrijke onderklasse vormen)⁽¹⁾. Als men iedere cel afzonderlijk in de berekening van een biomedisch mechanisme als contractuurvorming mee wil nemen, dan heeft men een

zeer krachtige computer met een gigantische geheugen capaciteit nodig. Dit is in het algemeen onhaalbaar en daarom worden er ook continuümschaal modellen ontwikkeld die gebaseerd zijn op celdichtheden in termen van aantallen cellen per volumeneenheid.

In dit artikel zullen we ons concentreren op een aantal wiskundige modellen op continuümschaal die op hypertrofie en contractuur in relatie tot brandwonden of huidtransplantaten (skin grafts) toegepast worden.

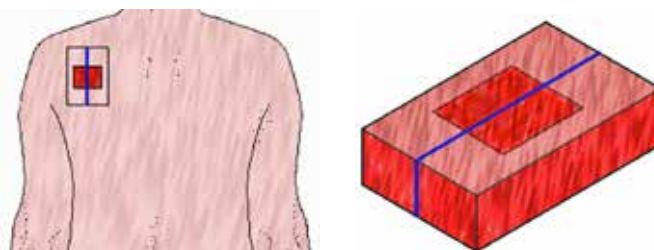
Biologische processen

In dit artikel kunnen we alleen een beknopte samenvatting van de biologische processen tijdens wondgenezing geven. Het genezingsproces van een wond begint met hemostase. Dit is een proces dat het bloeden stopt omdat bloedvatjes als het ware dichtgeknepen worden, bloedplaatjes samenklonteren en extracellulair materiaal neergelegd wordt. De bloedplaatjes zorgen voor de uitscheiding van diverse chemokines die het gedrag van immuuncellen, fibroblasten (huidcellen) en endotheelcellen beïnvloeden. Vervolgens komen de immuuncellen (zoals macrofagen, leukocyten, monocyt en T-lymphocyten) de wond in, waarmee de inflammatoire fase begint. De immuuncellen ruimen verontreinigingen op en neutraliseren schadelijke pathogenen. Kort hierna begint de proliferatieve fase waarin wondsluiting, wondcontractie, angiogenese (vorming van een bloedvatennetwerk) plaatsvindt. De epidermis wordt opnieuw geconstrueerd in het reëpithelialisatieproces. Hiermee wordt een beschermende laag over de wond gerealiseerd. Verder wordt een nieuwe dermis (lederhuid) gegenereerd en die lederhuid heeft een andere textuur dan een embryonale (ongeschonden) huid. Een belangrijk verschil is de isotropie (eigenschap dat materiaaleigenschappen niet van de richting afhangen) van de huid. De embryonale huid bevat collageen dat min of meer random (willekeurig) georiënteerd is. Daardoor is deze huid macroscopisch op te vatten als isotroop. Het nieuw gegenereerde extracellulaire materiaal heeft door de aanmaak door de (myo)fibroblasten een oriëntatie die sterk gecorreleerd is aan de migratierichting van (myo) fibroblasten. Hierdoor is het nieuwe extracellulaire materiaal niet langer isotroop van structuur. Tenslotte, en ook gedeeltelijk tegelijkertijd met de proliferatieve fase, vindt de remodeleringsfase plaats. Tijdens deze fase, die gemiddeld veel langer duurt dan de overige fases, verandert de structuur van het extracellulaire materiaal. Dit geeft veranderingen in de chemische samenstelling en in de oriëntatie van het collageen. Ook neemt het aantal fibroblasten en endotheelcellen af gedurende deze fase.

In de wiskundige modellen zullen we verdere vereenvoudigingen moeten maken

De wiskundige modellen

In dit artikel laten we uitkomsten zien van simulaties die met een aantal verschillende modellen verkregen zijn. Allereerst wordt het te beschouwen weefsel in een rekengebied vereenvoudigd. We nemen aan dat het weefsel met beschadiging en onbeschadigd deel voldoende juist voorgesteld wordt in een rekendomein. Zo'n rekendomein bestaat dan veelal uit de wond en een aanzienlijke onbeschadigd weefsel, zie bijvoorbeeld figuur 1 voor een weergave voor een brandwond in de buurt van de schouder van een patiënt.



Figuur 1. Schema van een brandwond op de schouder (links) en een vereenvoudiging van de geometrie (rechts)

In de wiskundige modellen zullen we verdere vereenvoudigingen moeten maken omdat het onmogelijk is om alle processen in detail mee te nemen. Hier zijn een aantal redenen voor, zoals dat überhaupt niet alle biologie rond wondgenezing, contractuurvorming bekend is. We weten niet exact hoe en welke cellen wat doen. Verder is het zo dat hoe meer biologische informatie we meenemen in de modellering, hoe meer parameters bekend moeten zijn. Echter, deze parameters zijn veelal niet gemeten en dus is het moeilijk om de waarden van deze parameters te bepalen. Dit betekent dus dat er meer onbekende parameters bijkomen als we de modellen complexer ofwel realistischer trachten te maken. In die zin kunnen simpele modellen soms heel handig blijken vanwege de grote hanteerbaarheid.

In de huidige modellen nemen we het gedrag van de celtypen (phenotypen) fibroblasten en myofibroblasten mee. Deze cellen consumeren en scheiden een chemisch signaal, ofwel een chemokine, uit. Deze chemokine nemen we ook mee in de berekeningen. Hiernaast nemen we het collageen mee. Omdat we geïnteresseerd zijn in het gedrag van de huid in de buurt van een (brand)wond, is ons rekengebied te groot om individuele cellen en collageenmoleculen te beschouwen en zodoende rekenen we met cellen en collageen in termen van dichtheden, dat wil zeggen, aantallen per volumeneenheid. Als cellulaire processen nemen we migratie (door random walk ofwel diffusie en door haptotaxis ofwel migratie in de richting van de gradiënt van een chemokine), proliferatie, apoptose (doelbewust afsterven) en differentiatie mee. Fibroblasten

differentiëren naar myofibroblasten, die harder aan hun omgeving trekken en ook nog eens meer collageen produceren, onder bepaalde omstandigheden.

Het signalerende molecuul (chemokine) wordt verondersteld te diffunderen door het weefsel. Bovendien wordt dit molecuul uitgescheiden door de fibroblasten en myofibroblasten. Verder wordt dit molecuul, alsmede het collageen, afgebroken door Matrix Metallo Proteinases (MMP's). Dit proces wordt ook meegenomen in het wiskundige model. Wat betreft het collageen, hiervan wordt meegenomen dat dit geproduceerd wordt door de fibroblasten en myofibroblasten. Hier nemen we ook mee dat de oriëntatie van het collageen gerangschikt wordt volgens de migratiestroom van de (myo)fibroblasten.

Daarna wordt een model opgesteld voor de mechanische eigenschappen van de huid. Hierin spelen grootheden als de stijfheid (Young's Modulus) en de Poisson ratio (die een maat vormt waarin materiaal zich vervormt in een richting loodrecht op de aangebrachte kracht). Er wordt dan eerst een mechanische balans opgesteld. Er moet hierin rekening worden gehouden met de trekkrachten die fibroblasten op hun omgeving uitoefenen. Verder wordt rekening gehouden met de oriëntatie van collageen, zodat de stijfheid van het extracellulaire materiaal varieert met de oriëntatie van collageen. Omdat een blijvende contractie kan optreden, wat kan resulteren in een contractuur waarin de patiënt mobiliteit verliest, is het model aangepast, zodat dit ook daadwerkelijk gesimuleerd kan worden. Dit aspect is vernieuwend ten opzichte van de bestaande modellen in de literatuur. We brengen dit fenomeen erin

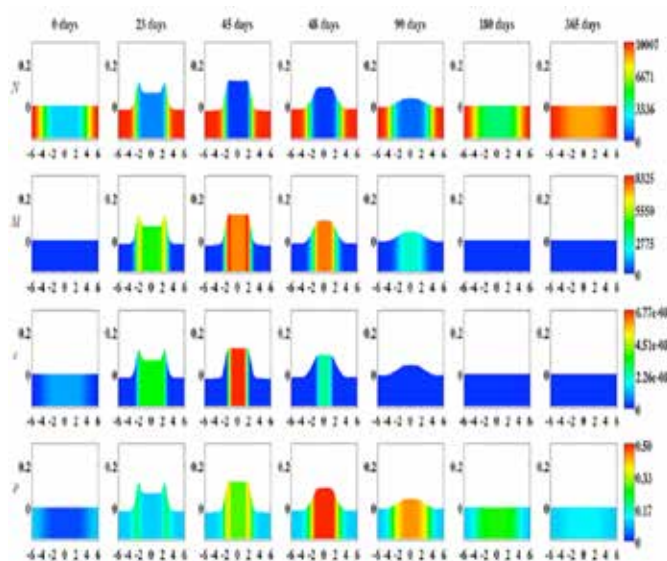
door de huid als morphoelastisch (een groeiend elastisch weefsel) te modelleren. Een gedegen wiskundige analyse zal nog moeten uitwijzen of deze morphoelastische beschrijving het ontstaan van een contractuur adequaat beschrijft.

Simulatiere resultaten

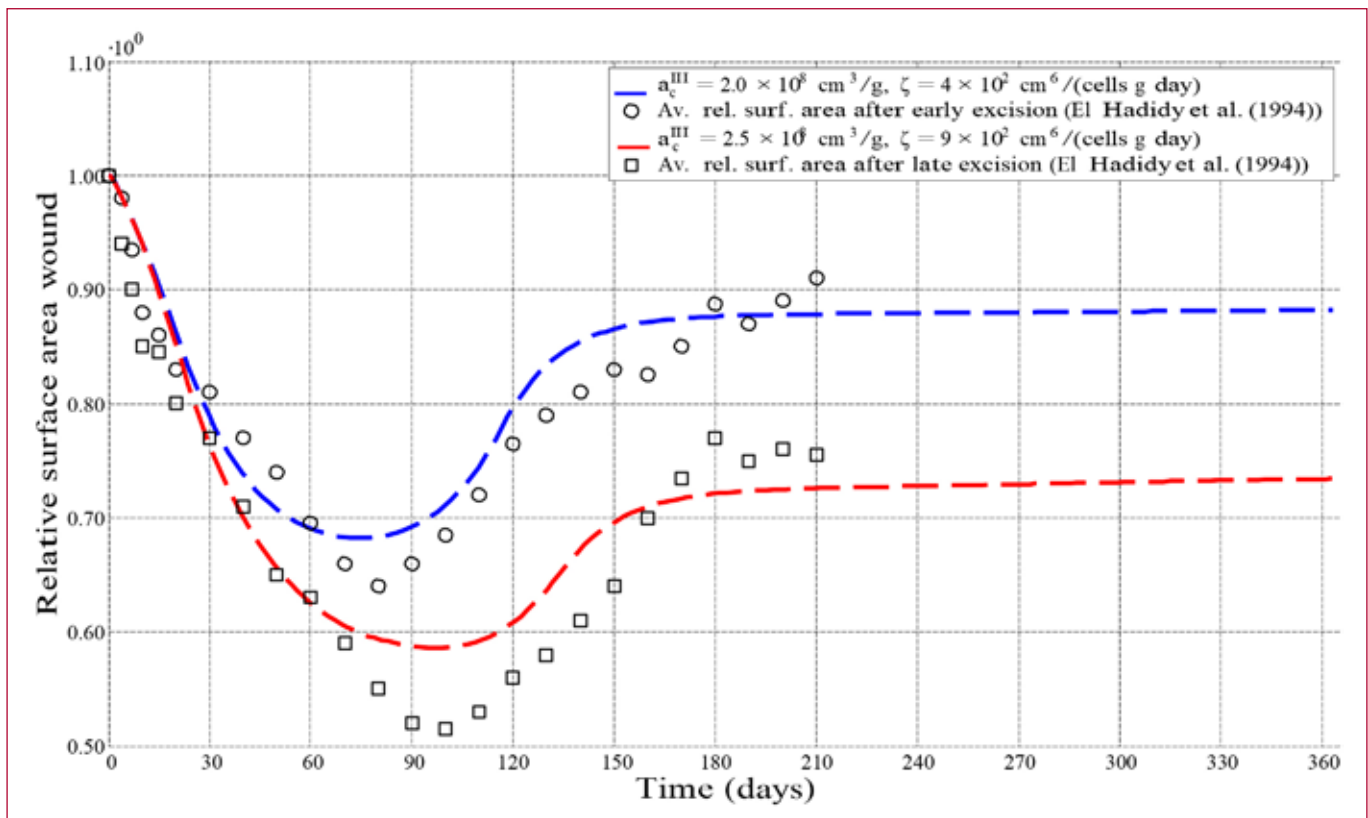
Als eerste simulatiere resultaat tonen we de evolutie van een hypertroof litteken over de tijd. In figuur 2 ziet men de verdeling van de dichtheden van de fibroblasten, myofibroblasten en collageen, alsmede het verloop van de chemokine op verschillende tijdstippen. Men ziet ook de evolutie van de vorm van de wond over de tijd. In deze simulatie is gebruik gemaakt van een neo-Hooke beschrijving van de mechanica. Er is te zien dat kort na het ontstaan van de wond er een instroom is van fibroblasten (zie bovenste rij). In het begin zijn er nog geen myofibroblasten maar in het wondgebied ontwikkelt zich in de loop van de tijd een populatie myofibroblasten als gevolg van differentiatie. Dit is te zien in de tweede rij. Naarmate de tijd vordert, neemt het aantal myofibroblasten weer af als gevolg van apoptose (sterfte). Ook valt te zien dat de initieel in de wond aanwezige chemokinen geleidelijk diffunderen naar de omgeving en vervolgens dan in het wondgebied geproduceerd worden door de (myo)fibroblasten. Uiteindelijk dooft dit signaal weer uit, zie de derde rij in figuur 2.

Het collageen wordt geproduceerd door de (myo)fibroblasten en op gegeven ogenblik is er een maximale waarde die de natuurlijke evenwichtswaarde overstijgt. In de laatste fases van de heling zal uiteindelijk de collageendichtheid weer afnemen als gevolg van afbraak door MMP's. De collageendichtheid zal dan gelijk zijn aan de natuurlijke dichtheid van onbeschadigde huid, zie de onderste rij van figuur 2. Ook valt te zien dat in de vroege stadia de huid een bobbel ontwikkelt die karakteristiek is voor een (hypertroof) litteken. Als de differentiatiesnelheid van fibroblasten naar myofibroblasten hoger is en als de apoptosesnelheid van myofibroblasten lager is, dan zullen de myofibroblasten zich langer manifesteren waardoor het litteken, ofwel de bobbel, langer aanwezig zou kunnen blijven. In de manuscripten ^(2,3) beschrijven we deze situatie in meer detail.

In figuur 3 laten we de oppervlakte van een huidtransplantaat (via split-skin method) als functie van de tijd zien. Men kan zien dat het domein zich eerst samentrekt. Dit gebeurt door de trekkrachten van de myofibroblasten. Vervolgens sterven de myofibroblasten af door apoptose. Hierdoor wordt er niet meer getrokken aan het huidweefsel. Toch kan men zien dat de skin graft niet meer geheel terugvloeit naar het oorspronkelijke oppervlak. Dit is een gevolg van het feit dat de vervorming dusdanig groot was dat deze het 'elastische gebied' verlaten heeft. Nu is de



Figuur 2. De verdeling van fibroblasten, myofibroblasten, chemokines en collageen (van boven naar beneden) voor verschillende tijden over een periode van een half jaar (van links naar rechts in tijd oplopend)



Figuur 3. De oppervlakte van de skin graft als een functie van tijd

skin graft blijvend vervormd en dit kan een belemmering van de mobiliteit van de patiënt opleveren waardoor een contractuur kan ontstaan. Meer informatie ⁽⁴⁾.

Conclusie

We hebben een aantal berekeningen getoond waarin verschillende aspecten van wondcontractie en vorming van hypertroof litteken wordt meegenomen. De modellen zijn getoetst aan experimentele in vivo (klinisch) waarnemingen. De in te voeren parameters zijn gehaald uit de literatuur of door middel van regressie met experimentele observaties. De modellen worden gebruikt om het optreden van hypertrofie en contractuur te voorspellen. Een verdere stap in de toekomst zou combinatie zijn van de hier beschreven modellen. Met behulp van deze modellen in combinatie met experimentele validatie zal de invloed van diverse therapiën gekwantificeerd kunnen worden.

Dank

We bedanken de Nederlandse Brandwondenstichting voor de financiering van dit onderzoek middels project WO/12.103.

Literatuur

1. Vermolen FJ. **Particle methods to solve modeling problems in wound healing and tumor growth.** Computational Particle Mechanics, 2016;2:381-99.

2. Koppenol DC, Vermolen FJ, Niessen FB, et al. **A mathematical model for the simulation of the formation and subsequent regression of hypertrophic scar tissue after dermal wounding.** Biomechanics and Modeling in Mechanobiology, 2016. DOI: 10.1007/s10237-016-0799-9.
3. Koppenol DC, Vermolen FJ, Niessen FB, et al. **A biomechanical mathematical model for the collagen bundle distribution-dependent contraction and subsequent retraction of healing dermal wounds.** Biomechanics and Modeling in Mechanobiology, 2016. DOI: 10.1007/s10237-016-082102.
4. Koppenol DC, Vermolen FJ. **Biomedical implications from a morphoelastic model for the simulation of contracture formation in skin grafts that cover excised burns.** Biomechanics and Modeling in Mechanobiology, submitted, 2016.

* Fred Vermolen, universitair hoofddocent numerieke wetkunde, Delft Institute of Applied Mathematics, Technische Universiteit, Delft

Contact:

F.J.Vermolen@tudelft.nl