

CELLULAIRE, MOLECULAIRE EN BIOCHEMISCHE VERSCHILLEN IN DE PATHOFYSIOLOGIE VAN GENEZING TUSSEN ACUTE WONDEN, CHRONISCHE WONDEN EN WONDEN BIJ OUDEREN

DEEL 2

Bron: Woundsworldwide.com, augustus 2004

Stuart Enoch MBBS, MRCSEd, MRCS (Eng),
Clinical Research Fellow (PhD)
Patricia Price BA(Hons), PhD, AFBPsS,
CHPpsychol, Director Wound Healing Research
Unit Medicentre, University of Wales College of
Medicine, Cardiff, UK
Email: pricepe@whru.co.uk

Vertaling: Annetiek Quax & Trees Bots

Hoofdpunten

- **Het genezingsproces van chronische wonden is niet hetzelfde als dat van acute wonden** (*acute wonden zijn behandeld in deel 1 van dit artikel, red*).
- **Een groot aantal chronische of niet-helende wonden komt vaker voor bij oudere mensen. Daarom dient men inzicht te hebben in de invloed van de leeftijd op het genezingsproces en dient men hiermee rekening te houden bij de behandeling van ouderen.**
- **Er bestaat een dringende noodzaak om betekenisvolle eindpunten te ontwikkelen als alternatief voor volledige wondsluiting bij de behandeling van patiënten met chronische of niet-genezende wonden.**

db

Steekwoorden: acute wonden; chronische wonden; pathofysiologie van genezing; wondinfectie; ouderdom; beoordeling; meetresultaten

De chronische wond

Een chronische wond wordt gedefinieerd als een wond waarin het normale wondgenezingsproces wordt verstoord op een of meerdere momenten van tijdens de haemostase, de inflammatie, proliferatie en hermodellering^[22]. In de meeste gevallen denkt men echter dat het genezingsproces stagneert tijdens de inflammatoire- of proliferatiefasen. Omdat de groeifactoren, cytokinen, proteasen en cellulaire en extracellulaire elementen alle een belangrijke rol spelen in de verschillende stadia van het genezingsproces, kan een verandering in een of meerdere van deze componenten het verstoorde genezingsproces van de chronische wond verklaren. Daar komt nog bij dat oxidatieve schade aangebracht door vrije radicalen of conditiespecifieke factoren zoals neuropathie bij diabetes of ischemie bij perifere vasculaire aandoeningen, kunnen leiden tot het chronische kenmerk van de niet-genezende wond. De wondgenezing kan ook worden verstoord door de ontwikkeling van necrotisch weefsel of beslag, een eigenschap van chronische wonden.

Veranderingen in de activiteit van proteasen en proteaseremmers zijn er

onder andere de oorzaak van dat chronische wonden niet genezen. Tijdens de fasen van een normale wondgenezing zijn de productie en activiteit van proteasen strak gereguleerd, maar bij chronische wonden lijkt deze regulatie verstoord te zijn. De waarden van de verschillende MMPs en serine proteasen zijn duidelijk hoger in het wondvocht van chronische wonden; de waarden van MMP-1 (collagenase), -2 (gelatinase A) en -9 (gelatinase B) zijn zichtbaar verhoogd in het wondvocht van drukulcera en chronische veneuze beenulcera (CVLUs) vergeleken bij acute mastectomiewonden^{[23], [24]}. Zo zijn ook de waarden van MMPs in chronische wonden gedurende de granulatievorming verlaagd, terwijl de gevonden waarden van hun remstoffen, TIMPs, verhoogd zijn^[25]. Andere proteasen, zoals neutrofiële elastase, zijn ook duidelijk in verhoogde hoeveelheid aanwezig in chronische wonden^[26]. Verhoogde waarden van serine proteasen doen fibronectine, een essentieel proteïne dat een rol speelt bij de hermodellering van de ECM, uiteenvallen. In vitro studies suggereren dat ook bepaalde groeifactoren uiteenvallen onder invloed van proteasen [23], [27]. Andere moleculaire en biochemische veranderingen zijn samengevat in **tabel 1**.

Deel 1: acute wonden

Deel 2: chronische wonden en wonden bij ouderen

Tabel 1: Moleculaire en biochemische veranderingen in chronische wonden

Verhoogd	Verlaagd
Collagenolytische activiteit – matrix metalloproteinase (MMP) – 1,8 en 13	Weefselremmer van metalloproteinasen (TIMPs)
Gelatinase A (MMP 2) en Gelatinase B (MMP 9)	$\alpha 1$ - proteaseremmer
Stromelysin – MMP 3, 10 en 11	$\alpha 2$ - macroglobuline
Serine protease – urokinase – type plasminogene activator, Cathepsine G, verhoogd neutrofiële elastase activiteit	Verhoogde degradatie van: <ul style="list-style-type: none"> ➤ fibronectine ➤ Vitronectine ➤ Tenascine

VERANDERINGEN IN CYTOKINEPROFIELEN EN INFLAMMATIERESPONS

Wondvocht afkomstig van CVLUs is rijk aan pro-inflammatoire cytokinen als TNF- α en interleukine- 1β (IL- 1β), en TGF- $\beta 1$ [28]. Daar komt bij dat de waarden van deze cytokinen omlaag gaan als de chronische wond begint te genezen, hetgeen aangeeft dat er een belangrijk verband bestaat tussen niet-genezende wonden en verhoogde waarden van pro-inflammatoire cytokinen [29]. Vocht van chronische wonden dat bovengenoemde cytokinen bevat, vertraagt ook de groei en inductie van morfologische veranderingen in normale fibroblasten [30].

De normale ontstekingsreactie zoals we die zien bij acute (normale) wondgenezing, is duidelijk anders bij chronische wonden. PMNLs van patiënten met CVLUs produceren meer vrije radicalen dan waargenomen bij (studies van) normale wondgenezing [31]. De activiteit van macrofagen, essentieel voor het afgeven van cytokinen en groeifactoren om fibroblasten, keratinocyten en endotheelcellen aan te trekken, wordt tegengegaan in CVLU, hetgeen leidt tot een verstoorde inflammatoirespons [32]. Zo ook verandert de infiltratie door lymfocyten in de chronische wond: Loots en collegae vermeldden een lager ratio

van CD4+/CD8+ T lymfocyten in chronische wonden, vergeleken bij normaal helende wonden [33].

VERANDERINGEN IN HET CELLULAIRE PROFIEL EN ACTIVITEIT

Vele auteurs van studies vermelden verschillen in de morfologie en proliferatie van fibroblasten in de chronische wond. Deze fibroblasten werden als veelhoekig beschreven en groter dan de compacte, staafvormige normale huidfibroblasten [34, 35]. Fibroblasten die geïsoleerd waren van CVLUs [34, 35, 36], distale huid bij patiënten met veneuze hypertensie [36] en drukulcera [37] laten alle een verminderde proliferatie zien, vergeleken bij normale huidfibroblasten.

Het uitblijven van epithelialisatie, is misschien het duidelijkst zichtbare klinische kenmerk van de chronische wond. Men denkt dat dit komt door onvoldoende migratie, en niet zozeer door de proliferatie van keratinocyten [38, 39]. Keratinocyten migratie is afhankelijk van verschillende factoren, waaronder de onderliggende matrix en de cytokinen die door de fibroblasten en macrofagen worden afgegeven aan het wondbed. Bij acute wonden geven migrerende keratinocyten $\alpha 5\beta 1$ integrin af. Bij chronische wonden vindt echter een verlaagde afgifte van $\alpha 5\beta 1$ plaats, hetgeen duidt op een niet-migrerend

fenotype keratinocyten [40]. De inductie van TNF- α aanmaak in vitro verhoogt de afgifte van $\alpha 5\beta 1$ door de keratinocyten in de chronische wond, waardoor een migrerend fenotype bevordert wordt [40].

In het algemeen laten chronische wonden een verminderde mitogene-actieve activiteit zien in vergelijking met acute wonden. In tegenstelling tot wondvocht van acute wonden heeft chronisch wondvocht, wanneer toegevoegd aan culturen met fibroblasten, keratinocyten of vasculaire endotheliale cellen, niet het vermogen om de DNA synthese van deze cellen te stimuleren [28, 41]. Zo ook zijn de fibroblasten in chronische ulcera mogelijk ook niet in staat om op groeifactoren als PDGF en TGF te reageren [35] en laten van CVLUs geïsoleerde fibroblasten een verminderde mobiliteit zien, vergeleken met normale huidfibroblasten [42]. Sommige kenmerken van de cellen in chronische wonden zijn samengevat in **tabel 2**.



Tabel 2: Cellulaire eigenschappen van chronische wonden

➤	Over het algemeen weinig mitotische activiteit
➤	Verstoorde migratie van keratinocyten
➤	Veranderde cellulair fenotype van fibroblasten
➤	Verminderde proliferatie en migratie van fibroblasten
➤	Verminderde respons van fibroblasten op groeifactoren
➤	Aanwezigheid van groter aantal verouderde cellen

VERANDERINGEN IN DE SAMENSTELLING VAN DE ECM

De samenstelling en reorganisatie van de ECM in chronische wonden kunnen gebrekkig of veranderd zijn, wat kan leiden tot een vertraagde re-epithelialisatie^[43]. Herrick et al namen in biopsies van CVLUs een in vergelijking met de omringende normale huid een verlaagd gehalte aan ECM-proteïnen als fibronectine waar. Ook zagen ze dat het gehalte aan fibronectinen toenam naarmate het genezingsproces vorderde^[43]. Herrick en zijn collega's zagen verder dat fibroblasten in chronische wonden verminderde hoeveelheden collageen produceerden^[44], hoewel andere onderzoekers geen verschillen vonden tenzij onder invloed van TGF- β ^[45]. Daarnaast toonden Cook en collega's^[25] aan, dat vergeleken met normale fibroblasten (in de acute wond), patiëntgerelateerde fibroblasten van een chronische wond een verminderd vermogen hadden om een type 1 collageen raamwerk te produceren, wat een verminderd vermogen om het ECM milieu in vivo te reorganiseren suggereert. Aanwezigheid van vrije radicalen en de rol van stikstof oxide Vrije radicalen afkomstig uit zuurstof zijn betrokken bij het ontstaan en voortbestaan van veneuze ulcera. Het opruimen van deze radicalen door de antioxidanten bevordert het genezingsproces bij veneuze ulcera^[46]. Stikstof (NO) staat bekend om zijn vermogen zich aan hydroxide vrije radicalen te binden en op die manier peroxy-nitraat te vormen, een krachtige vrije radicaal die de afbraak van weefsel veroorzaakt. Mogelijk is een teveel aan NO er direct of indirect de oorzaak van de pathogenese en vertraagde genezing CVLUs door de productie van peroxy-nitraat en het effect hiervan op vasculaire, inflammatoire en collageen afzetting^[47]. Bij een studie onder 44 patiënten met chronische veneuze aandoeningen merkten Howlander en Smith op dat de

totale NO waarden in het plasma verhoogd waren bij patiënten met een ernstige beschadiging van de huid^[48]. Zo zagen Jude et al ook dat diabetische patiënten met recidiverende neuropathische en neuroischemische voetulcera aanzienlijk hogere NO plasma waarden hadden in vergelijking met patiënten met niet-recidiverende voetulcera.

OPHOPIING VAN NECROTISCH WEEFSEL EN PUS

Door onderliggende pathogenetische abnormaliteiten en het veranderde biochemische en cellulaire milieu, neigen necrotisch weefsel en beslag zich voortdurend op te hopen in de chronische wond^[50]. Necrotisch weefsel, als resultaat van onvoldoende plaatselijke bloedtoevoer, bevat dode cellen en debris die een gevolg zijn van de fragmentatie van afstervende cellen. Slough of beslag is geel fibrineweefsel dat bestaat uit fibrine, pus en proteïneachtig materiaal. De ophoping van necrotisch weefsel in de chronische wond bevordert de kolonisatie van bacteriën en verhindert volledig herstel van de wond. De necrotic burden is een allesomvattende term voor zowel necrotisch weefsel, slough, overmatig wondvocht of exudaat als hoge concentraties bacteriën in het chronische wondmilieu. Als de necrotic burden zich kan ophopen in een chronische wond, kan het de ontstekingsreactie daardoor verlengen, contractie van de wond stagneren en re-epithelialisatie belemmeren^[51].

AANWEZIGHEID VAN MICRO-ORGANISMEN

De aanwezigheid van bacteriën in de wond kan op vier verschillende manieren ingedeeld worden, gebaseerd op de immunoreactie van de gastheer (patiënt):

- Contaminatie (aanwezigheid van zich niet-vermenigvuldigende micro-organismen in de wond)

- Kolonisatie (vermenigvuldiging van micro-organismen die zich aan het wondoppervlak hechten zonder weefselbeschadiging.
- Lokale infectie of kritische kolonisatie (wond met een toenemende bacterielast, hetgeen een midden-categorie is tussen kolonisatie en een invasieve infectie)
- Invasieve wondinfectie (aanwezigheid van zich vermenigvuldigende micro-organismen in een wond met daaropvolgend een gastheer reactie (reactie immuunsysteem patiënt) die tot een vertraagde genezing leidt).

Het relatieve aantal micro-organismen (meestal meer dan 105 per gram weefsel) en hun pathogeneciteit (zoals beta haemolytische streptococci, die zeer virulent zijn), bepalen echter samen met gastheer responsen factoren als immunodeficiëntie, diabetes mellitus en medicijnen, bepalen of een chronische wond geïnfecteerd raakt of tekenen vertoont van vertraagde genezing. De kenmerken van bacteriën in chronische wonden zijn samengevat in **tabel 3**.

➤ **Tabel 3:** Bacteriën in chronische wonden

➤	grote concentraties bacteriën (>105 bacteriën per gram weefsel kan een infectie veroorzaken)
➤	aanwezigheid van meer dan een bacteriële variëteit
➤	bacteriën die in staat zijn hun fenotypische en genotypische eigenschappen te veranderen
➤	aanwezigheid van multiresistente organismen
➤	aanwezigheid van "biofilms"
➤	terugkerende lokale en/of invasieve wondinfecties

Naast periodes van infectie, leidt de voortdurende aanwezigheid van bacteriën in een wond tot endotoxinen productie en stimuleert het de afweerreactie van het immuunsysteem van de gastheer om pro-inflammatoire als IL-1, TNF- α , prostaglandine E2 en tromboxaan aan te maken. Hoewel de ontstekingsreactie een normaal onderdeel is van de wondgenezing is, duurt het genezingsproces langer als er sprake is van een extreme ontstekingsreactie^[52]. Daarbij komt dat, als er sprake is van chronische kolonisatie, bacteriën een biofilm over de wond vormen (bacteriën die ingebed zijn in een door de wond zelf gevormde extracellulaire matrix van polysacchariden). Deze bacteriën zijn resistent tegen de effecten van de afweerreactie van de gastheer, en antimicrobische agents, waardoor ze bijdragen aan een vertraagde wondgenezing^[53].

AANDOENINGSSPECIFIEKE PATHOGENE VERANDERINGEN

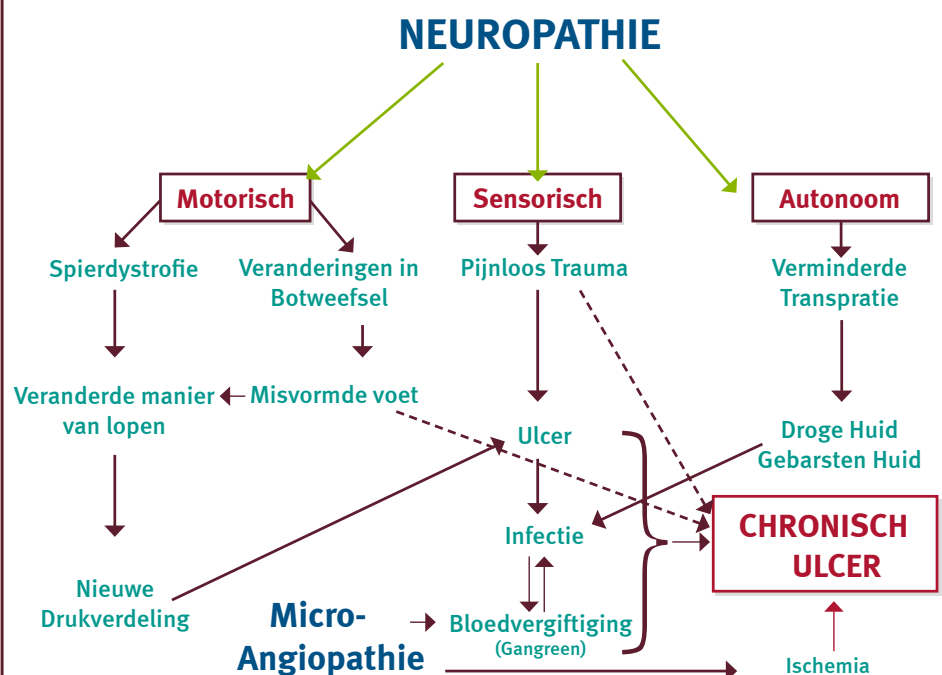
Naast de geobserveerde generieke veranderingen in de wond, zien we bepaalde aandoeningspecifieke pathologie die bijdragen aan het feit dat sommige wonden niet of niet goed genezen (**Figuur 2**): Bijvoorbeeld bij patiënten met diabetes chronische voetulcera hebben diverse oorzaken: neuropathie en perifere neuritis die trofische veranderingen veroorzaken; microangiopathie die leidt tot aderverkalking van de kleine arteriën, hetgeen weer ischaemie, gangreen en infectie veroorzaakt en een verhoogd glucosegehalte die leiden tot een verlaagde werstand tegen infectie. Zo kan bij patiënten met veneuze ulcera het niet willen genezen van de wond veroorzaakt worden door voortdurende veneuze hypertensie, hetgeen perifeer oedeem tot gevolg heeft. In zulke wonden moeten eerst de systemische factoren behandeld worden voordat genezing kan optreden. In **tabel 5** zijn sommige klinische kenmerken en

➤ **Tabel 4:** fysieke oorzaken van het niet genezen van chronische wonden

NEUROPATHIE	Diabetes mellitus, spinale laesies, hersenziekten, de ziekte van Hansen (lepra)
ISCHEMIA	Artherosclerose, verkalking, microangiopathie (diabetes mellitus), ieder vorm van perifere vasculaire aandoeningen
PERIFERE OEDEEM	Veneuze hypertensie (diep veneuze trombose, spataderen), systemische oorzaken (nier- of hartfalen), lymfoedeem, verlaagde hoeveelheid albumine, elephantiasis (veel voorkomend in tropische landen)
DRUK	Verminderde mobiliteit, ruggemerglaesies, dementie, diabetes mellitus, hoge ouderdom, terminale ziekte
ANDERE OORZAKEN	Aandoeningen van het bindweefsel met vasculitis als gevolg, arterio-venueze malformaties, medicijnen zoals corticosteroiden en hydroxyurea, systemische aandoeningen, maligniteiten, osteomyelitis, roken, erfelijke neutrofiële aandoeningen, slechte voedingstoestand



➤ **Figuur 2:** Oorzaak van chroniciteit bij diabetische voetulcera



Tabel 5: klinische kenmerken en complicaties bij chronische wonden
klinische kenmerken

Klinische kenmerken	Complicaties
necrotisch en ongezond weefsel	ontstaan van fistels communicerende fistels
Overmatige hoeveelheid afscheiding en dode huidcellen	maligne veranderingen in het fistelkanaal maligne veranderingen in het wondbed (Marjolin's ulcer)
Onvoldoende bloedtoevoer	Osteomyelitis
Geen gezond granulatiweefsel	contracturen en misvormingen van de omringende gewrichten
Verstoorde re-epithelisatie	Systemische amyloidosis Heterotopische calcificatie
Cyclische of aanhoudende pijn	Kolonisatie door meervoudige resistente pathogenen met antibioticaresistentie als gevolg
- recidiverende achteruitgang wondheling	
Klinische of sub-klinische infectie	

complicaties bij chronische wonden weergegeven.

OUDERDOM: HET EFFECT OP WONDGENEZING

De manier waarop een wond geneest is afhankelijk van de leeftijd van de patiënt. Chronische wonden zoals diabetische ulcera, arteriële ulcera en CVLUs komen vaker voor bij ouderen. Naast andere co-morbiditeiten kunnen ook de effecten van medicijnen zoals niet-steroïde middelen tegen ontstekingsverschijnselen en stereoïden, weinig lichamelijke beweging (hetgeen drukulcera kan veroorzaken), veranderingen in de cellulaire en moleculaire structuur van de verouderde huid, het genezingsproces belemmeren.

CELLULAIR

Met het ouder worden van de huid ontstaat er een verminderde hoeveelheid turnover van keratinocyten in de epidermis^[54] en een kleinere celpopu-

latie in de dermis^[55]. Microscopisch (histologisch) onderzoek laat zien dat de dikte van de dermis afneemt na het zeventigste levensjaar^[56] en het aantal in vitro gekweekte keratinocyten afkomstig van oudere donoren is lager dan van keratinocyten afkomstig van pasgeboren baby's^[58]. De verbinding tussen de dermis en de epidermis is ook dunner, waardoor de delingscapaciteit van de epidermiscellen afneemt en de huid er atrofisch uit gaat zien. Door deze verlaagde cellulaire activiteit in zowel de dermis als de epidermis, als ook in de veranderde ECM productie (zie onder), wordt de huid van oudere mensen dunner en minder stevig en daardoor vatbaar voor schade, zelfs bij kleinere verwondingen.

Het percentage verouderde fibroblasten dat niet meer tot deling instaat is, neemt met het voortschrijden van de leeftijd toe^[59]. Behalve dat de fibroblasten niet meer in tot celdeling in

staat zijn, vertonen deze ook een verminderde activiteit^[60], een langere latente fase^[61] en een verminderde respons op stimulerende groeifactoren^[62]. Ook vindt er een opeenstapeling plaats van fibronectine in de omgeving van de ECM als gevolg van een versnelde synthese^[63] en een verandering in de vorm van de fibronectine, hetgeen een vermindering van de capaciteit van de cel om zich te hechten tot gevolg heeft^[64],^[65]. Ashcroft et al zagen dat na een verwonding er bij oudere proefdieren (muizen) een vertraging optrad in de vorming van granulatiweefsel, vergeleken bij jongere muizen en muizen van middelbare leeftijd^[66]. De verstoorte vorming van granulatiweefsel houdt mogelijk verband met verlaging van het aantal fibroblasten en de dichtheid van het collageen^[67].

VORMING EN SAMENSTELLING VAN DE EXTRACELLULAIRE MATRIX

Net als hun vermogen om EMC proteïnen te vormen is de moleculaire samenstelling van fibroblasten verstoord bij ouderen. Bij het ouder worden is er een afname van de dichtheid van de vezelbundels van het collageen, waarbij de collageenbundels rechter lijken^[62], er een reductie en disorganisatie van type 1 collageen^[68] en er een toename van collageen type III ontstaat^[69], evenals een verminderde HA inhoud^[70] en een verminderde genen expressie van elastine^[68]. Al deze factoren resulteren in een veranderde samenstelling van ECM die leidt tot een verstoorte proliferatie- en remodeleringsfase en daarmee een verstoord sluiten van de wond.

VERANDERINGEN IN HET CYTOKINE-PROFIEL EN DE ONTSTEKINGSREACTIE

In normale huid vind men een opregulatie van MMP-2 en bij acute wonden in de oudere huid een opregulatie van MMP-2 en MMP-9, vergeleken bij jong volwassenen^[71]. Deze verandering in het cytokineprofiel

