

VERBETERDE KWEEKTECHNIKEN EN MODELONTWIKKELING VOOR HUIDREGENERATIE

Bij de genezing van diepe (brand)wonden bij mensen ontstaan hypertrofische littekens. Dit zijn sterk verdikte littekens, die vaak pijnlijk zijn en jeuk veroorzaken. Deze ernstige littekens zijn niet alleen ontsierend, maar kunnen ook de functie van de huid en de onderliggende gewrichten beperken. De standaard behandeling van diepe brandwonden is een transplantatie met huid van de patiënt zelf. Hier zit echter een aantal nadelen aan vast. Om te beginnen ontstaan er nog steeds littekens bij deze behandeling. Daarnaast is er bij mensen met uitgebreide brandwonden een beperkte beschikbaarheid van gezonde huid, omdat een groot deel van de huid verbrand is. Ook ontstaat er een nieuwe wond op de plaats waar de huid voor transplantatie wordt weggenomen, die erg pijnlijk kan zijn.

Een veelbelovend alternatief voor de behandeling van brandwonden is transplantatie met lichaamseigen cellen van de opperhuid (keratinocyten). Om voldoende cellen te krijgen worden deze echter gekweekt (vermenigvuldigd) in het laboratorium in de aanwezigheid van muizencellen en dierlijk serum. Deze dierlijke materialen kunnen een mogelijk risico vormen voor de patiënt, omdat zij ziekten kunnen overdragen, zoals BSE, of een afweerreactie kunnen veroorzaken. De studie in **Hoofdstuk 2** liet zien dat het mogelijk is om keratinocyten te kweken zonder deze muizencellen en dierlijk serum. De gekweekte cellen waren in staat om een nieuwe opperhuid (epidermis) te vormen en dit geeft aan dat de cellen nog steeds geschikt zijn voor klinische toepassingen. Met behulp van onze kweekmethode kunnen we in twee weken voldoende keratinocyten uit 1 cm² huid kweken om 400 cm² wondoppervlakte te bedekken.

Om nieuwe therapieën voor brandwondenpatiënten te kunnen ontwikkelen, is het erg belangrijk om gedetailleerde kennis over littekenvorming en weefselherstel te hebben. Vele studies hebben aangetoond dat in tegenstelling tot wonden in volwassenen, foetale wonden littekenloos genezen. De samenstelling van de foetale huid zelf speelt hier waarschijnlijk een belangrijke rol bij. Kennis over de compositie van foetale en volwassen huid kan daarom wellicht bijdragen aan het begrijpen van de wondgenezing. In **Hoofdstuk 3** hebben we onderzoek gedaan naar de verschillen tussen de opbouw van menselijke foetale huid en de opbouw van volwassen huid. Wij hebben gevonden dat foetale lederhuid uit een ander type bindweefsel bestond dan volwassen lederhuid. Zo waren er in de foetale huid grotere hoeveelheden van de eiwitten fibronectine en chondroitine sulfaat aanwezig dan in de volwassen huid. Ook bevatte alleen de volwassen huid het eiwit elastine. In tegenstelling tot de lederhuid

verschilde de foetale epidermis niet veel van de volwassen epidermis. De bevindingen uit **Hoofdstuk 3** suggereren dat de aanwezigheid van een bepaald type bindweefsel wellicht kan zorgen voor een betere genezing van (diepe) wonden. Kunst huid dat bestaat uit dit type bindweefsel kan daarom een mogelijke therapie zijn voor de verbetering van wondgenezing in patiënten.

Wondmodellen zijn onmisbaar bij het bestuderen van wondgenezingsprocessen. In het verleden zijn zowel diermodellen als laboratoriummodellen ontwikkeld, maar geen van deze modellen zijn ideaal. Diermodellen hebben als voordeel dat alle factoren, die een rol spelen bij de wondgenezing, aanwezig zijn. Het nadeel van deze modellen is echter dat de vertaling naar de mens soms lastig is en dat er bij het gebruik ethische bezwaren zijn. In tegenstelling tot diermodellen hebben laboratoriummodellen geen ethische bezwaren, maar geven ze de situatie in het menselijk lichaam maar gedeeltelijk weer. Het doel van de studies beschreven in **Hoofdstuk 4 en 5** was om volwassen en foetale brandwondmodellen in het laboratorium te ontwikkelen, die beter overeenkomen met de wondgenezing in het menselijk lichaam dan de huidige laboratoriummodellen. De modellen die wij ontworpen hebben, bestonden uit stukjes uitgesneden foetale, volwassen en littekenhuid waar een brandwond in gemaakt is. Deze verwonde stukjes werden vervolgens aan de lucht blootgesteld gekweekt in het laboratorium. De studies in **Hoofdstuk 4 en 5** lieten zien dat deze huidmodellen gedurende een lange periode in leven bleven en dat ze vele overeenkomsten vertoonden met de situatie in het menselijk lichaam. In zowel de volwassen als foetale modellen vond er nieuwe uitgroei van de epidermis plaats en migreerden er fibroblasten (belangrijke cellen in de lederhuid) naar het wondgebied. Aangezien de wondmodellen zijn gebaseerd op het kweken van normale, menselijke huid, waren alle huidcellen en eiwitten aanwezig. Daarnaast toonden we aan dat de wondmodellen uitgebreid kunnen worden met LPS (een stukje van het celmembraan van bacteriën) om een bacteriële infectie na te bootsen. De modellen kunnen zeer nuttig zijn bij het bestuderen van verschillende aspecten van wondgenezing en bij het testen van farmaceutische middelen en cosmetica. Hierdoor kunnen deze modellen wellicht bijdragen aan de vermindering van proefdieren. Om de wondmodellen verder te optimaliseren zouden er meer factoren, die belangrijk zijn bij wondgenezing, zoals trekspanning en groeifactoren, aan toegevoegd moeten worden.

In **Hoofdstuk 5** werden de ontwikkelde foetale en volwassen wondmodellen met elkaar vergeleken om factoren die belangrijk zijn bij foetale genezing te onderscheiden. Dit leidt wellicht tot aanwijzingen voor de verbetering van wondgenezing in volwassen menselijke huid. Wij toonden aan dat de dichtgroei van de epidermis sneller plaatsvond in het foetale wondmodel dan in de volwassen wondmodellen. Het

was opvallend dat in het foetale model de nieuw gevormde epidermis over de oude, verbrande epidermis heen groeide en niet onder de oude epidermis door. Daarnaast hebben we gevonden dat nieuwe fibroblasten eerder in het foetale wondgebied aanwezig zijn dan in het volwassen wondgebied. Deze bevindingen suggereren dat een snelle wondgenezing misschien een belangrijke rol speelt in littekenloze genezing. De wondgenezing in mensen kan wellicht verbeterd worden door een snellere dichtgroei van de epidermis en migratie van fibroblasten te stimuleren.

In dit proefschrift hebben we bijgedragen aan de verdere ontwikkeling van kunsthuid door keratinocyten te kweken zonder gebruik van muizencellen en dierlijk serum. Daarnaast hebben we verbeterde wondmodellen in het laboratorium ontwikkeld, die gebruikt kunnen worden voor de bestudering van wondgenezingsprocessen. Deze resultaten kunnen leiden tot transplantatie van keratinocyten op een veiligere manier en tot meer inzichten in de mechanismen van littekenvorming en weefselherstel. Dit proefschrift kan daardoor wellicht bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen littekenvorming.