

University of Groningen

Bridging the gap

Spiekman, Maroesjka

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2018

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Spiekman, M. (2018). *Bridging the gap: Adipose tissue-based therapy for dermal scarring*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

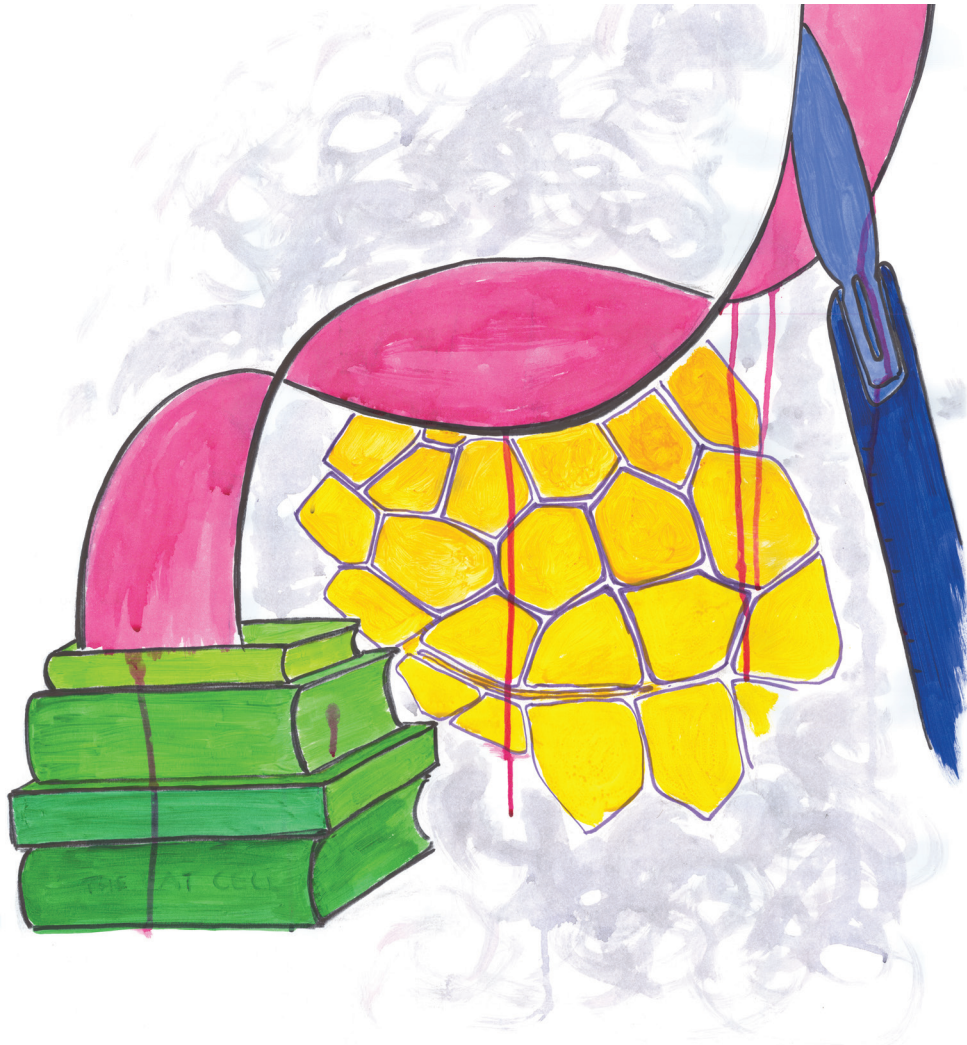
Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

CHAPTER 10

Nederlandse samenvatting



Vetweefsel is één van de bouwstenen van het menselijk lichaam. Niet alleen geeft het vorm aan ons lichaam, ook zorgt het voor opslag van energie en voor warmte-isolatie in koude tijden. Daarnaast is door onderzoekers in de jaren '90 ontdekt dat vet een bron is van volwassen stromale (stam)cellen (Eng: adipose tissue derived stem/stromal cells, afgekort als ASC). Deze stromale cellen uit vet kunnen onder de juiste laboratoriumcondities veranderen in bijvoorbeeld vetcellen, kraakbeencellen of botcellen. Daarnaast maken stromale cellen uit vet allerlei signaalstoffen en groeifactoren, die bijvoorbeeld celdeling en bloedvatnieuwvorming stimuleren. Om deze redenen is bedacht dat vetweefsel of stamcellen uit vetweefsel zouden kunnen dienen als therapie voor een veelheid aan aandoeningen.

Stromale (stam)cellen uit vet zijn reeds als therapie gebruikt in klinische studies naar bijvoorbeeld hart-, long- en kraakbeenreparatie en als behandeling van chronische wonden. Lipofilling, ofwel injecties met eigen vetweefsel, wordt al tientallen jaren gebruikt als therapie voor contourdefecten. Lipofilling is bijvoorbeeld gebruikt voor borstreconstructies en borstvergrotingen, voor esthetische en reconstructieve ingrepen in het gelaat, verjonging van de handen, bilvergroting en ook voor versnelling van het helingsproces van chronische wonden. Bij deze ingrepen werd er als toevalsbevinding geconstateerd dat littekens leken te verdwijnen of verminderen na lipofilling. Hoe kunnen littekens echter verminderen of verdwijnen na het inspuiten van eigen vetweefsel?

Littekens zijn het gevolg van wondgenezing na een verwonding van de huid. De huid bestaat uit de opperhuid (epidermis) en lederhuid (dermis) met daaronder het onderhuids vetweefsel (subcutis). Schade aan de huid wordt hersteld door wondgenezing. Allereerst vindt de stollingsfase plaats, waarin bloedplaatjes en stollingseiwitten zorgen voor een geschikte omgeving voor invasie van immuuncellen, o.a. neutrofielen, mestcellen en monocytten. Hiermee begint de ontstekingsfase, waarin de immuuncellen factoren produceren die de cellen van de opperhuid en lederhuid stimuleren tot migratie en deling. De cellen van de opperhuid (keratinocyten) migreren en delen. De bindweefselcellen in de lederhuid (fibroblasten) delen, produceren extra bindweefsel en contraheren. Ook de bloedvatcellen (endotheel en gladde spiercellen) migreren en delen om zo nieuwe haarvaten te vormen. Op deze manier wordt het defect in de opperhuid en lederhuid hersteld. Na het herstel van het defect begint de laatste fase, de remodelering. In deze fase wordt het bindweefsel wat tijdens de wondheling gemaakt is, geremodelleerd om het meer op bindweefsel van de normale huid te laten lijken.

Littekens blijven echter altijd in meerdere of mindere mate afwijken van de normale huid. In het beste geval, blijft er op de plaats van de verwonding een dun, wit streepje over, waarvan iemand geen klachten heeft. In minder gunstige gevallen, vormt zich een dik, rood, stug, verheven litteken wat zorgt voor pijn, of voor bewegingsbeperking van een gewricht. Voor deze littekens zijn tot op heden weinig behandelmogelijkheden.

In dit proefschrift bestuderen we de toepassingen van lipofilling en stromale cellen uit vet als therapie voor littekens. Met laboratoriumonderzoek, klinische studies en (systematische) reviews

van wetenschappelijke literatuur hebben we onderzocht of en hoe lipofilling en stromale cellen uit vet littekens kunnen verminderen of voorkomen.

In hoofdstuk 2 hebben we de huidige stand van zaken in de wetenschappelijke literatuur met betrekking tot het gebruik van lipofilling en stromale cellen uit vet als therapie voor littekens samengevat. Hieruit blijkt dat lipofilling een veelbelovende therapie lijkt voor bestaande littekens in patiënten, omdat het pijn vermindert en littekens normaliseert, zodat ze meer lijken op normale huid. Voor beide observaties geldt echter dat wetenschappelijk bewijs in de vorm van grote, gerandomiseerde patiënten studies, ontbreekt.

In hoofdstuk 3 hebben we in onze eigen patiëntenstudie het effect van twee sessies lipofilling op symptomatische littekens onderzocht. Hieruit blijkt dat zowel de eerste als de tweede sessie lipofilling al helpen om littekens meer op normale huid te laten lijken, gemeten met een vragenlijst om de ernst van littekens te objectiveren. Tegelijkertijd vinden er in littekenbiopten van deze patiënten na lipofilling veranderingen plaats in de vorm van verhoogde immuuncel invasie, vaatdichtheid en celdeling in de opperhuid en remodelering van het littekenbindweefsel.

In plaats van gebruik van vetweefsel/lipofilling, kunnen ook alleen de stromale cellen uit vetweefsel gebruikt worden als therapie. Er zijn vele verschillende manieren om de stromale (stam)cel fractie (Eng: stromal vascular fraction, afgekort als SVF) uit het vetweefsel te isoleren (bijv. enzymatisch of mechanisch, laboratorium of intra-operatief).

Hoofdstuk 4 bestaat uit een systematisch review van alle procedures om de stromale (stam) cel fractie uit het vetweefsel te isoleren. Deze procedures werden vergeleken op basis van de hoeveelheid, viabiliteit en samenstelling van de geïsoleerde (stam)cel fractie en op basis van de duur en kosten van de isolatieprocedure. Wat betreft hoeveelheid, viabiliteit en samenstelling bleken de onderzochte isolatieprocedures niet significant van elkaar te verschillen. Echter, de intra-operatieve procedures bleken veel minder tijd in beslag te nemen dan laboratoriumprocedures, wat ze veel geschikter maakt voor klinische toepassing.

In hoofdstuk 5 hebben we een onderzoeksopzet beschreven om in een gerandomiseerde, geblindeerde patiënten studie te onderzoeken of de stromale (stam)cel fractie uit vetweefsel het ontstaan van littekens kan beïnvloeden. In 38 patiënten die een borstverkleining ondergaan, wordt in de wond enerzijds de stromale (stam)cel fractie uit vet ingespoten en anderzijds een placebo. De mate van verlittekening aan beide kanten wordt vergeleken met een vragenlijst om de ernst van littekens te objectiveren en in huidbiopten uit beide littekens. De inclusie voor deze patiënten studie loopt op dit moment nog.

Stromale cellen uit vetweefsel kunnen in het laboratorium opgekweekt worden. Hierdoor kunnen meer cellen verkregen worden, maar verandert wel het fenotype van deze cellen, evenals de productie van signaalstoffen en groeifactoren door deze cellen. Normaal gesproken worden cellen

in een laboratorium in opgekweekt met serum van kalveren (Eng: fetal bovine serum, afgekort als FBS), wat de toepassing van deze cellen in patiënten bemoeilijkt. In hoofdstuk 6 laten we zien dat menselijke serumproducten in de vorm van bloedplaatjesrijk serum (Eng: platelet rich plasma, PRP) en bloedplaatjesarm serum (Eng: platelet poor plasma, PPP) gebruikt kunnen worden om stromale cellen uit vetweefsel in het laboratorium te laten groeien. Echter, het gebruik van humane in plaats van bovine serumproducten, zorgt voor een verandering van productie van signaalstoffen en groeifactoren en van bindweefselproducten.

In hoofdstuk 7 onderzoeken we vervolgens of de signaalstoffen en groeifactoren van stromale cellen uit vetweefsel de activatie van bindweefselcellen uit de huid (dermale fibroblasten) kan beïnvloeden. De pro-fibrotische groeifactor transforming growth factor beta (TGF- β) zorgt voor activatie van fibroblasten. Fibroblast activatie bestaat uit deling, productie van bindweefsel en contractie door deze cel. Fibroblast activatie is een sleutelproces in het ontstaan en de instandhouding van littekens. Vloeistof die alle signaalstoffen en groeifactoren van stromale cellen uit vetweefsel bevat (Eng: adipose stromal cell conditioned medium, afgekort als ASC CM) blijkt deling, productie van bindweefsel (collageen I en III) en contractie van dermale fibroblasten te kunnen remmen. Hieruit blijkt dat signaalstoffen en groeifactoren van stromale cellen mogelijk littekenvorming zouden kunnen verminderen.

In hoofdstuk 8 bekijken we het proces van verlittekening vanuit de invalshoek van signaaltransductie routes en microRNA's. De pro-fibrotische groeifactor TGF- β zorgt voor inductie van verschillende intracellulaire signaaltransductie routes, wat leidt tot activatie van fibroblasten, wat uiteindelijk kan zorgen voor littekenvorming. Een belangrijk feedback mechanisme in alle cellen zijn microRNA's. MicroRNA's zijn korte niet coderende RNA's, die door binding aan messenger RNA (mRNA) kunnen zorgen voor onderdrukking van synthese van het eiwit waarvoor het mRNA codeert. In hoofdstuk 8 hebben we het effect van microRNA-15b op activatie van bindweefselcellen uit het hart (cardiale fibroblasten) onderzocht. MicroRNA-15b ervoor kan zorgen dat signaaltransductie eiwitten Growth Factor Receptor-Bound 2 (Grb2) and Son-of-Sevenless homologue 1 and 2 (SOS1 and 2) kan verminderen, wat samengaat met verminderde cardiale fibroblast activatie. Hieruit blijkt dat vermindering van activatie van signaaltransductie routes door TGF- β met behulp van microRNA's gebruikt zou kunnen worden als therapie voor littekens.

Concluderend, hebben we in dit proefschrift aangetoond dat lipofilling en stromale cellen uit vetweefsel kunnen bijdragen aan de behandeling van littekens. We hebben verschillende mechanismen laten zien die bij kunnen dragen aan dit anti-litteken effect van eigen vetweefsel, te weten remming van fibroblast activatie en stimulatie van immuuncel invasie, vaatdichtheid en celdeling en remodelering van het littekenbindweefsel. In de toekomst kan deze kennis gebruikt worden om het gebruik van lipofilling en stromale cellen uit vetweefsel als therapie voor littekens te optimaliseren.