

Immuunrespons bij brandwonden: Systematische review en meta-analyse van experimenteel onderzoek

P.P.G. Mulder, B.K.H.L. Boekema*

Brandwonden kunnen hevige reacties veroorzaken in het lichaam, waaronder een overactieve en ontspoorde ontstekingsreactie. Deze reacties kunnen zorgen voor complicaties, zoals het groter worden en slecht genezen van de wond, systemische ontsteking en ernstige littekens. Om de behandeling en de wondgenezing te verbeteren en brandwondpatiënten sneller te laten herstellen, is het nodig om eerst deze specifieke ontstekingsreacties na brandwonden in kaart te brengen. Voor onderzoek naar de ontstekingsreacties wordt veel gebruik gemaakt van proefdieren. Als moderne maatschappij zijn er initiatieven om experimenten met dieren zoveel mogelijk te verminderen en te vervangen waar dat mogelijk is. Om deze transitie te ondersteunen, hebben onderzoekers van de Vereniging van Samenwerkende Brandwondencentra in Beverwijk in samenwerking met de Medische Immunologie en het Meta-Researchteam van het Radboudumc een systematische review uitgevoerd. Deze systematische review, inclusief meta-analyse, vat al het bestaande bewijs samen over de ontstekingsreactie bij brandwonden dat is verzameld met behulp van dierexperimenten. Het geeft een gedetailleerd overzicht van de verschillende ontstekingscellen in het bloed en in de brandwond en fungeert als een fundament voor het ontwerp van nieuwe en verbeterde therapieën voor wondgenezing. Tevens zal de verzamelde data gebruikt kunnen worden voor het ontwerpen van nieuwe onderzoeksmethoden. Het vormt zo een belangrijke stap in de verbetering van brandwondbehandeling en de transitie naar proefdiervrij onderzoek.

Gepubliceerd als:

P.P.G. Mulder PPG, H.J.P.M. Koenen, M. Vlig, I. Joosten, R.B.M. de Vries, B.K.H.L. Boekema. Burn-Induced Local and Systemic Immune Response: Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Studies. *Journal of Investigative Dermatology*. 2022;142(11):3093-3109.e15.

Hevige ontsteking na het oplopen van brandwonden

Vrijwel direct na het oplopen van een brandwond ontstaat er in het lichaam een ontstekingsreactie (1). Tijdens deze reactie worden ontstekingscellen aangetrokken naar het wondgebied. Deze ontstekingscellen moeten het lichaam beschermen tegen ongewenste invloeden van buitenaf en voorkomen dat er een infectie optreedt. De ontstekingscellen beïnvloeden elkaar en andere cellen in het lichaam door ontstekingsfactoren uit te scheiden. Daarnaast kunnen ze bacteriën en resten van beschadigde huid opruimen door middel van fagocytose. In de acute fase van de ontsteking zijn voornamelijk neutrofielen en pro-inflammatoire macrofagen aanwezig in de wond (2). Doordat deze cellen erg actief zijn, kan ook de gezonde huid aan de rand van de wond beschadigd raken. Een cruciaal onderdeel in het ontstekingsproces is daarom ook de beheersing van de ontstekingsreactie door lymfocyten en een speciaal type macrofaag die de wondgenezing ondersteunt (3,4). Alleen door goede regulatie van de ontstekingsreactie kan

een goede wondgenezing worden bewerkstelligd.

Bij brandwonden kan de ontstekingsfase langer aanhouden dan bij andere wonden, zoals schaaf- of snijwonden (5,6). Dit heeft te maken met het vaak grote oppervlak van de huid dat beschadigd is. Door verbranding van de huid ontstaan er signalen die ontstekingscellen aantrekken naar het wondgebied (7). Bij ernstige brandwonden is vaak een groot oppervlak van de huid beschadigd, hierdoor is er meer en langer aanzet tot ontsteking (8,9). Langdurige ontsteking is een belemmering voor de wondgenezing en vertraagt het herstel (10). Er is nog veel onbekend over de verschillende ontstekingscellen die aanwezig zijn en wat hun rol precies inhoudt na het oplopen van brandwonden. Om de wondgenezing te verbeteren moet er gedetailleerd inzicht komen in de functie van specifieke ontstekingscellen, welk gedrag deze vertonen en welke ontstekingsfactoren van belang zijn. Hierbij zijn de tijd na verbranding, de grootte en de oorzaak van de brandwond en de karakteristieken van de patiënt erg belangrijk.

Dierexperimenten en transitie naar proefdiervrij

Goed onderzoek doen bij mensen met brandwonden is ingewikkeld. Dit heeft alles te maken met de grote verschillen tussen brandwonden. Daarnaast zijn er verschillen tussen patiënten, zoals geslacht, leeftijd en onderliggend lijden, die ook invloed kunnen hebben op de ontstekingsreactie en de wondgenezing (11). Om te kunnen onderzoeken

ken wat er na verbranding gebeurt met de ontstekingsreactie is een controlegroep uitermate belangrijk. Door de onvoorspelbare aard van brandwonden is het onmogelijk om informatie over de ontstekingscellen en ontstekingswaardes te verkrijgen van brandwondenpatiënten van voor het ongeval (baselinewaardes). Bovenal wordt onderzoek belemmerd door restricties in het afnemen van bloed en huidbiopten. Onderzoek met proefdieren daarentegen wordt hier niet door gehinderd en biedt de mogelijkheid om het effect van brandwonden op een gestandaardiseerde manier te testen (tabel 1) (12). Op die manier kunnen er nauwkeurige metingen worden gedaan die vergeleken worden met een toepasselijke controlegroep (dieren zonder brandwonden).

In onze moderne samenleving streeft men naar het beperken en vervangen van dierexperimenten waar dat mogelijk is (13). Daarnaast zijn er ook belangrijke verschillen tussen mens en dier, zoals de manier waarop een wond geneest en het litteken zich vormt. Hierdoor worden onderzoekers uitgedaagd om op zoek te gaan naar alternatieve onderzoeksmethoden. Om meer informatie te halen uit bestaande onderzoeken werd een systematische review geschreven. Deze systematische review (14) combineert de beschikbare data die zijn verzameld met behulp van dierexperimenten tot één database. Voor deze review (14) zijn 10.733 referenties gescreend en 247 artikelen geïncludeerd. Alle metingen aan ontstekingscellen na het induceren van brandwonden, inclusief de karakteristieken van de dieren en de brandwondmethode, werden verzameld in de database. Deze database (14) levert nieuwe informatie en ondersteunt de transitie naar

proefdiervrij bij het ontwerpen van nieuwe onderzoeksmethoden.

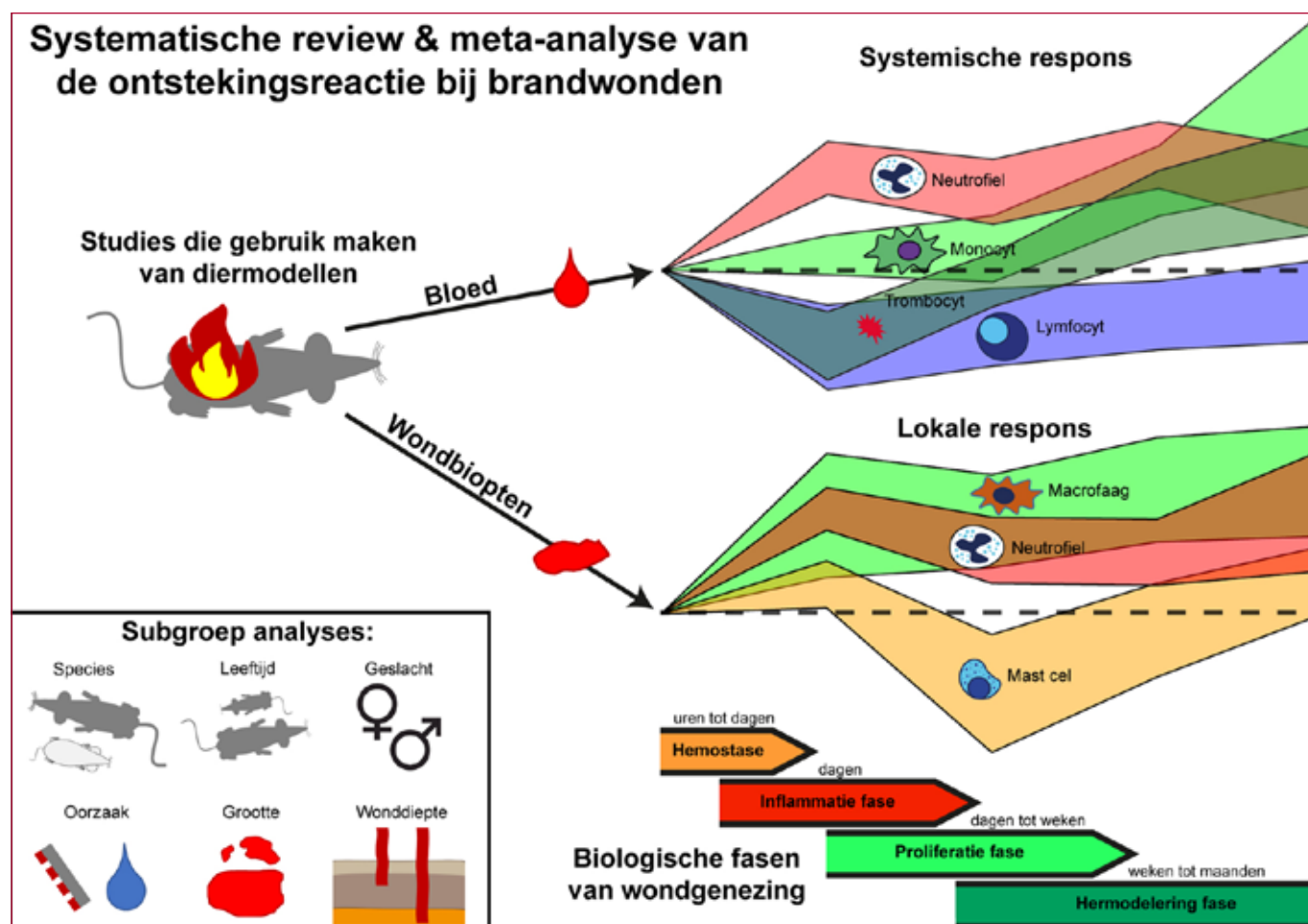
Reactie van immuuncellen bij brandwonden

Voor het review hebben we 247 artikelen geschikt bevonden. De data uit deze artikelen zijn gebruikt om de reactie van de verschillende ontstekingscellen in kaart te brengen. Bij deze onderzoeken (14) is voornamelijk gebruikt gemaakt van muizen en ratten en in enkele gevallen andere knaagdiersoorten of varkens. De metingen in de dieren met een brandwond zijn vergeleken met metingen in gezonde controledieren of met metingen van vóór de brandwond. Als er een toename was ontstond er een positieve waarde en er ontstond een negatieve waarde als er een verlaging gedetecteerd werd. De metingen van alle studies zijn gecombineerd in een meta-analyse waarbij zogeheten 'forest plots' zijn gemaakt (15). Omdat de meeste studies op meerdere tijdstippen na verbranding metingen hebben verricht, kon het effect over tijd worden gevolgd.

In figuur 1 is een schematische, samenvattende weergave te zien van de systemische (bloed) en lokale (wond) respons gedurende de eerste maand na verbranding. Hierbij is de reactie te zien van neutrofielen, monocyten, trombocyten, lymfocyten, macrofagen en mestcellen. De aantallen neutrofielen en monocyten in het bloed namen direct na verbranding toe, terwijl trombocytaantallen pas aan het eind van de eerste week toenamen. Lymfocytaantallen daarentegen waren verlaagd tijdens de eerste en de tweede week na verbranding. In de brandwond was het aantal neutrofielen en macrofagen verhoogd tijdens de

Tabel 1. Verschillende strategieën voor onderzoek naar de ontstekingsreactie en wondgenezing bij brandwonden

	Onderzoek bij patiënten	Proefdieronderzoek	Proefdiervrije alternatieven
Beschrijving	Onderzoek met behulp van bloed en huidbiopten van patiënten	Onderzoek met behulp van proefdieren	Onderzoek met behulp van gekweekte huid (organoids, organ-on-a-chip) of computersimulaties
Voordelen	Adequate studiepopulatie	Gestandaardiseerde setting Toepasselijke controlegroep beschikbaar Veel mogelijkheden voor bloed en huidbiopten Systemische reacties kunnen onderzocht worden	Gestandaardiseerde setting Minder ethische bezwaren
Nadelen	Restricties in afnemen bloed en huidbiopten Ontbreken van baselines waardes Veel verschillen tussen wonden en patiënten	Onethisch, onwenselijk dierenleed Fysiologische verschillen ten opzichte van de mens Proefdieren met meer gelijkenis tot de mens (bijv. varkens) zijn kostbaar	Ontwikkeling kost tijd en geld (Klinische) data nodig voor simulaties Niet alle componenten aanwezig in model



Figuur 1. Ontstekingsreactie in het bloed en wondbiopsies bij brandwonden in dieren. Een schematisch overzicht van de ontstekingsreactie, weergegeven over de tijd na verbranding. Het bestrijkt alle fasen van de wondgenezing zoals rechtsonder weergegeven. Per celtype is de toe- of afname ten opzichte van gezonde dieren (stippellijn) zichtbaar. Subgroepenanalyses zijn uitgevoerd om verschillen te bestuderen tussen verschillende diersoorten en verschillende soorten brandwonden. Deze figuur vat het beschreven onderzoek samen (14).

eerste drie weken. Bij grotere brandwonden werd een groter aantal neutrofielen waargenomen, zowel in het bloed als in de wond. Verder werden er ook verschillen gedetecteerd tussen diersoorten, zoals een hoger aantal ontstekingscellen in ratten ten opzichte van muizen. Dit overzicht (14) laat vooral zien dat de ontstekingsreactie bij brandwonden hevig en langdurig is en duidelijk anders verloopt dan bij normale wondgenezing wordt beschreven.

Ontstekingsfactoren die betrokken zijn bij verbranding

Nu de reactie van de immuuncellen in kaart is gebracht, is het ook belangrijk om te weten welke ontstekingsfactoren betrokken zijn bij de brandwondontstekingsreactie. Om dit te onderzoeken wordt een vergelijkbaar systematische review uitgevoerd maar dan gericht op de cytokines, chemokines en groeifactoren die betrokken zijn bij de ontsteking. Daarvoor hebben we 358 studies onderzocht waarbij de data van 27 ontstekingsfactoren voor een

meta-analyse zijn gebruikt. De analyse van deze data is nog in volle gang en publicatie van deze systematische review vindt waarschijnlijk komend jaar plaats.

Toepassing van de systematische review

Momenteel worden proefdieren nog steeds gebruikt voor onderzoek naar brandwonden en het testen van nieuwe medicijnen. Met dit overzicht van de verschillende proefdiermodellen en hun uitkomsten (14) kan in sommige gevallen beter worden ingeschat of en welk proefdiermodel geschikt is voor een specifieke onderzoeksvraag. Dit draagt hopelijk bij aan de vervanging, vermindering en verfijning van proefdieronderzoek.

Voor de transitie naar proefdiervrij onderzoek zijn alternatieve onderzoeksmethoden vereist (13). Het gebruik van modellen van gekweekte huid zou een goede uitkomst kunnen bieden. Deze modellen worden momenteel al voor verschillende toepassingen gebruikt, zoals het bestuderen van wondgenezing of testen van antibacteriële middelen

bij een bacteriële besmetting. Door het ontbreken van een bloedsomloop ontbreken echter de ontstekingscellen in deze modellen. Voordat ontstekingscellen toegevoegd kunnen worden aan deze modellen, is meer informatie nodig over welke ontstekingscellen bij brandwonden van groot belang zijn en hoe deze zich gedragen. Daarnaast kunnen de data verzameld voor het review ook gebruikt worden om computersimulaties te creëren (16). Met behulp van wiskundige formules kunnen deze data gebruikt worden om het verloop van de ontstekingsreactie na te bootsen en te beïnvloeden (17). Kortom, er zijn verschillende aspecten waarvoor deze review en database gebruikt kunnen worden met als ultiem doel het verbeteren van de genezing bij brandwondenpatiënten.

Literatuur

1. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, et al. **Burn injury.** *Nat Rev Dis Prim*, 2020 Dec 1 [cited 2020 Jun 23];6(1):1-25.
2. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. **The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms.** *J Int Med Res*, 2009;37(5):1528-42.
3. Short WD, Wang X, Keswani SG. **The Role of T Lymphocytes in Cutaneous Scarring.** *Adv Wound Care*, 2022 Mar 1;11(3):121-31.
4. Kotwal GJ, Chien S. **Macrophage Differentiation in Normal and Accelerated Wound Healing.** In: *Macrophages Origin, Functions and Biointervention*, 2017. p.353-64.
5. Mulder PPG, Vlig M, Boekema BKHL, et al. **Persistent Systemic Inflammation in Patients With Severe Burn Injury Is Accompanied by Influx of Immature Neutrophils and Shifts in T Cell Subsets and Cytokine Profiles.** *Front Immunol*, 2021 Jan 29;11(January):1-13.
6. Bergquist M, Hästbacka J, Glaumann C, et al. **The time-course of the inflammatory response to major burn injury and its relation to organ failure and outcome.** *Burns*, 2019;45(2):354-63.
7. Mulder P, Vlig M, Fasse E, et al. **Burn-Injured Skin is Marked by a Prolonged Local Acute Inflammatory Response of Innate Immune Cells and Pro-inflammatory Cytokines.** *Front Immunol*, 2022.
8. Farina JA, Rosique MJ, Rosique RG. **Curbing Inflammation in Burn Patients.** *Int J Inflam*, 2013;2013:1-9.
9. Pantalone D, Bergamini C, Martellucci J, et al. **The role of damp in burns and hemorrhagic shock immune response: Pathophysiology and clinical issues. Review.** *Int J Mol Sci*, 2021;22(13).
10. Eming SA, Martin P, Tomic-canic M, et al. **Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation.** *Sci Transl Med*, 2016;6(265):1-36.
11. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. **Evolution of the immune system in humans from infancy to old age.** *Proc R Soc B Biol Sci*, 2015;282(1821).
12. Abdullahi A, Amini-Nik S, Jeschke MG. **Animal models in burn research.** *Cell Mol Life Sci*, 2014 Sep 9;71(17):3241-55.
13. Hubrecht, Carter. **The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change.** *Animals*, 2019 Sep 30;9(10):754.
14. Mulder PPG, Koenen HJPM, Vlig M, et al. **Burn-Induced Local and Systemic Immune Response: Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Studies.** *J Invest Dermatol*, 2022 May.
15. Fagerland MW. **Evidence-Based Medicine and Systematic Reviews.** In: *Research in Medical and Biological Sciences.* Elsevier, 2015;p.431-61.
16. van Zuijlen PPM, Korkmaz HI, Sheraton VM, et al. **The Future of Burn Care From a Complexity Science Perspective.** *J Burn Care Res*, 2022;1-10.
17. Vermolen F, van Zuijlen P. **Can Mathematics and Computational Modeling Help Treat Deep Tissue Injuries?** *Adv Wound Care*, 2019;00(00):1-12.

**Patrick Mulder, promovendus/onderzoeker Vereniging van Samenwerkende Brandwondencentra in Nederland (VSBN), Beverwijk & Laboratorium voor Medische Immunologie Radboudumc Nijmegen.*

Bouke Boekema, hoofd pre-klinisch onderzoek Vereniging van Samenwerkende Brandwondencentra in Nederland (VSBN), Beverwijk