



Complementremmers: een nieuwe behandeling voor chronische wonden

E. Lenselink, G. Cazander*

Het complementsysteem is een essentieel deel van het menselijke aangeboren immuunsysteem en speelt een belangrijke rol in het herstel van onze weefsels. Overmatige complementactivatie kan echter tot persisterende inflammatie leiden, waardoor juist weefselschade optreedt en chronische wonden ontstaan. Daarom zou remming van de complementactivatie een innovatieve wondzorgstrategie kunnen zijn. Verschillende studies laten zien dat reductie van complementactivatie de wondgenezing stimuleert. In de literatuur zijn talloze dieren en planten beschreven die complementremmende stoffen produceren en tegelijkertijd wondgenezing stimuleren. Een voorbeeld is de larve van de groene vleesvlieg, die wereldwijd voor wondbehandeling wordt ingezet. Er is veel meer wetenschappelijk onderzoek nodig naar de rol van complementremmers als veelbelovende, toekomstige wondbehandelmethode.

Het wondgenezingsproces: wat gaat er mis in de chronische wond

Tijdens het wondgenezingsproces kunnen drie overlap-pende fasen worden onderscheiden: inflammatie, proliferatie en remodelering. Gedurende deze verschillende fasen vindt een complexe serie van opeenvolgende cellulaire en biochemische reacties plaats om het beschadigde weefsel te herstellen. Hoewel de precieze onderliggende mechanismen niet helemaal duidelijk zijn, is het wel bekend dat het aangeboren immuunsysteem, inclusief de activatie van het complementsysteem, een essentiële rol speelt in het reguleren van deze processen. De activatie van dit systeem leidt tot een inflammatoire respons: neutrofielen en macrofagen migreren naar de wond en produceren een reeks aan anti-inflammatoire moleculen. Een belangrijk nadeel van deze geactiveerde fagocyten is dat ze ook de mogelijkheid hebben om zuurstofradicalen en proteolytische proteasen te produceren die een schadelijk effect kunnen hebben op gezonde weefselcellen⁽¹⁾. Dit is belangrijk, omdat bij een verlengde inflammatoire respons de gezonde weefselcellen zodanig worden aangetast, dat chronische wonden ontstaan. Het wondgenezingsproces persisteert dan in de inflammatoire fase en gaat niet over in de proliferatieve fase.

Risicofactoren voor het ontstaan van chronische wonden zijn: vasculaire ziekten, diabetes mellitus, druk, alcohol- en nicotinemisbruik en oudere leeftijd. De huidige behandeling van chronische wonden bestaat uit: debridement/biofilmreductie, verminderen van het aantal vrije bacteriën (waarvan overigens nooit is aangetoond dat het de genezing versnelt), drukontlasting, negatieve druktherapie,

Complementactivatie is nodig om het beschadigde weefsel te herstellen, maar overmatige activatie van het complementsysteem kan juist bijdragen aan verdere schade van het weefsel

een variatie aan wondverbanden, huidtransplantaties en plastische reconstructies. De resultaten van deze behandelingen zijn teleurstellend voor een groot deel van de patiënten met chronische wonden (soms tot 50%)⁽²⁾. Ontwikkeling van nieuwe therapieën die de genezing van chronische wonden stimuleren is daarom zeer belangrijk. Celtherapie met van beenmerg verkregen mesenchymale stamcellen zou een nieuwe behandeling kunnen zijn⁽²⁾. Andere veelbelovende strategieën omvatten het toepassen van anti-inflammatoire middelen, bijvoorbeeld complementremmers. Hieronder wordt een overzicht gegeven van de huidige literatuur over de rol van het complementsysteem in het wondgenezingsproces en die van complementremmers in de behandeling van chronische wonden.

De rol van het complementsysteem in het wondgenezingsproces

Het complementsysteem kan op verschillende manieren worden geactiveerd: via de klassieke route (door immuuncomplexen), via de lectine route, via de alternatieve route (door spontane activatie en microben) en door properdine en thrombine⁽³⁾. Het resultaat van de activatie via één van deze routes is een cascade aan enzymreacties die uiteinde-

lijk leidt tot de vorming van een enzymcomplex (MAC). Het enzymcomplex maakt poriën in de microbiële celwand en dit resulteert in het uiteenvallen (lysis) van de cel. Complementactivatie is nodig om het beschadigde weefsel te herstellen, maar overmatige activatie van het complementsysteem kan juist bijdragen aan verdere schade van het weefsel ⁽⁴⁾.

Er zijn een paar onderzoeken die de positieve effecten van complementactivatie op wondgenezing beschrijven. Bepaalde complementfactoren blijken noodzakelijk te zijn voor het herstel van de lever na een leververwonding in een muismodel ⁽⁵⁾. Verder wordt gerapporteerd in de literatuur dat een lokaal toegediende complementactivator de maximale wondsterkte tot driekwart doet toenemen en veel meer groei van nieuwe bloedvaatjes laat zien in combinatie met endotheliale groeifactoren ^(6,7). Ook is het aantal inflammatoire cellen, de fibroblastmigratie en de collageenafzetting verhoogd. Ondanks de positieve effecten van complementactivators in de toepassing voor wondgenezing in deze modellen van acute wonden, kan het zijn dat complementcomponenten in chronische wonden een heel ander, zelfs schadelijk effect hebben.

Opvallend is dat chronische wonden afzetting van het (MAC) enzymcomplex laten zien in de wondranden, maar niet in de intacte huid ⁽⁸⁾. Daarnaast toont onderzoek aan dat patiënten met open beenwonden en brandwonden een verhoogd level aan complementactivators hebben tot 46 dagen na de verwonding ^(9,10). De hoeveelheid van het acute fase eiwit C-reactieve proteïne en de toevoer van neutrofielen en macrofagen in de wond was ook verhoogd gedurende dezelfde periode, als uiting van de persisterende inflammatie. In één studie werd de hoeveelheid complementactivators vergeleken in wondvocht van mensen ouder en jonger dan 60 jaar die diep tweedegraads brandwonden hadden ⁽¹¹⁾. De eerste 24 uur hadden beide groepen een verhoogd niveau van complementactivatie. Daarna verminderde de mate van complementactivatie in de jongere groep, maar niet in de oudere groep. Dit indiceert dat persistente complementactivatie is geassocieerd met vertraagde wondgenezing bij oudere patiënten. In overeenstemming hiermee liet een ander onderzoek zien dat complementactivatie verhoogd was bij patiënten met brandwonden en dat de mate hiervan correleerde met de ernst van het trauma en de klinische uitkomst ⁽¹²⁾.

Omdat in chronische wonden verhoogde aantallen van complementactiverende factoren worden gevonden, is het interessant om onderzoek te doen naar de uitkomsten van wondgenezing in wonden waarbij het complementsysteem wordt geremd. Het is aangetoond dat dieren met een genetische complementdeficiëntie of individuen die behandeld worden met een complementremmer, beschermd zijn

tegen de symptomen die leiden tot een chronisch inflammatoir proces ^(13,14). Slangengif (cobra venom factor), dat complementactivatie kan reduceren, is getest bij de genezing van acute wonden in varkens ⁽¹³⁾. In het wondexsudaat van de varkens, werd 50% minder neutrofielen gezien en vier keer zoveel erythrocyten dan in de controle-groep. Cobra venom factor kan overigens niet zomaar worden gebruikt, want het kan ook systemische effecten hebben, zoals lethargie, leukopenie en gewichtsverlies. Helaas kan uit dit onderzoek geen definitieve conclusie over de rol van het complement in wondgenezing worden getrokken. Verder is cobra venom factor eigenlijk een complementactivator die ook weefselbeschadiging in gang kan zetten in plaats van herstel. Het is goed om te realiseren dat complementcomponenten tegengestelde rollen kunnen spelen in acute en chronische wonden.

Zowel preklinisch als dierexperimenteel onderzoek toont aan dat complementremming het wondgenezingsproces stimuleert

Een aantal dierexperimentele onderzoeken toonde de effecten van de toediening van complementremmers op genezing van brandwonden ⁽¹⁵⁾. Neutrofielen- en macrofagen activatie- en migratie werd minder en re-epithelialisatie werd gestimuleerd. Verder viel op dat er een vitaler wondbed was en minder oedeem. Toediening van een complementremmer zorgde voor verbeterde wondgenezing. Zowel preklinisch als dierexperimenteel onderzoek toonden aan dat complementremming het wondgenezingsproces stimuleert. Welke complementremmers kennen we? Worden ze in de kliniek gebruikt?

Complementremmers

Momenteel zijn maar een paar specifieke complementremmers in de klinische praktijk beschikbaar en deze worden alleen gebruikt voor zeldzame auto-immuunziekten, zoals erfelijk angio-oedeem en paroxysmale nocturne hematurie. Enkele middelen worden op dit moment onderzocht in (pre)klinische studies, zoals Compstatin voor acute maculadegeneratie, sepsis, transplantatie en kanker, en Microcept ter voorkoming van ischemie-reperfusie schade na niertransplantatie. Van eculizumab, een remmer die al wordt gebruikt voor de auto-immuunziekte paroxysmale nocturne hematurie, wordt ook onderzocht of dit een gunstig effect heeft op de uitkomst van een niertransplantatie of werkzaam is voor andere auto-immuunziekten ⁽¹⁵⁾.

Er zijn dus maar heel weinig complementremmers die worden onderzocht en/of toegepast. In de natuur zijn echter vele dieren, met name insecten, en planten bekend die potentiële complementremmers produceren. Een

interessant voorbeeld van een insect dat complementremmende eigenschappen bezit, is de larve van de groene vleesvlieg (*Lucilia sericata*), die ook met succes wordt gebruikt voor de genezing van ernstige, geïnfecteerde, acute en chronische wonden ⁽¹⁶⁾. Wondbehandeling met deze larven is in 2004 goedgekeurd door de FDA (510 [k] no. 33391) en in 2014 in Nederland als (ongeregistreerd) geneesmiddel erkend door de Inspectie voor de Gezondheidszorg. De secreten die de larven produceren, hebben meerdere gunstige effecten op de wondgenezing, zoals het remmen van pro-inflammatoire reacties en biofilmvorming en modulatie van extracellulaire matrixcomponenten ⁽¹⁷⁾. Daarnaast is aangetoond dat larvensecreten complementactivatie tot 99,9% kunnen reduceren in bloed van gezonde en postoperatieve (dus immuun-geactiveerde) patiënten. De complementremmende moleculen zijn temperatuur- en proteaseresistent. Complementremming door larvensecreten zou deels een verklaring kunnen zijn voor het gunstige effect van larven op de wondgenezing ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾, omdat zo de persisterende inflammatoire fase wordt doorbroken en kan overgaan in de proliferatieve genezingsfase. Belangrijk is dat larven goed worden verdragen door patiënten en er geen bijwerkingen van formaat zijn tijdens de therapie, met name geen allergieën of (super)infecties. Daarom zouden de complementremmende moleculen uit de larvensecreten veelbelovende kandidaten zijn voor de ontwikkeling van nieuwe complementremmers.

Niet alleen deze larven hebben dergelijke eigenschappen. Omdat het complementsysteem een snel en effectief afweersysteem is, heeft praktisch ieder succesvol micro-organisme strategieën en moleculen ontwikkeld om de acties van het complementsysteem te ontwijken ⁽¹⁵⁾. Er zijn talloze complementremmers beschreven in de literatuur, slechts een paar voorbeelden komen hieronder aan bod. Twee bekende bacteriën met complementremmende eigenschappen zijn de *Staphylococcus aureus* en de *Borrelia* soorten, die de ziekte van Lyme kunnen veroorzaken. De haringworm gebruikt ook complementremming om de menselijke afweer te (proberen te) ontwijken. Het consumeren van rauwe haring waarin een haringworm zit, kan intestinale infecties (en een ileus) veroorzaken bij de mens. Gezonde, immuuncompetente mensen hebben voldoende afweer om deze haringwormparasiet tegen te gaan en te doden. Een ander voorbeeld van een complementremmende parasiet is de mijt die schurft veroorzaakt. Waarschijnlijk beschermen de schurftmijten zichzelf door complementremmers uit te scheiden.

Ook in verschillende soorten planten en bomen zijn complementremmers gevonden ⁽¹⁵⁾. Diverse etnische groepen gebruiken binnen hun traditionele geneeswijzen plantenextracten om (inflammatoire) ziekten en wonden te behandelen. Zeer veel van deze plantenextracten tonen in

laboratoriumexperimenten complementremmende effecten, maar zijn (nog) niet verder onderzocht. Enkele van de wat bekendere voorbeelden zijn latex van de drakenbloedboom, aloë vera-extract, bruin zeewier, wierook, extract van de zijde-katoenboom, wortels van de açaiboom, zaden van de sojaboon, zoethout, extracten van koraalplanten en Japanse peper. De plantenextracten interfereren met het complementsysteem in verschillende stadia van de cascade. Toekomstig onderzoek zou gericht moeten zijn op de zuivering van de effectieve substanties uit de plantenextracten.

Discussie en toekomstig onderzoek

Het complementsysteem dient als een zeer effectief afweersysteem om infecties en wonden snel te genezen ⁽¹⁾. Complementactivatie is echter verhoogd in chronische wonden en brandwonden, waarschijnlijk als uiting van ongecontroleerde activatie ⁽³⁾. Bovendien laat dierexperimenteel en (pre)klinisch onderzoek zien dat controle van het complementsysteem belangrijk is voor de wondgenezing. Specifieke complementremmers kunnen de verstoorde complementbalans herstellen en de voortgang van het genezingsproces stimuleren, zoals werd aangetoond bij patiënten met brandwonden die met een complementremmer werden behandeld als ook bij complementdeficiënte muizen ^(13,14).

Een paar essentiële onderzoeksvragen moeten worden beantwoord voordat complementremmers in de kliniek kunnen worden gebruikt als wondbehandeling. Hoeveel complementremming hebben we bijvoorbeeld minimaal nodig om ons te beschermen tegen infecties? Een eerdere studie met de larven toont aan dat gedurende wondbehandeling ongeveer 50% remming van de normale complementactivatie plaatsvindt ⁽¹⁸⁾. Hieruit kan men aannemen dat een reductie van de lokale complementactiviteit met 50% veilig is. Sommige studies beweren zelfs dat 90-95% van het normale complementlevel voldoende beschermt. Daarnaast is meer onderzoek nodig naar lokaal versus systemische toepassing en effecten van deze remmers. Natuurlijk moeten de complementremmers zoveel mogelijk selectief werken op de plaats van de inflammatie of verwonding om potentiële bijwerkingen van een systemische complementblokkade, (bijvoorbeeld terugkerende infecties) te voorkomen ⁽²⁰⁾. Verder moet de complementremmer liefst ook een lange halfwaardetijd hebben.

Sommige complementremmers die reeds in klinische studies zijn getest bij patiënten die lijden aan acute en chronische inflammatoire aandoeningen, zijn veelbelovend, bijvoorbeeld Compstatin ⁽²¹⁾. Tevens zou een nieuwe complementremmer geproduceerd kunnen worden uit de secreten van de *Lucilia sericata* larve, omdat deze secreten complementactivatie zeer effectief reduceren in bloed van

immuungeactiveerde (postoperatieve) patiënten⁽¹⁸⁾. Bovendien wordt deze larvensoort al vele jaren in de klinische praktijk gebruikt als wondbehandeling zonder dat er bijwerkingen van belang zijn gerapporteerd in de literatuur.

Tot slot

Er is grote behoefte aan goed ontworpen (pre)klinische studies, die als doel hebben de rol van het complementsysteem in de pathologie van chronische wonden te begrijpen. Wondgenezing wordt mogelijk niet direct belemmerd door bacteriële kolonisatie (van planktonische organismen), maar door de verlengde inflammatoire respons als gevolg daarvan. Suppressie van de inflammatoire reactie (en/of van het complementsysteem) zonder de bacteriën zelf te destrueren zou dan voldoende kunnen zijn om wondgenezing te bereiken⁽²²⁾. Er is tot op heden ook geen hard bewijs voor sneller wondherstel door toepassing van lokale antibacteriële wondbehandelingen in de niet geïnfecteerde wond. Nieuwe wondbehandelstrategieën zijn noodzakelijk om nu en in de nabije toekomst de groeiende populatie patiënten met moeizaam te genezen, chronische wonden succesvol te kunnen behandelen. Complementremmers zijn veelbelovend voor de toekomst als innovatieve therapie voor chronische wonden.

Literatuur

1. Park JE, Barbul A. **Understanding the role of immune regulation in wound healing.** The American Journal of Surgery, 2004;187:11S-16S.
2. Cha J, Falanga V. **Stem cells in cutaneous wound healing.** Clinical Dermatology, 2007;25:73-8.
3. Neher MD, Weckbach S, Flierl MA, et al. **Molecular mechanisms of inflammation and tissue injury after major trauma - is complement the 'bad guy'?** Journal of Biomedical Science, 2011;18:1-6.
4. Markiewski MM, Lambris JD. **Biological perspectives. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight.** American Journal of Pathology, 2007;171:715-27.
5. Strey CW, Markiewski MM, Mastellos D, et al. **The proinflammatory mediators C3a and C5a are essential for liver regeneration.** Journal of Experimental Medicine, 2003;198:913-23.
6. Sinno H, Malholtra M, Lutfy J, et al. **Topical application of complement C3 in collagen formulation increases early wound healing.** Journal of Dermatological Treatment, 2011 [Epub ahead of print].
7. Bossi F, Rizzi L, Bulla R, et al. **C1q induces in vivo angiogenesis and promotes wound healing.** Molecular Immunology, 2011; 48:1676-7.
8. Balslev E, Thomsen HK, Danielsen L, et al. **The terminal complement complex is generated in chronic leg ulcers in the absence of protectin (CD59).** Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica, 1999;107:997-1004.
9. Schmidtchen A. **Degradation of antiproteinasen, complement and fibronectin in chronic leg ulcers.** Acta Dermato-Venereologica, 2000;80:179-84.
10. Van de Goot F, Krijnen PAJ, Begieneman MPV, et al. **Acute inflammation is persistent locally in burn wounds: a pivotal role for complement and C-reactive protein.** Journal of Burn Care and Research, 2009;30:274-80.
11. Machens HG, Pabst A, Dreyer M, et al. **C3a levels and occurrence of subdermal vascular thrombosis are age-related in deep second-degree burn wounds.** Surgery, 2006;139:550-5.
12. Wan KC, Lewis WH, Leung PC, et al. **A longitudinal study of C3, C3d and factor Ba in burn patients in Hong Kong Chinese.** Burns, 1998;28:535-42.
13. Wahl SM, Arend WP, Ross R. **The effect of complement depletion on wound healing.** American Journal of Pathology, 1974;74:73-90.
14. Begieneman MPV, Kubat B, Ulrich MMW, et al. **Prolonged C1 inhibitor administration improves local healing of burn wounds and reduces myocardial inflammation in a rat burn wound model.** Journal of Burn Care and Research, 2012;33:544-51.
15. Cazander G, Jukema GN, Nibbering PH. **Complement activation and inhibition in wound healing.** Clin Dev Immunol, Epub 2012.
16. Dumville JC, Worthy G, Bland JM, et al. **Larval therapy for leg ulcers (VenUS II): randomized controlled trial.** British Medical Journal, 2009;338:773.
17. Cazander G, Pritchard DI, Nigam Y, et al. **Multiple actions of Lucilia sericata larvae in hard-to-heal wounds: larval secretions contain molecules that accelerate wound healing, reduce chronic inflammation and inhibit bacterial infection.** Bioessays, 2013;35:1083-92.
18. Cazander G, Schreurs MWJ, Renwarin L, et al. **Maggot excretions affect the human complement system.** Wound Repair and Regen, 2012;20:879-86.
19. Tamura T, Cazander G, Rooijackers SH, et al. **Excretions/secretions from medicinal larvae (Lucilia sericata) inhibit complement activation by two mechanisms.** Wound Repair Regen, 2016. [Epub ahead of print]
20. Morgan BP, Harris CL. **Complement therapeutic; history and current progress.** Molecular Immunology, 2003;40:159-70.
21. Emlen W, Li W, Kirschfink M. **Therapeutic complement inhibition: New developments.** Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 2010;36:660-68.
22. Cazander G. **How do maggots operate? The underlying mechanisms of action of maggot debridement therapy.** 2010, ISBN 978-90-5335-265-6.

* Drs. Ellie Lenselink, wondconsulent en onderzoeker, Haaglanden MC, Den Haag
Dr. Gwendolyn Cazander, vaatchirurg, Ikazia, Rotterdam

Dit onderzoek werd ondersteund door het Bronovo Research Fonds.

Contact

e.lenselink@haaglandenmc.nl