

Stage mogelijkheid in brandwondenonderzoek



Preklinisch onderzoek

Vereniging Samenwerkende Brandwondencentra
Nederland



De Vereniging Samenwerkende Brandwondencentra in Nederland (VSBN) (engelse naam: Association of Dutch Burn Centres ADBC) is opgericht in april 2003 met als doel de samenwerking en afstemming tussen de brandwondencentra in brede zin te bevorderen. De doelstelling van deze Vereniging is dat de drie centra gezamenlijk (gaan) werken aan onderzoek, opstellen van landelijke protocollen voor brandwondbehandeling en opleiding. Hieronder verstaan we onder meer: het zo goed mogelijk stroomlijnen van de beschikbare zorg, gezamenlijk uitvoeren en bespreken van onderzoek, bv. naar nieuwe behandelmethoden, en onderwijs aan verpleegkundigen (opleiding tot brandwondverpleegkundige), artsen en andere relevante gezondheidszorgmedewerkers. De research groep is nauw verbonden met de afdeling plastische, reconstructieve en hand chirurgie van het VUmc. In het onderzoek wordt op project basis nauw samengewerkt met verschillende andere universitaire onderzoeksgroepen.

Een probleem van grote urgentie in de brandwondenzorg is het littekenprobleem. Met de huidige stand van intensive care medicine kunnen patiënten in veel gevallen ook ernstige verbrandingen overleven, echter de kwaliteit van (over)leving wordt ernstig aangetast door het gebrek aan kwaliteit van de wondgenezing. Doelstelling voor het onderzoek op lange termijn is dan ook de kwaliteit van de genezing te verbeteren. Gezien de complexiteit van dit probleem is een aanpak langs verschillende wegen noodzakelijk:

Preklinisch onderzoek zal moeten leiden tot de ontwikkeling van nieuwe behandelmethoden en van 'tissue engineered' huid. Dit houdt in dat huidvervangende materialen getest worden, al dan niet in combinatie met verschillende celtypen (in veel gevallen uiteindelijk afkomstig van de patiënt zelf). Voor beide gebieden is vrij basaal onderzoek noodzakelijk naar ceileigenschappen, beïnvloeding daarvan, ontwikkeling van wondmodellen en testen van materialen.

Uiteindelijk zal de in het laboratorium ontwikkelde behandelmethoden en 'tissue engineered' huid klinisch getest worden op patiënten met brandwonden en patiënten die plastisch chirurgische correcties moeten ondergaan.



De overlevingskansen van slachtoffers met ernstige brandwonden zijn de laatste decennia aanzienlijk verbeterd. Door de verbeteringen in onder andere hygiëne, voeding, shockbeleid en de behandelings- en operatie-technieken wordt het aantal te behandelen patiënten met zeer grote en diepe brandwonden in verhouding steeds groter. Als gevolg hiervan neemt het aantal patiënten met ernstige littekens ook toe. Een aantal factoren lijkt bepalend te zijn voor de vorming van vaak invaliderende littekens, zoals de diepte en de locatie van de wond en een overmatige ontstekingsreactie (eventueel als gevolg van infectie). Bovendien kunnen patiënten met groot verbrand lichaamsoppervlak te maken hebben met gebrek aan intacte huid zodat de mogelijkheid om de patiënt

te transplanteren met eigen huid beperkt wordt.

Het preklinisch onderzoek van de Vereniging Samenwerkende Brandwondencentra Nederland richt zich op een aantal gebieden van wondgenezing: regulatie van de ontstekingsreactie, modulatie van littekenvorming, pathofysiologie van verschillende brandwonden en de ontwikkeling van allogene/autologe huidsubstituten. Verder wordt er aandacht besteed aan fundamenteel onderzoek en wordt er getracht de cellulaire en moleculaire mechanismen van wondgenezing en littekenvorming te ontrafelen. Door inzicht te krijgen in de processen die leiden tot littekenvorming kunnen nieuwe behandelmethoden ontwikkeld worden waardoor littekenvorming verminderd of eventueel voorkomen kan worden. Bovendien is het inzicht in de processen die leiden tot een normaal functionerende huid van belang bij het construeren van optimale huidvervangers.

Het doel van het preklinisch onderzoek is het verkrijgen van kennis om strategieën te ontwikkelen voor de verbetering van wondgenezing en het voorkomen van littekenvorming en deze strategieën vervolgens te toetsen op hun effect.

Tissue engineering

Een groot deel van het onderzoek richt zich op het vervaardigen van een huidequivalent waarvan de kwaliteit (op cellulair en moleculair niveau) vergelijkbaar is met normale huid. Behalve onderzoek naar de meest geschikte matrices (scaffolds) zijn ook de cellulaire componenten van de constructen erg belangrijk. Bestudering van de verschillende celtypen die voorkomen in de huid vormt daarom een van de speerpunten van het onderzoek.

Het ontbreken van dermale componenten wordt gezien als een van de belangrijkste oorzaken voor de vorming van (hypertroof) littekenweefsel bij diepe wonden; er vindt namelijk geen regeneratie van dermaal weefsel plaats. Momenteel zijn er een aantal tissue engineered huidsubstituten commercieel beschikbaar. Deze matrices, gebaseerd op biologische materialen of synthetische polymeren, kunnen wel of geen cellen bevatten. De dermale structuren zijn veelal acellulair of gezaaid met allogene fibroblasten. Voor de epidermale structuren worden vaak autologe keratinocyten gebruikt. De genezing van wonden waarbij deze substituten worden gebruikt verloopt nog niet optimaal. Daarom wordt er onderzoek gedaan naar de ontwikkeling van huidsubstituten die een optimale wondgenezing bewerkstelligen, met als uiteindelijk beoogd resultaat een huid die dezelfde eigenschappen bezit als de normale huid. De voorkeur gaat hierbij uit naar een levende full skin equivalent met autologe cellen om de kans op afstoting en het gevaar van overdraagbare ziekten zo klein mogelijk te houden.

Naast de toepassing van deze huidsubstituten in de behandeling van brandwonden en littekenreconstructie kunnen deze constructen ook gebruikt kunnen worden voor in vitro screening van farmaca.

Het onderzoek

Ontwikkeling van dermale component



Voor de ontwikkeling van een huidequivalent is de laatste jaren veel gebruik gemaakt van een dermaal substituuat bestaande uit rundercollageen waaraan elastine hydrolysaat is toegevoegd. Hoewel de potentie van deze matrix hoog wordt ingeschat heeft het eindresultaat van de wondgenezing nog niet het gewenste niveau. Een van de problemen is mogelijk dat de matrix in het lichaam te snel wordt afgebroken voordat

het lichaam deze matrix voldoende heeft kunnen vervangen door een eigen extracellulaire matrix. In de komende periode zullen daarom modificaties aan deze matrix plaatsvinden zodat deze stabiel is. Verder onderzoek wordt gedaan naar toevoeging van autologe fibroblasten aan de dermale component. Met de kennis opgedaan in de beschrijvende studie naar het juiste fenotype van deze cel kan het ontwikkelde huidsubstituut gekarakteriseerd worden op de potentie om de normale huid te regenereren.

De ingroei van nieuwe structuren, zoals vaten, vormt een ander probleem. Poriegrootte speelt hierbij waarschijnlijk een belangrijke rol, een goede controle van de synthese van de scaffolds met een reproduceerbare structuur is hierbij essentieel.

Behalve een artificieel construct wordt ook onderzoek gedaan naar de mogelijkheid om geglyceroliseerde (allogene) donorhuid, eventueel na verdere reiniging met loog, als dermale equivalent te gebruiken. Dit onderzoek wordt in samenwerking met de EuroSkinBank uitgevoerd.

Ontwikkeling van epidermale structuren.

Behalve de vorming van dermale componenten dient er ook een epidermis gevormd te worden om wondgenezing te voltooien. De laatste decennia zijn een aantal methoden ontwikkeld om re-epithelialisatie van wonden te verbeteren. Bij het gebruik van (gemeshte) split skin grafts worden de dermale en epidermale component gelijktijdig op de wond aangebracht. Deze structuren zullen uiteindelijk in het wondgebied uitgroeien en de nieuwe huid vormen. Voor patiënten bij wie de beschikbaarheid van intacte huid een probleem is is gezocht naar alternatieven. Een van de methoden is om bij deze patiënten een biopt van de gezonde huid te nemen en in het laboratorium de keratinocyten in kweek te brengen en te amplificeren. Veelal werden deze keratinocyten na in vitro maturatie (differentiatie) als cultured epithelial autografts (CEA) bij patiënten toegepast. De resultaten die hiermee behaald werden waren sterk wisselend en onder andere afhankelijk van wondbed preparatie. Bovendien bleken ze erg fragiel te zijn en trad vaak blaarvorming op als gevolg van langzaam herstel van bindingsfilamenten tussen epidermis en dermis.

Voor de vorming van de epidermale component richt ons onderzoek zich op de kweek van goed prolifererende, ongedifferentieerde keratinocyten. Deze cellen worden vervolgens m.b.v. een drager op de wond aangebracht en kunnen in vivo een nieuwe epidermis vormen.

Cellen in het huidsubstituut

De afgelopen jaren is er veel vooruitgang geboekt in het ontrafelen van de mechanismen die betrokken zijn bij littekenvorming en de processen die een rol spelen bij wondgenezing. Dit fundamenteel onderzoek is nodig om nieuwe behandelmethode te kunnen ontwikkelen. Binnen het programma preklinisch onderzoek is ook op dit gebied onderzoek gedaan. M.n. is er gekeken naar het fenotype van fibroblasten dat voorkomt in de normale huid, het litteken en subcutaan vet. Gebleken is dat het fibroblasten subtype afkomstig uit het subcutane vet grote overeenkomsten vertoont met fibroblasten uit littekens. Die overeenkomsten hebben betrekking op de expressie van genen die een rol spelen bij

littekenvorming zoals de genen voor collageen typen I en III, collageen modificerende enzymen (collageen afbrekende enzymen en collageen crosslinking enzymen), maar ook van genen die bepalend zijn voor de contractiele eigenschappen van deze cellen. Het feit dat hypertrofe littekens hoofdzakelijk ontstaan op plaatsen op het lichaam waar zich subcutaan vetweefsel bevindt en waarbij de verwonding de hele dermale structuur heeft vernietigd gekoppeld aan de overeenkomsten tussen fibroblasten afkomstig uit het subcutane vet en littekens, suggereert dat de herkomst van fibroblasten die het wondgebied bevolken van essentieel belang is bij de vorming van hypertrofe littekens.

Stamcellen

Het gebruik van stamcellen voor toepassing in huidsubstituten lijkt een veelbelovende ontwikkeling te zijn. In het bijzonder voor patiënten met zeer uitgebreide brandwonden zal toepassing van bijvoorbeeld stamcellen afkomstig uit het vetweefsel een goede bron voor autologe cellen zijn. In de literatuur is beschreven dat deze cellen succesvol kunnen differentiëren in een aantal adulte cellijnen zoals vetcellen en botcellen. Onderzocht wordt of deze mesenchymale stamcellen ook in het fenotype van dermale fibroblast en ander huidcellen kunnen differentiëren.

Interesse in een stage?

Inlichtingen:

Dr. Magda Ulrich

Postbus 1015

1940 EA Beverwijk

tel: 0251 27 55 06

email: mulrich@burns.nl