

# Wachstumsfaktoren und Wundheilung

G. Köveker, S. Coerper

Chirurgische Universitätsklinik Tübingen (Direktor: Prof. Dr. H. D. Becker)

Die Zahl der Patienten mit chronischen, nicht heilenden Wunden wird in der Bundesrepublik Deutschland auf mehr als eine Million geschätzt. Häufig steht der Diabetes mellitus als Ursache im Vordergrund; weitere ätiologische Faktoren sind die chronisch-venöse Insuffizienz, die Ischämie im Rahmen einer AVK und Vaskulitiden.

Der Diabetes mellitus bietet durch die Neuropathie, die Angiopathie und die Athropathie ein besonderes Risikoprofil; so können aus kleinsten Rhagaden große chronische Ulzera entstehen. Oft infizieren sich diese Ulzera, und es entstehen Abszesse oder Phlegmonen, die dann trotz fehlender Makroangiopathie zur Amputation führen. Aus den Vereinigten Staaten wird von einer jährlichen Amputationsrate von mehr als 50 000 Patienten mit einem Kostenvolumen von 500 Millionen US-Dollar berichtet. Die Ortskrankenkassen der alten Bundesländer errechneten 1988 Kosten von durchschnittlich 41 000 DM für die Behandlung eines diabetischen Ulkus.

Chronische, nicht heilende Ulzera stellen somit auch ein sozialmedizinisches Problem dar. Es wurden in den letzten Jahren auf dem Gebiet der Wundheilungsforschung bedeutende Fortschritte erzielt, aus denen sich möglicherweise auch neue Behandlungsmethoden für chronische Wunden ableiten lassen. Es wurden kleine Polypeptide entdeckt, die das Zellwachstum verschiedenster Zelltypen in vitro stimulieren; dies konnte durch tierexperimentelle Studien belegt werden. Diese Untersuchungen belegen, daß die lokale Applikation von verschiedenen Wachstumsfaktoren eine verbesserte Wundheilung zur Folge hat. Von einigen Autoren wird von einer beschleunigten Wundheilung nach lokal applizierten thrombozytären Wachstumsfaktoren berichtet.

## MECHANISMEN DER ZELLULÄREN WUNDHEILUNG

Die Wundheilung ist ein komplexer Vorgang, der bis heute noch nicht vollständig geklärt ist.

Die Entzündungsphase beginnt unmittelbar nach der Verletzung mit der Blutstillung, die die konsekutive Aktivierung der Gerinnungskaskade, der Plasminogenkaskade und der Kininkaskade auslöst.

Am Ort der Verletzung kommt es zur Thrombozytenaggregation, und durch die Aktivierung der Gerinnungskaskade über die Freisetzung von Thrombin setzen Thrombozyten aus den Alpha-Granula Wachstumsfaktoren frei, welche die Migration von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen ins Gewebe bewirken (Chemotaxis).

Entscheidend in dieser ersten Phase ist die Gefäßdilatation und die Erhöhung der Kapillarpermeabilität, denn dies ist Voraussetzung für die Extravasation von Zellen aus dem Blut ins Gewebe. Die Wachstumsfaktoren locken zum einen die für die Gewebsreparation wichtigen Zellen an, und zum anderen aktivieren sie die Zellen zur Proliferation. Die angelockten Makrophagen können wiederum eigens Wachstumsfaktoren sezernieren.

Histologische Studien an heilenden Wunden zeigen eine genaue zeitliche Sequenz des Auftretens der einzelnen Zellen im Gewebe. Neutrophile Zellen werden in den ersten 48 Stunden beobachtet; die Zahl der Makrophagen nimmt ab dem 2. Tag deutlich zu, und die Fibroblasten beginnen, ab dem 3. Tag in die Wunde zu wandern.

## WIRKUNGSMECHANISMEN DER WACHSTUMSFAKTOREN

Es ist bereits eine Vielzahl von thrombozytären Wachstumsfaktoren bekannt, und es werden ständig neue iso-

liert, deren Relevanz für die Wundheilung jedoch nicht immer geklärt ist. Die fünf wichtigsten für die Wundheilung sind:

- ▶ PDGF (Platelet Derived Growth Factors)
- ▶ EGF (Epidermal Growth Factor)
- ▶ TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ )
- ▶ FGF (Fibroblast Growth Factor)
- ▶ IGF-1 (Insulin Like Growth Factor).

Man weiß heute, daß die Wundheilung durch lokal wirkende Wachstumsfaktoren beeinflusst wird. Diese Polypeptide beeinflussen die Proliferation, Migration und Transformation von Zellen, die am Vorgang der Wundheilung beteiligt sind.

Man unterscheidet parakrine Wachstumsfaktoren, die von einer Zelle sezerniert werden, um eine andere Zelle zu stimulieren, von autokrinen Wachstumsfaktoren, die die Proliferation der eigenen Zelle stimulieren. Fibroblasten, die zur eigenen Stimulation FGF sezernieren, stellen ein Beispiel des autokrinen Mechanismus dar.

Hinsichtlich der Aktivität der Wachstumsfaktoren unterscheidet man drei Gruppen: Wachstumsfaktoren,

- ▶ die Zellen zur Proliferation stimulieren,
- ▶ die Zellen anlocken (Chemotaxis) oder
- ▶ die eine Transformation der Zellen bewirken.

## Proliferation

Einige Autoren unterteilen die Wachstumsfaktoren hinsichtlich ihrer Wirkung auf den Zellzyklus in Kompetenzfaktoren und Progressionsfaktoren. Kompetenzfaktoren stimulieren die Zellen im Stadium G<sub>0</sub> zur DNA-Replikation (Stadium G<sub>1</sub>). Befindet sich eine Zelle im Stadium G<sub>1</sub>, werden Progressionsfaktoren aktiv und stimulieren den Zellzyklus in der zweiten Hälfte. Progressionsfaktoren zirkulieren im Blut und können somit unmittelbar Zellen in G<sub>1</sub> stimulieren. PDGF und EGF stimulieren die Zelle in G<sub>0</sub>, IGF-1 ist ein Beispiel für einen Progressionsfaktor.

## Migration

Wie schon erwähnt, stimulieren Wachstumsfaktoren die Zellmigration in die Wunde. Hinsichtlich dieser Eigenschaft unterteilt man sie in chemotaktische und chemokinetische Wachstumsfaktoren. Chemotaktische Faktoren wirken über Rezeptoren, die sich an einer Seite der Zellen in höherer Kon-

**AKTIVITÄT UND WIRKUNG DER WICHTIGSTEN WACHSTUMSFAKTOREN**

Faktor	Aktivität	Effektorzellen
PDGF	mitogen chemotaktisch	Fibroblasten glatte Muskelzellen
TGF-β	mitogen chemotaktisch (+/-) Matrixsynthese	Fibroblasten (+) Monozyten (+) Epithelzellen (-)
FGF	chemotaktisch mitogen	Fibroblasten glatte Muskelzellen Endothelzellen Keratinocyten Osteoblasten
EGF	mitogen chemotaktisch Matrixsynthese	Fibroblasten Endothelzellen Keratinocyten

zentration befinden, so daß die Zellen in diese Richtung migrieren. Ein Beispiel hierzu stellt PDGF dar. Chemokinetische Faktoren erhöhen die Migrationsgeschwindigkeit.

**Transformation**

Zu den Wachstumsfaktoren, welche die Eigenschaften einer Zelle verändern können, gehört TGF-β. Fibroblasten sind in der Abhängigkeit von TGF-β in der Lage, Kollagen und Glykosaminoglykane zu synthetisieren.

**STRUKTUR UND WIRKUNG DER WICHTIGSTEN WACHSTUMSFAKTOREN**

**PDGF**

Von allen Wachstumsfaktoren ist die Struktur und Wirkung von PDGF am besten bekannt. PDGF kann gentechnologisch hergestellt werden.

Es handelt sich um ein Glykoprotein mit einer relativen Molekülmasse von 30 000 Dalton, das aus zwei Peptidketten besteht (A- und B-Kette); es existieren Homodimere (AA, BB) oder Heterodimere (AB). PDGF bindet sich an Alpha- und Beta-Rezeptoren. Die wichtigste Funktion von PDGF besteht in der Stimulation der Proliferation von mesenchymalen und hämatopoetischen Zellen. Der Name weist auf den thrombozytären Ursprung hin und ist eigentlich nicht korrekt, da außer den Thrombozyten noch einige andere Zellen PDGF sezernieren können (Makrophagen, Muskelzellen, Endothelzellen u. a.).

Thrombozyten sezernieren hauptsächlich PDGF-AB, während andere

Zellen in der Regel PDGF-AA oder PDGF-BB sezernieren.

Nach intravasaler Injektion liegt die Halbwertszeit von PDGF bei 2 Minuten; im Blut ist dieser Wachstumsfaktor nicht nachzuweisen. PDGF ist ein Kompetenzfaktor und wird lokal am Wirkungsort sezerniert.

**TGF-β**

TGF-β ist ein Protein mit einer relativen Molekülmasse von 2 000 Dalton und wird als Vorstufe mit hoher Molekülmasse sezerniert. Es existieren Rezeptoren für TGF-β in fast allen Zellen. TGF-β wirkt auf fast alle Entzündungszellen chemotaktisch und ist für Fibroblasten mitogen. Fibroblasten sezernieren nach Stimulation durch TGF-β Kollagen und Fibronectin (extrazelluläre Matrix). In vitro hat TGF-β einen inhibierenden Effekt auf Epithelzellen gezeigt.

**FGF**

Auch FGF stimuliert die Endothelzellenproliferation und bindet an Rezeptoren, die auf der Basalmembran der Effektorzellen lokalisiert sind. Die relative Molekülmasse beträgt 15 000 Dalton. FGF ist mitogen und chemotaktisch für Fibroblasten, glatte Muskelzellen, Endothelzellen, Osteoblasten und Keratinocyten.

**EGF**

EGF ist ein Protein mit einer relativen Molekülmasse von 6 000 Dalton und wurde bisher in Thrombozyten, Zellen der Speicheldrüsen und Duodenaldrüsen gefunden. EGF ist ein Kompetenz-

faktor für viele mesenchymale Zellen und interagiert ebenfalls in der Angiogenese.

**KLINISCHE STUDIEN CHRONISCH NICHT HEILENDER WUNDEN**

Klinische Studien in der Wundheilung setzen eine exakte Dokumentation und eine regelmäßige Kontrolle der Wunden voraus. Die Dokumentation der Wunden wird durch Photodokumentation, aber auch durch genaue Erfassung der wichtigsten morphologischen Kriterien der Wunden erreicht. Hierzu dienen verschiedene Einteilungen und „Wound Scores“.

**EINTEILUNG CHRONISCHER WUNDEN**

Definitionsgemäß wird eine Wunde, die trotz ursachenbezogener und konsequenter lokaler Therapie makroskopisch keine Tendenz der Heilung aufweist, als chronische Wunde oder Ulkus bezeichnet.

Die Einteilung chronischer Wunden kann nach ätiologischen Gesichtspunkten erfolgen. Es sollte jedoch auch immer eine morphologische Einteilung erfolgen: Infizierte Wunden sind hinsichtlich der unterschiedlichen Therapie von reizlosen Ulzera zu unterscheiden. Eine gerötete Wundumgebung, Fibrinbeläge und ödematöse Schwellung sind sichere lokale Zeichen einer Infektion; Fieber, Leukozytose und erhöhte BSG sind zusätzliche Hinweise.

Eine exakte Dokumentation der Wunde ist für den Verlauf wichtig, da so die Verschlechterung des Lokalbefundes rechtzeitig erkannt wird und ggf. eine Therapieumstellung erfolgen kann.

**KLASSIFIKATION CHRONISCHER WUNDEN NACH KNIGHTON**

Stad.	Ausdehung der Wunden
I	Oberflächliche Wunde (Dermis, Epidermis)
II	Tiefe Wunde (ins subkutane Fettgewebe reichend)
III	Mitbeteiligung von Faszien
IV	Mitbeteiligung von Muskulatur
V	Mitbeteiligung von Sehnen, Bändern, Knochen
VI	Mitbeteiligung großer Körperhöhlen

**WUNDMANAGEMENT WÄHREND EINER STUDIE**

Vor jeder lokalen Therapie chronischer Wunden muß ein ausgiebiges Wunddébridement durchgeführt werden, wobei alle nekrotischen und infizierten Gewebsanteile entfernt werden. Neben einer gleichzeitig durchgeführten ursachenbezogenen Therapie und unterstützenden Maßnahmen wie orthopädisches Schuhwerk, Kompressionsverbände etc. müssen die Wunden frei von Infektion gehalten werden, wenn nötig durch antibiotische Therapie.

**KLINISCHE STUDIEN MIT PDWHF (PLATELATE DERIVED WOUND HEALING FORMULA)**

Thrombozyten beinhalten in den Alpha-Granula die für eine adäquate Wundheilung wichtigen Wachstumsfaktoren. Durch Degranulation der Thrombozyten mit Thrombin werden diese Wachstumsfaktoren frei. So versuchte Knighton 1986 erstmals, die Wundheilung durch lokale Applikation von Wachstumsfaktoren zu verbessern, indem er das aus den Alpha-Granula freigesetzte Wachstumsfaktorenkonzentrat (PDWHF) auf chronisch nicht heilende Wunden applizierte.

Bei 49 Patienten mit chronischen Wunden verschiedenster Genese wurde autologes PDWHF lokal appliziert. Die Wunden waren zuvor trotz adäquater konventioneller Therapie im Durchschnitt 198 Wochen therapieresistent. Nach lokaler Behandlung mit PDWHF konnten alle Wunden innerhalb eines durchschnittlichen Zeitraumes von 10,6 Wochen zur Abheilung gebracht werden. Es kam in keinem Fall zu überschießender Keloidbildung. Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet. Die Abheilung wurde mittels eines „Wound Scores“ kontrolliert. Hierzu wurden morphologische Kriterien wie Erythem, Ödem, Wundausdehnung, die Präsenz von Fibrin oder Eiter, aber auch der Gefäßstatus und die Anamnesedauer herangezogen und in einem Punktsystem bewertet.

Diese Ergebnisse sind auf den ersten Blick beeindruckend, allerdings fehlt in dieser Studie eine Kontrollgruppe. Wunden, die sorgfältig und regelmäßig visitiert werden, haben schon alleine durch die intensive Behandlung und Motivation des Patienten eine bessere Heilungstendenz. Zur genauen

**„WOUND SCORE“ NACH KNIGHTON**

Kriterium	Punkte
Erythem	0/2/4
Ödem im Wundbereich	0/2/4
Ödem der Extremität	0/2/4
Induriertes Ödem	0/3/6
Eiter	0/3/6
Fibrin	0/2/4
Granulation	4/2/0
freiliegender Knochen	0/10
freiliegende Sehne	0/7
A. dorsalis pedis	0/2/5
A. tibialis posterior	0/2/5
Wundgröße	0/1/3/6/8/10
Wundtiefe	0/3/7/10
Unterminierung	0/3/5/8
Anamnesedauer	0/1/2/5/7/9/10

Evaluierung von Agentien zur Wundbehandlung werden heute Untersuchungen mit Kontrollgruppen gefordert.

In einer weiteren Studie von Knighton et al. (1990) wurden deshalb 32 Patienten mit chronisch nicht heilenden Wunden verschiedenster Ätiologie in einer Doppelblindstudie geführt. Die Hälfte der Patienten wurde mit Placebo (Kochsalzlösung) behandelt, die anderen Patienten erhielten autologes PDWHF. Nach 8 Wochen waren 81% der mit PDWHF behandelten Wunden abgeheilt. In der Placebogruppe konnten im gleichen Zeitraum nur 15% der Wunden zur Abheilung gebracht werden. Nach 8 Wochen wurden die nicht abgeheilten Wunden in der Placebogruppe mit PDWHF behandelt und waren nach durchschnittlich 7,1 Wochen ebenfalls abgeheilt.

Wie anfangs schon erwähnt, sind diabetische Ulzera oft therapieresistent. Patienten mit Diabetes mellitus haben ein deutlich erhöhtes Amputationsrisiko gegenüber der Normalbevölkerung.

Steed behandelte bei 13 Diabetikern die Ulzera mit PDWHF in einer randomisierten und kontrollierten Studie. Nach 15 Wochen waren 5 der 7 mit PDWHF behandelten Ulzera abgeheilt, während nur eine Wunde in der Kontrollgruppe abgeheilt war. Die Reduktion der Ulcusfläche betrug in der PDWHF-Gruppe nach 20 Wochen 94%, in der Placebogruppe 73%.

Die Tatsache, daß bei Patienten in der Placebogruppe eine Ulkusreduktion von 73% nur durch konsequente lokale Therapie erreicht werden konnte, unterstreicht die Bedeutung einer guten Wundpflege.

Die ersten vielversprechenden Ergebnisse bei Patienten mit Diabetes mellitus gaben Anlaß zu weiteren Studien, da aufgrund der geringen Fallzahl nur begrenzte Aussagen gemacht werden können.

So führten Holloway et al. eine weitere kontrollierte Studie an 70 Patienten mit diabetischen Ulzera durch. 21 Patienten wurden mit Placebo und 49 Patienten mit homologem PDWHF behandelt. Die Wachstumsfaktoren wurden in verschiedenen Konzentrationen appliziert, in der ersten Gruppe wurde eine Verdünnung von 0,1 (n=21), in der zweiten Gruppe von 0,033 (n=13) und in der dritten Gruppe von 0,01 (n=15) gewählt.

Die besten Ergebnisse wurden mit einer Verdünnung von 0,01 erzielt. Hier konnten 80% der Wunden zur Abheilung gebracht werden, gegenüber 29% in der Placebogruppe (p=0,01) im gleichen Zeitraum. Die perzentuale Dezmierung der Wundgröße betrug bei der letzten Visite bei Patienten, deren Ulzera mit PDWHF behandelt wurden, 94,9%. Bei den Patienten der Placebogruppe lag dieser Wert bei 82,7%. Die Behandlungsdauer, bis die Ulzera zur Hälfte abgeheilt waren (t<sub>50</sub>), betrug in der PDWHF-Gruppe 21 Tage, während dies in der Placebogruppe erst nach 26 Tagen erreicht werden konnte. 80% Ulkusheilung (t<sub>80</sub>) wurde nach PDWHF in 46 Tagen erreicht, mit Placebo dauerte dies 92 Tage.

Alle behandelten Wunden waren chronische Wunden und wurden primär als therapieresistent betrachtet. Durch die kontinuierliche und konsequente Behandlung mit Placebo konnte allerdings auch ein Heilungserfolg beobachtet werden. Allerdings dauerte die Behandlung mit Placebo deutlich länger.

**STUDIEN MIT GENTECHNOLOGISCH HERGESTELTEM PDGF-BB UND TGF-β**

In vitro und tierexperimentellen Studien von Pierce et al. (1989) wurde der Einfluß von PDGF-BB und TGF-β auf die Wundheilung untersucht. PDGF-BB, TGF-β oder NaCl wurde auf ein Kollagenvlies gebracht, das in genau



**Fallbeispiel:**  
**Männlicher Patient,**  
**58 Jahre, Diabetiker, mit**  
**„Mal perforans“ seit 2½**  
**Jahren am rechten Vorder-**  
**fußballen.**

**Abb. 1**  
**Wundzustand vor der**  
**Behandlung; es bestand**  
**keine Osteomyelitis und**  
**keine akute Entzündung.**

**Abb. 2**  
**Wundzustand nach gründ-**  
**lichem Débridement, Beginn**  
**der Lokalthherapie mit auto-**  
**logem PDWHF.**

**Abb. 3**  
**Wundzustand nach 4wöchi-**  
**ger PDWHF-Therapie.**

**Abb. 4**  
**Abheilung nach 8 Wochen.**  
**Die Kontrolle nach 6 Mona-**  
**ten zeigte kein Rezidiv.**

definierte Wunden von Ratten eingelegt wurde. Durch tensiometrische Untersuchungen wurde die Reißfestigkeit der entstandenen Narben nach verschiedenen Zeitintervallen untersucht. Die Reißfestigkeit einer Wunde dient als Maßstab für die Reife des Narbengewebes. Histologische Studien wurden zur Analyse des Narbengewebes durchgeführt.

Durch einmalige Applikation von PDGF-BB (2µg, 80 pmol) oder TGF-β (20 µg, 600 pmol) konnte eine Reißfestigkeit der Narbe nach 5 Tagen von 212% gegenüber der Kontrollgruppe erzielt werden. Histologisch wurde eine chemotaktische Wirkung beider Wachstumsfaktoren nachgewiesen, die chemotaktische Wirkung von TGF-β war gegenüber PDGF-BB jedoch signifikant geringer.

Eine weitere Zunahme der Reißfestigkeit nach 2 bis 3 Wochen wurde nach TGF-β im Gegensatz zu PDGF-BB nicht beobachtet. Mit PDGF-BB behandelte Wunden wiesen über den 21. Tag hinaus eine deutlich vermehrte Anzahl von Fibroblasten und Bindegewebe auf, während der zelluläre Influx durch TGF-β nach dem 7. Tag nicht weiter zunahm. Immunhistochemisch wurde in den mit PDGF-BB behandelten Wunden eine deutlich erhöhte Konzentration von TGF-β nachgewiesen. In-vitro-Untersuchungen zeigten eine

Stimulierung der TGF-β RNA-Transkription durch PDGF-BB.

Diese Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß TGF-β vorübergehend chemotaktisch auf Fibroblasten wirkt und die Kollagensynthese direkt stimulieren kann. Hingegen wirkt PDGF-BB stärker chemotaktisch auf Makrophagen und Fibroblasten. Weiterhin scheint PDGF-BB diese Zellen zur autokrinen Sekretion von Wachstumsfaktoren einschließlich TGF-β zu stimulieren, um somit die Wundheilung auch in späteren Phasen zu fördern.

Die erste klinische Studie mit rekombinierten PDGF-BB wurden von Robson et al. (1992) an 28 Patienten mit Druckulzera durchgeführt. Es wurde PDGF-BB in verschiedenen Konzentrationen (1, 10, 100 µg/ml) im Vergleich zu einer Kontrollgruppe angewandt. Patienten, die mit 100 µg/ml PDGF-BB behandelt wurden, zeigten eine deutlich schnellere Wundheilung im Vergleich zur Kontrollgruppe nach 28 Tagen. Konzentrationen von 1 oder 10 µg/ml hatten keinen signifikanten Effekt.

Mit Hilfe des molekularbiologischen Fortschrittes ist es gelungen, die Steuerungsvorgänge im Rahmen der Wundheilung näher zu analysieren. Es hat sich gezeigt, daß die komplexen zellulären Vorgänge durch Zytokine und Wachstumsfaktoren gesteuert werden, die sowohl in stimulierender als auch in

inhibierender Wirkungsweise in den Mechanismus der Gewebsreparation eingreifen.

Zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, daß mit Hilfe exogener Wachstumsfaktoren die Vorgänge der Wundheilung beschleunigt werden können. Ob sich daraus für den Kliniker eine neue Möglichkeit eröffnet, Wundheilungsstörungen effektiver als bisher zu behandeln, kann derzeit noch nicht beantwortet werden. Erste klinische Studien mit autologen thrombozytären Wachstumsfaktoren verliefen erfolgversprechend. Nach dem derzeitigen Kenntnisstand sollte die klinische Anwendung von Wachstumsfaktoren zur Behandlung chronischer Wundheilungsstörungen klinischen Studien vorbehalten bleiben.

*PD Dr. med. G. B. Köveker  
 Dr. med. S. Coerper*

*Chirurgische Klinik der  
 Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
 (Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Becker)  
 Hoppe-Seyler-Straße 3  
 72076 Tübingen*

*Literatur beim Verlag*