



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Der Einfluss von Arginin auf die Wundheilung : Eine
Literaturübersicht und experimentelle Untersuchung an drei
Zelllinien**

Autor: Petra Reiche
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. F. Willeke

Die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Der Einfluss von Arginin auf die Wundheilung“ besteht aus zwei Teilen: Der erste Teil beinhaltet eine ausführliche Literaturübersicht, im zweiten Teil werden eigene experimentelle Untersuchungen an drei Zelllinien beschrieben.

In der Einleitung werden zunächst die Wundheilung, deren Ablauf sowie verschiedene Einflussfaktoren auf die Wundheilung dargelegt. Dabei werden vor allem die molekularen Mechanismen erläutert, die dann durch das Arginin und seine Metaboliten beeinflusst werden können. Es handelt sich hierbei vor allem um die Kollagensynthese und die Angiogenese, die beide gleichermaßen durch die Zugabe von Arginin induziert bzw. gesteigert werden können. Beide Vorgänge werden durch drei verschiedene NO-Synthasen, nämlich durch die induzierbare, die endotheliale und die neuronale und zwei Arginasen (Arginase-1 und -2) vermittelt.

Im darauf folgenden Abschnitt werden dann die Störungen der Wundheilung behandelt. Besondere Berücksichtigung finden dabei vor allem die bis dato bekannten Pathomechanismen, die eine chronische Wunde verursachen oder auch unterhalten können. Am Beispiel des Diabetes mellitus kann eindrucksvoll demonstriert werden, dass unter zu hohen Blutglukose-Konzentrationen eine gestörte Wundheilung auftritt, und dass dabei sowohl die Kollagensynthese als auch die Angiogenese beeinträchtigt sind. Verantwortlich dafür sind sicherlich die bekannten Störungen der Mikrozirkulation bei Diabetes mellitus und gleichzeitig aber auch der relative Mangel an Arginin und konsekutiv auch an Stickstoffmonoxid.

Die dann folgenden Kapitel beschäftigen sich intensiv mit der Aminosäure Arginin und dem daraus synthetisierten Molekül NO, wobei die zwei für Arginin bekannten Stoffwechselwege in der Haut vorgestellt werden. Es handelt sich dabei um die Bildung von Stickstoffmonoxid über die NO-Synthasen und von Ornithin über die Arginasen. Während die fördernde Rolle von Stickstoffmonoxid in der Wundheilung seit den 70er Jahren des letzten Jahrhunderts bekannt ist, zeigt sich zusätzlich in neueren Arbeiten, dass auch das Ornithin einen wesentlichen Beitrag bei der Heilung von kutanen Wunden leisten kann.

Im letzten Teil der Literaturübersicht werden die zwei für den experimentellen Teil vorgesehenen bzw. verwendeten Zellarten vorgestellt. Es handelt sich zum einen um die Fibroblasten, die als Bindegewebe einen essentiellen Bestandteil der Haut darstellen und zum anderen um die Keratinozyten, die letztlich den Abschluss der Haut und den Schutz vor der Umwelt bilden. Diese beiden Zellarten, die intraoperativ aus Bauchhaut bei Anus-präter-Anlage gewonnen worden waren, bilden die Grundlage von Zellkulturmodellen. Diese Modelle, bei denen jeweils Fibroblasten und Keratinozyten in einer Monokultur wachsen und unterschiedlichen Aminosäuren-Konzentrationen ausgesetzt sind, wird in Relation gesetzt zu einer Kokultur aus beiden Zellarten, die als einfachstes Modell der kutanen Wundheilung schon seit mehr als 20 Jahren etabliert ist.

In dem Kapitel „Zellkulturtechniken“ werden die Isolierung und Kultivierung von Fibroblasten und Keratinozyten sowie die der Kokultur beschrieben. Mit diesen Kulturen werden dann Untersuchungen mit Arginin-Konzentrationen zwischen 25 und 1500µmol präsentiert. Bei den niedrigen Konzentrationen wird dabei die Menge an Arginin in 25µmol-Schritten erhöht, bei den 10-fach höheren Konzentrationen dagegen in Schritten von 250µmol.

Im Ergebnisteil wird entsprechend das Wachstum der Fibroblasten, der Keratinozyten und der Kokultur, jeweils ohne und mit den verschiedenen Arginin-Konzentrationen beschrieben. Dabei zeigen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede im Zellwachstum trotz variabler Arginin-Konzentrationen;

das heißt, es konnte kein Einfluss von Arginin bzw. Stickstoffmonoxid auf das Wachstum der Zelllinien wahrscheinlich gemacht werden.

In der sich anschließenden ausführlichen Diskussion, in der zunächst die Wundheilung und deren Einflussfaktoren behandelt werden, liegt ein besonderer Schwerpunkt in der Suche nach den Ursachen, weshalb die eigenen Experimente nicht die gewünschten Ergebnisse erbracht haben. In erster Linie werden das Alter der Patienten, deren Vorerkrankungen oder medikamentöse Therapien auf die Qualität der Zellen behandelt. Exemplarisch wird dabei zum einen auf den Diabetes mellitus als eine häufige Begleiterkrankung und zum anderen auf die Kortikoid-Therapie als Beispiel einer, die Wundheilung negativ beeinflussende, medikamentöse Behandlung eingegangen.

In den folgenden Kapiteln werden die für die Forschung über die Wundheilung und deren Störungen genutzten Modelle vergleichend abgehandelt und unserem Modell der Kokultur gegenüber gestellt. So gibt es etablierte Tiermodelle, mit deren Hilfe man dies an gesunden und kranken Tieren untersuchen kann. Problematischer sind dann entsprechende Untersuchungen an Menschen; diese sind nur unter großen Schwierigkeiten durchführbar. Zum einen ist eine Induktion von Wunden bzw. deren Störungen an Menschen ethisch nicht vertretbar, zum anderen sind vorhandene Wunden bzw. Wundheilungsstörungen meist in ihrer Entstehung und Unterhaltung sehr komplex und multifaktoriell bedingt und deshalb äußerst schwierig in der Untersuchung und im gegenseitigen Vergleich. So sind diese in vivo Untersuchungen wegen ihres großen Aufwandes, der Komplexität der Einflussfaktoren und der schlechten Reproduzierbarkeit für Grundlagen-Untersuchungen, wie sie in dieser Arbeit vorgesehen waren, wenig geeignet. Dafür eignen sich, wie von uns genutzt, in vitro Untersuchungen an Zellkulturlinien, an denen die Untersuchungen in großer Anzahl und gut reproduzierbar erfolgen können. Dabei sind, nach erfolgten Zellkultur-Untersuchungen an tierischen Keratinozyten und Fibroblasten, Experimente an humane Zelllinien notwendig, um den Einfluss von Arginin auf die Wundheilung zu zeigen. Neuere Untersuchungen belegen nämlich, dass Arginin nicht nur die Wundheilung fördert, sondern auch prophylaktisch verabreicht, chronische Wunden wie Dekubital-Ulzera vermindern oder sogar verhindern kann.