



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

**Der Einfluss von TGF- $\beta$ 1-Antisense auf die Expression der TGF- $\beta$ -Isoformen und TGF- $\beta$ -Rezeptoren in Keloidfibroblasten im Vergleich zur gesunden Haut**

Autor: Christopher Philipp Schardt  
Institut / Klinik: Hals-Nasen-Ohren-Klinik  
Doktormutter: Prof. Dr. H. Sadick

Keloide sind eine Folge einer gestörten Wundheilung bei prädisponierten Menschen. Morphologisch zeichnen sie sich durch eine überschießende, meist posttraumatisch bedingte, benigne Bindegewebsproliferation aus, die nicht nur kosmetische aber auch funktionelle Einschränkungen mit sich führen. Die Ursache für eine überschießende Narbenbildung ist in einem komplexen Pathomechanismus zu suchen und ist bis heute Gegenstand aktueller Untersuchungen. Experimentelle in vitro-Untersuchungen sollen einen tieferen Einblick in den komplexen Pathomechanismus der Wundheilungsstörung mit Ausbildung von Keloiden ermöglichen. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf das Zytokin TGF- $\beta$  gelegt, welches als wesentlicher Schlüssel-Mediator der Keloidbildung gilt. Zum einen wurde die Expression der TGF- $\beta$ -Isoformen 1, 2 und 3 sowie der beiden TGF- $\beta$ -Rezeptoren TGF- $\beta$ -RI und -RII im Keloidgewebe und in der gesunden Haut bestimmt und miteinander verglichen, zum anderen sollte durch eine gezielte TGF- $\beta$ 1-Antisense-Therapie das Expressionsverhalten der drei TGF-Isoformen sowie deren Rezeptoren auf Proteinebene und auf mRNA-Ebene analysiert werden. Von 5 Patienten, welche sich einer Resektion ihres retroaurikulären Narbenkeloids nach verjährter Ohrmuschelplastik unterzogen hatten, wurden zunächst Zelllinien von Keloidfibroblasten sowie Fibroblasten gesunder Haut gezüchtet. Daraufhin erfolgte die Proteinexpressionsbestimmung mittels Immunhistochemie für TGF- $\beta$ 1 und seinen Isoformen TGF- $\beta$ 2 und TGF- $\beta$ 3 sowie für die Rezeptoren TGF- $\beta$ -RI und TGF- $\beta$ -RII. In einem zweiten Schritt wurden beide Zelllinien mit TGF- $\beta$ 1-Antisense-Oligonukleotiden über 48 und 72 Stunden inkubiert und auf mRNA-Ebene sowie Proteinebene die Expression der TGF- $\beta$ -Isoformen sowie deren Rezeptoren bestimmt. Insgesamt zeigten die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit eine signifikant erhöhte Proteinexpression der Zytokine TGF- $\beta$ 1 und TGF- $\beta$ 2 sowie deren Rezeptor TGF- $\beta$ -RI in dermalen Keloidfibroblasten. Die Expression von TGF- $\beta$ 3 und dem Rezeptor TGF- $\beta$ -RII waren deutlich vermindert im Vergleich zur Fibroblasten-Zelllinie gesunder Haut. Die TGF- $\beta$ 1-Antisensetherapie ergab auf Proteinebene im ELISA eine signifikant verminderte Konzentration von TGF- $\beta$ 1 und TGF- $\beta$ 2 bei unveränderter Konzentration der TGF- $\beta$ 3 Isoform. Die Ergebnisse der ELISA-Untersuchungen spiegelten sich auch auf immunhistochemischer Ebene wieder mit einer verstärkten Expression von TGF- $\beta$ 1 und 2 bei verminderter Expression von TGF- $\beta$ 3. Auf mRNA-Ebene fiel auf, dass bereits 48h nach Inkubation der Keloidfibroblasten mit TGF- $\beta$ 1-Antisense eine verminderte Expression von TGF- $\beta$ 2 auftrat, während TGF- $\beta$ 1 nach längerer Inkubation bis zu 72h eine deutlich verminderte Expression aufwies. Lediglich die TGF- $\beta$ -RII Expression nahm 48h sowie 72h nach TGF- $\beta$ 1-Antisensetherapie zu. Bezüglich TGF- $\beta$ 3 und TGF- $\beta$ -RI zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den in der Literatur beschriebenen Daten und lassen eine gesteigerte Aktivität der profibrotischen Isoformen TGF- $\beta$ 1 und TGF- $\beta$ 2 in Keloidfibroblasten schließen. Die hier aufgeführten in vivo-Untersuchungen zeigen erstmalig den Einfluss der TGF- $\beta$ 1-Antisensetherapie auf das Expressionsverhalten der TGF- $\beta$ -Isoformen sowie deren TGF- $\beta$ -Rezeptoren und gewähren einen tieferen Einblick in den komplexen Pathomechanismus der Keloidentstehung. Anhand der hier vorgestellten Ergebnisse mittels TGF- $\beta$ 1-Antisensetherapie könnten sich erste mögliche Ansätze zur in vivo-Therapie von Keloiden ableiten.