

Zusammenfassung

Die Rolle von Plasmin in der Regulation der VEGF Aktivität während der Wundheilung: Untersuchungen im db/db Mausmodell

Dissertation von Detlev Roth, Universität Köln, 2004

Ein funktionelles und koordiniertes Gefäßsystem ist essentiell in der Erhaltung der Integrität und Barrierefunktion der Haut. In der Wundheilung spielt eine ausgewogene Regulation stimulierender und inhibierender Faktoren eine entscheidende Rolle für die Wiederherstellung eines funktionellen Gefäßsystems. Eine Störung der Angiogeneseregulation scheint eine wichtige Ursache für die Entstehung und Unterhaltung von Wundheilungsstörungen zu sein. Die zellulären und molekularen Mechanismen der gestörten Angiogenese in chronischen Wunden sind unklar und Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Der "vascular endothelial growth factor" (VEGF) ist ein hochwirksamer endothelzellspezifischer Mediator, der ein Schlüsselmolekül in der Wundheilung darstellt. Voruntersuchungen der Arbeitsgruppe im Humansystem deuten darauf hin, dass im chronischen Wundmilieu die VEGF vermittelte Angiogenese durch eine funktionelle Inaktivierung des VEGF₁₆₅ Proteins durch eine serinproteasenkatalysierte Degradation eingeschränkt ist. Ziel der vorliegenden Arbeit war es herauszuarbeiten, ob die topische Applikation von VEGF₁₆₅ einen gestörten Wundheilungsphänotyp normalisieren kann. In einem zweiten Teil der Arbeit wurde die Rolle von Plasmin in der Regulation der VEGF₁₆₅ -Aktivität in der gestörten Wundheilung untersucht. Bei den Untersuchungen kam das db/db Mausmodell zum Einsatz, in dem in Analogie zur chronischen Wunde im Humansystem, die gestörte Wundheilung mit einer verzögerten Angiogenese und verminderter VEGF Verfügbarkeit einhergeht.

Unsere makroskopischen und histologischen Untersuchungen zeigten, dass die topische Applikation von VEGF₁₆₅ in Form von rekombinantem Protein oder Plasmid DNA, den Wundschluss in einem gestörten Wundprozess mit reduzierter Angiogenese beschleunigen kann. Der beschleunigte Wundschluss ist sowohl durch die Induktion eines gefäßreichen Granulationsgewebes wie auch durch eine beschleunigte Reepithelialisierung zu erklären. Die Stabilisierung von VEGF₁₆₅ gegen eine plasminkatalysierte Degradation verlängert die angiogenetische Antwort, die sich in VEGF₁₆₅-MutPro₁₁₁ transfizierten Wunden durch eine verzögerte Regression der Endothelzellstrukturen im späten Granulationsgewebe zeigte. Ein möglicher Erklärungsansatz für diese Beobachtung ist eine Verlängerung der anti-apoptischen Wirkung der plasminresistenten VEGF₁₆₅ Variante. Untersuchungen der Proteinstabilität von VEGF₁₆₅ Wildtyp und VEGF₁₆₅ Mutante in Wundlysaten der db/db Maus zeigten eine erhöhte Stabilität der Mutante im Vergleich zum Wildtyp und unterstützen somit die Beobachtungen einer verlängerten VEGF₁₆₅ Aktivität der VEGF₁₆₅ Mutante.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit unterstützen somit frühere im Humansystem gewonnenen Erkenntnisse über die Bedeutung eines durch Proteolyse vermittelten Aktivitätsverlustes von VEGF₁₆₅ in der Pathogenese der gestörten Wundheilung. Die Untersuchungen weisen darauf hin, dass eine Stabilisierung der Integrität des VEGF₁₆₅ Moleküls, insbesondere in einem proteasereichen Milieu der chronischen Wunde, zu einer Steigerung des angiogenetischen Potentials von VEGF₁₆₅ führt. Die Arbeiten unterstreichen somit das therapeutische Potential der plasminresistenten VEGF₁₆₅ Mutante bei chronischen Wundheilungsstörungen.