
4. Diskussion

4.1 Versuchstiere

Experimentelle Untersuchungen über Wachstumsfaktoren und deren Wirkung auf die Wundheilung sind bereits an verschiedenen Tieren, wie Schweinen oder Kaninchen durchgeführt worden (32, 43, 45).

Für die Versuche dieser Arbeit wurden aus verschiedenen Gründen Ratten gewählt. Zum einen sind die Tiere in ausreichender Zahl in genetisch ähnlicher Konstitution erhältlich, zum anderen sind sie einfach zu betreuen, d.h. es sind keine besonderen Sterilitätsmaßnahmen bei der Operation nötig, was gerade bei Eingriffen am Darm von Vorteil ist. Die Narkose ist einfach und standardisiert zu führen und die postoperative Betreuung gestaltet sich problemlos. Weiterhin gleicht die Mikroflora des Rattenkolons der des Menschen und die Reaktion auf eingebrachtes Nahtmaterial ist der humanen sehr ähnlich (34).

Außerdem wurden die grundlegenden Untersuchungen von JÖNSSON (24), JIBORN (22, 23) und HERRMANN (17) zur Entwicklung der Zerreißkraft an unbehandelten Darmanastomosen ebenfalls an Ratten durchgeführt, so daß Vergleichsmöglichkeiten zum Verlauf der normalen Anastomosenheilung bei Ratten vorliegen.

4.2 Wachstumsfaktoren

Seit in den letzten Jahrzehnten immer mehr Wachstumsfaktoren entdeckt und untersucht wurden und die essentielle Wirkung dieser Peptide auf Wachstums- und Wundheilungsvorgänge erkannt wurde, versucht man sie auch therapeutisch anzuwenden. Nachdem vor allem in der Wundheilung der Haut, insbesondere beim chronischen Ulcus, Erfolge mit Wachstumsfaktoren erzielt wurden (5), liegt es nahe, diese Ergebnisse auch in der intestinalen Wundheilung zu erproben. Andere Studien konnten bereits eine positive Wirkung an Darmwunden bei Tieren nachweisen (32, 45). Neuerdings gibt es bereits Ansätze, Wachstumsfaktoren direkt an Nahtmaterial zu binden oder die endogene Produktion der Faktoren in Wunden durch Gentransfer künstlich zu steigern (39, 53).

Für diese Untersuchung wurde in erster Linie der **Transforming Growth Factor alpha** (TGF α) ausgewählt, der sowohl in Darmepithelien als auch in besonders hoher Konzentration in Thrombozyten und Makrophagen vorkommt. Schon diese Herkunft des Peptides zusammen mit seinen bisher erforschten Funktionen auf Angiogenese, Fibroblasten und Epithelien deuten auf eine wichtige Aufgabe bei der Wundheilung hin.

Dieser Faktor aktiviert neutrophile Granulozyten und fördert die Bildung von Granulationsgewebe, das Wachstum von Blutgefäßen sowie die Erneuerung von Epithelien. Dem ihm verwandten Epidermal Growth Factor ist er durch eine effektivere Stimulation dieser Prozesse überlegen und wurde in dieser Untersuchung auch wegen seines

physiologischen Vorkommens in Darmepithelien vorgezogen (9, 12, 35, 38, 43, 46, 52). Am Darm wurde dieser Faktor allerdings bisher nicht untersucht.

In der Studie von SCHULTZ (43) zur Beschleunigung der epidermalen Wundheilung mit TGF α konnte aber bereits eine Wirksamkeit für die dermale Wundheilung gezeigt werden. Er behandelte experimentelle Brandwunden bei Schweinen mit TGF α in verschiedenen Konzentrationen und beschrieb nach 9 Tagen bei allen Konzentrationen eine weiter fortgeschrittene Heilung der Haut verglichen mit Kontrollwunden. Obwohl sich dabei die Konzentration von 0,1 $\mu\text{g/ml}$ als maximal wirksam erwies, wurde aus folgenden Gründen in der vorliegenden Untersuchung eine Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ gewählt: Zum einen konnte SCHULTZ in seinen Experimenten zweimal täglich TGF α applizieren, was bei unserem Wundheilungsmodell nicht möglich war, weshalb versucht werden mußte ein Depot anzulegen; zum anderen mußte in der gut durchbluteten Darmwand mit einer höheren Abtransportrate der applizierten Lösung gerechnet werden.

Insgesamt wurde 0,1 ml der Wachstumsfaktorlösungen injiziert, was einer absoluten Menge von 1 μg TGF α entspricht. Diese Menge liegt in der Größenordnung, die von MUSTOE (32) für den Transforming Growth Factor-beta als optimal für Gastrointestinalheilung herausgefunden wurde. Andere Studien zu Konzentrationsoptima für Darmheilungsmodelle, insbesondere für TGF α , wurden bisher noch nicht durchgeführt. Es ist daher sicherlich nötig, in Zukunft aufgrund unserer positiven Ergebnisse noch Untersuchungen zu Konzentrationsoptima für dieses Modell durchzuführen.

Da TGF α aber zum größten Teil über die Thrombozyten in das Wundgebiet gelangt und dort in einer Mischung mit anderen Faktoren aus deren α -Granula wirkt, war es von weiterem Interesse, auch zusätzlich den Effekt von Kombinationen dieser thrombozytären Wachstumsfaktoren zu testen. LYNCH (29) kombinierte bereits den Platelet-derived Growth Factor (PDGF) mit Epidermal Growth Factor (EGF) und Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) bei der Hautwundheilung und beschrieb einen synergistischen Effekt im Heilungsprozess.

Von den vielen möglichen Wachstumsfaktoren zur Kombination mit TGF α wurden der Platelet-derived Growth Factor und der Fibroblast Growth Factor gewählt. Diese beiden Faktoren wurden bereits in den Studien von MUSTOE und SLAVIN (32, 45) am Tierdarm einzeln untersucht, so daß eine gewisse Vergleichsmöglichkeit bestand.

Platelet-derived Growth Factor (PDGF) als chemotaktisch und stimulierend auf Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Granulozyten wirkender Faktor erscheint außerdem eine sinnvolle Ergänzung zu TGF α zu sein (5, 41, 46, 52). Außerdem wirkt es vasokonstriktorisch, was zwar zum einen die Durchblutung verschlechtern könnte, zum anderen aber den Abtransport der Wachstumsfaktoren und anderer Mediatoren sowie Zellen verlangsamen könnte (3).

Es wurde von den drei Isoformen der Faktor PDGF-BB gewählt, da dieser bereits erfolgreich in klinischen Studien zur dermalen Wundheilung (5) angewendet wurde und auch von MUSTOE (32) mit weniger Erfolg am Kaninchenmagen untersucht wurde.

Letzterer wählte dazu allerdings eine Menge von 10 µg PDGF pro Wunde, was sehr hoch erscheint, wenn man bedenkt, daß Wachstumsfaktoren bereits im Nanogrammbereich wirksam sind. Da PDGF in unserer Studie als Ergänzung zum TGF α gedacht war, lag es nahe, eine ähnliche Menge zu wählen. Es wurde daher für PDGF ebenfalls eine Konzentration von 10 µg/ml benutzt, was einer Gesamtmenge von 1 µg pro Anastomose entsprach.

Der andere ausgewählte Wachstumsfaktor kommt aus der gleichen Familie wie der Keratinocyte Growth Factor, dessen positive Wirkung auf die Heilung von Kolonanastomosen bereits beschrieben wurde (11). Der **Fibroblast Growth Factor** (FGF) ist ein starkes Mitogen für Fibroblasten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen und damit sehr wichtig für die Potenzierung der Wundheilung durch Beschleunigung der Synthese von neuem Gewebe. Weiterhin ist dieser Faktor auch chemotaktisch wirksam. Daher gilt er als überaus wichtiger Bestandteil der Wundheilung und war besonders für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit interessant (5, 12, 46, 48, 52).

Auch von diesem Faktor existieren 2 Formen, der saure und der basische FGF, die gleiche biologische Wirkungen zu haben scheinen. Die basische Form ist allerdings ubiquitär im Körper vorhanden, wohingegen man die saure nur im Gehirn findet und es hat sich gezeigt, daß zumindest in vitro der basische Faktor ca. 100fach stärker wirksam ist als der saure (15, 52).

Da FGF wesentlich potenter ist als andere Wachstumsfaktoren, wurde für diese Versuche eine um die Hälfte geringere Konzentration von 5 µg/ml gewählt, was einer absoluten Menge von 0,5 µg pro Anastomose entspricht. In vitro erreicht FGF bereits bei 20-60fach niedrigeren Konzentrationen als TGF α oder PDGF vergleichbare stimulierende Effekte (15, 52). Daher erscheint die Menge basischen FGF's, die SLAVIN (45) in seinem Modell zur intestinalen Wundheilung bei Schweinen einsetzte mit 5 µg pro Wunde sehr hoch.

Unerwünschte Wirkungen durch die Wachstumsfaktoren konnten in dieser Untersuchung nicht beobachtet werden. In der Literatur sind solche auch nicht bekannt. Die in der Anfangszeit der Wachstumsfaktorforschung befürchteten malignen Entartungen von Zellen, die hohen Konzentrationen dieser Peptide ausgesetzt werden, konnten bisher nie tatsächlich beobachtet werden. Auch in dieser Studie wurde kein Anhalt für eine solche Entartung gefunden. Diese Befürchtung war wohl auch am ehesten darin begründet, daß einige dieser Faktoren zuerst in Tumorzellen entdeckt wurden, bevor man sie als physiologische Zellprodukte enttarnte. Zur Fragestellung der intraabdominellen Verwachsungen als mögliche Komplikation sei hier auf Kapitel 4.4.2 verwiesen.

4.3 Operation

Für die Operationen wurde die einreihige Allschichtnahttechnik nach GAMBEE gewählt. Diese Technik, die GAMBEE 1951 beschrieb (13, 14), ermöglicht eine schichtgerechte Adaptation der Darmwand und gewährleistet damit eine schnellere und einfachere Gefäßeinsprossung im Sinne der primären Wundheilung. Dies ist in der Kolonchirurgie, bei der die Anastomose unter starker Bakterienkontamination abheilen muß, von besonderer Bedeutung (18, 31). Außerdem wird sie an unserem Hause üblicherweise für Kolonanastomosen benutzt. Um die ohnehin eingeschränkte Übertragbarkeit von Ergebnissen aus Tiermodellen auf den Menschen nicht noch weiter zu verschlechtern, sollten die Operationen technisch möglichst ähnlich denen am Menschen gestaltet werden.

Aus demselben Grund wurde Wert darauf gelegt, resorbierbares Nahtmaterial zu verwenden. Dies hatte auch noch den Sinn die Ergebnisse der Zerreißkraftmessung nicht durch das Fadenmaterial in einem unrealistischen Maße zu beeinflussen. Die Zerreißkraft der Anastomosen sollte sich, wie beim Menschen auch, zusammensetzen aus der zunehmenden Festigkeit der entstehenden Narbe und der abnehmenden Festigkeit des resorbierbaren Nahtmaterials (24, 51). Weiterhin ist laut einer Studie von NÖTHIGER Polyglactin für die Naht experimenteller Darmanastomosen bei Ratten empfehlenswert (34). ARBOGAST schreibt in seiner Untersuchung am Kaninchendünndarm sogar, daß die Wahl des Nahtmaterials keinen entscheidenden Einfluß auf die Ergebnisse der Zerreißkraft hat (1).

Sowohl in der Untersuchung von DE WAARD und JAHNSON als auch in der von WEIBER wurden die angedauten Fadenreste in der Anastomose belassen (8, 21, 51). Eine Entfernung vor der mechanischen Testung, wie sie in einigen vergleichbaren Studien durchgeführt wurde (23, 24, 32, 45), blieb auch in dieser Untersuchung aus, da es zum einen zu unnötigen Gewebeverletzungen käme und zum anderen die problematischen frühen Leckagen beim Menschen auch mit noch vorhandenen Nähten in der frühen postoperativen Periode entstehen. Daher birgt die Entfernung ein unnötiges Risiko bei zusätzlicher Verminderung der Übertragbarkeit auf menschliche Anastomosen.

Der verwendete Faden war ein Polyglactinfaden der Stärke 6/0 mit einer atraumatischen P-1 Nadel. Dieser Faden hat sich gut bewährt und es wurden keine Fadengranulome beobachtet. In keinem Fall konnte in den Gruppen eine makroskopisch sichtbare Leckage oder eine Stenose beobachtet werden, was für die Qualität der Nahttechnik spricht.

Eine Peritonitis wurde in keinem Fall beobachtet, obwohl keine besonderen Sterilitätsmaßnahmen ergriffen wurden. Dies war auch nach den Erfahrungen anderer Autoren (2, 50), die ebenfalls Anastomosen an Ratten auf ihre Heilung hin geprüft hatten, nicht anders zu erwarten. Offensichtlich ist die Ratte unempfindlich gegenüber Keimen in der Abdominalhöhle. Die Hautwunden waren völlig reizlos verheilt.

4.4 Einzelergebnisse

4.4.1 Gewichtsveränderung

Direkt nach der Operation verloren die Tiere aller Gruppen an Gewicht. Dieser Gewichtsverlust war noch sehr deutlich am 5. postoperativen Tag. Am 7. Tag nach der Operation hatten die Tiere dann bereits eine geringere Differenz zu Ihrem Ausgangsgewicht erreicht und nach 14 Tagen schließlich wiesen alle Tiere eine deutliche Gewichtszunahme auf.

Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen und den entsprechenden Kontrollgruppen waren gering und nicht statistisch signifikant. Hierzu wurde der U-Test nach MANN und WHITNEY für unabhängige Stichproben (SPSS/PC gestützt) angewandt. Eine schnellere Gewichtszunahme unter Therapie mit den verwendeten Wachstumsfaktoren war also nicht nachweisbar.

4.4.2 Verwachsungen

Die Anastomosenregion aller Tiere war mehr oder weniger verwachsen. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von WAGNER (50), der dasselbe Nahtmaterial und eine ähnliche Nahttechnik verwendete.

Geringgradige Verwachsungen fanden sich am häufigsten, mittelgradige bzw. schwere Verwachsungen hingegen nur selten. Auch zwischen den einzelnen Relaparotomiterminen konnte kein Unterschied erkannt werden.

Im Vergleich (vgl. Abb.3.13) waren, wie von BAER beschrieben (2), bei der Kontrollgruppe (Gruppe 1) und der mit TGF α und PDGF behandelten Gruppe (Gruppe 3) mit zunehmender Heilungszeit auch weniger Verwachsungen zu beobachten. In den beiden anderen Gruppen, 2 und 4 (Behandlung nur mit TGF α bzw. TGF α und FGF), hingegen zeigte sich kein eindeutiger Trend.

Der statistische Vergleich der Mittelwerte der vergebenen Punkte ergab ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Verwachsungsgrad der Kontrollgruppe und dem der Behandlungsgruppen. Hierzu wurde der T-Test für unabhängige Stichproben nach STUDENT (SPSS/PC gestützt) durchgeführt.

Es konnte also keine verstärkte Tendenz zu Verwachsungen unter der Behandlung mit Wachstumsfaktoren festgestellt werden.

4.4.3 Zerreißkraft

Betrachtet man alle Gruppen zusammen, so ist festzustellen, daß erwartungsgemäß die zum Zerreißen benötigte Kraft F-max mit zunehmender Heilungszeit immer höher wird. Die Anastomose gewinnt also an Festigkeit. Dies bestätigt sich auch in den einzelnen Gruppen, in denen von Relaparotomietag zu Relaparotomietag ein Anstieg von F-max zu verzeichnen war. Die einzige Ausnahme bildete hierbei die mit TGF α und PDGF behandelte Gruppe 3, die am 7. postoperativen Tag einen etwas niedrigeren Wert als am 5.Tag aufweist.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) ergab sich am 5.Tag in allen drei Behandlungsgruppen ein höherer Wert für F-max. In Gruppe 2 (Behandlung mit TGF α) und Gruppe 4 (Behandlung mit TGF α und FGF) war diese Differenz signifikant ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,05$). Beim Unterschied der Gruppe 3 (Behandlung mit TGF α und PDGF) zur Kontrollgruppe konnte keine Signifikanz mehr gezeigt werden, obwohl dennoch eine deutliche Tendenz sichtbar war.

Am 7. postoperativen Tag lagen nur noch die Werte von Gruppe 2 und 4 über dem der Kontrollgruppe. Als signifikant höher erwies sich dabei nur die Gruppe 2 ($p < 0,01$).

Am 14. postoperativen Tag fanden sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen mehr.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß die Anastomosen der behandelten Gruppen am frühen Termin eine höhere Belastung aushalten als die der unbehandelten, was mit den Ergebnissen der Reißortverteilung (vgl. Kap.4.4.4) übereinstimmt. Nach 14 Tagen haben die unbehandelten Tiere diesen Vorsprung dann wieder aufgeholt und die Gruppen sind ungefähr gleich widerstandsfähig.

Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des T-Test für unabhängige Stichproben nach STUDENT (SPSS/PC gestützt) durchgeführt.

Die signifikante Steigerung der Belastbarkeit der Anastomose, zusammen mit den Ergebnissen der Reißortverteilung (vgl. Kap.4.4.4), zeigt, daß die Anwendung der Wachstumsfaktoren, sei es TGF α alleine oder in Kombination mit FGF oder PDGF, eine Beschleunigung der frühen Wundheilungsphase hervorruft.

Die Tatsache, daß zu späteren Zeitpunkten keine weitere Steigerung mehr gesehen wurde, wäre erklärbar durch den Verbrauch der Faktoren in den Zellen und den Abtransport über das Blut. Dann wäre eine weitere Steigerung der Wundheilung vielleicht durch eine erneute oder sogar kontinuierliche Applikation durchaus denkbar. Wahrscheinlicher ist aber, daß eben nur die frühen Heilungsvorgänge von den Faktoren profitieren bzw. dafür empfänglich sind. Zum Beispiel sind ab einem bestimmten Zeitpunkt genügend Makrophagen ins Wundgebiet eingewandert, sei es mit oder ohne Wachstumsfaktorapplikation, wobei dieser Zeitpunkt früher erreicht werden kann, wenn höhere Konzentrationen von Wachstumsfaktoren anwesend sind.

Die signifikant erhöhten Werte unter TGF α -Behandlung am 7. postoperativen Tag sind am ehesten als Effekt der überaus starken „Boosterung“ der Heilung zu Beginn zu werten. Dafür fällt unter dieser Behandlung auch der verstärkte Anstieg der Wundfestigkeit zwischen dem 7. und 14. postoperativen Tag weg (vgl. Abb.3.22). Auch dieser Umstand zeigt, daß insgesamt nur eine bestimmte Wundfestigkeit erreicht werden kann. Der Weg dahin kann zwar beschleunigt werden, aber am Ende erhält die Wunde die gleiche Belastbarkeit wie eine unbehandelte. Eine erneute Wachstumsfaktorgabe hätte dann keine weitere Steigerung zur Folge.

Die Kombination des Transforming Growth Factor alpha mit den anderen beiden Faktoren scheint keine zusätzliche Verbesserung des Effektes auf die frühe Belastbarkeit der Anastomose zu haben. In unseren Ergebnissen ergab die Kombination sogar eine gegenüber TGF α alleine verringerte Effektivität. Die zusätzlich mit PDGF behandelte Gruppe zeigte, da sie am 7.Tag einen unerklärlich niedrigen Wert aufwies, sogar einen signifikanten Unterschied zu der alleinigen Behandlung mit TGF α . Es ist aber durchaus möglich, daß diese Verschlechterung auf die zusätzliche Injektion von 0,1 ml des zweiten Wachstumsfaktors zurückzuführen ist. Ein solches zusätzliches Ödem der Darmwand könnte die Wundheilung durch eine Verschlechterung der Durchblutung und eine Vergrößerung der Diffusionsstrecke erschweren. Ebenso ist es denkbar, daß die gewählte Konzentration von FGF und PDGF nicht im wirksamen Bereich lag. Für wirksame Konzentrationen dieser Faktoren im Bereich des Gastrointestinaltraktes liegen bisher keine Erfahrungen vor. Außerdem soll auch nicht ausgeschlossen werden, daß sowohl FGF als auch PDGF - obwohl in der Hautwundheilung wirksam - am Darm eventuell keine positive Wirkung auf die Belastbarkeit haben. Ähnliches wurde bereits von anderen Untersuchern für diese Faktoren ohne Kombination beschrieben (32, 45). Weiterhin wäre es denkbar, daß speziell PDGF durch seine starke vasokonstriktorische Wirkung die Perfusion des Wundbereiches einschränkt und somit die Heilung erschwert (3).

Die Zerreißkraft- oder Höchstkraftmessung - im anglo-amerikanischen Schrifttum als „breaking strength“ bezeichnet - erschien für diese Studie am geeignetsten, da sie durch Aufzeichnung der zum Zerreißen einer Wunde benötigten Kraft eine Methode zur Beurteilung der Wundheilung darstellt. Diese Methode wurde 1929 von HOWES (19) eingeführt und später vielfach von anderen modifiziert und auch am Darm angewandt. Hier ist sie seitdem für den Chirurgen von höherem Interesse als histologische Untersuchungen, da sie die tatsächliche Belastbarkeit des Gewebes direkt zeigt. Insbesondere am Rattendarm hat sich diese Methode etabliert. So wurde sie unter anderem von SEIFERT (44) und JAHNSON (21) angewendet, um den Einfluß von intraoperativer Bestrahlung bzw. chronischer Strahlenschädigung auf die Anastomosenheilung zu untersuchen. Andere Studien, wie die von WEIBER (51) und DE WAARD (8), untersuchten die Wirkung von 5-Fluorouracil auf die Heilung im Darm mit dieser Methode.

Die von manchen Autoren an anderen Geweben benutzte etwas exaktere Bestimmung der Zugfestigkeit („tensile strength“), bei der die Zerreißkraft noch auf den Querschnitt des Gewebes bezogen wird, konnte nicht bestimmt werden. Eine hinreichend genaue Messung des Anastomosenquerschnitts war in vielen Fällen nicht möglich und die Notwendigkeit des

Einbringen weiterer Meßparameter erscheint bei gleichzeitiger Gefahr des Einbringens zusätzlicher Meßfehler auch fraglich, da vom klinischen Standpunkt den Chirurgen in erster Linie die Höchstkraft interessiert (1, 4).

Die auch weit verbreitete Berstungsdruckmessung kam für diese Studie nicht in Frage, da sie, wie JIBORN (24) zeigte, nur in der sehr frühen postoperativen Periode aussagekräftig ist. Auch wurde der Darm als ganzes Segment getestet, wie von JIBORN empfohlen, und nicht nur einzelne Streifen, da eine Manipulation die Anastomose insbesondere in der frühen postoperativen Phase schädigen würde (17, 23, 24).

In anderen Arbeiten wurden die Fäden vor der mechanischen Prüfung entfernt (23, 32, 45), was in diesen Experimenten unterblieb. Zum einen kann es dadurch zu einer unnötigen Traumatisierung des Gewebes kommen, zum anderen entstehen die in unserer Fragestellung interessanten Frühinsuffizienzen auch mit vorhandenem, noch nicht abgebautem Fadenmaterial. Unser Modell sollte gerade diese Situation der menschlichen intestinalen Heilung möglichst gut simulieren. Schließlich ist es diese tatsächlich im Abdomen vorhandene mechanische Belastbarkeit nach der Operation, die von chirurgischem Interesse ist.

Studien, die sich - ähnlich der vorliegenden Studie - der Zerreißkraftmessungen zur Beurteilung der Wirkung von Wachstumsfaktoren auf die intestinale Wundheilung bedient haben, wurden von MUSTOE (32) und SLAVIN (45) veröffentlicht.

MUSTOE testete die Wirkung von Transforming Growth Factor beta (TGF β) und Platelet-derived Growth Factor (PDGF) auf die Heilung von Inzisionen im Magen von Hasen. Er konnte dabei für TGF β eine signifikante Steigerung der Belastbarkeit am 7. und 11. postoperativen Tag zeigen. Am 5. Tag fand er bei diesem Faktor keine Verbesserung. Die Wirkung von PDGF testete er lediglich an den Tagen 7 und 11 nach der Operation, wo er keinerlei signifikante Verbesserung erkannte. Da sich aber die in dieser Untersuchung festgestellte, wenn auch nicht signifikante Steigerung der Belastbarkeit unter PDGF-Applikation lediglich auf den 5. postoperativen Tag beschränkt, besteht hier keinerlei Widerspruch zu MUSTOE's Ergebnissen.

SLAVIN untersuchte zunächst die Wirkung einer Steroidbehandlung auf die Wundheilung in Ileum und Colon von Schweinen und konnte dort eine signifikante Senkung der Reißfestigkeit nachweisen. Anschließend behandelte er solche steroidbeeinträchtigten Wunden mit Transforming Growth Factor beta (TGF β) oder Fibroblast Growth Factor (FGF) und verglich diese mit Kontrollen. Er fand signifikant belastbarere Wunden unter TGF β im Ileum, aber eine signifikant niedrigere Belastbarkeit unter FGF im gleichen Darmabschnitt, wobei er letztere Wunden in histologischen Schnitten als wesentlich zellreicher als unbehandelte bezeichnete. Im Colon waren die Unterschiede weniger stark ausgeprägt und nicht signifikant. Außerdem wurde in dieser Studie nur der 7. postoperative Tag untersucht.

Bei beiden Untersuchungen wurde also in Bezug auf die hier verwendeten Faktoren der frühe und entscheidende Zeitraum der Wundheilung, in dem wir die größten Unterschiede zeigen

konnten, nicht untersucht. Auch verwendeten beide Untersucher die Wachstumsfaktoren alleine und nicht in Kombination.

Ein weiterer grundlegender Unterschied liegt im Wundmodell und in der Reißprüfung. MUSTOE wie SLAVIN operierten keine vollständigen Anastomosen, sondern begnügten sich mit Inzisionen der Wand und in der mechanischen Prüfung benutzten sie lediglich Streifen der Magen- bzw. Darmwand.

Damit die ohnehin schon nicht sichere Anwendbarkeit auf den Menschen nicht noch weiter eingeschränkt wird, hielten wir es für nötig, mit diesem Modell möglichst nah an der Wirklichkeit zu bleiben. Daher wurden - soweit möglich - vollständige Darmanastomosen nach der in unserem Hause gebräuchlichen Technik operiert und der die Anastomose enthaltende Darm als Ganzes der mechanischen Prüfung unterzogen.

4.4.4 Reißorte

Es kamen in fast allen Gruppen Risse innerhalb der Anastomose vor. Die meisten fanden erwartungsgemäß am 5. postoperativen Tag statt, was sich durch die erst kurze Heilungszeit und damit geringere Festigkeit erklären läßt. Am 7. und 14.Tag kamen solche Anastomosenrisse seltener vor und waren zwischen den beiden Terminen ungefähr gleich verteilt.

Die Häufigkeit von Anastomosenrissen am 5.Tag war in der Kontrollgruppe deutlich höher als in den anderen Gruppen, wenn auch aufgrund der geringen Größe der untersuchten Gruppen keine Signifikanz gezeigt werden konnte.

Die Behandlung mit den Wachstumsfaktoren scheint also zumindest am frühen Termin das Einreißen in der Anastomose zu verringern bzw. die Anastomosenregion so zu verstärken, daß der Darm eher an einer anderen Stelle reißt.

Eine solche genaue Auswertung der Orte, an denen der getestete Darm in der Zerreißkraftmessung zuerst reißt, erfolgte in keiner der uns bekannten Studien. Einige erwähnten, daß der Darm bei ihnen immer an der gleichen Stelle gerissen sei (1, 23, 44). Lediglich JÖNSSON beschrieb eine Änderung im Reißort mit zunehmender Heilungszeit und schlussfolgerte, daß nach 14tägiger Heilungszeit die Anastomose fester als der restliche Darm war (24).

4.4.5 Histologie

Die Färbung mit Hämatoxylin und Eosin diente der Übersicht und zur Beurteilung der Verwertbarkeit der jeweiligen Schnitte. Zur tatsächlichen Anwendung der in Kapitel 2.8 beschriebenen Beurteilungskriterien Menge, Anordnung, Ausrichtung und Vernetzung kollagener Faserzüge sowie zelluläres Infiltrat und Ödem kam es in den mit der Azanfärbung nach HEIDENHAIN behandelten Präparaten. Hierbei wurden die Fasern durch entsprechende

Vorbehandlung intensiver als andere Gewebsteile dargestellt und konnten so besser beurteilt werden (25, 40).

Insgesamt betrachtet bestätigen die Befunde der Histologien die Ergebnisse der Zerreikraftmessungen. Erwartungsgemäß zeigten sich mit zunehmender Heilungsdauer eine entsprechende Veränderungen der Wundheilungsparameter, wie Kollagenfaserdichte, -länge, -vernetzung und -ausrichtung, sowie entzündliche Infiltration.

Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren am stärksten um den 5.postoperativen Tag herum, nahmen zum 7. Tag hin ab und waren nach 2 Wochen kaum noch erkennbar. Am 14. Tag schienen alle Anastomosen einen weitgehenden narbigen Umbau erfahren zu haben. Dies erklärt die geringen Unterschiede an diesem Tag bei den Zerreikraftmessungen und belegt, daß die Wachstumsfaktoren zwar die Geschwindigkeit der Wundheilung zu beeinflussen vermögen, jedoch keine Auswirkung auf das letztendliche Resultat des Heilungsprozesses haben.

Die bei der mechanischen Testung gesehene starke Akzelleration des Wundumbaus und vor allem der Kollagensynthese mit Hilfe des Wachstumsfaktors TGF α (Gruppe 2) und der Kombination aus TGF α und FGF (Gruppe 4) nach bereits 5 Tagen waren auch auf den histologischen Bildern eindeutig nachzuvollziehen. Zum Teil wurde unter der Behandlung sogar nach 5 Tagen bereits ein Bild gesehen, das bei den Kontrollgruppen erst am 7.postoperativen Tag gefunden werden konnte. Ein grundlegender Unterschied zwischen den beiden Gruppe 2 und 4 konnte an diesem frühen Termin (5.Tag) nicht gesehen werden.

Von den beiden erwähnten Gruppen war am 7. Tag dann allerdings nur noch Gruppe 2 (Behandlung mit TGF α) den Kontrollen durchschnittlich überlegen. Auch diese Beobachtung deckt sich wiederum mit denen der Zerreikraftmessungen.

Zusammengefaßt läßt sich also sagen, daß bei Behandlung nur mit TGF α (Gruppe 2) die Anastomosenheilung so stark beschleunigt schien, daß am 7. Tag bereits Bilder gesehen wurden, die denen der Kontrollgruppen am 14. Tag entsprachen. Diese Beschleunigung der Heilungsprozesse war auch bei der mit TGF α und FGF (Gruppe 4) vorhanden, jedoch nicht in diesem Ausmaß.

Die Bilder der Gruppe 3 (Behandlung mit TGF α und PDGF) zeigten keine bemerkenswerten Unterschiede zu denen der Kontrollgruppen, was im Einklang mit den Ergebnissen der mechanischen Testung steht. Wie im Kapitel 4.4.3 erwähnt fehlt für die offensichtliche Unwirksamkeit dieser Kombination jegliche Erklärung.

Es wurde für diese histologischen Untersuchungen kein semiquantitatives Auszhlungsverfahren verwandt, da nicht genug verwertbare Proben nach den Zerreikraftmessungen übrig waren, um eine statistische Auswertung zu gewährleisten. Außerdem fanden sich in den verwertbaren Schnitten sehr viele durch die Zugversuche verursachte Artefakte, die eine standardisierte Auszählung von Zellen oder Fasern unmöglich machten.

Primär sollte diese Studie der Prüfung der mechanischen Belastbarkeit dienen und die zusätzliche histologische Aufarbeitung war mehr als Vorversuch für geplante rein histologische Untersuchungen gedacht. Die erzielte Übereinstimmung mit den Ergebnissen der durchgeführten Versuche lassen solche Folgeversuche notwendig erscheinen.

4.5 Klinische Bedeutung

Die Ergebnisse dieser Untersuchung, zusammen mit den positiven Eindrücken aus den erwähnten anderen Studien, sprechen durchaus für einen Einsatz von Wachstumsfaktoren in der Anastomosenheilung, um die Frühinsuffizienzrate nach Darmnähten zu verringern.

Ob eine Anwendung von Stimulatoren der Wundheilung bei allen Darmanastomosen sinnvoll ist oder ob sie besonders komplikationsanfälligen Szenarien vorbehalten bleiben sollte, muß noch ermittelt werden. Natürlich ist eine Verringerung von Frühinsuffizienzen besonders wünschenswert, wenn unter Bedingungen beeinträchtigter Wundheilung, wie z.B. bei diffuser Peritonitis, operiert werden muß. Bei entsprechendem Erfolg könnte dadurch auch die Zahl sekundärer Eingriffe gesenkt werden, wie z.B. bei der Wiederherstellung der Darmkontinuität nach Hartman-Operation, die doch mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergehen kann. Außerdem bliebe den Patienten die Einschränkung alltäglicher Aktivitäten durch einen Anus praeter erspart. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, z. B. M. Crohn in der fistelbildenden Variante, könnten ein weiteres Anwendungsgebiet sein, da es in diesen Fällen zu unbeherrschbaren, rezidivierenden Ausbildungen von Fisteln kommt, auch wenn die Anastomosen in scheinbar gesunden Darmabschnitten angelegt werden. In klinischen Untersuchungen über die Wirkung von Wachstumsfaktoren sollte die Effektivität dieses Ansatzes unter normalen wie unter den oben genannten extremen Bedingungen getestet werden.

Eine anwendungsfreundlichere Applikationsform allerdings wäre wünschenswert. So gibt es, wie schon erwähnt, bereits einen Ansatz, Wachstumsfaktoren an Nahtmaterial zu binden (39). Damit wäre bei resorbierbarem Nahtmaterial gleichzeitig auch eine kontinuierliche Abgabe von Wachstumsfaktoren für eine gewisse Zeit an das Gewebe gewährleistet, ohne daß eine zusätzliche Traumatisierung der Anastomosenregion durch eine Beimpfung, wie wir sie durchgeführte haben, entstände.