

Beschleunigung der Wundheilung durch autologe Wachstumsfaktoren und Zytokine mit PeP (Platelet enriched Plasma) bei chronischen und schlecht heilenden Wunden – Klinische Anwendungsbeobachtung und Fallberichte

The acceleration of wound healing by autologous growth factors and cytokines with PeP for chronic and obstinate wounds – clinical applications, observation and case reports

M. Reber

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund: Die stimulierende Wirkung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen auf die Wundheilung ist schon seit Jahrzehnten bekannt und essenziell neben einer adäquaten arteriellen und venösen Perfusion. Das Ziel dieser Anwendungsbeobachtung ist die klinische Beurteilung des Heilungseffektes in chronischen und hartnäckigen Wunden mittels eines Plättchenkonzentrats mit autologen Wachstumsfaktoren und Zytokinen.

Material und Methode: In unserem Wundambulatorium wurde konsekutiv bei 17 Patienten mit unterschiedlichen chronischen oder schlecht heilenden Wunden autologes Plättchenkonzentrat (PeP) verwendet. Das PeP wurde durch eine Blutentnahme und anschließender Zentrifugation hergestellt, in die Wunden eingegeben. Evaluiert wurde die Verkleinerung der Wundfläche und Wundheilungszeit nach einer oder mehreren Applikationen. Endziel war der Wundverschluss oder deutliche Verbesserung der Wundsituation (Granulationsgewebe). Bei den meisten Patienten war bereits eine Applikation ausreichend, bei den übrigen Fällen zwei bis dreimal.

Ergebnisse: Die Daten wurden retrospektive ausgewertet. Das durchschnittliche Alter der 17 Patienten (10 männlich und 7 weiblich) war 66,4 Jahre (15 bis 90 Jahren). Bei 5 Patienten, die einen 100 % Wundverschluss erreichten, war die durchschnittliche Abheilungszeit 6,3 Wochen (4,3 bis 9 Wochen). 3 Patienten hatten nahezu einen vollständigen Wundverschluss (94 % bis 98 %) mit einer durchschnittlichen Heilungszeit von 4,1 Wochen. 1 Patient mit 75 % Wundflächenreduktion erreichte dies in 0,71 Wochen (5 Tagen). 4 weitere Patienten mit 41 % bis 58 % Wundflächenreduktion heilten in durchschnittlich 1,4 Wochen. 2 Patienten mit einer Reduktion von 34 % und 37 % brauchten dazu durchschnittlich 4,5 Wochen. 1 Patient hatte keine Flächenreduktion, dafür komplett neues Granulationsgewebe. 1 Patient mit einer essenziellen Thrombozythämie zeigte keine Heilungsreaktion.

Schlussfolgerung: Aufgrund der vorliegenden positiven Heilungsergebnisse scheint das Applizieren von autologem konzentrierten Plättchenplasma in chronische und schlecht heilenden Wunden eine sinnvolle und heilungsfördernde Maßnahme zu sein, welche einfach und effizient im klinischen Alltag eingesetzt werden kann. Wünschenswert wären weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven.

SCHLÜSSELWÖRTER

Thrombozyten, Wachstumsfaktoren, Zytokine, Zentrifugation, PRP, PeP, Kollagenmatrix

SUMMARY

Background: The stimulated effect of growth factors and cytokines on wound healing is well known. These factors for wound healing are very essential, in addition to adequate arterial and venous perfusion. The goal of these user observation is the clinical evaluation of the healing effect following the application of a simple produced platelet concentration with autologous growth factors and cytokine on chronic and difficult to heal wounds.

Materials and Methods: At the wound healing center, the autologous platelet concentration (PeP) was applied to different chronic and poor healing wounds of 17 patients. The PeP was prepared following blood withdrawal and centrifugation. The evaluation was based on the reduction of wound area and the wound healing time following one or several applications. The end point was the wound closure or the significant improvement of the wound situation (new granulation tissue). For most patients, one application was sufficient and for others, two or three applications were necessary.

Results: The data were evaluated retrospectively. The mean age of the patients

Dr. med. Martin Reber,
Chirurgie FMH, Leitender Arzt Chirurgie
Kantonsspital Obwalden
CH-6060 Sarnen
E-Mail: martin.reber@ksow.ch

(10 male, 7 female) was 66.4 years (range, 15 to 90 years). For 5 patients with 100 % wound closure, the healing time averaged 6.3 weeks (range, 4.3 to 9 weeks). Three patients had almost complete wound closure (range, 94 % to 98 %) with an average healing time of 4.1 weeks. One patient with a 75 % reduction of wound area reached this result in 0.7 weeks (5 days). Four further patients with 41 % to 58 % reduction of the wound area occurred on average 1.4 weeks. Two patients with a wound area reduction of 34 % to 37 % occurred on average of 4.5 weeks. One patient had minimal wound area reduction, however, complete new granulation tissue. One patient with essential thrombocythemia experienced no wound healing.

Conclusion: Based on the presented positive wound healing results, the application of autologous platelet concentration, produced through a simple methodology, is a very beneficial and supports the healing of chronic and difficult to heal wounds. This preparation can be simply produced and efficiently applied to wounds in a normal clinical setting. Further studies with a large patient group would be advantageous.

KEYWORDS

Thrombocytes, growth factors, cytokines, centrifugation, PRP, PeP, Collagenmatrix

I Einleitung

Allgemeines

Häufig liegen chronische Wunden vor, die trotz korrektem Vorgehen in der Diagnostik und Behandlung nur einen schleppenden und langwierigen Heilungsverlauf aufweisen. Die Gründe dafür können vielschichtig und nicht immer eruierbar sein. Dabei kann es sich auch um einen Mangel an Wachstumsfaktoren und Zytokinen handeln, welche in der Wundheilung eine wichtige Rolle spielen [1]. Die Idee, in Wunden plättchenreiches Plasma zu applizieren und von den freigesetzten Wachstumsfaktoren zu profitieren, ist bekannt. Bereits anfangs der 60er Jahre wurde von Schulte [2, 3] die Möglichkeit beschrieben, Wunddefekte mit autologem Eigenblut zu behandeln. Später wurde zentrifugiertes Eigenblut zur Füllung von Zysten verwendet [4]. Damals fanden diese Arbeiten international wenig Beachtung. Erst ab etwa 1996 wurden autologe Blutprodukte wieder zur Blutstillung bzw. als Gewebekle-

ber verwendet [5]. 1997 kam es zur Veröffentlichung eines Verfahrens zur Herstellung von PRP (Platelet-Rich-Plasma, plättchenreiches Plasma) [6]. Ein Jahr später wurde die erste klinische Studie zur Anwendung von PRP an Patienten in der Kieferchirurgie veröffentlicht [7]. Anwendung findet PRP heute praktisch in allen chirurgischen Disziplinen [8]:

- Orale- und maxillofaciale Chirurgie
- ORL- und Halschirurgie
- Neurochirurgie, der Orthopädie [9, 10],
- Herz- Thorax- [11] und Gefäßchirurgie,
- Plastische Chirurgie
- Wundheilung [12].

Die Herstellung von PRP erfolgte in den 90er Jahren meistens mit Geräten für maschinelle Autotransfusion in komplexen Arbeitsschritten. Heute stehen moderne Autotransfusionsgeräte mit halbautomatischen Programmen und eine Reihe von Tischgeräten von verschiedenen Anbietern zur Verfügung. Die Qualität des erzeugten thrombozytenreichen Plasmas hat im Vergleich zu den Anfängen zugenommen. Über die Erfolge existieren Veröffentlichungen mit unterschiedlichen Evidenz-Levels. Bei vielen Publikationen handelt es sich aber lediglich um Beschreibungen von Einzelfällen oder Fallserien und nur wenige Arbeiten stellen eine fundierte wissenschaftliche Untersuchung dar.

Die Rolle der Thrombozyten

Thrombozyten enthalten in den α - und δ -Granula (dense bodies) [13, 14], Wachstums- und zahlreiche Stimulationsfaktoren, welche die Wundheilung initiieren, koordinieren und stimulieren [15]. Im Körper entsteht am Verletzungsort eine Blutung mit Läsion des Endothels und subendothelialen Strukturen, Zellen und Tissue-Faktor (TF), die mit dem Blut in Berührung kommen [16, 17]. Dadurch werden komplexe Mechanismen der Blutstillung in Gang gesetzt; letztendlich kommt es zur Aktivierung der Plättchen [18]. Dies ist gleichbedeutend mit der Exozytose der Speichergranula (α -Granula, dichte δ -Granula und Lysosomen) und damit Freisetzung deren Inhalte [19]. Die aktive Sekretion beginnt innerhalb von Minuten nach dem Start der Gerinnungskaskade und mehr als 90 % werden in der ersten Stunde freigesetzt [20]. In einem Thrombozyten befinden sich über 300 aktive Moleküle, verteilt auf durchschnittlich 50–80

α -Granula, 3–5 δ -Granula und ein paar Lysosomen. Eine Applikation von Thrombozyten in eine Wunde macht dann Sinn, wenn die Wundheilung aus unterschiedlichen Gründen gestört ist. Botenstoffe können aufgrund von Mikrozirkulationsstörungen nicht aus dem Wundgebiet in den Körperkreislauf gelangen und die Wundheilung stimulieren. Dies betrifft vor allem chronische Wunden oder große Operationswunden.

Wachstumsfaktoren und Zytokine

Einige Faktoren aus dem PRP (Platelet-Rich-Plasma) oder PeP (Platelet enriched Plasma) werden nicht nur aus den Thrombozyten freigesetzt, sondern stammen aus dem Plasma und den darin befindlichen Zelle, wie Leukozyten (Tab. 1). Daneben werden auch Zytokine aus dem verletzten Gewebe z. B. durch Keratinozyten, subendotheliales und mesenchymales Gewebe, perivaskulären Zellen und extrazellulärer Matrix freigesetzt. Durch die Faktoren entstehen äußerst komplexe Interaktionen mit der extrazellulären Matrix [20].

Weitere Wachstumsfaktoren und Zytokine (Tab. 2) existieren, die wichtige Funktionen in der Wundheilung ausüben, aber die nicht direkt aus Thrombozyten stammen, sondern aus dem Plasma oder direkt aus dem verletzten Gewebe wie Fibroblasten, Keratinozyten, Makrophagen, Endothelzellen und extrazelluläre Matrix:

Die Anwendung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen zur Unterstützung der Wundheilung kann bei akuten (Operationswunden, Unterstützung der Implantateinheilung, usw.), wie auch bei chronischen Wunden erfolgen. Hauptsächlich chronische Wunden, wie Ulcera cruris, diabetische Ulzera [26] und andere stagnierende und schlecht heilende Wunden profitieren von der stimulierenden Wirkung dieser Faktoren auf die Wundheilung [27]. Chronischen Wunden verharren meist in einer andauernden Inflammationsphase [28, 29]. Es ist wichtig zu erkennen, in welcher Phase die Störung aufgetreten ist: fehlendes Granulationsgewebe, fehlende Epithelbildung, Narbenbildung, dauerne Sekretion usw. [30]. Zeigt eine Wunde nach der Reinigung oder dem Débridement einen guten weiteren Heilungsfortschritt, kann auf die Behandlung mit Faktoren verzichtet werden. Andere heilungsbehindernde Faktoren (wie z. B. chronisch ve-

Tabelle 1

Zusammenstellung der wichtigsten Wachstumsfaktoren, die aus Thrombozyten stammen, aber auch von anderen Zellen hergestellt werden. Zusammenfassung aus den Arbeiten von [22–25].

Wachstumsfaktor	Herkunft	Funktion
PDGF (Platelet-derived growth factor)	Thrombozyten, Keratinozyten, Fibroblasten, Makrophagen	stimulieren die Chemotaxis von Granulozyten, Monozyten und Fibroblasten in die Wunde, fördern Fibroblastenproliferation und Synthese der extrazellulären Matrix
FGF (Fibroblast growth factor)	Thrombozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen	stimulieren die Proliferation von Zellen aus allen drei Keimblätter (Mesoderm, Ektoderm und Entoderm). In der Wundheilung: stimuliert Angiogenese, wirkt mitogen auf Keratinozyten und Fibroblasten
PDEGF (Platelet-derived endothelial growth factor)	Thrombozyten	stimuliert die Wundheilung indirekt über die Fibroblasten und Keratinozytenproliferation
PF-4 (Platelet factor 4)	Thrombozyten	stimuliert die Migration der neutrophilen Granulozyten und zieht Fibroblasten an
VEGF (Vascular endothelial growth factor)	Thrombozyten, Keratinozyten, Fibroblasten, Makrophagen	stimuliert die Wundangiogenese und Regulator der Vaskulo-, Angio- und Lymphogenese
TGF-β (Transforming growth factor β)	Thrombozyten, Isoformen: auch aus Fibroblasten, Makrophagen	mitogen auf Fibroblasten, Chemoattraktans auf neutrophile Leukozyten, Makrophagen, Fibroblasten. Stimulieren vermutlich Reepithelialisierung, Bildung von Granulationsgewebe, Angiogenese, Myofibroblastendifferenzierung, Matrixdeposition. Fördert Wundverschluss
EGF (Epidermal growth factor).	Thrombozyten, Keratinozyten, Makrophagen	stimuliert Proliferation und Migration aller epithelialer Zellen, Produktion von Fibronectin, angiogenetische Wirkung
PDAF (Platelet-derived angiogenesis factor).	Thrombozyten	stimuliert Proliferation vaskulärer Endothelzellen, Angiogenese

nösen Insuffizienz, periphere arterielle Durchblutungsstörungen, internistische Erkrankungen, Infektionen, dermatologische Erkrankungen) müssen erkannt und allenfalls behandelt werden. Immunsuppression kann zu Wundheilungsstörungen führen [31, 32]. Experimentell konnte gezeigt werden, dass u. a. durch die Gabe von Wachstumsfaktoren (bFGF und TGF- β) der negative Effekt von Corticosteroiden auf die Wundheilung teilweise oder ganz aufgehoben werden konnte [30]. Wachstumsfaktoren in eine Tumorstunde eingeben ist eine Kontraindikation; leider fehlt die Literatur zu diesem Thema. Weitere mögliche Kontraindikationen müssen abgewogen werden, z. B. bei einer Koagulopathie, Plättchenfunktionsstörung oder Thrombozytopenie und bei antikoagulatorischer oder fibrinolytischer Therapie. Größere Blutmengen sollten bei hämodynamischer Instabilität, schwerer Hypovolämie, instabiler Angina pectoris und Sepsis nicht entnommen werden [33].

Die Einnahme von Acetylsalicylsäure oder Clopidogrel als plättchenhemmende Substanzen durch den Patienten haben keinen Einfluss auf die Ausschüttung, Konzentration oder Qualität der Wachstumsfaktoren [34].

Methoden zur Herstellung von Plättchenkonzentraten

Thrombozytenreiches Plasma (oder plättchenreiches Plasma oder PRP) kann durch Plasmapherese mit einem Autotransfusionsgerät oder einem speziellen Tischgerät aus autologem Patientenvollblut hergestellt werden. Das Trennungsprinzip beruht auf der Zentrifugalkraft, durch die sich die einzelnen Blutbestandteile aufgrund ihres unterschiedlichen spezifischen Gewichts schichtweise anordnen und anschließend separat gesammelt werden können (Plasmapherese). Das Vollblut wird durch die Zentrifugation in die Bestandteile Erythrozyten, Granulozyten/Leukozyten (Buffy coat) thrombozytenarmes Plasma (PPP: Platelet-Poor-Plasma; plättchenarmes Plasma) und thrombozytenreiches Plasma (PRP) getrennt. In einem zweiten Arbeitsschritt kann aus dem separierten PRP ein thrombinreiches Gel (autologes Plättchengel, APG) hergestellt werden [35]. Eingebracht in eine Wunde zeigt es positive Effekte bei postoperativen Nachblutungen und Schmerzen. Zur Separierung dieser Faktoren aus Patientenblut gibt es auf dem Markt mehrere apparative Vorrichtungen, mit denen man selber PRP herstellen kann, z. B. durch Plasmapherese mit einem autologen Transfusionsgerät („Cell Saver“). Die Menge des zu entnehmenden Blutes

ist abhängig von dem verwendeten Gerät; bei einem Autotransfusionsgerät sind es 350 bis 500 ml, bei einem Tischgerät etwa 20 bis 100 ml Vollblut.

Plättchenangereichertes Plasma (PeP) kann auch mit einer einfachen Methode hergestellt werden, wenn auch die Plättchenkonzentration nicht den Wert von kommerziellen Geräten erreicht. Nach einer venösen Blutentnahme wird das Röhrchen ein- oder zweimal zentrifugiert, die plättchenreiche Fraktion entnommen und dem Patienten in die Wunde eingegeben. Am Übergang von der Erythrozyten- zur Plasmaphase befindet sich eine schmale Schicht, der sogenannte „buffy coat“. Diese ist etwas trüber als das darüberliegende Plasma und enthält die Thrombozyten und auch viele Leukozyten. Ungefähr 25 % aller Thrombozyten befinden sich in dieser Fraktion, welche nur einem Bruchteil eines Milliliters entspricht. Hier ist die Plättchenkonzentration pro Volumeneinheit am höchsten [36]. Darüber liegt das plättchenreiche Plasma, das die restlichen 75 % der Thrombozyten enthält. Dieses kann auch verwendet werden, dafür muss aber mehr Volumen entnommen werden, was für kleine Wunden häufig zu viel ist. Gemäß der international verwendeten Definition der Amerikanischen Blutbank entspricht diese obere Schicht

Tabelle 2
Zusammenstellung weiterer wichtiger Wachstumsfaktoren und Zytokinen, die primär von anderen Zellen hergestellt werden. Zusammenfassung aus den Arbeiten von [22–25].

Wachstumsfaktor	Herkunft	Funktion
HGF (Hepatozyte growth factor)	Plasma	Förder Zellmigration und Angiogenese; hat antifibrotische Eigenschaft
IGF (Insulin-like growth factor-1)	aus Zellen der Epidermis, Dermis, Makrophagen und Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten), Leber	Stimulation der Fibroblasten, Myoblasten. Fördert Muskelwachstum und -regeneration.
Angiopoietine	aus perivaskulären Zellen	Stimuliert vaskuläres Endothel; Angiopoietin-1 stabilisiert die Blutgefäße, Angiopoietin-2 stabilisiert und löst Reorganisation aus
Scatter Factor (SF). Auch bekannt als plasminogen-verbundene Wachstumsfaktoren (PRGF): Hepatozyte growth factor (HGF), Macrophage-stimulating Protein (MSP)	Synthetisiert überwiegend durch mesenchymale Zellen.	wirkt auf Keratinozyten mit Migration, Proliferation, Bildung von Matrixmetalloproteinasen. Wichtige Rolle beim kutanen Defektverschluss wird vermutet
Aktive	Aus Granulationsgewebe, angrenzend an hyperproliferatives Epithel, unterhalb von Schorf und Krusten. Höchste Spiegel in suprabasalen Keratinozyten.	Induzieren Expression von Wachstumsfaktoren in dermalen Fibroblasten. Fördern Zunahme von Granulationsgewebe, erhöhte Zelldichte. Deposition von vermehrter extrazellulärer Matrix
Bone Morphogenetic Proteins (BMP)	aus regenerierender Epidermis in den Wundrändern, Fibroblasten des Granulationsgewebes	Rolle bei der Knochenbildung und ossären Wundheilung, regenerierenden Epidermis in Wundrändern, Fibroblasten des Granulationsgewebes
Pro- und antiinflammatorische Zytokine. (IL-1- α , IL-1- β , IL-6), TNF- α	polymorphonukleäre Leukozyten, Makrophagen	wichtige Rolle in der Wundreparatur, greifen in verschiedene Prozesse ein. Stimulieren indirekt die Keratinozyten- und Fibroblastenproliferation, steuern Synthese und Abbau extrazellulärer Matrixproteine, die Chemotaxis der Fibroblasten, Regulation der Immunantwort. IL-6 scheint essenziell für Wundheilung zu sein. Wirkt mitogen auf Keratinozyten der Wundränder, zieht neutrophile Granulozyten an
Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF).	Zellen des Immunsystems, Endothelzellen.	breit wirkendes Zytokin: mitogene Wirkung auf Keratinozyten, stimuliert Proliferation endothelialer Zellen. Potente Wirkung auf die Hämatopoese, wichtige Rolle in der kutanen Wundheilung. Beschleunigung der Wundepithelialisierung und Erhöhung der Keratinozytenproliferation, Neovaskularisierungsrate und Granulationsgewebebildung.
Interleukin-10 (IL-10)	Keratinozyten der Wundepidermis, infiltrierenden mononukleären Zellen	antiinflammatorisches Zytokin, wichtiger Regulator der Defektreparatur. Limitiert und beendet die inflammatorische Antwort im Wundheilungs-geschehen. Wachstumsregulator und differenziert verschiedene Immunzellen, Keratinozyten und endotheliale Zellen.

dem PRP [37, 38]. Die genauen Bezeichnungen scheinen nicht einheitlich verwendet zu werden. Da die schmale untere Fraktion über dem „buffy coat“ und den darin befindlichen 25 % der Thrombozyten keine offizielle Bezeichnung hat wird sie als Platelet enriched Plasma (plättchenangereichertes Plasma; PeP) bezeichnet, da sie nicht dem oben erwähnten PRP (Platelet-Rich-Plasma) entspricht. Je nach Wundgröße wird in der Regel nur 0,5 bis 1,0 ml Plasma benötigt, selten auch bis zu 3 ml. Es ist vorteilhaft, wenn darin zusätzlich einige Leukozyten enthalten sind. In einer kleinen Messreihe wurden die Konzentrationsverhältnisse der Thrombozyten in den verschiedenen Phasen nach der Zentrifugation evaluiert. Bei fünf gesunden Probanden wurde eine Blutentnahme

durchgeführt und jeweils 1 Na-Citratröhrchen entnommen. Die Thrombozytenkonzentration wurde maschinell im Vollblut, nach einer Zentrifugation über dem buffy coat und im Überstand gemessen. Nach einer zweiten Zentrifugation wurde die Konzentration im Bereiche des Bodensatzes und im Überstand gemessen und miteinander verglichen. Bei der Konzentration über dem buffy coat, verglichen mit jener vom Vollblut, ergab sich eine knappe 2-fache Konzentration über dem buffy coat (Konzentrationsverhältnis 1,93; range, 1,66 bis 2,28). Der Überstand verglichen mit der Konzentration über dem buffy coat zeigte einen geringeren Wert von 0,56 (range, 0,3 bis 0,69). Eine weitere Messung erfolgte nach einer zweiten Zentrifugation nur des Plasmas. Verglichen wurde die

Plättchenkonzentration des Überstandes vom 2. Spin mit der Konzentration über dem buffy coat vom 1. Spin. Es zeigte sich ein Wert von 0,84 (range, 0,42 bis 1,45) [36]. Daraus kann für die praktische Tätigkeit geschlossen werden, dass sich die höchste Plättchenkonzentration pro Volumeneinheit nach einer Zentrifugation gerade oberhalb des buffy coats befindet. Außer es würde der Bodensatz nach der 2. Zentrifugation verwendet; dort ist die Konzentration wieder hoch, aber die Menge bei einem einzigen Blutröhrchen zu gering. Steht genügend Blut zur Verfügung, kann anschließend ein „hard spin“, d. h. eine zweite Zentrifugation, durchgeführt werden. Dafür wird der „buffy coat“ mit dem Plasma nach Separierung von der Erythrozytenphase nochmals zentrifu-

giert. Dadurch entsteht ein basal liegender Thrombozytenpellet, welcher vom darüber liegenden Platelet-Poor-Plasma abgetrennt wird. Das anschließende Vermischen des Thrombozytenpellets mit einer geringen Menge PPP ergibt das Thrombozytenkonzentrat, welches in einigen Literaturangaben, eigentlich inkorrekt, als PRP bezeichnet wird [37].

I Patienten und Methode

Im Wundambulatorium des Kantonsspital Obwalden wurden insgesamt 17 Patienten mit chronischen und schlecht heilenden Wunden mittels selbsthergestellten autologen Plättchenkonzentraten behandelt. Als chronisch wird eine Wunde bezeichnet, welche nach 1–3 Monaten noch nicht abgeheilt ist, obwohl bislang diesbezüglich weltweit eine einheitliche Definition fehlt [39–41]. Die Gründe für eine schlechte Wundheilung sind zahlreich, unter anderem ein latenter Infekt, eine inadäquate Therapie oder eine Mangelernährung. Alle Patienten wurden über das Vorgehen informiert und erteilten ihre Einwilligung. Nach der Wundbeurteilung, Diagnostik und Ausschluss anderer wundheilungsstörender Faktoren wurde die Wunde gereinigt und wenn nötig débridiert. Dazu wurde eine Ringcurette oder ein Hochdruck-Mikrowasserstrahl-Gerät (Debri-tom®) verwendet. Dadurch wird subepidermales Gewebe freigelegt mit Freisetzung von Zytokinen und durch die Gefäßverletzung subendotheliale Matrix [46, 47]. Dies ist die Voraussetzung für die Thrombozytenadhäsion und deren Aktivierung, welche letztlich zur Degranulation der Wachstumsfaktoren führt. Dem Patienten werden venös 1–2 grüne (innen sterile) Citrat-Röhrchen (Coagulation 9 NC/3 ml; S-Monovette®, Sarstedt) Blut entnommen und zentrifugiert. Die Blutentnahme und die Herstellung des PeP findet an einem Ort statt. Die Röhrchen werden während 5 min. mit 2000 U/min in einer Tischzentrifuge zentrifugiert (entspricht etwa einem 360-fachen g-Wert). Nach der ersten Zentrifugation (soft spin) kann die Erythrozyten- und die Plasma-Phase gut differenziert werden. Direkt aus dem zentrifugierten Röhrchen wird unter sterilen Bedingungen mit einer 2 ml Spritze und einer 18G-Nadel der buffy coat und der unmittelbar darüberstehende Plasmaanteil entnommen. Gesamthaft ergibt es eine Menge von maximal 1 ml, was für kleine und

mittlere Wunden genügt. Wird mehr benötigt, kann noch etwas vom Überstand mitgenommen werden. Zum Einspritzen wird eine dünne Nadel, 22G oder 25G, benutzt. Es wird kein überschüssiges Plasma für spätere Verwendungen eingefroren und der Rest entsorgt. Das PeP wird auf den Wundrand, das subkutane Gewebe und auf den Wundgrund tröpfchenweise eingegeben.

Danach wird die Wunde vollständig mit einer Kollagenmatrix (mit oder ohne oxidierte regenerierter Cellulose, z. B. mit Promogran Prisma® oder Kollagen Suprasorb C®) ausgefüllt. Dadurch wird eine provisorische extrazelluläre Matrix bereitgestellt, die im Verlaufe der Wundheilung durch die natürliche ersetzt wird. Die Wunde wird mit einer sterilen wasserdampfdurchlässigen Folie abgedeckt. Der Verband wird für 5 Tage belassen und dann kontrolliert. Bereits nach dieser kurzen Zeit ist häufig schon eine positive Heilungsreaktion sichtbar mit Auffüllung des Wundgrundes oder neugebildetem Granulationsgewebe. Die Kollagenmatrix reduziert sich volumenmäßig im Verlaufe des Heilungsprozesses und verändert sich farblich ins bräunliche bis lachsfarbige. Die Wunde kann wenn nötig erneut sorgfältig debridiert und gereinigt werden. Die noch vorhandene Kollagenmatrix sollte möglichst belassen werden. Entweder erfolgt eine erneute PeP-Applikation oder es wird eine frische Kollagenmatrix eingelegt und die Wunde neu abgedeckt.

Die Patienten wurden regelmäßig nachkontrolliert; anfänglich sind Kontrollen etwa alle 4–5 Tage erfolgt, danach in größeren Abständen. Grundsätzlich kann die PeP-Applikation mehrmals wiederholt werden; entscheidend ist der Heilungsverlauf. Der Heilungsverlauf der Wunden wurde bei jeder Konsultation dokumentiert und fotografiert.

Die Wundflächen wurden planimetrisch direkt ausgemessen oder anhand von Fotos in Quadratzentimeter ausgerechnet. Der genaue zeitliche Heilungsverlauf in Wochen wurde erfasst, sowie auch subjektive Empfindungen und besondere Vorkommnisse. Endpunkte waren das Erscheinen von frischem Granulationsgewebe, die Stimulation der Wundheilung oder der Wundverschluss. So konnten einige Wundbehandlungen bei gutem Verlauf schon vor dem definitiven Verschluss im Ambulatorium abgeschlossen werden.

Bei keinem Patienten wurde eine abnorme Reaktion oder Nebenwirkung auf die Applikation des Plättchenkonzentrates festgestellt. Das PeP konnte jeweils schmerzfrei in die Wunden appliziert werden. Nach Behandlungsabschluss wurde der Patient in die hausärztliche Weiterbetreuung entlassen und die Behandlung im Ambulatorium abgeschlossen.

I Ergebnisse

In der Zeit vom 31. Oktober 2013 bis 27. März 2015 wurde bei 17 konsekutiv ausgewählten Patienten (10 männlich, 7 weiblich) PeP angewendet (Tab. 3). Drei der ursprünglich 20 Patienten wurden wegen fehlenden oder ungenauen Verlaufswerten ausgeschlossen. Alle Daten wurden retrospektive ausgewertet. Das Durchschnittsalter betrug 66,4 Jahre (15 bis 90 Jahre, median 73 Jahre). In diesen 17 Monaten wurden insgesamt 33 PeP-Anwendungen durchgeführt. Bei den meisten Patienten waren die Wunden schon längere Zeit vorbestehend und vorbehandelt worden, entweder extern (Hausarzt, Spitex) oder später im Wundambulatorium. Die Wunden bestanden median schon 8 Wochen (0,6 Wochen bis 24 Wochen) bevor die Patienten im Wundambulatorium erschienen und dort weiter behandelt wurden. Die Zeit vom Behandlungsbeginn im Ambulatorium bis zur ersten PeP-Anwendung betrug 0 bis 29,3 Wochen (median 3,4 Wochen). Nur bei zwei Patienten wurden sofort in der ersten Sitzung Faktoren appliziert. Insgesamt handelte es sich bei den Wunden um 7 Ulcera cruris venosum, 2 Ulcera cruris mixtum, 2 traumatische Ulzera, 1 DFS (Diabetisches Fuß-Syndrom), 2 Sinus pilonidalis, 1 Zehendruckulkus, 1 Wunde nach Metallentfernung und 1 Druckulkus über dem Trochanter major nach diversen Voroperationen.

Die initialen Wundflächen variierten zwischen 0,2 cm² und 24,1 cm², durchschnittlich 4,3 cm² (median 1,8 cm²). Die Wundflächen wurden bei der ersten Konsultation als 100 % definiert. Nach dem Behandlungsstart im Vorfeld der ersten PeP-Verabreichung wurden 7 Wunden kleiner, 6 stagnierten in gleicher Größe und 4 Wundflächen vergrößerten sich. 2 Wunden (Pat. 11 und Pat. 12) wurden nur geringfügig größer (1,1- und 1,07-fach).

Bei Patient 13 war die initiale kleinere Wundfläche bekannt und vergrößerte sich bis zur ersten Konsultation. Eine Wunde

Tabelle 3
Patientendaten zu Vorbehandlungszeiten, Heilungszeiten, Wundgrößen und Wundart.

Patientenangaben			Vorbehandlungszeit		Wundfläche in cm ²			Ab- schluss	Zeit ¹	Anzahl ²	Wundtyp
#	Alter	m/w	auswärts	intern	initial	vor 1. PeP					
1	86	w	46,3	29,3	0,2	0,54	0	6,9	3	Ulcus cruris Malleolus lat,	
2	69	m	7,7	3,4	2,75	1,9	1,26	4,6	3	Diabetisches Fuß Syndrom	
3	30	m	5,4	0	0,5	0,5	0,03	4,1	1	Sinus pilonidalis	
4	15	m	15,2	3,7	0,35	1,6	0,03	7,3	3	Druckkulkus Großzehen	
5	63	m	12	11,9	1,8	1,6	0,4	0,7	1	Wunde prätibial nach Metallent- fernung	
6	90	w	20,3	4,3	10,7	10,7	10,7	1	1	Ulcus cruris mixtum med, Mal- leolus	
7	76	m	4,6	2,6	7,2	6,5	3,6	1,4	2	Traumatisches Ulkus prätibial	
8	73	m	27,6	3,6	0,8	0,8	0,4	2,10	3/2	Druckkulkus über Trochanter major	
9	81	w	1,2	0,6	24,1	24,1	14,2	0,9	1	Ulcus cruris venosum Unterschenkel	
10	48	m	6	3	1	0,48	0,03	1	2	Ulcus cruris venosum med, Malleolus	
11	54	m	11,4	6	2,2	2,5	0	4,9	1	Sinus pilonidalis	
12	80	w	2,1	1	3,9	4,2	4,2	0,9	1	Ulcus cruris venosum med, Malleolus	
13	80	m	20	0	2	11,5	4,8	1,1	2	Traumatische Ulcus cruris mixtum	
14	53	w	8,7	1,7	0,45	0,45	0	4,3	1	Ulkus US nach Blasenbildung	
15	65	m	36	12	3,7	1,7	0	6,7	1	Ulcus cruris venosum Wade	
19	77	w	34,3	28,3	0,6	0,32	0	9	1	Ulcus cruris venosum nach Varixknotenblutung	
20	90	w	15	3	0,8	0,8	0,5	4,4	1	Traumatisches Ulkus prätibial	

(Pat. Nr. 1) wurde unter der Behandlung mit einer Lappenplastik und anschließender Thierschung nach NPWT-Konditionierung bis zu 2,7-fach größer. Erst die Applikation von PeP gab den nötigen Heilungsstimulus. Die Wunde von Pat. Nr. 4 zeigte ein ähnliches Verhalten mit vorübergehender

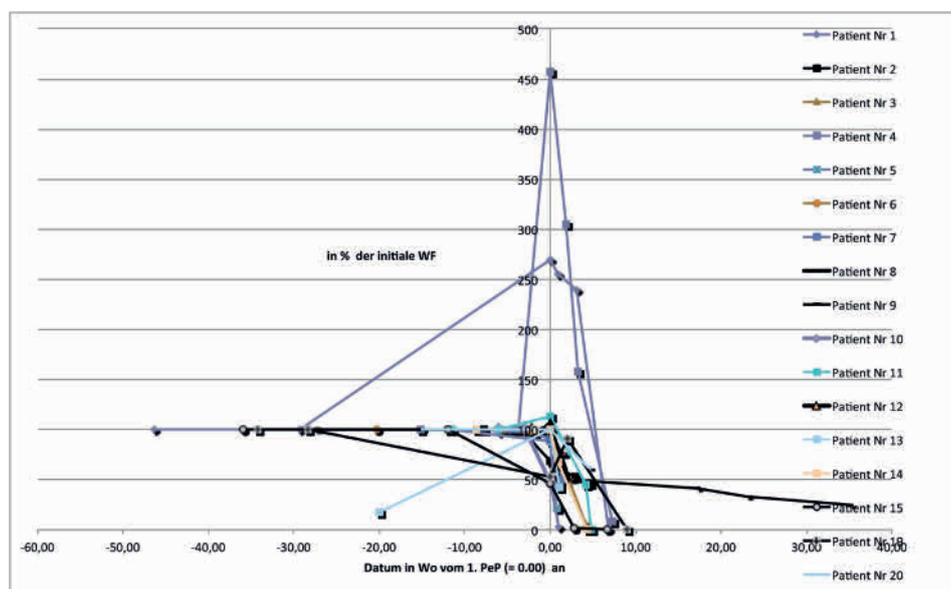
der 4,5-facher Vergrößerung aber gefolgt von einer raschen Abheilung nach der Einbringung von PeP in die Wunde.

Bei 10 Patienten wurde nur eine einzige PeP-Anwendung durchgeführt, bei 2 Patienten 2 mal, bei 4 Patienten 3 mal und bei 1 Patienten erfolgte eine zweite Serie

mit einer erneuten zweimaligen Anwendung. Bei diesem Patienten (Pat. Nr. 8) mit einer schlecht heilenden narbigen Wunde über dem Trochanter major zeigte sich nach der ersten PeP-Instillation eine anfängliche Besserung der Heilung, stagnierte aber wieder, so dass eine zweite Anwen-

Abbildung 1

Grobübersicht über die Zeitverhältnisse und die prozentualen Wundflächenverläufe aller Patienten. Auf der X-Achse gibt 0.00 den Zeitpunkt der ersten PeP-Anwendung an. Alle Patientenkurven sind auf diesen Zeitpunkt ausgerichtet, damit eine Vergleichbarkeit möglich ist. Von 0,00 aus nach links sind die Wundflächenverläufe durch die Vorbehandlungen sichtbar. Pat. 1 und Pat. 4 sind Ausreißer, bei denen unter der Vorbehandlung die Wundfläche sogar deutlich zunahm, aber sofort nach der ersten PeP-Anwendung in Kürze abheilten. Ein weiterer Ausreißer ist Pat. 8, dessen Wunde nicht abheilte, aber doch kleiner wurde und nach 35 Wochen nur noch 25 % der Ausgangswundfläche hatte. Gut erkennbar ist die meistens lange Vorbehandlungszeit gegenüber der deutlich kürzeren Abheilungszeit nach der PeP-Applikation (rechts von 0,00 auf der x-Achse).



dungs-Serie im Abstand von 15 Wochen durchgeführt wurde. Bei den zweimaligen Anwendungen betrug der zeitliche Abstand median 8 Tage (5 Tage bis 11 Tage), bei 3 Anwendungen betrug er median 9,5 Tage (6 Tage bis 16 Tage).

Es wurde die jeweils prozentuale Wundflächenreduktion berechnet, d. h. die aktuelle Wundfläche in cm² gerade vor der ersten Wachstumsfaktorenapplikation (entspricht 100 %) im Verhältnis zu der Fläche bei Behandlungsabschluss. Bei 5 Patienten betrug diese 100%, d. h. kompletter Wundverschluss, bei 3 Patienten zwischen 94 % und 98 %, bei 3 Patienten zwischen 50 % und 75 % und bei 4 Patienten zwischen 34 % und 45 %. Bei 2 Patienten zeigte sich keine Wundflächenreduktion: bei Pat. Nr. 6 bestand die Diagnose einer nicht näher abgeklärten essenziellen Thrombozythämie. Aufgrund der völlig ausbleibenden Reaktion auf die PeP-Applikation muss von funktionsgestörten Thrombozyten ausgegangen werden. Bei Pat. Nr. 12 konnte auch keine Reduktion der Wundfläche festgestellt werden, jedoch entstand auf dem ganzen Wundareal frisches Granulationsgewebe. Die Wunde konnte unmittelbar danach mit Thierschhaut gedeckt werden. Die Patientendaten sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Weiterhin wurde der zeitliche Verlauf der Heilung vom Zeitpunkt der ersten Faktoren-Applikation bis zur Schlussbeurteilung untersucht. Bei 5 der Patienten, die einen 100 %igen Wundverschluss erreichten, war die durchschnittliche Abheilungszeit 6,3 Wochen (4,3 bis 9 Wochen, median 6,7) (Abb. 1 und Detail Abb. 2).

3 Patienten hatten nahezu einen vollständigen Wundverschluss von 94 % bis 98 % mit einer durchschnittlichen und medianen Heilungszeit von 4,1 Wochen.

Alle 8 Patienten zusammen betrachtet hatten eine durchschnittliche Heilungszeit von 5,5 Wochen (median 5,8). Ein Patient (Nr. 5) mit 75 % Wundflächenreduktion erreichte dies in 0,7 Wochen (5 Tagen). 4 weitere Patienten mit 41 % bis 58 % Wundflächenreduktion erreichten dies in durchschnittlich 1,4 Wochen. Zwei Patienten mit einer Reduktion von 34 % und 37 % benötigten dazu im Schnitt 4,5 Wochen.

Alle 15 Patienten mit einer Wundflächenreduktionsrate von 34 % bis 100 %, die eine gute Heilung bis hin zum kompletten Wundverschluss aufwiesen, benötigten dafür durchschnittlich 3,9 Wochen (0,71 bis 9 Wochen, median 4,3).

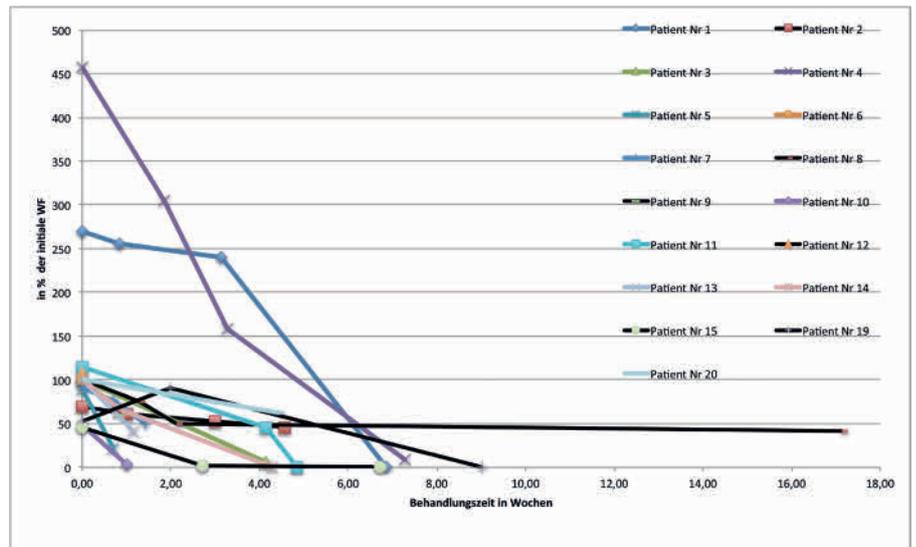


Abbildung 2
Vergrößerung des unübersichtlichen Ausschnitts von Abbildung 1. 0,00 auf der X-Achse (Behandlungszeit in Wochen) zeigt den Startzeitpunkt der 1. Pep-Verabreichung und die rasche Wundflächenreduktion, außer bei Pat. 8.

I Fallbeispiele

Im folgenden werden 6 Patienten-Beispiele näher erläutert:

Fall 1

Eine 86-jährige Patientin (Nr. 1) stellte sich mit einem spontan aufgetreten kleinen Ulkus über dem rechten Malleolus lateralis vor (Abb. 3). Die Gefäßabklärung (arteriell, venös) war altersentsprechend und unauffällig, es bestand auch kein Infekt.

Über mehrere Monate wurde versucht, mit konservativem Vorgehen die Wunde zum Abheilen zu bringen. Auch die folgende Lappenplastik war nicht erfolgreich, wie auch die oberflächliche subperiostale Kortikalisresektion mit NPWT-Konditionierung des Wundgrundes und anschließender Thierschhautdeckung (Abb. 4). Sogar ein gegenteiliger Effekt stellte sich ein



Abbildung 3
Chronisches Ulkus über dem Malleolus lateralis rechts. Initiale Wundsituation bei der ersten Konsultation im Wundambulatorium.

und die Wundfläche vergrößerte sich um den 2,7-fachen Wert der Ausgangsfläche. Lediglich präsentierte sich ein deutlich vitaler Wundgrund und wies kaum mehr inerte Anteile auf (Abb. 5). Anschließend wurden insgesamt 3 PeP-Applikationen von je 0,5 ml bis 1 ml über einen Zeitraum von 3 Wochen durchgeführt. Die Wunde heilte innerhalb 7 Wochen vollständig ab (Abb. 6).

Fall 2

Bei einem 70-jährigen Patienten mit einem diabetischen Fußsyndrom (DFS) links, initial II B nach Wagner/Armstrong, und einem schon mehrere Monate behandelten



Abbildung 4
Situation nach einer Z-Plastik, anschließender subperiostaler tangentialer Kortikalisresektion zur Druckverminderung, NPWT-Konditionierung des Wundbettes und Thierschung. In der Folge weiter unbefriedigende Situation mit ausbleibender Heilungstendenz und Vergrößerung des ursprünglichen Wundareals.



Abbildung 5
Nur geringe Verkleinerung der Wundfläche durch weitere konservative Therapie. Situation vor der ersten PeP-Applikation.

infiziertem Druckkulus am Kleinzehen rechts besteht nur ein langsamer Heilungsfortschritt. Ausgeprägt war die Taschenbildung (Abb. 7). Nach insgesamt 3 PeP-Applikationen von je 1 bis 2 ml innerhalb von 4 Wochen füllte die Wunde eindrücklich mit Granulationsgewebe bis auf Hautniveau auf (Abb. 8) mit konsekutiver Wundflächenreduktion (Abb. 9).

Fall 3

Bei einem jungen 30-jährigen Patienten (Nr. 3) wurde ein Sinus pilonidalis durch eine Fistulektomie operiert und die Wunde bei sauberen Verhältnissen partiell verschlossen. Die schmale Wundhöhle war ca. 4,5 cm tief. 5,4 Wochen postoperativ wurde nur einmal ca. 3 ml PeP und Kollagen in die Höhle eingebracht. Gute 4 Wochen später war die Wunde fast zu und die Wundhöhle aufgefüllt (Abbildung 10). Zu keiner Zeit trat ein Infekt auf.



Abbildung 6
Knapp 7 Wochen später kurz vor dem definitiven Wundverschluss nach insgesamt drei PeP-Applikationen.

Fall 4

Ein 15-jähriger Patient (Nr. 4) mit einer Spina bifida hat aufgrund seiner Erkrankung ein spezielles Gangbild mit außenrotiertem rechtem Fuß und in der Folge durch das Abrollen des Fußes eine chronische, seit Jahren bestehende Druckstelle am rechten medialen Großzehen entwickelt. Einigen Monaten zuvor trat dort ein Infekt bis in die Tiefe auf, welcher nie richtig ausheilte. Trotz Verbesserung der Druckentlastung, bestand eine in etwa stationäre Wundfläche (Abb. 11). Nach Einbringung von total 3 PeP-Dosen von je 1 ml und Kollagen heilte die Wunde im Verlaufe von 7,3 Wochen bis auf eine kleine Restgröße von einem ca. 5 mm langen Schlitz ab (Abb. 12).

Fall 5

Ein 63-jähriger Patient (Nr. 5) hatte einen problematischen Verlauf nach einer Unterschenkelfraktur links mit Fehlstellungen

und Implantat-Infekt. Nach der Metallentfernung und Infektsanierung wurde ein Fixateur externe angebracht worauf die Fraktur in einer nur noch leichten Fehlstellung vollkommen ausheilen konnte. Nach der zeitgerechten Fixateur-Entfernung blieb prätibial eine nur langsam heilende und anfänglich stark sezernierende Wunde übrig. Die Wundheilung wurde negativ beeinflusst durch einen Alkohol- und Nikotinabusus und initial ausgeprägtem Lymphödem des gesamten Unterschenkels. Nach 12 Wochen ambulanter Behandlung war die äußere Wundgröße immer noch fast unverändert (Abb. 13). Nach Déridement des nach innen wachsenden Wundrandes, einer einmaligen Applikation von ca. 1,5 ml PeP und komplettem Auffüllen der Wunde mit Kollagen bis auf Hautniveau heilte sie in 5 Tagen bis auf einen ca. 15 mm langen Schlitz zu (Abb. 14). Es wurde nur noch etwas Kollagen nachgegeben.

Fall 6

Die einzige erfolglose Therapie eines unklaren Ulkus über dem Malleolus medialis rechts war bei einer 90-jährigen Patientin (Nr. 6) zu verzeichnen. Bei ihr ist eine langjährige Diagnose einer essenziellen Thrombozythämie bei wahrscheinlich primärer Myelofibrose bekannt. Trotz einer PeP-Anwendung zeigte die Wunde keinerlei Reaktion, obwohl eine altersentsprechende ausreichende arterielle und venöse Versorgung nachgewiesen werden konnte. Es musste dabei eine gestörte Thrombozytenfunktion postuliert werden.



Abbildung 7
Tiefe, in Abheilung begriffene Infektwunde an der lateralen Fußkante links an der Basis des Kleinzehens gegen plantar auslaufend. Schlecht sichtbar ist die an der planta pedis gelegene tiefe Wundtasche. Bisher bestand eine zögerliche Wundheilung.



Abbildung 8
Gleicher Wundort wie Abb. 7, d. h. Laterale Fußkante links. Bereits zwei Wochen später nach 2 PeP-Applikationen ist die plantare Tasche auf Hautniveau aufgefüllt und die Wundfläche kleiner geworden.



Abbildung 9
Gleicher Wundort wie Abb. 7, d. h. Laterale Fußkante links. Zustand nach 4,5 Wochen und nach insgesamt 3 PeP-Applikationen mit deutlich kleinerer Restwunde.



Abbildung 10
Die Wundsituation kurz vor dem definitiven Wundverschluss eines Sinus pilonidalis nach Fistulektomie. Die ursprüngliche ovale Wundöffnung ist noch gut zu erkennen



Abbildung 11
Nach 4 Monaten Therapie ist die Wunde am rechten Großzehen eher größer als kleiner geworden. Es besteht zudem eine Mazeration der umgebenden Haut durch die Verbände. Das Bild zeigt die Wundsituation vor der ersten PeP-Applikation.



Abbildung 12
Fast vollständige Abheilung nach 7,3 Wochen und 3-maliger Anwendung von je 1 ml PeP heilte die Wunde rasch zu bis auf eine kleine Restwunde, welche sich nach konsequenter Anwendung einer Pelotte zur Druckentlastung definitiv verschloss. Das Bild zeigt die Situation nach 6,5 Wochen.

I Diskussion

Voraussetzung für eine gute Wundheilung ist nicht nur das Vorhandensein einer adäquaten arteriellen und venösen Blutversorgung, sondern auch die Präsenz von Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Bei chronischen und schlecht heilenden Wunden bewirkt die Zugabe von Wachstumsfaktoren und Zytokinen in Form eines Thrombozytenkonzentrats aus autologem Plasma einen äußerst positiven Stimulus auf die Wundheilung. Auch in anderen medizinischen Bereichen konnte ein solcher Effekt schon lange aufgezeigt und genutzt werden. Gerade in der frühen Phase der Wundheilung sind Wachstumsfaktoren und Zytokine unverzichtbar, da diese wichtige Heilungsprozesse steuern [15, 43, 44]. Auf dem Markt sind kompakte Gerätschaften für die Herstellung von PRP verfügbar. Trotz der begrenzt möglichen Vergleichbarkeit der Thrombozyten-Konzentrierungsfähigkeit bei verschiedenen Herstellungsverfahren durch Studien zeigt sich eine zwei- bis dreifache Thrombozyten-

konzentration gegenüber Vollblut als sinnvoll um einen klinisch relevanten biologischen Effekt zu erzeugen [38]. Eine mehr als fünffache Thrombozyten-Konzentration scheint dann wieder einen ungünstigen Effekt aufzuweisen, was auch in-vivo Tierversuche bestätigen konnten [45–47]. Diese Feststellungen wurden aber vor allem im Bereiche der Knochenheilung gemacht. In anderen Untersuchungen geht man von der 6- bis 8-fachen Thrombozytenkonzentration aus, die aber dann noch mit Thrombin gemischt werden (z. B. APG; Autologous Platelet Gel) [33].

Für kleinere Mengen konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass auch mit einem einfachen Herstellungsverfahren ein ca. 2-faches (1,66 bis 2,28) Plättchenkonzentrat hergestellt werden kann, welches in die Wunde appliziert positive Heilungseffekte zeigt. Bereits mit 0,5 bis 1 ml PeP in ein- oder mehrmaliger Anwendung kann innert weniger Tage ein Heilungseffekt beobachtet werden. In der vorliegenden Untersuchung heilten Wun-

den, die monate- oder wochenlang vorbehandelt wurden, median innert 4 Wochen ab (0,71 Wochen bis 9 Wochen). In dieser Zeit heilten bei 8 von gesamthaft 17 beurteilten Patienten die Wunden komplett oder fast komplett ab (94 % bis 100 %). Bei 7 Patienten zeigte sich eine gut fortschreitende, stimulierte Wundheilung mit Flächenreduktion (34 % bis 75 %) und frischem Granulationsgewebe. 1 Patient wies keine Reduktion der Fläche auf, aber durch den Faktoreffekt bildete sich neues Granulationsgewebe; und 1 Patient zeigte aufgrund einer essenziellen Thrombozythämie keinerlei Reaktion auf die Wachstumsfaktoren und Zytokine bei vermuteter Funktionsstörung der Thrombozyten. Die festgestellten Effekte waren:

1. Zuvor nur langsam, kaum heilende oder stagnierende Wunden wurden zur Heilung stimuliert
2. rascher Aufbau von Granulationsgewebe
3. Schnelle Wundflächenverkleinerung
4. Gesamthaft beschleunigte Wundheilung



Abbildung 13
Hartnäckige Wunde nach Fixateur-externe-Entfernung. Es liegen saubere und kaum noch sezernierende Wundverhältnisse vor. Applikation von ca. 1,5 ml PeP.



Abbildung 14
Die gleiche Wunde wie Abbildung 11 nach 5 Tagen. Der Wundgrund ist fast vollständig aufgefüllt und die Öffnung nur noch schlitzförmig.

Es konnten keinerlei Nebeneffekte oder unerwünschte Reaktionen beobachtet werden und alle Behandlungen waren ambulant und schmerzfrei durchführbar.

Mit dieser klinischen Anwendungsbeobachtung konnte der positive Heilungseffekt einer modifizierten Aufbereitung und Anwendungsform einer bereits bekannten Methode bei der Behandlung von chronischen und schlecht heilenden Wunden aufgezeigt werden. Die Wachstumsfaktorenapplikation ist generell bei den oben erwähnten Wunden indiziert; auch bei einer gut heilenden Wunde könnte die Heilung beschleunigt werden, wofür aber

keine randomisierten kontrollierten Studien vorliegen. Die Anwendung der beschriebenen Methode sollte nur unter ärztlicher Indikationsstellung und Aufsicht erfolgen. Es ist eine wirksame, wirtschaftliche und rasch anwendbare und einfache Methode zur Unterstützung der Wundheilung.

In der Literatur wurden bereits mehrfach und seit längerem diese positiven Effekte von in eine Wunde eingebrachten Wachstumsfaktoren und Zytokinen beschrieben, besonders zur Unterstützung der knöchernen Regeneration in der Zahnmedizin [2] der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie [48]. Erstmals wurde 1997 die Herstellung von Platelet-Rich-Plasma (PRP) beschrieben [38]. Erst später konnte auch gezeigt werden, dass plättchenreiches Plasma einen ebenso positiven Einfluss auf die Wundheilung in den verschiedensten Gebieten der Chirurgie hat [20]. Gerade bei der Behandlung des diabetischen neuropathischen Fußulkus zeigte eine amerikanische Studie nach Auswertung von mehreren Tausend Patienten, dass der Einsatz von PR (Platelet releasate) eine effektivere Wundheilung gegenüber einer Standardtherapie zur Folge hatte [49]. Einzig eine französische Arbeit berichtet über keinen signifikanten Effekt von topisch angewendeten autologen Plättchen [50]. Die randomisierte doppelblind und plazebokontrollierte Studie wurde bei 15 Patienten mit chronischen schlecht heilenden venösen Ulzera durchgeführt. Die Plättchensuspensionen wurden aufgeteilt und bis zum Gebrauch eingefroren und die Wunden vor der Plättchenapplikation nur mit Salzlösung gereinigt. Die Autoren vermuten für den ausbleibenden Heilungseffekt der Plättchenprodukte die zerstörende Wirkung durch Wundproteasen. Dies zeigt erneut die Wichtigkeit des Wunddebridements vor der Plättchenapplikation. Wiederum einen positiven Effekt konnten chinesische Wissenschaftler beim Einsatz von topischem thrombozytenreichem Plasma (PRP) bei chronischen therapieresistenten Weichteil-Wunden [51] feststellen, welches bei 3 Patienten mit chronischen nichtheilenden Wunden eingesetzt wurde. In der 2011 publizierte Arbeit kamen sie zum Schluss, dass dies effektiv sei und eine wirkungsvolle und neue Behandlungsmethode ist.

Vorübergehend war ein rekombinantes PDGF-BB-Gel (Becaplermin 0,01 %) verfügbar, welcher v. a. bei diabetischen

Fußulzera angewendet wurde und eine raschere Abheilung zeigte [52]. Nach der Entdeckung eines 5-fach erhöhten Risikos für eine malignombedingte Mortalität bei der Verwendung von 3 oder mehr Tuben dieses Gels, wird seit 2008 empfohlen die Indikation zur Anwendung unbedingt kritisch abzuwägen [53].

| Schlussfolgerung

Das Einbringen von Wachstumsfaktoren und Zytokinen mittels autologem PeP (plättchenangereichertem Plasma), hergestellt durch eine einfache Methode und gewonnen aus patienteneigenem Blut scheint in Fallbeobachtungen eine sehr wirkungsvolle Behandlungsmethode für die Beschleunigung der Heilung bei schlecht heilenden Wunden zu sein. Speziell bei chronischen und hartnäckigen Wunden konnte dies eindrücklich bei 17 Patienten gezeigt werden. Die Methode ist in der täglichen Routine einfach, rasch und für den Patienten unbelastet anwendbar. Es wäre wünschenswert, wenn die Heilungsbeschleunigung durch weitere Studien und größere Patientenkollektive die Methode belegt werden könnte.

| Rechtliches

In Deutschland gilt die Übertragung (Transplantation) von thrombozytenreichem Plasma als Herstellung eines Arzneimittels, wenn der behandelnde Arzt oder Zahnarzt es selbst hergestellt haben [54]. PRP unterliegt dem Transfusionsgesetz [55]. In Deutschland braucht es dafür keine Herstellungserlaubnis, sofern das Blutprodukt durch einen Arzt oder eine sonst berechtigte Person und unter der unmittelbaren fachlichen Verantwortung zum Zwecke der persönlichen Anwendung bei einem bestimmten Patienten hergestellt wird.

In der Schweiz sind alle diese Präparate als Arzneimittel im Sinne des Heilmittelgesetzes zu betrachten [56]. Aufgrund ihrer patientenspezifischen Herstellung und Anwendung werden diese Präparate als Magistralrezepturen (Formula magistralis) eingestuft [56] im Sinne von Art. 9 Abs. 2 Bst. A HMG. Bei der Verwendung von geschlossenen Systemen wie z.B. das GPS-System [57] handelt es sich um eine Zubereitung zur Anwendung und wäre daher nicht bewilligungspflichtig. Einerseits bedeutet dies eine Befreiung von der Zu-

lassungspflicht, andererseits darf die Herstellung nur in öffentlichen Apotheken oder Spitalapotheken (oder in einem von einer solchen Apotheke beauftragten Betrieb mit Herstellungsbewilligung) vorgenommen werden. Die Herstellung kleiner Mengen ist gestützt auf eine ärztliche Verschreibung und unter Einhaltung der Regeln der „guten Herstellungspraxis“ für Arzneimittel. Gemäß Angaben von der swissmedics bedarf es keiner nationalen Bewilligung. Für die Bewilligungserteilung und Überwachung der genannten Herstellbetriebe ist in der Regel die kantonale Vollzugsbehörde zuständig [56]. Diese kann die notwendigen Arbeitsschritte an die entsprechende Spitalapotheke delegieren. In einem solchen Falle ist es am sinnvollsten direkt mit der Leitung der Spitalapotheke Kontakt aufzunehmen.

| Danksagung

Ein großer Dank für die Mitarbeit, Unterstützung und Beratung geht an unsere Wundexpertinnen des Wundambulatoriums im Kantonsspital Obwalden, Irma Nuffer und Sonja Hess; an die Leiterin unseres Spitallabors Frau Iseli Li Tu Yen; an die Kantonsapothekerin der Zentralschweiz, Frau Dr. pharm. Regula Willi, an Frau Dr. pharm. Katharina Bracher, Chefapothekerin Kantonsspital Luzern und an Herrn Florian Mitscherlich, lic. iur. für die Beratung in rechtlichen Fragen.

| Interessenkonflikt

Es besteht kein Interessenkonflikt.

| Literatur

1. WERNER S, GROSE R: Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines, *Physiol Rev.* 2003; 83: 835–870.
2. SCHULTE WV: Die Eigenblutfüllung: eine neue Methode zur Versorgung größerer Knochendefekte nach intraoralen Eingriffen. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1960;12:910–914.
3. SCHULTE WV: Die Retraktion des Blutgerinnsels und ihre Bedeutung Für die primäre Heilung von Kieferknochen. München: Carl Hans Verlag 1964.
4. WHITMAN DH, BERRY RL, GREEN DM: A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1998; 56:1217–1218.
5. YAMAMOTO K, HAYASHI J, MIYAMURA H, EGUCHI S: A comparative study of the effect of autologous platelet-rich plasma and fresh autologous whole blood on haemostasis after cardiac surgery. *Cardiovascular Surgery* 1996; Februar 4(1): 9–14.

6. WHITMAN DH, BERRY RL, GREEN DM: A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1998; 56:1217–1218.
7. MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM, SCHIMMELE SR, STRAUSS JE, GEORGEFF KR: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery Endod* 1998; 85(6): 638–646.
8. SMITH RG ET AL: Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications; The Journal of Lancaster General Hospital, 2007, Vol.2, No 2.
9. LIPPROSS S, ALINI M: Platelet-rich plasma for bone healing-to use or not to use?, *AODialogue* 1/2007.
10. MÜLLER AM, VAVKEN P: Die Rolle von „platelet-rich plasma“ in der Rotatorenmanschettenrekonstruktion. *Leading Options; Orthopädie & Rheumatologie*, 2/2014.
11. GIORDANO GF, RIVERS S, CHUNG GKT, MAMMANA RB, MARCO JD, STRUG BS: Autologous Platelet-Rich-Plasma in Cardiac Surgery: Effect on Intraoperative and Postoperative Transfusion Requirements. *Annals of Thoracic Surgery* 46 (1998) 416–419.
12. VAVKEN P ET AL: Platelet-rich Plasma (PRP) – Wundermittel oder Hokusfokus?, *Leading Options, Orthopädie & Rheumatologie* 1/2012
13. KEMKES-MATTHE B ET AL: Blutgerinnung und Thrombose, 2. Aufl., 1998, Thieme.
14. HARENBERG J: Thrombose und Antikoagulation, 2003, Thieme.
15. BARRIENTOS S, STOJADINOVIC O, GOLINKO MS, BREM H, TOMIC-CANIC M: Growth factors and cytokines in wound healing, *Wound Rep Reg* (2008) 16: 585–601.
16. JURK K, KEHREL BE: Die zentrale Rolle der Thrombozyten im neuen Verständnis der Hämostase; *Hämostaseologie* 1/2005; Schattauer Verlag 2005.
17. KEHREL BE: Blutplättchen: Biochemie und Physiologie; *Hämostaseologie* 4/2003, Schattauer Verlag 2003.
18. CLEMETSON KJ, CLEMETSON JM: Platelet GPIIb-IIIa complex. Structure, function, physiology, and pathology. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21(2):130–6.
19. GOLEBIEWSKA EM, POOLE AW: Secrets of platelet exocytosis – what do we really know about platelet secretion mechanisms? *British Journal of Haematology*. 2014;165, 204–216.
20. SMITH RG ET AL: Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications, *J of Lancaster General Hospital*, 2007, 2:2, 73–78.
21. SCHULTZ G S, WYSOCKI A: Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing, *Wound Rep Reg* (2009) 17 153–162.
22. WERNER S, GROSE R: Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines; 2003; *Physiological Reviews* (83); 2003:835–870).
23. DAVIDSON JM: Growth Factors and Extracellular Matrix in Wound Repair, Chapter 3, *Wound Healing*, 4th Edition, Philadelphia; F. A. Davis Company, 2010.
24. ANITUA E, ANDIA I ET AL: Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration; *Thromb Haemost* 2004; 91:4–15.
25. BARRIENTOS S, STOJADINOVIC O, GOLINKO MS, BREM H, TOMIC-CANIC M: Growth factors and cytokines in wound healing, *Wound Rep Reg* (2008) 16 585–601.
26. MARGOLIS DJ ET AL: Effectiveness of Platelet Release for the Treatment of Diabetic Neuropathic Foot Ulcers, *Diabetes Care* 24:483–488, 2001.
27. KNIGHTON DR, FIEGEL VD ET AL: Classification and Treatment of Chronic Nonhealing Wounds, *Ann Surg*, 1986, Vol 204, 3:322–29.
28. RIEDEL K, RYSEL H ET AL: Pathophysiologie der chronischen Wunde, *Der Chirurg*, 2008; 79:526–534:
29. MUTSCHLER W: Physiologie und Pathophysiologie der Heilung von Defektwunden, *Unfallchirurg* 2012; 115:767–773.
30. SEPP N: Wundheilung und Immunologie: Einfluss von immunsuppressiver Therapie; Kapitel 23, in *Manual der Wundheilung*, Hrsg. Wild T, Auböck J, , Wien, Springer, 2007.
31. THOMTON FJ, SCHÄFFER MR, BARBUL A: Wound Healing in Sepsis and Trauma, *SHOCK*, Vol. 8, No. 6, pp. 391–401, 1997.
32. SCHÄFFER M, BARBUL A: Lymphocyte function in wound healing and following injury, *British Journal of Surgery*, 1998, 85, 444–460.
33. Smith RG et al; Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications, *J of Lancaster General Hospital*, 2007, 2:2, 73–78.
34. SMITH CW, BINFORD RS, HOLT DW, WEBB DP: Quality assessment of platelet rich plasma during antiplatelet therapy. *Perfusion*. 2007 Jan; 22(1):41–50.
35. DREIZLER T ET AL: PRP und APG – Übersicht und eigene Ergebnisse; *Kardiotechnik* 4/2008
36. Thrombozyten-Konzentrationsstudie 10/2014. Eigene Untersuchungen, nicht publiziert. Angaben beim Autor.
37. WEIBRICH G, STRECKBEIN PH, WEIBRICH T: Übersicht über verschiedene Eigenherstellungsverfahren von Thrombozytenkonzentraten ("Platelet-rich Plasma"). *Magazin für Zahnheilkunde, Management und Kultur – ZMK* (19)7–8/2003; 482–487.
38. WEIBRICH G, KLEIS W, WAGNER W: Platelet-rich Plasma (Thrombozytenkonzentrate) in der prothetischen Chirurgie und Implantologie, eine aktuelle Literatur Übersicht; *Deutscher Ärzteverlag Köln*, 2003; 19(3).
39. FDA WOUND HEALING CLINICAL FOCUS GROUP GUIDANCE FOR INDUSTRY: chronic cutaneous ulcer and burn wounds/developing products for treatment. *Wound Repair Regen*, 2001, 9:258–268.
40. DISSEMOND J: Wann ist eine Wunde chronisch? *Hautarzt* 2006, 57:55.
41. DISSEMOND J: *Ulcus cruris – Genese, Diagnostik und Therapie*, 3. Auflage – Bremen: UNI-MED, 2009.
42. JURK K, KEHREL BE: Die zentrale Rolle der Thrombozyten im neuen Verständnis der Hämostase; *Hämostaseologie* 1/2005; Schattauer.
43. STREIT M: „Advanced Methods“ in der Wundbehandlung, aus *Wundkompendium der Schweizerischen Gesellschaft für Wundbehandlung (SAfW)*, *Wundmanagement Sonderheft, Supplement* 3/2012,
44. SCHULTZ G S, WYSOCKI A: Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing, *Wound Rep Reg* 2009; 17: 153–162.
45. GRUBER R, VARGA F, FISCHER MB, WATZEK G: Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 529–535.
46. WEIBRICH G, GNOTH SH, OTTO M, REICHERT T, WAGNER W: Wachstumsstimulation von humanen Osteoblast-like-cells durch Thrombozytenkonzentrate in vitro. *Mund Kiefer Gesichtschirurgie* 2002; 6: 168–174.
47. WEIBRICH G, HANSEN T, BUCH R, KLEIS W, HITZLER WE: Effect of Platelet Concentration in Platelet-rich Plasma on Peri-Implant Bone Regeneration. *Bone* 2003.
48. WHITMAN DH ET AL: Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofacial Surg* 1997; 55:1294–99.
49. MARGOLIS DJ ET AL: Effectiveness of Platelet Release for the Treatment of Diabetic Neuropathic Foot Ulcers; *Diabetes Care*, Vol. 24, No 3, March 2001
50. SENET P ET AL: Randomized trial and local biological effect of autologous platelets used as adjuvant therapy for chronic venous leg ulcers; *J of Vascular Surgery*, Vol. 38, No 6, 1342–48.
51. LIU J, YUAN T, ZHANG C: Three cases using platelet-rich plasma to cure chronic soft tissue lesions. *Transfus Apher Sci*. 2011 Oct; 45 (2): 151–5. doi: 10.1016/j.transci.2011.07.011. Epub 2011 Sep 8. Department of Orthopedics, Sixth People's Hospital Affiliated Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200233, PR China.
52. WIEMANTJ, SMIELL JM, SuY: Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers. A phase III randomized placebo-controlled double-blind study. *Diabetes Care*. 1998; 21(5):822–7.
53. SWISSMEDIC: DHCPL Regranex DE final.pdf 28.07.2008.
54. BURGER R: Veröffentlichung 22.05.2002: Stellungnahme zur Anwendung von Plättchenreichem Plasma (PRP) durch Zahnärzte-Erörterung im Arbeitskreis Blut in der Sitzung vom 16.04.2002
55. BUNDESÄRZTEKAMMER: Leitlinie zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. 3. überarbeitete und erweiterte Auflage, Köln 2003.
56. BUNDESGESETZ VOM 15. DEZEMBER 2000 ÜBER ARZNEIMITTEL UND MEDIZINPRODUKTE (HMG; SR 812.21), Art. 9 Abs. 2 Bst. a HMG
57. GPS-SYSTEM der Firma Biomet Biologics, LLC.