

Diss. ETH N°15922

**Poly(ethylene glycol)-based hydrogels for the treatment of
impaired wound healing**

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology, Zurich

for the degree of
Doctor of Technical Science

presented by
Sandra Wechsler

Diploma in Biochemistry,
Freie Universität Berlin, Germany

born April 12, 1975
from Germany

accepted on recommendation of

Professor Dr. Viola Vogel, examiner
Professor Dr. Jeffrey A. Hubbell, co-examiner
Professor Dr. Sabine Werner, co-examiner

2005

Summary

Throughout years of preclinical and clinical research strong knowledge on the pathology of impaired wound healing has been gathered. Today, the general consensus that impaired healing results from bacterial infections and poor nutrition of the affected tissue, leading to reduced expression of extracellular matrix components in addition to the constant degradation of matrix proteins and growth factors in the wound exudates.

In this thesis, synthetic materials have been elaborated to deal with most of the issues mentioned above. Previously described chemical strategies were used to bio-functionalize poly(ethylene glycol)-based (PEG) hydrogels in order to create a novel wound healing scaffold. To provide the chronic wound with a useful extracellular matrix, this polymer network was conjugated to peptides containing integrin-binding domains (functional RGD sites) mediating cellular adhesion to the scaffold. Further, to enable cell migration and extracellular matrix (ECM) remodeling, the synthetic hydrogel had to be made susceptible to enzymatic degradation. Healthy ECM remodeling is mainly accomplished by pericellular secretion of matrix metalloproteinases (MMPs), leading to only very local degradation of the ECM. Cell demanded degradation of the synthetic polymer scaffold was achieved by using MMP specific substrate sequences as crosslinker molecules for hydrogel formation. Upon MMP secretion cells can dissociate their adjacent polymer network and start to invade into the synthetic matrix.

In addition to mimicking extracellular matrix characteristics, these PEG hydrogels can act as growth factor deposits providing the chronic wound with stimulating factors. Platelet-derived growth factor (PDGF), a key player in wound healing, was genetically engineered in order to be able to covalently incorporate into the polymer scaffold. It was shown, that engineered PDGF was able to exert its biological functions when presented by this type of modified PEG matrix.

These bio-functionalized scaffolds were applied to full-thickness excisional wounds in rodents. A moist wound dressing method was developed to protect the hydrogel matrix and to prevent wound contraction. Using this wound dressing, the suitability of these PEG-hydrogels for the application in wound healing was demonstrated. The experiments indicate that synthetic materials promote epidermal healing even better than naturally derived fibrin matrices, since the degree of reepithelialization was more than 4-fold increased in PEG hydrogels. Furthermore, upon PDGF delivery into the wound site a strong stimulation of granulation tissue formation and promotion of epidermal healing were observed, underlining that PDGF is a potent initiator of skin repair.

In conclusion, these exciting results strongly suggest to further explore the *in vivo* administration of growth factors by sustained delivery from synthetic release systems. This approach can not only be utilized for applications in wound healing but for the regeneration of nerves, cartilage or other tissues.

Zusammenfassung

Durch die jahrelange präklinische und klinische Forschung wurden neue Kenntnisse über die Ursachen und die Pathologie chronischer Wunden erlangt.

Generell ist man sich heute einig, dass schlechte Wundheilung von bakteriellen Infektionen und mangelnder Blut- und Nährstoffversorgung des betroffenen Gewebes herührt. Dies führt wiederum zu einer verminderten Expression von Komponenten der extrazellulären Matrix und zusätzlich zu einem fortwährendem Abbau von Matrixproteinen und Wachstumsfaktoren des Wundexudats.

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden synthetische Biomaterialien entwickelt, um die meisten der erwähnten Mängel in der Wundheilung zu beheben. Mittels bestimmter chemischer Verfahren konnten Hydrogele aus Poly(ethylen glykol) mit biologischen Substanzen so funktionalisiert werden, dass sie als Wundheilungsmaterial angewendet werden können. Um chronische Wunden mit einer funktionellen, synthetischen extrazellulären Matrix (EZM) zu versorgen, wurde durch die Konjugation spezieller Peptide an das Polymergerüst die Zelladhäsion an die ansonsten inerten Hydrogele vermittelt. Damit Zellen durch das Hydrogel wandern und ihre unmittelbare Umgebung umgestalten können, muss das synthetische Gerüst enzymatisch degradierbar sein. Der natürliche Ab- und Umbauprozess der EZM findet hauptsächlich durch die perizelluläre Sekretion von Matrix-Metalloproteasen (MMPs) statt, welche lokal die extrazellulären Makromoleküle abbauen. Durch die Verwendung von MMP-spezifischen Peptidsubstraten zur Vernetzung des Polymergerüsts, konnten die synthetischen Hydrogele enzymatisch degradable gemacht werden. Dadurch können diese Biomaterialien den Zellen sowohl Adhäsionsproteine präsentieren als auch auf die Signale der Zellen reagieren.

Zusätzlich zur Nachahmung von Eigenschaften der EZM, können Poly(ethylen glykol)-Hydrogele auch als Depot für Wachstumsfaktoren dienen. Aufgebracht auf eine Wunde, können sie mittels kontrollierter Freisetzung biologisch aktive Substanzen an den Körper abgeben. Als zentraler Wirkstoff in der Wundheilung wurde der *platelet-*

derived growth factor (PDGF; Wachstumsfaktor, vor allem sekretiert von Blutplättchen bei der Blutgerinnung) genetisch derart modifiziert, dass das Protein kovalent in das Polymergerüst eingebaut werden konnte. Es konnte gezeigt werden, dass das veränderte PDGF auch biologisch aktiv war, wenn es als gebundener Faktor in einem protein-modifizierten Poly(ethylen glykol)-Hydrogel präsentiert wurde.

Diese bio-funktionalisierten Hydrogele wurden auf Exzisionswunden an Mäusen angewendet, bei denen die gesamte Haut einschliesslich des Panniculus carnosus entfernt wurde. Um die Hydrogele vor dem Austrocknen zu bewahren und die Wundkontraktion zu vermeiden, wurde ein feuchter Wundverband entwickelt. Mit der Verwendung dieses Wundverbandes konnte die Tauglichkeit dieser synthetischen Matrices für die Wundheilung veranschaulicht werden. Die Experimente zeigten, dass Poly(ethylen glykol)-Hydrogele die Heilung der Epidermis stärker förderten als natürliche Fibrin-Matrices. Im Vergleich war die Reepithelialisierung in Poly(ethylen glykol)-Hydrogelen viermal stärker fortgeschritten als in Fibrin. Des Weiteren konnte mit der Anwendung von PDGF in Wunden, eine starke Förderung der Granulationsgewebebildung und der Reepithelialisierung erzielt werden. Ein weiterer Hinweis darauf, wie wichtig PDGF in der Wundheilung ist.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass es sich lohnt, die Anwendung von Wachstumsfaktoren mittels synthetischer Hydrogele weiter zu verfolgen. Dieser Ansatz kann nicht nur auf die Wundheilung angewendet werden, sondern auch auf die Regeneration von Nerven, Knorpeln und anderen Gewebstypen.