

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der
Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur Wundheilung:

Grundlagenuntersuchungen zum Wundheilungsverlauf mit und ohne
Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité
Universitätsmedizin Berlin

von
Alena Alborova
aus Ossetien/Russland

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr.-Ing. J. Lademann
 2. Prof. Dr. med. A. Kramer
 3. Prof. Dr. med. C. M. Schempp

Datum der Promotion: 19.11.2010

*Meinen Eltern,
Zaira Khugaeva und Kaurbek Alborov,
meiner Schwester Ljudmila
und meinem Bruder Alan*

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

1.	<i>Einleitung</i>	
1.1	Aufbau der Haut	8
1.1.1	Epidermis	9
1.1.2	Dermis	11
1.1.3	Subkutis	12
1.1.4	Hautanhangsgebilde	12
1.2	Funktionen der Haut	14
1.3	Störungen der Hautbarriere	14
1.4	Wundcreme Bepanthen	17
1.5	Infrarot-A-Strahlung	17
1.5.1	Elektromagnetische Strahlung	17
1.5.2	Infrarot-Strahlung	18
1.5.3	Absorption von Infrarot-Strahlung	19
1.5.4	Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung	20
1.5.5	Wirkmechanismen von wassergefilterter-Infrarot-A-Strahlung	20
1.5.6	Anwendungen von wIRA	22
1.6	Methoden zur Charakterisierung der Wundheilung	23
1.6.1	Der transepidermale Wasserverlust	23
1.6.2	Laser-Scan-Mikroskopie (LSM) als optische Untersuchungsmethode	24
2.	<i>Zielstellung</i>	25
3.	<i>Material und Methoden</i>	27
3.1	Studiendesign	27
3.2	Probandenkollektiv	27
3.3	Ethik	27
3.4	Eingesetzte Methoden	28

3.4.1	Saugblasentechnik	28
3.4.2	Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes mit dem TEWAMETER	29
3.4.2.1	Messgerät	29
3.4.2.2	Messprinzip	29
3.4.2.3	Vorbereitung der Probanden	30
3.4.3	Planimetrische digitale Fotografie	31
3.4.4	Laser- Scan- Mikroskopie	32
3.4.4.1	Messaufbau des Laser-Scan-Mikroskops	33
3.4.5	Mikrobiologische Untersuchung	34
3.4.5.1	Beschreibung der mikrobiologischen Untersuchung	35
3.4.6	Wassergefilterte Infrarot - A- Strahlung	36
3.4.6.1	Wassergefilterter Infrarot-A-Strahler	36
3.5	Versuchsdurchführung	37
3.5.1	Studiendesign	38
3.5.2	Visuelle Analogskalen	40
3.5.3	Bakterielle Abstriche	41
3.5.4	Planimetrische digitale Bildanalyse	41
3.5.5	Laser-Scan-Mikroskopie	41
3.5.6	Behandlung der Wunden	41
3.5.7	Bestrahlung mit wIRA	41
4.	<i>Ergebnisse</i>	42
4.1	Bildbearbeitung	42
4.2	Auswertung der Wundfläche	42
4.3	Heilungsverlauf/Defektverschluss der primären Wunde	42
4.4	TEWL-Messungen	46
4.5	LSM-Messungen	47
4.5.1	Laser-Scan-Mikroskopische (LSM)-Verlaufsanalyse	47
4.5.2	Quantifizierung der LSM-Messungen	51
4.6	Bakterielle Untersuchung	52
4.7	Ärztliche Beurteilung des Therapieerfolgs	53
4.8	Beurteilung durch Probanden	54

5	<i>Dokumentation und Auswertung</i>	56
6	<i>Diskussion</i>	57
6.1	Planimetrische Fotografie	57
6.2	TEWL-Messungen	57
6.3	Laser-Scan-Mikroskopie	58
6.3.1	Analyse der Wundheilung	60
6.4	Bakterielle Untersuchung	63
6.5	Analogskala	65
7.	<i>Zusammenfassung</i>	66
8	<i>Literaturverzeichnis</i>	68
9.	<i>Abbildungsverzeichnis</i>	78
10.	<i>Danksagung</i>	80
11.	<i>Lebenslauf</i>	81
12.	<i>Publikationsliste</i>	81
13.	<i>Eidesstattliche Erklärung</i>	82

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
BMI	Body Mass Index
IR	Infrarotstrahlung
UV	Ultraviolettstrahlung
TEWL	transepidermaler Wasserverlust
LSM	Laser-Scan-Mikroskopie
wIRA	wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung
IgA	Immunoglobulin A
SC	Stratum corneum
nm	Nanometer
RGT-Regel	Reaktions-Geschwindigkeits-Temperatur-Regel
WF	Wundfläche
MW	Mittelwert

1 Einleitung

Die Haut ist das „Grenzorgan“ zwischen Umwelt und Organismus. Mit einem Anteil von ca. 16 % der Körpergesamtmasse ist sie das größte Organ des Menschen. Die Flächenausdehnung der Haut des Erwachsenen beträgt durchschnittlich 2 m², sie wiegt ca. 3 kg, unter Einrechnung des Fettgewebes bis zu 20 kg. Die Hautdicke (ohne Fettgewebe) schwankt regional zwischen 1,5 und 4 mm. Aus ihren vielfältigen Funktionen, wie Schutz gegen mechanische und chemische Einwirkungen, Strahlenschutz, Wärmeregulierung und Tastsinn, ergibt sich die große Bedeutung der Haut für den Gesamtorganismus [1]. Die Haut stellt das bedeutsamste Aufnahmeorgan bezüglich topisch applizierter Wirkstoffe dar.

Jede Trennung des anatomischen Gewebezusammenhanges an äußeren oder inneren Körperoberflächen mit oder ohne Gewebsverlust und resultierender Unterbrechung der physiologischen Funktion des Gewebes wird als Wunde bezeichnet.

Die Wundheilung ist der Versuch des Organismus, eine bestehende Wunde so schnell wie möglich zu schließen und die Funktion des beschädigten Gewebes weitestmöglich wiederherzustellen [2].

Eine optimale Wundheilung steht fachübergreifend im Zentrum des medizinischen Interesses und stellt eine der wichtigsten Anforderungen im Klinikalltag dar [3]. In der phasengerechten Wundheilung sind insbesondere die Vermeidung von Wundinfektionen und die Beschleunigung der Epithelialisierung von großer Bedeutung.

Beim Einsatz von Wundsalben als Standardmethode konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass verschiedene chemische und physikalische Maßnahmen, wie z.B. die Infrarot-A-Strahlung, den Wundheilungsprozess verbessern und zu einer verbesserten Penetration von topisch applizierten Substanzen führen können.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Wirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung auf den Wundheilungsprozess mit oder ohne Applikation einer allgemein gebräuchlichen Wundsalbe.

1.1 Aufbau der Haut

Das Oberflächenrelief der Haut ist keine flache regelmäßige Struktur, sondern ein hochorganisiertes Mikrorelief. Es ist von zahlreichen Falten und Furchen durchzogen, welche die Oberfläche um schätzungsweise 30% vergrößern [4]. Abhängig von der Körperregion gibt es signifikante Unterschiede in dieser Struktur. Dichte und

Eigenschaften der feinen Furchen sind vom Alter der Person sowie von Umweltbedingungen abhängig.

Die *Haut (Integumentum commune)* ist nach außen durch die Epidermis mit der Hornschicht (*Stratum corneum*) begrenzt (Abb.1.1), darunter liegen die Dermis (Lederhaut) und die Subcutis (Unterhaut). Integrale Bestandteile der Haut sind ferner Anhangsgebilde, wie Haare, Nägel, Talg- und Schweißdrüsen.

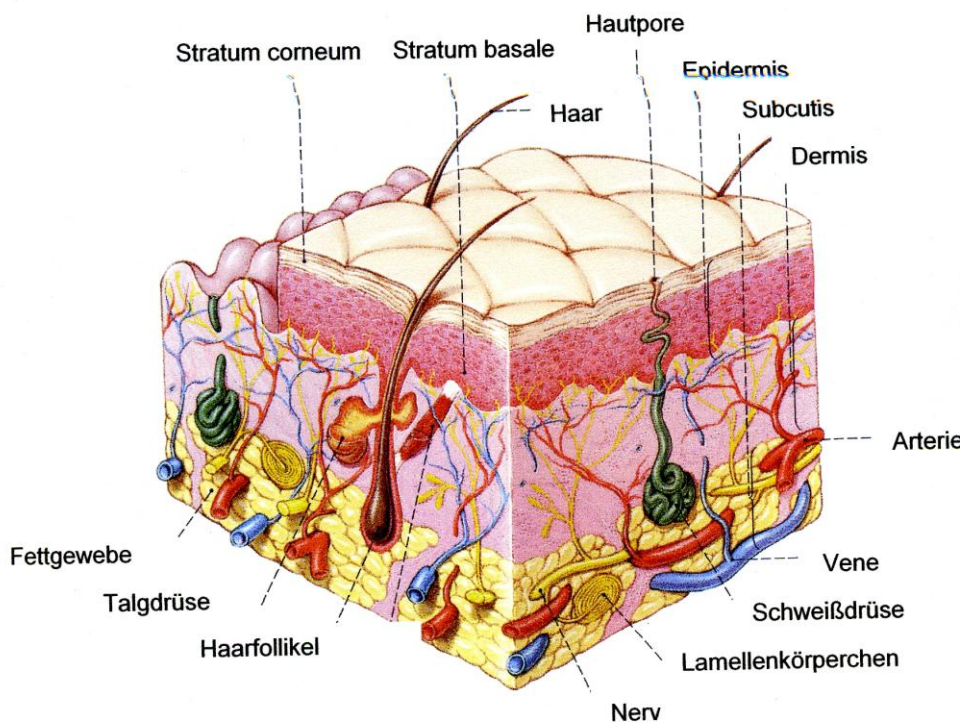


Abb. 1.1: Aufbau der Haut (aus Weitz 2002)

1.1.1 Epidermis

Die Epidermis (Oberhaut) besteht aus mehrschichtig verhornendem Plattenepithel. Dessen Dicke ist von der Körperregion abhängig und variiert zwischen 30 und 300 μm . Histologisch lassen sich von basal nach apikal 5 Schichten unterscheiden.

Das **Stratum basale** besteht aus einschichtigen, zylindrischen Zellen mit großen Zellkernen. In dieser germinativen Schicht entstehen durch Zellteilungen die primären Epidermiszellen, die dann einen zur Oberfläche gerichteten Orts- und Strukturwandel vollziehen und in der Folge den Ersatz der an der Epidermisoberfläche abgeschilferten

verhornten Zellen bilden. Außerdem sind hier Melanozyten und Merkelzellen vorhanden. Die Basalzellen haften durch Hemidesmosomen und Zelladhäsionsmoleküle an der dreischichtigen Basalmembran, welche ihrerseits über Mikrofibrillen (Fibrillin) und Verankerungsfibrillen (Typ VII-Kollagen) mit der Dermis verbunden ist. Die Grenzzone zwischen Epidermis und Dermis wird als *Junktionszone* oder als *dermoepidermaler Verbindungskomplex* bezeichnet.

Im **Stratum spinosum** ist neben einer deutlichen Volumenvergrößerung der Keratinozyten auch eine zunehmende Abflachung der Zellen erkennbar [5]. Die Zellen werden polygonal und besitzen zahlreiche Zellausläufer, an deren Spitze sich jeweils stachelartige Zellbrücken (Desmosomen) befinden, mit denen sich die einzelnen Zellen untereinander verbinden.

Das darüber liegende **Stratum granulosum** besteht aus 2 bis 5 Lagen abgeflachter Zellen, die durch basophile Keratohyalingranula sowie membranumschlossene lamelläre Granula gekennzeichnet sind. Diese so genannten „lamellar bodies“ enthalten neben Sphingomyelin, Glucosylceramide, freie Fettsäuren und Cholesterin und sind reich an katabolischen Enzymen wie Sphingomyelinase und Phospholipase A₂ [4], die in den Zellularraum abgegeben werden und für die Barrierefunktion der Haut entscheidend sind.

Das **Stratum lucidum** ist nur an Handflächen und Fußsohlen zu erkennen und besteht aus homogen-eosinophilen Zellen, die dicht gepackte Filamente und lysosomal degradierte Organellen enthalten.

Das **Stratum corneum** schließlich ist das Endprodukt der keratinisierten Epidermis. Es erneuert sich nach einem Zeitraum von etwa 8 Tagen und ist ungefähr 10-20 µm dick. Das Stratum corneum besteht aus ca. 10 bis 20 Zellschichten keratinisierter kernloser Korneozyten, die keine zytoplasmatischen Organellen enthalten. Die plattenartig abgeflachten hexagonalen Zellen des Stratum corneum sind mit einem Durchmesser von 0,5-3 µm die größten Zellen der Epidermis [6]. Das gesamte Turnover der normalen Epidermis dauert etwa 28 Tage. In ungefähr 14 Tagen erreichen die sich differenzierenden Keratinozyten die Grenze zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum [1] und in ca. 2 Wochen haben sich die Zellen des Stratum corneum erneuert [7,8]. Die Zellen des Stratum corneum sind in eine Lipid-Doppelschicht eingebettet, die

aus Ceramiden, Cholesterol, Cholesterolestern und freien Fettsäuren zusammengesetzt ist [9-12]. Diese Hornzellen sind durch das Fehlen der üblichen Dreischichtung der Zellmembran gekennzeichnet. An der Innenseite liegt das so genannte „cornified envelope“ an, das bereits im Stratum spinosum erkennbar ist. Es stellt eine innere Hülle dar, die unter dem Einfluss der Transglutaminase durch Vernetzung des Proteins Involucrin entsteht. Sie ist der chemisch widerstandsfähigste Teil des Korneozyten [4].

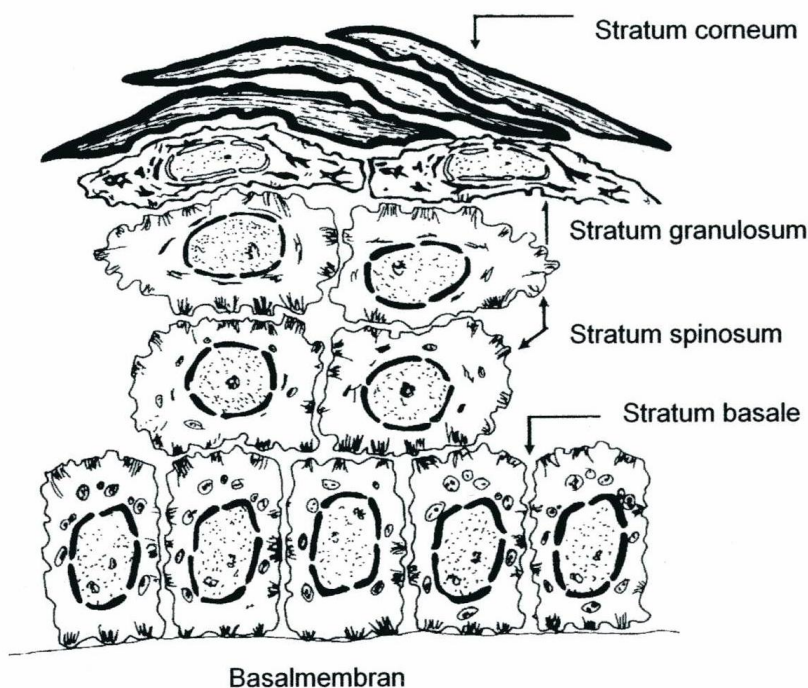


Abb.1.2: Schematischer histologischer Aufbau der Epidermis (modifiziert nach Fritsch, 1990).

1.1.2 Dermis

Der Aufbau der Dermis (Lederhaut) wird hauptsächlich durch Kollagene (Typ I- und III-Kollagen) und elastische Fasern bestimmt, die gemeinsam mit verschiedenen Zellen wie Fibroblasten, Histozyten (Gewebemakrophagen), Mastzellen, Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten in eine gelartige Grundsubstanz eingelagert sind. An der Grenze zur Epidermis ist im Papillarbereich (Stratum papillare) ein oberes Gefäßnetz lokalisiert. Es steht durch Anastomosen mit einem tieferen Gefäßplexus an der Grenze zur Subkutis (Stratum reticulare) in Verbindung [5]. Die Dermis wird durch ein komplexes arterielles, venöses und lymphatisches Gefäßsystem versorgt, das dem

Austausch von Wasser, Stoffwechselprodukten, Botenstoffen und Zellen dient und zur Abwehr von Fremdorganismen und Antigenen entzündlich reagieren kann [13].

1.1.3 Subkutis

Die Subkutis ist ein Schutzpolster, das im Wesentlichen aus traubenförmig angeordneten Fettzellen (Fettlobuli) besteht. Die Fettlobuli sind durch Bindegewebssepten unterteilt. Diese Septen sind die Träger der Gefäß- und Nervenversorgung und bilden das straffe Grundgerüst der Fettläppchen. Das subkutane Fettgewebe dient als Energiereserve, als Nährstoff- und Wasserspeicher sowie dem mechanischen Kälte- und Wärmeschutz. Die Subkutis weist in Abhängigkeit von Lokalisation und Ernährungszustand eine unterschiedliche Dicke auf.

1.1.4 Hautanhangsgebilde (Adnexe)

Haare. Der in der Haut befindliche Teil des Haares wird von der *Haarwurzelscheide* umgeben. Das untere Haarende ist die *Haarwurzel*. Haarwurzelscheide und Haarwurzel sind im Gegensatz zum *Haarschaft* lebendes Gewebe. Die Haarwurzel ist der "Reaktor" für das wachsende Haar. Hier teilen sich die Zellen sehr schnell und differenzieren sich zu toten Hornzellen, die dann durch den Wachstumsschub der sich ständig weiter teilenden Zellen in die Haarwurzel nach oben wandern und so als *Haarschaft* aus der Haut herauswachsen. In den Haarwurzeln befinden sich zahlreiche Melanozyten, die ihre Pigmente an das entstehende Haar abgeben. Die Haarwurzel umfasst klauenförmig die *Haarpapille*. In die Haarpapille münden kleine Blutgefäße, die für die Versorgung, Bildung und Wachstum des Haares verantwortlich sind. Den Komplex aus Haarwurzelscheide, Haarwurzel und Haarpapille bezeichnet man als *Haarfollikel*. Das Haar selbst ist eine dünne keratinisierte Struktur, die aus 2-3 Schichten hochorganisierten Keratins besteht. An jedem Haarfollikel setzt ein Muskel (*Musculus erector pili*) an, der von feinen Nervenfasern sowie kleinen Blutgefäßen umspinnen wird. Die Nerven sind so empfindlich, dass jede noch so kleine Berührung und sogar ein schwacher Windhauch wahrgenommen werden. Darüber hinaus besitzt fast jedes Haar Talgdrüsen, die durch Rückfettung das Haar geschmeidig machen und zur Aufrechterhaltung des Säureschutzmantels beitragen [14].

Talgdrüsen (*Glandulae sebaceae pilorum*) sind holokrine Drüsen, die fast immer an den Follikelapparat gebunden sind, nur die wenigen freien Talgdrüsen der Genitalien und der Mundschleimhaut bilden eine Ausnahme. Im Unterschied zur relativ konstanten Talgdrüsendichte (100-1000/cm²) ist ihre Größe regional jedoch sehr verschieden: In den sogenannten seborrhoischen Arealen (Kopfhaut, Gesicht, Brust) sind die Talgdrüsen viellappig und hypertroph, an den Extremitäten dagegen einlappig und klein. Das Sebum (Talg) stellt ein Lipidgemisch von Squalen, Wachsesteren und Triglyceriden sowie nekrotisierten Zellen und Zellresten dar [15].

Schweißdrüsen (*Glandulae sudoriferae eccrinae*). Der menschliche Organismus besitzt 2 Typen von Schweißdrüsen: Die *apokrinen Drüsen* sind vorwiegend in der Achsel- und Anogenitalgegend lokalisiert, sie münden in die Haarfollikel und sind adrenerg innerviert. Die über den gesamten Körper verteilten *ekkrinen Schweißdrüsen* sind vom Haarfollikel unabhängig und cholinerg innerviert. Über die Funktion der ersteren ist wenig bekannt. Die letzteren spielen eine bedeutende Rolle für die Erhaltung des Wärmegleichgewichts, dienen als Ausscheidungsorgan und erhalten die Hornschicht in hydriertem Zustand. Mit ca. 600/cm² sind die Schweißdrüsen an der Fußsohle am dichtesten und mit ca. 100/cm² am Oberschenkel am spärlichsten. Im Lippenrot und am inneren Praeputium penis finden sich keine Schweißdrüsen. Die Gesamtzahl aller Schweißdrüsen des Menschen beträgt etwa 2 bis 4 Millionen [16].

Die **Nägel** sind harte Keratinplatten, die den dorsalen Anteil der Finger- und Zehenkuppen mechanisch schützen. Die *Nagelplatte* ist etwa rechteckig, liegt auf dem *Nagelbett* und ist mit ihm verbacken. Distal endet sie im freien *Nagelrand*, der sich über das *Hyponychium* wölbt. Der proximale *Nagelfalz* ist tief (0,5 cm) und beinhaltet die *Nagelmatrix*. Die seitlichen Nagelfalze sind flach und dienen als Leitschienen für den wachsenden Nagel. Die kutane Abdeckung des Nagelfalzes wird als *Nagelwall* bezeichnet, er setzt sich nach distal in das *Nagelhäutchen* (*Cuticula*) fort. Die abdichtende Cuticula dient dem Infektionsschutz der Nagelmatrix. Die basale Schicht des proximalen Nagelfalzes ist die *Nagelmatrix*. Fast gänzlich durch den proximalen Nagelwall verdeckt, schimmert sie nur in ihrem distalen Rand als helle Lunula unter dem Nagel hervor [16].

1.2 Funktionen der Haut

Das Hautorgan erfüllt **Sinnesfunktionen**, die über die Sinnesrezeptoren für Wärme und Kälte, Schmerz, Tastsinn und Juckreiz vermittelt werden. Darüber hinaus realisiert die Haut sehr komplexe Schutzfunktionen:

Die **Barrierefunktion** der Hornschicht verhindert das Austrocknen des Körpers und das Eindringen körperfremder Substanzen. Das keimfeindliche trockene und saure Milieu kann bakterielle Infektionen verhindern. Überwiegend dem **mechanischen Schutz** dient das straffe, elastische und reißfeste Fasergeflecht der Dermis. Die dosierte **Wärmeabgabe** erfolgt über das feinregulierende Kühlungssystem der Gefäßplexus und der Schweißdrüsen. Der **Schutz vor UV-Licht** wird wesentlich durch die in Melanozyten produzierten Melaninpigmente gewährleistet.

Als „**Immunorgan**“ verfügt die Haut über Memory-Lymphozyten und antigenpräsentierende Langerhans-Zellen; über ihre Drüsen wird sekretorisches IgA in den Oberflächenfilm der Haut abgegeben [16].

1.3 Störungen der Hautbarriere und Wundheilung

Die gesunde menschliche Haut stellt eine effiziente Barriere dar, die den Organismus vor schädlichen Einflüssen aus der Umwelt schützt. Wunden sind eine Zerstörung dieser Barriere, die der Organismus durch Reparaturmechanismen zu beheben versucht. Unter Wundheilung versteht man in Phasen ablaufende physiologische Vorgänge zur Regeneration zerstörten Gewebes bzw. zum Verschluss einer Wunde, insbesondere zur Neubildung von Bindegewebe und Kapillaren.

Man unterscheidet drei Phasen der Wundheilung [22]:

1. Latenzphase, auch Exsudationsphase oder Reinigungsphase genannt.

Sie unterteilt sich in die *exsudative Phase* mit Schorfbildung (in den ersten Stunden) und in die *resorptive Phase* mit kataboler Autolyse (1.-3. Tag).

2. Proliferationsphase, auch Granulationsphase genannt. Sie ist durch die anabole Reparatur mit Bildung von Kollagen durch Fibroblasten (4.-7. Tag) charakterisiert.

3. Reparationsphase, auch Epithelisierungsphase genannt. Hier wandelt sich das Granulationsgewebe in ein Narbengewebe um (ab dem 8. Tag). Die Epithelialisierung erfolgt vom Wundrand her und bildet den Abschluss der Wundheilung.

Je nach Entstehungsmechanismus der Wunde, Terrainfaktoren und etwaigen sekundären externen Einflüssen wird die primäre von der sekundären Wundheilung unterschieden:

Die **primäre Wundheilung** ist durch den raschen und komplikationslosen Verschluss und eine weitgehend minimale Bindegewebsneubildung, ausgehend von den durchbluteten Wundrändern einer sauberen Wunde, charakterisiert.

Bei Wunden mit dehiszenten, gequetschten oder nekrotischen Wundrändern, bei relevanter bakterieller Infektion und bei vorbestehenden trophischen Störungen (z.B. Ulcus cruris venosum) resultiert eine verzögerte **sekundäre Wundheilung**. Hier wird der Gewebedefekt durch ein Granulationsgewebe ersetzt.

Bei der Beurteilung der Wundheilung werden nach modernen Konzepten folgende Endpunkte bewertet [23]:

- Vermeidung der Wundinfektion,
- Verkürzung der Abheilungszeit
- Minderung von Schmerzen
- Verringerung von Narben
- Verbesserung des kosmetischen Ergebnisses
- Verbesserung der Lebensqualität

Bei den meisten Wunden, insbesondere bei allen sekundären Wunden verlaufen die Regenerationsprozesse nicht vollständig im Sinne einer *restitutio ad integrum*. Reicht die Verletzung bis zur Dermis, kommt es zur Zerstörung des gefäßreichen Bindegewebes, das bei der Wundheilung für den spezifischen Zellersatz zuständig ist. In der Folge entsteht ein minderwertiges und funktionsreduziertes Ersatzgewebe, die Narbe. Narben sind ein irreversibler Endzustand der Wundheilung und sie gewährleisten meist nur die mechanische Schutzfunktion. Außerdem stellen sie oft ein kosmetisches Defizit dar.

Viele externe Einflüsse, aber auch endogene Faktoren, können den normalen Wundheilungsprozess stören. Ganz besonders aber behindern bakterielle Infektionen des Wundbereichs die Heilung. Auch die gesunde Haut ist vor allem im Stratum corneum von verschiedenen Mikroorganismen zahlreich besiedelt. Es handelt sich dabei um eine in Anzahl und Zusammensetzung relativ stabile *residente Flora* aus apathogenen Keimen (Familie der Micrococcaceae mit ihrem häufigsten Vertreter, den koagulasenegativen Staphylokokken, *Staphylokokkus epidermidis*, *Staphylokokkus hominis*, *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium granulosum*, zahlreichen Korynobakterien, *Malassezia furfur* und Mikrokokken) [16, 17].

Fakultativ pathogene Erreger einer zufälligen, *transienten Bakterienflora* dagegen sind in Abhängigkeit vom Immunstatus gelegentlich in der Lage, Wunden zu infizieren. Sie stammen aus exogenen Quellen und finden sich hauptsächlich auf exponierter Haut (Staphylokokkus aureus, Enterobacteriaceae und Pseudomonaceae) [16, 17]. *Obligat pathogene Keime* dagegen sind in der Lage, auch die primär intakte Haut zu schädigen. Der mikrobielle Einfluss auf die Wundheilung ist vor allem abhängig von der Art der Wunde, dem individuellen Immunstatus und der Art der Behandlung [18]. Verschiedenste Methoden der Wundversorgung sind denkbar und werden praktiziert. Prinzipiell ist die konservative von der chirurgischen Wundbehandlung zu unterscheiden. Neben den klassischen aktiven Maßnahmen wie der Wundsäuberung, der chirurgischen Versorgung (z.B. Fremdkörperentfernung, Nekrosektomie, Wundrandadaptation etc.) und dem mechanischen Schutz vor zusätzlichen externen Noxen durch einen sterilen Verband steht die Optimierung des Wundmilieus im Zentrum des Interesses der modernen Wundversorgung. Im Gegensatz zu historischen Lehrmeinungen ist die feuchte Wundbehandlung das heute anerkannte Grundprinzip. Verschiedene topische Substanzen bzw. Wundaufgaben wie Polyvidonjod, Silberderivate, Calciumalginat, Hydrokolloide, Proteinosomen und andere mehr werden entsprechend der verschiedenen Wundheilungsphasen eingesetzt. Bei tiefen Wunden hat sich der vorübergehende Einsatz der Vakuumsaugdrainage (z.B. V.A.C.®, Fa. KCI) bewährt. In aller Regel kann damit eine rasche Proliferation defektfüllenden Granulationsgewebes erzielt werden. In der klinischen Praxis stellt oft die Reepithelialisierung, also die Wiederherstellung der Hautintegrität, das größte Problem dar.

Neben verschiedenen Produkten wie Perubalsam, Silbereiweiß, Jod und Proteinosomen (Repithel®) gilt Bepanthen weiterhin als „Goldstandard“. Der Wirkstoff des Bepanthen ist Dexpanthenol, ein Vitamin B-Derivat, für das eine Epithelisierungswirkung nachgewiesen ist [19]. In Form von Wund- und Heilsalbe wird Bepanthen z.B. oft bei Kleinkindern mit Windeldermatitis eingesetzt. Bei der Pflege der verletzlichen Altershaut erfreut sich Bepanthen ebenfalls breiter Beliebtheit.

In der Chirurgie und in der Dermatologie wurde in den letzten Jahren die Infrarot-A-Strahlung erfolgreich bei der Unterstützung der prä- und postoperativen Wundheilung [19] und in der Therapie chronischer Wunden eingesetzt [20]. In der Fachliteratur finden sich vermehrt Hinweise darauf, dass wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung positive Effekte auf die Wundheilung hat. So haben neuere In-vitro-Studien gezeigt, dass

möglicherweise eine Stimulierung der Fibroblasten durch Infrarot-A den Wundverschluss beschleunigt [21].

1.4 Wundcreme Bepanthen

Durch verschiedene topische Substanzen und Wundauflagen kann die Wundheilung verbessert werden. Als „Goldstandard“ gilt traditionell die Wundsalbe Bepanthen.

Der Wirkstoff des Bepanthen ist Dexpanthenol, auch als Pantothenol oder Panthenol bezeichnet, welches im Körper zu Pantothersäure ($C_9H_{17}NO_5$) umgewandelt wird. Pantothersäure wurde im Jahre 1931 vom amerikanischen Ernährungsbiologen und Biochemiker Dr. Roger Williams als Stoff entdeckt, der das Wachstum von Hefen fördert. Pantothersäure ist ein wasserlösliches Vitamin aus der Gruppe der B-Vitamine (Vitamin B5) und besteht aus den beiden Bestandteilen Pantothersäure und β -Alanin. Pantothersäure ist nötig für den Aufbau von Coenzym A, welches eine wichtige Rolle im Stoffwechselgeschehen spielt (z.B. im Citratzyklus oder bei der Fettsäureoxidation-/ als Acetyl-CoA, Succinyl-CoA). Dexpanthenol erhöht das Feuchthaltevermögen der Haut und verbessert deren Elastizität und hat damit pflegende Wirkung. Es unterstützt die Neubildung der Hautzellen und trägt so zur Regeneration bei. Darüber hinaus hat Dexpanthenol auch juckreizlindernde und entzündungshemmende Eigenschaften. Klinische Studien bestätigen ebenso eine Unterstützung der Wundheilung von Haut- und Schleimhautläsionen [24]. Der Wirkstoff wird nicht nur als Inhaltsstoff für Dermatika in Creme- oder Salben-Galenik sondern auch in Nasensprays, Lutschtabletten, Augentropfen und Kontaktlinsen-Reinigungslösungen verwendet. Beim Tätowieren wird Panthenol gern eingesetzt, um frische Läsionen rasch zur Abheilung zu bringen. [24].

1.5 Infrarot-A-Strahlung

Infrarot-A-Strahlung stellt eine moderne Alternative zum Einsatz von Wundsalben dar. In den folgenden Kapiteln werden Wirkungsprinzip und Effekte auf die Wundheilung detailliert dargestellt:

1.5.1 Elektromagnetische Strahlung

Seit dem Altertum wurde immer wieder von überraschenden Heilungen oder Besserungen bei schweren akuten oder chronischen, sogar malignen Erkrankungen

durch hoch fieberhafte Prozesse berichtet [25]. Schon damals versuchte man, die dem Fieber zugeschriebene Heilwirkung durch Ganzkörper-Überwärmung „von außen“, also mit physikalischen Mitteln, hervorzurufen. Ebenso galten die wärmenden Sonnenstrahlen als heilkräftig und gesundheitsfördernd (*Heliotherapie*) [25].

Jede Strahlung lässt sich als elektromagnetische Welle beschreiben, die Energie transportiert. Die Menge an Energie, die einer Wellenlänge entspricht, ergibt sich aus der *Planckschen Formel* $E = h \cdot \nu$, bei der h eine Naturkonstante (das *Plancksche Wirkungsquantum*) und ν die Frequenz der Strahlung darstellt. Wellenlänge und Frequenz verhalten sich umgekehrt proportional: Je kürzer die Wellenlänge ist, desto höher ist die Frequenz und umso höher ist die Energie der betreffenden Strahlung. Infrarotstrahlung (0,76-1000 μ m) ist aufgrund ihrer größeren Wellenlänge (kleinere Frequenz) energieärmer als sichtbares Licht (0,36-0,78 μ m) und energieärmer als UV-Strahlung (0,01-0,36 μ m). Infrarotstrahlung kann die Eigenschwingungen von Molekülen anregen. Die Zunahme der molekularen Schwingungsenergie wird makroskopisch als Erwärmung des bestrahlten „Körpers“ wahrgenommen [25].

1.5.2 Infrarot-Strahlung

Um die Wende vom 18. zum 19. Jahrhundert begannen manche mystischen Vorstellungen, bedingt durch die stürmische Entwicklung der exakten Naturwissenschaften, gesichertem Wissen Platz zu machen. Noch bevor genauere spektroskopische Untersuchungen zur Farbenzerlegung des Sonnenlichtes möglich waren, hatte man zu dieser Zeit erkannt, dass sich die Wirkung der Sonnenstrahlen über den Bereich des sichtbaren Spektrums hinaus erstreckt. Um 1800 wies J.W. Ritter unter Verwendung von Silberchlorid-Papier die UV-Strahlung nach. Der als Entdecker des Uranus berühmt gewordene Astronom F.W. Herschel veröffentlichte 1801 seine Arbeit über die Entdeckung der infraroten Strahlen. Im Rahmen thermometrischer Experimente lenkte er Sonnenlicht durch ein Prisma und ließ die verschiedenen Spektralfarben auf ein Thermometer fallen. Es war zu sehen, dass sich jenseits der sichtbaren roten Strahlung noch Wärmestraahlen fanden, die er Infrarotstrahlen nannte [26]. Infrarot-Strahlung wird in Bereiche unterschiedlicher Wellenlängen unterteilt:

- **Infrarot-A:** 700 nm -1400 nm,
- **Infrarot-B:** 14 00 nm - 3000 nm,
- **Infrarot-C:** 3000 nm – 1 mm.

Die Einteilung ist historisch bedingt und geht auf frühere Messungen der Transmission und Reflektion von optischen Gläsern zurück. Lebendes Gewebe verhält sich unterschiedlich gegenüber den verschiedenen Spektralbereichen [25].

1.5.3 Absorption von Infrarot-Strahlung

Die Absorption der Strahlung durch die Moleküle ist Voraussetzung für eine Temperaturerhöhung (Erwärmung). Die Strahlung wird nicht an der Oberfläche des Körpers vollständig reflektiert oder gestreut, sondern die menschliche Haut besitzt eine gewisse Durchlässigkeit für Wärmestrahlung [25]. Eine entscheidende Rolle für die Absorption und Wärmeumwandlung spielt der chemische Aufbau der Haut [27].

Die langwellige Infrarot-B- und -C-Strahlung wird vorwiegend in der Epidermis absorbiert, während die kurzwellige Infrarot-A-Strahlung tiefer eindringt und teils erst in der Dermis und Subkutis absorbiert wird. Dieses Phänomen wurde in den Untersuchungen von Bachem und Reed zur Penetration von Licht durch die menschliche Haut 1931 beschrieben [28]. Die Abhängigkeit der Eindringtiefe von der Wellenlänge wird in der Abbildung 1.3 veranschaulicht.

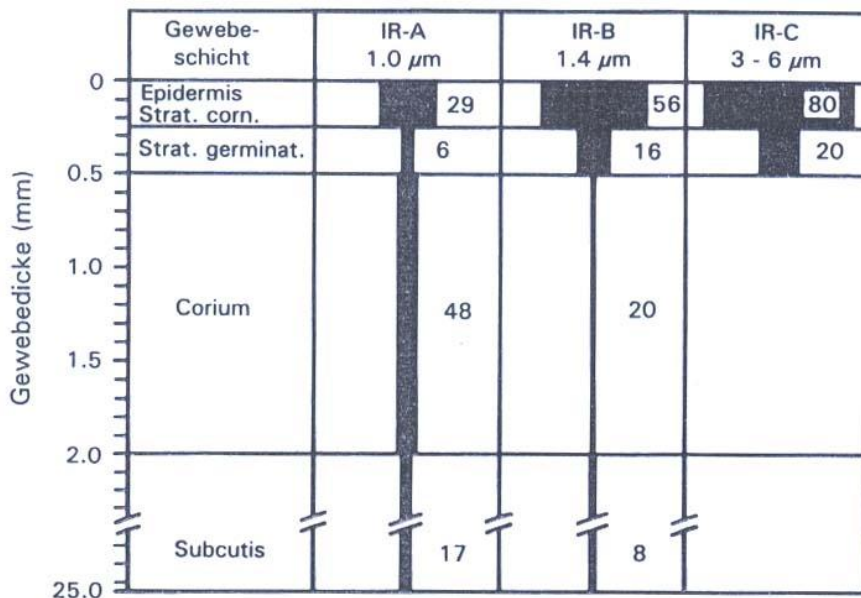


Abb.1.3: Absorption von Infrarotstrahlung verschiedener Wellenlängen in den Gewebeschichten der menschlichen Haut, dargestellt in Prozent der gesamten absorbierten Strahlung der angegebenen Wellenlängen [25].

Demnach ist für die Temperaturbelastung nach einer Infrarot-Bestrahlung in erster Linie die oberflächliche Absorption der Infrarot-B- und -C-Strahlung verantwortlich. Eine starke oberflächliche Absorption von Infrarot-B und Infrarot-C verursacht schmerzhaftes Überhitzungserscheinungen [25].

1.5.4 Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung (wIRA)

Schon lange ist aus spektrometrischen Messungen bekannt, dass sich die Sonneneinstrahlung in Meeresspiegelhöhe wesentlich von der Sonnenstrahlung oberhalb der Erdatmosphäre unterscheidet. Die auf der Erde ankommende Strahlung ist nicht nur insgesamt „schwächer“, sondern ihr fehlen besonders im Infrarot-Bereich teilweise oder gänzlich bestimmte spektrale Anteile in Form von Absorptionsbanden. Neben Sauerstoff, Ozon und Kohlendioxid ist hierfür vor allem der Wasserdampf verantwortlich. Diese Absorptionsbanden entsprechen genau den Wellenlängen-Bereichen der üblichen Rotlichtlampen, die auch von den Wassermolekülen der obersten Hautschichten absorbiert werden und zu Schmerzempfindungen führen können. Der Schmerzeffekt bleibt aus, wenn man die Atmosphäre dadurch simuliert, dass einer künstlichen Infrarot-Strahlenquelle eine Wasserschicht als Filter vorgeschaltet wird [25]. Dieses Phänomen der Filterwirkung verhindert, dass der Mensch dem gesamten hohen infraroten Strahlenanteil des Sonnenspektrums ausgesetzt ist. In den konventionellen Rotlichtlampen fehlt diese Filterwirkung und führt zu einer Oberflächenüberwärmung der Haut [27]. Im modernen Infrarot-A-Strahler hydrosun® 500 mit Wasserfilter ist die technische Umsetzung dieses physikalischen Prinzips gelungen, er stellt eine neue, leistungsfähige und den Ansprüchen der modernen Medizin genügende Bestrahlungseinrichtung dar [25].

1.5.5 Wirkmechanismen von wassergefilterter-Infrarot-A-Strahlung (wIRA)

wIRA wirkt sowohl über *thermische* als auch *nicht-thermische* Effekte [21]. Zu den thermischen Effekten gehören der Aufbau eines therapeutischen Wärmefeldes sowie daraus ableitbare energetische Aspekte.

Thermische Effekte von wIRA

Der Aufbau eines Wärmefeldes [21] erfolgt durch:

- Erreichen hautoberflächennaher Kapillarbereiche durch die Infrarot-A-Strahlung (Primärerwärmung).
- Wärmeabtransport durch das Blut in die Tiefe.
- Erhöhung der Kapillardurchblutung mit Ausweitung der der Strahlung zugänglichen Durchblutungsbereiche.
- Gewebswärmeleitung in die Tiefe.
- Sekundäre Energiefreisetzung durch Anregung des Stoffwechsels infolge der Temperatursteigerung (gemäß der Reaktion-Geschwindigkeit-Temperatur-Regel (RGT-Regel) bedeutet beispielsweise eine Temperaturerhöhung von 3°C eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um 30% mit entsprechend vermehrter Energiefreisetzung ins Gewebe).
- Relativ hohe primäre Tiefenwirkung von wIRA.

Nicht-thermische Effekte von wIRA

- Reizwirkung auf Zellen und zelluläre Strukturen mit Reaktionen der Zellen bei schon sehr kleiner Bestrahlungsintensität, z.B. zielgerichtetes Plasmodienwachstum [29], Beeinflussung der Cytochrom-Oxidase C [30, 31, 32], zielgerichtetes Wachstum von Neuronen [33] sowie zellschützende Effekte von Infrarot A [34] und wassergefiltertem Infrarot-A [35, 36, 37].

In therapeutischen Bestrahlungsstärken und -dosen ist wIRA für die menschliche Haut nicht nur ungefährlich, sondern sie hat zellschützende Effekte gegen die durch UV-Strahlung hervorgerufenen Schäden [35, 36].

Wundheilung und Infektabwehr (z.B. Granulozytenfunktion einschließlich antibakterieller Sauerstoffradikalbildung der Granulozyten) hängen ganz entscheidend von einer ausreichenden Energieversorgung (und von einer ausreichenden Sauerstoffkonzentration) ab. Sauerstoff ist nicht nur essentiell für die Energiebereitstellung während der Wundheilung, sondern ist auch unverzichtbares Substrat für die Sauerstoffradikalenbildung der Granulozyten [21].

Energiebereitstellung und Wundheilung sind von den folgenden drei Faktoren abhängig:

1. *Gewebetemperatur*. Unter 28°C ist keine Wundheilung wegen eines langsamen Stoffwechsels gemäß der RGT-Regel möglich [21].

2. *Sauerstoffpartialdruck im Gewebe.* Bei unzureichendem Sauerstoffpartialdruck wird keine Energie bereitgestellt. Chronische Wunden haben häufig einen Sauerstoffpartialdruck nahe Null und eine relative Hyperthermie [39 - 50].

3. *Gewebedurchblutung.* Eine ausreichende Gewebedurchblutung ist unabdingbar für den Antransport energiereicher Substrate einerseits und den Abtransport von Stoffwechselschlacken andererseits.

1.5.6 Anwendungen von wIRA

Es wurde in mehreren randomisierten Studien gezeigt, dass wassergefilterte-Infrarot-A-Strahlung (wIRA) die Wundheilung positiv beeinflussen kann. In Dermatologie und Chirurgie führt wIRA bei akuten Wunden [51, 52, 53] und chronischen Ulzera [48, 54, 55] zu einer verbesserten Wundheilung sowie zu einer Schmerzreduktion [56]. In der Dermatologie wird wIRA u. a. in der Therapie der Verrucae vulgares (kutane Warzen) als Teil einer Kombinationstherapie (Salizylsäurepflaster, unblutige Kürettage und wIRA) [54, 57], bei Candytomata acuminata, Sklerodermie [58, 59] sowie Morphea und Acne papulopustulosa [60, 61] eingesetzt. Im Bereich der Physiotherapie, Sportmedizin und Orthopädie kommt wIRA in der Behandlung muskulärer Verspannungen, bei Myogelosen [62], bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises [63] wie M. Bechterew [64], bei Arthrosen und für die Regeneration nach sportlicher Belastung [65] (wIRA allein oder in Kombination mit Bewegung) zum Einsatz.

In der Neonatologie wird wIRA zur Aufrechterhaltung/Erhöhung der Körpertemperatur, als „Wärmedepot“ vor Transport verwendet [66]. Außerdem wird die von der infraroten Strahlung mittels wIRA erzeugte Hyperthermie in der Onkologie als adjuvante Therapie z.B. beim metastasierenden Mamma-Ca genutzt [67] mit Radiatio bzw. Chemotherapie kombiniert.

1.6 Methoden zur Charakterisierung der Wundheilung

1.6.1 Der transepidermale Wasserverlust

Die Messung des transepidermalen Wasserverlustes ist eine klassische, anerkannte und häufig eingesetzte Methode zur Untersuchung der Wundheilung und Charakterisierung der Barrierefunktion der menschlichen Haut. Eine geschädigte Haut ist für Wasser permeabler als eine intakte kutane Barriere.

Die Schutzfunktion der Haut besteht nicht nur im Schutz vor äußerer Penetration, sondern auch in der Verhütung eines übermäßigen Flüssigkeitsverlustes nach außen. Die Barrierschichten beeinflussen die Höhe des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL).

Der TEWL bezeichnet die Wassermenge, die von der Haut pro Stunde und cm² an die Außenwelt abgegeben wird. Im physikalischen Sinn baut sich durch die Diffusion des körpereigenen Wassers ein Druck auf, den man als ein integrales Signal in Form des transepidermalen Wasserverlustes messen kann.

Der transepidermale Wasserverlust ist somit einer der wichtigsten Parameter zur Beurteilung der Barrierefunktion der Haut. Je intakter der Hautschutzmantel, desto weniger Wasser dringt durch unsere Haut nach außen. Ein niedriger TEWL charakterisiert daher einen guten Hautzustand.

Schäden der Hautschutzfunktion können durch TEWL-Messungen schon in einem sehr frühen Stadium erkannt werden. Die Bestimmung des TEWL hat sich als besonders nützlich erwiesen, um Hautirritationen, die durch verschiedenste physikalische und chemische Einwirkungen entstehen, zu untersuchen. Für die Prüfung von kosmetischen und pharmazeutischen Produkten ist die Messung des TEWL heute unverzichtbar. Sie wird in absehbarer Zukunft sogar gesetzlich verankert werden, da der Schutz der Bevölkerung durch Erkennung hautschädigender Produkte höchste Priorität hat.

TEWL-Messungen werden auch in der Allergologie zur Evaluation der Barrierefunktion der Haut bei Kontaktdermatitis und Atopischer Dermatitis [68], in der Neonatologie zur Überwachung von Frühgeborenen [69] sowie in Verlaufskontrollen der Heilungsprozesse von Hautschädigungen und Verbrennungen [70, 71] angewandt.

Nachteile dieser Methode sind allerdings, dass keine Messungen zu Beginn der Wundheilung, also in ihrer feuchten exsudativen Phase, möglich sind und dass weder Aussagen zur Reepithelialisierung auf zellulärer Ebene noch zur bakteriellen Besiedlung der Wunde möglich sind. Darüber hinaus werden TEWL-Messungen durch topisch applizierte Substanzen beeinflusst, da diese Wasser enthalten oder einen anderweitigen Schutzfilm auf der Haut bilden.

1.6.2 Laser-Scan-Mikroskopie (LSM) als optische Untersuchungsmethode

Um die Heilung mittels Saugblasen gesetzter, definierter Wunden zu untersuchen, kann das dermatologische Laser-Scan-Mikroskop „Stratum“ (Opti®Scan Ltd. Melbourne, Australien) eingesetzt werden [72]. Die Laser-Scan-Mikroskopie stellt eine neue, nicht invasive Online-Methode dar, mit der die Oberfläche und die darunter liegenden Schichten der menschlichen Haut untersucht werden können. Bei diesem Gerät ist ein Handstück, das das optische Abbildungs- und Fokussierungssystem enthält, über Lichtleiter mit dem Laser- und Detektionssystem verbunden. Dadurch ist es möglich, das Handstück auf eine beliebige Körperstelle aufzusetzen. Durch manuelle Regelung der Position des Fokus können unterschiedliche Hautschichten auf der 250 x 250µm großen Messfläche analysiert werden [73].

Nach Unterspritzung der Wundränder mit einem fluoreszierenden Farbstoff erfolgt eine Anfärbung der oberflächlichen Zelle. Durch erneutes Anfärben an den jeweiligen Untersuchungstagen kann die Reepithelialisierung *in vivo* verfolgt werden. Es entstehen Bilder in hoher Auflösung und starker Vergrößerung. Strukturveränderungen der epidermalen und der oberen dermalen Hautschichten können unterschieden werden.

In Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die dermatologische Laser-Scan-Mikroskopie eine effiziente Methode für die klinische Diagnostik, Therapiekontrolle und für die Erforschung physiologischer und pathologischer Prozesse der menschlichen Haut darstellt [74].

Da die Epithelialisierung in Verlaufsuntersuchungen verfolgt werden kann, wurde diese Methode in der vorliegenden Arbeit eingesetzt.

2 Zielstellung

In der vorliegenden Arbeit wird die Wirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung auf den Wundheilungsprozess mit und ohne Applikation einer allgemein gebräuchlichen Wundsalbe untersucht.

In letzter Zeit finden sich gehäuft Hinweise in der Fachliteratur, dass wassergefilterte Infrarot-Strahlung (wIRA) einen positiven Einfluss auf Wundheilungsprozesse hat [21]. Ursachen hierfür könnten sowohl die verbesserte Durchblutung als auch die geringe Besiedelung der Wunde mit Bakterien sein. Neben diesen neuen Tendenzen stellt die traditionelle Wundsalbe eine bewährte Methode zur Behandlung von Wundflächen dar. Bisher gibt es keine vergleichenden Untersuchungen darüber, welches der beiden Verfahren unter welchen Bedingungen eine bessere Wirkung erzielt.

Demnach besteht die Zielstellung der vorliegenden Arbeit darin, Wundheilungsprozesse unter standardisierten Bedingungen ohne Behandlung, mit Behandlung durch Bepanthen-Wundsalbe und mit wassergefilterter Infrarotstrahlung zu untersuchen.

Eine klassische Methode zur Untersuchung der Wundheilung ist die Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL). TEWL-Messungen charakterisieren die Barrierefunktion der menschlichen Haut. Eine geschädigte Barriere ist für Wasser permeabler als eine intakte Barriere. Dieses Messprinzip wird in der vorliegenden Arbeit genutzt, um den Wundheilungsprozess zu charakterisieren.

Weiterhin soll die Wundfläche, welche sich im Laufe des Heilungsprozesses ändert, mikroskopisch ausgemessen werden und zur Beurteilung der Wundheilung herangezogen werden.

Ausgehend von dieser Zielstellung wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit Saugblasen unter definierten Bedingungen an gesunden Probanden mit Hilfe der Saugblasentechnik erzeugt. Das Blasendach wurde entfernt und es entstand eine sehr oberflächliche Erosion. Die Heilung der Wundflächen wurde mit den oben genannten Methoden beeinflusst und das Ergebnis mit drei analytischen Methoden bewertet: *Planimetrische Fotografie*, *TEWL*, *LSM*. Außerdem sollten von jeder Wunde während des Heilungsprozesses Abstriche entnommen und diese mikrobiologisch untersucht werden.

Ziel dieser Analyse war die Klärung der Frage, ob die unterschiedlichen Methoden zur Beeinflussung der Wundheilung auch Einfluss auf die bakterielle Besiedlung der Wunden haben.

3 *Material und Methoden*

3.1 Studiendesign

Die Untersuchungen wurden im Bereich für „Experimentelle und angewandte Physiologie der Haut“ an der Universitätshautklinik Charité Berlin durchgeführt. In Übereinstimmung mit der Zielstellung der Arbeit wurden standardisierte Wunden mit Hilfe der Saugblasentechnik an den Unterarmen von gesunden Probanden erzeugt und deren Heilungsprozess in Abhängigkeit von verschiedenen Einflussparametern über einen Zeitraum von 10 Tagen untersucht: Zur Charakterisierung der Wundheilung erfolgten neben Messungen des transepidermalen Wasserverlustes auch planimetrische Fotografie, Laser-Scan-Mikroskopie und bakteriologische Untersuchungen.

3.2 Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv setzte sich aus 10 weiblichen und 2 männlichen freiwilligen Probanden kaukasischer Abstammung in gutem Gesundheitszustand zusammen, die einen gleichen Haut- und Lichttyp aufwiesen. Das Alter der Probanden lag zwischen 18 und 40 Jahren.

Ausschlusskriterien waren Haut- und Haarerkrankungen sowie jegliche Lokalthherapie im Bereich der Testareale während der letzten 4 Wochen. Der BMI der Probanden lag zwischen 19 und 24.

3.3 Ethik

Die Durchführung der Versuche wurde von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin genehmigt.

Die Probanden wurden vor der Behandlung eingehend über Prinzip, Verlauf und Ziel des Versuches sowie über mögliche Nebenwirkungen der Untersuchung aufgeklärt und bekundeten ihr Einverständnis schriftlich. Die Probanden hatten zu jeder Zeit der Untersuchung die Möglichkeit, ohne Angabe von Gründen von ihrer Einwilligung zurückzutreten.

Das Setzen von Saugblasen und die Laser-Scan-Mikroskopie sind für die Anwendung am lebenden Menschen zugelassen. Diese Information erhielten die Probanden

zusätzlich in schriftlicher Form. Sie unterzeichneten vor Versuchsbeginn eine Einverständniserklärung.

3.4 Eingesetzte Methoden

3.4.1 Saugblasentechnik

Mit Hilfe der von Kiistala [75] beschriebenen Saugblasentechnik ist es möglich, exakt definierte, reproduzierbare oberflächliche Hautdefekte zu erzeugen, wobei es zu einer Trennung von Epidermis und Dermis auf der Ebene der Basalmembran kommt. Diese Methode wird häufig bei Wundheilungsstudien eingesetzt. Dazu wird über einen Zeitraum von etwa 120 min mit Hilfe einer Saugglocke von 5 mm Durchmesser, auf die über ein Schlauchsystem ein konstanter Unterdruck von -200 mmHg einwirkt, ein oberflächlicher Hautdefekt gesetzt. Es kommt zur Ausbildung einer Blase.

Nach Entfernung des Blasendaches entsteht eine sehr oberflächliche Erosion, die nicht blutet und innerhalb einiger Tage narbenfrei abheilt, wobei eine zeitweilige Hyperpigmentation möglich ist. Dieses Modell ermöglicht eine weitestgehende schmerzfreie in vivo Analyse der epithelialen Regeneration der menschlichen Haut. Für diese Arbeit wurden an den Innenseiten der Unterarme jeweils 2 Blasen erzeugt.



a) Applikation der Saugglocken



b) Saugblase nach 120 min

Abb. 2.1: Saugblasentechnik

3.4.2 Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes mit dem TEWAMETER

3.4.2.1 Messgerät

Der transepidermale Wasserverlust wurde täglich an der gesunden Haut sowie an den Wunden gemessen. Dazu wurde das TEWAMETER TM 210[®] (COURAGE + KHAZAKA elektronik GmbH, Köln, Deutschland) genutzt.

Die Genauigkeit des Gerätes wird mit $\pm 10\%$ des Messwertes $\pm 0,5 \text{ g/h}^2$ für eine relative Hautfeuchte von $>30\%$ sowie 15% des Messwertes $\pm 1,0 \text{ g/h}^2$ für eine relative Hautfeuchtigkeit von $< 30\%$ angegeben [76].

3.4.2.2 Messprinzip

Das durch die Haut entweichende Wasser tritt durch einen Sondenkopf hindurch (Abbildung 2.2). Hier wird der Dichtegradient von zwei im Sondenkopf befindlichen Sensoren gemessen und von einem Mikroprozessor ausgewertet [76].

Der gemessene TEWL-Wert wird durch die aktuelle Wasserdampf-Durchlässigkeit der menschlichen Haut im Untersuchungsgebiet bestimmt.

Physikalische Grundlage für die Beschreibung des Wassertransportes durch das Stratum corneum ist das 1855 von Fick entwickelte erste Diffusionsgesetz [77]. Dieses Gesetz ist nur in einer homogenen Diffusionszone gültig. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass sich das Stratum corneum bezogen auf den transepidermalen Wasserverlust trotz seiner heterogenen Struktur wie eine homogene Membran verhält.

Vor dem Hintergrund des Fick'schen Diffusionsgesetzes lässt sich der Wasserverlust über die Haut wie folgt beschreiben:

$$TEWL = \frac{(K \cdot \Delta C) \bar{D}}{H} = K_p \cdot \Delta C$$

K - SC-gewebeabhängiger Verteilungskoeffizient von Wasser

\bar{D} - mittleres Diffusionsvermögen von Wasser durch die gesamte Hornschicht

H - Schichtdicke des Stratum corneum

ΔC - Konzentrationsdifferenz des Wassers über der Membran (Hornschicht)

K_p - Permeabilitätskoeffizient des Wassers durch das SC

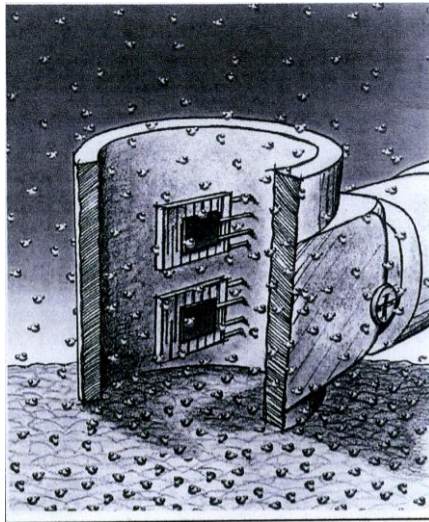


Abb. 2.2: Sondenkopf auf der Haut

3.4.2.3 Vorbereitung der Probanden

Beide Unterarme jedes Probanden wurden vor den Untersuchungen nicht mit Seifenlösungen oder anderen kosmetischen Produkten behandelt, um einer eventuellen Einflussnahme dieser Substanzen auf die Lipidschicht und damit auf den trans-epidermalen Wasserverlust vorzubeugen. Eine körperliche Bewegung sowie eine emotionale Erregung vor der Untersuchung wurden vermieden. Aus diesem Grund erfolgte ein Akklimatisierungszeitraum von 15 Minuten, in dem sich der Proband an die Raumparameter des Untersuchungsortes in entspannter Sitzposition anpassen konnte. Zu Beginn benötigte das Gerät eine Aufwärmzeit von 15 Minuten, um die Betriebstemperatur und die volle Genauigkeiten zu erreichen. Nach dem die Messbereitschaft durch das Gerät angezeigt wurde, wurde diese zunächst durch eine Leerlaufmessung ohne Aufsetzen der Sonde auf das zu untersuchende Areal überprüft. Stellte sich dabei ein TEWL-Wert von $0 \pm 0,5 \text{ g/h}^2$ ein, konnte mit den Messungen an der Haut begonnen werden. Dabei wurde der Sondenkopf, wie in Abbildung 2.3 zu sehen, ohne zusätzlichen Druck locker auf die vorher markierte Hautstelle aufgesetzt. Nach mindestens 20 Sekunden reagierte das Gerät mit einem Tonsignal, wenn sich ein konstanter TEWL-Wert mit einer Standardabweichung von maximal $\pm 0,5 \text{ g/h}^2$ eingestellt hatte.

Daraufhin wurde die Messung unterbrochen und zusätzlich zum jeweiligen TEWL- Wert und seiner Standardabweichung die Hautfeuchtigkeit und Temperatur abgelesen. Nach jeder einzelnen TEWL-Messung waren mindestens 2 Minuten Ruhe nötig, bis die

Restfeuchtigkeit aus dem Messkopf diffundiert und der Leerwert wieder bei $0 \pm 0,5 \text{ g/h}^2$ lag.

Die TEWL-Werte sind von der Raumtemperatur und der Luftfeuchtigkeit sowie von körperlicher Bewegung und emotionaler Erregung abhängig.

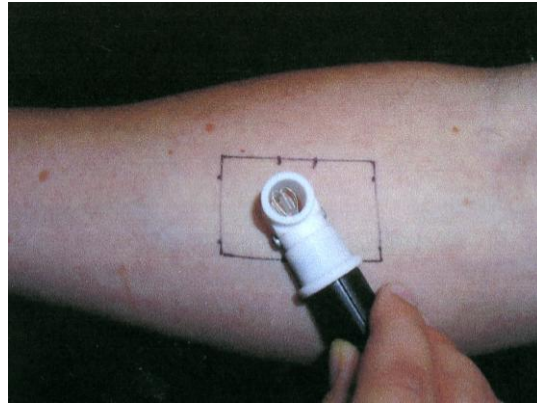


Abb. 2.3: Sondenkopf auf dem Unterarm

3.4.3 Planimetrische digitale Fotografie

Von jeder Wunde wurden täglich Fotos gemacht (digitales Auflichtfoto der gesamten Wunde). Die Aufnahmen erfolgten in einem konstanten definierten Abstand zur Hautoberfläche, so dass die Veränderungen der Wundgröße alle zwei Tage vermessen werden konnten. Als digitale Kamera diente die Nikon coolpix 4500. Die Wundgröße wurde planimetrisch mit Hilfe des Softwareprogramms analySIS[®] aus dem Foto ermittelt.



Abb. 2.4: Digitale Fotografie

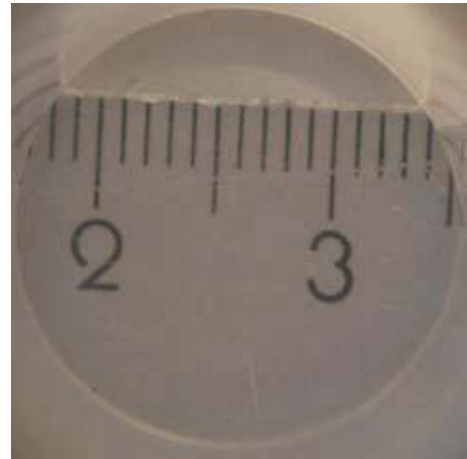


Abb. 2.5: Planimetrische digitale Fotografie und Kalibrierung

3.4.4 Laser-Scan-Mikroskopie (LSM)

Die konfokale Laser-Scan-Mikroskopie erlaubt eine *in vivo* Visualisierung der Mikroarchitektur von organischem Gewebe. Nicht nur eine Betrachtung der oberflächlichen Struktur, sondern auch ein Blick in die Tiefe ist möglich. Herkömmliche Lichtmikroskopie beruht auf dem Prinzip von Reflektions- und Transmissionsmessungen von Licht mit Wellenlängen im Bereich des sichtbaren Spektrums. Bei der LSM wird ein Laserlicht über optische Leiter zu einer bikonvexen Linse geführt; durch diese wird der Strahl fokussiert und punktuell auf das zu untersuchende Gewebe projiziert. Das von der Fokusebene stammende Licht wird von dem Instrument detektiert und zur Bildverarbeitung (via Spektrometer) verwendet. Das optische System ist dabei so konstruiert, dass durch den Gebrauch einer Lochblende vorwiegend das Licht aus der Fokusebene erfasst, aber der streuende Laserstrahl sowie das in der Fokusebene liegende Licht durch Abstimmung vom Detektor ausgeschlossen wird. Dadurch ergibt sich eine optische Schnittdarstellung der ausgeleuchteten Ebene mit einer minimalisierten Bildungsschärfe [78, 79]. Zusätzlich kann der Untersucher durch progressive Tiefenveränderung und Positionierung des Laserfokus unter die Oberfläche die unterschiedlichen lebenden Schichten der Haut erkennen. Dabei liefert die konfokale Mikroskopie Echtzeitbilder in einer hohen Detailauflösung. Die Ansicht ist im Gegensatz zur konventionellen Histologie nicht gewohnt vertikal, sondern mit einer „Draufsicht“ horizontal zur superfizialen Gewebsoberfläche (*en face*) [80, 81, 82]. Die Laser-Scan-Mikroskopie ermöglicht Aufnahmen im Fluoreszenz-Reflektionsmodus. Bei dem reflektierenden Verfahren wird

keine chemische und nur eine minimale physikalische Vorbereitung des Gewebes benötigt [83]. Von der Fokusebene zurückgestreutes, reflektiertes Laserlicht wird verwendet, um einen Bildkontrast zu erzeugen. Zum Beispiel zeigen sich Melanin und Keratin in der Nähe vom infraroten Wellenlängenbereich als starke Reflektoren und sind damit helle Kontrastspender [84]. Bei dem reflektierenden Verfahren ist der Bildkontrast demnach mit den natürlich vorkommenden Gewebekomponenten assoziiert.

Im Gegensatz dazu wird bei der fluoreszierenden Methode der konfokalen Mikroskopie ein exogener Fluoreszenzfarbstoff als Kontraststoff eingebracht [80]. Ein Laserlicht mit einer angemessenen Wellenlänge wird verwendet, diesen Farbstoff anzuregen. Simultan kann das emittierte, aus der Fokusebene stammende Fluoreszenzsignal erfasst und zur Bilddarstellung verwendet werden. Beim Fluoreszenzmodus verlässt man sich also auf die unterschiedliche Verteilung des exogenen Farbstoffes, um einen Kontrast zu produzieren.

3.4.4.1 Messaufbau des Laser-Scan-Mikroskops

Um die Heilung der mittels Saugblasen definierten Wunden zu untersuchen, konnte die in-vivo Laser-Scan-Mikroskopie eingesetzt werden. Durch Auftragen des fluoreszierenden Farbstoffs Fluoreszin (0,1% Fluoreszin in Wasser) auf die Wundfläche erfolgte eine Anfärbung der oberflächlichen Zellen. Diese Untersuchung wird im Fluoreszenzmodus der LSM dargestellt. Der Messaufbau des in-vivo Laser-Scan-Mikroskops „Stratum“ (OptiScan Ltd., Melbourne, Australien) besteht aus einem luftgekühlten Argon-Laser, dessen Strahlung in eine optische Faser eingekoppelt wurde (siehe Abb. 2.4.). Er erzeugt ein monochromatisches, blaues Licht mit einer Wellenlänge von 488 nm. Die Energie der Laserquelle beträgt 50 mW. Die Faser endet in einem Handstück, welches mit der zu untersuchenden Haut im Kontakt gebracht wird. Das Fluoreszenz-Signal wird durch dieselbe Faser über Filter einem Spektrometer zugeführt. Ein sanfter Druck führt zu einer Stabilisierung der Optik auf der Haut, wodurch eine Verminderung von Verwackelungsartefakten auf den Aufnahmen erzielt werden kann. Bei der Messung wird ein Hautareal von 250 x 250 µm homogen ausgeleuchtet und visuell erfasst. Der Empfänger ist mit einem Mess- und Steuercomputer verbunden. Ein Tiefenscan kann durch manuelle Änderung der Fokusposition am Handstück durchgeführt werden. Durch Verlaufsuntersuchungen konnte die Epithelialisierung verfolgt werden.

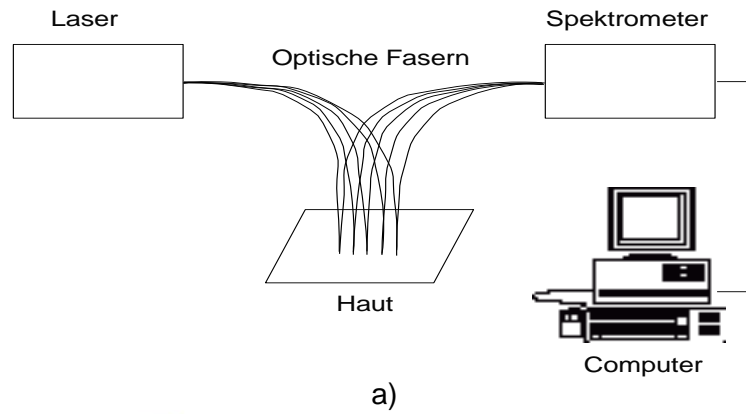


Abb. 2.6: Messaufbau des Laser-Scan-Mikroskops „Stratum“

- a) Prinzipieller Messaufbau der LSM-Anordnung
- b) Laser-Scan-Mikroskop
- c) Handstück des Laser-Scan-Mikroskops

3.4.5 Mikrobiologische Untersuchungen

Bestimmte Faktoren können die normalen Wundheilungsprozesse stören. Eine Infektion des Wundbereiches mit Krankheitserregern ist hier in erste Linie zu nennen und unter allen Umständen zu vermeiden.

Die Wechselwirkung zwischen Wundheilung und Mikrobiologie der Haut ist sehr komplex und ist vor allem abhängig von der Art der Wunde und deren Behandlung sowie vom Immunstatus des Verletzten. In der akuten Wunde findet sich eine ähnliche Mikroflora wie auf der unverletzten Haut. Dagegen bietet eine verschmutzte oder chronische Wunde eine deutlich bessere Angriffsfläche für die Kolonisation von transienter Mikroflora und die Ausbildung einer Infektion [8].

Untersuchungen zur Beeinflussung der bakteriellen Besiedlung während der Wundheilung sind Voraussetzungen, um eine Infektion der Wunde verhindern zu können. Daher wurden an den Tagen 1, 3, 5, 7 und 9 nach Erzeugung der Saugblasen von allen Wunden und von der gesunden Haut bakterielle Abstriche mit Hilfe von sterilen Abstrichröhrchen entnommen und danach untersucht.

3.4.5.1 Beschreibung der mikrobiologischen Untersuchung

Zur quantitativen mikrobiologischen Diagnostik der künstlich erzeugten Wunden wurden Dacron-Wattestäbchen (Transwab, Medical Wire & Equipment, Corsham, United Kingdom) in einer normotonischen salzigen Lösung getränkt und danach für etwa 30 Sekunden in den Wundboden eingetaucht.



Abb. 2.7: Wattestäbchen

Für den Transport wurden die Wattestäbchen in ein steriles Röhrchen mit 5 ml eines klaren Transportmediums (Amies medium MW 170; anorganischer Phosphatpuffer ohne Aktivkohle) gegeben. Im Labor wurden die Wattestäbchen für 15 Sekunden in ein steriles Fläschchen mit 1 ml der 0,01 M phosphatgepufferten Kochsalzlösung getaucht und für 15 Sekunden geschüttelt. 100 µl dieser Original-Suspension und eine 1/10

Verdünnung wurde auf Columbia blood agar (mit 5% Schafsblut, Oxoid, Basingstoke, Great Britain) aufgegeben.

Beide Platten wurden bei 35°C für 48 Stunden inkubiert. Der koloniebildende Anteil (Colony forming units CFU) pro Platte wurde für die Originalsuspension und die Verdünnung gezählt und die Ergebnisse als cfu/Wattestäbchen berechnet.

Die Bakterienkolonien wurden nach einer Subkultivierung auf Selektivagar (Mac Conkey-Agar für gramnegative Stäbchen, Mannitol-Agar für Staphylokokken und Esculin-Agar für Streptokokken, alle von Oxoid) visuell identifiziert, und mittels Gram-Färbung und biochemischer Differenzierung durch das ATB-System (Biomérieux, Nürtingen, Germany) identifiziert. Die kultivierten Staphylokokken wurden mit Hilfe eines „clamping factor-tests“ (Staphaurex, Remel, Dartford, England), einer aeroben Säuerung des Mannitol-Salz-Agars (Oxoi) und eines DNase-Tests (unter Verwendung von DNase-test agar, Biomérieux) identifiziert.

Die Staphylokokken wurden in zwei Gruppen unterteilt: *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis*.

3.4.6 Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung (wIRA)

wIRA ist ein kontaktfreies, leicht anzuwendendes und als angenehm empfundenes wenig brennendes Verfahren, das eine spezielle Form der Wärmestrahlung mit hohem Penetrationsvermögen ins Gewebe bei geringer thermischer Oberflächenbelastung darstellt.

3.4.6.1 Wassergefilterter Infrarot-A-Strahler

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung eines wassergefilterten Infrarot-A-Strahlers (hydrosun®, Hydrosun Medizintechnik GmbH, Müllheim, Typ 501 oder 505) auf den Heilungsprozess von definierten Wunden an der Haut untersucht. Bei dem wassergefilterten Infrarot-A-Strahler werden die Wasserbanden des Infrarot-A sowie das Infrarot-B und C (die sonst durch die Wechselwirkung mit Wassermolekülen in der Haut eine unerwünschte thermische Belastung bringen) zu wesentlichen Teilen herausgefiltert. Dadurch wird eine verbesserte Wärmeentwicklung in der Tiefe des Gewebes erzielt und die Oberflächenerwärmung reduziert [57]. Der homogene Teil des Bestrahlungsfeldes hat einen Durchmesser von 10 cm, die Bestrahlungsstärke beträgt (bei 25 cm Bestrahlungsabstand beim Strahler 501 und 10 mm Wasserfilterung und

Orangefilter OG590) $E = 210 \text{ mW/cm}^2$ (= VIS + wIRA), hiervon entfallen 150 mW/cm^2 auf wIRA.

Technisch wird wIRA in speziellen Strahlern erzeugt, in denen die gesamte Strahlung eines 3000-Kelvin-Halogen-Strahlers durch eine Wasser enthaltende Küvette hindurchtritt, so dass die unerwünschten Strahlungsanteile gemindert oder herausgefiltert werden [57, 85]. Das verbleibende wassergefilterte Infrarot A (wIRA, im Bereich 780-1400 nm), das sich am anderen Ende des sichtbaren Licht anschließt, erlaubt einen mehrfachen Energieeintrag ins Gewebe bei einer geringeren thermischen Belastung der Hautoberfläche [57].



Abb.2.8: wIRA-Strahler

3.5 Versuchsdurchführung

Die Untersuchungen wurden als kontrollierte, randomisierte Studie an den Unterarmseiten von 12 Probanden durchgeführt. An den beiden Innenseiten der Unterarme jedes Probanden wurden je zwei, d.h. insgesamt vier Saugblasen gleichzeitig mit einem Durchmesser von 5 mm mittels Unterdruck erzeugt, die in einem Abstand von 6 cm zueinander stehen.

Das Setzen der Saugblasen erfolgt in einem klimatisierten Raum mit gleichbleibender Luftfeuchtigkeit und einer Raumtemperatur von 21°C , wobei sich die Probanden ca.

15 Minuten vor Beginn der Experimente ruhend in dem Versuchsraum aufhielten. Es wurden weiterhin die spezifischen Hautparameter wie transepidermaler Wasserverlust (TEWL), der pH-Wert der Haut, der Sebumgehalt und die Hautfeuchte bestimmt. Nach Setzen der Saugblasen wurde das Blasendach mit Hilfe eines sterilen Skalpells und einer sterilen Pinzette entfernt.

Die erzeugten vier Hautläsionen wurden schematisch als Modus A und B bzw. C und D dargelegt.

Danach erfolgte die Beurteilung der vier Wunden mittels visueller Analogskalen (VAS). Die ärztliche Beurteilung der nicht-apparativen Aufsicht erfolgte einmal täglich, die VAS-Beurteilung durch den Probanden zweimal täglich: Vor und nach der Behandlung. Jeden Tag wurden die Wunden fotografiert. Darüber hinaus wurden vier verschiedene technische Methoden (Planimetrische digitale Bildanalyse, Laser-Scan-Mikroskopie, TEWL-Messung, mikrobiologische Diagnostik) zur Beurteilung der Wundheilung eingesetzt.

Die technischen Untersuchungen (einschließlich LSM, bakteriologische Abstriche) erfolgten an den Tagen 1, 3, 5 und 7 nach Setzen der Saugblasen, die planimetrische Bildanalyse und Behandlung der Wunden an den Tagen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. (Tab. 2.1)

Tab.2.1: Versuchsdurchführung

	<i>Tag</i>									
Maßnahmen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Saugblasensetzen	x									
TEWL	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Abstriche	x		x		x		x			
LSM	x		x		x		x		x	
Fotografie	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Behandlung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

3.5.1 Studiendesign

Die Wunden wurden täglich entsprechend behandelt:

Modus **A**: keine Behandlung

Modus **B**: Behandlung mit 2 mg/cm² Bepanthen-Salbe.

Modus **C**: Behandlung mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung (30 min, VIS+wIRA 210 mW/cm², 25 cm Abstand).

Modus **D**: Behandlung mit 2 mg/cm² Bepanthen-Salbe und wassergefilterter Infrarot A-Strahlung (30 min, VIS+wIRA 210 mW/cm², 25 cm Abstand).

Die Applikationen von Modus A und B und von Modus C und D erfolgten jeweils auf einem Unterarm (Tab. 2.2), so dass die nicht zu bestrahlende Wunden sicher von der Bestrahlung abgeschirmt werden konnten.

Es wurde in randomisierter Reihenfolge festgelegt, auf welchem der beiden Unterarme und in welche Reihenfolge die Applikation von Modus A und B bzw. C und D erfolgte. Die Probanden mussten während der 10-tägigen Versuchsdauer jeglichen Kontakt der Wunden mit Wasser und Kosmetika vermeiden. Zur Verhinderung einer Irritation und Infektion der Wunden wurden diese mit sterilen luftdurchlässigen Pflastern geschützt.

		ohne Wundcreme	mit Wundcreme
Arm 1	ohne wIRA-Bestrahlung	Modus A	Modus B
Arm 2	mit wIRA-Bestrahlung	Modus C	Modus D

Tab.2.2: Studiendesign



Abb. 2.9: Fotografische Darstellung der behandelten Wunden

3.5.2 Visuelle Analogskalen

2.5.2.1 Ärztliche Beurteilung des Therapieerfolges

Die ärztliche Beurteilung des Therapieerfolges erfolgte separat für jede Wunde mittels visueller Analogskalen (VAS) in der normalen Haut (nicht-apparative Aufsicht). Dazu musste die Frage beantwortet werden: „Wie beurteilen Sie die Wundheilung bezogen auf den Ausgangsbefund?“. Das Ergebnis sollte auf einer Bewertungsskala zwischen 0 und 10 mit einem Stich dargestellt werden (0 = extrem schlecht, 10 = extrem gut).

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A											
B											
C											
D											

0 = extrem schlecht 10 = extrem gut

2.5.2.2 Beurteilung des Therapieerfolges durch den Probanden

Die Beurteilung jeder Wunde durch den Probanden erfolgte mittels visueller Analogskalen: „Wie angenehm empfinden Sie das Wundgebiet?“ (0 = extrem unangenehm, 10 = extrem angenehm). Diese Variable wurde am Tag 1 zweimal erhoben: zuerst nach dem Entfernen des Blasendaches der gesetzten Blase, zum zweiten Mal nach Applikation von Salbe und Bestrahlung unmittelbar nach Bestrahlungsende; an den folgenden Tagen wurde die Variable auch zweimal erhoben: Jeweils vor allen anderen Untersuchungsschritten sowie unmittelbar nach Bestrahlungsende.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A											
B											
C											
D											

0 = extrem unangenehm 10 = extrem angenehm

3.5.3 Bakterielle Abstriche

Nach dem Erzeugen der Saugblasen erfolgten jeden 2. Tag bakterielle Abstriche von jeder Wunde sowie von der gesunden Haut. Diese wurden entsprechend der in Punkt 2.4.5.1 (S. 34) aufgeführten Arbeitsweise untersucht.

3.5.4 Planimetrische digitale Bildanalyse

Aller 2 Tage wurden die Wunden standardisiert fotografiert (konstanter Abstand, gleiche Belichtung), so dass die Veränderungen vermessen werden konnten. Die Wundfläche wurde planimetrisch (mittels Softwareprogramm analySIS[®]) aus dem Foto ermittelt.

3.5.5 Laser-Scan-Mikroskopie

Abschließend erfolgte die Untersuchung mittels Laser-Scan-Mikroskopie am Tag 1, 3, 5, 7, 9. Dafür wurde ein fluoreszierender Farbstoff Fluoreszin (0,1% Fluoreszin in Wasser) für die Anfärbung der oberflächlichen Zellen auf die Wundfläche aufgetragen. Mittels der Laser-Scan-Mikroskopie wurde eine Darstellung des Heilungsprozesses unterhalb der Oberfläche gelegener zellulärer Strukturen möglich.

3.5.6 Behandlung der Wunden

Es erfolgte die tägliche Behandlung der Wunden mit Bepanthen-Wundsalbe (Modus B + D). Dazu wurden vor Beginn der Behandlung jeweils 2 mg/cm² der Wundsalbe (Bepanthen) auf Modi B und D gleichmäßig aufgetragen und mit dem Finger über das gesamte Areal verteilt. Der Finger wurde dabei mit einem Latexhandschuh geschützt.

3.5.7 Bestrahlung mit wIRA

Anschließend erfolgte die Bestrahlung des Modus C (nur wIRA) und Modus D (wIRA + Bepanthen) mit wIRA 30°Min mit einem Abstand von 25 cm mit einer Bestrahlungsstärke von $E = \text{ca. } 210 \text{ mW/cm}^2$ (s. S. 38).

4 Ergebnisse

4.1 Bildbearbeitung

Die Bilder der Wundflächen wurden mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe® Photoshop® 5.5 bearbeitet. Das Ausmessen der Wundfläche erfolgt mit dem Software-Programm analySIS® (Soft Imaging System GmbH SIS, Münster).

4.2 Auswertung der Wundfläche

Jede Wundfläche wurde drei Mal gemessen, wobei die Fläche in Pixelpunkten angegeben wurde. 1cm^2 entsprach 299^2 Pixeln. Danach wurde ein Mittelwert berechnet. Aus den Mittelwerten wurde anschließend die Wundfläche in mm^2 bzw. prozentual berechnet.

Diese Werte wurden grafisch dargestellt, sie spiegeln die Verkleinerung der Wundfläche im Laufe des Versuches wider.



Abb.3.1: Ausmessung der Wundfläche mit dem Software-Programm analySIS®

4.3 Heilungsverlauf/ Defektverschluss der primären Wunde

Zunächst erfolgte die Betrachtung der Wundheilung unter dem Aspekt des Defektverschlusses, ausgehend von einer artifiziellen Wunde oberhalb des Stratum basale mittels Saugblasentechnik auf primär gesunder Haut. Erfolgskriterium war der Defektverschluss durch Reepithelisierung. Der Wundbehandlung lagen vergleichend verschiedene Therapiekonzepte über einen Therapiezeitraum von 10 Tagen zugrunde:

1. Ohne Behandlung.
2. Therapie mit Wundsalbe „Bepanthen“ .
3. Therapie mit wIRA .
4. Kombination wIRA mit „Bepanthen“.

Der Verlauf der Wundheilung ist in Abb. 3.2: dargestellt. Diese Abbildung zeigt die zeitliche Änderung der Mittelwerte der Wundflächen von allen Probanden für die einzelnen Therapieoptionen. Um die Ergebnisse besser vergleichen zu können, wurden die Ausgangswerte der Wundflächen auf 100 % normiert. In Tabelle 3.1 sind die entsprechenden Messwerte mit den Standardabweichungen zusammengefasst.

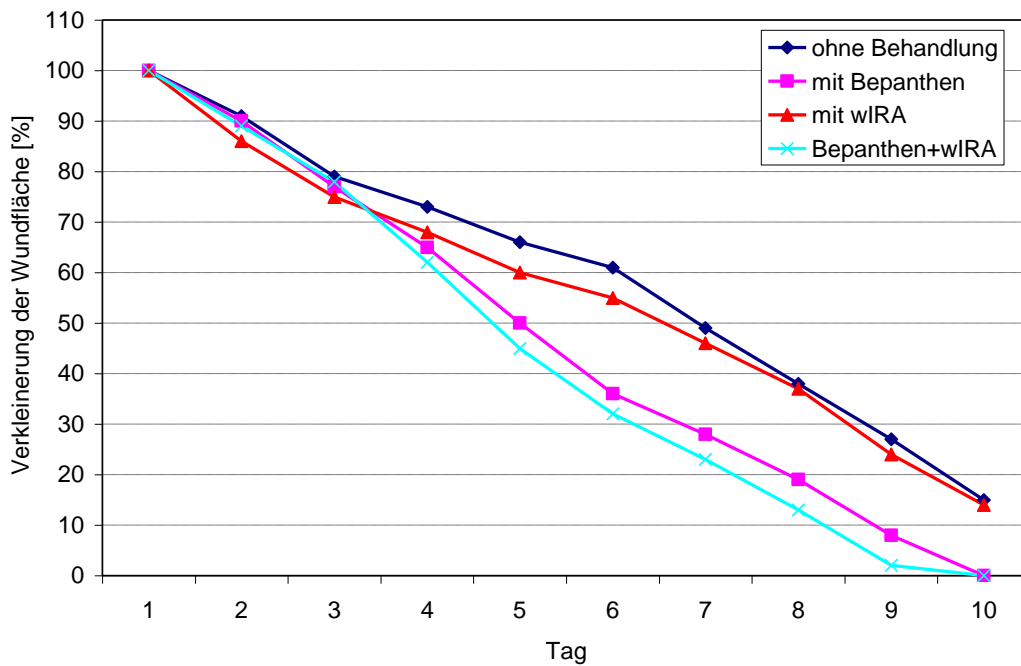


Abb.3.2: Wundheilung in Abhängigkeit von der Zeit (Mittelwerte von 12 Probanden)

Tab.3.1: Standardabweichung der Mittelwerte der Wundfläche

Tag	Ohne Behandlung [%]	Mit Bepanthen [%]	Mit wIRA [%]	Bepanthen + wIRA [%]
1	100 ± 30,4	100 ± 25,0	100 ± 23,7	100 ± 27,0
2	91 ± 26,0	90 ± 20,3	86 ± 21,0	89 ± 23,7
3	79 ± 20,8	77 ± 14,3	75 ± 19,6	78 ± 22,8
4	73 ± 19,9	65 ± 17,7	68 ± 16,1	62 ± 14,4
5	66 ± 19,1	50 ± 16,1	60 ± 16,0	45 ± 15,2
6	61 ± 17,4	36 ± 15	55 ± 16,0	32 ± 15,0
7	49 ± 21,0	28 ± 16,1	46 ± 15,3	23 ± 16,0
8	38 ± 16,4	19 ± 13,2	37 ± 12,6	13 ± 12,0
9	27 ± 15,6	8 ± 6,5	24 ± 11,0	2 ± 1,2
10	15 ± 12,3	0	14 ± 8,7	0

1. Ohne Behandlung

Nach dem Setzen der Wunde mittels Saugblasentechnik konnte bei der unbehandelten Wunde nach 10 Tagen keine vollständige Abheilung beobachtet werden. Bei Betrachtung aller unbehandelten Wunden der 12 Probanden blieb ein Restdefekt von durchschnittlich 15 % der Ursprungswundfläche. Hierbei gab es deutliche probanden-spezifische Unterschiede. Der maximale Restdefekt bei Proband 10 betrug 31 %, das Minimum bei Proband 4 und 2 lag bei 0 %. Hier lag eine komplette Abheilung vor. Die Durchschnittsgeschwindigkeit der Wundheilung betrug dabei 7,6 % pro Tag.

2. Behandlung mit Bepanthen

Bei der Therapie der künstlich erzeugten Wunden aller 12 Probanden mit Bepanthen konnte am Tag 10 eine vollständige Abheilung erreicht werden. Wie aus der Abbildung 3.2 ersichtlich ist, wurde bereits ab dem 3. Versuchstag eine deutliche Abheilungstendenz beobachtet. Lediglich bei Proband 3 blieb ein Restdefekt von 4 % der ursprünglichen Wundfläche. Bei allen anderen Probanden konnte eine vollständige Abheilung erzielt werden. Die durchschnittliche Heilungsgeschwindigkeit wurde dabei als 9,2 % pro Tag berechnet.

3. Behandlung mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung (wIRA)

Bei der Behandlung der artifiziellen Wunde aller 12 Probanden mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung konnte bei der Versuchsdurchführung innerhalb von 10 Tagen kein kompletter Defektverschluss erreicht werden. Der verbleibende Defekt errechnete sich im Durchschnitt zu 14 % der initialen Wundfläche. Der maximale Restdefekt bei Proband 10 betrug 26 %, nur bei Proband 9 konnte eine vollständige Abheilung der primären Wunde erreicht werden. Die durchschnittliche Geschwindigkeit der Wundheilung lag hier bei 7,6 % pro Tag. Dabei trat eine probandenspezifische Streuung der Ergebnisse auf.

4. Behandlung mit Bepanthen in Kombination mit wIRA

Nur bei der Therapie der künstlich erzeugten Wunden aller 12 Probanden mit wassergefilterter-Infrarot-A-Strahlung in Kombination mit Bepanthen wurde bereits am Tag 9 des Versuches ein nahezu vollständiger Defektverschluss beobachtet. Der maximale Restdefekt bei Proband 12 lag bei 8 %, bei Proband 10 bei 3 %. Bis zum Tag 10 (letzter Tag) des Versuchsverlaufes wurde eine komplette Abheilung bei allen 12 Probanden beobachtet. Die durchschnittliche Heilungsgeschwindigkeit betrug dabei 10 % pro Tag.

Die Ergebnisse der Untersuchungen in allen 4 Modi sind in Tabelle 3.9 zusammengefasst.

Tab. 3.2: Wundheilungsgeschwindigkeit [% pro Tag]

<i>Behandlungsmodus</i>	<i>Wundheilungsgeschwindigkeit [% pro Tag]</i>
Ohne Behandlung	7,6%
Mit Bepanthen	9,2%
Mit wIRA	7,6%
Bepanthen + wIRA	10,0%

4.4 TEWL – Messungen

TEWL-Messungen wurden sowohl unter Berücksichtigung von Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit als auch unter Vermeidung von Körperbewegung und von emotionalen Faktoren der Probanden durchgeführt.

In Abbildung 3.3 sind die täglichen TEWL-Werte aller künstlich erzeugten Wunden sowie der normalen Haut aller 12 Probanden im Verlauf des Versuches als Mittelwerte dargestellt. Hier wurden wiederum die Ausgangs-TEWL-Werte nach dem Setzen der Wunde auf 100 % normiert. Der TEWL-Wert der ungeschädigten Haut wurde zum Mittelwert der Ausgangs-TEWL-Werte der Wundflächen ins Verhältnis gesetzt, was einem Wert von 11 % entsprach.

Ein rascher Abfall der TEWL-Werte aller Wunden ist in den ersten 5 Tagen zu sehen. Bei der unbehandelten Wunde konnte ein Anstieg der TEWL-Werte am Tag 7 beobachtet werden. Die mit Bepanthen bzw. Bepanthen in Kombination mit WIRA behandelten Wunden weisen ab dem Tag 5 vergleichbare, nahezu konstante TEWL-Werte auf. Die höheren TEWL-Werte im Modus C, wo mit wIRA bestrahlt wurde, fallen ab Tag 5 kontinuierlich ab. Im Gegensatz zum gleichmäßigen Abfall der TEWL-Werte aller Modi zeigen die TEWL-Werte der gesunden Haut einen annähernd konstanten Verlauf, unabhängig von der Behandlung und vom Versuchstag.

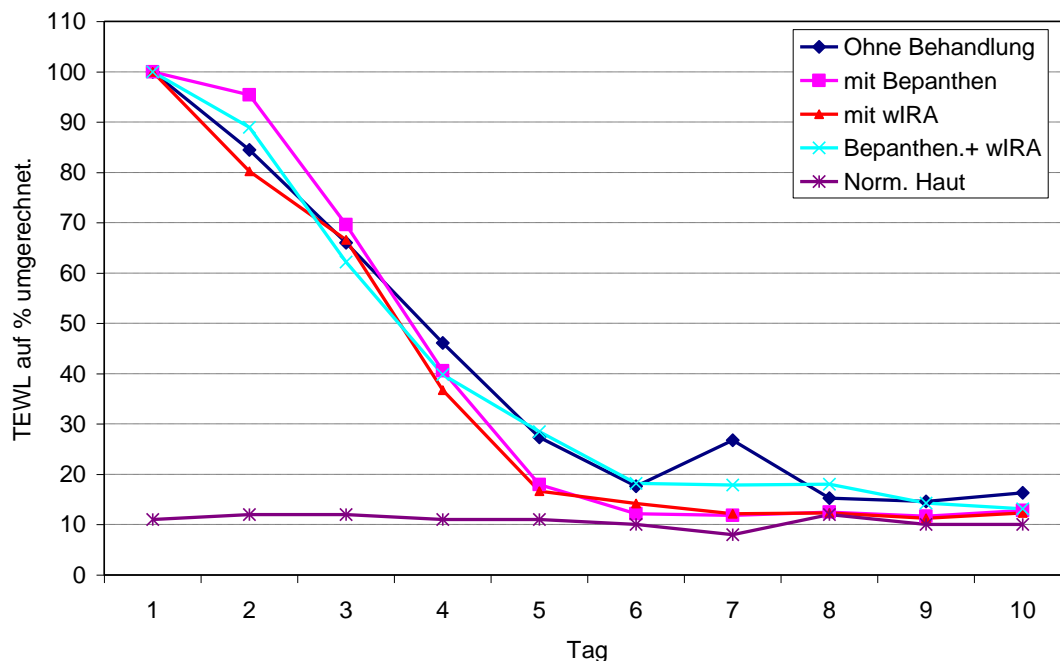
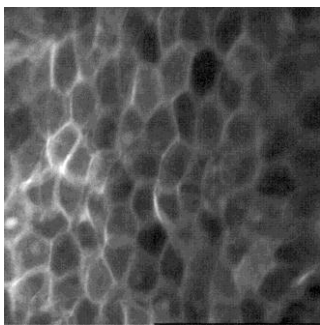


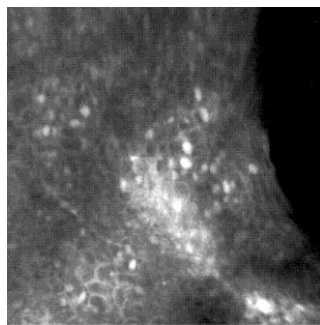
Abb. 3.3: TEWL-Werte im Verlauf des Versuches

4.5 LSM-Messungen

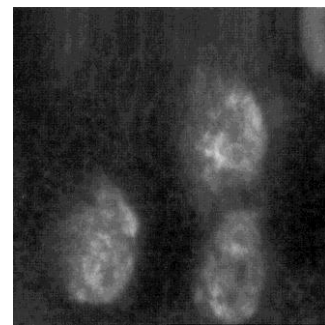
Mit Hilfe der LSM können unterschiedliche Gewebsschichten analysiert werden. Das Stratum corneum besteht aus abgeflachten, keratinisierten, kernlosen Korneozyten, die von Lipidschichten umgeben sind. Auch das darunter liegende Stratum spinosum kann mit Hilfe der LSM klar dargestellt werden. Die Zellen sind wesentlich kleiner, wobei Zellkerne zu erkennen sind. In einer Tiefe von ca. 200 μm ist die Papillarstruktur sichtbar (Abb. 3.4).



Stratum corneum



Stratum spinosum



Papillarstruktur

Abb.3.4: Laser-Scan-mikroskopische Darstellung von zellulären Strukturen in unterschiedlichen Hautschichten

4.5.1 Laser-Scan-Mikroskopische (LSM)-Verlaufsanalyse

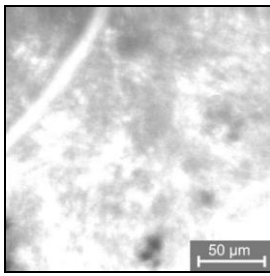
Die Laser-Scan-mikroskopischen Untersuchungen wurden am Tag 1, 3, 5, 7 und 9 durchgeführt.

Die LSM-Messungen erfolgten ebenfalls unter Berücksichtigung des Defektverschlusses, ausgehend von einer artifiziellen Wunde oberhalb des Stratum basale mittels Saugblasentechnik auf primär gesunder Haut. Hier wurde der Defektverschluss durch Reepithelialisierung als Erfolgskriterium bewertet.

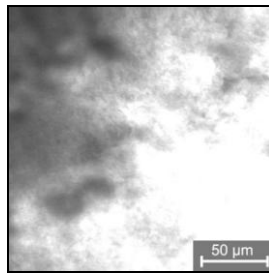
In den folgenden Abbildungen sind typische Verläufe der Wundheilung in den verschiedenen Modi dargestellt.

1. Ohne Behandlung

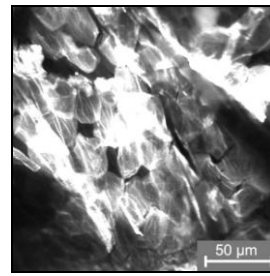
Die unbehandelte Wunde (Modus A) weist an den Tagen 1 und 3 ausschließlich Wundflüssigkeit auf. Am Tag 5 bilden sich bei einigen wenigen Probanden erste einzeln stehende Korneozyten. Diese bilden erst ab Tag 7 einen festeren Zellzusammenhang. Ein komplettes Stratum corneum liegt am Tag 9 nur bei der Hälfte der Probanden vor. Ein typisches Beispiel ist in Abbildung 3.5 dargestellt.



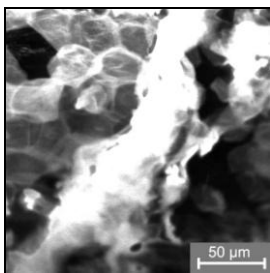
Tag 1



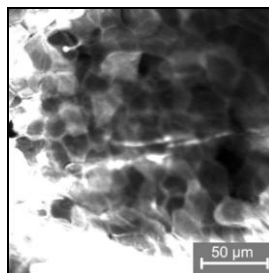
Tag 3



Tag 5



Tag 7

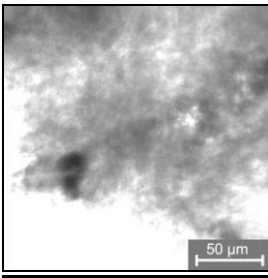


Tag 9

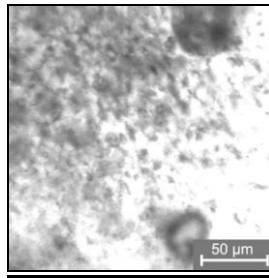
Abb.3.5: Verlauf der Wundheilung ohne Behandlung

2. Behandlung mit Bepanthen

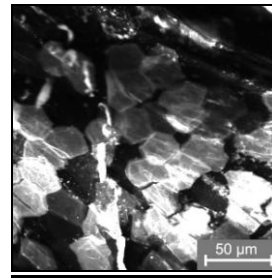
In der mit Bepanthen behandelten Wunde (Modus B) ist ebenfalls Wundsekret an den Tagen 1 und 3 zu beobachten. Erste kohärente hexagonale Korneozyten formieren sich bei fast allen Probanden schon am Tag 5 mit einer rasch voranschreitenden Epithelialisierung bis zum Versuchsende. Am Tag 9 hat sich ein stabiles mehrschichtiges Stratum corneum ausgebildet (Abb. 3.6).



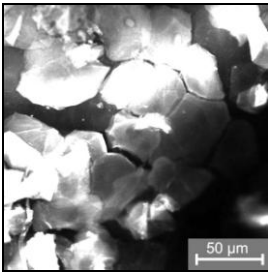
Tag 1



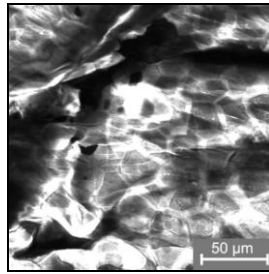
Tag 3



Tag 5



Tag 7

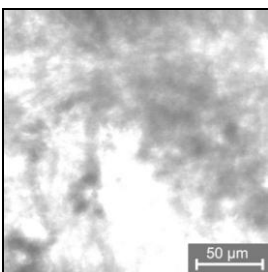


Tag 9

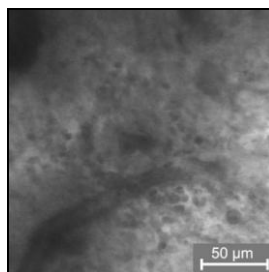
Abb.3.6: Typischer Verlauf der Wundheilung bei Behandlung mit Bepanthen

3. Behandlung mit wIRA

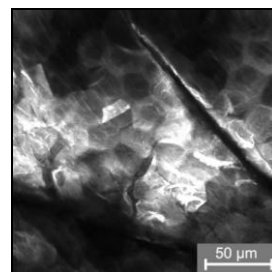
Die mit wIRA behandelte Wunde sezerniert am 1. Tag lediglich Wundflüssigkeit, die bis zum Tag 3 des Versuches eintrocknet und noch keine Zellstrukturen aufweist. Erst ab Tag 5 erfolgt eine fortschreitende Epithelialisierung (erste Zelllagen) bis zum Tag 7. Bis zum letzten Versuchstag (Tag 10) kommt es zur vollständigen Ausbildung des Stratum corneum mit säulenartiger Schichtung der kohärenten Korneozyten bei allen Probanden (Abb. 3.7).



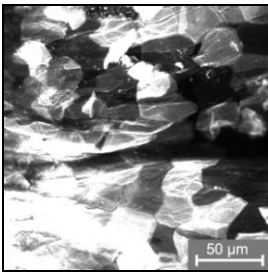
Tag 1



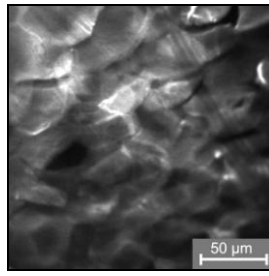
Tag 3



Tag 5



Tag 7

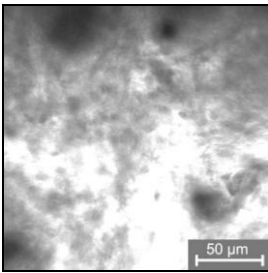


Tag 9

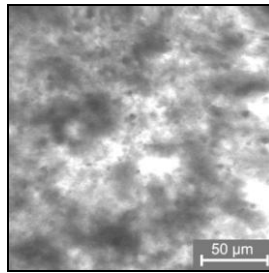
Abb.3.7: Typischer Verlauf der Wundheilung bei einer Behandlung mit wIRA

4. Behandlung mit Bepanthen in Kombination mit wIRA

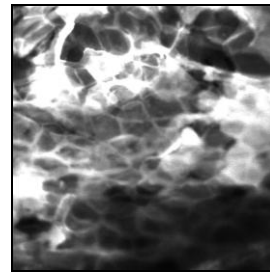
Bei der Behandlung mit wIRA und Bepanthen formieren sich nach kurzer initialer Wundsekretion sehr schnell komplexe Korneozytenverbände. Bereits ab Tag 7 kann eine feste Epitheldecke aus plattenartig-hexagonalen kohärenten Korneozyten nachgewiesen werden, die am Tag 9 deutlich bei allen Probanden zu sehen sind (Abb. 3.8).



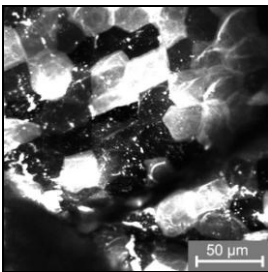
Tag 1



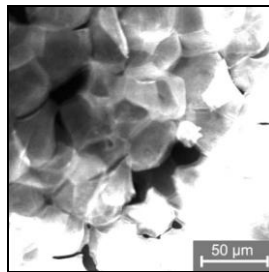
Tag 3



Tag 5



Tag 7



Tag 9

Abb.3.8: Typischer Verlauf der Wundheilung bei einer Kombination von Bepanthen mit wIRA

4.5.2 Quantifizierung der LSM-Messungen

Mittels der Laser-Scan-Mikroskopie kann die Reepithelialisierung auf zellulärer Ebene bzw. Formierung der Korneozyten in der gesamten Wundfläche verfolgt werden. Da die Quantifizierung der Laser-Scan-mikroskopischen Bilder schwierig war, wurde zusätzlich eine Bewertungsskala eingefügt, um leichter beurteilen zu können, welche Methode welche Wirkung auf die Wundheilung hat. Die LSM-Messungen wurden in drei Stadien eingeteilt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.3 dargestellt.

Dabei wurden folgende Klassifikationen zugrunde gelegt:

Stadium 1- Eintrocknete Wundflüssigkeit.

Stadium 2- Formierung der ersten Korneozytenschicht.

Stadium 3- Formierung des Stratum corneum.

Es wurde für jeden Probanden, für jeden Modus und an jedem Tag der Untersuchung eine Bewertung der Wunden entsprechend den oben genannten Kriterien vorgenommen. Anschließend wurde für jeden Messpunkt der Mittelwert aus den Zahlen der jeweiligen Stadien von allen 12 Probanden gebildet.

Ein Mittelwert von 1,5 für einen Messpunkt bedeutet z.B., dass unter der gegebenen Bedingung die Hälfte der Probanden sich im Stadium 1 und die andere Hälfte im Stadium 2 befand.

Tab.3.3:Quantifizierung der Laser-Scan-Mikroskopie-Messungen im Verlauf des Versuches

Tag	ohne Behandlung	mit Bepanthen	mit wIRA	mit wIRA+ Bepanthen
1	1,0	1,0	1,0	1,0
3	1,1	1,2	1,1	1,1
5	1,2	1,9	1,7	2,4
7	1,9	2,4	2,3	2,9
9	2,5	3	3	3

Die Ergebnisse zeigen, dass der Einsatz von wIRA oder Bepanthen zu einer annähernd gleichen Verbesserung der Wundheilung führt. Die besten Ergebnisse wurden allerdings mit der Kombination von wIRA und Bepanthen erzielt.

4.6 Bakterielle Untersuchung

Zusätzlich zur Wundheilung wurde die bakterielle Besiedlung der Wunden untersucht.

Bakterielle Abstriche erfolgten mit Hilfe von sterilen Röhrchen am Tag 1, 3, 5 und 7 und wurden im bakteriologischen Labor am Universitätsklinikum Greifswald untersucht.

Die Abstriche am Tag 1 wurden von der intakten unbehandelten Haut entnommen. Wie aus der Abb. 3.9 ersichtlich, ist das Ausgangspotenzial der Besiedlung bei allen Probanden in allen Modi faktisch gleich.

Betrachtet man die Gesamtflora während des Heilungsprozesses in allen Modi (Abb. 3.9), so zeigen sich hier starke Unterschiede im Verlauf.

An den Tagen 1 und 3 wurde nur eine minimale bakterielle Besiedlung der Wundfläche beobachtet. Die Wunde, welche nicht behandelt wurde, zeigte nach Tag 3 eine starke Zunahme der bakteriellen Besiedlung, welche bis zum Tag 7 kontinuierlich zunahm. Im Falle der Behandlung der Wunde mit Bepanthen war kaum eine bakterielle Besiedlung nachzuweisen. Ähnlich gute Ergebnisse wurden bei wIRA-Bestrahlung erzielt. Hier kam es jedoch am Tag 5 zu einem leichten Anstieg.

Überraschenderweise zeigte die Kombination von wIRA mit Bepanthen am Tag 7 einen starken Anstieg, der zu einer Besiedlung führte, welche fast mit der unbehandelten Wunde vergleichbar ist.

In der Abbildung 3.9 ist die Gesamtflora der Wunden und in der Abb. 4.0 die Besiedlung der Wunde mit Staphylokokken dargestellt.

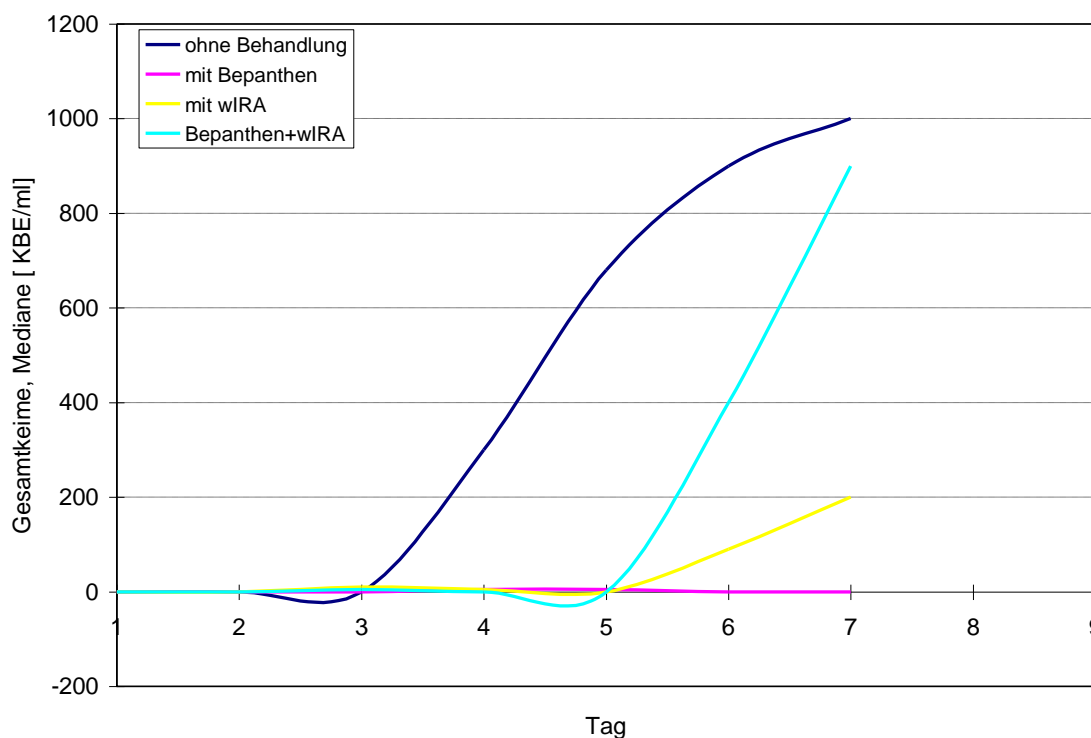


Abb. 3.9: Gesamtflora der Wunden

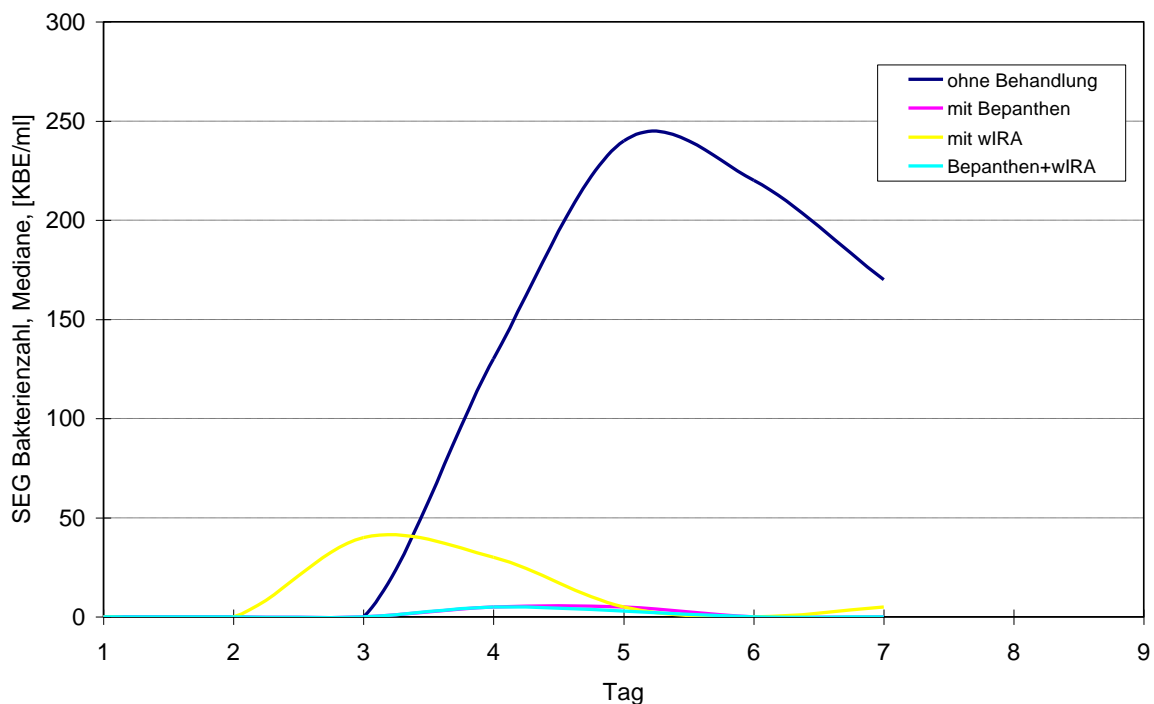


Abb. 3.10: Keimzahl der coagulase-negativen Staphylokokken

Auch hier zeigt sich wieder, dass die unbehandelte Wunde einen starken Anstieg der Keimzahlen aufweist, während die Behandlung mit Bepanthen, mit wIRA und der Kombination wIRA und Bepanthen einen größeren Anstieg der Keimzahlen verhindert.

4.7 Ärztliche Beurteilung des Therapieerfolgs

Der Therapieerfolg der Wundheilung wurde von den untersuchenden Ärzten täglich vor jedem Untersuchungsschritt mittels visueller Analogskala beurteilt: „Wie beurteilen Sie die Wundheilung bezogen auf den Ausgangsbefund?“ (0 = extrem schlecht, 10 = extrem gut).

Die Werte wurden für jede Wunde bei jedem Probanden ermittelt. Weiterhin wurden die Mittelwerte von allen 12 Probanden bestimmt.

Die Ergebnisse sind in der Abbildung 3.10 grafisch dargestellt. Es ist eine kontinuierliche Wundheilung aller Gruppen sichtbar. Dabei wird jedoch unter der Behandlung mit Bepanthen allein und mit Bepanthen in Kombination mit wIRA ein schnelleres Heilungsergebnis erreicht. Die Wundbehandlung nur mit wIRA zeigt im

Vergleich zur unbehandelten Wunde keinen Vorteil; der Heilungsprozess der Wundfläche ist fast identisch.

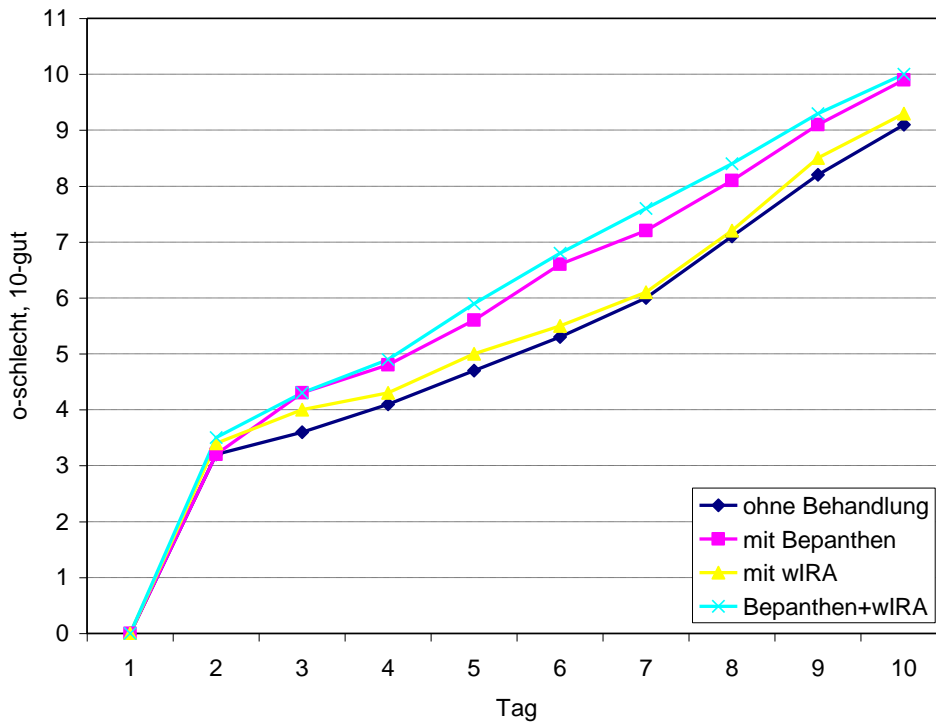


Abb. 3.11: Tägliche ärztliche Beurteilung des Therapieerfolges

4.8 Beurteilung durch Probanden

Jede Wunde wurde von den Probanden täglich sowohl vor als auch nach der Behandlung mittels visueller Analogskala beurteilt: „Wie empfinden Sie das Wundgebiet subjektiv?“ (0 = extrem unangenehm, 10 = extrem angenehm). Diese Einschätzung erfolgte am Tag 1 zuerst nach Entfernen des Blasendachs nach Blaseninduktion, zum zweiten Mal nach Applikation von Salbe bzw. Bestrahlung und unmittelbar nach Bestrahlungsende. An den folgenden Tagen erfolgte die Bestimmung jeweils vor allen anderen Untersuchungsschritten sowie unmittelbar nach Bestrahlungsende.

Die subjektive Wertung wurde numerisch kodiert. Die Mittelwerte aller 12 Probanden vor und nach der Behandlung sind grafisch in der Abb. 3.12 bzw. 3.13 dargestellt. Wie aus beiden Grafiken zu sehen ist, hat die Behandlung mit Bepanthen in Kombination mit wIRA die beste Wirkung auf das subjektive Empfinden des Wundheilungsprozesses. Aus beiden Grafiken wird deutlich, dass eine Tendenz zu kontinuierlicher Verbesserung des subjektiven Empfindens der Wundheilung im Verlauf des Versuches vorliegt.

A – vor der Behandlung:“ Wie angenehm empfinden Sie das Wundgebiet?“

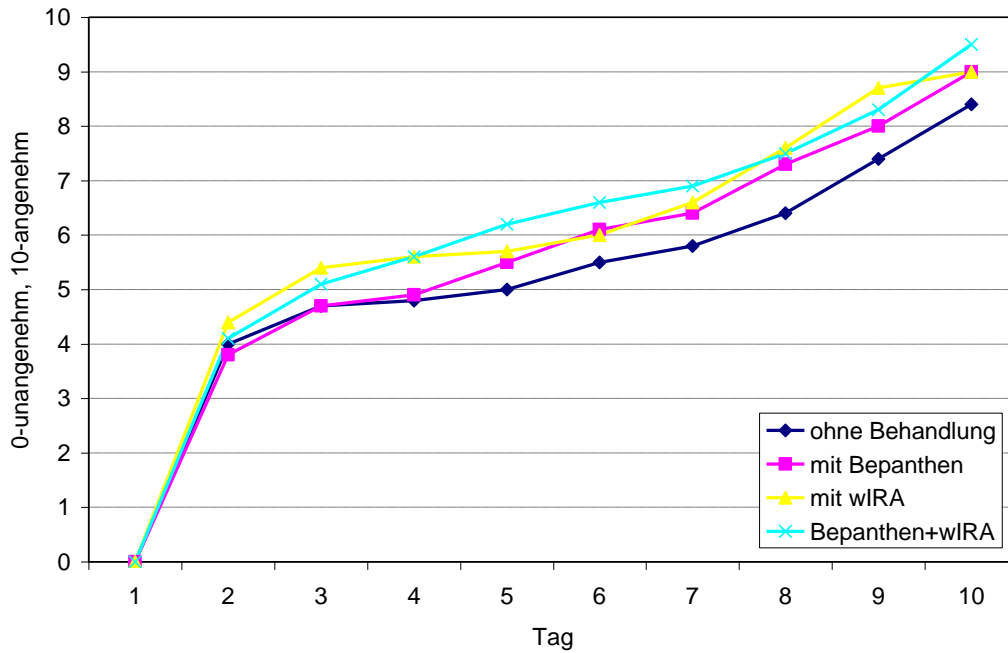


Abb. 3.12: Beurteilung der Wundheilung durch Probanden vor der Behandlung

B – nach der Behandlung:“ Wie angenehm empfinden Sie das Wundgebiet?“

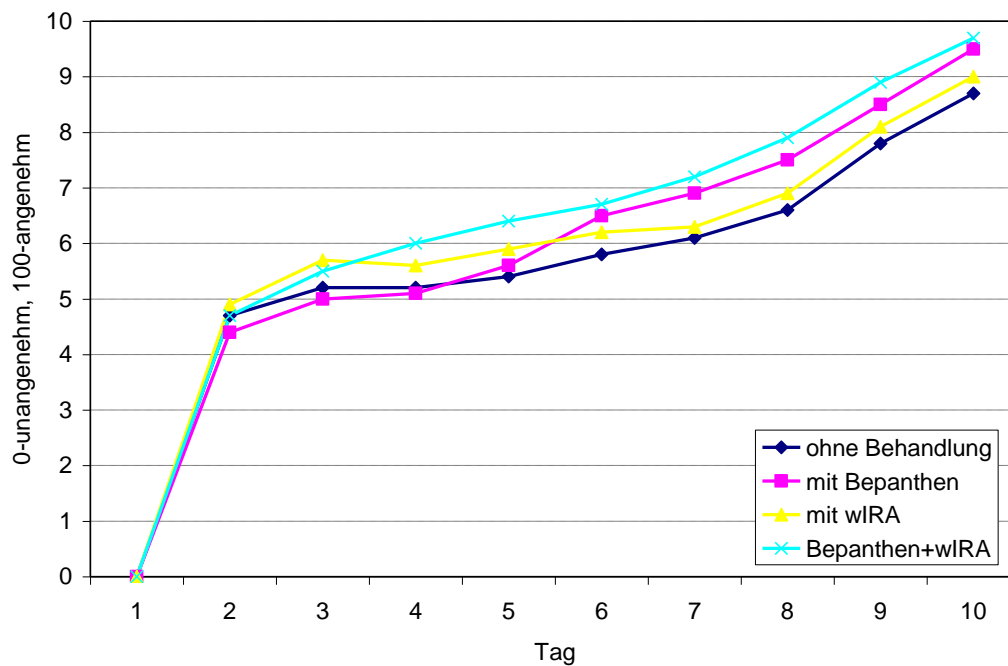


Abb. 3.13: Beurteilung der Wundheilung durch Probanden nach der Behandlung

5 Dokumentation und Auswertung

Alle während der Studie erhobenen Daten wurden dokumentiert, vorzugsweise in elektronisch lesbarer Form. Zur Auswertung und zum Vergleich der ermittelten Daten wurde eine nicht-parametrische (deskriptive) Statistik verwendet. Die gemessenen Werte der Modi A, B, C und D wurden miteinander verglichen. Der Gesamt-Alpha-Fehler wurde auf 0,05 (5%) festgesetzt.

Aufgrund der kleinen Fallzahl wurde für den konfirmatorischen Vergleich der vier Modi innerhalb einer Hauptzielvariablen der Friedman-Test verwendet (Ein-Stichproben-Situation [gleiche Probanden]). Der p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Dieser ergab, dass am Tag 6 und 10 mindestens ein Paar hochsignifikant verschieden ist ($p < 0,001$). Daher wurden die Mittelwerte am Tag 6 und Tag 10 mit Hilfe des nicht-parametrischen T-Tests für verbundene Stichproben untereinander verglichen.

Am Tag 6 sind alle Mittelwerte bis auf „ohne Behandlung“ und „wIRA“ statistisch signifikant unterschiedlich und die Behandlung mit wIRA zeigt einen Trend ($p < 0,001$) für bessere Ergebnisse als ohne Behandlung. Am Tag 10 konnten „ohne Behandlung“ von der „Behandlung mit Bepanthen“ und „Bepanthen mit wIRA“ signifikant unterschieden werden. Eine alleinige Behandlung nur mit wIRA ist statistisch nicht signifikant von „ohne Behandlung“.

6 *Diskussion*

6.1 Planimetrische Fotografie

Vergleich der Wundheilung. Behandlung der Wunden mit Bepanthen und wIRA bzw. ohne Behandlung

Ziel der Arbeit war die Untersuchung verschiedener Parameter der Wundheilung an standardisierten Wunden. Dazu wurde die Saugblasentechnik genutzt. Das Saugröhrchen, das auf die Haut aufgebracht wurde, hatte immer den gleichen Durchmesser. Trotzdem wiesen die Wundflächen unterschiedliche Größenwerte auf. Das hängt damit zusammen, dass in Abhängigkeit von der Elastizität der Haut mehr oder weniger Gewebe während des Ansaugprozesses in das Röhrchen gezogen wurde und sich damit der Durchmesser der Hautoberfläche änderte, auf welche die Saugblase gesetzt wurde. Daher war es erforderlich, die Ausgangswundfläche auf 100% zu normieren.

Die Bestrahlung mit wIRA ohne Bepanthen zeigt keinen Vorteil im Vergleich zur unbehandelten Wunde.

Der Einsatz von Bepanthen führt zu einer deutlichen Verbesserung der Wundheilung. Eine Behandlung mit Bepanthen und wIRA zeigt eine weitere, jedoch nur geringe Verbesserung der Wundheilung. Im Verlauf der Wundheilung in allen Modi, vorwiegend aber ohne Behandlung und mit wIRA-Bestrahlung, wurde eine starke Krustenbildung auf der Wunde beobachtet. Am 6. und 7. Tag war diese Kruste so stark, dass weitere Messungen mit TEWL und LSM nicht mehr möglich waren. Daher musste diese Kruste artifiziell entfernt werden.

Offensichtlich hat die Krustenbildung einen negativen Einfluss auf den Wundheilungsprozess.

6.2 TEWL- Messungen

Bei der täglichen Bestimmung der TEWL-Werte während des Versuches sollte zusätzlich die Wundheilung unter verschiedenen Behandlungsmethoden charakterisiert werden. Es sollte für alle Modi geprüft werden, ob sich am Ende des Versuches die TEWL-Werte tendenziell den TEWL-Werten der gesunden Haut annähern.

Legt man die Ergebnisse der TEWL-Messung zugrunde, so führt die jeweils alleinige Behandlung mit wIRA bzw. mit Bepanthen zu einer besseren Wundheilung als bei unbehandelter Haut bzw. der Kombinationsbehandlung von Bepanthen in Kombination mit wIRA. Die Unterschiede sind jedoch sehr gering. Bei TEWL-Messungen treten bei den unterschiedlichen Probanden große Schwankungen auf. So betrug z.B. bei Proband 1 am Tag 1 der TEWL-Wert im Modus A 172 g/cm²/h, während sich bei Proband 2 im Modus A an gleichem Tag ein TEWL-Wert von 62 g/cm²/h ergab, sodass anhand der TEWL keine verwertbaren Aussagen zur Wundheilung getroffen werden konnten.

Die TEWL-Messung ist grundsätzlich störbehaftet, weil die Temperatur und die Raumfeuchtigkeit eine Rolle spielen. Außerdem beeinflusst die Behandlung mit einer Creme-Galenik wie im Falle der hier genutzten Bepanthen-Creme die TEWL-Messung erheblich. Einerseits enthält die Creme Feuchtigkeit, die kurzfristig abdampft. Andererseits wird die durch die Creme gebildete Schutzschicht auf der Haut durch das Aufsetzen der TEWL-Sonde verletzt. Die Feuchtigkeit unter dieser okklusiven Schutzschicht wird dadurch freigesetzt und kann zu übererhöhten TEWL-Werten führen.

6.3 Laser-Scan-Mikroskopie

Während eine Biopsie normalerweise eine vertikale Gewebeschicht erfasst, wird durch die Laser-Scan-Mikroskopie eine horizontale Fläche im Gewebe analysiert. Zum besseren Vergleich zeigt die Abbildung 4.1 zwei horizontale Schnitte einer Biopsie, die klar das Stratum corneum (SC) und das Stratum spinosum (SP) mit der Papillarstruktur (PS) zeigen.

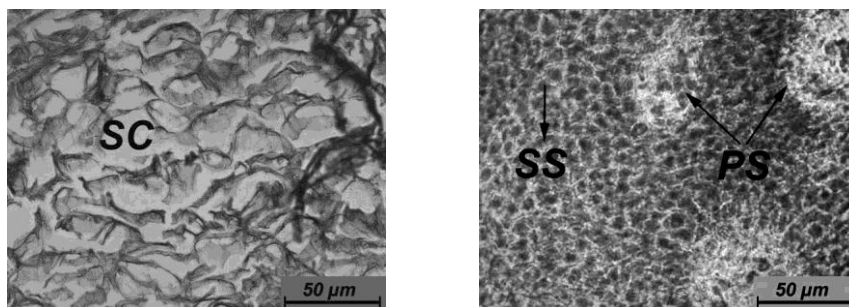


Abb. 5.1: Horizontale histologische Schnitte, die das Stratum corneum(SC) und das Stratum spinosum (SS) mit der Papillarstruktur zeigen

Analoge Strukturen sind mit Hilfe der Laser-Scan-Mikroskopie in der Abbildung 4.2 darstellbar, wobei es sich hier um einen nichtinvasiven Prozess handelt. Eine wichtige Variable für die Charakterisierung der Wundheilung ist die Herausbildung des Stratum corneum.

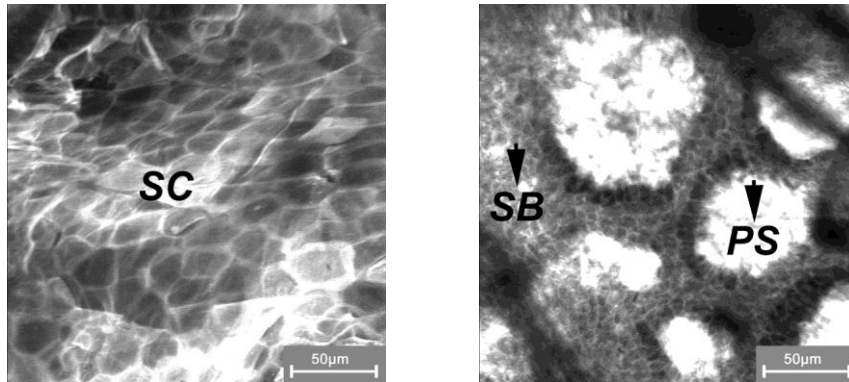


Abb. 5.2: In-vivo-laser-scan-mikroskopische Aufnahmen, die das Stratum corneum (SC) und das Stratum basale (SB) mit der Papillarstruktur (PS) zeigen

Abbildung 5.3 zeigt einen vertikalen Schnitt einer Biopsie. Das Stratum corneum ist klar erkennbar.

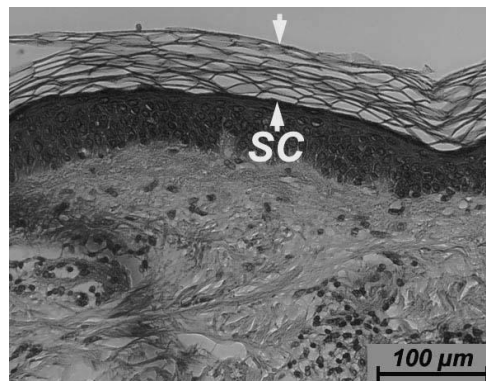


Abb. 5.3: Darstellung des Stratum corneum (SC)

Die reale Schichtdicke des Stratum corneum unter in vivo-Bedingungen kann jedoch nicht anhand von Biopsien ermittelt werden, da sich während des Präparationsprozesses die Eigenschaften und die Abmessungen des Stratum corneum ändern. Im Gegensatz dazu ermöglicht die Laser-Scan-Mikroskopie eine eindeutige in-vivo-Bestimmung der Schichtdicke des Stratum corneum (Abbildung 5.4).

Hierzu ist es notwendig, den Abstand zwischen der Hautoberfläche und der Grenzschicht vom Stratum corneum zum Stratum spinosum ermitteln. Das ist möglich

durch eine Verschiebung der Focusebene in tiefere Gewebeschichten. Das linke Bild in Abbildung 5.4 zeigt die Hautoberfläche mit dem Stratum corneum (SC), während das rechte Bild die Grenze zwischen Stratum corneum und Stratum granulosum darstellt. Im unteren Teil der Abbildung sind noch Korneozyten zu erkennen, während im oberen Teil die lebenden Zellen des Stratum granulosum (SG) sichtbar sind.

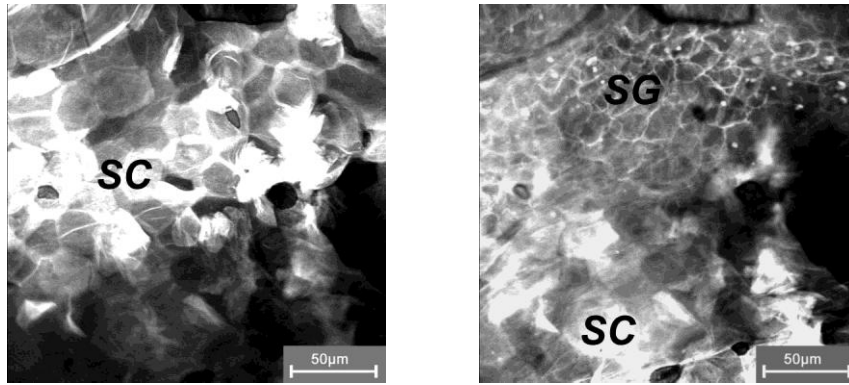


Abb. 5.4: Bestimmung der Schichtdicke des Stratum corneum durch Laser-Scan-Mikroskopie; die Fokusebene wird von der Hautoberfläche (linkes Bild) bis an die Grenze zur lebenden Epidermis (rechtes Bild) verschoben

6.3.1 Analyse der Wundheilung

Nach der Entfernung des Blasendaches ist die Hautoberfläche der Wunde mit Wundsekret bedeckt. Dieses trocknet ein und bildet eine krustenförmige Struktur. Darunter sind klar die lebenden Zellen des Stratum granulosum und des Stratum basale erkennbar. Nach einigen Tagen bildet sich die erste Schicht der Korneozyten heraus. Im Verlauf der Wundheilung bilden sich immer neue Zellschichten von Korneozyten, bis sich das Stratum corneum vollständig erneuert hat. Die Anordnung der Korneozyten auf der Hautoberfläche ist in diesem Anfangsstadium noch sehr unregelmäßig und weist eine ähnliche Oberflächenstruktur wie bei sehr trockener Haut auf. Erst nach 10 Tagen hat die Hautoberfläche ihre ursprüngliche homogene Struktur wieder erreicht.

Um die Laser-Scan-mikroskopische Analyse des Wundheilungsprozesses bewerten zu können, wurden folgende Kriterien bestimmt:

Stadium 1: Eingetrocknete Wundflüssigkeit.

Stadium 2: Entstehen der ersten Korneozytenschicht.

Stadium 3: Formierung des Stratum corneum.

Diese Kriterien wurden genutzt, um im Rahmen dieser Arbeit die Wundheilung mit und ohne Applikation der Wundsalbe Bepanthen zu beurteilen. Das Stadium I wurde durch die Zahl 1 charakterisiert. Analog erfolgte die Charakterisierung der Stadien II und III. Die Mittelwerte der Ergebnisse sind in der Tabelle 3.1 dargestellt.

Durch die Laser-Scan-Mikroskopie wurden im Grundsatz die Ergebnisse der Auswertung der Fotografien bestätigt. Hierbei zeigt sich eindeutig, dass wIRA in Kombination mit Wundsalbe die besten Ergebnisse zeigten. Ähnlich gute Ergebnisse zeigte auch die alleinige wIRA-Behandlung. Die ausschließliche Behandlung mit Wundsalbe bzw. keine Behandlung brachten hingegen deutlich schlechtere Ergebnisse.

Die in-vivo Laser-Scan-Mikroskopie ist eine neue Methode, die erst seit Kurzem zur Verfügung steht. Mit dieser Methode ist es möglich, die Hautoberflächenstrukturen und auch tiefere Zellschichten zu charakterisieren. Sie gibt die Möglichkeit, die Kinetik des Wundheilungsprozesses in den verschiedenen Gewebeschichten zu analysieren. Das eröffnet auf der einen Seite ein neues Verständnis des Wundheilungsprozesses an sich, auf der anderen Seite ergibt sich damit auch eine bessere Form der Bewertung von Therapieverfahren zur Stimulierung der Wundheilung. Im Gegensatz zu den TEWL-Messungen haben die Laser-Scan-mikroskopischen Untersuchungen den großen Vorteil, dass man den Wundheilungsprozess auf zellulärer Ebene charakterisieren kann.

Problematisch bei den Laser-Scan-mikroskopischen Untersuchungen ist, dass sie im Gegensatz zur TEWL-Messung keine Zahlen liefern, sodass ein quantitativer Vergleich über den Behandlungszeitraum relativ schwierig ist. Daher wurde im Rahmen der Doktorarbeit vorgeschlagen, die oben genannten Bewertungskriterien einzufügen, die darin bestehen, dass man die eingetrocknete Wundflüssigkeit, die Entstehung der ersten Korneozytenschicht und die vollständige Herausbildung des Stratum corneum in seiner ursprünglichen Dicke nimmt. Die Einteilung in diese Kriterien ermöglicht es, den unterschiedlichen Stadien Zahlen zuzuordnen und damit auch eine statistische Auswertung zu betreiben. Damit ist es möglich, eine qualitative und quantitative Bewertung des Wundheilungsprozesses während des Therapie-Zeitraumes vorzunehmen.

Zur Charakterisierung der Wundheilung ist diese Methode besser geeignet als die TEWL-Messung, weil sie nicht störanfällig ist. Sie zeigt die Situation auf zellulärem

Niveau und ist nicht durch Temperaturänderungen und Luftfeuchtigkeit gestört. Darüber hinaus kann im Detail beobachtet werden, wie die Epithelialisierung innerhalb der Wundfläche erfolgt.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Wundheilung nicht, wie bisher angenommen, nur vom Wundrand her erfolgt, sondern dass sich auch innerhalb der Wundfläche kleine „Epithelinseln“ bilden, die sich vergrößern, bis eine erste Zelllage von Korneozyten die Wundfläche bedeckt. Interessanterweise konnten diese Inseln den Haarfollikeln zugeordnet werden, d.h. zusätzlich zur Wundrandepithelialisierung erneuert sich die Epithelbarriere auch aus Haarfollikelepitheel innerhalb der Wunde. Das ist nicht verwunderlich, denn in den Haarfollikeln sind Stammzellen enthalten, damit ist eine Regenerierung der Hautoberfläche auch aus den Follikeln heraus möglich.

In der Gesamtschau der Untersuchungsergebnisse für alle Modi stellt sich heraus, dass die Anwendung von Bepanthen immer zu einer Verbesserung der Wundheilung führt. Ein Erklärungsmodell ist der Verschluss der Wundoberfläche unmittelbar nach der Verletzung.

Die interstitielle Flüssigkeit kann sich nicht in der erforderlichen Menge sammeln, die für eine stärkere Krustenbildung erforderlich ist. Die Bepanthen-Salbe sorgt für eine elastische Okklusion der Wunde und dies fördert den Wundheilungsprozess, was sowohl in der Fotografie als auch in der Laser-Scan-Mikroskopie gezeigt werden konnte.

Die verzögerte Wundheilung ohne Behandlung, aber auch bei alleiniger wIRA-Anwendung führt dazu, dass diese Krustenbildung in verstärktem Maße zustande kommt. Der negative Einfluss der Krustenbildung auf die Wundheilung ist überraschend, da eher positive Einflüsse aufgrund einer verbesserten Wundgrunddurchblutung durch die wIRA-Bestrahlung im Sinne einer schnelleren Wundheilung zu erwarten waren. Offensichtlich jedoch überwiegt der Negativeinfluss der Krustenbildung.

Kombiniert man jedoch wIRA mit Bepanthen-Wundcreme, dann wird die Krustenbildung deutlich reduziert. Der oben beschriebene positive Effekt von Bepanthen selbst wird durch die zusätzliche Anwendung von wIRA verstärkt.

Dafür gibt es zwei Erklärungen: Einerseits kommt es zur Stoffwechsellanregung durch die Temperaturerhöhung mit den Effekten besserer Kapillardurchblutung und optimaler

Energiefreisetzung und resultierender Stimulierung der Wundheilung. Andererseits ist es denkbar, dass durch wIRA das Bepanthen tiefer in die zellulären Schichten eindringt.

Die verbesserte Penetration von topisch applizierten Substanzen unter wIRA-Bestrahlung wurde bereits von Bankova et al. gezeigt [86]. Sie untersuchten den Einfluss von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung auf die Penetration topisch applizierter Glukokortikoide und bewiesen die verstärkte Penetration unter wIRA-Strahlung.

Außerdem konnte von Lademann et al. [87] bewiesen werden, dass die Penetrationsprofile des lipophilen Fluoreszeins bei Vorbehandlung oder mit Behandlung von wIRA eine gesteigerte Penetrationstiefe im Vergleich zur nicht bestrahlten Haut zeigte. Dafür wurde die Penetrationskinetik vom hydrophilen Natriumfluoreszein und lipophilen Curcumin vor und nach Bestrahlung mit wassergefiltertem-Infrarot-A untersucht.

6.4 Bakterielle Untersuchungen

Im natürlichen Heilungsprozess ohne Anwendung von Wundheilcreme wird die Wunde mit Wundflüssigkeit bedeckt. Die interstitielle Flüssigkeit selbst enthält antibakterielle und antimykotische Substanzen, um den Organismus zu schützen; die sekundäre Krustenbildung gewährleistet einen mechanischen und thermischen Schutz. Auf der anderen Seite verlangsamt die feste Kruste die Geschwindigkeit des Wundheilungsprozesses.

Eine geringe bakterielle Besiedlung im Falle der unbehandelten Wunde bis zum Tag 3 kann auf die antibakterielle Wirkung der interstitiellen eingetrockneten Wundflüssigkeit zurückgeführt werden. Diese Kruste bricht aber offensichtlich nach dem Tag 3 an verschiedenen Stellen auf, sodass es relativ schnell zu einer intensiven Besiedlung der Wunde kommt.

Im Falle der Wundbehandlung mit Bepanthen wird dieser Effekt nicht beobachtet. Die bakterielle Besiedlung bleibt in diesem Fall auf sehr niedrigem Niveau und ist während des Beobachtungszeitraums konstant. Offensichtlich bildet die Wundsalbe einen Schutzfilm heraus, welcher eine Besiedlung der Wunde mit Keimen weitgehend verhindert.

Ähnlich gute Ergebnisse werden auch mit wIRA-Strahlung beobachtet. Hier kommt es jedoch am Tag 7 zu einem leichten Anstieg. Die gute Wirkung von wIRA lässt sich

dadurch erklären, dass die interstitielle Flüssigkeit, welche sich auf der Wunde bildet, relativ schnell eingetrocknet wird und einen homogenen Schutzfilm erzeugt. Es wäre jedoch zu erwarten, dass diese Kruste ähnliche Eigenschaften wie im Falle der unbehandelten Wunde aufweist, das heißt, dass es auch bei wIRA-Behandlung zu Störstellen in der Kruste kommt. Hier scheint jedoch die antibakterielle Wirkung der wIRA-Strahlung eine Neubesiedlung zu verhindern.

Geht man von den positiven Ergebnissen der Wundbehandlung mit wIRA auf der einen Seite und Bepanthen auf der anderen Seite aus, so scheint es verwunderlich, dass die kombinierte Applikation von wIRA mit Bepanthen am Tag 7 einen starken Anstieg der Besiedlung zeigt.

Eine mögliche Ursache für diesen Effekt könnte sein, dass Bepanthen selber keine antibakteriellen Eigenschaften aufweist, sondern lediglich einen Schutzfilm auf der Wundoberfläche erzeugt. Durch den Einsatz von wIRA kommt es jedoch zu einer Erhöhung der Hautoberflächentemperatur, was die Entstehung und Vermehrung von Bakterien unter der Okklusion der Bepanthen-Creme fördert. Dass es sich bei diesen Keimen nicht um Staphylokokken handelt, ist aus Abb. 4.0 ersichtlich, wo gezeigt wird, dass die Besiedlung der Wundoberfläche mit Staphylokokken auch am Tag 7 im Falle der kombinierten Behandlung gering ist. Folglich sind andere Keime für diesen Anstieg in Abb. 3.9 verantwortlich.

Die bakteriellen Untersuchungen ergaben, dass die wIRA-Behandlung die beste Wirkung zeigte, gefolgt von den Behandlungsformen in den Modi B und D. Die unbehandelte Wunde weist hingegen die höchste bakterielle Besiedlung auf.

Die Unterschiede zwischen den Behandlungsmethoden waren jedoch relativ gering, was auf die personenspezifischen Unterschiede in der Bewertung des Behandlungserfolges zurückzuführen ist.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es verschiedene Messmethode zur Bewertung der Wundheilung gibt. Diese sind jedoch aufwändig und teilweise störbehaftet. Lediglich die LSM-Messung gibt einen objektiven Aufschluss über den Prozess der Wundheilung.

Es ist zu erwarten, dass diese moderne Methode in der Zukunft eine breite Anwendung zur Charakterisierung von Hauterkrankungen speziell auf dem Gebiet der Wundheilung findet.

6.5 Analogskala

Während des Versuches erfolgte täglich die ärztliche Beurteilung des Therapieerfolgs vor jedem Untersuchungsschritt mittels visueller Analogskala.

Die skalierten Ergebnisse dieser Bewertung durch den Probanden und den Arzt wurden täglich ausgewertet und zu einem Mittelwert zusammengefasst. Diese Mittelwerte sind in den Abbildungen 3.10 - 3.12 dargestellt.

Die Ergebnisse der subjektiven Bewertung durch die Probanden und auch durch den Arzt zeigen, dass sie eine Behandlung mit Bepanthen in Kombination mit wIRA als die bessere Behandlungsmethode empfanden.

Sehr gute Ergebnisse, besonders an den Tagen 8, 9 und 10, wurden diesbezüglich auch mit alleiniger wIRA erreicht.

Die schlechteste Bewertung erhielt die Wunde ohne Behandlung. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Modi sind, wenn auch vorhanden, so doch nicht sehr groß.

In der vergleichenden Gegenüberstellung der objektiven Wundbeurteilung durch Laser-Scan-Mikroskopie und zu der subjektiven Bewertung durch Probanden und Arzt ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung.

7 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit ist es gelungen, ein neues, nicht invasives Verfahren zur Charakterisierung der Wundheilung einzusetzen, die Laser-Scan-Mikroskopie.

Diese Methode wurde mit den klassischen Untersuchungsverfahren wie TEWL-Messung und makroskopisch-fotografischer Bestimmung der Wundfläche verglichen.

Dazu wurden definierte Wunden mit Hilfe der Saugblasentechnik gesetzt und diese mit Wundsalbe und wIRA-Strahlung sowie deren Kombination behandelt.

Die Ergebnisse wurden mit denen der unbehandelten Haut verglichen.

Die Ergebnisse der LSM-Messungen und der Fotografie, welche mit diesen unterschiedlichen Methoden erzielt wurden, zeigen eine gute Übereinstimmung und ermöglichen eine Differenzierung zwischen den Behandlungsmethoden.

Die besten Ergebnisse wurden mit dem Modus D (Kombination Bepanthen und wIRA) erzielt. Ebenfalls gute Ergebnisse lieferte die alleinige Behandlung mit Bepanthen und mit wIRA.

TEWL-Messungen weisen keine signifikanten Unterschiede bei den einzelnen Therapieformen auf und zeigten bei allen Probanden konstante TEWL-Werte.

Die Fotografie und TEWL-Messung sind aufwändig und schwierig zu realisieren. Beide Methoden sind fehlerbehaftet. Demgegenüber stellt die Laser-Scan-Mikroskopie eine einfache und schnelle objektivste Untersuchungsmethode dar.

Bei den bakteriellen Untersuchungen zeigte es sich, dass auch die optimale Behandlungsmethode (Modus D) zu einer bakteriellen Besiedlung der Wunde führt. Diese spiegelt sich aber offensichtlich nicht im Erfolg der Wundheilung wider, da sowohl im Ergebnisse der klassischen Bewertungsmethoden, einschließlich LSM-Messungen, als auch der Bewertung der Wundheilung durch Fragebögen, die Kombination von Bepanthen mit wIRA klinisch zu den besten Ergebnissen führt.

Die Untersuchungen zeigen aber auch, dass bei einer alleinigen Behandlung der Wunde mit wIRA oder Bepanthen gute und sehr gute Ergebnisse erzielt werden

können. Berücksichtigt man nur die Ergebnisse der bakteriellen Besiedlung, so ist die Behandlung mit wIRA der Behandlung mit Bepanthen zu bevorzugen.

Die Bewertung der Wundheilung durch die Probanden und den behandelnden Arzt zeigte ebenfalls, dass mit der Kombination von wIRA und Bepanthen die besten Ergebnisse erzielt wurden, gefolgt von der alleinigen Behandlung mit wIRA oder Bepanthen.

Die Unterschiede zwischen den Behandlungsmethoden waren jedoch relativ gering, was auf die personenspezifischen Unterschiede in der Bewertung des Behandlungserfolges zurückzuführen ist.

Damit bestätigen die Ergebnisse der Befragung die Resultate, welche messtechnisch erzielt wurden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es verschiedene Methoden zur Bewertung der Wundheilung gibt. Diese sind jedoch aufwändig und teilweise störbehaftet. Lediglich die LSM-Messung gibt einen objektiven Aufschluss über den Prozess der Wundheilung.

Es ist zu erwarten, dass diese moderne Methode in der Zukunft eine breite Anwendung zur Charakterisierung von Hauterkrankungen speziell auf dem Gebiet der Wundheilung findet.

8 *Literaturverzeichnis*

1. Braun-Falko O, Plewig G, Wolff HH: In: Dermatologie und Venerologie. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1996
2. <http://www.medizinfo.com/wundmanagement/wundheilung.htm>. Jonson&Jonson Wound Management. A division of ETHICOM GmbH
3. Toyokawa H, Matsui Y, Uhara J, Tsuchiya H, Teshima S, Nakanishi H, Kwon A, Azuma Y, Nagaoka T, Ogawa A, Kamiyama Y: Promotive effects of far-infrared ray on full-thickness skin wound healing in rats. *Exp Biol Med.* 2003; 228 (6): 724-729
4. Schaefer H, Redelmeier TE: Skin Barrier. Principles of Percutaneous Absorption, 1996 Karger.
5. Neubert R, Wohlrab W, Marsch W: Dermatopharmazie, 2001
6. Schaefer H, Zesch A, Stüttgen (1982): Skin permeability, Springer, Berlin
7. Montagna, W. The Structure and Function of Skin (2.nd Ed). New York: Academic, 1961, S.454
8. Monash S, Blank H: Location and reformation of the epithelial barrier to water vapor. *Arch. Dermatol.* 1958;78: 710-714
9. Cullander C, Jeske S, Imbert D, Grant PG, Bench G: A quantitative minimally invasive assay for the detection of metals in the stratum corneum. *J Pharm Biomed Anal* 2000; 22:265-279
10. Fartasch M: The nature of the epidermal barrier: structural aspects. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 1996; 18:273-282
11. Potts R.O, Francoeur M-L: The influence of stratum corneum morphology on water permeability. *J Invest Dermatol.* 1991; 96:495-499

12. Elias M: Epidermal lipids, barrier function and desquamation. J Invest Dermatol. 1983; 80 :353-356
13. Braun-Falko O, Plewig G, Wolff HH: In: Dermatologie und Venerologie. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 2005
14. <http://www.fue-haartransplantation.com/haarbildung.htm>
15. Stevens A, Lowe J: Histologie des Menschen; Thieme Verlag 1997
16. Fritsch P: In: Dermatologie und Venerologie. Lehrbuch und Atlas. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York; 1998
17. Roth RR, James WD: Microbial ecology of the skin. Ann Rev Microbiol. 1988; 42: 441-464
18. Mertz PM, Ovington LG: Wound healing microbiology. Dermatol. Clin. 1993; 11 (4): 739-749
19. Saulnier M, Ryffel B: Die Rolle von TNF-alpha und Interferon-gamma bei der kutanen Überempfindlichkeitsreaktion bei der Maus: Einfluss von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung. In: Vaupel P, Krüger W (Hrsg.): Wärmetherapie mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung. Grundlagen und Anwendungsmöglichkeiten. 2. Aufl. Stuttgart: Hippokrates, 1995. S. 127-134
20. Sugrue ME, Carolan J, Lee EJ, Feeley TM, Moore DJ, Shanik GD : The Use of Infrared Laser Therapy in the Treatment of Venous Ulceration. Ann Vasc Surg 1990; 4:179-181
21. Hoffmann G. Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) zur Verbesserung der Wundheilung. GMS Krankenhaushyg Interdiszip. 2006;1(1):Doc20
22. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch, 258. neue Auflage, Walter de Gruyter Berlin-New York 1998

23. Enoch P, Price P. Should alternative endpoints be considered to evaluate outcomes in chronic recalcitrant wounds? World Wide Wounds 2004. Online unter: <http://www.worldwidewounds.com/2004/october/Enoch-Part2/Alternative-Endpoints-To-Healing.html>
24. <http://de.wikipedia.org/wiki/Dexpanthenol>
25. Cobarg C. C.: Physikalische Grundlagen der wassergefilterten Infrarot-A-Strahlung. In: Peter Vaupel, Winfried Krüger: Wärmetherapie mit wassergefilterten Infrarot-A-Strahlung. Grundlagen und Anwendungsmöglichkeiten; 2. Auflage 1996
26. URL: <http://www.uni.kiel.de/anorg/lagaly/group/klausSchiver/Wedgwood.pdf>
27. Krüger W, Kelleher DK, Vaupel P: Infrarot-A-Bestrahlungslampe mit Wasserfilter: Neues technisches Konzept eines bekannten physikalischen Prinzips und seine Anwendung in der Physiotherapie. Phys Rehab Kur Med 1993;3:45-51
28. Bachem A, Reed CI: The penetration of light through human skin. Amer. J. Physiol. 1931;97:86-91
29. Albrecht-Buehler G. Surface extensions of 3T3 cells towards distant infrared light sources. J Cell Biol. 1991;114: 493-502
30. Karu TI. Primary und secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells [review]. J Photochem Photobiol B. 1999;49:1-17
31. Karu TI. Pyatibrat LV, Kalendo GS. Cell attachment to extracellular matrices is modulated by pulsed radiation at 820 nm and chemicals that modify the activity of enzymes in the plasma membrane. Lasers Surg Med. 2001 ;29(3) :274-81
32. Karu TI. Low-power effects. In : Waynant RW, editor. Lasers in medicine. Boca Raton : CRC Press, 2002. p. 171-209

33. Ehrlicher A, Betz T, Stuhmann B, Koch D, Milner V, Raizen MG, Kas J. Guiding neuronal growth with light. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99(25) :16024-8. 16024-8, doi:10. 1073/pnas.252631899.
34. Menezes S, Coulomb B, Lebreton C, Dubertret L. Non-coherent near infrared radiation protects normal human dermal fibroblasts from solar ultraviolet toxicity. *J Invest Dermatol* 1998 ; 111 :629-33
35. Burri N, Gebbers N, Applegate LA. Chronic infrared-A radiation repair: Implications in cellular senescence and extracellular matrix. In: Pandalai SG (Ed) *Recent Research Developments in Photochemistry & Photobiology*, vol.7. Trivandrum: Transworld Research Network; 2004. p.219-31
36. Applegate LA, Scaletta C, Panizzon R, Frenk E, Hohlfeld P, Schwarzkopf S. Induction of the putative protective protein ferritin by infrared radiation: implications in skin repair. *Int J Mol Med*. 2000; 5(3);247-51
37. Hoffmann G, Meffert H. Letter to the Editor: Apparent contradiction between negative effects of UV radiation and positive effects of sun exposure. *GMS Ger Med Sci*.2005;3:Doc01. Online verfügbar unter:
<http://www.egms.de/pdf/gms/2005-3/000019.pdf> (PDF)
<http://www.egms.de/en/gms/2005-3/000019.shtml> (shtml)
38. Gebbers N, Hirt-Burri N, Scaletta C, Hofmann G, Applegate LA. Water-filtered infrared-A radiation (wIRA) is not implicated in human skin cellular degradation. *Ger Med Sci*. 2007 Nov 14;5:Doc08
39. Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S, Niinikoski J. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments. *Ann Surg*. 1975; 181: 823-8
40. Kühne HH, Ullmann U, Kühne FW. New aspects on the pathophysiology of wound infection and wound healing – the problem of lowered oxygen pressure in the tissue. *Infection*. 1985; 13:52-56

41. Niinikoski J, Gottrup F, Hunt TK. The role of oxygen in wound repair. In: Janssen H, Rooman R, Robertson JIS, eds. Petersfield: Wrightson Biomed Publishing;1991
42. Hoffmann G. Improvement of wound healing in chronic ulcers by hyperbaric oxygenation and by waterfiltered ultrared A induced localized hyperthermia Adv Exp Med Biol. 1994;345:181-188
43. Buslau M, Hoffmann G. Hyperbaric oxygenation in the treatment of skin diseases [review]. In: Fuchs J; Packer L. eds. Oxidative stress in dermatology. New York: Marcel Dekker; 1993. p.457-85
44. Buslau M, Hoffmann G. Die hyperbare Oxygenation (HBO) - eine adjuvante Therapie akuter und chronischer Wundheilungsstörungen [Review]. Derma Monatsschr. 1993; 179: 39-54.
45. Hoffmann G, Buslau M. Treatment of skin diseases by hyperbaric oxygenation. In: Cramer FS (ed.). Proceedings of the Eleventh Internation Congress on Hyperbaric Medicine. Flaggstaff, USA: Best Publishing Company; 1995. p. 20-1, 153-9
46. Wright J. Hyperbaric oxygen therapy for wound healing. World Wide Wounds 2001. Online verfügbar unter:
<http://www.worldwidewounds.com/2001/april/Wright/HyperbaricOxygen.html>
47. Knighton DR, Silver IA, Hunt TK. Regulation of wound-healing angiogenesis effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. Surgery. 1981;90:262-70
48. Mercer JB, Nielsen SP, Hoffmann G. Improvement of wound healing by water-filtered infrared-A (wIRA) in patients with chronic venous leg ulcers including evaluation using infrared thermography. Ger Med Sci. 2008 Oct 21;6:Doc11.
49. Barnikol WKR, Teslenko A, Pötzschke H. Eine neue topische Behandlung chronischer Wunden mit Haemoglobin und Sauerstoff: Verfahren und erste Ergebnisse.. Z Wundheilung 2005;10(3):98-108

50. Jünger M, Hahn M, Klyscz T, Steins A. Microangiopathy in the development of venous leg ulcers. *Curr Probl Dermatol.* 1999;27:124-129
51. Hartel M, Hoffmann G, Wente MN, Martignoni ME, Büchler MW, Friess H. Randomized clinical trial of the influence of local water-filtered infrared A on wound healing after abdominal surgery. *Br J Surg.* 2006;93(8):952-60. DOI:10.1002/bjs.5429
52. Hoffmann G. Water-filtered infrared A (wIRA) fort he improvement of wound healing in acute and chronic wounds. Wassergefiltertes Infrarot-A (wIRA) zur Verbesserung der Wundheilung bei akuten und chronischen Wunden. *Z Wundheilung – J Wound Healing.* 2005; special issue 2:130
53. Hoffman G. Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) zur Verbesserung der Wundheilung der akuten und chronischen Wunden. *Med Report.* 2005;29(34):4. Auch online verfügbar unter:
http://www.medreports.de/medpdf05/mreprt34_05.pdf
54. von Felbert V, Streit M, Weis J, Braathen LR. Anwendungsbeobachtungen mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung in der Dermatologie. *Dermatologica.* 2004;7:34-5
55. Schumann H, Schempp CM. wIRA in der Wundtherapie - Erste Erfahrungen in der Anwendung bei chronischen Wunden in der Universitäts-Hautklinik Freiburg. Vortrag auf dem Symposium „Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) in der Dermatologie“ der Dr.med h.c. Erwin Braun Stiftung am 10.11.2004 in Liestal/Basel
56. Sattler H, Stellmann A. Erfahrungen mit wassergefiltertem Infrarot A (wIRA) bei Patienten in der Rehabilitation nach Hüft-/Knie-Endoprothesen-Operationen in Bad Dürkheim. Persönliche Mitteilung. 2002-2004
57. Fuchs SM, Fluhr JW, Bankova L, Tittelbach J, Hoffman G, Elsner P. Photodynamic therapy (PDT) and waterfiltered infrared A (WIRA) in patients with recalcitrant common hand and foot warts. *Ger Med Sci* 2004 ; 2 : Doc08.
58. Meffert H. Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) bei Sklerodermie. (Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten, doppelt-blinden klinischen Studie). Vortrag

auf dem Seminar „wIRA-Einführungskurs“ der Universitätshautklinik Jena am 15.11 2003 in Jena

59. Meffert H, Buchholz I, Brenke A. Milde Infrarot-A-Hyperthermie zur Behandlung der systemischen Sklerodermie. *Dermatol. Monatsschr.* 1990;176(11):683-6

60. Meffert H. Mögliche neue Indikationen – wIRA und kurzwelliges Licht zur Akne-Behandlung. Vortrag auf dem Seminar „wIRA-Einführungskurs“ der Universitätshautklinik Jena am 15.11 2003 in Jena

61. Aschoff R. Therapie der Akne papulopustulosa mittels vollem Spektrum von sichtbarem Licht und wassergefiltertem Infrarot A und/oder lokalem Aknetherapeutikum. Vortrag auf dem Symposium „Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) in der Dermatologie der Dr. med. h.c. Erwin Braun Stiftung am 20.11.2004 in Liestal/Basel

62. Hoffmann G, Siegfried I. Volkskrankheit Rückenschmerz: neue Sichtweisen. Seminar des Arbeitskreises Sportmedizin der Akademie für ärztliche Fortbildung und Weiterbildung der Landesärztekammer Hessen. Bad Nauheim, 05.06.2004. Düsseldorf, Köln: German Medical Science, 2005. Doc 04ruecken1. Online verfügbar unter:
<http://www.egms.de/pdf/meetings/ruecken2004/04ruecken1.pdf> (PDF),
[http://www.egms.de/pdf/meetings/ruecken2004/04ruecken1.shtml\(shtml\)](http://www.egms.de/pdf/meetings/ruecken2004/04ruecken1.shtml(shtml))

63. Meffert H, Müller GM, Scherf HP. Milde Infrarot-A-Hyperthermie zur Behandlung von Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Anhaltende Verminderung der Aktivität polymorphkerniger Granulozyten. *Intern Sauna-Arch.* 1993;10:125-9

64. Falkenbach A, Dorigoni H, Werny F, Gütl S. Wassergefilterte Infrarot-A-Bestrahlung bei Morbus Bechterew und degenerativen Wirbelsäulenveränderungen: Effekte auf Beweglichkeit und Druckschmerzhaftigkeit. *Österr Z Physikal Med Rehab.* 1996;6(3):96-102

65. Hoffmann G. Improvement of regeneration by local hyperthermia induced by water filtered infrared A (wIRA). *Int J Sport Med* 2002;23 Suppl 2:S145

66. Singer D, Schröder M, Harms K. Vorteile der wassergefilterten gegenüber herkömmlicher Infrarot-Strahlung in der Neonatologie. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2000; 204(3):85-92
67. von Lieven H, Dapper FD. Water-filtered infrared-A radiation: a new technique for hyperthermia of superficial tumors in men. 14th Annual Meeting European Society Hyperthermic Oncology (ESHO). Amsterdam/Niederlande: 1994. Abstract Volume. p. P9
68. Laudanska H, Reduta T, Szmitkowska D: Evaluation of skin barrier function in allergic contact dermatitis and atopic dermatitis using method of continuous TEWL measurement. *Rocz Akad Bialymst.* 2003; 48: 123-7
69. Maayan-Metzger A, Yosipovitch G, Hadad E, Sirota L: Effect of radiant warmer on transepidermal water loss (TEWL) and skin hydration in preterm infants. *J Perinatol.* 2004; 24(6):372-5
70. Koopman DG, Kezic S, Verberk MM: Skin reaction and recovery: a repeated sodium lauryl sulphate patch test vs a 24-h patch test and tape stripping. *Br J Dermatol.* 2004; 150(3): 493-9
71. Chilcott RP, Brown RF, Rice P: Non-invasive quantification of skin injury resulting from exposure to sulphur mustard and Lewisite vapours. *Burns.* 2000; 26(3): 245-50
72. Alborova A, Lademann J, Meyer L, Kramer A, Teichmann A, Sterry W, Antoniou C: Einsatz der Laser-Scan-Mikroskopie zur Charakterisierung der Wundheilung. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip.* 2007;2(2):Doc01
73. Lademann J, Otberg N, Richter H, Jacobi U, Blume-Peytavi U, Schaefer H, Sterry W. Application of laser scanning microscopy for penetration studies of topically applied substances. *JDDG.* 2004;2 (6):518
74. Meyer LE, Otberg N, Tietz HJ. Sterry W, Lademann J: In vivo imaging of *Malassezia* yeasts on human skin using confocal laser scanning microscopy. *Laser Phys. Lett* 2005.

75. Kiistala U, Mustakallio KK: In vitro separation of epidermis by production of suction blisters. *Lancet* 1964; 42:1444-1445
76. Bedienungsanleitung und Information zum TEWAMETER TM 210[®], COURAGE + KHAZAKA electronic GmbH, Köln, Germany.
77. Karpman VL: The teoretical analysis of Fick's equation. On the centennial of the use of Fick's principle in physiology. *Z.Kardiol.* 1975; 64 (9):801-808.
78. W. Matthew Petroll, James V. Jester, und H.Dwight Cavanagh: *In vivo* confocal imaging: General principles and applications. *Scanning.* 1994, 16, S.131-149
79. Nicholas Aspres , Ian B. Egerton , Adrian C. Lim, und Stephen P. Shumack: Imaging the skin. *Australas J Dermatol.* 2003, 44, S. 19-27
80. Lucinda D. Swindle, Steven G. Thomas, Michael Freeman, und Peter M. Delaney: View of normal human skin *in vivo* as observed using fluorescent fiber-optic confocal microscopic imaging . *J Invest Dermatol.* 2003; 121: 706-712.
81. Milind Rajadhyaksha, Salvador González, James M. Zavislan, R. Rox Anderson, und Robert H. Webb: *In vivo* confocal scanning laser microscopy of human skin 2: Advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.* 1999, 113, S. 293-303.
82. Salvador González, kristy Swindells, Milind Rajadhyaksha, und Abel Torres: Changing Paradigms in Dermatology: Confocal Microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol.* 2003;21:359-369.
83. J.A. Veiro, und P.G. Cummins: Imaging of skin epidermis from various origins using confocal laser scanning microscopy. *Dermatol.* 1994;189:16-22
84. Milind Rajadhyaksha, Melanie Grossmann, Dina Esterowitz, Robert H. Webb, und R.Rox Anderson: *In vivo* confocal scanning laser microscopy of human skin: Melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol.* 1995;104:946-952

85. Rzeznik J. Die Technik zur loko-regionalen Wärmetherapie mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung. In: Vaupel P, Krüger W (Hrsg.): Wärmetherapie mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung. Grundlagen und Anwendungsmöglichkeiten. 2. Aufl. Stuttgart : Hippokrates. 1995, S.29-46.

86. Bankova L, Heinemann C, Fluhr JW, Hoffmann G, Elsner P: Improvement of penetration of topical corticoid by waterfiltered infrared A (wIRA). 1st Joint Meeting 14th International Congress for Bioengineering and the Skin & 8th Congress of the International Society for Skin Imaging; 2003 May 21-24; Hamburg; S. 96

87. Otberg N, Grone D, Meyer L, Schanzer S, Hoffmann G, Ackermann H, Sterry W, Lademann J. Water-filtered infrared A (wIRA) can act as a penetration enhancer for topically applied substances. GMS German Medical Science 2008, Vol 6: Doc08

9 *Abbildungsverzeichnis*

Aufbau der Haut (aus Weitz 2002)	9
Schematischer histologischer Aufbau der Epidermis (modifiziert nach Fritsch, 1990)	11
Absorption von Infrarotstrahlung verschiedener Wellenlängen in den Gewebeschichten der menschlichen Haut, dargestellt in Prozent der gesamten absorbierten Strahlung der angegebenen Wellenlängen	19
Saugblasentechnik	28
Sondenkopf auf der Haut	30
Sondenkopf auf dem Unterarm	31
Digitale Fotografie	31
Planimetrische digitale Fotografie und Kalibrierung	32
Messaufbau des Laser-Scan-Mikroskops „Stratum“	34
Wattestäbchen	35
wIRA-Strahler	37
Versuchsdurchführung	38
Studiendesign	39
Ausmessung der Wundfläche mit dem Software Programm analySIS®	42
Wundheilung in Abhängigkeit von der Zeit (Mittelwerte von 12 Probanden)	43
Standardabweichung der Mittelwerte der Wundfläche	44
Wundheilungsgeschwindigkeit [% pro Tag]	45
TEWL-Werte im Verlauf des Versuches	46
Laser-Scan-mikroskopische Darstellung von zellulären Strukturen in unterschiedlichen Hautschichten	47
Verlauf der Wundheilung	48-50
Quantifizierung der Laser-Scan-Mikroskopischen Messungen im Verlauf des Versuches	51
Gesamtflora der Wunden	52
Keimzahl der coagulase-negativen Staphylokokken	53
Tägliche ärztliche Beurteilung des Therapieerfolges	54
Beurteilung der Wundheilung durch Proband	55
Horizontale histologische Schnitte, die das Stratum corneum(SC) und das Stratum spinosum (SS) mit er Papillarstruktur zeigen	58
In-vivo-laser-scan-mikroskopische Aufnahmen, die das Stratum corneum (SC) und das Stratum basale (SB) mit der Papillarstruktur zeigen	59

Darstellung des Stratum corneum (SC)

59

Bestimmung der Schichtdicke des Stratum corneum durch Laser-Scan-
Mikroskopie; die Fokusebene wird von der Hautoberfläche (linkes Bild) bis an die
Grenze zur lebenden Epidermis (rechtes Bild) verschoben

60

10 **Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt Herrn **Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann** als meinem Doktorvater für das interessante Dissertationsthema sowie für die jederzeit aktive und vertrauensvolle Unterstützung.

Ich danke Herrn **Prof. Dr. Wolfram Sterry** dafür, an der Universitätshautklinik der Charité promovieren zu dürfen.

Heike Richter und **Sabine Schanzer** bin ich für deren stete Hilfsbereitschaft bei der Gestaltung dieser Arbeit sehr dankbar.

Besonders dankbar bin ich Herrn **Rostik Khugaev**, meinem Onkel, für die finanzielle Basis dieser Arbeit.

Schließlich möchte ich meiner Familie für ihre großzügige Unterstützung danken.

11 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12 Publikationsliste

1. Alborova A, Lademann J, Meyer L, Kramer A, Teichmann A, Sterry W, Antoniou C: Einsatz der Laser-Scan-Mikroskopie zur Charakterisierung der Wundheilung. GMS Krankenhaushyg Interdiszip. 2007;2(2):Doc01
2. Alborova A, Lademann J, Kramer A, Richter H, Patzelt A, Sterry W, Koch S: In vivo analysis of wound healing by optical methods. GMS Krankenhaushyg Interdiszip. 2008;3(1):Doc02
3. Lange-Asschenfeldt B, Alborova A, Krüger-Corcoran D, Patzelt A, Richter H, Sterry W, Kramer A, Stockfleth E, Lademann J. Effects of a topically applied wound ointment on epidermal wound healing studied by *in vivo* fluorescence laser scanning microscopy analysis. J Biomed Opt 2009 Sep-Oct;14(5):054001
4. Lademann J, Richter H, Alborova A, Humme D, Patzelt A, Kramer A, Weltmann KD, Hartmann B, Ottomann C, Fluhr JW, Hinz P, Hübner G, Lademann O. Risk assessment of the application of a plasma jet in dermatology. J Biomed Opt. 2009 Sep-Oct;14(5):054025.

13 *Eidesstattliche Erklärung*

Hiermit erkläre ich, Alena Alborova, dass die vorliegende Dissertationsarbeit von mir selbst ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde und auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, den 27.01.2010