

---

Aus der Klinik für Plastische Chirurgie der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. P. Mailänder

---

**Wundheilungsverlauf nach tiefgradigen Verbrühungswunden mit und ohne  
Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung am Tiermodell der  
Ratte**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von  
Janika Grunow, geb. Szymczak  
aus Bad Oldesloe

Lübeck, 2021

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Priv.-Doz. Dr. med. Tobias Kisch

2. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. vet Jennifer Hundt

Tag der mündlichen Prüfung: 15.09.2021

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 15.09.2021

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

## **I. Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass die vorliegende Dissertation mit dem Thema

### **Wundheilungsverlauf nach tiefgradigen Verbrühungswunden mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung am Tiermodell der Ratte**

ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst wurde und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt wurden. Wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Alle Quellen, die dem World Wide Web entnommen oder in einer sonstigen digitalen Form verwendet wurden, sind der Arbeit beigefügt.

Ahrensburg, den 26. April 2021

---

Janika Grunow

## II. Inhaltsverzeichnis

<b>I. Eidesstattliche Erklärung</b> .....	<b>3</b>
<b>II. Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>III. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>7</b>
<b>IV. Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>8</b>
<b>V. Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>10</b>
<b>1. Einleitung und Fragestellung</b> .....	<b>11</b>
1.1. <i>Aufbau der gesunden Haut</i> .....	12
1.2. <i>Aufbau Haarfollikel</i> .....	15
1.3. <i>Funktionen der Haut</i> .....	15
1.4. <i>Verbrennung</i> .....	16
1.4.1 <i>Verbrennungstiefen</i> .....	16
1.5. <i>Wundversorgung</i> .....	18
1.5.1. <i>Lokale Antiseptika</i> .....	19
1.5.2. <i>Temporärer Hautersatz</i> .....	20
1.5.3. <i>Grundlagen und Therapieansätze der Wundversorgung von Verbrennungswunden</i> .....	20
1.6. <i>Stadien der Wundheilung</i> .....	21
1.6.1. <i>Die Sofortantwort</i> .....	22
1.6.2. <i>Inflammation</i> .....	23
1.6.3. <i>Proliferation</i> .....	24
1.6.4. <i>Remodeling</i> .....	25
1.7. <i>Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung</i> .....	25
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>28</b>

## Inhaltsverzeichnis

2.1. Tierkollektiv .....	28
2.2. Aufbau des Tierversuchs .....	28
2.2.1. Behandlungsgruppe .....	29
2.2.2. Kontrollgruppe: .....	29
2.3. Anästhesie und Operationsvorbereitung.....	29
2.4. Verbrühungswunden.....	30
2.5. wIRA Hydrosun750-Strahler .....	31
2.6. Gewebeproben .....	32
2.7. Überwachung.....	33
2.8. Statistische Messmethoden.....	33
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
3.1. Einteilung nach histologischen Stadien .....	36
3.1.1. Stadium 1: Oberflächliche (epidermale) Nekrose (ON).....	36
3.1.2. Stadium 2: Areaktive Nekrose (AN) .....	38
3.1.3. Stadium 3: Granulozytär demarkierte Nekrose (DN).....	39
3.1.4. Stadium 4: Partielle Epithelialisierung (PE).....	40
3.1.5. Stadium 5: Vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste (VEK).....	41
3.1.6. Vollständige Epithelialisierung mit schmaler subepithelialer bandförmiger Granulationsgewebsbildung (VEB) .....	42
3.2. Einordnung der untersuchten Biopsate.....	43
3.2.1. Kontrollgruppe .....	43
3.2.2. Behandlungsgruppe .....	48
3.3. Statistische Auswertung.....	48
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>51</b>
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>60</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>70</b>
7.1. Zusätzliche Versuchsgruppen: „axial-pattern skin flap“: .....	70

Inhaltsverzeichnis

7.2. *Genehmigungen der Tierversuche* ..... 72

**8. Danksagungen**..... 74

**9. Lebenslauf**..... 75

### III. Abkürzungsverzeichnis

AN:	Areaktive Nekrose
FGF2:	Basic fibroblast growth factor
CK:	Zytokeratin
CVI:	Chronisch venöse Insuffizienz
CXCL4:	Platelet factor 4
DN:	Granulozytär demarkierte Nekrose
ON:	Oberflächliche Nekrose
NA:	Nicht auswertbar
PE:	Partielle Epithelialisierung
RANTES:	Regulated and normal T cell expressed and secreted
pAVK:	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF:	Platelet-derived growth factor
SRF:	Serum-response-Faktor
TGF:	Transforming growth factor
TNFalpha:	Tumor-Nekrose-Faktor Alpha
TLR:	Toll-like-Rezeptoren
VEGF:	Vascular endothelial growth factor
VEB:	Vollständige Epithelialisierung mit fibrösem subepitheliales Band
VEK:	Vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste aus nekrotischem Gewebe
VIS:	Visible light
wIRA:	Wassergefilterte Infrarot-A Strahlung
%VKOF:	Verbrannte Körperfläche prozentual zur Gesamtkörperoberfläche

#### IV. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Schichten der Haut</i>	13
<i>Abbildung 2: Anatomie der Haut</i>	15
<i>Tabelle 2: Klassifikation der Verbrennungstiefen</i>	18
<i>Abbildung 3: Vergleich der Spektren der Sonne auf der Erdoberfläche auf Meereshöhe und des Spektrums eines wIRA-Strahlers</i>	26
<i>Abbildung 4: Querschnitt eines wassergefilterten Infrarot-A-Strahlers</i>	27
<i>Abbildung 5: Verbrühungswunde Ratte</i>	30
<i>Abbildung 6: tiefgradige Verbrühung auf dem Rücken einer Ratte</i>	30
<i>Abbildung 7: Bestrahlung der Ratten paarweise mittels wIRA Hydrosun-750-Strahler</i>	31
<i>Abbildung 8: Schematische Darstellung der Ratte vor und nach Verbrühung und möglicher Biopsieentnahme: zentral/ randständig</i>	32
<i>Abbildung 9: Normale Haut vom Rücken einer unbehandelten Ratte</i>	34
<i>Abbildung 10: Oberflächliche (epidermale) Nekrose, 63x Vergrößerung</i>	36
<i>Abbildung 11: Nekrose der Epidermis mit partieller Unterminierung durch eingewandertes unreifes Epithel, 20x Vergrößerung</i>	36
<i>Abbildung 12: Nekrose der Dermis mit beginnender Unterminierung durch eingewandertes Epithel, 60x Vergrößerung</i>	37
<i>Abbildung 13: Areaktive (tiefe) Nekrose, 20x Vergrößerung</i>	38
<i>Abbildung 14: Areaktive Nekrose bei der PAS-Reaktion, 20x Vergrößerung</i>	38
<i>Abbildung 15: Tiefe Nekrose mit Demarkierung durch einen Wall von neutrophilen Granulozyten,</i>	39
<i>Abbildung 16: Partielle Epithelialisierung, 63x Vergrößerung</i>	40
<i>Abbildung 17: Partielle Epithelialisierung, PAS-Reaktion, 63x Vergrößerung</i>	40
<i>Abbildung 18: Vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste, 20x Vergrößerung</i>	41
<i>Abbildung 19: Vollständige Epithelialisierung mit schmaler subepithelialer bandförmiger Granulationsgewebsbildung, 63x Vergrößerung</i>	42
<i>Abbildung 20: Subepitheliales Band mit horizontal ausgerichteten Fibroblasten, 63x Vergrößerung</i>	42

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 21: Anzahl Tiere pro diagnostische Kategorie für jeden Zeitpunkt</i>	<i>49</i>
<i>Abbildung 22: Numerisch rekodierte Einzelwerte der Tiere</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 23: Zonen der Schädigung nach oberflächlichen und tiefen 2.-gradigen Verbrennungen</i>	<i>52</i>
<i>Abb. 24: Subkutaner Sauerstoffpartialdruck und Temperatur 2 und 10 Tage nach Operation bei einer Interventionsgruppe mit Bestrahlung mittels wassergefilterter Infrarot-A-strahlung und Kontrollgruppe mit Bestrahlung durch sichtbares Licht VIS)</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 25: Operationsvorbereitung "axial-pattern skin flap"</i>	<i>70</i>
<i>Abbildung 26: Präparation Lappenplastik am Rücken der Ratte</i>	<i>71</i>

## **V.Tabellenverzeichnis**

<i>Tabelle 1: Anzahl in Deutschland stationär aufgenommener Brandverletzter und Letalität im Zeitraum 2005 bis 2012</i>	<i>12</i>
<i>Tabelle 2: Klassifikation der Verbrennungstiefen</i>	<i>18</i>
<i>Tabelle 3: Gliederung der Untersuchungsgruppen</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 4: Numerische Auflistung Biopsieergebnisse</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 5: Vergleich der Gruppen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten</i>	<i>50</i>

### 1. Einleitung und Fragestellung

Wundheilung ist ein zentrales interdisziplinäres Thema in der modernen Medizin. Zahlreiche Studien und Publikationen beschäftigen sich mit Ansätzen und neuen Therapiemethoden zur Verbesserung und Beschleunigung der Heilung sowohl von akuten als auch von chronischen Wunden.

Verbrennungen gehören zu den häufigsten Unfällen mit meist weitreichenden Folgen für die Unfallopfer, wie physische Einschränkungen und mentale und emotionale Schäden [Fahimi et al., 2015]. In den Vereinigten Staaten von Amerika werden pro Jahr 1,25 Millionen Fälle von Verbrennungen registriert [Brigham und McLoughlin, 1996] von denen alle Altersklassen betroffen sind. Ein Amerikaner hat eine Wahrscheinlichkeit von 1 zu 70 einmal im Verlauf seines Lebens aufgrund einer Verbrennung hospitalisiert zu werden [Demling, 1985]. Die Inzidenz leichterer Verbrennungen beläuft sich auf 600/100.000 Einwohner pro Jahr, während die Inzidenz schwerer Verbrennungen 1/50.000 bis 1/60.000 Einwohner pro Jahr beträgt. Hierbei sind Kinder im Alter von unter 10 Jahren in 9,7 % der Fälle von Verbrennungen betroffen, Jugendliche im Alter von 10-19 mit 6,2 %. 59,5 % der Verbrennungen entfallen auf ein Kollektiv der 20- bis 59-Jährigen. Die Altersgruppe von über 60 Jahren macht indes 24,6 % der Brandverletzten aus [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S.5].

Verbrennungen werden in 44,9 % durch direkte Flammeneinwirkung verursacht, in 25,9 % der Fälle sind Verbrühungen ursächlich, gefolgt von Explosionsverletzungen (11,2 %), Kontaktverbrennungen (6,7 %) und Stromunfällen (4,9 %). Die verbleibenden 6,4 % der Verbrennungen entstehen durch sonstige thermische Schädigungen wie Sonne, Reibung und ähnliches [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S.5].

Epidemiologisch betrachtet ist die Zahl von stationär aufgenommenen Brandverletzten über die Jahre (Zeitraum 2002-2012) annähernd gleichgeblieben, während die Todesrate um circa 30 % zurückgeht [Steen, 2006]. Eine Erklärung hierfür könnte unter anderem die verbesserte Versorgung durch neue Therapieansätze liefern.

## Einleitung und Fragestellung

Im Jahr 2012 erlagen 236 von 15.161 in Deutschland stationär aufgenommenen Brandverletzten den Folgen einer Verbrennung.

*Tabelle 1: Anzahl in Deutschland stationär aufgenommener Brandverletzter und Letalität im Zeitraum 2005 bis 2012 [Steen 2016]*

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
<b>Brandver-</b>	14.044	13.873	13.663	13.834	14.03	14.451	14.527	15.161
<b>letzte</b>					5			
<b>Davon ver-</b>	277	228	221	220	227	215	224	236
<b>storben</b>								

Die konservative Therapie von Verbrennungswunden beinhaltet vor allem die Anwendung von Antiseptika und antiseptischen Wundauflagen. Unerwünschter Nebeneffekte dieses Therapieansatzes können allergische Reaktionen und Hautirritationen sein, welche die Wundheilung in der Folge verzögern und die Rehabilitationsphase verlängern [Mohajeri et al., 2011, Upadhyay et al., 2011]. Dementsprechend ist der Bedarf an alternativen Therapieoptionen groß. Vor diesem Hintergrund wurden natürliche Substanzen wie Fette, Honig, Harz, Propolis und weitere in der Anwendung erprobt [Brunner und Suddarth, 1988, Carnerio et al, 2002]. Dabei konnten zahlreiche Studien zeigen, dass diese Substanzen einen gewissen Benefit im Wundmanagement von oberflächlichen Verbrennungen erbringen [Gregory et al., 2002] [Subrahmanyam, 1998] [Subrahmanyam, 1990], ihre Anwendungsbereiche jedoch limitiert sind [Mohajeri et al., 2011].

### **1.1. Aufbau der gesunden Haut**

Die Haut ist ein Oberflächenorgan und lässt sich den Epithelien zuordnen. Alle Epithelien besitzen 3 gemeinsame strukturelle Merkmale. Sie dienen zum einen als Abgrenzung gegenüber anderen Kompartimenten, zum anderen stellen sie einen soliden Zellverband dar. Schließlich zeichnen sie sich alle durch das Vorhandensein einer Basallamina aus, welche die Epithelien mit dem darunter liegenden Gewebe verbindet [Drenckhahn, 2003].

## Einleitung und Fragestellung

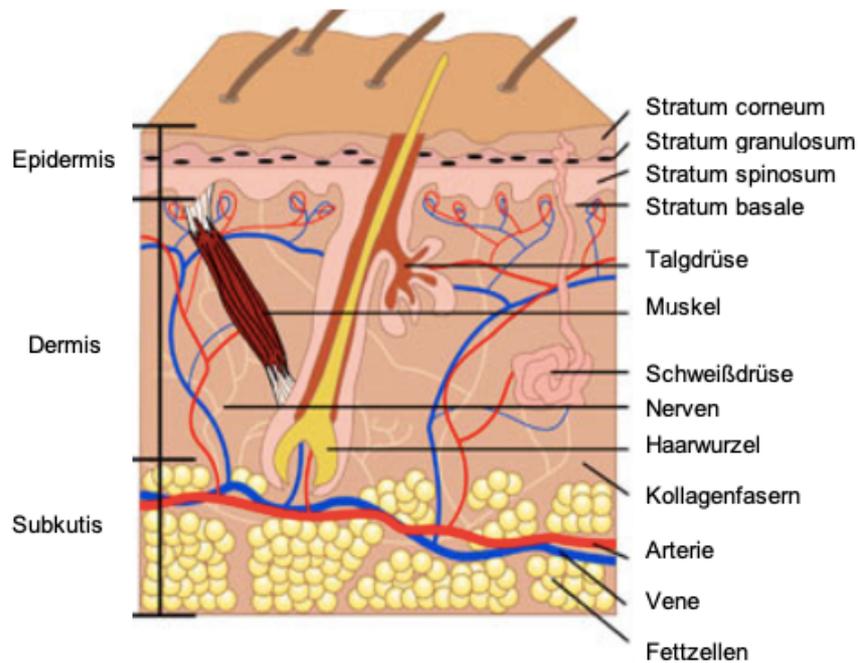


Abbildung 1: Schichten der Haut nach [[https://www.krebsgesellschaft.de/files/dkg/onko-por-tal/content/images/home/Krebsarten/Hautkrebs/2\\_anatomie\\_hautschichten\\_400.jpg](https://www.krebsgesellschaft.de/files/dkg/onko-por-tal/content/images/home/Krebsarten/Hautkrebs/2_anatomie_hautschichten_400.jpg), letzter Aufruf 14.03.2021]

Die Haut als Epithel der Körperoberfläche gliedert sich in 3 Schichten:

1. Die Oberhaut (=Epidermis=Epithel der Haut) mit
  - a. Stratum corneum
  - b. Stratum granulosum
  - c. Stratum spinosum
  - d. Stratum basale
2. Das bindegewebige Korium (=Dermis=Lederhaut) mit
  - a. Stratum papillare
  - b. Stratum reticulare
3. Subkutis (= Unterhaut)

Die Epidermis ist ein mehrschichtiges, verhorntes Plattenepithel und lässt sich wiederum bei genauer Betrachtung noch einmal unterteilen in das aus kubischen oder prismatischen Zellen bestehende Stratum basale, welches zusammen mit dem oberflächenwärts folgenden Stratum spinosum das Stratum germinativum bildet, in welchem die Zellteilung stattfindet [Welsch, 2006]. Die Zellen des Stratum spinosum bilden an ihrer Oberfläche stachelförmige Fortsätze aus. Das Stratum granulosum wiederum ist meistens mehrschichtig und grenzt an die Hornschicht. Seine

## Einleitung und Fragestellung

Zellen fallen durch besonders intensiv anfärbbare Körnchen im Zytoplasma auf (Keratohyalgranula) [Welsch, 2006]. Das Stratum corneum ist aus mehreren Schichten toter verhornter Zellen aufgebaut und bildet die äußerste Schicht der Haut. Es fungiert als äußere Barriere und schützt den Körper gegen die Außenwelt und hilft das innere Milieu aufrechtzuerhalten [Welsch, 2006]. Basal der Epidermis folgt die Dermis. Diese macht etwa 15-20% des Körpergewichts aus [Welsch, 2006] und besteht aus einem relativ zellreichen papillären Teil und einem verhältnismäßig zellarmen retikulären Teil. Das Stratum papillare enthält dünne Kollagenfasern überwiegend vom Typ III und ein dichtes Netz aus zarten elastischen Fasern. Hier finden sich reichlich Kapillaren und viele freie Nervenendigungen zur Vermittlung von Sinnesreizen. Im Bereich des Stratum reticulare überwiegt hingegen ein Faser-Netzwerk aus dicken, wellig verlaufenden Kollagenfasern überwiegend vom Typ I. Begleitend finden sich dicke elastische Fasern. Diesen hat die Haut ihre reversible Dehnbarkeit zu verdanken. Unterhalb der Dermis schließt sich die Subkutis an. Sie ist reich an Fettgewebe und enthält Nerven und Gefäße. Dermis und Subkutis enthalten außerdem Anteile der Hautanhangsgebilde wie Haarwurzeln und Endstücke der Drüsen [Lüllmann-Rauch, 2004]. Im Rahmen der Reepithelialisierungsphase der Wundheilung spielen die Haarfollikel eine wichtige Rolle, weshalb zum weiteren Verständnis ihr Aufbau im nächsten Abschnitt dargestellt wird.

## 1.2. Aufbau Haarfollikel

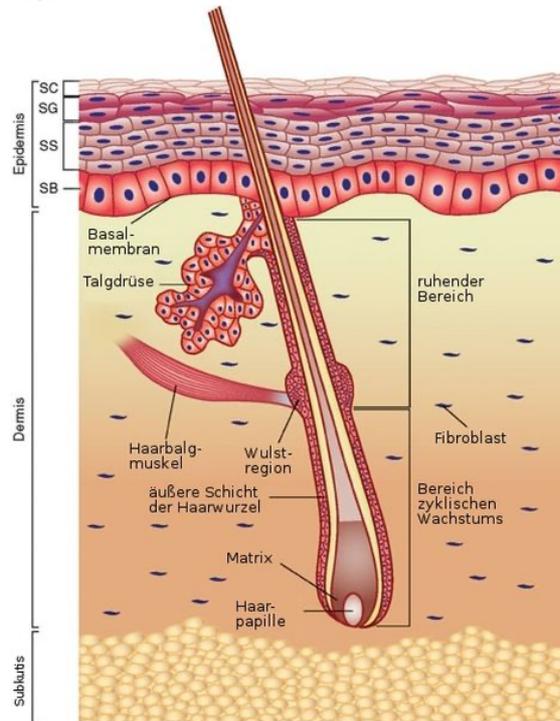


Abbildung 2: Anatomie der Haut [Wong, 2009].

Haare gehören zu den Hautanhangsgebilden und entstehen in tiefen Epidermiseinstülpungen. Sie besitzen mitotisch aktive Zellen (Matrixzellen) aus denen an der Basis der Haarpapille die innere Wurzelscheide hervorgeht. Diese dient aufgrund ihrer dachziegelartigen Architektur unter anderem der Verankerung des Haarfollikels. Die äußere Wurzelscheide erstreckt sich über die gesamte Länge des Haarfollikels bis an die Epidermis. Ungefähr auf Höhe des Ansatzes des Musculus arrector pili (Haarbalgmuskel) weist die äußere Wurzelscheide einen Wulst (Wulst-region) auf. In diesem Bereich finden sich Stammzellen, aus denen im Laufe eines Haarzyklus die Matrixzellen für die Entstehung des neuen Haares gebildet werden. Im Rahmen der Wundheilung entstehen in diesem Bereich darüber hinaus neue Stammzellen für Epidermis und Talgdrüse [Lüllmann-Rauch, 2004].

## 1.3. Funktionen der Haut

Die Haut des Menschen nimmt beim Erwachsenen etwa eine Fläche von 2 m<sup>2</sup> ein und erfüllt vielfältige lebenswichtige Funktionen. So bildet sie eine Schutzbarriere vor mechanischen, thermischen und chemisch-toxischen Umweltreizen. Zusätzlich ist die Haut beteiligt an der Thermoregulation und an der Regelung des Wasser-

## Einleitung und Fragestellung

und Elektrolythaushalts. Des Weiteren beherbergt sie Sinnesrezeptoren für die Vermittlung von Sinnesreizen und übernimmt wichtige Synthesefunktionen, unter anderem durch ihre Vielzahl an sekretorischen Drüsen [Enoch und Price, 2004, Lüllmann-Rauch, 2004].

### **1.4. Verbrennung**

Eine Verbrennung ist eine thermische Verletzung, die zu einer Schädigung des Gewebes führt. Die Schädigung kann auf unterschiedliche Arten erfolgen:

- Flammen
- heiße Flüssigkeiten = Verbrühung
- Dampf = Verbrühung
- Gase
- Strahlung
- heiße Stoffe oder Kontaktflächen
- Reibung
- Elektrischer Strom

Die Exposition gegenüber chemischen Substanzen wie Säuren oder Laugen kann zu ähnlichen Gewebsreaktionen und -schädigungen führen, so dass deren Behandlung auch der Verbrennungsmedizin zugeordnet wird. Bei Verbrennungen kommt es zu einer Schädigung von Haut und Hautanhangsgebilden bis hin zu tiefer gelegenen Strukturen. Das Ausmaß ist hierbei abhängig von der Temperatur und der Dauer der Einwirkung [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 4].

#### *1.4.1 Verbrennungstiefen*

Um nachfolgend die Stadien der Wundheilung zu beschreiben, ist es zunächst wichtig auf die Definition des Begriffes der tiefgradigen Verbrühung einzugehen. In Bezug auf die Tiefe der Verbrennung können klinisch vier Grade unterschieden werden.

## Einleitung und Fragestellung

### *1.4.1.1. Verbrennungen Grad I*

Erstgradige Verbrennungen beschränken sich im Ausmaß auf die Epidermis. Ein typisches Beispiel hierfür ist der Sonnenbrand. Charakterisiert wird dieses Verbrennungsstadium durch ein Erythem, eine Hautschwellung sowie Schmerzen. Eine Abheilung erfolgt immer narbenlos.

### *1.4.1.2. Verbrennungen Grad IIa (= oberflächlich)*

Hierbei erfolgt eine vollständige Schädigung von Epidermis und zusätzlich von oberen Anteilen der Dermis. In der Regel entstehen flüssigkeitsgefüllte epidermale Hautblasen mit darunter gut durchbluteter und in großen Teilen erhaltener intakter Dermis. Prominent ist ein deutlicher Schmerzcharakter. Oberflächliche Verbrennungen heilen meistens innerhalb von 10 -12 Tagen narbenlos ab.

### *1.4.1.3. Verbrennungen Grad IIb (= tief)*

Bei dieser Art von Verbrennung reicht die Schädigung bis in die tiefe Dermis. Es kommt zur Blasenbildung ohne ein begleitendes Erythem. Der Wundgrund ist rigide und imponiert feucht bis trocken. Eine Verletzung von Hautanhangsgebilden ist möglich, aber nicht obligat. Eine Abheilung erfolgt unter Narbenbildung und es bedarf einer chirurgischen Therapie, häufig begleitet von einer Hauttransplantation. Der Schmerzcharakter ist meist reduziert.

### *1.4.1.4. Verbrennungen Grad III*

Die drittgradige Verbrennung umfasst die Zerstörung aller Gewebsschichten (Epidermis, Dermis, Subkutis). Ein weiteres Merkmal ist hierbei der vollständige oder teilweise Verlust der Hautanhangsgebilde. Die Verbrennung ist trocken, eine Blasenbildung tritt nicht auf. Die Haut imponiert weißlich und rigide.

Eine Sonderform ist die Verkohlung. Hierbei kommt es zusätzlich zu einer Schädigung von Knochen, Muskeln oder Sehnen. Zum Teil wird die Verkohlung auch als Grad IV der Verbrennungstiefen klassifiziert [Bergmann und Siemers, 2016].

## Einleitung und Fragestellung

Tabelle 2: Klassifikation der Verbrennungstiefen aus [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S.11]

Grad der Verbrennung	Betroffene Hautschichten	Klinik
I	Epidermis	Rötung, starker Schmerz, wie Sonnenbrand
IIa	Oberflächliche Dermis	Blasenbildung, Wundgrund rosig und rekapillarisierend, starker Schmerz, Haare fest verankert
IIb	Tiefe Dermis (mit Hautanhangsgebilden)	Blasenbildung, Wundgrund blasser und nicht oder schwach rekapillarisierend, reduzierter Schmerz, Haare leicht zu entfernen
III	Komplette Dermis	Trockener, weißer, lederartig harter Wundgrund, keine Schmerzen, keine Haare mehr vorhanden
IV	Unterhautfettgewebe, Muskelfaszie, Muskeln, Knochen	Verkohlung

Verbrennungen können mitunter eine vitale Bedrohung darstellen. Eine gefürchtete Komplikation ist die Entstehung einer Verbrennungskrankheit. Bereits bei einer Verbrennung einer gesamten Fläche von 20% im Vergleich zur Körperoberfläche (VKOF) kann es zu systemischen Entzündungsreaktionen bis hin zur Sepsis, zu Kreislaufreaktionen bis hin zum Schock, sowie zum Multiorganversagen kommen [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“ S.4-5, Fakin et al, 2016]. Die Prognose des Patienten wird im Wesentlichen bestimmt vom Ausmaß und der Tiefe der Verbrennung [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“ S.4-5], den Komorbiditäten des Patienten [Menke, 2016] und der medizinischen Versorgung [World Health Organisation, 2002]. Bei schwerverbrannt-verletzten Patienten mit einem Ausmaß der Verbrennung von über 40% der gesamten Körperoberfläche (VKOF) sind 75% der Todesfälle auf die Ausbildung einer Sepsis aufgrund einer Wundinfektion oder anderen Komplikationen bedingt durch die Entzündung und/oder ein Inhalationstrauma zurückzuführen [Church et al., 2006].

### 1.5. Wundversorgung

Die Wundheilung ist ein fein reguliertes Zusammenspiel unterschiedlicher Faktoren und Zellen. Bei einer Störung der empfindlichen Prozesse kann es zu einer Verzögerung des Heilungsverlaufs kommen [Fahimi et al, 2015, Eming et al, 2007]. Gemeinsames Ziel in der Wundbehandlung von Verbrennungen ist der Wundverschluss mit patienteneigener Epidermis [Fuchs und Thamm, 2016]. Generell anzustreben ist eine schmerzarme Behandlung, eine zügige, zeitgerechte und ungestörte Wundabheilung und eine narbenarme oder im Idealfall narbenfreie Abheilung

## Einleitung und Fragestellung

für den Patienten zu ermöglichen [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 37-39].

In Abhängigkeit von unterschiedlichen Faktoren, wie Verbrennungstiefe und persönlichem Heilungsverlauf, kann der Wundverschluss spontan oder mittels operativer Maßnahmen erfolgen. Oberflächliche Verbrennungen werden konservativ versorgt. Hierbei wird eine Wundreinigung durchgeführt. Bei ausgedehnteren Befunden werden Antiseptika oder Hautersatzmaterialien angewendet. Bei tiefen zweitgradigen und drittgradigen Verbrennungswunden ist eine operative Therapie jedoch unerlässlich [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 37-39]. Zunächst wird hierbei die Entfernung der verbrannten Haut vorgenommen, sodass eine ungestörte Wundheilung möglich wird [Tompkins et al., 1986]. Eine frühzeitige Entfernung des Eschars reduziert hierbei die Mortalität [Atiyeh et al., 2005]. Anschließend erfolgt eine Deckung der entstandenen Wundfläche, um die Wunde vor Austrocknung und vor der Entstehung von Wundinfektionen zu schützen. Die Defektdeckung erfolgt in der Regel mit Spalthaut. Ist dies aus unterschiedlichen Gründen primär nicht möglich (wenn zum Beispiel auf Grund des Ausmaßes der verbrannten Körperoberfläche zu wenig gesunde Haut zur Verfügung steht), kommen in der Regel temporäre Hautersatzmaterialien zum Einsatz [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 37-39].

Im folgenden Abschnitt werden der Übersicht halber gängige temporäre Hautersatzmaterialien sowie topische Substrate vorgestellt, die in der Therapie Brandverletzter Eingang gefunden haben.

### *1.5.1. Lokale Antiseptika*

Im klinischen Einsatz befinden sich hierbei unter anderem Polyhexanid, Octenidihydrochlorid, Silbersulfadiazin und Mafenidacetat (Sulfamylon) [Fuchs und Thamm, 2016]. Eine gefürchtete Komplikation bei der Behandlung von Verbrennungswunden ist die Bildung eines sogenannten Biofilms. Zum Schutz bilden viele Bakterien Mikrokolonien aus einer Matrix aus synthetisierten Biopolymeren. Systemische Antibiotika und einige lokale Antiseptika können diese schützende Matrix jedoch nicht

## Einleitung und Fragestellung

durchdringen. Ein typisches Beispiel für biofimbrierte Bakterien sind *Pseudomonas aeruginosa* und MRSA. Polyhexanid in Kombination mit Undecylenamidopropyl-Betain (Prontosan) zeigt hier eine gute Wirksamkeit [Kaehn, 2010].

### *1.5.2. Temporärer Hautersatz*

Als temporären Hautersatz bezeichnet man künstlich hergestellte Wundauflagen, die nicht in den Körper eingebaut werden und vorübergehend die Epidermis ersetzen sollen. Hierbei werden vor allem Suprathel (Polymedics Innovations Inc., Woodstock, USA), Biobrane (Smith & Nephew plc, London, GB) oder Aquacel (Convatec Group plc, Reading, GB) verwendet [Fuchs und Thamm, 2016].

#### *1.5.2.1. Allogene Haut*

Durch die Verwendung von allogener Haut kann eine annähernd physiologische Wundabdeckung erzielt werden. Die Spenderhaut wird glyzerol- oder kryokonserviert. Aus ökonomischer Sicht bleibt der Einsatz jedoch auf großflächige, drittgradige Verbrennungen beschränkt [Fuchs und Thamm, 2016].

### *1.5.3. Grundlagen und Therapieansätze der Wundversorgung von Verbrennungswunden*

Geeignete Substrate zur topischen Behandlung von Verbrennungswunden sollten im Allgemeinen eine Vielzahl von Anforderungen erfüllen. So sollte durch die Therapie eine Keimreduktion und ein Schutz vor Infektionen gewährleistet werden. Des Weiteren sollte die Wundheilung unterstützt werden. Für den Patienten sollte zugleich eine Schmerzlinderung erfolgen und seine Bewegungsfreiheit so weit wie möglich erhalten werden. Wie bei jedem Therapeutikum sollte auch bei der Wundversorgung von Verbrennungen das Nebenwirkungsprofil geringgehalten werden und der Heilungsverlauf beobachtet werden können. Die Wundaufgabe und das ausgewählte Wundmanagement sind entscheidend für die Heilung und die Qualität des Langzeitergebnisses [Fuchs und Thamm, 2016].

Konsequenterweise ist festzustellen, dass eine Vielzahl von Antiseptika zur Verfügung steht. Ihre Einsatzbereiche und Restriktionen richten sich nach Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil. Beim Einsatz von lokalen Antiseptika ist zu bedenken, dass je höher

## Einleitung und Fragestellung

und breiter dessen Wirksamkeit ist, desto größer in der Regel auch seine Toxizität gegenüber organischem Material ausfällt [Fuchs und Thamm, 2016].

2009 wurde diesbezüglich eine vergleichende In-vitro-Studie an der Klinik für Plastische Chirurgie und Schwerbrandverletzte des Universitätsklinikums Bergmannsheil in Zusammenarbeit mit der Klinik für Plastische Chirurgie und Schwerbrandverletzte der Medizinischen Hochschule Hannover und des Fachbereiches Krankenhaus und Medizintechnik, Umwelt-und Biotechnologie der Fachhochschule Gießen-Friedberg durchgeführt. Die Zytotoxizität von Lavasept, Octenidin und Povidon-Iod wurde analysiert. Es zeigte sich, dass im Vergleich bei Polyhexanid die geringste toxische Wirkung auf Keratinozyten und Fibroblasten beobachtet, während unter dem Gebrauch von Octenidin und Povidon-Iod (Betaisodona) die Proliferation der Zellen signifikant gehemmt wird [Hirsch et al., 2009].

Bei temporären Hautersatzmaterialien besteht ein Risiko zur Wundinfektion. Daher müssen regelmäßige Beurteilungen der Wundauflage und eine individuelle Anpassung des Behandlungsregimes erfolgen.

### **1.6. Stadien der Wundheilung**

Über die letzten 100 Jahre wurde Wundheilung in ihren unterschiedlichsten Aspekten vielfach untersucht und beschrieben. In letzter Zeit konnten in der Wissenschaft neue Erkenntnisse der genetischen Grundlagen gewonnen werden, vor allem durch eine Vielzahl von Microarray Studien in denen viele neue Komponenten detektiert wurden [Shaw und Martin, 2009, Werner und Grose, 2003]. Im Folgenden soll zunächst ein Überblick über die Abläufe der Wundheilung gegeben werden, um dann im Speziellen auf unsere histopathologischen Ergebnisse einzugehen.

Im Allgemeinen können 3 bzw. 4 Stadien der Wundheilung unterschieden werden. Initial tritt eine Inflammation auf, dabei wird die Sofort-Reaktion oft der Inflammation untergeordnet, kann jedoch auch als selbstständige Einheit angesehen werden. Darauf folgt die Proliferation, bevor es letztendlich zu einem Remodeling der Extrazellulärmatrix kommt, bei dem der Organismus das Ziel verfolgt, seinen Aufbau wiederherzustellen und zu seiner intakten Ausgangssituation und -funktion zurückzukehren [Enoch und Price, 2004]. Die Einwanderung von Pathogenen soll verhindert,

## Einleitung und Fragestellung

die Integrität der verletzten Haut und die physiologischen Eigenschaften sollen wiedererlangt werden [Li et al., 2011]. Bei Irritationen und Störungen in diesem feinen Ablauf kann es zu einer Verzögerung der Wundheilung und folglich zu einer ungewünschten Narbenbildung kommen [Eming et al., 2007]. Gerade bei Verbrennungswunden kann dies weitreichende Konsequenzen nach sich ziehen.

### *1.6.1. Die Sofortantwort*

Durch chemische und mechanische Signale wird nach der Verletzung eine Sofortantwort ausgelöst. Die Zellen am Wundrand sind beschädigt, ebenso wie die Gefäße in der Tiefe der Wunde. Geschädigte Zellen antworten daraufhin innerhalb von Minuten mit der Initiierung einer Signalkette [Kobayashi et al., 2003]. Besonders rasch erfolgt die Antwort auf Verletzungen und Scherspannung in den Blutgefäßen. Hier ist es notwendig sofort eine lokale Blutung zu verhindern. Dafür müssen zunächst die Blutplättchen aktiviert werden. Hierbei erfolgt eine Plättchenaggregation, die in der Bildung eines Fibrinthrombus resultiert, der sich aus unlöslichen Fibrinfäden zusammensetzt [Shaw und Martin, 2009]. Das Gerinnsel dient nicht nur dem primären Verschluss der Wunde, sondern agiert auch als Matrix, über die Wachstumsfaktoren binden und Zellen migrieren können [Nurden et al., 2008]. Die aktivierten Blutplättchen setzen konsekutiv ebenfalls Wachstumsfaktoren frei, unter anderem platelet-derived growth factor, vascular endothelial growth factor, basic fibroblasts growth factor, CXCL4, transforming growth factor und RANTES [Bahou and Gnatenko, 2004] und sind mitverantwortlich für die folgende Angiogenese, Inflammation und Migration von Keratinozyten und Fibroblasten [Shaw und Martin, 2009].

Im Serum sind viele weitere Faktoren wie Interleukine, koloniestimulierende Faktoren, Tumor-Nekrose-Faktor Alpha (TNF-Alpha), Interferon-Gamma und weitere Komponenten enthalten, die in ihrem Zusammenspiel die Induktion von Serum-Response-Faktor (SRF) auslösen. Dieser wiederum bindet und löst die Transkription einer Vielzahl weiterer Gene aus [Chai und Tarnawski, 2002]. Innerhalb von einigen Stunden nach der Verletzung kann so die Transkription von mehreren Hunderten von Genen hoch- oder hinunterreguliert werden, um die Sofortreaktion zu komplettieren [Shaw und Martin, 2009].

Neben diesen zellulären Mechanismen wird die Sofortreaktion auch von mechanischen Signalen ausgelöst, unter anderem die durch eine Dehnung und Veränderung in der Gewebespannung entstehen [Kippenberger et al., 2000]. Des Weiteren kommt es durch den Zelluntergang zur Zerstörung von Membranen und Verletzungen der Epithelgrenzen. Auf der einen Seite folgt nun eine elektrische Verschiebung des Gleichgewichts [Nuccitelli et al., 2008]. Auf der anderen Seite werden verschiedene Epitope (z.B. Lipopolysaccharide) von Mikroorganismen freigesetzt, die von Toll-like-Rezeptoren (TLR) erkannt werden [Shaykhiev et al., 2008]. TLR von Epithelzellen werden aktiviert und sorgen ihrerseits für die Expression und Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren und antimikrobiellen Peptiden [Shaw und Martin, 2009].

### *1.6.2. Inflammation*

Die Inflammation ist die physiologische Antwort des Organismus auf störende Einflüsse mit dem Zweck diese zu beseitigen und die Integrität und Funktion der Haut wiederherzustellen [Eming et al., 2007]. Diese Antwort erfolgt auf unterschiedlichen Wegen. Bei der Verletzung eines Gewebes kommt es initial zum Übertritt von zirkulierenden Leukozyten aus dem Gefäßlumen in die Wunde. Durch die Aktivierung der ortständigen Zellen werden Chemokine und Zytokine freigesetzt. Durch Abwehrzellen wie ortsunabhängige Makrophagen, ortständige Langerhans-Zellen und Mastzellen [Noli und Miolo, 2001, Cumberbatch et al., 2000] führen zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Wachstumsfaktoren, wie z.B. Tumor-Nekrose-Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-1 (IL-1), die weitere Neutrophile und Makrophagen anlocken [Schultz et al., 2005, Eming et al., 2007]. Das Migrieren und Auswandern der Leukozyten aus der Blutbahn bezeichnet man als Extravasation. All diese Mechanismen bewirken eine Aktivierung des Endothels, welches die Expression von Adhäsionsmolekülen, sogenannten Selektinen, und Entzündungsmediatoren einleitet. Dies löst ein Leukozytenrollen auf dem Endothel aus. Im nächsten Schritt kommt es unter Beteiligung weiterer Adhäsionsmoleküle, der sogenannten Integrine, und zu einer festen Adhäsion der Leukozyten am Endothel. Dies ist ausschlaggebend für die anschließende Diapedese, wobei die Leukozyten aktiv die Gefäßwand durchwandern und ins Gewebe eindringen [Walzog und Farney, 2010]. Die Neutrophilen Granulozyten können nun ihre Reinigungsfunktion ausführen, in-

## Einleitung und Fragestellung

dem sie eindringende Mikroorganismen durch verschiedenste Mechanismen eliminieren, unter anderem durch das Freisetzen von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) [Dovi et al., 2004] und freien Sauerstoffradikalen (NO) [Schafer and Werner, 2008].

Im weiteren Verlauf gelangen Monozyten zum Ort des Geschehens [Mori et al., 2008], die sich im Gewebe zu Makrophagen differenzieren. In der Wunde nehmen sie ihre Funktion als Phagozyten auf und entfernen Matrix- und Zellreste sowie abgestorbene Neutrophile [Eming et al., 2007]. Neben diesen reinigenden Aufgaben erfüllen Abwehrzellen auch eine Menge an zytoprotektiven und entgiftenden Funktionen [Schafer and Werner, 2008].

Durch die Vielzahl an ausgeschütteten Zytokinen und Wachstumsfaktoren kommt es in den ersten Tagen nach der Verletzung außerdem zu einer Angiogenese und Lymphangiogenese um die Wunde mit Nährstoffen und Sauerstoff zu versorgen, und es entsteht Granulationsgewebe in Form einer provisorischen Matrix [Tonnesen et al., 2000, Adams und Alitalo, 2007].

### *1.6.3. Proliferation*

Die weiter oben beschriebene Sofortreaktion hatte die Herstellung eines temporären Fibringerüsts zum Ziel. Im Rahmen der Proliferation geht es nun darum, einen permanenten Verschluss der Wunde zu erreichen und das verloren gegangene Gewebe zu ersetzen [Shaw und Martin, 2009]. Die Proliferationsphase ist charakterisiert durch Angiogenese, Kollagenablagerung, Epithelialisierung und Wundkontraktion [Nayak et al., 2006].

In der Epidermis und der Wulstregion des Haarfollikels sind Stammzellen ansässig [Fuchs, 2008]. Nach Schädigung differenzieren sich diese phänotypisch und migrieren in die Epidermis, um am Reparaturprozess teilzuhaben [Ito et al., 2005]. Im Bereich der Dermis erfolgen ebenfalls Reparaturprozesse. Der Fibrinthrombus wird aufgelöst und ein Granulationsgewebe entsteht. Hieran beteiligt sind vor allem die Fibroblasten, zirkulierende Fibrozyten und Knochenmarkvorläuferzellen [Abe et al., 2001]. In der Folge entsteht ein neu gebildetes Kollagenfasernetzwerk [Hinz, 2007].

### *1.6.4. Remodeling*

Die Kernaufgabe dieses Abschnitts der Wundheilung umfasst die Wiederherstellung der vollen Funktionalität und Architektur der Haut und ihrer Anhangsgebilde [Shaw und Martin, 2009]. Mithilfe von Keratinozyten, welche von den Wundrändern einwandern und proliferieren, wird die Wunde versiegelt. In der Dermis optimiert sich das Gebilde an Blutgefäßen und es entsteht ein kommunizierendes Netzwerk [Tonnesen et al, 2000].

Zentrales Thema dieser Arbeit ist die Auswirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung auf die Wundheilung insbesondere von tiefgradigen Verbrühungswunden. Im folgenden Abschnitt wird deshalb das Prinzip der wassergefilterten Infrarot-A-Strahlung erläutert.

### **1.7. Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung**

In unseren gemäßigten Breitengraden wird die Einwirkung des Sonnenlichts auf die Haut als wohltuend empfunden. Die einwirkende Wärmestrahlung wird durch den feuchten Wasserdampf in der Erdatmosphäre gefiltert [Hoffmann, 2007], [Hoffmann, 2006]. Aufgrund dessen werden verschiedene Strahlungsanteile gemindert. Darunter fällt ein Großteil des Infrarot-B- und -C-Spektrums, die ansonsten zu thermischen Irritationen der obersten Hautschichten führen würden. Die hautbelastenden Wellenlängen liegen bei 940 nm, 1180 nm und 1380 nm. Dieser störende Effekt beruht darauf, dass das Wasser, welches physiologisch besonders in diesen Hautarealen vorkommt, eine undurchdringliche Barriere für Infrarot-Strahlen dieser Wellenlängen bildet. Folglich könnten Infrarot-B und -C die Haut nicht durchdringen und würden konsekutiv durch Absorption zu massiver Hitzebelastung der Hautoberfläche führen [Schumann et al., 2011].

## Einleitung und Fragestellung

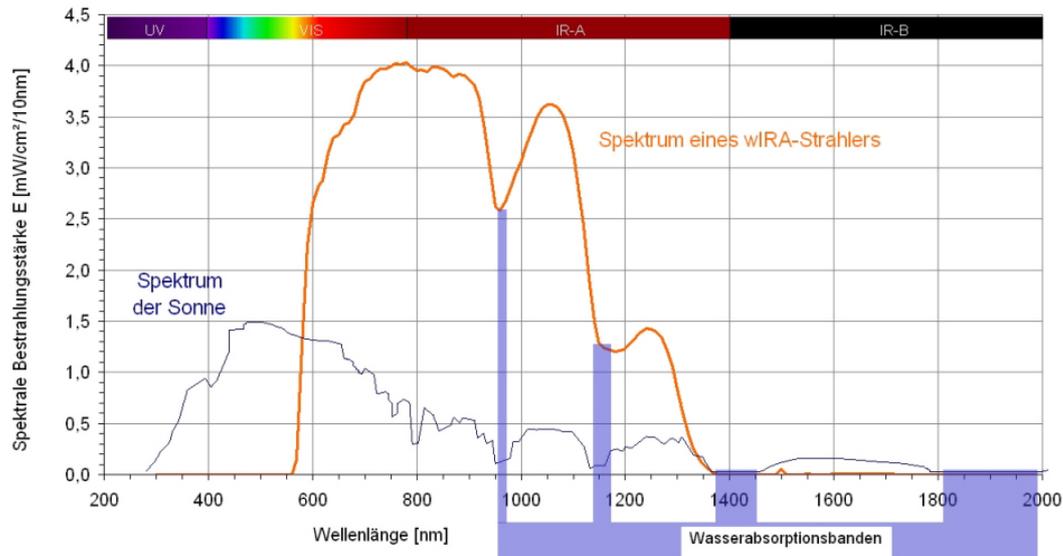


Abbildung 3: Vergleich der Spektren der Sonne auf der Erdoberfläche auf Meereshöhe und des Spektrums eines wIRA-Strahlers. Die beiden jeweiligen Spektren zeigen verminderte Bestrahlungsintensitäten im Bereich der Wasserabsorptionsbanden ([https://www.egms.de/static/de/journals/dgkh/2009-4/dgkh000137.shtml\\_408230786.shtml](https://www.egms.de/static/de/journals/dgkh/2009-4/dgkh000137.shtml_408230786.shtml), letzter Aufruf 01.03.2021)

Medizinisches Licht- und Infrarot-A-Bestrahlungsgerät wird bereits bei Kindern und Erwachsenen in unterschiedlichen Bereichen angewendet. Wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung (wIRA) scheint hierbei Vorteile gegenüber normalem Licht zu bieten. Die gesamte Strahlung eines Halogen-Strahlers tritt hierbei durch eine Küvette hindurch. Die Küvette enthält Wasser und filtert einen Großteil der Infrarot-B- und -C-Strahlen sowie innerhalb der Infrarot-A-Spektrums die hautbelastenden Wellenlängen von 940 nm, 1180 nm und 1380 nm. Die oben genannten unerwünschten sog. Wasserabsorptionsbanden innerhalb des Infrarots werden somit gemindert oder herausgefiltert [Hoffmann 2009, Hoffmann, 2007, Hoffmann, 1994]. Die entstehende wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung ist vergleichbar mit der subjektiv angenehmen Strahlung der Sonne in gemäßigten Breitengraden [Hoffmann, 2007], zugleich erreicht sie eine tiefe Penetration ins Gewebe bei geringer thermischer Belastung der Hautoberfläche [Hoffmann, 2009, Hoffmann 2007, Fuchs et al., 2004].

## Einleitung und Fragestellung

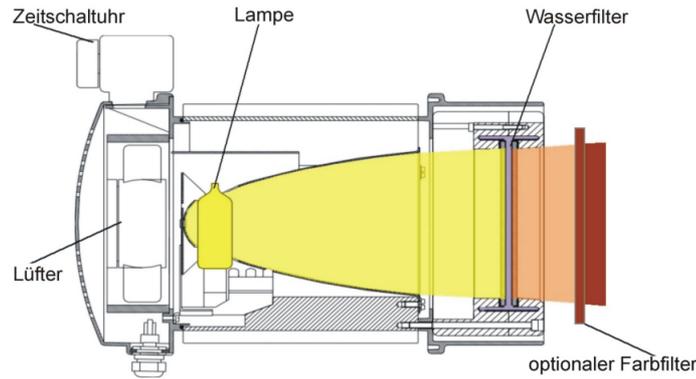


Abbildung 4: Querschnitt eines wassergefilterten Infrarot-A-Strahlers. Die ungefilterte Strahlung einer 3000-Kelvin-Halogen-Lampe tritt durch eine Küvette. Diese Küvette enthält Wasser, das die unerwünschten Wellenlängen innerhalb des Infrarots mindert oder herausfiltert (die meisten Teile des Infrarot B und C und die Wasserabsorptionsbanden innerhalb des Infrarot A). ([https://www.egms.de/static/de/journals/dgkh/2009-4/dgkh000137.shtml\\_408229825.shtml](https://www.egms.de/static/de/journals/dgkh/2009-4/dgkh000137.shtml_408229825.shtml), letzter Aufruf 01.03.2021).

wIRA findet in der Medizin bereits Anwendung in unterschiedlichen Bereichen und Disziplinen. Aus den bisherigen Kenntnissen zur Anwendung und Wirkmechanismen von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung lassen sich folgende Hypothesen in Bezug auf die Wundheilung am Tiermodell der Ratte ableiten:

- I. Eine verbesserte Geweberegeneration in Form einer signifikant beschleunigten Wundheilung kann durch eine Bestrahlung mittels wassergefiltertem Infrarot-A erreicht werden.
- II. wIRA kann als alternatives Heilverfahren im Rahmen der konservativen Therapie von Verbrühungswunden hinzugezogen werden.

Diese Hypothesen sollten im Rahmen dieser Arbeit geprüft werden.

Die Wundheilung wird an standardisierten Verbrühungswunden untersucht. Postinterventionell erfolgt eine histomorphologische Beschreibung der Stadien der Wundheilung.

## 2. Material und Methoden

### **2.1. Tierkollektiv**

Für die Versuche liegt ein positives Votum des Ministeriums für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein vom 30.07.2012, sowie eine Sondergenehmigung vom 10.01.2013 unter dem Aktenzeichen V 312-72241.122-25 (37-3/12) vor. Entsprechende Nachweise sind im Anhang gelistet.

Als Kollektiv für den Tierversuch wurden 30 weibliche Wistar-Ratten (Charles River Laboratories, Sulzfeld) in die Studie eingeschlossen. Die Tiere hatten ein Ausgangsgewicht von 200g bis 230g. Die Tierart Ratte wurde für den Versuch ausgewählt, da die notwendigen operationstechnischen Eingriffe bei keiner phylogenetisch niedrigeren Tierart möglich wären und die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen aufgrund der Ähnlichkeit in Bezug auf relevante physiologische und pathophysiologische Parameter gewährleistet war. Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn zur Akklimatisierung 10 Tage in getrennten Käfigen im Versuchslabor der Gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck (GTH) gehalten. Somit wurde die Stressbelastung auf einem niedrigen Ausgangsniveau gehalten und die Tiere konnten sich artgerecht entfalten.

### **2.2. Aufbau des Tierversuchs**

Die Tiere wurden zunächst unterschiedlichen Gruppen bestehend aus jeweils 15 Tieren zugeordnet.

*Tabelle 3: Gliederung der Untersuchungsgruppen*

	Behandlungsgruppe	Kontrollgruppe
Verbrüfung	x	x
wIRA	x	

## Material und Methoden

### *2.2.1. Behandlungsgruppe*

In dieser Gruppe wurden 15 Ratten durch Wasserdampf in einem 6x4cm großen Areal auf dem Rücken tiefgradig verbrüht (Grad IIb - III). Postoperativ wurden die Tiere mit dem Hydrosun750-Strahler im Operationsfeld bestrahlt und erhielten danach einen antiseptischen Wundverband. Die Bestrahlungsdauer betrug 1 Stunde pro Tag und die Prozedur wurde an den nächsten 10 Tagen täglich wiederholt. Ein Verbandswechsel erfolgte ebenso im täglichen Abstand.

### *2.2.2. Kontrollgruppe:*

Ebenso wurden in dieser Gruppe 15 Ratten mittels Wasserdampf in einem 6x4cm großen Areal auf dem Rücken tiefgradig verbrüht (Grad IIb - III). Im Anschluss erhielten die Tiere einen konventionellen Wundverband. Die Wunden wurden 10 Tage lang täglich inspiziert und neu verbunden.

Um die Hypothesen zu prüfen wurden in 2-tägigem Abstand, beginnend an Tag 2 des post-artifiziellen Traumas, in Allgemeinanästhesie Stanzbiopsien der Wundränder beider Gruppen entnommen. Diese wurden histomorphologisch untersucht und miteinander verglichen.

Während der Dauer des Experiments wurden die Tiere mit Wasser und Analgetika ad libitum versorgt.

## **2.3. Anästhesie und Operationsvorbereitung**

Zur Narkoseeinleitung wurden die Tiere in einer verschlossenen Kammer mit hochdosiertem Kohlendioxid sediert. Zur weiteren Narkose wurden Xylazin (Rompun, 10 mg/kg Körpergewicht i.p.) und Ketamin (Ketanest, 80mg/kg Körpergewicht i.p.) eingesetzt und die Tiere wurden fixiert. In Anästhesie wurde der Rücken der Tiere rasiert und mit 70 %-igem Alkohol desinfiziert.

## 2.4. Verbrühungswunden



*Abbildung 5: Verbrühungswunde Ratte*

Ein 6x4cm messendes Areal zentral auf dem Rücken der Tiere wurde mit einem Trichter abgegrenzt. Anschließend wurde Wasserdampf in den Trichter geleitet, so dass eine tiefgradige Verbrühung (Grad IIb- III) entstand. Die thermische Einwirkzeit betrug 1 Minute bei einer Temperatur von 100°C. Die Operationsdauer umfasste insgesamt 10 Minuten.



*Abbildung 6: tiefgradige Verbrühung auf dem Rücken einer Ratte*

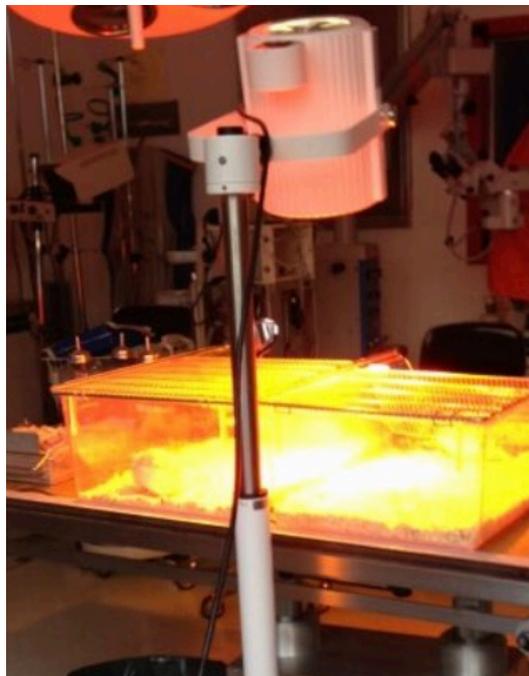
## Material und Methoden

Daraufhin wurde in Allgemeinnarkose ein antiseptischer Wundverband mittels Fettgaze und Polyhexanid angelegt.

### **2.5. wIRA Hydrosun750-Strahler**

Die Tiere der Behandlungsgruppe wurden mit dem Hydrosun-750-Strahler im Operationsfeld bestrahlt, welcher wassergefiltertes Infrarot-A-Licht aussendet. Die Bestrahlungsdauer betrug 1 Stunde täglich und begann am Operationstag. Durch eine Zeitschaltuhr konnte das Bestrahlungsintervall festgelegt werden. Die Tiere wurden in einem nach oben geöffnetem Käfig isoliert und die Bestrahlung erfolgte paarweise. Während der Bestrahlung war der Wundverband entfernt. Der Strahler wurde in einer Entfernung von 60 cm zum Tier angebracht und die Bestrahlungsrichtung orientierte sich senkrecht zur bestrahlten Haut. Nach der Behandlung wurde ein neuer antiseptischer Verband angelegt.

Für alle Tiere wurde das gleiche Gerät verwendet. Die Tiere wurden kontinuierlich beobachtet und alle 2 Tage gewogen.



*Abbildung 7: Bestrahlung der Ratten paarweise mittels wIRA Hydrosun-750-Strahler*

## 2.6. Gewebeproben

Insgesamt wurden von allen 30 Tieren jeweils 5 Biopsien in Allgemeinanästhesie gewonnen (Tag 2, 4, 6, 8, 10 postoperativ). Die Biopsien aus den Verbrennungswunden wurden folgend als V1 (= 2. postoperativer Tag nach Verbrennung) bis V5 (= 5. Biopsieentnahme nach Verbrennung = 10. postoperativer Tag) bezeichnet. Nach jeder Biopsieentnahme erfolgte der Verschluss der Entnahmestelle mit einer Einzelknopfnahmt, sowie ein weiterer Verbandswechsel. Die Stanzbiopsien wurden versetzt mit einem Mindestabstand von 1cm vorgenommen, sodass eine uneingeschränkte Wundheilung nach der jeweiligen Biopsie anzunehmen ist.

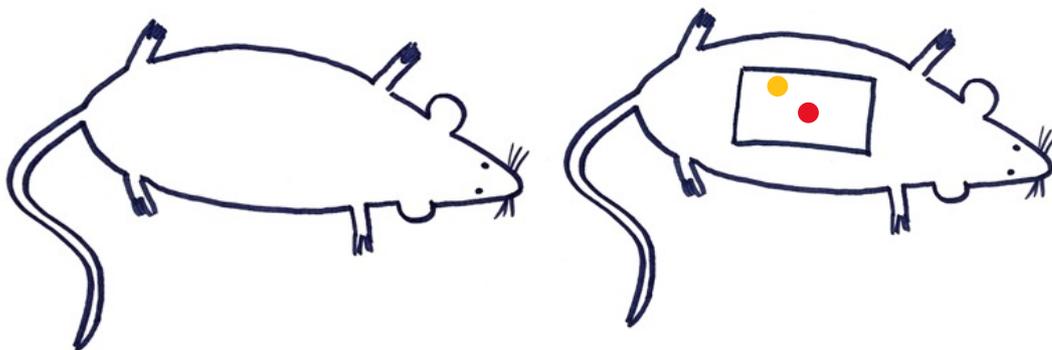


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Ratte vor und nach  Verbrennung und möglicher Biopsieentnahme: zentral  /randständig 

Nach der 5. Stanzbiopsie wurde eine Vertiefung der Anästhesie des Tieres bis zur Euthanasie durchgeführt.

Die Biopsien wurden zunächst zur Stabilisierung des Gewebes in 4% neutral gepufferter Formaldehydlösung fixiert. Anschließend erfolgten die Entwässerung und Imprägnierung des Gewebes mit flüssigem Paraffin. Im nächsten Schritt fand das Einblocken des Gewebes in Paraffin statt. Diese Schritte übernahm freundlicherweise das Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein unter der Aufsicht von Herrn Prof. Dr. Feller.

Die fixierten und eingebetteten Gewebeproben konnten im Anschluss in 2 immunpathologischen und 3 histochemischen Verfahren angefärbt werden. Zu den ange-

## Material und Methoden

wandten histochemischen Färbemethoden gehörten die Hämatoxylin-Eosin-Färbung, die PAS-Färbung und die Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner (Eisenhämatoxylin/Säurefuchsin/Orange G/Lichtgrün). Diese Färbetechniken sollten eine möglichst differenzierte Darstellung von Bindegewebe und seinen Komponenten, sowie des Epithelgewebes ermöglichen. Zur immunhistologischen Präzisierung unterschiedlicher Strukturen wählten wir die Markierung mit CK5/6. Hierbei unterstützte uns freundlicherweise die Praxis für Pathologie von Herrn Dr. Bauer in Bad Oldesloe. Im Anschluss erfolgte die gemeinsame morphologische Auswertung der erhobenen Befunde am Lichtmikroskop.

### **2.7. Überwachung**

Alle eingeschlossen Tiere wurden mehrmals täglich inspiziert und während der 10 Tage Versuchsdauer überwacht. Die Wunden wurden versorgt und die Tiere alle 2 Tage gewogen. Bei Auftreten von Komplikationen sollte in Rücksprache mit dem zuständigen Veterinärmediziner das Tier vom Versuch ausgeschlossen werden. Anzeichen für Komplikationsbehaftete Verläufe bei den Wistar-Ratten waren:

- struppiges Fell
- Apathie
- Trinkverweigerung
- Gewichtsverlust von über 10%

### **2.8. Statistische Messmethoden**

Nach Beratung durch das Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck erfolgte die biometrische Planung und im Verlauf die gemeinsame statistische Auswertung des Versuchs zusammen mit Herrn Dr. Marius Keute. Die Fallzahl bzw. Gruppengröße wurde anhand des Fallzahlprogramms (Power and Sample Size Programm) ermittelt. Die Biopsien wurden im zeitlichen Verlauf beschrieben und die Daten tabellarisch erfasst. Hierbei wurden die Biopsate unterschiedlich fortgeschrittenen Stadien der Wundheilung zugeordnet. Die Häufigkeitsverteilung wurde für jeden Zeitpunkt separat mit dem Chi-Quadrat-Test verglichen und die Entwicklung über die Zeit mit der Spearman-Rangkorrelation getestet. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wird als statistisch signifikant angesehen.

### 3. Ergebnisse

Während der histomorphologischen Auswertung und Befundung unserer Studie erschien uns die generelle Einteilung in 3 Stadien der Wundheilung, wie sie im einleitenden Teil beschrieben wurden, nicht mehr als ausreichend, um unsere Ergebnisse richtig zu erfassen. In unserem Studiendesign konnten am Modell der Ratte stattdessen 6 unterschiedliche morphologische Stadien beobachtet werden, auf die im Folgenden gesondert eingegangen werden soll. Während sich die meisten Studien molekulargenetischen und immunologischen Phänomenen widmen, wird in dieser Arbeit eine deskriptive Beschreibung der erhobenen Befunde vorgelegt, und anhand dieser werden die erhobenen Ergebnisse diskutiert.

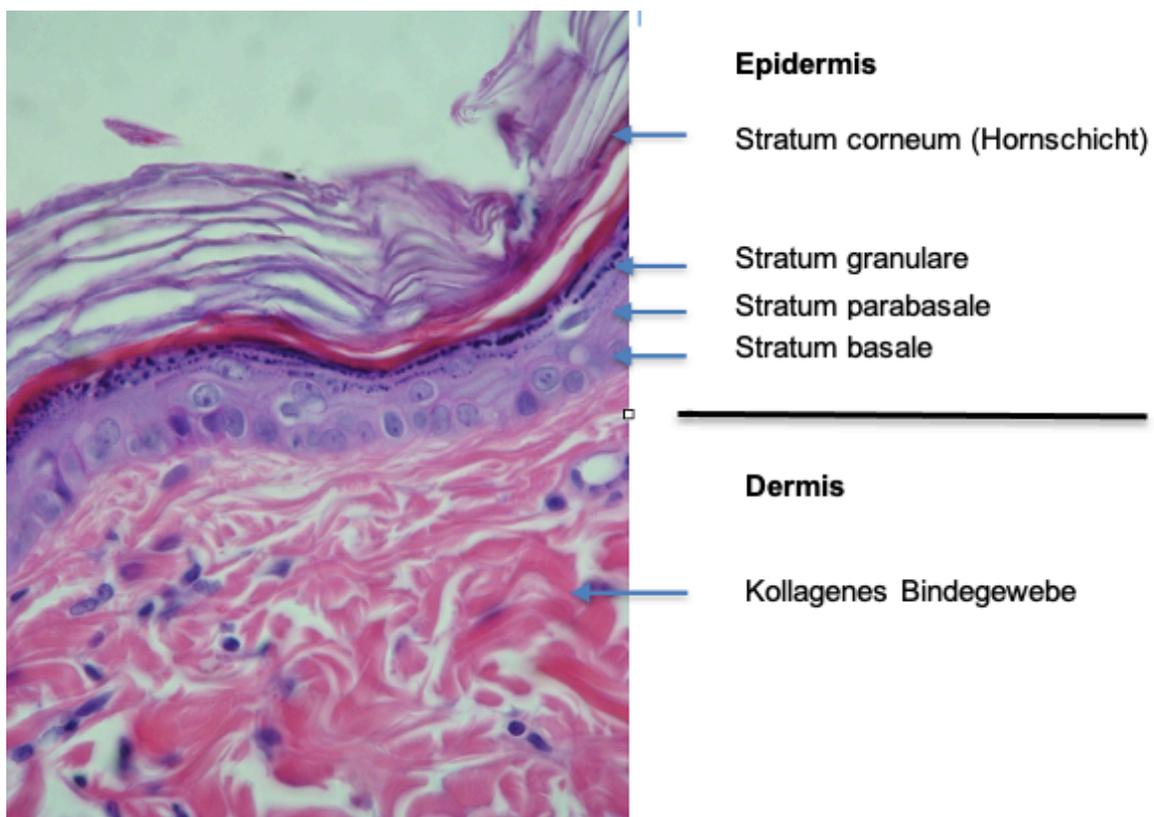


Abbildung 9: Normale Haut vom Rücken einer unbehandelten Ratte

Diese Aufnahme gilt als Vergleichspräparat und wurde vom Rücken der intakten Haut einer Wistar-Ratte entnommen. Zu sehen ist ein Anschnitt der Epidermis bestehend aus einer einreihigen Schicht von kleinen Basalzellen, einer mittleren

## Ergebnisse

Schicht von etwas größeren Parabasalzellen, einer deutlich dunkler gefärbten Granularzellschicht (nur einzelne Kerne abgrenzbar) und der teils kompakten, teils korbgeflechtartigen Hornschicht. Im Unterschied zur menschlichen Epidermis ist eine Stachelzellschicht (Stratum spinosum) nicht erkennbar. Basal präsentiert sich dichtes kollagenes Bindegewebe der Dermis mit einzelnen Kernen mesenchymaler Zellen, die hier nicht genauer zu differenzieren sind.

## Ergebnisse

### 3.1. Einteilung nach histologischen Stadien

#### 3.1.1. Stadium 1: Oberflächliche (epidermale) Nekrose (ON)

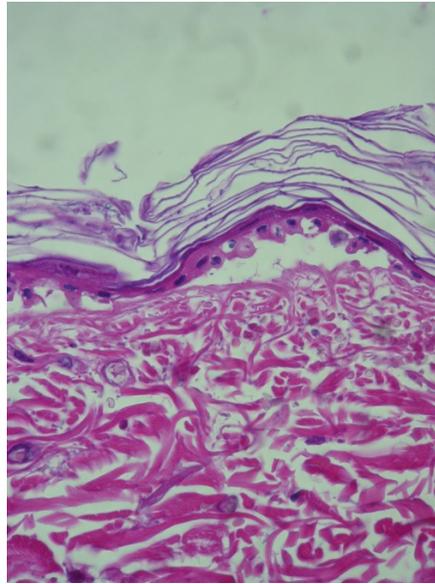


Abbildung 10: Oberflächliche (epidermale) Nekrose, 63x Vergrößerung

Zu sehen ist eine partielle Abhebung der Epidermis von der unterliegenden Dermis (subepidermale Blasenbildung). Der Epithelverband ist aufgelockert. Die Kerne sind geschrumpft und teilweise länglich deformiert. Das Zytoplasma zeigt sich unregelmäßig angefärbt, teils abgeblasst, teils auch vermehrt eosinophil.

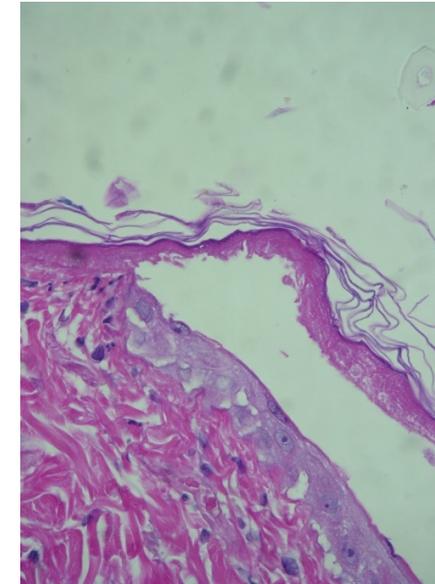
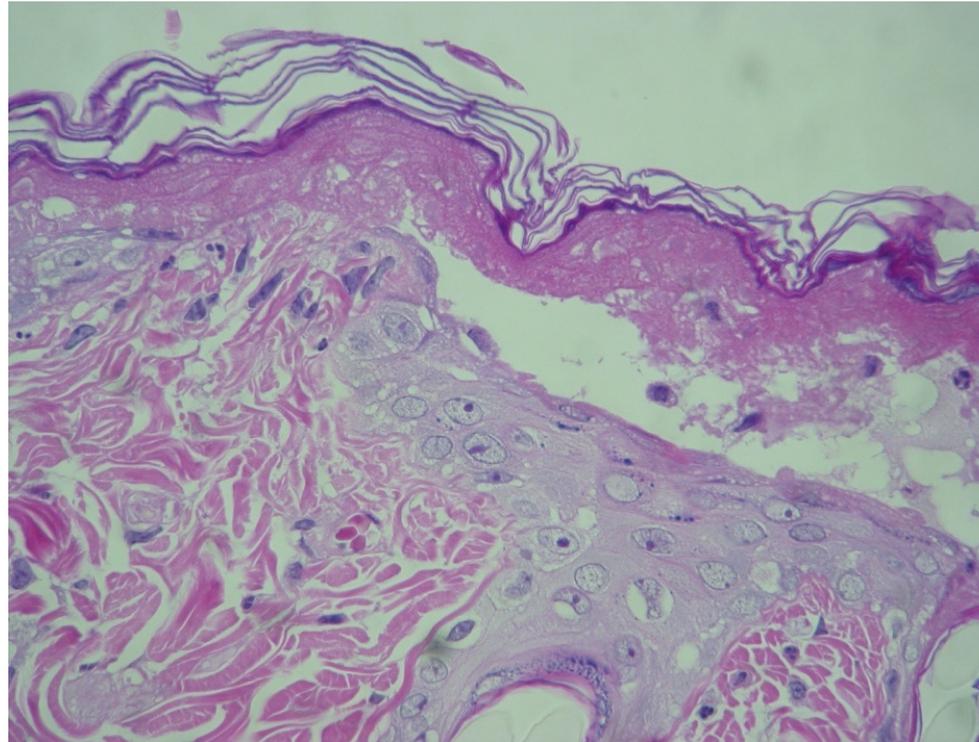


Abbildung 11: Nekrose der Epidermis mit partieller Unterminierung durch eingewandertes unreifes Epithel, 20x Vergrößerung

An der Oberfläche erkennt man in dieser Abbildung die ehemalige, jetzt vollständig nekrotische, stark eosinophil angefärbte Epidermis. Die Zellkerne sind an dieser Stelle praktisch verschwunden. Überwiegend ist die alte Epidermis von der Unterlage abgelöst. Unterhalb der Epidermis und oberhalb des dermalen Bindegewebes ist eine zweireihige Schicht von unreifen Plattenepithelien erkennbar, die von einer Seite her eingewandert sind. Das eingewanderte Epithel besitzt große ovale Zellkerne und prominente Nukleolen.

## Ergebnisse



*Abbildung 12: Nekrose der Dermis mit beginnender Unterminierung durch eingewandertes Epithel, 60x Vergrößerung*

Wiederum an der Oberfläche erscheint die teilweise von der Unterlage abgelöste nekrotische Epidermis. Ausgehend von einem im Zentrum liegenden Haarfollikelostium erkennt man eine beidseitige zungenförmige Auswanderung von unreifem Epithel.

## Ergebnisse

### 3.1.2. Stadium 2: Areaktive Nekrose (AN)

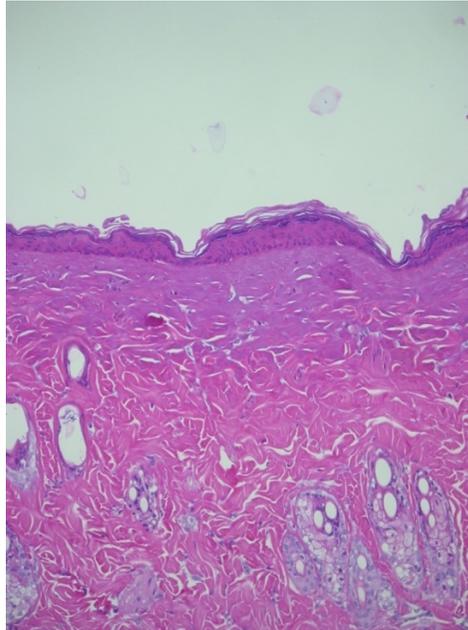


Abbildung 13: Areaktive (tiefe) Nekrose, 20x Vergrößerung

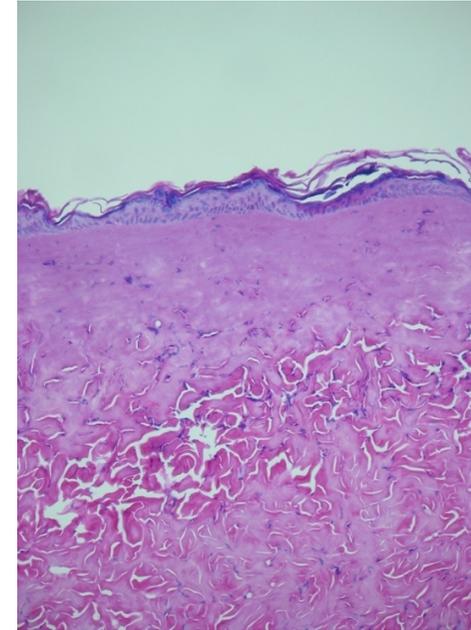


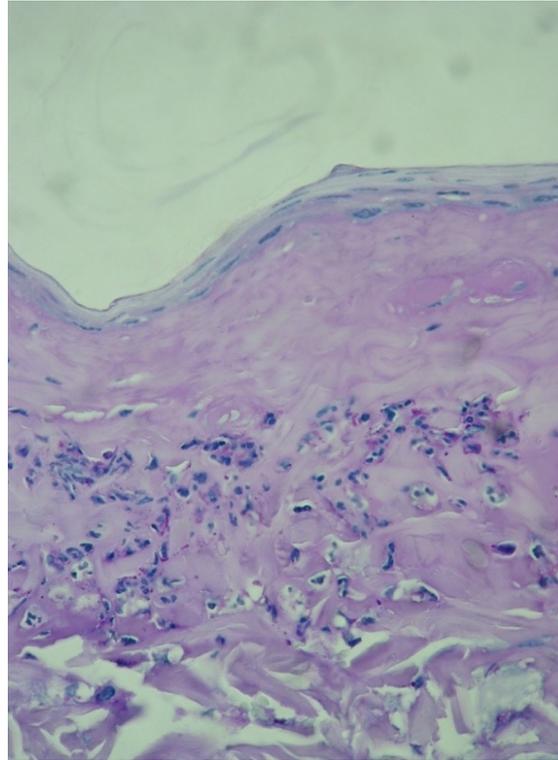
Abbildung 14: Areaktive Nekrose bei der PAS-Reaktion, 20x Vergrößerung

In diesem Schnitt ist eine areaktive (tiefe) Nekrose (AN) dargestellt. An der Oberfläche ist eine koagulationsnekrotische Epidermis zu sehen. Die architektonische Grundstruktur mit ihren Schichten der Haut ist noch erhalten. Das Epithel ist aber insgesamt vermehrt eosinophil. Die Kerne sind geschrumpft und teilweise horizontal, d. h. parallel zur dermo-epidermalen Grenze ausgerichtet. Die Dermis zeigt in den oberen Anteilen eine Homogenisierung und eine vermehrte Basophilie (Blaufärbung).

Das Stadium der areaktiven Nekrose (AN) soll bei der PAS-Reaktion erneut veranschaulicht werden. Am rechten Rand der Abbildung zeigt sich die koagulationsnekrotische Epidermis. Die darunter liegende bandförmige Koagulationsnekrose der Dermis ist bei der PAS-Reaktion durch eine zusätzliche rötliche Komponente noch deutlicher erkennbar.

## Ergebnisse

### 3.1.3. Stadium 3: Granulozytär demarkierte Nekrose (DN)



*Abbildung 15: Tiefe Nekrose mit Demarkierung durch einen Wall von neutrophilen Granulozyten,*

Zu erkennen ist in dieser Übersicht eine tiefe Nekrose mit Demarkierung durch einen Wall von neutrophilen Granulozyten (DN). Beherrschend ist hier eine bandförmige Nekrose, bestehend aus nekrotischer Epidermis und nekrotischem Anteil der Dermis wie bei dem Stadium der areaktiven Nekrose. In diesem Fall zeigen sich jedoch unterhalb der Nekrose massenhaft neutrophile Granulozyten, die bei dieser Vergrößerung nur als dunkelblaue unregelmäßige, kleine Strukturen zu erkennen sind.

## Ergebnisse

### 3.1.4. Stadium 4: Partielle Epithelialisierung (PE)

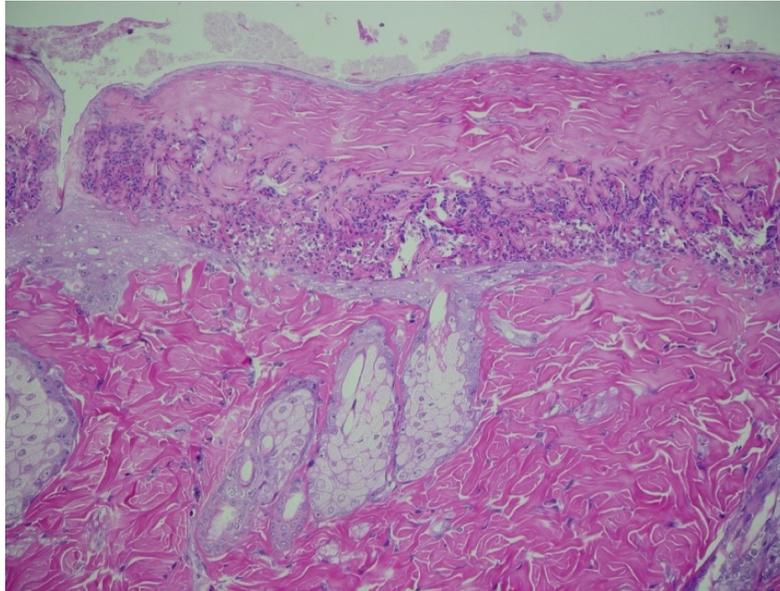


Abbildung 16: Partielle Epithelialisierung, 63x Vergrößerung

Auffällig ist eine schmale Schicht von unreifem Plattenepithel unterhalb der jetzt demarkierten Nekrose, das offensichtlich aus dem Bereich eines zentralen erkennbaren Haarfollikels eingewandert ist. Im rechten Bildrand ist wiederum noch kein Epithel erkennbar, daher ist die Reepithelialisierung noch nicht abgeschlossen.

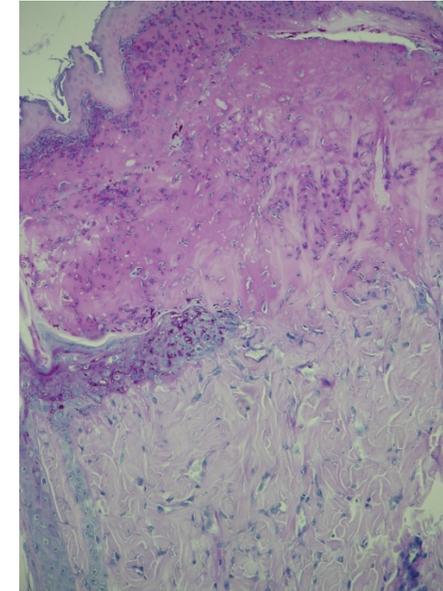


Abbildung 17: Partielle Epithelialisierung, PAS-Reaktion, 63x Vergrößerung

Auch hier ist eine partielle Epithelialisierung abgebildet, diesmal in PAS-Reaktion. Apikal zeigt sich eine breite Nekrose, basal vitales Gewebe. Linksseitig sieht man eine schmale Epithelschicht, die genau an der Grenze von nekrotischem und vitalem Gewebe von einem Haarfollikel aus einwächst. Das einwandernde Epithel weist eine sehr ausgeprägte PAS-positive Glykogeneinlagerung im Zytoplasma auf.

## Ergebnisse

### 3.1.5. Stadium 5: Vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste (VEK)

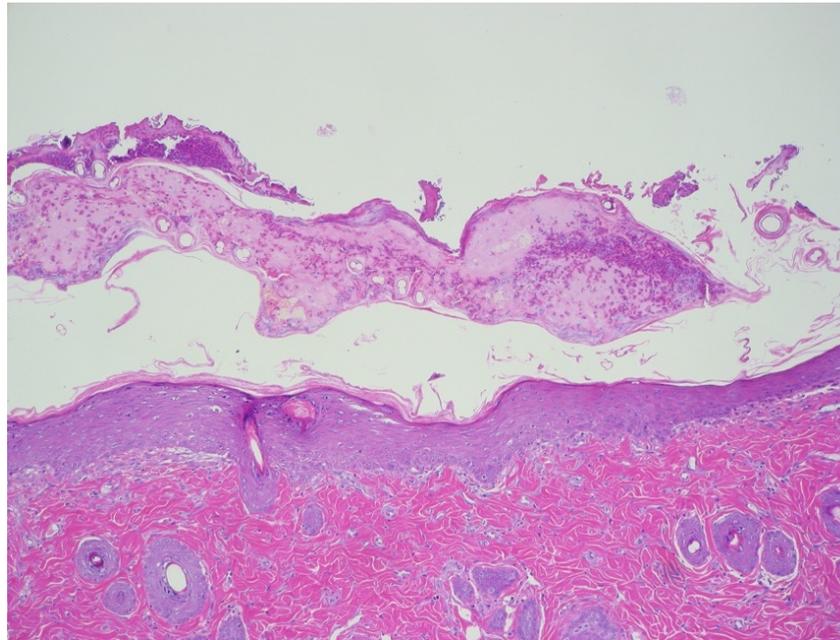


Abbildung 18: Vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste, 20x Vergrößerung

An der Oberfläche abgelichtet ist eine vollständig neu gebildete Epidermis mit Granularzellschicht und Hornschicht. Aufliegend, durch die Präparation leicht abgelöst, ist eine Kruste aus nekrotischem Gewebe erkennbar. Die neue Epidermis ist deutlich breiter als die normale Epidermis der Ratte. Unterhalb der Epidermis ist ein schmales etwas helleres Gewebsband erkenn- bzw. erahnbar, das aus neu gebildeten kapillären Blutgefäßen und uncharakteristischen mesenchymalen Zellen besteht. Bei der nekrotischen Kruste ist die gleiche Schichtung zu beobachten wie im Stadium der demarkierten Nekrose: unten der Granulozytenwall, in der Mitte zellarmes homogenisiertes nekrotisches Bindegewebe und oben die koagulationsnekrotische „alte“ Epidermis.

## Ergebnisse

### 3.1.6. Vollständige Epithelialisierung mit schmaler subepithelialer bandförmiger Granulationsgewebsbildung (VEB)

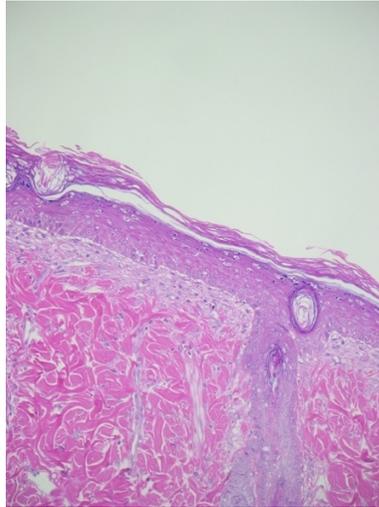


Abbildung 19: Vollständige Epithelialisierung mit schmaler subepithelialer bandförmiger Granulationsgewebsbildung, 63x Vergrößerung

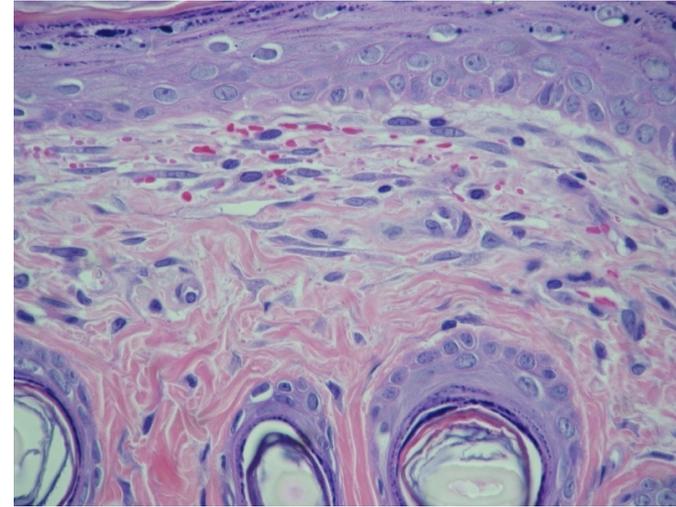


Abbildung 20: Subepitheliales Band mit horizontal ausgerichteten Fibroblasten, 63x Vergrößerung

Erneut ist eine vollständige Epithelialisierung abgebildet, in diesem Fall jedoch mit charakteristischer schmaler, subepithelialer bandförmiger Assimilation von Granulationsgewebe (VEB). An der Oberfläche kommt ausgereiftes Plattenepithel der Epidermis mit artifiziell abgehobener Hornschicht zutage. Die nekrotische Kruste ist verschwunden. Die Epidermis ist nach wie vor breiter als die von intakter Haut. Unterhalb der Epidermis ist eine helle bandförmige Struktur nachweisbar, die aus kapillären Blutgefäßen, fibroblastischen Zellen und kollagenen Fasern besteht. Das Band hebt sich deutlich von dem sehr dichten kollagenen Bindegewebe der schon zuvor vorhandenen Dermis ab.

Bei starker Vergrößerung zeigt das subepitheliale Band zunehmend fibroblastisch differenzierte Zellen mit spindelförmigen horizontal ausgerichteten Kernen. Dazwischen sind schmale Gefäßlumina zu sehen, die Erythrozyten enthalten.

### **3.2. Einordnung der untersuchten Biopsate**

An unserem Tiermodell zeigte sich eine chronologische Abfolge von Abschnitten der Wundheilung, die sich in charakteristische Stadien einteilen lassen. Ein Großteil der Biopsate konnte einem der zuvor definierten Stadium zugeordnet werden. Anhand dessen ließ sich numerisch auflisten, in welcher Zeit welches Tier einen Teil der Wundheilung durchlaufen hatte. Aufgrund der zuvor postulierten Ausschlusskriterien mussten wir im Verlauf der Studie 3 Tiere aus der Kontrollgruppe und 2 Tiere aus der Behandlungsgruppe euthanisieren. Die entsprechenden Biopsate wurden von der Auswertung exkludiert.

#### *3.2.1. Kontrollgruppe*

##### *3.2.1.1. V1 = 2. Tag postartifizielles Trauma*

Die nach 2 Tagen entnommenen Biopsien zeigten unterschiedlich ausgeprägte mikroskopische Gewebeveränderungen.

#### 1. Oberflächliche Nekrose (ON):

Bei 8 Fällen waren oberflächliche nur die Epidermis betreffende Nekrosen nachweisbar. Dabei zeigten sich von Fall zu Fall aber teilweise auch innerhalb eines einzigen Präparates leicht variierendes Schädigungsmuster. Streckenweise war die gesamte Epidermis in eine homogen eosinophile Gewebsschicht umgewandelt. Innerhalb dieser Schicht waren praktisch keine zellulären Strukturen mehr abgrenzbar, insbesondere waren hier auch die Zellkerne nicht mehr angefärbt (Abb. 11). An anderen Stellen wiederum waren innerhalb des nekrotischen Epithels noch Zellen und Zellkerne abgrenzbar. Die Kerne waren hier aber geschrumpft und die Kernkontur erschien unregelmäßig. Das Zytoplasma zeigte teils perinukleäre Aufhellungen sowie teils auch koagulierte Areale mit vermehrter Eosinophilie. Des Weiteren war der Epithelverband deutlich aufgelockert (Abb. 18). Vielfach war die nekrotische Epidermis auch zumindest abschnittsweise von der unterliegenden Dermis abgehoben.

Bei 5 der 8 Fälle zeigte sich zusätzlich zur epidermalen Nekrose bereits eine mehr oder weniger fortgeschrittene Regeneration bzw. Epithelmigration. Bei diesen Fällen war an der Oberfläche der vitalen Dermis eine neue Schicht von 2 bis 3 Reihen unreifen Plattenepithels nachweisbar, wobei oberhalb dieser Schicht vielfach noch die alte nekrotische und partiell abgelöste Epidermis erkennbar war. Mehrfach war

## Ergebnisse

deutlich zu sehen, dass das unreife Epithel sich ausgehend von erhaltenen Haarfollikeln unterhalb der nekrotischen Epidermis ausbreitete (Abb. 11 und 12). Das eingewanderte unreife Epithel ließ im Vergleich zu normalen Basalzellen der Epidermis (Abb. 9) große Kerne und deutliche Nukleolen erkennen. Bei der PAS-Reaktion zeigten diese Zellen intrazytoplasmatisch zum Teil ausgeprägte perinukleäre Glykogeneinlagerungen (vgl. Abb.17).

### 2. Areaktive (tiefe) Nekrose (AN).

Bei 2 der nach 2 Tagen entnommenen Biopsien konnte eine bereits tiefere Koagulationsnekrose sowohl der Epidermis als auch eines Teils des dermalen Bindegewebes festgestellt werden. Die Nekrose der Epidermis präsentierte hier ein anderes Bild als bei der oberflächlichen Nekrose (s.o.). Die grobe Schichtung der Epidermis – unten Basalzellen/Parabasalzellen, in der Mitte Granularzellschicht, oben Hornschicht – war hier noch erhalten. Die gesamte Epidermis war aber verschmälert und vermehrt eosinophil. Der Zellverband war nicht aufgelöst, sondern im Gegenteil besonders dicht und kompakt. Die Zellkerne waren geschrumpft und häufig länglich deformiert und horizontal ausgerichtet. Unterhalb der nekrotischen Epidermis befand sich jeweils ein gleichmäßig breites Band von dichtem abnorm homogen erscheinenden kollagenen Gewebe der partiell nekrotischen Dermis mit einer deutlich vermehrten Basophilie (Blaufärbung bei H.E.). Bei der PAS-Reaktion hob sich diese Zone zusätzlich durch eine leichte, ganz verwaschene rosafarbene Positivität ab. Vitale Zellen waren in diesem Bereich kaum nachweisbar (Abb 13 und 14). Neutrophile Granulozyten waren entweder nicht nachweisbar oder nur ganz vereinzelt und diffus verteilt.

### 3. Granulozytär demarkierte Nekrose (DN).

Bei einem der nach 2 Tagen entnommenen Präparate ließ sich bereits ein weiter fortgeschritteneres Stadium der Gewebsschädigung bzw. der beginnenden Wundheilung erkennen. Oberflächlich entsprach der Befund weitgehend dem der areaktiven Nekrose. Zusätzlich war aber unterhalb des nekrotischen Bereichs bereits eine starke Infiltration durch neutrophile Granulozyten nachweisbar. Typischerweise zeigte sich dabei zwischen den vitalen Anteilen der Dermis und der Nekrose ein

## Ergebnisse

breiter Wall von neutrophilen Granulozyten. Teilweise ersteckte sich die granulozytäre Infiltration auch diffuser in das nekrotische dermale Bindegewebe hinein. Bei der PAS-Reaktion war das nekrotische Areal noch deutlicher positiv als bei der noch areaktiven Nekrose (Abb. 15).

In der Nachbarschaft dieser Veränderung ähnelte der Befund hier teilweise noch dem einer areaktiven Nekrose und teilweise auch noch dem einer nur oberflächlichen epidermalen Nekrose.

### 4. Partielle Epithelialisierung (PE)

Bei einem der nach 2 Tagen entnommenen Präparate zeigte sich sogar ein noch weiter fortgeschrittenes Stadium der Wundheilung. Dieses Stadium war dadurch charakterisiert, dass zwischen den vitalen Anteilen der Dermis in der Tiefe und der granulozytär demarkierten Nekrose eine Schicht von eingewandertem unreifem Epithel erkennbar war. Der Befund war ähnlich wie bei der oberflächlichen durch eingewandertes Epithel unterminierten Nekrose. Im Unterschied dazu spielte sich der Vorgang hier aber nicht auf der Ebene der ehemaligen dermo-epidermalen Grenze ab, sondern deutlich darunter, nämlich etwa in Höhe der Mitte der ursprünglichen Dermis. Teilweise schien das eingewanderte Epithel vom Epithel der Epidermis am Rand der Wunde zu stammen. Wie bei der oberflächlichen Nekrose war jedoch auch hier immer wieder deutlich zu erkennen, dass die Epithelmigration von den innerhalb des Wundgebietes liegenden Haarfollikeln ausging. Ausdruck dessen war eine häufig zu sehende inselartige Epithelialisierung in der unmittelbaren Umgebung der Haarfollikel, während die zentral zwischen den Haarfollikeln gelegenen Wundanteile noch epithelfrei waren.

Das eingewanderte Epithel bestand dabei zunächst lediglich aus 2 bis 3 Schichten von eher unreifen bzw. wenig differenzierten Epithelien. Wie bei der Reepithelialisierung der oberflächlichen Nekrosen war auch das unreife eingewanderte Epithel unterhalb der tiefen Nekrosen durch zum Teil sehr starke und grobe perinukleäre Glykogeneinlagerungen charakterisiert, wie die PAS-Reaktion bewies (Abb 16 und 17).

## Ergebnisse

### 3.2.1.2. V2 = 4. Tag postartifizielles Trauma

In den nach 4 Tagen entnommenen Biopsien zeigten sich ebenfalls unterschiedliche Gewebsveränderungen. Bei einem Fall lag das bereits oben beschriebene Bild einer tiefen areaktiven Nekrose (AN) vor. Insgesamt 5 Fälle zeigten zu diesem Zeitpunkt den Befund einer granulozytär demarkierten Nekrose (DN). Bei 5 weiteren Fällen fand sich der Befund einer demarkierten Nekrose mit partieller Epithelialisierung (PE). In einem Fall trat dann ein noch weiter fortgeschrittenes Stadium der Wundheilung in Erscheinung:

### 5. Vollständige Epithelialisierung mit Ausreifung und aufgelagerter Kruste (VEK)

Der gesamte Querschnitt der Biopsie war hier von einer neu gebildeten Epidermis bedeckt, die bereits wieder eine weitgehend normale Ausreifung zeigte, so dass sowohl eine Granularzellschicht als auch eine Hornschicht abgrenzbar waren. Aufgelagert auf das neu gebildete ausgereifte Epithel fand sich eine breite eosinophile Kruste, die man bei schwacher Vergrößerung mit einer (zusätzlichen) Hornschicht hätte verwechseln könnte. Bei stärkerer Vergrößerung war aber deutlich, dass es sich hier um die nach wie vor vorhandene und vom neuen Epithel praktisch nach oben bzw. außen verschobene Nekrose handelte. Auch innerhalb dieser Kruste war noch eine 3-Schichtung aus basalem Granulozytenwall, nekrotischem Anteil der Dermis und nekrotischer (alter) Epidermis zu erkennen. Unterhalb der neu gebildeten Epidermis war mehr oder weniger deutlich eine schmale bandförmige Zone zu beobachten, die aus neu gebildeten Kapillaren und wenigen uncharakteristischen mesenchymalen Zellen Kernen bestand (Abb. 18).

### 3.2.1.3. V3 = 6. Tag postartifizielles Trauma

Bei den nach 6 Tagen entnommenen Biopsien zeigten 2 Präparate den Befund einer granulozytär demarkierten Nekrose (DN). 8 Präparate zeigten hier eine partielle Epithelialisierung der Nekrose (PE), wobei bereits mehr als 50% der Nekrose epithelial unterminiert waren. Ein Fall förderte eine vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste (VEK) zutage und 1 Präparat war bei tangentialer Einbettung der Probe nicht auswertbar.

## Ergebnisse

### *3.2.1.4. V4 = 8. Tag postartifizielles Trauma*

Nach 8 Tagen zeigte jeweils 1 Probe das Bild einer demarkierten Nekrose ohne Epithelialisierung (DN) und eine Probe eine partielle Epithelialisierung (PE). Bei 8 Fällen fand sich eine vollständige Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste (VEK). 1 Präparat war in dieser Gruppe nicht auswertbar. Bei einem Fall war der Prozess der Wundheilung noch weiter fortgeschritten:

### 6. Vollständige Epithelialisierung ohne Kruste mit subepitheliale fibröses Band (VEB)

In diesem Präparat war die Ausreifung der neuen Epidermis noch weiter fortgeschritten als in den anderen Proben. Eine aufgelagerte Kruste aus nekrotischem Gewebe war nicht mehr vorhanden. Ein weiterer Unterschied zu dem voran gegangenen Stadium war eine überall deutlich abgrenzbare bandförmige subepitheliale Bindegewebsschicht. Diese bestand teilweise aus Kapillaren, die mit Erythrozyten gefüllt waren sowie aus jetzt bereits deutlich erkennbaren neu gebildeten Kollagenfasern (PAS-Reaktion und Trichromfärbung). Darüber hinaus waren zahlreiche fibroblasten-artige Zellen mit länglichen bzw. spindelförmigen Zellkernen zu sehen, die bei zunehmender Dichte dieser Struktur typischerweise horizontal ausgerichtet waren. Obwohl bereits eine Kollagenisierung sichtbar war, war das neu gebildete Band deutlich lockerer und schwächer angefärbt als das dichte kollagene Gewebe der alten unterliegenden Dermis (Abb 19 und 20).

### *3.2.1.5. V5 = 10. Tag postartifizielles Trauma*

In der letzten Gruppe von Präparaten, die nach 10 Tagen entnommen worden waren, zeigte ein Präparat noch immer eine demarkierte Nekrose ohne Epithelialisierung (DN). Bei einem weiteren Präparat war eine partielle Epithelialisierung der Nekrosezone (PE) festzustellen. 3 Präparate entsprachen dem Bild einer vollständigen Epithelialisierung mit aufgelagerter Kruste (VEK). 5 Präparate zeigten das noch fortgeschrittenere Stadium der vollständigen Epithelialisierung mit subepitheliale Bindegewebsband (VEB). 3 Präparate waren nicht auswertbar.

## Ergebnisse

### 3.2.2. Behandlungsgruppe

In dieser Gruppe war ein größerer Anteil der Biopsien nicht auswertbar, am 6.Tag nach artifiziellem Trauma ließen sich fast 50 % der Biopsien nicht valide auswerten. Dies lag einerseits daran, dass das Gewebe vor der histologischen Bearbeitung nicht immer senkrecht zur Oberfläche eingebettet worden war und dadurch bei der histologischen Untersuchung nicht oder nur sehr eingeschränkt beurteilt werden konnte. Grundsätzlich unterschieden sich die histologischen Befunde nicht von denen der Kontrollgruppe.

### 3.3. Statistische Auswertung

Tabelle 4: Numerische Auflistung Biopsieergebnisse

	Kontrollgruppe	Behandlungsgruppe
<b><u>V1:</u></b>		
ON	7	1
AN	2	5
DN	1	3
PE	1	4
NA	1	0
<b><u>V2:</u></b>		
ON	0	0
AN	1	0
DN	5	1
PE	5	7
VEK	1	2
NA	0	3
<b><u>V3:</u></b>		
DN	2	0
PE	8	1
VEK	1	5
VEB	0	1
NA	1	6

## Ergebnisse

### V4:

DN	1	0
PE	1	1
VEK	8	4
VEB	1	3
NA	1	5

### V5:

PE	1	0
VEK	3	0
VEB	5	8
NA	3	5

Die Verteilung der Tiere über die histologischen Kategorien ist in der Abbildung 21 dargestellt. Insbesondere in der Behandlungsgruppe fällt dabei ein hoher Anteil nicht auswertbarer Daten auf.

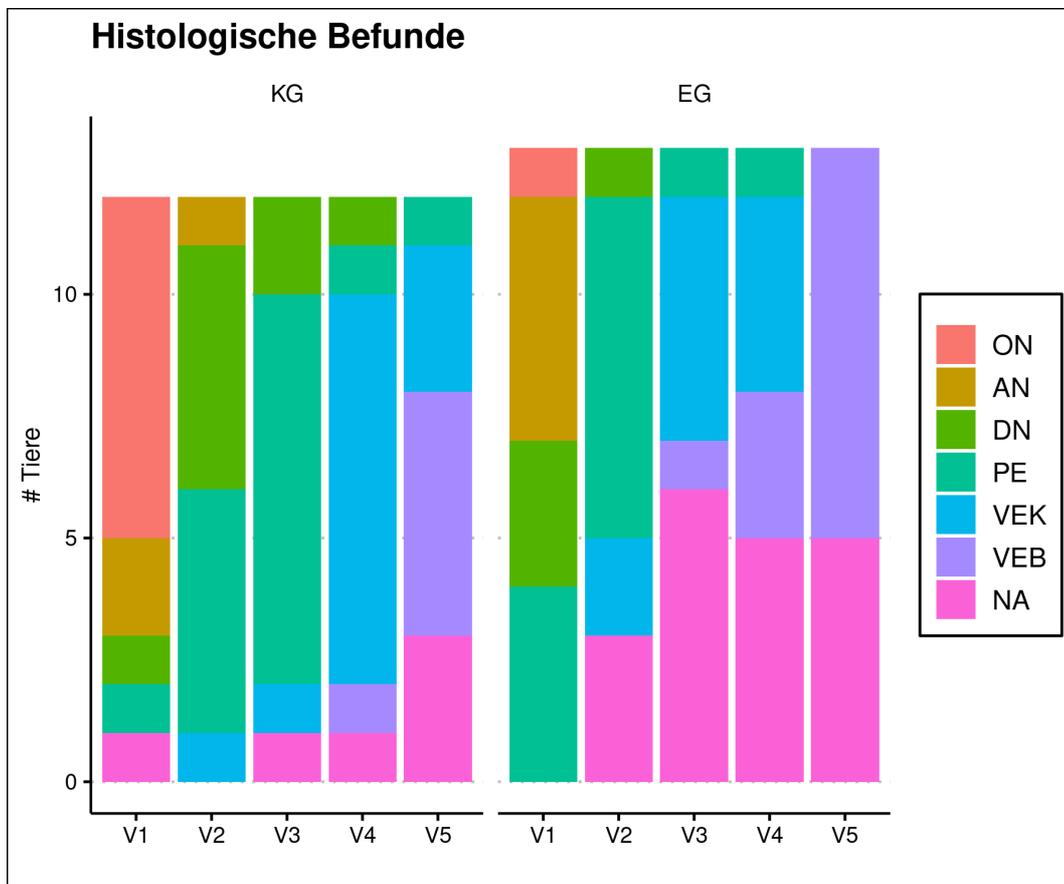


Abbildung 21: Anzahl Tiere pro diagnostische Kategorie für jeden Zeitpunkt

## Ergebnisse

Durch numerische Rekodierung der histologischen Kategorien (ON: 1, AN: 2, DN: 3, PE: 4, VEK: 5, VEB: 6) kann mittels Spearman-Rangkorrelation gezeigt werden, dass die Tiere über die Zeit (V1 bis V5) signifikant weniger pathologische Kategorien zeigten, was in beiden Gruppen vergleichbar stark ist (Experimentalgruppe:  $\rho = ,72$ ,  $p < ,001$ ; Kontrollgruppe:  $\rho = ,81$ ,  $p < ,001$ , siehe Abb. 22).

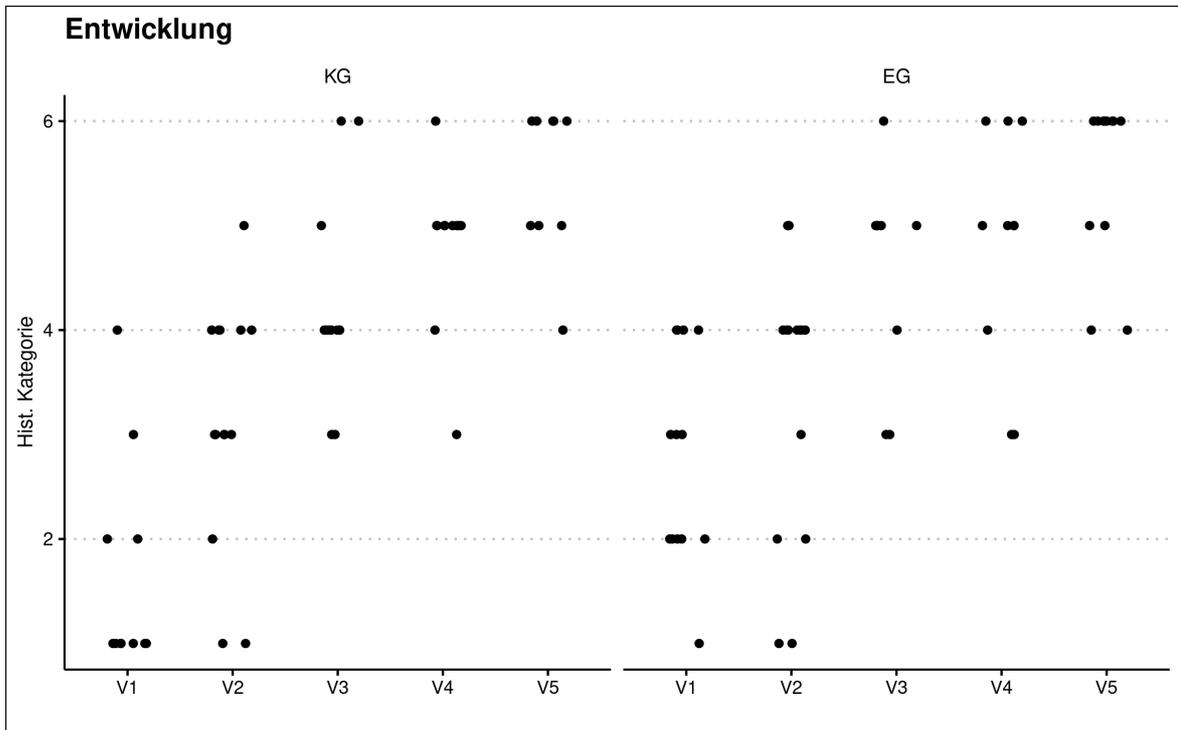


Abbildung 22: Numerisch rekodierte Einzelwerte der Tiere (zur besseren Sichtbarkeit mit horizontalem Rauschen unterlegt). Nicht auswertbare Werte wurden entfernt.

Die Verteilung der Kategorien in beiden Gruppen wurde, für jeden Zeitpunkt separat, mit  $\chi^2$ -Tests verglichen. Die Gruppen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant, siehe Tabelle 5.

Tabelle 5: Vergleich der Gruppen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten

Zeitpunkt	$\chi^2$ (df = 4)	p
V1	5,0	,377
V2	4,7	,323
V3	3,3	,504
V4	5,0	,288
V5	6,0	,199

#### 4.Diskussion

In dieser Forschungsarbeit wurde anhand eines Tiermodells gezeigt, dass sich der chronologische Ablauf der Wundheilung in charakteristische Stadien einteilen lässt. Dafür wurden sechs histologisch unterschiedliche Kategorien beschrieben. Unabhängig von der Behandlung mit wIRA wurden in beiden Gruppen über die Zeit signifikant weniger pathologische Kategorien nachgewiesen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten sich nicht. Zur Überprüfung standen zwei Hypothesen:

- I. Eine verbesserte Geweberegeneration in Form einer signifikant beschleunigten Wundheilung kann durch eine Bestrahlung mittels wassergefiltertem Infrarot-A erreicht werden.
- II. wIRA kann als alternatives Heilverfahren im Rahmen der konservativen Therapie von Verbrühungswunden hinzugezogen werden.

Nach der Akutbehandlung von Verbrennungswunden kommt eine Reihe von weiteren Behandlungsstrategien und Substraten zum Einsatz, die die Langzeitfolgen für den Patienten so gering wie möglich halten sollen. Die primäre Einschätzung der Verbrennungstiefe und die entsprechende Wahl des Wundmanagements sind tägliche Herausforderungen in der Chirurgie der Brandverletzungen. Gerade die klinische Unterscheidung zwischen oberflächlichen zweitgradigen und tiefen zweitgradigen Verbrennungen ist für den Untersucher zum Teil schwierig, da sich die Tiefe durch sogenanntes Nachbrennen im zeitlichen Verlauf verändern kann [Atiyeh et al., 2005].

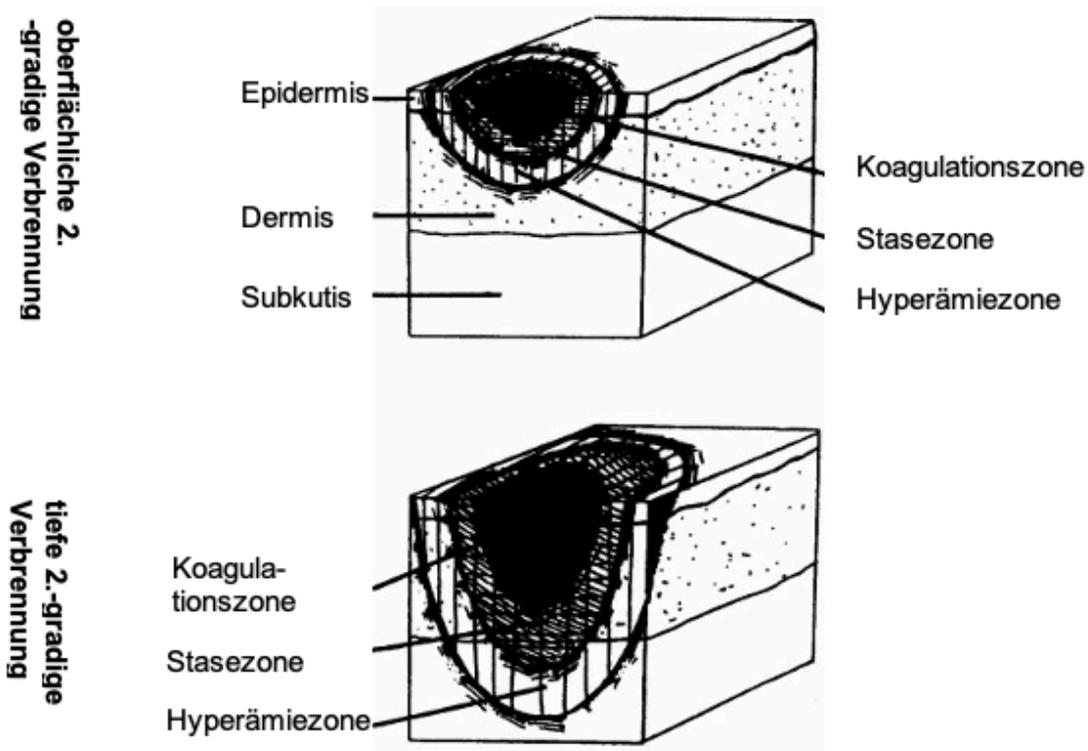


Abbildung 23: Zonen der Schädigung nach oberflächlichen und tiefen 2.-gradigen Verbrennungen nach [Church et al., 2006]

In der Verbrennungswunde zeigen sich wie in Abb. 23 schematisch dargestellt verschiedene Zonen der Schädigung. Die Einteilung erfolgt nach Jackson, der im Jahr 1953 die durch Verbrennung entstehende Hautläsion in ihren Charakteristiken beschrieb. Im Bereich der größten Hitzeeinwirkung findet sich die Koagulationszone, die vor allem aus nekrotischem Gewebe besteht und den Eschar bildet. Darauf folgt die Stasezone. Das Gewebe erscheint hier noch vital ist aber aufgrund der verminderten Perfusion ischämiegefährdet. Außenseitig schließt sich die Hyperämiezone an, die weniger gewebliche Veränderungen aufweist und wichtige Funktionen in der Wundheilung übernimmt [Church et al., 2006].

Substrate zur topischen Behandlung von Verbrennungswunden sollten im Allgemeinen eine Vielzahl von Anforderungen erfüllen. Zu diesen Eigenschaften gehören unter anderem ein Schutz vor Infektionen, Förderung der Wundheilung, Schmerzlinderung und Verbesserung oder Beibehalten der Bewegungsfreiheit. Wie bei jedem Therapeutikum sollten auch bei der Wundversorgung von Verbrennungen das

## Diskussion

Nebenwirkungsprofil geringgehalten und der Heilungsverlauf engmaschig beobachtet werden können [Fuchs und Thamm, 2016].

Auch bei den temporären Hautersatzmaterialien besteht ein Risiko zur Wundinfektion. Daher müssen regelmäßige Beurteilungen der Wundauflage erfolgen, um auftretende Infektionen frühzeitig aufzudecken. Beim Auftreten von bakteriellen Infektionen, Durchblutungsstörungen und einer langdauernden inflammatorischen Reaktion kann es zu einer verzögerten oder ausbleibenden Wundheilung mit Chronifizierung kommen [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 49]. Die Spätfolgen sind hierbei Reinfektionen oder die Ausbildung von hypertrophen Narben, Narbenkeloiden und Narbenkontrakturen [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 48].

Die Inflammation ist ein vorbeugender Prozess, der schädliche Stimuli entfernen und die Heilung einleiten soll. Nichtsdestotrotz kann eine überschießende und unbalancierte Entzündungsreaktion eine Heilung verzögern oder eine Narbenbildung potenzieren [Eming et al., 2007]. Durch eine Infektion entsteht ein Minderangebot an Durchblutung, eine unregulierte Leukozytenfunktion, sowie die Produktion von proteolytischen Enzymen [Fahimi et al, 2015]. Eine schnellere komplette Wundheilung reduziert das Risiko von Wundinfektionen und Flüssigkeitsverlusten. Des Weiteren reduziert sich die Mortalität, die Dauer des Krankenhausaufenthalts und letztendlich die Ausbildung von hypertrophen Narben [Xiao-Wu, W. 2002, Ong, Y.S. 2006]. Hierbei liegt die Prävalenz der Ausbildung einer ästhetisch einschränkenden hypertrophen Narbe nach Verbrennungen zwischen 32% und 72% [Bombarò et al., 2003, Gangemi et al., 2008, Lawrence et al., 2012], während die Inzidenz für die Ausbildung von funktionell einschränkenden Narbenkontrakturen zwischen 2% [Kraemer et al., 1988] und 5 % [Gangemi et al., 2008] einzuordnen ist. Im Rahmen der Narbenbildung kann es zur Ausbildung von planen und atrophen sowie hypertrophen Narben und Narbenkeloiden kommen (Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S. 49). Funktionelle Beeinträchtigungen, traumatisierende Unfallereignisse und ästhetische Stigmatisierung bedingen hierbei häufig psychische sowie somatische Störungen, die einer Langzeitbehandlung bedürfen [Church et al., 2006]. Bei Verbrennungen handelt es sich in der Regel um ein Be-

## Diskussion

schwerdebild mit weitreichenden Folgen [Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S.50- 55]. Diese können psychisch oder funktionell sein. Im Rahmen der Rehabilitation nach Verbrennungen sollte die Minimierung von hypertrophen Narben und Kontrakturen, sowie eine gute Beweglichkeit im Fokus stehen um dem Patienten Unabhängigkeit im Alltag und Berufsleben zu ermöglichen [Dodd et al., 2017].

Der Einfluss von wIRA auf die Heilung von akuten und chronischen Wunden wurde in einigen klinischen Studien untersucht. Eine randomisierte, kontrollierte, doppelt verblindete Studie mit 111 Patienten nach großen abdominell-chirurgischen Eingriffen wurde an der Universität Heidelberg durchgeführt. Hier zeigte sich eine relevante Schmerzminderung, verbunden mit einer deutlich verminderten erforderlichen Dosis an Analgetika, wobei man nach einer großen abdominellen Operation die Patienten postoperativ mit wIRA und sichtbarem Licht (VIS= visible light) oder in der Kontrollgruppe mit sichtbarem Licht alleine bestrahlt hat. Des Weiteren zeigte sich eine Erhöhung des subkutanen Sauerstoffpartialdrucks und der Gewebetemperatur, sowie der Perfusion. Die erhobenen Befunde vom 2. und 10. postoperativen Tag sind der Abbildung 8 zu entnehmen [Hartel et al, 2006].

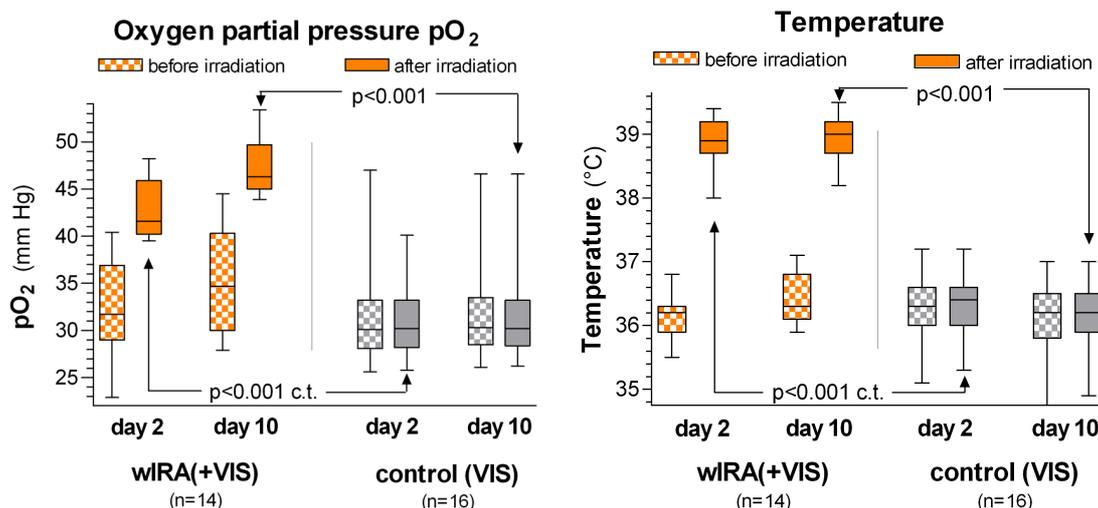


Abb. 24: Subkutaner Sauerstoffpartialdruck und Temperatur 2 und 10 Tage nach Operation bei einer Interventionsgruppe mit Bestrahlung mittels wassergefilterter Infrarot-A-strahlung und Kontrollgruppe mit Bestrahlung durch sichtbares Licht VIS) aus [Hartel et al, 2006].

In der Kinderchirurgie des Kinderkrankenhauses Park Schönfeld in Kassel wurde eine prospektive, randomisierte, kontrollierte, doppelt verblindete Studie mit 45

## Diskussion

schwerbrandverletzten Kindern durchgeführt. Hierbei wurden Verbrennungen vom Grad II 30 Minuten täglich mit wassergefiltertem Infrarot-A-Licht sowie sichtbarem Licht (VIS) bestrahlt oder in der Kontrollgruppe nur mit sichtbarem Licht (VIS). Zusammenfassend konnte hier im Median eine Abnahme der Wundfläche um 50 % in der Gruppe mit wIRA nach 7, verglichen mit der Kontrollgruppe nach 9 Tagen verzeichnet werden, sowie eine Abnahme der Wundfläche im Median um 90 % in der Gruppe mit wIRA nach 9 Tagen, verglichen mit der Kontrollgruppe nach 13 Tagen [Hartel et al, 2007].

In der Literatur werden der Behandlung mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung vielfältige Vorteile zugeschrieben. Zu den positiven Wirkungen zählen [Felbert et al., 2010, Fuchs et al., 2004, Schumann et al., 2011]:

- Steigerung der Gewebetemperatur
- Erhöhung des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe
- Zunahme der Gewebedurchblutung
- Schmerzlinderung [Hartel et al., 2006, Hartel et al., 2007]
- Zellschutz vor oxidativem Stress
- bessere Abbaumechanismen von Stoffwechselmetaboliten und Toxinen [Applegate et al., 2000, Ehrlicher et al., 2002, Karu et al., 2001]

In einer Studie wurde photodynamische Therapie bei multiplen aktinischen Keratosen der Haut angewandt. Dabei wurde ein gutes kosmetisches Ergebnis bei hoher Patientenzufriedenheit festgehalten [Felbert, 2010]. Auch bei der Behandlung von chronisch venösen Stauungsulzerationen zeigte sich bei der Anwendung von wIRA eine bessere Wundheilung bei besserer Granulation und einem Trend zu weniger Exsudation [Schumann et al., 2011].

Des Weiteren trat in einer weiteren klinischen Studie bei chronischen Stauungsulzerationen während der Behandlung eine Normalisierung des thermographischen Bildes zutage. Vor der Behandlung mittels wIRA zeigte sich ein hypothermer Ulkusgrund bei randständiger Hyperthermie. Diese Bedingungen konnten unter der Bestrahlung ausgeglichen werden [Mercer et al., 2008]. Bei der Behandlung mit typischen Substanzen kann wIRA die Penetrationstiefe von hydrophilen Substanzen

## Diskussion

bei Vor- oder Begleitbehandlung steigern, vermutlich durch eine gesteigerte Hydratation des Stratum corneums während der Bestrahlung [Otberg et al., 2008]. wIRA ist hierbei einfach in der Handhabung, dem Behandelnden gut zugänglich, kostengünstig und für den Patienten während der Anwendung angenehm. Die Anschaffung des Gerätes kostet zum aktuellen Zeitpunkt 4.143 Euro. Die Beurteilung des Wundgrundes bleibt hierbei unangetastet, die zum Teil negativen Auswirkungen der Antiseptika auf die Wundheilung könnten abgemildert werden.

In einem Kommentar aus dem Jahr 2014 setzte sich Prof. Dr. Dr. h.c. Horch aus der Klinik für Plastische und Handchirurgische und dem Labor für Tissue Engineering und Regenerative Medizin des Universitätsklinikums Erlangen kritisch mit den Anwendungen von wIRA bei komplexen Wunden auseinander. So legt er dar, dass eine Reduktion von Wundinfektionen, Blutverlusten unter perioperativen Schmerzen durch Erwärmung als Folge der Erhöhung der Gewebetemperatur durch einen erhöhten Blutfluss und eine erhöhte Sauerstoffspannung im Bereich der Wunde denkbar wären. Begleitend weist er jedoch auch deutlich darauf hin, dass eine Überwärmung auch schädliche Nebenwirkungen, wie Verbrennungen, bewirken kann [Zukowski et al., 1998] und demzufolge gerade bei schwierigen Wundverhältnissen und Multimorbidität des Patienten auf die Gefahr einer thermischen Verletzung unter einer durchgeführten Wärmetherapie hingewiesen werden muss. Ein Patientenkollektiv, welches die Anwendung mit besonderer Vorsicht erfahren sollte, stellen Patienten mit Nervenschäden und diabetischer Polyneuropathie und folglich verminderter Temperaturempfindung dar. Letztendlich weist er darauf hin, dass nach klinischer Erfahrung ein radikales chirurgisches Débridement und die Schaffung einer suffizienten Durchblutung mit adäquaten Gewebetransplantaten die Basis für die Ausheilung von Infektionen darstellt [Horch et al., 2014;2, Taeger et al, 2014, Eweida, 2013]. Dem entgegen zu setzen sind die Erhebungen zweier Studien aus dem Jahr 2010 [Piazana und Kelleher, 2010, Jung et al., 2010]. In einer Pressemitteilung des idw (Informationsdienst Wissenschaft) bezieht man sich auf diese Daten und erklärt die Unbedenklichkeit und die sinnvolle Nutzbarkeit der Infrarot-A-Strahlung [Pressemitteilung Informationsdienst Wissenschaft, 2010], wobei auch hier angemerkt wird, dass die Studienlage Ausbaupotenzial bietet.

Auffällig in der retrospektiven Literaturrecherche war, dass bei der Durchsicht der durchgeführten Studien zu den Anwendungsmöglichkeiten von wIRA ein Autor über

## Diskussion

die Jahre dominant in Erscheinung tritt. Hier herrscht die Gefahr einer Verzerrung (author bias) [Abou-Setta et al., 2019].

Zusammenfassend gilt anzumerken, dass nur durch weitere prospektive randomisierte klinische Studien hoher Qualität mit großen Fallzahlen und gut vergleichbaren Wunden, gleichen Ausgangssituationen und chirurgischen Eingriffen im Verlauf eine valide, reliable und vorallem objektive Aussage über die Effekte von Lichttherapien getätigt werden kann [Horch, 2014;1].

Nach Einordnung unserer Befunde in die aktuelle Literatur zeigte sich somit, dass sich Hypothese II nicht bestätigen ließ.

In unserem Tierexperiment wurden die tiefen Verbrennungen täglich mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung bestrahlt. Die Grundüberlegung lag darin begründet, durch potenziell erhöhte Sauerstoffpartialdrücke und erhöhte Gewebetemperaturen die Wundheilung zu beschleunigen. Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse zeigte sich jedoch, dass die Dauer der Wundheilung durch externe Maßnahmen, wie in diesem Fall wIRA nicht signifikant beeinflusst werden kann. Auch Hypothese I ließ sich demnach nicht bestätigen. Dies wäre eine wichtige Stellschraube in der Therapie, denn das Ausmaß der Narbenbildung ist bei zweitgradigen Verbrennungen von der Heilungszeit abhängig [Deitch et al, 1983, Werdin et al, 2018].

Um signifikante Ergebnisse bezüglich der verbesserten Wundheilung unter Bestrahlung mit wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung ermitteln zu können, hätte das Versuchsprotokoll im Nachhinein betrachtet in einigen Punkten verbessert werden müssen. In der Auswertung der Biopsate der Verbrühungswunden fanden sich einige Auffälligkeiten. So waren in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt V1 überwiegend oberflächliche erstgradige Verbrennungen erfasst, obwohl im Verlauf in allen Fällen tiefe zweitgradige Verbrennungen nachweisbar waren. Man könnte vermuten, dass die Gewebeschädigung im Verlauf zunächst noch weiter zunimmt und dadurch erst nach 4 Tagen vollständig sichtbar wird (vgl. Zonen der Verbrennung nach Jackson). Gegen diese Vorstellung spricht aber die Tatsache, dass die Veränderungen der Epidermis bei der tiefen Nekrose anders aussehen müssten (kompakte Koagulationsnekrose mit einer Art "Verschweißung" von Epidermis und Dermis) als bei der

## Diskussion

oberflächlichen rein epidermalen Nekrose (Auflösung des Epithelverbandes mit Abhebung von der Unterlage). Folglich ist zu vermuten, dass hier eher das Sampling eine Rolle spielt, d.h. die ersten Proben wurden zu weit aus der Peripherie der Wunden entnommen wurden, wo die Schädigung tatsächlich geringer ausfällt, während zentraler tiefere Nekrosen vorliegen. Die Fläche auf dem Rücken der Ratte war begrenzt, sodass im Laufe der Zeit die Auswahl des geeigneten Biopsie-Ortes erschwert wurde. Des Weiteren war makroskopisch initial ein weitaus größeres Areal mindestens IIb-gradig verbrannt, wobei nach Tag 6 bereits gerade in den randständigen Bereichen die Schädigung weitaus geringer ausfiel als initial vermutet. Für eine weiterführende Untersuchung sollten demnach Biopsien aus der zentralen Nekrosezone statt aus dem randständigen Bereich entnommen werden. Man könnte die Versuchsgruppe erweitern und von jedem Tier im zeitlichen Verlauf nur eine Probe aus der zentralen Verbrühung gewinnen, um das Sampling zu verbessern, sodass eine Ratte nur einmalig biopsiert wird. Eine genauere Aussage zum Heilungsverlauf würde man treffen können, wenn man zu jedem Zeitpunkt bei einem Tier den gesamten Wundbereich untersuchen könnte bzw. untersucht hätte. Hieran könnte man in anderen Studiendesignen anknüpfen und müsste nach gewonnener Biopsie die Euthanasie des jeweiligen Tieres einleiten.

Im Rahmen der postinterventionellen Befundung der Gewebeproben wurde sich in dieser Arbeit zur immunhistologischen Präzisierung unterschiedlicher Strukturen für die Markierung von CK5/6 entschieden mit dem Ziel bindegewebige Marker für das Ausmaß der Reepithelialisierung erkennen zu können. CK5/6 sind Zytokeratine, die von den Keratinozyten vor allem im Bereich des Stratum basale exprimiert werden [Lauer und Schimming, 2001]. Durch die gewählte Färbemethode kamen allerdings keine aussagekräftigen Befunde zustande, sodass sich diese Arbeit auf die deskriptive Beschreibung der morphologischen Stadien der Wundheilung nach Verbrühungswunden mit den gängigen histochemischen Färbemethoden, wie oben ausführlich aufgelistet, beschränkt.

Im primären Studiendesign war die beschriebene Untersuchung analog zu den Verbrennungswunden auf Lappenplastiken geplant, die auf dem Rücken der Ratten präpariert wurden, um im Verlauf die Stadien der primären Wundheilung mit und

## Diskussion

ohne Einwirkung von wIRA zu untersuchen. Dieses Studiendesign erwies sich allerdings als nicht zielführend, da die Schädigungsmuster zu stark variierten und die Biopsate keinen Stadien zuzuordnen waren. Aus diesem Grund wurden diese beiden Gruppen nicht in die Studie eingeschlossen. Der Vollständigkeit halber ist dieser Versuchsansatz im Anhang dargestellt.

## 5. Zusammenfassung

**Einleitung:** Wundheilung ist ein zentrales interdisziplinäres Thema in der modernen Medizin. Zahlreiche Studien und Publikationen beschäftigen sich mit Ansätzen und neuen Therapiemethoden zur Verbesserung und Beschleunigung der Heilung sowohl von akuten als auch von chronischen Wunden. Ziel dieser Arbeit war die Analyse der Auswirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung (wIRA) auf die Wundheilung am Tiermodell der Ratte. Die Wundheilung wurde anhand von Verbrühungswunden untersucht.

**Material und Methoden:** Insgesamt wurden 30 weibliche Wistar-Albino-Ratten mit einem Gewicht zwischen 200g und 230g in die Studie eingeschlossen. Ein 6x4cm messendes Areal zentral auf dem Rücken der Tiere wurde mit einem Trichter abgegrenzt. Anschließend wurde Wasserdampf in den Trichter geleitet, sodass eine tiefgradige Verbrühung (Grad IIb- III) entstand. Die thermische Einwirkzeit betrug 1 Minute bei 100°C. 15 Tiere wurden postoperativ mittels wIRA bestrahlt, während 15 Tiere einen konventionellen antiseptischen Wundverband erhielten. Insgesamt wurden von allen 30 Tieren jeweils 5 Biopsien gewonnen (Tag 2, 4, 6, 8, 10 postinterventionell). Die entnommenen Gewebeproben wurden nach Fixierung und Färbung morphologisch ausgewertet.

**Ergebnisse:** An unserem Tiermodell zeigte sich eine chronologische Abfolge der Abschnitte der Wundheilung, die sich in charakteristische Stadien einteilen ließ. Durch numerische Rekodierung der histologischen Kategorien (ON: 1, AN: 2, DN: 3, PE: 4, VEK: 5, VEB: 6) kann mittels Spearman-Rangkorrelation gezeigt werden, dass die Tiere über die Zeit (V1 bis V5) signifikant weniger pathologische Kategorien zeigten, was in beiden Gruppen vergleichbar stark ist (Experimentalgruppe:  $\rho = ,72$ ,  $p < ,001$ ; Kontrollgruppe:  $\rho = ,81$ ,  $p < ,001$ ). Die Gruppen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant.

**Diskussion:** Zusammenfassend gilt anzumerken, dass nur durch weitere prospektive randomisierte klinische Studien hoher Qualität und gut vergleichbaren Wunden, annähernd gleichen Ausgangssituationen und chirurgischen Eingriffen im Verlauf eine verlässliche objektive Aussage über die Effekte von Lichttherapien getätigt werden kann.

## 6. Literaturverzeichnis

Abe, R., Donelli, S.C., Peng, T., Bucala, R. and Metz, C.N. (2001). Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound site aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 - 3213

Abou-Setta, A. M., Rabbani, R., Lix, L. M., Turgeon, A. F., Houston, B. L., Ferguson, D. A., Zarychanski, R. (2019). Can authorship bias be detected in meta-analysis? *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien D'anesthésie*.doi:10.1007/s12630-018-01268-6

Adams, R.H. und Alitalo, K. (2007). Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007 Jun;8(6):464- 78. doi: 10.1038/nrm2183. PMID: 17522591.

Applegate L A, Scaletta C, Pannizzon R, Frenk E, Hohlfeld P, Schwarzkopf S. (2000). Induction of the putative protective protein ferritin by infrared radiation: implications in skin repair. *International Molecular Medicine*; 5:247 -251

Atiyeh, B. S., Gunn, S. W., Hayek, S. N. (2005). State of the Art in Burn Treatment. *World Journal of Surgery* 2005;29(2):131– 148.doi:10.1007/s00268-004-1082-2

Bahou, W.F. und Gnatenko, D.V. (2004). Platelet transcriptome; the application of microarray analysis to platelets. *Semin. Thromb. Hemost.* 30, 473-484 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 -3213

Bergmann, A.P. und Siemers, F. (2016). Verbrennungswunden aus Hrsg. Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B. (2016). *Verbrennungschirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, S.35-42

Bombaro K.M., Engrav L.H., Carrougher, G.J., Wiechman, S.A., Faucher, L., Costa, B.A., Heimbach, D.M., Rivara, F.P., Honari, S. (2003). What is the prevalence of hypertrophic scarring following burns? *Burns* 2003;29:299- 302 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Brigham, P.A. und McLoughlin, E. (1996). Burn incidence and medical care use in the United States: estimates, trends and data sources. *Journal of Burn Care and Rehabilitation*, 17:95 -107 aus Mohajeri, D., Mesgari, M., Doustar, Y., Nazeri, M. (2011): Comparison of the Effect of Normal Saline and Silver Sulfadiazine on Healing of Skin Burn Wounds in Rats: A histopathological Study, *Middle East Journal of Scientific Research* 10 (1):08 -14

Brunner, L.S. und Suddarth, D.S. (1998). *Text book of Medical Surgical Nursing*. Lippincott, 1293-1322 aus Mohajeri, D., Mesgari, M., Doustar, Y., Nazeri, M. (2011): Comparison of the Effect of Normal Saline and Silver Sulfadiazine on Healing of

Skin Burn Wounds in Rats: A histopathological Study, Middle East Journal of Scientific Research 10 (1):08 -14

Carnerio, P.M., Rwanyuma, L.R. und Mkony, C.A. (2002). A comparison of topical Phenytoin with silvered in the treatment of superficial dermal burn wound. Central African Journal of Medicine, 48: 105-108 aus Mohajeri, D., Mesgari, M., Doustar, Y., Nazeri, M. (2011): Comparison of the Effect of Normal Saline and Silver Sulfadiazine on Healing of Skin Burn Wounds in Rats: A histopathological Study, Middle East Journal of Scientific Research 10 (1):08 -14

Chai, J. and Tarnawski, A.S. (2002). Serum response factor: discovery, biochemistry, biological roles and implications for tissue injury healing. J Physiol. Pharmacy. 53, 147-157 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science; 122:3209 -3213

Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., & Lindsay, R. (2006). Burn Wound Infections. Clinical Microbiology Reviews 2006;19(2):403- 434. doi:10.1128/cmr.19.2.403-434.2006

Cumberbatch, M. Dearman, R.J., Griffiths, C.E. and Kimber, I. (2000). Langerhans cell migration. Clin. Exp. Dermatol. 25, 413-418 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science; 122:3209 -3213

Deitch E.A., Wheelahan, T.M., Rose, M.P., Clothier, J., Cotter, J. (1983). Hypertrophic burn scars: analysis of variables. J Trauma 1983 Oct;23(10):895- 8 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Demling, R. H. (1985). Burns. New England Journal of Medicine 1985;313(22):1389– 1398. doi:10.1056/nejm198511283132205

Dodd, H., Fletchall, S., Starnes, C., & Jacobson, K. (2017). Current Concepts Burn Rehabilitation, Part II. Clinics in Plastic Surgery;44(4):713– 728. doi:10.1016/j.cps.2017.05.013

Dovi, J.V., Szpaderska, A.M. and DiPietro, L.A. (2004). Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury? Trombe. Haemost. 92:275 -280 aus Shaw, T J und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science; 122:3209 -3213

Drenckhahn, D. aus Hrsg: Benninghoff, A. und Drenckhahn, D. (2003). Anatomie Band 1: Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie 16. Auflage, Urban & Fischer Verlag München, Jena S.94

Ehrlicher, A., Beta, T., Stuhlmann, B., Rock, D., Milner, V., Raizen, M.G. et al (2002). Guiding neuronal growth with light. Proc. National Academy of Science USA, 99:16024 -16028

Eming, S.A., Krieg, T. und Davidson, J.M. (2007). Inflammation in wound repair: Molecular and Cellular Mechanisms. Journal of Investigative Dermatology 2007;127(3):514– 525. doi:10.1038/sj.jid.5700701

## Literaturverzeichnis

Enoch, P., Price, P. (2004). Cellular, molecular and biochemical differences in the pathophysiology of healing between acute wounds, chronic wounds and wounds in the aged. *World Wide Wounds* verfügbar über <http://www.worldwidewounds.com/2004/august/Enoch/Pathophysiology-Of-Healing.html> (letzter Aufruf 02.03.2021)

Eweida, A. M., Lang, W., Schmitz, M., & Horch, R. E. (2013). Salvage of a free radial forearm flap by creation of an arteriovenous fistula at the distal arterial pedicle. *Microsurgery* 2013;33(5):391– 395.doi:10.1002/micr.22089

Fahimi, S., Abdollahi, M., Mortazavi, S. A., Hajimehdipoor, H., Abdolghaffari, A. H., & Rezvanfar, M. A. (2015). Wound Healing Activity of a Traditionally Used Poly Herbal Product in a Burn Wound Model in Rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2015;17(9).doi:10.5812/ircmj.19960

Fakin, R.M., Guggenheim, M., Wallner, C., Lehnhardt, M. und Giovanoli, P. (2016). Pathophysiologie der Verbrennungskrankheit aus Hrsg Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B., (2016). *Verbrennungschirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, S.43-49

von Felbert, V., Hoffmann, G., Hoff-Lesch, S., Abuzahra, F., Renn, C.N., Braathen, L.R., Merk, H.F.(2010). Photodynamic therapy of multiple actinic keratoses: reduced pain through use of visible light plus water-filtered infrared A compared with light from light-emitting diodes. *British Journal of Dermatology* 2010 Sep;163(3):607-15. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09817.x. PMID: 20426780.

Fuchs, E. (2008). Skin stem cells: rising to the surface *J. Cell Biol.* 180:273 -284 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 -3213

Fuchs, S.M., Fluhr, J.W., Bankova, L., Tittelbach, J., Hoffmann, G., Elsner, P. (2004). Photodynamic therapy (PDT) and waterfiltered infrared A (wIRA) in patients with recalcitrant common hand and foot warts. *Ger Med Sci.*; 2:Doc08 verfügbar über <http://www.egms.de/pdf/gms/2004-2/000018.pdf> (letzter Aufruf 15.04.2021)

Fuchs, P. und Thamm, O.C. (2016). Lokalthherapie aus Hrsg Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B.(2016). *Verbrennungschirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, S.83- 93

Gangemi, E.N., Gregori, D., Berchiolla, P., Zingarelli, P., Cairo M., Bollero, D.; Ganem, J., Capocelli, R., Cuccuru, F., Cassano, P., Risso, D., Stella, M. (2008) Epidemiology and risk factors for pathologic scarring after burn wounds. *Arch Facial Plast Surg*;10:93 -102 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Gregory, S.R., Piccolo, M.T., Piccolo, M.S. und Heggors, J.P. (2002). Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: an naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2002;8:77- 83

Hartel, M., Illiing, P., Mercer, J.B., Lademann, J., Daeschlein, G., Hoffmann, G.

(2007). Therapy of acute wounds with water-filtered infrared-A (wIRA), GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär, Vol. 2(2), ISSN 1863-5245

Hartel, M., Hoffmann, G., Wente, M.N., Martignoni, M.E., Büchler, M.W., Friess, H. (2006). Randomized clinical trial of the influence of local water- filtered infrared A irradiation on wound healing after abdominal surgery. *British Journal of Surgery*;93(8):952 -60. DOI: 10.1002/bjs.5429

Hinz, B. (2007) Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J. Cell. Biol.* 180:273 -284 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 -3213

Hirsch, T., Jacobsen, F., Rittig, A., Goertz, O. Niederbichler, A. Steinau, H.U., Seipp, H.M., Steinstraesser, L. (2009). Vergleichende In-vitro-Studie zur Zytotoxizität klinisch eingesetzter Antiseptika [A comparative in vitro study of cell toxicity of clinically used antiseptics], *Hautarzt.* 2009 Dec;60(12):984- 91. German. doi: 10.1007/s00105-009-1842-x. PMID: 19812986

Hoffmann, G. (2009). Water-filtered infrared-A (wIRA) in acute and chronic wounds, GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär 2009, Vol. 4(2), ISSN 1863-5245

Hoffmann, G. (2008). Klinische Anwendungen von wassergefiltertem Infrarot A (wIRA) [Clinical applications of water-filtered infrared -A (wIRA)] aus Hrsg.: Kaase, H., Serick, F., Sechstes Symposium "Licht und Gesundheit" [Sixth symposium "Light and health"]. Eine Sondertagung der Technischen Universität Berlin und der Deutschen Gesellschaft für Photobiologie mit der Deutschen Akademie für Photobiologie und Phototechnologie und der Deutschen Lichttechnischen Gesellschaft, Berlin,13./14.03.2008. Berlin; S.130- 146. ISBN: 3-9807635-0- 3

Hoffmann G. Principles and working mechanisms of water-filtered infrared-A (wIRA) in relation to wound healing (2007). GMS Krankenhhyg Interdiszip. 2007 Dec 28;2(2):Doc54. PMID: 20204085; PMCID: PMC2831244.

Hoffmann, G. (1994). Improvement of Wound Healing in Chronic Ulcers by Hyperbaric Oxygenation and by Waterfiltered Ultrared a Induced Localized Hyperthermia. *Oxygen Transport to Tissue XV*, 181–188. doi:10.1007/978-1-4615-2468-7\_24

Horch, R.E. (2014;1). Kommentar zu: Wassergefiltertes Infrarot A (wIRA) hilft Wunden heilen. *Der Chirurg* 2014; 85(11):993– 998. doi:10.1007/s00104-014-2824-9

Horch, R. E., Lang, W., Meyer, A., & Schmitz, M. (2014;2). Distal pedal bypasses combined with free microsurgical flaps in chronic limb ischaemia for problematic wounds. *International Wound Journal*, 13(3), 425–426. doi:10.1111/iwj.12282

Ito, M., Yang, Z., And, T., Cui, C., Kim, N., Millar, S.E., and Cotsarelis, G. (2007). Wnt-depending de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* 447:316 -320 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 -3213

Jones, R. E., Foster, D. S., & Longaker, M. T. (2018). Management of Chronic Wounds-2018. *JAMA*;320(14):1481.doi:10.1001/jama.2018.12426

Jung, T., Höhn, A., Piazena, H., Grune, T. (2010) Effects of water-filtered infrared A irradiation on human fibroblasts. *Free Radic Biol Med.* 48:153 -160. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.036

Kaehn, K. (2010). Polixetanide: a safe and highly effective biocide. *Skin pharmacology and physiology* 23 Suppl:7 -16) aus Fuchs, P.C. und Thamm, O. (2016) Lokaltherapie aus Hrsg Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B., *Verbrennungschirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, S.83-94

Karu, T.I., Pyatibrat, L.V., Kalendo, G.S. (2001). 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 Medicine*; 29:274 -281

Kobayashi, H., Aiba, S. Yoshi Y. und Tagami, H. (2003). Acute cutaneous barrier disruption activates epidermal p44/42 and p38 mitogen-activated protein kinases in human and hairless guinea pig skin *Exp. Dermatol* 2003; 12:734- 746 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*; 122:3209 -3213

Kippenberger, S., Bernd, A., Loitsch, S., Guschel, M., Muller, J., Bereiter-Hahn, J. und Kaufmann, R. (2000). Signaling of mechanical stretch in human keratinocytes via MAP kinases. *J. Invest. Dermatol.* 114, 408-412 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009; 122:3209 -3213

Kraemer, M.D., Jones, T., Deitch, E.A. (1988). Burn contractures: incidence, predisposing factors, and results of surgical therapy. *J Burn Care Rehabil*; 9:261- 265 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Lauer, G. und Schimming, R. (2001). Tissue-engineered mucosa graft for reconstruction of the intraoral lining after freeing of the tongue: A clinical and immunohistologic study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2001;59(2):169–175.doi:10.1053/joms.2001.20489

Lawrence, J.W., Mason, S.T., Schomer, K. et al. (2012). Epidemiology and impact of scarring after burn injury: a systematic review of the literature. *J Burn Care Res*; 33:136- 146 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Leitlinie „Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen“, S2k- AWMF-Registernummer: 044-001 (August 2018)

Li, A., Zhang, Y., Lao, L., Xin, J., Ren, K., Berman, B.M. et al. (2011). Serotonin Receptor 2A/C is Involved in Electroacupuncture Inhibition of Pain in an Osteoarthritis Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med.*: 619650 aus Fahimi, S., Abdollahi, M., Mortazavi, S.A., Hajimedipoor, H., Abdolghaffari, A.H, Rezvamfar, M.A. (2015). Wound Healing Activity of a Traditionally Used Poly Herbal Product in a Burn Wound Model in Rats, *Iran Red Crescent Med J* 2015, 17(9):e19960

## Literaturverzeichnis

Lüllmann-Rauch, R. (2004). Haut und Hautangangsgebilde aus Hrsg. Benninghoff, A. und Drenckhahn, D. Anatomie: Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie und Zellbiologie, Band 2, 16. Auflage, Elsevier GmbH München, S.775- 96

Makrantonaki, E., Wlaschek, M., & Scharffetter-Kochanek, K. (2017). Pathogenese von Wundheilungsstörungen bei älteren Patienten. JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft 2017;15(3):255- 278.  
doi:10.1111/ddg.13199\_g

Menke, H. (2016). Besonderheiten im Alter aus Hrsg. Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B. Verbrennungschirurgie, Springer Berlin Heidelberg 2016, S.254- 259

Mohajeri, D., Mesgari, M., Doustar, Y., Nazeri, M. (2011): Comparison of the Effect of Normal Saline and Silver Sulfadiazine on Healing of Skin Burn Wounds in Rats: A Histopathological Study, Middle East Journal of Scientific Research 2011;10 (1):08- 14

Mori, R, Shaw, T.J. and Martin, P. (2008). Molecular mechanism linking wound inflammation and fibrosis: knockdown of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring. J. Exp. Med. 205, 43-51 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science 2009; 122:3209- 3213

Mukhdomi, G.J., McCauley, R.L., Desai, M.H. et al. (1996). Cellulitis associated with burn scars: a retrospective review. J Burn Care Rehabil 1996; 17:346- 50 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Nayak, B.S., Pinto Pereira, L.M. (2006). Catharantus roseus flower extract has wound-healing activity in Sprague Hawley rats. BMC Complement Altern Med. 2006; 6:41 aus Fahimi, S., Abdollahi, M., Mortazavi, S.A., Hajimedipoor, H., Abdolghaffari, A.H, Rezvamfar, M.A. (2015). Wound Healing Activity of a Traditionally Used Poly Herbal Product in a Burn Wound Model in Rats, Iran Red Crescent Med J 2015, 17(9):e19960

Noli, C. and Miolo, A. (2001). The mast cell in wound healing. Vet. Dermatol. 12, 303-313 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science 2009; 122:3209 -3213

Nuccitelli, R. Nuccitelli, P., Ramlatchan, S., Sanger, R. und Smith, P.J. (2008). Imaging the electrical field associated with mouse and human skin wounds. Wound Repair Regen. 16, 432-441 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science 2009; 122:3209 -3213

Nurden, A.T., Nurden, P., Sanchez, M., Andia, I. and Anitua, E. (2008). Platelets and wound healing. Front Biosci 13, 3532-3548 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. Journal of Cell Science 2009; 122:3209 -3213

Ohara, H., Kishi, K., & Nakajima, T. (2008). Rat Dorsal Paired Island Skin Flaps: A Precise Model for Flap Survival Evaluation. The Keio Journal of Medicine 2008;57(4):211– 216. doi:10.2302/kjm.57.211

## Literaturverzeichnis

Ong, Y. S., Samuel, M., & Song, C. (2006). Meta-analysis of early excision of burns. *Burns* 2006;32(2):145–150. doi:10.1016/j.burns.2005.09.005 aus Singer, A. J., & Boyce, S. T. (2017). Burn Wound Healing and Tissue Engineering. *Journal of Burn Care & Research* 2017;38(3):e605–e613. doi:10.1097/bcr.0000000000000538

Otberg, N., Grone, D., Meyer, L., Schanzer, S., Hoffmann, G., Ackermann, H., Sterry, W., Lademann, J. (2008). Water filtered infrared A (wIRA) can act as a penetration enhancer for topically applied substances 2008, *GMS German Medical Sciences* 6:ISSN 1612- 3174

Pressemitteilung Informationsdienst Wissenschaft (2010). verfügbar über <https://idw-online.de/de/news379477>

Piazena, H., & Kelleher, D. K. (2010). Effects of Infrared-A Irradiation on Skin: Discrepancies in Published Data Highlight the Need for an Exact Consideration of Physical and Photobiological Laws and Appropriate Experimental Settings. *Photochemistry and Photobiology* 2010;86(39):687–705. doi:10.1111/j.1751-1097.2010.00729.x

Schafer, M. und Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacy. Res.*58, 165- 171 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009; 122:3209 -3213

Schultz, G.S., Ladwig, G., Wysocki, A. (2005). Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds. *World Wide Wounds*. Verfügbar über <http://www.worldwidewounds.com/2005/august/Schultz/Extrace-Matric-Acute-Chronic-Wounds.html> (letzter Aufruf 17.04.2021)

Schumann, H., Calow, T., Weckesser, S., Müller, M.L., Hoffmann, G. (2011). Water-filtered infrared A for the treatment of chronic venous stasis ulcers of the lower legs at home: a randomized controlled blinded study. *British Journal of Dermatology* 2011 Sep;165(3):541- 51. doi: 10.1111/j.1365-2133.2011.10410.x. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21574975.

Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009;122:3209- 3213

Shaykhiev, R., Behr, J. and Bals, R. (2008). Micorobial patterns signaling via Toll-like receptors 2 and 5 contribute to epithelial repair, growth and survival *PLoS ONE* 3, e1393 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009;122:3209- 3213

Steen, M. (2016). *Epidemiologie* aus Hrsg Lehnhardt, M., Hartmann, B., Reichert, B. (2016). *Verbrennungschirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, S.5- 7

Subrahmanyam, M. (1998). A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns* 1998 Mar;24(2):157- 61. doi: 10.1016/s0305-4179(97)00113-7. PMID: 9625243

## Literaturverzeichnis

Subrahmanyam, M. (1990). Topical application of honey in treatment of burns. *British Journal of Surgery* 1991 Apr;78(4):497- 8. doi: 10.1002/bjs.1800780435. PMID: 2032114

S3-Leitlinie Lokalthherapie chronischer Wunden bei Patienten mit den Risiken periphere arterielle Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus, chronische venöse Insuffizienz, Stand: 12.06.2012. Version 1, AWMF-Registernummer 091/001

Taeger, C. D., Arkudas, A., Beier, J. P., & Horch, R. E. (2014). Emergency arteriovenous loop for free-flap defect reconstruction of the lower thigh with a post-irradiated and heavily infected wound. *International Wound Journal* 2014;12(5):598–600. doi:10.1111/iwj.12278

Tompkins, R.G., Burke, J.F., Schoenfeld, D.A., et al. (1986). Prompt eschar excision: a treatment system contributing to reduced burn mortality. A statistical evaluation of burn care at the Massachusetts General Hospital (1974- 1984). *Ann Surg.* 1986 Sep;204(3) S.272-81 aus Leitlinie Behandlung thermischer Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Tonnesen, M.G., Feng, X. and Clark, R.A. (2000). Angiogenesis in wound healing. *J Invest. Dermatol.*2000; 122: 783-790 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009;122:3209- 3213

Upadhyay, N. K., Kumar, R., Siddiqui, M. S., & Gupta, A. (2011). Mechanism of Wound-Healing Activity of Hippophae rhamnoidesL. Leaf Extract in Experimental Burns. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011:1-9.doi:10.1093/ecam/nep189

Walzog, B. und Fandrey, J. (2010). aus *Physiologie* Hrsg. Klinke, R., Pape, H.C., Kurtz, A. und Silbernagel, 6. Auflage. Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, S. 235-236

Welsch, U. (2006). *Lehrbuch Histologie: Zytologie, Histologie, Mikroskopische Anatomie*, Hrsg. Welsch, U, 2.Auflage Elsevier, München, S.550-557

Werdin, F., Tenenhaus, M., Becker, M., & Rennekampff, H.-O. (2018). Healing Time Correlates With the Quality of Scaring. *Dermatologic Surgery* 2018;44(4):521– 527. doi:10.1097/dss.0000000000001345

Werner, S. und Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003 Jul;83(3):835- 70. doi: 10.1152/physrev.2003.83.3.835. PMID: 12843410

Wong, D.J. and Chang, H.Y. (2009) Skin tissue engineering, *StemBook*, ed. The Stem Cell Research Community, *StemBook* 2009; doi/10.3824/stembook.1.44 verfügbar über [https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Anatomy\\_of\\_the\\_skin\\_de.jpg](https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Anatomy_of_the_skin_de.jpg), (letzter Aufruf 14.03.2021)

World Health Organisation: Injury, a leading cause of the global burden of diseases. Geneva: World Health Organisation, 2002 aus Leitlinie Behandlung thermischer

## Literaturverzeichnis

Verletzungen des Erwachsenen S2k - AWMF-Registernummer: 044-001 – Stand 01.08.2018

Xiao-Wu, W. (2002). Effects of Delayed Wound Excision and Grafting in Severely Burned Children. *Archives of Surgery* 2002;137(9):1049. doi:10.1001/archsurg.137.9.1049 aus Singer, A. J., & Boyce, S. T. (2017). Burn Wound Healing and Tissue Engineering. *Journal of Burn Care & Research* 2017;38(3):e605–e613. doi:10.1097/bcr.0000000000000538

Yano, S., Kommine, M., Fujimoto M, Okochi, H. and Tamaki, K. (2004). Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest. Dermatol.*2004;122:783- 790 aus Shaw, T.J. und Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science* 2009;122:3209- 3213

Zukowski, M.L., Lord, J.L., Ash, K. (1998) Precautions in warming light therapy as an adjuvant to postoperative flap care. *Burns.* 1998 Jun;24(4):374-7. doi: 10.1016/s0305-4179(98)00029-1. PMID: 9688205

## 7. Anhang

Histomorphologisch erbrachte die Auswertung und Befundung der ebenfalls betrachteten Biopsien nach chirurgisch zugeführten Lappenplastiken keine aussagekräftigen Ergebnisse, da die Schädigungsmuster zu stark variierten und die Biopsate keinen Stadien zuzuordnen waren. Initiales Ziel war es, gerade an der Zone der Verletzung charakteristische Stadien der Wundheilung zu detektieren und nachverfolgen zu können.

### **7.1. Zusätzliche Versuchsgruppen: „axial-pattern skin flap“:**

Bei jeweils 15 Tieren wurde am Rücken ein rechteckiger Lappen präpariert. Dies geschah unter gleichen Ausgangsbedingungen wie bei den anderen Tieren (Abb. Xxx). Der Lappen wurde auf dem Rücken mittels Schablone eingezeichnet. Die Größe betrug 11x3 cm mit kranial erhaltener Basis. Grundlage der Auswahl dieser Lappenplastik waren gute Ergebnisse in anderen Studien [Ohara et al., 2008].



Abbildung 25: Operationsvorbereitung "axial-pattern skin flap"

Der Lappen bestand aus Haut und Unterhautfettgewebe und wurde bis zur Muskelfaszie frei präpariert, angehoben und bis zur kranialen Basis vollständig gelöst. Die

## Danksagungen

Haut des Rückens der Ratte wurde durch 3 Gefäßabschnitte versorgt (A.thoracica lateralis, Aa. intercostales posteriores und A. iliaca circumflexa).



*Abbildung 26: Präparation Lappenplastik am Rücken der Ratte*

Die 2 zuletzt genannten wurden bei der Präparation des Lappens sorgfältig durchtrennt, sodass die Versorgung des Lappens einzig durch die von kranial kommenden Gefäße erfolgen konnte (Abb. 25). Anschließend wurde der Lappen nach Mobilisation und Blutstillung wieder auf dem Wundbett mit Einzelknopfnähten (Ethilon 4-0) im Abstand von 0,2 cm fixiert. Die Dauer des Eingriffs belief sich auf 30 Minuten pro Tier. Nach erfolgreicher Operation erhält jedes Tier einen antiseptischen Wundverband mit Fettgaze und Polyhexanid.

# Danksagungen

## 7.2. Genehmigungen der Tierversuche

Ministerium für Energiewende,  
Landwirtschaft, Umwelt  
und ländliche Räume  
des Landes Schleswig-Holstein 

Ministerium für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt  
und ländliche Räume | Postfach 71 51 | 24171 Kiel

Ihr Antrag vom: 29.05.2012

Herrn  
Dr. Karl L. M. Mauss  
Klinik für Plastische- und Handchirurgie  
Intensivereinheit für Schwerbrandverletzte  
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck

Mein Zeichen: V 312-72241.122-25 (37-3/12)

Herr Buttchereit

Telefon: 0431 988-7128  
Telefax: 0431 988-7042

nachrichtlich:  
Herrn Dr. B. Schmelting  
Gemeinsame Tierhaltung  
der Universität zu Lübeck  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck

30. Juli 2012

### **Genehmigung zur Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren**

Sehr geehrter Herr Dr. Mauss,

gemäß § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206), zuletzt geändert durch Gesetz vom 15. Juli 2009 (BGBl. I S. 1950), erteile ich Ihnen die Genehmigung, im Rahmen des Versuchsvorhabens

Wundheilungsverlauf mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter  
Infrarot-A-Strahlung und kontaktloser Elektrotherapie

zu Versuchszwecken Eingriffe und Behandlungen an Tieren vorzunehmen.

Die Genehmigung ist mit folgenden Nebenbestimmungen verbunden:

1. Es dürfen bis zu 90 Ratten verwendet werden.
2. Die Genehmigung ist bis zum 31. Juli 2015 befristet.  
Sie kann auf formlosen, hinreichend begründeten Antrag um ein Jahr verlängert werden, sofern keine wesentlichen Änderungen der Genehmigungsvoraussetzungen eingetreten sind.

Dienstgebäude Mercatorstraße 3, 5, 7, 24106 Kiel | Adolf-Westphal-Str. 4, 24143 Kiel | Telefon 0431 988-0 | Telefax 0431 988-7239 | [poststelle@melur.landsh.de](mailto:poststelle@melur.landsh.de) | [www.schleswig-holstein.de](http://www.schleswig-holstein.de) | E-Mail-Adressen: Kein Zugang für elektronisch signierte oder verschlüsselte Dokumente. Das Landeswappen ist gesetzlich geschützt.

# Danksagungen

Ministerium für Energiewende,  
Landwirtschaft, Umwelt  
und ländliche Räume  
des Landes Schleswig-Holstein 

Ministerium für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt  
und ländliche Räume | Postfach 71 51 | 24171 Kiel

Ihre Anträge vom: 14.12.2012

Herrn  
Dr. Karl L. M. Mauss  
Klinik für Plastische- und Handchirurgie  
Intensiveinheit für Schwerbrandverletzte  
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck

Mein Zeichen: V 312-7224.122-25

Herr Buttchereit

Telefon: 0431 988-7128  
Telefax: 0431 988-7042

nachrichtlich:  
Herrn Dr. B. Schmelting  
Gemeinsame Tierhaltung  
der Universität zu Lübeck  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck

10. Januar 2013

## **Ausnahmegenehmigung für die Durchführung von Tierversuchen**

Sehr geehrter Herr Dr. Mauss,

aufgrund Ihres o. a. Antrages erteile ich

Frau Janika Szymczak sowie Herrn Malte Brinkschulte

gemäß § 9 Abs. 1 Satz 4 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, ber. S. 1313), zuletzt geändert durch Gesetz vom 15. Juli 2009 (BGBl. I S. 1950), die Ausnahmegenehmigung, unter Ihrer Aufsicht Eingriffe und Behandlungen an Ratten durchzuführen.

Die Genehmigung erstreckt sich auf den Verbandswechsel, die Fotodokumentation der Wundbereiche und die Biopsieentnahme bei sedierten/narkotisierten Tieren, im Falle von Frau Szymczak zusätzlich auf die Bedienung der Strahlenlampe.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. Sekulla

---

Dienstgebäude Mercatorstraße 3, 5, 7, 24106 Kiel | Adolf-Westphal-Str. 4, 24143 Kiel | Telefon 0431 988-0 | Telefax 0431 988-7239 | [poststelle@melur.landsh.de](mailto:poststelle@melur.landsh.de) | [www.schleswig-holstein.de](http://www.schleswig-holstein.de) | E-Mail-Adressen: Kein Zugang für elektronisch signierte oder verschlüsselte Dokumente. Das Landeswappen ist gesetzlich geschützt.

### 8. Danksagungen

Diese wissenschaftliche Arbeit zum Thema „Wundheilungsverlauf nach tiefgradigen Verbrühungswunden mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung am Tiermodell der Ratte“ konnte nur mit der Unterstützung einiger Personen entstehen.

Ich möchte mich bei der Klinik für Plastische Chirurgie der Universität zu Lübeck und Herrn Prof. Dr.med. Peter Mailänder für das Thema meiner Doktorarbeit und die Bereitstellung der Materialien und Räumlichkeiten bedanken.

Ein besonderer Dank gilt dem Betreuer meiner Dissertation, Herrn Dr. Dr.med. Karl L.M. Mauss, der mich bei den Experimenten und in allen inhaltlichen und administrativen Fragen maßgeblich unterstützt hat.

Des Weiteren bedanke ich mich herzlich bei meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Tobias Kisch, der mir durch kritische Korrekturen und ausführliche Erklärungen das wissenschaftliche Arbeiten nähergebracht hat.

Ich möchte dem Forschungslabor der Gemeinsamen Tierhaltung der Universität unter der Aufsicht des zuständigen Tierschutzbeauftragten Dr. med.vet. Barthel Schmelting meinen Dank aussprechen für die Betreuung und Anleitung der artgerechten Durchführung der Experimentierphase.

Dem Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein unter der Aufsicht von Herrn Prof. Dr. Feller möchte ich für die Hilfe bei der Fixierung, Färbung und Präparierung der gesammelten Biopsate danken. Nach initialen Anlaufschwierigkeiten und Umstrukturierung der Auswertung meiner erhobenen Befunde konnte ich fachliche Unterstützung und Beratung von Herrn Dr. Bauer aus einer Praxis für Pathologie in Bad Oldesloe erhalten. Ich bedanke mich in aller Form für das gemeinsame Erarbeiten eines neuen Auswertungsansatzes am Mikroskop.

Abschließend bedanke ich mich bei meiner Familie. Durch viele schöne private Ereignisse hat sich das Verfassen dieser Arbeit zeitlich sehr in die Länge gezogen. Ich danke meinem Mann und meinen Kindern für ihr Verständnis und die mentale Unterstützung und meinen Eltern und Schwiegereltern für die liebevolle Kinderbetreuung, die es mir ermöglicht hat, diese Arbeit schlussendlich fertigzustellen.

## 9. Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

**Name: Janika Grunow, geb. Szymczak**



### **Ausbildung**

- 2008-2011 Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Mit Abschluss des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
- 2011-2015 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck  
Mit Abschluss des Zweiten und Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

### **Klinische Erfahrung**

- 2011 Famulatur Asklepios Klinik, Hamburg St.Georg; Kardiologie
- 2011 Famulatur Asklepios Klinik, Hamburg St. Georg; Plastische Chirurgie
- 2012 Famulatur Clinica Perfil, Belo Horizonte, Brasilien; Plastische Chirurgie
- 2013 Famulatur Notaufnahme/Chirurgische Ambulanz
- 2014 PJ Allgemein Chirurgie/Notaufnahme/Chirurgische Ambulanz, UKSH Lübeck
- 2014 PJ Allgemeinmedizin Praxis Dres. Parbs, Bad Schwartau
- 2015 PJ-Tertial Innere Medizin/Schlangenfalleinheit, Asklepios Klinik Bad Oldesloe
- 03/2015 bis 03/2016 Elternzeit
- 03/2016 bis 12/2016 Assistenzärztin Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin, UKSH Lübeck
- 01/2017 bis 07/2019 Assistenzärztin Kardiologie, Sana Kliniken Lübeck
- 05/2018 bis 07/2019 Elternzeit
- 08/2019 bis 01/2020 Weiterbildungsassistentin Chirurgie, Traumazentrum Ahrensburg
- 02/2020 bis jetzt Weiterbildungsassistentin Allgemeinmedizin, Innere Medizin im Gesundheitszentrum, Ahrensburg

Lebenslauf

### **Wissenschaftliche Erfahrung**

2012 Beginn Dissertation: Ethikantrag, Einweisung Tierexperimente

2013 Versuchsbeginn Kontrollgruppe

2013 Interventionsgruppen

2014 histochemische Auswertungsversuche

2016 histomorphologische Auswertung

2020 Verfassung Dissertation

2021 Dissertationsantrag