

Diplomarbeit

Evaluierung der Wundheilung

Möglichkeiten zur Beurteilung der Heilung von Hautwunden

eingereicht von

Philipp Kronberger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Chirurgie

Klinische Abteilung für Plastische, Ästhetische und

Rekonstruktive Chirurgie

unter der Anleitung von

Dr. med. univ. Raimund Winter

Univ. Prof. Dr.med. Lars-Peter Kamolz, MSc.

Graz, am 27.08.2019

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 27.08.2019

Philipp Kronberger eh

Vorwort

„Es ist keine Schande nichts zu wissen, wohl aber, nichts lernen zu wollen.“

Sokrates (469 v.Chr. - 399 v.Chr.)

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. med. univ. Raimund Winter für die Betreuung meiner Diplomarbeit danken. Er hat mir diese erst ermöglicht und mich während des Schreibens bei vielen Fragen unterstützt.

Weiters danke ich meinem Zweitbetreuer Univ. Prof. Dr.med. Lars-Peter Kamolz, MSc. für seine Unterstützung und auch für seine Anregungen und Kritiken zu dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das ganze Studium erst ermöglichten, mich immer unterstützen und mir die ganze Zeit zur Seite stehen.

Zusammenfassung

Hintergrund

Eine ordnungsgemäße Wundheilung ist wichtig, um die Haut, das größte Organ des Menschen, nach einer Verletzung wiederherzustellen. Die Wichtigkeit dieses Prozesses spiegelt sich in den vielen Publikationen wider, die die Regeneration der Haut untersuchen. Die Beurteilung von Hautwunden ist unerlässlich für die Forschung und auch den klinischen Alltag, um Behandlungserfolge von Therapien zu kontrollieren oder um Wunden überwachen zu können. Um ein effizientes Wundmanagement zu ermöglichen, ist es ebenso notwendig die Methoden zu kennen, und zu wissen, wie sie eingesetzt werden können. Ziel dieser Arbeit ist es, die Möglichkeiten zur Evaluierung von Hautwunden darzulegen.

Methoden

Um die verwendeten Methoden der letzten zehn Jahre zu finden, wurde für diese Arbeit die Literatur von 2009 bis 2019 zur Bewertung der Wundheilung von Haut systematisch durchsucht. Dabei wurden Artikel aus der Datenbank Medline analysiert und anhand der festgelegten Kriterien in die Studie ein- oder ausgeschlossen. Publikationen, die Hautwunden bewerteten, untersuchten oder eine Methode zur Beurteilung der Hautheilung vorstellten, wurden miteinbezogen. Ausgeschlossen wurden Studien, die Tierhaut evaluieren, reine in-vitro Bewertungen sowie Narbenbewertungen. Die Methoden wurden in ex-vivo und in-vivo unterteilt und eine Häufigkeitsverteilung der Möglichkeiten wurde erstellt.

Ergebnisse

Von den insgesamt 115 untersuchten Studien verwendeten 89 Publikationen in-vivo Beurteilungsmethoden und 13 Publikationen die ex-vivo Bewertung. Weitere 13 nutzten sowohl ex-vivo als auch in-vivo Beurteilungsmöglichkeiten. Insgesamt wurden 16 Möglichkeiten für die Analyse in-vivo und 6 für die Analyse ex-vivo gefunden.

Die häufigste in-vivo Methode – die klinische Evaluierung – wurde von 60 Studien genutzt. Die Fotometrie wurde 16-mal verwendet. Die Optische Kohärenztomographie wurde von 10 Studien als Bewertungsmöglichkeit herangezogen. Bei den ex-vivo Möglichkeiten wurde am häufigsten die Histologische Färbung mit insgesamt 24 Publikationen genutzt. Die Immunhistochemie wurde von 13 Studien durchgeführt.

Schlussfolgerung

Diese Arbeit bietet einen Überblick über die Möglichkeiten der Wundevaluierung. Dabei wird jede Methode erläutert und dessen Vor- und Nachteile angeführt. Die Literaturrecherche soll zukünftigen Autoren helfen, die richtige Methode zur Evaluierung von Hautwunden zu finden.

Abstract

Background

After an injury proper wound healing is required to restore the skin, which is the biggest human organ. The importance of this process is reflected in the density of existing publications that investigate the regeneration of the skin. Assessing skin wounds is essential for research and clinical practice to supervise the successful treatment of therapies or to monitor wounds. For efficient wound management it is necessary to know the methods to analyse wound healing. The aim of this work is to clarify the possibilities for the evaluation of skin wounds.

Methods

A literature search was performed to find the most common methods of wound healing evaluation. All publications, which were published between 2009 and 2019 in Medline were analysed and reviewed. The following inclusion criteria were applied: Studies evaluated skin wounds, showed a method for assessing the skin healing or examined human skin. If the found publications utilised animal skin, used only in vitro evaluations or showed only scar evaluations they were excluded. The found methods can be divided into ex-vivo and in-vivo. In addition, a frequency distribution of the used possibilities was created.

Results

115 studies were included in this study. 89 publications used in-vivo assessment methods, while 13 studies preferred the ex-vivo assessment. 13 publications used the ex-vivo and the in-vivo assessment. 16 different methods for the analysis in-vivo and 6 for ex-vivo were found.

The most common in-vivo method - clinical evaluation - was used by 60 studies. Photometry was used 16 times. Optical coherence tomography was utilized by 10 studies to evaluate skin healing. The most frequently used ex-vivo method was histological staining with a total of 24 publications. 13 studies utilized immunohistochemistry.

Conclusion

This article provides an overview of the possibilities for wound evaluation. Each method is explained, and its advantages and disadvantages are listed. Thus, this literature research can also help to find the right method to evaluate skin healing.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	ii
Danksagung.....	iii
Zusammenfassung.....	iv
Abstract.....	vi
Inhaltsverzeichnis.....	vii
Glossar und Abkürzungen.....	ix
Abbildungsverzeichnis.....	xi
Tabellenverzeichnis.....	xii
1 Einleitung.....	1
1.1 Die Haut.....	1
1.1.1 Aufbau.....	2
1.1.2 Funktion.....	3
1.2 Wundheilung.....	4
1.2.1 Ablauf.....	4
1.2.2 Einflussfaktoren und Ursachen schlechter Wundheilung.....	8
1.3 Wundbehandlung.....	11
2 Material und Methoden.....	12
2.1 Einschlusskriterien.....	12
2.2 Ausschlusskriterien.....	13
3 Ergebnisse.....	14
3.1 Evaluierung in vivo.....	15
3.1.1 Klinische Evaluierung.....	17
3.1.2 Fotometrie.....	19
3.1.3 Optische Kohärenztomographie.....	20
3.1.4 Laser Doppler Durchflussmessung.....	22
3.1.5 Konfokales Laser Raster Mikroskop.....	22
3.1.6 Foto-Spektrometrie.....	24
3.1.7 Transepidermaler Wasserverlust.....	25
3.1.8 Laser Doppler Bildgebung.....	25
3.1.9 Laser-Speckle-Kontrast-Analyse.....	26
3.1.10 Multiphotonentomographie.....	27
3.1.11 Thermographie.....	28

3.1.12	Bioelektrische Impedanz-Analyse	29
3.1.13	Transkutane Sauerstoffmessung.....	30
3.1.14	pH-Messung	30
3.1.15	Smartphone.....	31
3.1.16	Hochfrequenz-Ultraschall	31
3.2	Evaluierung ex vivo	32
3.2.1	Histologische Färbung	33
3.2.2	Immunhistochemie.....	34
3.2.3	Immunfluoreszenz	35
3.2.4	UV-Fluoreszenz.....	36
3.2.5	Methoden, der in vivo-Evaluierung	37
4	Diskussion.....	38
4.1	Allgemeine Ergebnisse.....	38
4.2	Evaluierung in vivo	39
4.3	Evaluierung ex vivo	45
4.4	Vergleich mit ähnlichen Studien	46
4.5	Limitationen.....	47
4.6	Schlussfolgerung.....	48
5	Literaturverzeichnis	49

Glossar und Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AF	Autofluoreszenz
AIRE	acute inflammatory reaction
α-SMA	alpha - smooth muscle actin
BrdU	Bromdesoxyuridin
CCD-Kamera	charge-coupled device - Kamera
CD-31	cluster of differentiation 31
CD-34+	cluster of differentiation 34+
CK-10	Cytokeratin 10
CK-14	Cytokeratin 14
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscope
CTGF	connective tissue growth factor
CYR61	Cysteine-rich angiogenic inducer 61
DNA	Deoxyribonucleic acid
EGF	Epidermal growth factor
FGF	Fibroblast growth factor
FGF-2	Fibroblast growth factor 2
FGF-7	Fibroblast growth factor 7
FGF-10	Fibroblast growth factor 10
FLIM	fluorescence lifetime measurements
FLPI	Full-field Laser Perfusion Imaging
GM-CSF	granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GROα / CXCL-1	growth-regulated oncogene-alpha / CXC-Chemokin-1
GTPasen	Guanosintriphosphat bindende Proteine
HB-EGF	heparin binding epidermal growth factor
HGF	hepatocyte growth factor
HIF-1α	hypoxia-inducible factor 1-alpha
HWES	Hollander Wound Evaluation Score
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-1β	Interleukin 1beta
IL-1α	Interleukin 1alpha
IL-6	Interleukin 6
IRT	infrared thermography

LCD	liquid crystal display
LDF	Laser Doppler flowmetry
LDH	Laktat-Dehydrogenase
LDI	Laser Doppler Imaging
LSCI	Laser speckle contrast imaging
MMP	Matrix-Metalloproteasen
MMP-3	Matrix-Metalloprotease 3
MMP-19	Matrix-Metalloprotease 19
MPT	Multiphoton tomography
NGF	nerve growth factor
OCT	Optical coherence tomography
OMAG	Optical microangiography
p16	cyclin-dependent kinase inhibitor
pAVK	periphere arteriellen Verschlusskrankheit
PCNA	Proliferating-Cell-Nuclear-Antigen
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
pH	potentia hydrogenii
PLGF	Placental growth factor
PUSH	Pressure Ulcer Scale for Healing
RNA	Ribonucleic acid
SAAID	SHG to AF aging index of dermis
SHG	second harmonic generation
SIA	spectrophotometric intracutaneous analysis
TcPO2	Transcutaneous oxygen measurement
TEWL	transepidermal waterloss
TGF-β	Transforming growth factor beta
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
TUNEL	TdT-mediated dUTP-biotin nick end labelling
UV	Ultraviolet
VAC	Vacuum assisted closure
VAS	Visuelle Analogskala
v.Chr.	vor Christus
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGF-A	Vascular Endothelial Growth Factor A

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau der menschlichen Haut (133)	2
Abbildung 2: Wundheilungs-Phasen	4
Abbildung 3: Entscheidungsbaum	13
Abbildung 4: Verteilung in vivo/ex vivo/beide Möglichkeiten	14
Abbildung 5: Häufigkeit der Evaluierungsmöglichkeiten in vivo.....	16
Abbildung 6: OCT - Aufbau (134).....	20
Abbildung 7: OCT-Aufnahme einer Fingerspitze (135).....	21
Abbildung 8: CLSM - Funktionsprinzip (136).....	23
Abbildung 9: Kollagenfasern in der Leber (137)	27
Abbildung 10: Thermografie - Bild einer Hand (138)	28
Abbildung 11: Häufigkeit der Evaluierungsmöglichkeiten ex vivo.....	32
Abbildung 12: Hämatoxylin/Eosin-Färbung einer Rattenhaut (139).....	33
Abbildung 13: Immunhistochemie von menschlichem Brustgewebe (140).....	34
Abbildung 14: Immunfluoreszenz menschlicher Endothelzellen (141)	36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Systemische und lokale Faktoren der Wundheilung	10
--	----

1 Einleitung

Ein Großteil des gesamten Gesundheitsbudgets wird für die Behandlung von Wunden unterschiedlichster Pathogenesen verwendet. Schätzungen zufolge leiden in Europa 1,5 - 2 Millionen Menschen an akuten oder chronischen Wunden (1). Diese werden sowohl in Krankenhäusern als auch in der Gemeinschaftsversorgung behandelt. Zusätzlich wird angenommen, dass die Verwendung von Wundverbänden die Hauptkosten im Wundmanagement ausmacht. Außerdem wird erwartet, dass die Anforderungen aufgrund von früheren Krankenhausentlassungen, der alternden Bevölkerung und zunehmenden Morbiditätsraten im Zusammenhang mit Wunden weiter steigen werden. Durch den Einsatz moderner Technologien könnten diese Kosten reduziert werden. (1)

Um ein möglichst effizientes Wundmanagement garantieren zu können, ist es notwendig die Wunde in den einzelnen Wundheilungsphasen adäquat zu beurteilen. Dieser Review befasst sich mit den Möglichkeiten zur Beurteilung der Heilung von Haut, die in den letzten 10 Jahren von Studien verwendet wurden. Damit die Evaluierungsmethoden und deren Funktionsprinzip besser nachvollziehbar sind, wird nachfolgend zuerst der Aufbau und die Funktion der Haut, sowie der Wundheilungsablauf beschrieben.

1.1 Die Haut

Das größte Organ des Menschen ist mit einer Oberfläche von 1,6 bis 2,0 m² überlebensnotwendig. Die Haut schützt uns nicht nur vor äußeren Einwirkungen, sie dient auch als Sinnesorgan und zur Thermoregulation. (2)

1.1.1 Aufbau

Grundlegend kann die Haut in folgende drei Schichten eingeteilt werden: Epidermis, Dermis und Subcutis (siehe Abbildung 1).

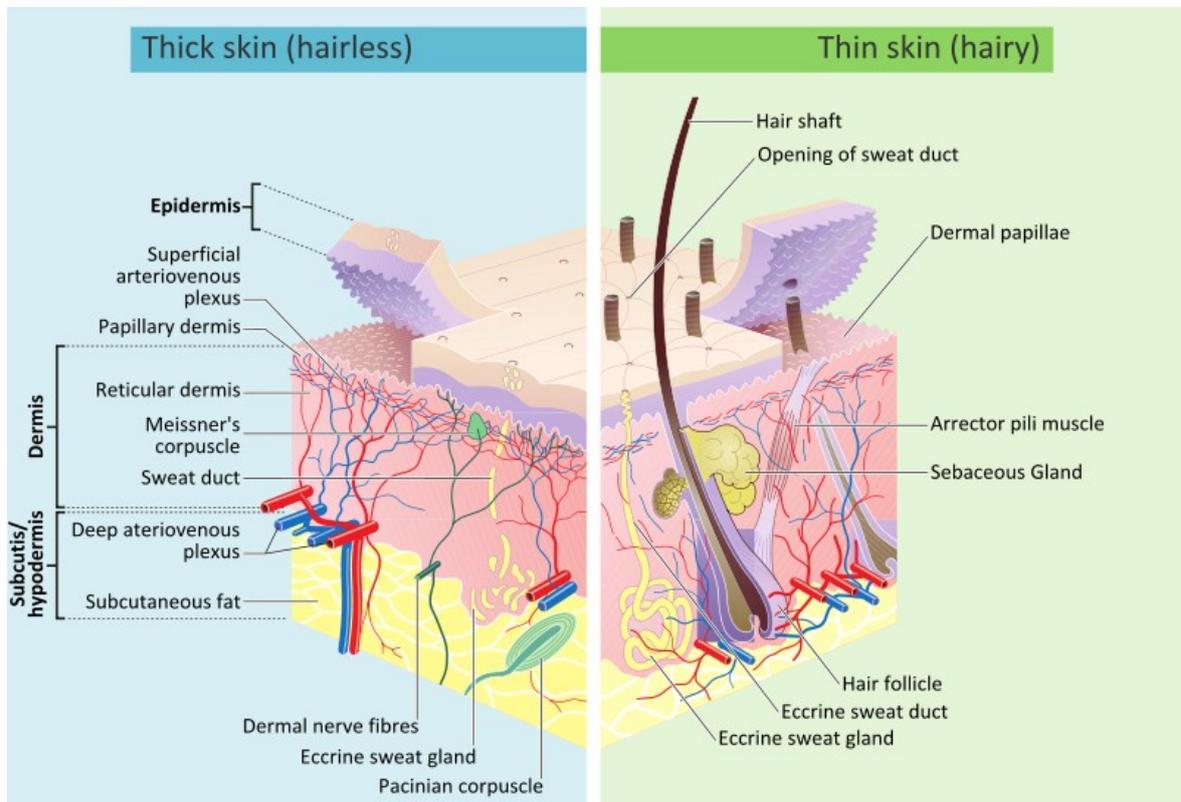


Abbildung 1: Aufbau der menschlichen Haut (133)

In der Epidermis findet man zuerst das mitotisch aktive Stratum basale. Darauf folgt das Stratum spinosum, beide zusammen werden auch Stratum germinativum genannt. In der nächsten Schicht sind lichtmikroskopisch viele Granula zu erkennen, weshalb sie Stratum granulosum genannt wird. Am oberflächlichsten liegt das Stratum corneum, dessen Zellen den Zellkern verlieren und in den obersten Lagen abschilfern. (2)

Man unterscheidet zudem zwischen der Leistenhaut, die sich an Handflächen und Fußsohlen befindet, und der Felderhaut. Das Besondere der Leistenhaut ist, dass sich zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum eine weitere Schicht, das Stratum lucidum finden lässt. Darüber hinaus ist die Hornschicht weit dicker und man kann das Papillarleistenmuster sehen. (2)

Die Dermis oder Lederhaut wird in 2 Schichten eingeteilt. Die zur Epidermis gewandte Schicht - das Stratum papillare - führt Blut-, und Lymphgefäße sowie Nerven. Darunter befindet sich das Stratum reticulare. In diesem lassen sich elastische Fasern vom Kollagen Typ 1 vorfinden, die nach der Zugbelastung ausgerichtet sind. Daraus ergeben sich auch die Spaltlinien der Haut. (2)

Die Subcutis besteht hauptsächlich aus Fettgewebe und ist von Bindegewebssepten durchzogen, die von der Dermis zur Körperfaszie führen (2).

1.1.2 Funktion

Die Haut ist sehr elastisch und dennoch zugfest. Daher bietet sie einen guten Schutz vor mechanischen Einwirkungen. Zudem dient sie als Barriere gegenüber Pathogenen oder anderen Substanzen. Dies wird auch unter anderem von einem Säureschutzmantel gewährleistet. Dabei liegt der pH-Wert der Haut bei 5,7. Außerdem schützt die Haut vor Austrocknung und Strahleneinwirkungen. (3)

Eine weitere wichtige Funktion ist die Thermoregulation. Die Wärmeabgabe erfolgt vor allem durch die Verdunstung von Schweiß. Über Epidermis, Haarfollikel oder auch Schweißdrüsen können fettlösliche Substanzen resorbiert werden, während wasserlösliche Substanzen kaum bis gar nicht aufgenommen werden. (3)

Durch spezialisierte Endkörperchen (beispielsweise Meissner-Körperchen oder die Pinkus-Haarscheibe) kann die Haut Tastempfindungen wahrnehmen. Die Temperaturrezeption wird von freien Nervenendigungen mit Kalt- oder Wärmerezeptoren gewährleistet. Die in der Haut befindlichen Nozizeptoren sprechen auf unterschiedlichste Noxen an, egal ob chemischer, mechanischer oder thermischer Natur, die Haut reagiert mit Schmerzen. Dieser Schmerzsinne dient dem Schutz vor Verletzungen. Zuletzt gibt es noch eine weitere Sinneswahrnehmung, den Juckreiz. Der Zweck des Pruritus ist es, Parasiten oder Fremdkörper loszuwerden, daher folgt dem Reiz meist ein Kratzen oder Scheuern. (3)

1.2 Wundheilung

Aufgrund der lebenswichtigen Funktionen als physikalische, chemische und bakterielle Barriere ist es von großer Bedeutung, dass die Haut nach Verletzung wieder repariert wird. Eine gute Wundheilung stellt daher auch einen evolutionären Vorteil dar (4).

Sie ist ein dynamischer, regulierter Prozess, der nach einer Verletzung beginnt und zu einem Verschluss der Haut führt. Damit eine Wunde heilen kann, ist eine gute Durchblutung von Nöten. Das Fibrin im Blut ist für die Verklebung des Wundspaltes genauso erforderlich wie Blutzellen, die tote Zellen abtransportieren oder Zytokine ausschütten. (5)

Man unterscheidet zwischen einer primären und einer sekundären Heilung. Die Heilung per primam intentionem findet nur bei glatten Wundrändern und komplikationslosem Verlauf statt. Dabei ist die Narbenbildung gering. Sobald Gewebsdefekte vorliegen oder die Wunde sich infiziert, heilt die Wunde per secundam intentionem, dies kann zu größeren Narben führen. (6)

1.2.1 Ablauf

Die Wundheilung der Haut kann prinzipiell in 4 Stadien eingeteilt werden, die sich teilweise zeitlich und räumlich überlappen (5). Dies wird auch in der nachfolgenden Grafik veranschaulicht (siehe Abbildung 2).



Abbildung 2: Wundheilungs-Phasen

Exsudative Phase (Entzündungsphase):

Die erste Phase der physiologischen Wundheilung ist die Hämostase, die makroskopisch als Blutkoagel erkennbar ist. Hier wird bereits Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt, um die Wundränder zusammenzuhalten. Verletzte Zellen schütten Prostaglandine und Thromboxane aus, die unter anderem einen Epinephrin-Anstieg verursachen. Dadurch kommt es in den ersten 15 Minuten zu einer Vasokonstriktion, auch um den Blutverlust zu reduzieren. Danach werden die Gefäße wieder weit, man findet eine Vasodilatation vor, die den Austausch zwischen der Blutbahn und der Wunde verbessert. (5)

Granulozyten und Makrophagen beseitigen Fremdkörper, Bakterien und tote Zellen. Die Abwehrzellen aktivieren die Entzündung und halten sie aufrecht, indem sie Zytokine wie IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und TNF- α ausschütten. Die Botenstoffe FGF-2, IGF-1 und TGF- β fördern die Kollagensynthese, wobei TGF- β bereits die Wundkontraktion vorantreibt, indem es Fibroblasten zu Myofibroblasten differenzieren lässt. Zusätzlich aktivieren FGF-2, VEGF-A, HIF-1 α und TGF- β bereits die Angiogenese und EGF, FGF-2, IGF-1, TNF- α fördern die Reepithelisierung. (7)

Das Ausmaß der Entzündung korreliert mit der Größe der Narbe, das zeigen auch Studien die beweisen, dass die fehlende Entzündung bei Föten in eine narbenlose Wundheilung resultiert (7).

Bei der Wunde entstehen eine Hyperämie, eine damit verbundene Rötung sowie ein Ödem. Meist werden große Mengen an Exsudat abgegeben, damit will der Körper die Wunde reinigen. Deswegen wird dieses Stadium auch exsudative Phase genannt. (5)

Granulationsphase (Proliferationsphase):

Am 4. Tag beginnt die Granulationsphase. Durch Fibronectin können Fibroblasten, Endothelzellen und Monozyten, die dann zu Makrophagen werden, vom Wundrand ausgehend einwandern. Dabei regen TGF- β , NGF, CTGF, CYR61 und PDGF die Fibroblasten-Migration an. Am Rand wird das tote Gewebe abgebaut und neue Zellen, darunter Bindegewebszellen und Blutgefäßzellen, werden aufgebaut. Fibroblasten bilden Hyaluronsäure, Dermatansulfat, Chondroitin und Heparansulfat. Diese Gesamtheit nennt sich dann Granulationsgewebe. Dabei bestimmen einspritzende Kapillaren das makroskopische Bild. In diesem Wundstadium spielt die Angiogenese und Neovaskularisation eine wichtige Rolle. Mehrere Zytokine, wie TGF- β , FGF, VEGF und Angiopoietin induzieren die Neubildung von Gefäßen genauso wie die Konditionen in der Wunde (erniedrigter pH-Wert, erhöhtes Laktat, erniedrigter Sauerstoff). (5)

Die aktivierten Endothelzellen sezernieren proteolytische Enzyme, um die Basallamina auflösen. Somit können sie sich vermehren und in die Wunde einwandern. Dabei orientieren sich die Endothelzellen an oberflächlichen Adhäsionsmolekülen, wie beispielsweise den Integrinen. Außerdem setzen sie Matrix-Metalloproteinasen (MMP) an der Vorderseite der Proliferation frei und lysieren so das umgebende Gewebe für eine kontinuierlichen Vermehrung der Endothelzellen. Diese bilden zuerst kleine röhrenförmige Kanäle, danach differenzieren sich die neuen Gefäße in Arterien und Venolen. Durch Rekrutierung von Perizyten und glatten Muskelzellen wird die Gefäßwand stabilisiert. Der beginnende Blutfluss schließt den Prozess ab. (7)

Dabei ist anzumerken, dass ein deutliches Muster der neu gebildeten Gefäße beschrieben werden kann. Sie bilden einen Ring direkt an der Wundgrenze aus, der von radial angeordneten Gefäßen versorgt wird und sich mit Blutbahnen der normalen, unverletzten Haut verbindet (4).

Epitheliale Regeneration:

Keratinocyten, die vom Wundrand und von den Hautanhangsgebilden kommen, wandern in die äußerste Schicht des Granulationsgewebes ein. Dort befindet sich eine Matrix aus Kollagen Typ 5, Fibronectin und Fibrin. Dabei dient Fibronectin oft als Leitstruktur für die Migration. Damit diese auch von statten geht, sind Zytokine wie FGF-2, FGF-7, FGF-10 und TGF- β , sowie die vorher beschriebene Wundkondition, von zentraler Bedeutung. Für die Vermehrung der Keratinozyten sorgen die folgenden Botenstoffe: NGF, HGF, GRO α /CXCL-1, HB-EGF, GM-CSF und IL-6. (5)

Durch die Aufhebung der physiologischen Spannung bei Desmosomen und Hemidesmosomen werden unter anderem membranassoziierte Kinasen aktiviert, welche die Permeabilität für Ionen, wie beispielsweise Kalzium, erhöhen. Dies verursacht wiederum an den Wundrändern ein Startsignal, das die Zellen dazu bringt ihre Filamente in Migrationsrichtung auszurichten. Die Keratinozyten gelangen über die oben angeführte Matrix in das Zentrum der Wunde. Dabei bewegt sich die Zelle unter Ausbildung von Lamellipodien fort. Diese Zytoskelett-Mechanismen werden durch GTPasen reguliert. Sie sind für die intrazelluläre Organisation von Fasern und für einen geordneten Epithelisierungsprozess ebenso essentiell, wie für die Beendigung der Migration. Als bald sich die migrierenden Zellen berühren, werden die GTPasen wahrscheinlich ausgeschaltet und die gegenüberliegenden Epithelien verschmelzen, um die Wunde schlussendlich wie ein Reißverschluss zu schließen. (7)

Hautwunden schließen sich durch Epithelisierung und Wundkontraktion, dabei gibt es aber je nach Spezies Unterschiede. Beispielsweise verschließen Nagetiere ihre Wunden hauptsächlich durch Kontraktion, während beim Menschen die Reepithelisierung bis zu 80% des Wundverschlusses ausmacht (4).

Remodellierungsphase:

Ab dem 8. Tag überziehen Epithelzellen das unvollständige Bindegewebe. Das reparative Stadium zeichnet sich durch die Epithelisierung, Wundkontraktion sowie durch die Narbenbildung aus. Das Granulationsgewebe wird umgebaut, dabei ordnen sich die Kollagenfasern. Sie richten sich parallel aus und das Kollagen-Typ III wandelt sich in Kollagen Typ I um. Das somit entstandene Narbengewebe ist fest und wenig flexibel, da es zu keiner Elastin-Bildung mehr kommt. (5)

Myofibroblasten helfen durch ihre Anlagerung an Kollagen die Oberfläche der sich entwickelnden Narbe zu verringern. Der Blutfluss nimmt ab und die Aktivität des Wundstoffwechsels verlangsamt sich und stoppt schließlich. Im Gegensatz zur Wundheilung bei Föten erholt sich die Haut niemals vollständig. Subepidermale Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel oder Schweißdrüsen wachsen nach schwerer Verletzung nicht nach und haben kein Heilpotenzial. (7)

Sollte die Verletzung nicht die gesamte Haut durchtrennen, sondern nur einen Teil, bleiben die Hautanhangsgebilde intakt (4). Bis alle Wundheilungsprozesse im Narbengewebe abgeschlossen sind, kann es bis zu einem Jahr dauern (5).

1.2.2 Einflussfaktoren und Ursachen schlechter Wundheilung

Eine Wunde wird als chronisch bezeichnet, wenn sie sich nicht innerhalb eines Monats verschließt (5). Prinzipiell kann man zwischen lokalen und systemischen Faktoren unterscheiden (8), die auch in Tabelle 1 ersichtlich sind.

Als ein systemischer Einfluss gilt beispielsweise das Alter. Auch eine Mangelernährung kann die Wundheilung verlangsamen, da die benötigten Proteine, Vitamine und Mineralstoffe fehlen (8).

Zum Beispiel ist Vitamin C als Cofaktor für die Kollagenvernetzung erforderlich und an der Verringerung von oxidativem Stress beteiligt. Ein Vitamin C-Mangel führt auch zu einer höheren Anfälligkeit für Wundinfektionen. Ebenso hat Vitamin A einen nachweisbaren Nutzen bei der Wundheilung. Zudem ist Zink ein wesentlicher Cofaktor bei der DNA- und RNA-Synthese, sowie bei den, Matrix-

Metalloproteinasen. Dadurch führt ein Mangel an Zink zu einer schlechteren Wundheilung. (9)

Auch Medikamente, die die Zellteilung hemmen oder das Immunsystem dämpfen, haben einen negativen Effekt auf den Wundverschluss. Gewohnheiten wie Rauchen und Alkoholkonsum, sowie Fettleibigkeit und chronische Erkrankungen - darunter Diabetes und Gefäßerkrankungen - verschlechtern die Wiederherstellung der Haut (8).

Bei der Stoffwechselerkrankung Diabetes sind oft Bagatelverletzungen der Auslöser, die Polyneuropathie sowie eine schlechte Durchblutung verhindern ein komplikationsloses Abheilen (5). Das zeigt auch, dass Sauerstoff für die Wundheilung von zentraler Bedeutung ist (9).

Weitere Faktoren, die nicht außer Acht gelassen werden dürfen, sind Stress und Schmerz. Der Fortschritt der Wundheilung wird durch das Vorhandensein von Stressfaktoren und Schmerzzuständen negativ beeinflusst. Es gibt auch Hinweise darauf, dass die Ausschüttung von Cortisol als Antwort auf den Stress eine Verringerung der Zytokine, die an der Gewebereparatur beteiligt sind, bewirkt. Im Krankenhaus sind daher die Schmerzkontrolle und eine dementsprechende Therapie vor allem auch bei chronischen Wunden sinnvoll. (10)

Lokale Einflüsse, die eine Minderdurchblutung verursachen, sind beispielsweise arterielle Verschlüsse oder venöse Probleme (8).

Dabei ist ein häufiger Grund für Wundheilungskomplikationen die pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit), aber auch die chronisch venöse Insuffizienz verhindert durch das Ödem und der daraus resultierenden Hypoxie eine ungestörte Wundheilung. (5)

Beim Verband ist es wichtig, dass die Wunde weder zu trocken, noch zu nass ist und nicht zu fest angelegt wird, damit eine adäquate Durchblutung gewährleistet ist. Nekrotisches Gewebe im Wundbett oder übermäßige Wundspannung verhindern ebenso eine komplikationslose Heilung der Wunde. Natürlich verschlechtert auch eine übermäßige Entzündung den Wundstatus. Repetitive Traumata sind genauso Einflussfaktoren, die vermieden werden sollten. (8)

Durch übermäßigen Druck an einer Stelle kann ein Dekubitalulzera entstehen, dabei tritt bereits nach 2 Stunden Druckeinwirkung eine Schädigung des Gewebes auf. Diese Problematik betrifft Patienten/innen, die ihr Gewicht nicht mehr verlagern können und ans Bett gebunden sind. Auch durch Strahlung können Hautschäden verursacht und die Wundheilung gestört werden. Dabei wirken ionisierende Strahlen nicht nur an der Oberfläche, sondern auch auf tieferliegende Strukturen. Das erste sichtbare Zeichen ist das Erythem auf der Haut. (5)

Tabelle 1: Systemische und lokale Faktoren der Wundheilung

Systemische Faktoren

Hohes Alter

Mangelernährung

Medikamente (zum Beispiel Immunsuppressiva und Zytostatika)

Gewohnheiten (zum Beispiel Rauchen und Alkoholkonsum)

Fettleibigkeit

Chronische Erkrankungen (zum Beispiel Diabetes)

Stress und Schmerz

Lokale Faktoren

Vaskuläre Probleme

Falsches Verbandsmaterial, Wunde zu nass / zu trocken

Nekrosen

Übermäßige Entzündung

Repetitive Traumata

Druck

Strahlung

1.3 Wundbehandlung

Im Allgemeinen heilen Wunden ohne Probleme. Bei der Wundbehandlung gilt es eine Hypoxie, eine Infektion, große Ödeme, Nekrosen und Fremdkörper zu vermeiden. Diese Faktoren würden die normale Heilung unterbrechen und eine chronische Wunde kann entstehen. (9)

Am Beispiel der chirurgischen Inzision (Primärheilung) ist der Schlüssel zum Erfolg das Vermeiden von Spannung an der Inzisionslinie. Ist die Naht zu stark gespannt, kann es zu einer lokalen Ischämie und zu daraus resultierenden Nekrosen kommen. Durch Spannungsnähte in tieferen Schichten kann die Belastung lokal auf das umliegende Gewebe verteilt werden (9).

Bei der sekundären Heilung ist ein sauberes Wundbett von großer Wichtigkeit. Dies kann durch Verwendung von Hydrogelen und transparenten Filmen erreicht werden, die wasserdicht und für Bakterien undurchlässig sind (9).

Um ein sauberes Wundbett zu erhalten, muss man die Nekrosen entfernen. Durch das sogenannte Debridement kann man eine chronische Wunde in eine aktive, heilende Wunde umwandeln. Ziel ist es, das nekrotische Gewebe zu entfernen. Oft werden im Zuge des Debridements auf den ersten Blick nicht sichtbare Bereiche entdeckt, wodurch eine weitaus größere Wunde erkennbar wird, als ursprünglich angenommen. Dabei sollten die Nekrosen entfernt werden, bis man auf gesundes blutendes Gewebe stößt. (9)

Um eine adäquate Wundbehandlung anzubieten, ist eine Beurteilung der Wunde von Nöten, auch um auf den Zustand der Verletzung reagieren zu können und eine richtige Therapie anzuwenden. Die Beurteilung einer Wunde und der Umgebung ist somit für die Diagnose, Behandlung und Untersuchung von wesentlicher Bedeutung. Dabei sollte die Verletzung nicht isoliert betrachtet werden, sondern auch der Patient / die Patientin als Ganzes. Eine vollständige Wundbeurteilung muss daher nicht nur das Ausmaß der Wunde und ihrer Umgebung umfassen, sondern auch die Untersuchung des Menschen an sich (11).

2 Material und Methoden

Für diesen Artikel wurde die Literatur zur Bewertung der Wundheilung von Haut systematisch durchsucht. Unter Verwendung der folgenden Schlüsselwörter: „Evaluation“, „skin healing“, „human skin“, „skin healing assessment“ wurde nach verfügbarer Literatur, die bis zum 25. März 2019 veröffentlicht wurde, gesucht. Kombinationen der Schlüsselwörter, wie „Evaluation Human skin healing“ und „Human skin healing assessment“ wurden ebenfalls verwendet. Insgesamt wurden von Dezember 2018 bis zum 25. März 2019 2507 Artikel aus der Datenbank Medline (Pubmed und Cochrane Database) analysiert.

Die gefundenen Studien wurden zunächst mit den Filtern „nicht älter als 10 Jahre“ sowie den Sprachfiltern „Deutsch“ und „Englisch“ versehen. Dabei konnten 1305 Publikationen ausgeschlossen werden. Bei den somit vorsortierten Studien wurde der Titel und der Abstract gelesen, um Artikel auszuschließen, die die Suchkriterien nicht erfüllten. Anhand dieser Kriterien konnten insgesamt weitere 1087 Publikationen ausgeschlossen werden.

Anschließend wurden die gefundenen Publikationen aufgearbeitet und zur Übersicht in die drei Kategorien „In vivo“, „Ex vivo“ und „In vivo und Ex vivo“ eingeteilt (siehe Abbildung 3). Diese Einteilung wurde gewählt, um erkennen zu können, ob eine Methode eine Gewebsentnahme voraussetzt und ob die Möglichkeit direkt am Menschen durchgeführt werden kann.

Weiters wurde evaluiert wie oft die eingeschlossenen Studien die gefundenen Methoden verwendeten. Dafür wurde mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Office Excel®, Microsoft Corporation, Redmond, Washington) eine Tabelle erstellt, in der die Evaluierungsmöglichkeiten 1 Punkt bekommen, wenn sie verwendet wurden und 0 Punkte, wenn sie nicht verwendet wurden. Danach wurde ermittelt zu welchem Prozentsatz die einzelnen Methoden genutzt wurden.

2.1 Einschlusskriterien

Studien wurden in die Überprüfung einbezogen, wenn sie die folgenden Kriterien erfüllten:

- Studien über Evaluierungen von Hautwunden
- Studien, die eine Methode zur Beurteilung der Heilung von Haut zeigen
- Studien, die menschliche Hautwunden untersuchen (in vivo oder ex vivo)

2.2 Ausschlusskriterien

Studien wurden von dieser Überprüfung ausgeschlossen, wenn sie eines der folgenden Kriterien erfüllten:

- Älter als 10 Jahre
- Sprache weder Englisch noch Deutsch
- Komplette Studie war nicht verfügbar
- Studien verwendeten Tierhaut
- Studien verwendeten nur in vitro-Evaluierungen
- Studien zeigten nur Evaluierungen für Narben
- Klinische Fallberichte

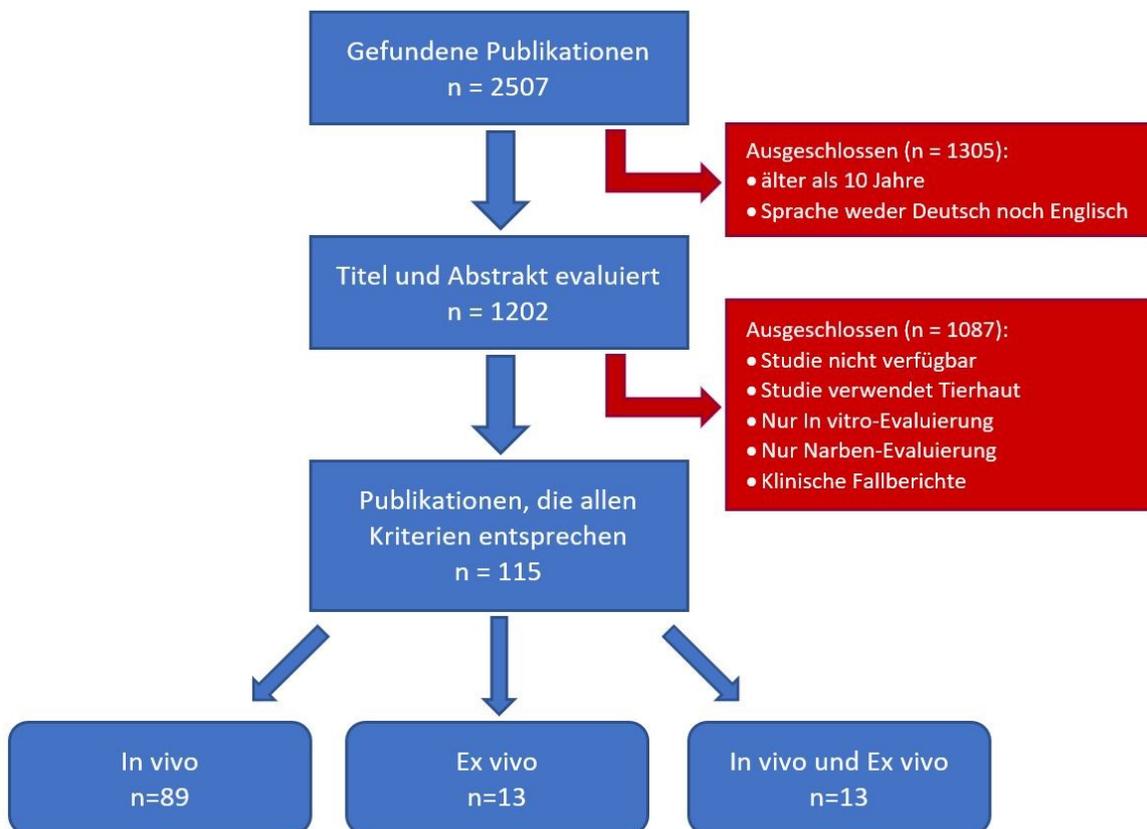


Abbildung 3: Entscheidungsbaum

3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 115 Publikationen gefunden, die den Suchkriterien entsprachen. Davon verwendeten 89 (78%) eine Evaluierung der Wundheilung von menschlicher Haut in vivo, 13 (11%) Studien evaluierten nur ex vivo und 13 (11%) benutzten beide Möglichkeiten (siehe Abbildung 4).

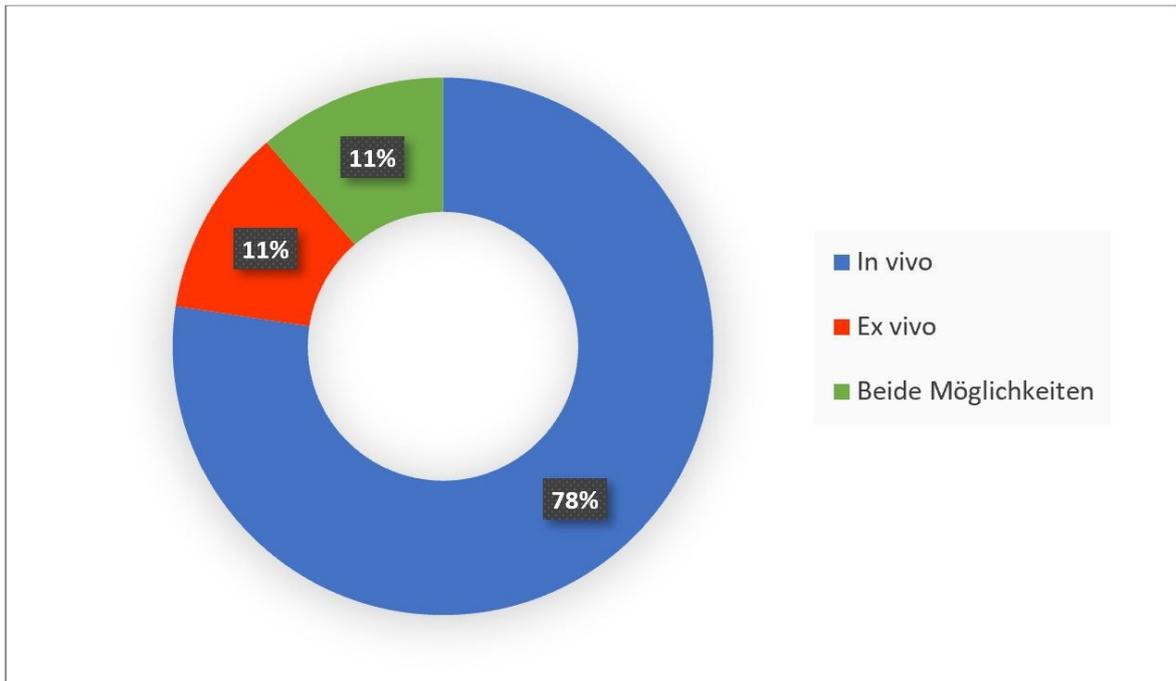


Abbildung 4: Verteilung in vivo/ex vivo/beide Möglichkeiten

Für eine bessere Übersicht und um zu erkennen welche Möglichkeiten eine Gewebsentnahme voraussetzten, werden nachfolgend die Methoden zur Wundheilungsbeurteilung in 2 Gruppen unterteilt: In vivo und ex vivo.

3.1 Evaluierung in vivo

Bei der Evaluierung in vivo wurden insgesamt 16 Möglichkeiten für die Wundanalyse gefunden. Es ist anzumerken, dass mehrere Studien nicht nur eine Methode zur Bewertung der Wundheilung nutzen, sondern oft zwei oder mehr.

Insgesamt verwendeten 60 Studien (59% der in vivo Publikationen) die klinische Beurteilung als Evaluierungsmöglichkeit. Von den in vivo Studien nutzten 16% (n=16) die Fotometrie, um Wunden zu beurteilen. Die Optische Kohärenztomographie wurde von 10 Publikationen (10%) als Tool zur Bewertung von Hautschäden in vivo gewählt.

Die Laser Doppler Durchflussmessung wurde 9-mal (9%) verwendet. Insgesamt 7% (n=7) der eingeschlossenen in vivo Studien setzten das konfokale Laser Raster Mikroskop ein. Ebenso häufig (n=7, 7% der in vivo Publikationen) wurde die Foto-Spektrometrie genutzt, um Wunden zu beurteilen.

Auch der transepidermale Wasserverlust wurde 7-mal (7%) für die Wundanalyse ermittelt. Die Evaluierung mittels einer Laser Doppler Bildgebung wurde von 6% der in vivo Studien (n=6) durchgeführt. Gleichermaßen oft wurde die Laser-Speckle-Kontrast-Analyse genutzt (n=6, 6%).

Die Multiphotonentomographie wurde in 5% (n=5) der in vivo Publikationen verwendet. Die Thermographie wählten 4 Publikationen (4%) als Tool zur Bewertung von Hautwunden. Genauso viele (n=4, 4%) nahmen die Bioelektrische Impedanz-Analyse als Evaluierungsmethode.

Die transkutane Sauerstoffmessung wurde 3-mal (3%) zur Beurteilung von Wunden herangezogen.

Die pH-Messung wurde in 2 (2%) Studien angewandt. Ebenso oft (n=2, 2%) wurden spezielle Apps am Smartphone als Evaluierungsmethode eingesetzt. Den Hochfrequenz-Ultraschall nutzte 1 (1%) Publikation.

Die hier angeführten Daten werden auch in der nachfolgenden Abbildung grafisch veranschaulicht (siehe Abbildung 5).

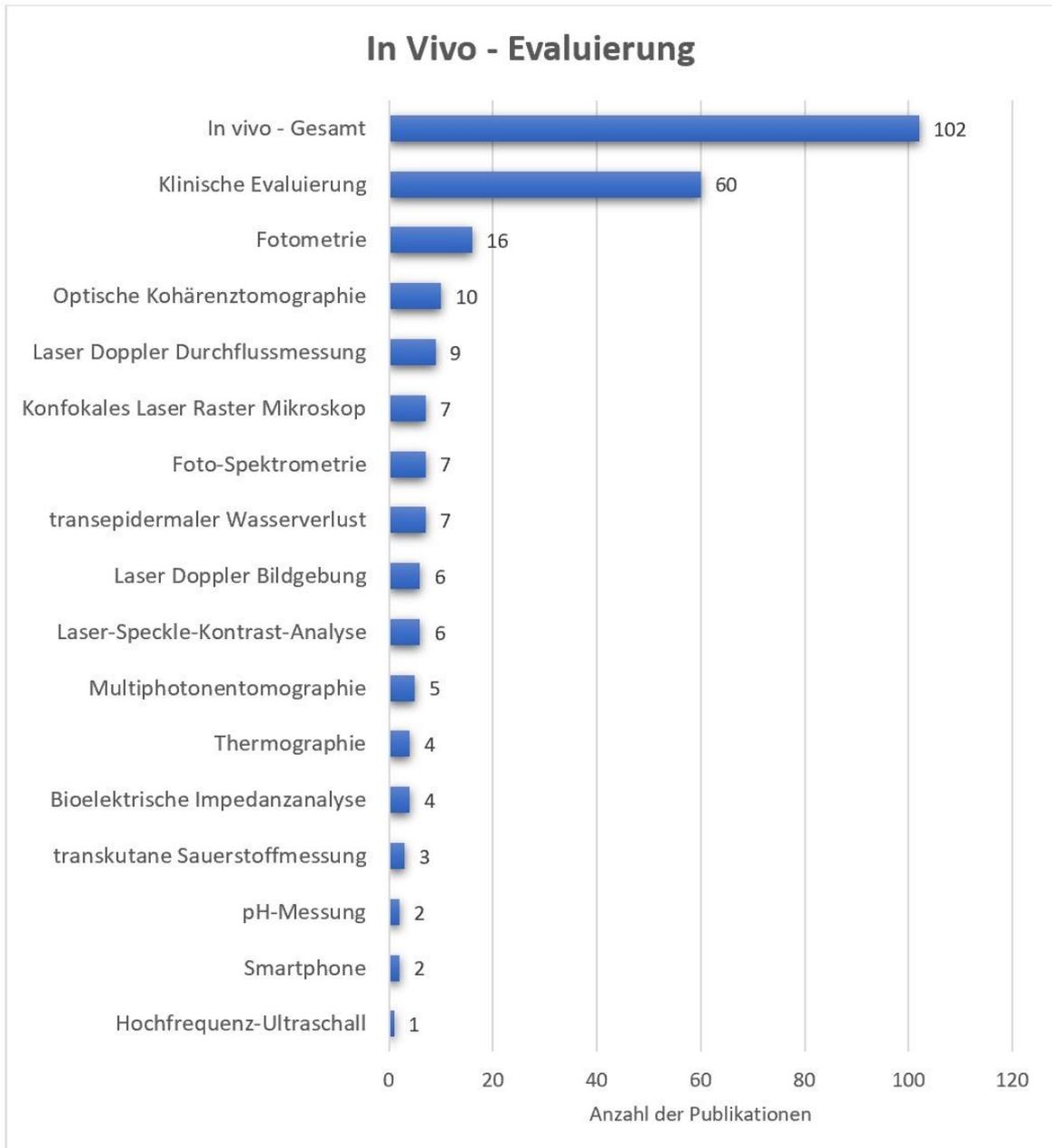


Abbildung 5: Häufigkeit der Evaluierungsmöglichkeiten in vivo

3.1.1 Klinische Evaluierung

Für die Evaluierung der Wundheilung können mehrere Wundparameter verwendet werden. Grundlegende Parameter sind zum Beispiel die Wundätiologie, die Wunddauer, die Größe, die Tiefe, die Lokalisation sowie der Zustand der umgebenden Haut und des Wundbetts. Weitere Möglichkeiten sind die Erfassung von Entzündungszeichen, der Exsudatmenge, des Geruches, des Kontaminationsgrades (beispielsweise durch einen Abstrich) und der Schmerzen. Dabei sind vorher festgelegte Skalen von Vorteil (12).

Die klinische Bewertung erfolgt meistens beim Verbandswechsel, das Beobachten der Wunde über die Zeit, um eine Verschlechterung, eine Stagnation oder eine Verbesserung zu erkennen, bietet sich als eine Möglichkeit an, um Wunden zu evaluieren (13–15). Ebenso wird die Anzahl der Verbandswechsel zur Bewertung herangezogen (16).

Häufig werden die Tage bis zur vollständigen Heilung als Vergleichsparameter verwendet (17–19). Alternativ kann man die Reduktion der Wundfläche in einem festgelegten Zeitraum bewerten (20,21) und zusätzlich die Reduktion in cm^2 pro Tag berechnen (22).

Um die Größe einer Wunde zu berechnen misst der Untersucher / die Untersucherin mit einem Lineal die Breite und Länge (23). Bei der volumetrischen Messung kann man die Wunde mit einem transparenten Klebfilm bedecken und den so entstandenen Hohlraum mit einer Kochsalzlösung füllen. Die erforderliche Menge entspricht dem Volumen der Wunde (24).

Um den Wundbettstatus zu beurteilen, wird das vorhandene Fibringewebe, das Granulationsgewebe sowie das Epithelgewebe untersucht und bewertet (25). Der Zustand der umgebenden Haut kann beispielsweise anhand des Rötungsgrades beurteilt werden (13,26) oder in Gruppen (gesund; mazeriert; trocken / ekzematös) eingeteilt werden (27,28).

Oft werden lokale entzündliche Reaktionen wie Erythem, Ödem, Schmerz, Temperatur und Eiter evaluiert (29,30). Dabei gibt es unterschiedliche Bewertungsschema.

Eine Option stellt die AIRE („akute inflammatorische Reaktion,“) - Evaluierung dar, bei der die einzelnen Entzündungszeichen anhand einer 4-Punkte-Schweregradskala beurteilt werden (31).

Die European Wound Management Association beschreibt 4 Stadien (32):

- Stadium 1: leichte Anzeichen einer Infektion, normale Wundheilung
- Stadium 2: zunehmende Anzeichen einer Infektion, Wundheilung stagniert
- Stadium 3: klare Anzeichen einer Infektion, die Wunde verschlechtert sich
- Stadium 4: klare Anzeichen einer Infektion mit systemischer Beteiligung bis hin zu Sepsis und Organversagen

Eine Studie von Lockmann et al. verwendet ein Testsystem um die Protease-Aktivität zu bestimmen und somit auf eine Entzündung schließen zu können (33).

Die Menge an Exsudat kann ebenso für die Wundheilungsevaluierung herangezogen werden, dabei kann man sowohl die Menge als auch den Typ des Sekrets beurteilen (27,34). Das Exsudat-Volumen korreliert mit der Oberfläche der Wunde, größere Wunden erzeugen oft mehr Exsudat (35).

Eine weitere Methode ist es, den Geruch beim Verbandswechsel zu bewerten, beispielsweise anhand einer Fünf-Punkte-Skala (13).

Die Schmerzen können unter Verwendung einer visuellen Analogskala von Johns Hopkins (VAS) von 0 = keine Schmerzen bis 10 = die denkbar schlimmsten Schmerzen (25,36,37) oder mit einem verbalen Rating gemessen werden (38,39). Eine Studie von Rashaan et al. verwendet die Evaluierung mittels Schmerzskala auch bei Brandwunden (40).

Weitere Möglichkeiten sind der Hollander Wound Evaluation Score (HWES), die bestimmte Merkmale der Wunde und auch die Kosmetik bewertet (41) oder auch der Holger's Scale (42).

Insbesondere bei chronischen Wunden gibt es Fragebögen, die die Zufriedenheit der Patienten / Patientinnen miteinbeziehen, zum Beispiel die Cardiff Wound Impact Schedule (43) oder der Disability Index of Health Assessment Questionnaire (44).

Für chronische Ulzerationen hat sich das PUSH-Tool als nützlich erwiesen, dabei werden 3 Parameter evaluiert, die Größe (0–10 Punkte), das Exsudat (0–3) und das Aussehen der Wundoberfläche (0–4). Die einzelnen Parameter werden summiert und man erhält eine Zahl zwischen 0 und 17 (45,46).

3.1.2 Fotometrie

Bei der 3D-Fotometrie handelt es sich um eine dreidimensionale Rekonstruktion einer Wunde. Das Gerät projiziert strukturierte Lichtblitze auf eine Oberfläche und erkennt anschließend das reflektierende Licht. Mit dieser Information kann der Scanner Unterschiede in der Textur und der Höhe erkennen, die zu einer realistischen Rekonstruktion führen. Der gescannten Oberfläche wird anschließend ein farbiges Bild hinzugefügt und es entsteht ein vollfarbiges, dreidimensionales Bild der Wunde. Während des Scanvorgangs sollte der Patient / die Patientin ruhig bleiben, um Artefakte zu vermeiden (47).

In einem Software-Programm können die Oberfläche und das Volumen vermessen werden (48,49). Dabei bleibt das Gerät tragbar, ist kontaktlos und präsentiert sich ähnlich genau wie eine Computertomographie-Volums-Messung (50). Mehrere Studien verwenden diese Methode zur Evaluierung von Wunden (51,52) und Brandwunden (53).

Eine Variante ist die 2D-Fotometrie, dabei wird ein digitales Bild von einer Software analysiert. Der Bereich der Wunde muss vorher markiert werden, damit die Anzahl der Pixel berechnet werden kann (54). Die Wundoberfläche (engl.: wound surface area oder kurz WSA) kann nach Umwandlung in Quadratmillimeter angegeben werden (55).

Auch die Reepithelisierung kann man durch eine standardisierte digitale Wundfotografie messen, eine Software kann anhand eines vorher angegebenen Farbkontrastcodes zwischen epithelisierten und nicht-epithelisierten Oberflächenbereichen unterscheiden und somit den Verlauf der Wundheilung beurteilen (56–58).

Dabei kann das Programm auch verwendet werden, um Hautirritationen zu vergleichen, indem die Häufigkeit der roten Farbe ermittelt (59). Eine andere Studie bestimmt damit den Erythem-Index (60).

3.1.3 Optische Kohärenztomographie

Die optische Kohärenztomographie (engl.: Optical coherence tomography oder kurz OCT) funktioniert analog wie die Sonographie, nur wird hier Licht anstelle von Schall verwendet. Breitbandiges Licht wird über einen Strahlenteiler auf die Probe und auf einen Spiegel gelenkt. Das reflektierte Licht von der Probe interferiert mit dem zurückgeworfenen Licht des Spiegels und ein Detektor bildet daraus ein eindimensionales Tiefenbild (siehe auch Abbildung 6). Mehrere Bilder können zu einem dreidimensionalen Bild zusammengeführt werden (Abbildung 7). (61)

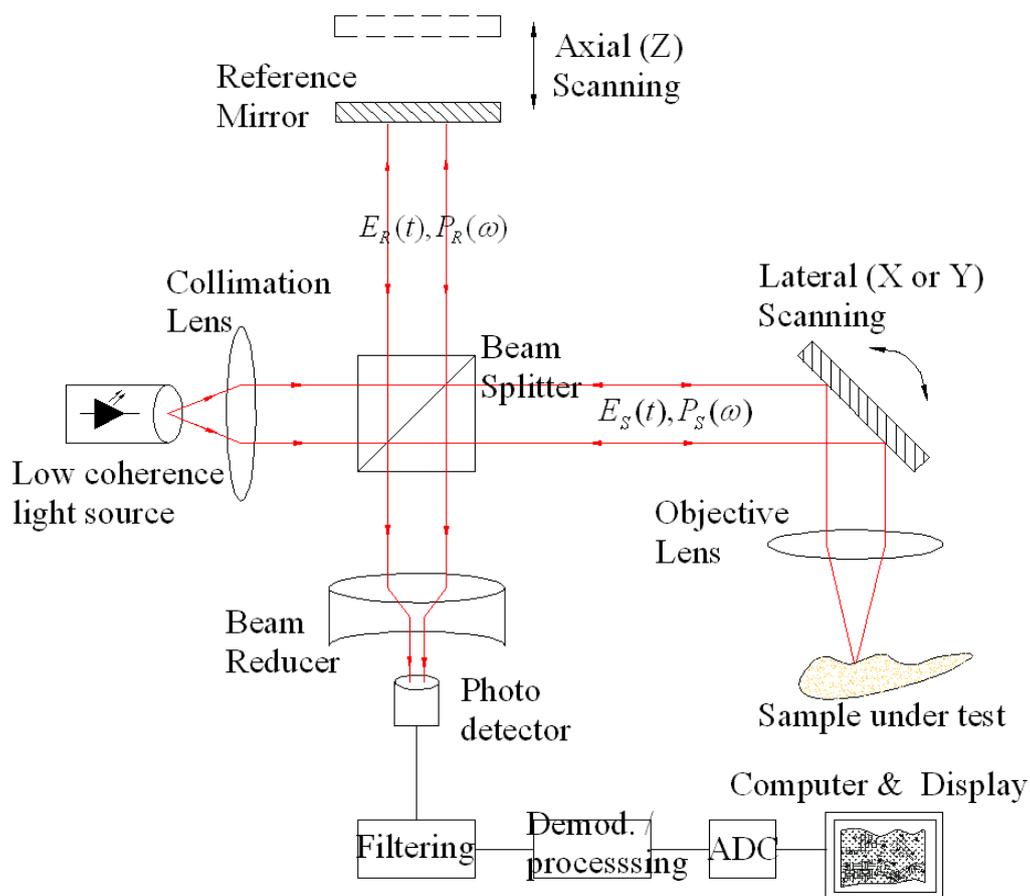


Abbildung 6: OCT - Aufbau (134)

Die OCT liefert Bilder mit einer Tiefe von bis zu 2mm und einer lateralen Auflösung von $1\mu\text{m}$, wobei hier Unterschiede zwischen den Geräten und der verwendeten Wellenlänge des Lichts entstehen (62).

Eine in-vivo-Bewertung der Haut ist mit einer OCT gut durchführbar, man kann die Vasokonstriktion, Vasodilatation und auch die Epithelisierung erkennen. Die Bilder sind mit der Histopathologie vergleichbar und die OCT kann daher als Diagnoseinstrument für die Überwachung von Wundheilungsprozessen herangezogen werden. Die Angiogenese, die für die Wundheilung von besonderer Bedeutung ist, kann mittels der OCT durch eine Zunahme von Blutgefäßen in der Proliferationsphase beobachtet werden. (61)

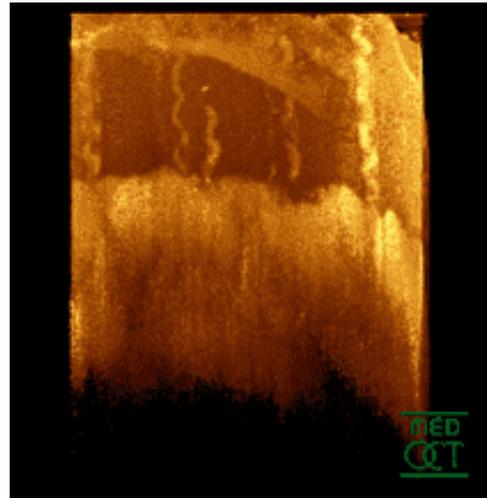


Abbildung 7: OCT-Aufnahme einer Fingerspitze (135)

Die Studie von Greaves et al. bestätigt die gute Kongruenz zwischen dem Goldstandard Histopathologie und der OCT. Diese wird als gute Alternative zu Stanzbiopsien bezeichnet. Man kann mit der optischen Kohärenztomographie architektonische Veränderungen in der entzündlichen, proliferativen und remodellierenden Wundheilungsphase beurteilen. (62)

Weitere Studien bestätigen, dass die Ergebnisse zwischen histologischen Befunden und OCT-Bildern vergleichbar sind (55,61,63). Sie ermöglichen insbesondere den Nachweis und die Quantifizierung von Substanzdefekten (64) und helfen auch dabei chronische Wunden zu evaluieren (65).

Eine besondere Form der OCT, die OCT-Angiographie (engl.: Optical microangiography oder kurz OMAG) nutzt die Bewegung der roten Blutkörperchen aus. Während das Gewebe annähernd statisch bleibt, verändert sich das Signal durch den Blutfluss im Gefäß und es ist möglich dies als Bild darzustellen. Diese Bilder zeigen eine detaillierte Darstellung der funktionalen Mikrogefäße menschlicher Haut und man kann damit den Fortschritt der Wundheilung überwachen. (66)

In einer Studie von Baran et al. wurden Akneläsionen mit der optischen Mikroangiographie untersucht und sie konnten dank der hohen Empfindlichkeit Mikrogefäße bis hin zur Kapillarebene abbilden. Die umgestalteten Gefäße rund um die Akneläsion wurden visualisiert, die OMAG ermöglichte eine Abbildung des Gewebes bis zu einer Tiefe von 1,5mm ohne Bedarf an Kontrastmitteln. Zusätzlich kann man die Gewebsstrukturen im dreidimensionalen Raum betrachten. (67)

3.1.4 Laser Doppler Durchflussmessung

Die Laser-Doppler-Durchflussmessung (engl.: Laser Doppler flowmetry oder kurz LDF) verwendet Laserlicht und nutzt den Dopplereffekt, um den Blutfluss zu messen. Die Bewegung der Erythrozyten löst eine Doppler-Verschiebung aus. Damit kann auf die Geschwindigkeit und den Blutfluss geschlossen werden. (68)

In der Wundheilung ist der Blutfluss von großer Bedeutung und die LDF ist eine hervorragende nichtinvasive Methode zur Messung der Mikrozirkulation in der Haut. Die LDF ist eine gute Möglichkeit, um eine direkte Beurteilung der mikrovaskulären Funktion in Echtzeit durchzuführen. (55,69)

Andere Studien nutzen die Laser-Doppler-Durchflussmessung, um mittels des Blutflusses und der Geschwindigkeit die Funktion der Wundheilung im Allgemeinen (70,71), Wundheilungsstörungen (68) oder chronische Wunden (72,73) zu untersuchen.

3.1.5 Konfokales Laser Raster Mikroskop

Das konfokale Laser Raster-Mikroskop (engl.: Confocal Laser Scanning Microscope oder kurz CLSM) ist ein optisches Bildgebungswerkzeug, das nicht invasiv und in Echtzeit ein Bild liefert, welches zur Beurteilung von normaler oder verletzter Haut herangezogen werden kann. Kurz erklärt wird ein Laserstrahl, dessen Wellenlänge im Nahinfrarotbereich liegt, auf die Haut gerichtet. Das untersuchte Gebiet reflektiert den Strahl und dieser trifft dann zurück auf den Detektor (siehe auch Abbildung 8). Der Bildkontrast wird durch die unterschiedlichen Brechungsindizes der Hautkomponenten und Zellbestandteile erzeugt. (74)

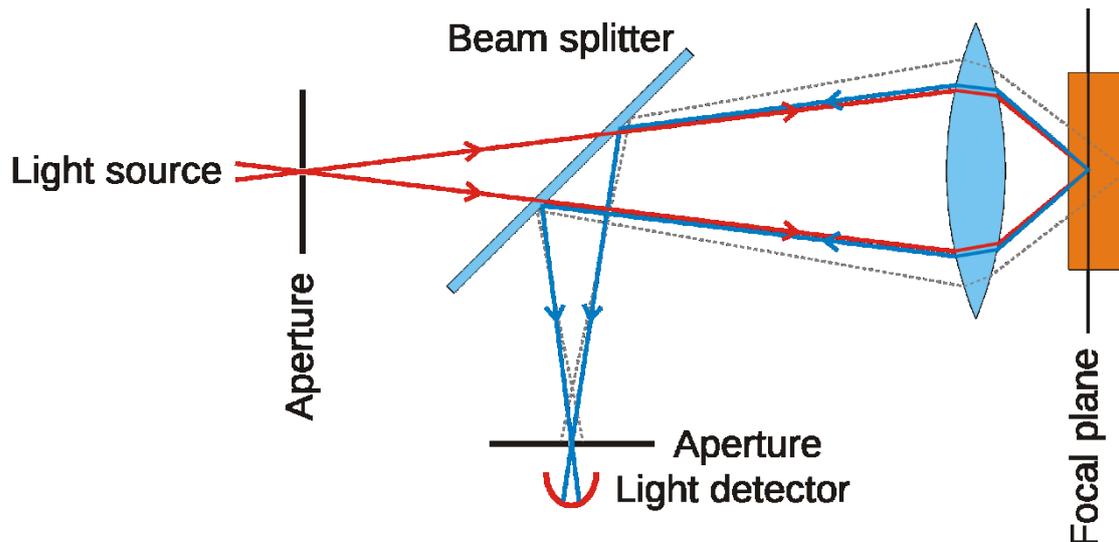


Abbildung 8: CLSM - Funktionsprinzip (136)

Häufig verwendet wird das Vivascope1500 (Vivascope 1500®, Mavig GmbH, Munich, Lucid-Tech Inc., Henrietta, NY). Dieses Mikroskop ermöglicht eine Bildgebung bis zu einer Tiefe von 200–300 μm bei einer lateralen Auflösung von $<1,25 \mu\text{m}$ und einer vertikalen Auflösung von $<5 \mu\text{m}$. Damit ist eine Beurteilung der Epidermis und der papillären Dermis möglich. (74)

Mehrere Studien bestätigen eine gute zelluläre Auflösung (75,76) und verwenden dieses Mikroskop als Diagnosetool zur Beurteilung chronischer Wunden (65).

2009 wird von Altintas und seinen Mitarbeitern das CLSM als Möglichkeit für die Beurteilung von Brandwunden vorgestellt. Mithilfe der vom Mikroskop erstellten Bilder können die Mikrozirkulation, Entzündungszeichen und die Histomorphologie beschrieben werden. (77)

Das CLSM kann dabei helfen vorherzusagen, ob Verbrennungen heilen. Es ist daher ein wertvolles Instrument, um früh entscheiden zu können, welche Therapie von Nöten ist. (78)

Das konfokale Laser Raster Mikroskop kann die Merkmale der Wundheilung von Haut sichtbar machen, zumindest epidermale und oberflächliche dermale Wunden. Man kann auf den erstellten Bildern die Neovaskularisation, den Gewebsumbau und die Entzündungsreaktion beobachten. Eine Schwierigkeit stellt der Wundschorf, aufgrund der dort mangelnden optischen Auflösung, dar. (75)

Obwohl nach 7 bis 14 Tagen die Wundheilung klinisch abgeschlossen scheint, kann das CLSM subepidermale Hautschäden noch darstellen (64).

Der dynamische Prozess der Wundheilung kann von der ersten Reaktion auf den Schaden (Ödembildung und Blutgefäßerweiterung) bis hin zur Einwanderung von Keratinozyten und Entzündungszellen visualisiert werden. Das Bilden neuer Blutgefäße und die Epithelisierung kann mit dem CLSM ebenso beobachtet werden. Die Prozesse der Wundheilung werden dabei in Echtzeit veranschaulicht. (74)

3.1.6 Foto-Spektrometrie

Die Foto-Spektrometrie (engl.: spectrophotometric intracutaneous analysis oder kurz SIA) ist eine Technik, bei der polarisiertes Licht in den Wellenlängen von 400 bis 1000 nm ausgestrahlt wird, um die Haut zu untersuchen. Mithilfe mathematischer Berechnungen werden die von der Haut zurückgeworfenen Lichtsignale verarbeitet, um Hämoglobin und Melanin in der Haut darzustellen. Dabei entstehen drei sichtbare Bilder: eine klinische Aufnahme, ein Perfusionbild (Hämoglobingehalt) und ein Pigmentbild (Melaningehalt). (79)

Man kann zudem die Kollagen-Konzentration der Haut untersuchen, dabei bleibt das Gerät klein, ist tragbar und nimmt Bilder schnell auf (48,51)

Es gibt unterschiedliche Modelle, die auch berührungslose spektrophotometrische Analysen der Haut zulassen. Damit ist es möglich die Verbrennungstiefe zu bestimmen (80).

Eine Variante kombiniert die Foto-Spektrometrie mit der LDF. Dabei können die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, die relative Hämoglobinkonzentration, der Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit in Mikrogefäßen bestimmt werden (68).

Weißes Licht wird von Erythrozyten abhängig von ihrer Sauerstoffsättigung bei bestimmten Wellenlängen reflektiert. Die Hämoglobin-Absorptionsspektren ermöglichen die Bestimmung der Hämoglobin-Oxygenierung und der relativen Menge an Hämoglobin. (81)

Dabei wird oft das Gerät OxygenToSee (O2C; Lea, Giessen, Deutschland) verwendet (68,81,82).

3.1.7 Transepidermaler Wasserverlust

Die Messung des transepidermalen Wasserverlustes (engl.: transepidermal waterloss oder kurz TEWL) stellt ebenso eine Möglichkeit dar Wundheilung zu beurteilen. Dabei setzt man eine geschlossene Kammer auf die Haut. Im Innenraum befinden sich Sensoren für Feuchtigkeit und Temperatur. Damit kann das System automatisch die Verdunstungsrate aus der Zunahme der relativen Luftfeuchtigkeit berechnen. Der TEWL hat sich als zuverlässige Messmöglichkeit zur Evaluierung der Barrierefunktion erwiesen. (70)

Mehrere Studien nutzen das Maß des transepidermalen Wasserverlustes, dessen Normalisierung für eine vollständig Reepithelisierung spricht (52,55,71,83,84).

Es gibt auch Sensoren die direkt auf der Wunde platziert werden, unter dem Verband die Feuchtigkeit messen und dann die Information an einen kleinen LCD-Bildschirm darstellen, um etwaige Verbandswechsel besser steuern zu können (85).

3.1.8 Laser Doppler Bildgebung

Die Laser-Doppler-Bildgebung (engl.: Laser Doppler Imaging oder kurz LDI) nutzt wie die vorher genannte Durchflussmessung den Dopplereffekt aus. Ein Laserstrahl, der auf die Haut gerichtet wird, dringt 1,5 bis 2 mm ein. Das Licht wird teilweise vom Gewebe absorbiert, ein Teil kehrt aber zurück. Nach dem Doppler-Prinzip ändert das Licht seine Wellenlänge, wenn es auf bewegende Zellen trifft, während das Licht, das auf ruhende Gegenstände trifft unverändert bleibt. Die Anzahl und Geschwindigkeit der Bewegung von Blutzellen innerhalb des Gewebevolumentums hängen mit der Häufigkeit der Doppler-Verschiebungen zusammen. Daraus kann man die Durchblutung berechnen und ein Bild erstellen. Studien verwenden diese Technik um den mikrovaskulären Blutfluss darzustellen und zu untersuchen. (86)

Auch bei Brandwunden wird die LDI eingesetzt, sie kann für die Vorhersage des Wundergebnisses verwendet werden und wird auch als einfach in ihrer Anwendung beschrieben (79,87,88). Hoeksema et al. präsentieren eine Methodik, um mit dem Laser Doppler Imaging Brandwunden sowohl präzise als auch schnell evaluieren zu können (89).

Eine Studie von 2010 stellt die LDI auch für ein Wundheilungsmodell vor. Dabei wurden Freiwillige zuerst mit einer Blutlanzette verletzt und danach werden die Wunden mit der Laser-Doppler-Bildgebung überwacht. (90)

3.1.9 Laser-Speckle-Kontrast-Analyse

Die Laser-Speckle-Kontrast-Analyse (engl.: Laser speckle contrast imaging oder kurz LSCI) ermöglicht eine nicht-invasive Überwachung des Blutflusses in Echtzeit. Bei dieser Technik wird das zu untersuchende Gebiet mit einem Laserlicht mit niedriger Leistung beleuchtet. Das zurückgeworfene Licht bildet ein sogenanntes Specklemuster. Dieses Muster bleibt gleich solange das Gebiet statisch bleibt. Sobald Bewegung auftritt, also zum Beispiel die Bewegung der Erythrozyten, verändert sich das Specklemuster. Eine CCD-Kamera erkennt diese Veränderungen und erstellt ein Bild. Dies bedeutet aber auch, dass Bewegungsartefakte auftreten können, sollte das zu untersuchende Gebiet nicht in Ruhe sein. (48,91)

Eine Studie von Sara Ud-Din et al verwendet ein sogenanntes FLPI (Full-field Laser Perfusion Imaging by Moor Instruments Ltd, Axminster, UK), das sich ebenfalls das Prinzip des Specklemusters zunutze macht, um den Blutfluss bei akuten Wunden zu untersuchen (49). Damit lässt sich die Hautmikrozirkulation und auch die Angiogenese beurteilen (51). Mit den Bildern der LSCI lässt sich auch ein mittlerer Blutflusswert ermitteln, dieser kann verwendet werden, um vermehrte Durchblutung nachzuweisen (92).

Auch zur Untersuchung von venösen Ulzerationen lässt sich die Laser-Speckle-Kontrast-Analyse verwenden. Mittels des Blutflusses kann eine Vorhersage der Heilungsdauer gemacht werden, dabei bringt die LSCI eine akzeptable Sensitivität und Spezifität mit sich. (93)

3.1.10 Multiphotonentomographie

Die Multiphotonentomographie (engl.: Multiphoton tomography oder kurz MPT) nutzt biogene Fluorophore, die in der Haut natürlich vorkommen. Durch spezifische Anregung dieser Fluorophore und dem Effekt der Frequenzverdopplung (SHG „second harmonic generation“) wird ein Bild erstellt ohne auf eine Fluoreszenzmarkierung angewiesen zu sein (siehe Abbildung 9). Dabei erzielt die MPT eine Tiefe von 200µm. Die Autofluoreszenz (AF) und die SHG bilden zusammen den SAAID - Index (SHG to AF aging index of dermis). (94)

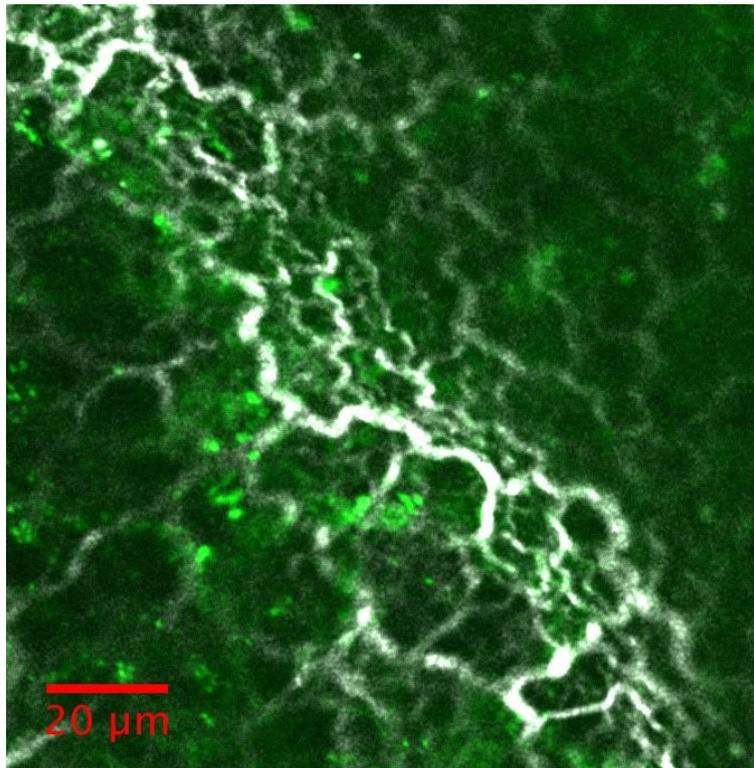


Abbildung 9: Kollagenfasern in der Leber (137)

Studien beschreiben, dass die MPT den Abbau von Kollagen und anderen Zellen, sowie ihr Wiedererscheinen im Verlauf gezeigt werden kann. Weiters werden deutliche Unterschiede im Verhalten der SAAID-Kurven festgestellt. Die SAAID-Kurven und morphologischen Bilder korrelieren mit Erkenntnissen der klinischen Untersuchung verschiedener Wundheilungsphasen. Deshalb könnten die MPT und die SAAID-Kurven eine Möglichkeit für die Bestimmung von Wundheilungsphasen in vivo sein. (65,95)

Ein multimodales MPT / OCT-System kann durch Erfassung sequentieller 3D-MPT- und OCT-Bilder ebenso hilfreich sein. Dabei können größere Areale von bis zu 10 x 10 x 1,5 mm³ von dem OCT aufgedeckt werden, um dann an spezifische Regionen subzelluläre Merkmale zu beobachten. (96)

Eine weitere Option stellt die Fluoreszenz-Lebensdauer Messung (engl. fluorescence lifetime measurements oder kurz FLIM) dar. FLIM-Analysen zeigten, dass die dermale Autofluoreszenz je nach Alter und Lokalisation unterschiedlich ist, dabei wurde aber das SHG-Signal herausgefiltert (97).

3.1.11 Thermographie

Die Thermographie (engl.: Infrared Thermography oder kurz IRT) erstellt ein Bild mit den Temperaturen auf der Oberfläche von beispielsweise der Haut (siehe Abbildung 10). Eine spezielle Kamera nimmt Infrarotstrahlen auf, die für das menschliche Auge unsichtbar sind. Meistens wird diese Methode bei Verbrennungswunden eingesetzt und ist präziser als eine klinische Einschätzung. (98)

Die Thermografie kann Auskunft über die Verbrennungstiefe geben. Je kälter die Wunde, desto tiefer die Verbrennung (79).

Auch Druckulcera können nach der Temperatur klassifiziert werden. Eine höhere Temperatur an der Wundstelle im Vergleich zur umliegenden Haut kann ein Hinweis auf das Vorhandensein von Besiedelungen oder anderen Faktoren, die die Wundheilung stören, sein (99). Die

Temperatur des Wundbettes spielt eine Schlüsselrolle bei der Wundheilung. Wenn die Temperatur des Wundbettes unter die Kernkörpertemperatur fällt, kann die Heilung aufgrund von fehlender Kollagenablagerung und der Verringerung von Entzündungszellen und Fibroblasten verzögert werden.

(100)

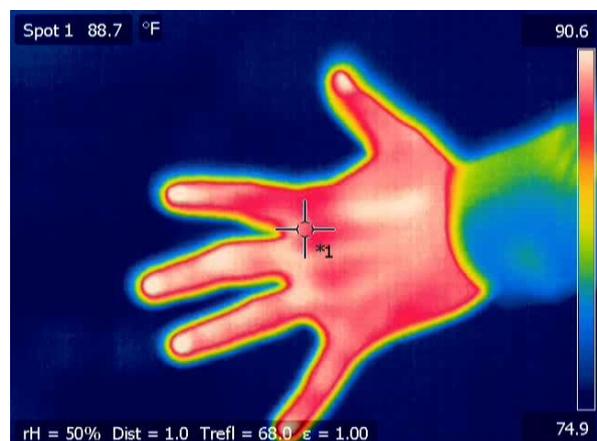


Abbildung 10: Thermografie - Bild einer Hand (138)

3.1.12 Bioelektrische Impedanz-Analyse

Eine weitere Methode zur Bewertung der Wundheilung basiert auf der Bioimpedanz-Messung. Dazu wird ein Wechselstrom an mindestens zwei Punkten angelegt, der das Gewebe weder stimuliert noch stört. Der Spannungsabfall von einem Ort zum anderen kann gemessen werden und damit lässt sich die Impedanz anhand des Ohm'schen Gesetzes bestimmen. Je nach verwendetem Gerät können weitere Parameter wie der Widerstand durch die Spannungsverringerng, die Reaktanz (=Blindwiderstand) durch die Zellmembrankapazität und der Phasenwinkel berechnet werden. Dabei geben diese Werte Aufschluss über die extrazelluläre Flüssigkeit, Zellmembranmasse, -funktion sowie -aktivität. Der Widerstand ist umgekehrt proportional zur extrazellulären Flüssigkeit und steigt mit der Epithelisierung. Somit zeigt die Bioimpedanz-Methode eine erfolgreiche Wundheilung an. Eine Reaktanz-Zunahme deutet auf Proliferation und Granulation hin und die Abnahme auf Infektion und Zellverlust. Der Phasenwinkel gibt Aufschluss über die Membranfunktion, je gesünder die Zellmembran umso höher der Phasenwinkel. (101)

Eine Studie von Kekonen et al. präsentiert eine Methode zur Berechnung des Wundheilungszustandes. Dabei wurde eine Nachuntersuchung von akuten Wunden durchgeführt. Eine Elektrode wird direkt auf die Wunde platziert und zwei auf unbeschädigte Haut. Somit erhält man neben der Impedanz der Wunde auch eine Referenzimpedanz. Mit fortschreitender Heilung nahm die Wundimpedanz allmählich zu und erreichte schließlich die Impedanz der unbeschädigten Haut. Das klinische Erscheinungsbild der in dieser Studie untersuchten Wunden stimmte ebenso gut mit den aus der Bioimpedanz-Messung abgeleiteten Parametern überein. (102)

Diese Methode eignet sich auch gut, um die Wundheilung von Brandwunden oder Hauttransplantaten zu beurteilen (56,103).

Die Verwendung der Bioimpedanz-Messung zur Überwachung der Wundheilung bietet eine sichere, praktische und objektive Methode, um die Wirksamkeit der Therapie zu ermitteln, das Vorhandensein einer Infektion zu überprüfen und zusätzlich erhält man einen Einblick in die zellulären Heilungsprozesse (101).

3.1.13 Transkutane Sauerstoffmessung

Die transkutane Sauerstoffmessung (engl.: Transcutaneous oxygen measurement oder kurz TcPO₂) ist ein nichtinvasives Diagnosewerkzeug. Dabei wird die Sonde auf die Haut gelegt und dann auf etwa 45 °C erhitzt. Dies verursacht sowohl eine Vasodilatation als auch eine lokale Hyperthermie. Der Sauerstoff, der aus den Gefäßen diffundiert, wird als Sauerstoffdruck gemessen. Eine Verringerung des TcPO₂ geht mit einer Hautischämie einher und es wurde gezeigt, dass seine Messung einen prädiktiven Wert für die Wundheilung darstellen kann. (104)

Die TcPO₂ findet auch zunehmend Anwendung als diagnostisches Instrument zur Beurteilung des Sauerstoffgehalts von Ulzera und Hautlappen (69,73).

3.1.14 pH-Messung

Der pH-Wert ist als der negative Logarithmus der Konzentration von Wasserstoffionen in einer wässrigen Lösung definiert. Er wird zur Darstellung von Säuren und Basen auf einer Skala von 0 bis 14 verwendet. Bei normaler Haut liegt er, je nach Vorhandensein des sogenannten "Säureschutzmantels" zwischen etwa 4,8 und 6,0, während die interstitielle Flüssigkeit neutrale Werte aufweist. Für die Messung des kutanen pH-Werts werden meist zwei Verfahren verwendet: die kolorimetrische Technik und die potentiometrische Messung mittels einer Glaselektrode. Auch bei der Wundheilung spielt der pH-Wert eine grundlegende Rolle. Eine Ansäuerung des Wundbettes verbessert die Heilungsrate bei chronischen Wunden. Dabei wird die Sauerstoffverfügbarkeit im Gewebe durch Sauerstoffdissoziation erhöht und die Histotoxizität bakterieller Endprodukte reduziert. Die pH-Werte bei chronischen venösen Beinulcera und bei Druckulcera waren im Vergleich zur normalen umgebenden Haut alkalisch oder neutral. Das Ausmaß der Wertänderung entspricht dem Stadium des Geschwürs, das während des Heilungsprozesses in einen sauren Zustand übergeht. (60,105)

3.1.15 Smartphone

In Anbetracht der Verbreitung von Smartphones mit hochauflösenden Digitalkameras ist die Beurteilung von Wunden durch Bildanalyse naheliegend. Bei solch einem Analysesystem wird die Wunde von der Kamera aufgenommen, danach führt das Smartphone einige Berechnungen durch. Der Heilungsstatus innerhalb der Wundgrenze basiert auf einem Rot-Gelb-Schwarz-Farbauswertungsmodell. Darüber hinaus kann eine Trendanalyse der Zeitaufzeichnungen für einen bestimmten Patienten / für eine bestimmte Patientin durchgeführt werden. (106)

Eine weitere Studie stellt eine App namens „Mowa®“ vor. Diese Anwendung ermöglicht die Oberfläche der Wunde mittels eines Fotos zu messen, sowie den Prozentsatz von Fibrin, Granulation und nekrotischem Gewebe zu ermitteln. Vervollständigt werden die Daten durch manuelles Einfügen anderer Merkmale wie beispielsweise der Exsudatmenge. (107)

3.1.16 Hochfrequenz-Ultraschall

Eine weitere Möglichkeit ist der Ultraschall, dabei werden Schallwellen ausgesendet, vom Gewebe reflektiert und diese Reflexionen werden in ein Bild umgerechnet. Ein Hochfrequenz-Ultraschall nutzt Frequenzen über 20 MHz und wird als nicht-invasives Instrument in der Dermatologie verwendet. Damit kann man die Hautdicke messen, Verbrennungen und Hauttumoren beurteilen aber auch Hautstrukturen sichtbar machen. (108)

Man kann mit dem Hochfrequenz-Ultraschall den Heilungsfortschritt und den Status des Gewebes unter der Wunde evaluieren. Er eignet sich auch dazu, Informationen über die Tiefe und das Volumen der Wunde, den Kollagengehalt, die Bildung von Granulationsgewebe sowie Änderungen der Homogenität des Gewebes zu bekommen. Mehrere Heilungsstadien wie die Bildung von Granulationsgewebe, die Wundkontraktion und die Reepithelisierung können mit dem Hochfrequenz-Ultraschall sichtbar gemacht werden (108).

3.2 Evaluierung ex vivo

Bei der Evaluierung ex vivo wurden insgesamt 6 Möglichkeiten zur Wundanalyse verwendet. Am häufigsten (n=24, 92% der Studien, die ex – vivo Untersuchungen angewendet haben) wurden gängige histologische Färbungen genutzt. Analysen mit immunhistochemischen Methoden führten 13 Publikationen (50%) durch. Die Immunfluoreszenz wurde 3-mal (12%) und die UV-Fluoreszenz 1-mal (4%) eingesetzt. Methoden die auch in „in vivo-Modellen“ eine Möglichkeit darstellen, wurden von 2 der ex – vivo Publikationen (8%) verwendet, davon benutzte 1 (4%) die Multiphotonentomographie und 1 (4%) die Optische Kohärenztomographie. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 11 grafisch dargestellt.

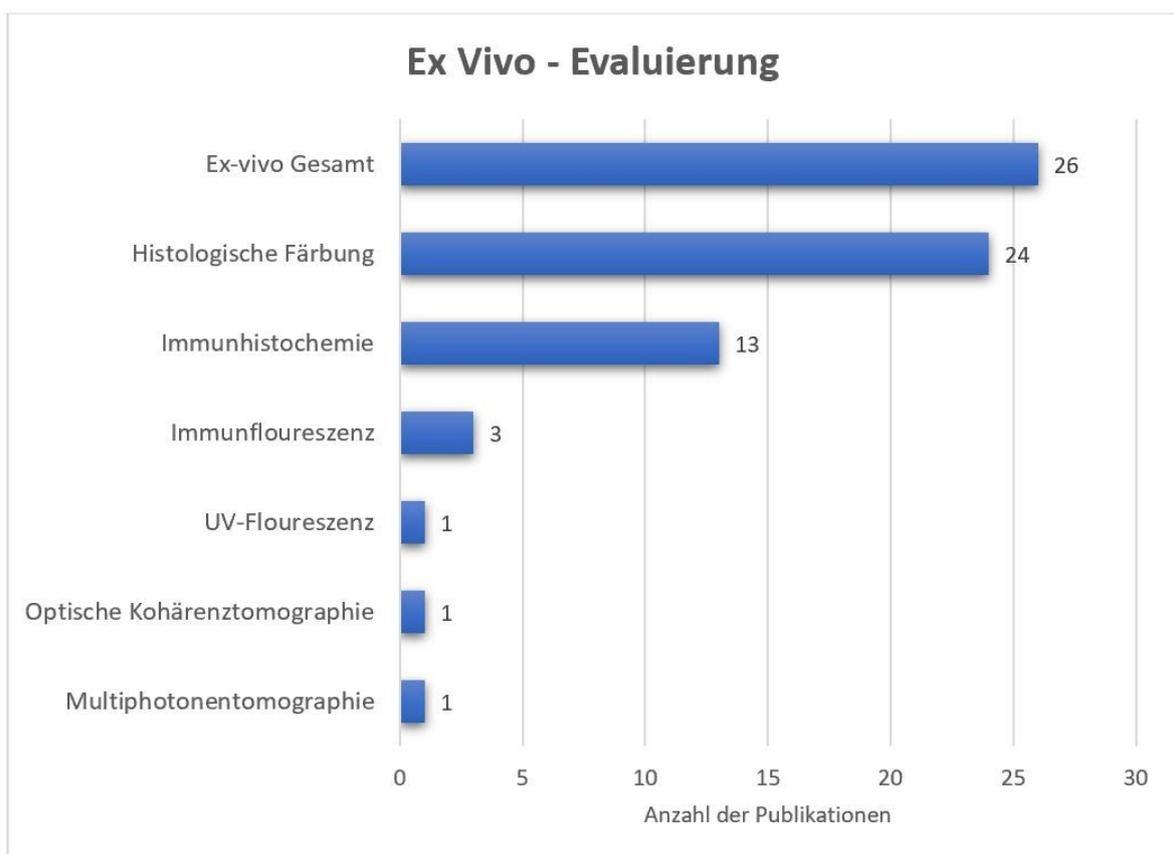


Abbildung 11: Häufigkeit der Evaluierungsmöglichkeiten ex vivo

3.2.1 Histologische Färbung

Eine gängige Methode, die oft in der Histologie Verwendung findet, ist die Färbung mit Hämatoxylin und Eosin (Abbildung 12). Dazu werden die Proben in Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Nach dem Schneiden mit einem Mikrotom werden die so erhaltenen hauchdünnen Schnitte eingefärbt. (74,83)

Dies ermöglicht eine Beobachtung des morphologischen Erscheinungsbildes von Geweben. Hämatoxylin ist ein blauer, basischer Farbstoff, der eine Affinität für alle Säurestrukturen aufweist und somit basophile Strukturen färbt. Eosin ist saurer Farbstoff und färbt acidophile Bestandteile rosa bis rot. (109)

Als gut etablierte Methode setzen viele Studien diese Färbemethode ein (48,49,51,55,62,63,110–119). Eine andere Studie nutzt für die Untersuchung der Wundheilung die Färbemethode mit Alcianblau (120).

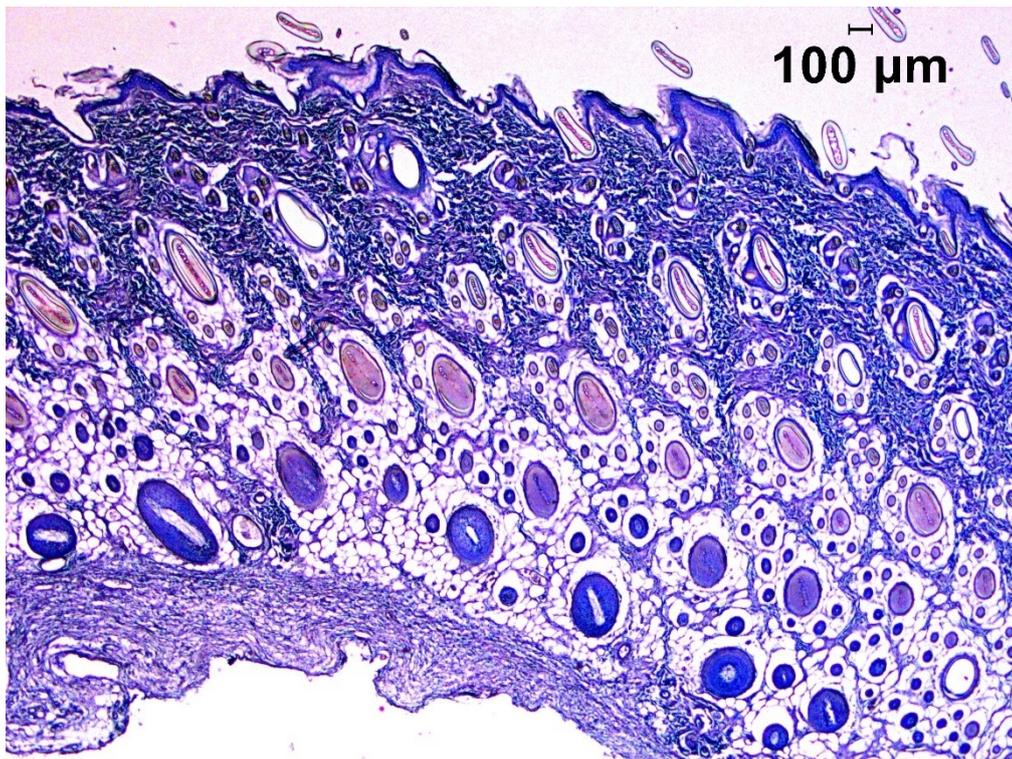


Abbildung 12: Hämatoxylin/Eosin-Färbung einer Rattenhaut (139)

Die Trichromfärbung von Mason, die ihrem Namen gemäß drei Farbstoffe enthält, wurde von 2 Publikationen, die unter anderem die Kollagensynthese analysierten, verwendet (121,122). Eine weitere geeignete Methode, um Kollagen sichtbar zu machen, ist die Piko-Siriusrot-Färbung (122).

Ebenso passend wäre die Verhoeff-Van-Gieson-Färbung, um das Bindegewebe in der Dermis zu untersuchen (118). Um Kollagenfasern und elastische Fasern noch genauer darzustellen, können Methoden wie die Färbung nach Herovici, die eine Unterscheidung von jungem und altem Kollagen möglich macht, sowie die Färbung nach Weigert, die elastische Fasern gesondert färbt, verwendet werden (123).

3.2.2 Immunhistochemie

Bei der Immunhistochemie werden Antikörper verwendet, um bestimmte Zellen oder Strukturen sichtbar zu machen. Bei der direkten Methode ist der Antikörper an sich bereits sichtbar. Bei der indirekten Methode bindet ein primärer Antikörper an die Strukturen, und ein sekundärer Antikörper an den primären, um ihn erkennbar zu machen (siehe auch Abbildung 13). (109)

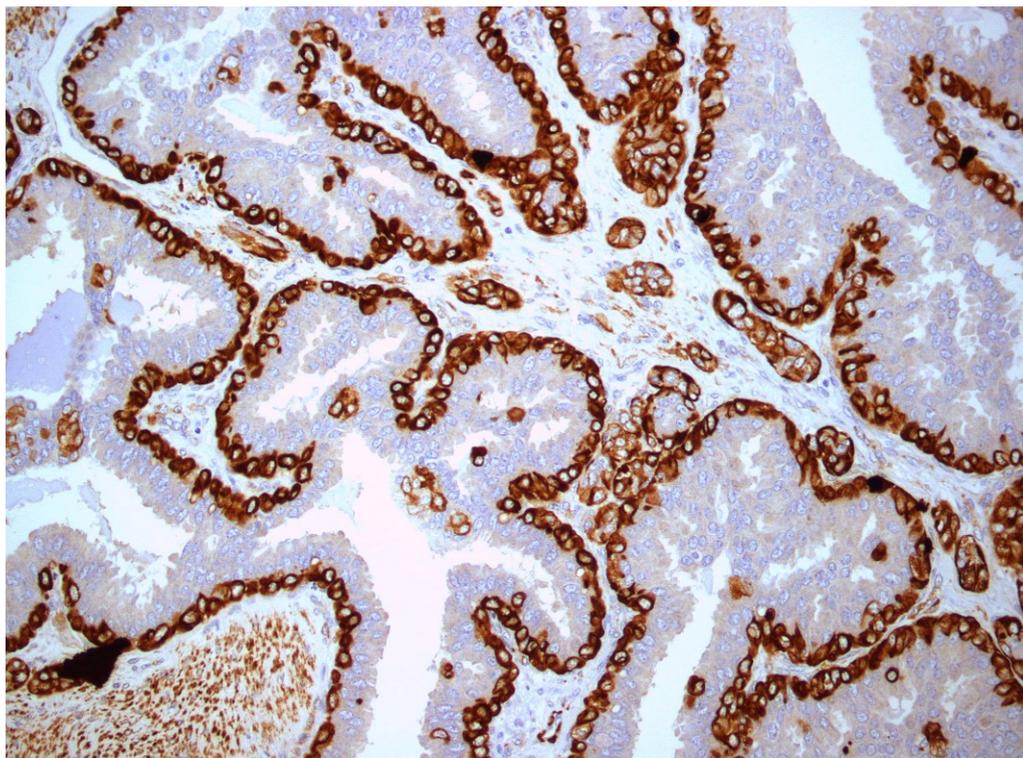


Abbildung 13: Immunhistochemie von menschlichem Brustgewebe (140)

Dabei kommen unterschiedliche Marker zum Einsatz. Um die Proliferation zu evaluieren, eignen sich zum Beispiel Bromdesoxyuridin (BrdU) (109) oder auch das Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) (109,112,123).

Einige Publikationen verwendeten den Marker alpha smooth muscle Actin (α -SMA), der die Wundkontraktion anzeigt (48,51,112,118,119,123).

Die Angiogenese kann einerseits durch den Nachweis von CD34+ - Zellen (121) und andererseits durch Angiogenese-Marker wie dem Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) und dem Placental growth factor (PLGF) (49) bewertet werden. Eine andere Möglichkeit ist es, die Endothelien darzustellen. Dies ermöglicht beispielsweise der Marker CD31 (48,51,118,123).

Um die Reepithelisierung sichtbar zu machen, kann man die Zell-Verbindungen mit E-Cadherin markieren (63), oder das Cytoskelett der Epithelzelle mit den Markern Cytokeratin 14 (CK-14) (112,123), Cytokeratin 10 (CK-10) (112) und auch Elastin (83) visualisieren. Zusätzlich kann man Proteine der extrazellulären Matrix in den Epithelien mit Kollagen Typ I, Kollagen Typ III und Fibronectin darstellen (48,51,83,119).

In Zusammenhang mit der Wundheilung werden auch die Marker Metalloproteinase 3 (MMP3) und Metalloproteinase 19 (MMP19) verwendet (123).

Der cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A (p16) spielt bei der Regulierung von Zellzyklus und Apoptose eine Rolle und kann somit für die Bewertung von Apoptose-Raten herangezogen werden (123).

Bei Brandwunden bietet die Laktat-Dehydrogenase (LDH) ein Maß für die Lebensfähigkeit des Gewebes (116). Bei chronischen Ulzerationen wurde ein erhöhtes Leptin gemessen, das möglicherweise auf eine verzögerte Wundheilung zurückzuführen ist (115).

3.2.3 Immunfluoreszenz

Die Immunfluoreszenz funktioniert ähnlich wie die Immunhistochemie, an den Antikörpern sind fluoreszierende Farbstoffe angebracht, die somit ein Sichtbarmachen von Zellen und Strukturen mit dem entsprechenden Mikroskop ermöglichen (siehe Abbildung 14). Dabei können entsprechende Marker verwendet werden wie beispielsweise für Kollagen Typ I und Elastin. (113)

Es gibt auch eine Möglichkeit Apoptosen zu visualisieren, dabei wird die Terminal Deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) – Methode angewandt. Diese markiert die 3'-OH Gruppen der DNA-Fragmente, die im Rahmen der Apoptose entstehen, mit einem fluoreszierenden Farbstoff (117,123).

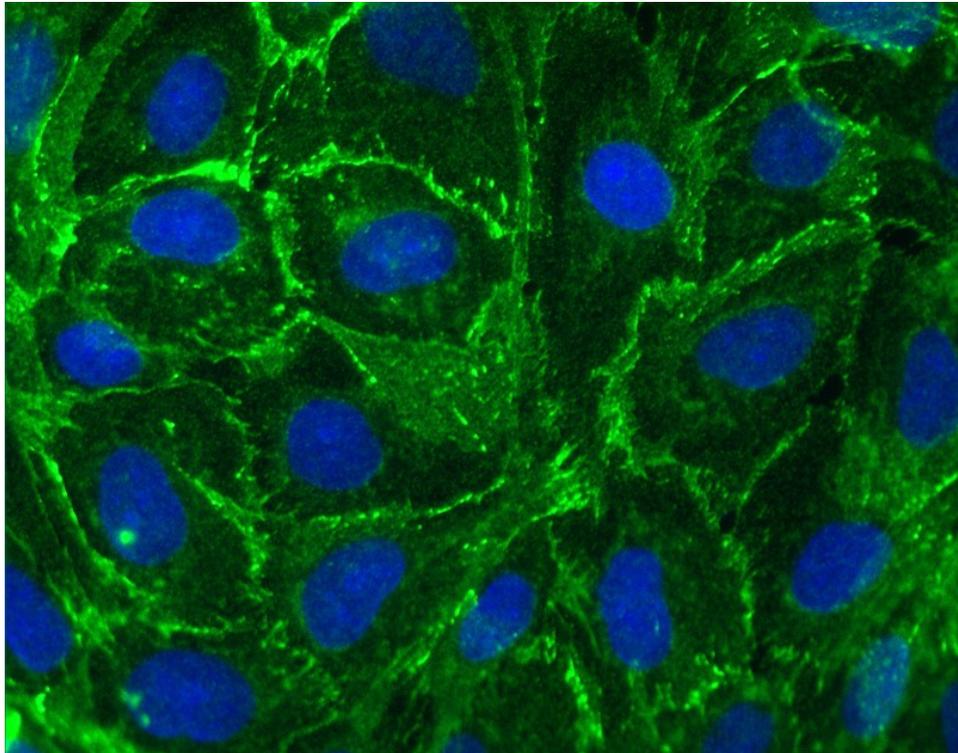


Abbildung 14: Immunfluoreszenz menschlicher Endothelzellen (141)

3.2.4 UV-Fluoreszenz

Die UV-Fluoreszenz nutzt die Fluoreszenz hautnaher Moleküle. Das System beleuchtet das Gewebe bei spezifischen Anregungswellenlängen und eine UV-empfindliche Kamera nimmt anschließend Bilder auf. Ein bestimmter Wellenlängenbereich wird Tryptophan zugeschrieben, Veränderungen in der Fluoreszenzintensität entsprechen Änderungen der Zellproliferation, somit kann man funktionelle Epithelisierungszustände überwachen. Die dermale Fluoreszenz von Kollagen kann zur Quantifizierung der Wundgröße und des Wund-Verschlusses verwendet werden. Die UV-Fluoreszenz wird als wertvolles Instrument für Forschungs-, Diagnose- und Bildungszwecken bei der Beurteilung der Wundheilung beschrieben. (124)

3.2.5 Methoden, der in vivo-Evaluierung

Einige der beschriebenen Methoden in Kapitel 3.1 können natürlich auch für die Evaluierung ex vivo verwendet werden.

Die Studie von Gilnos et al. stellt beispielsweise die Optische Kohärenztomographie als bildgebendes Werkzeug für ein ex vivo Wundheilungsmodell vor (125).

Auch die Multiphotonentomographie kann zur Beurteilung von exzidiierter Haut herangezogen werden (126).

4 Diskussion

4.1 Allgemeine Ergebnisse

Die oben angeführten Ergebnisse machen ersichtlich, dass die in vivo – Evaluierung wesentlich öfter verwendet wurde, als die ex vivo – Beurteilung. Die Wundheilung wird in einer Studie als ein spielendes Orchester oder als Schauspiel beschrieben (7). Damit wollen die Autoren auf die fein abgestimmte Zusammenarbeit von Zellen, Wachstumsfaktoren und allen anderen Mediatoren aufmerksam machen. Dieses empfindliche System kann durch viele Faktoren beeinflusst werden, weshalb eine Evaluierung außerhalb eines Organismus wahrscheinlich nicht so detaillierte Einsichten bringt, wie eine Beurteilung in – vivo. Zudem kann nach der Entnahme der Haut bei dem ex – vivo Modell nur eine Momentaufnahme gezeigt werden, während eine ständige Überwachung nicht möglich ist.

Ein weiterer Grund für die häufigere Verwendung von in – vivo Evaluierungen könnte die Variabilität der Möglichkeiten sein. Zur ex – vivo Beurteilung wurden 6 Möglichkeiten gefunden, für die in – vivo Analyse insgesamt 16. Nun gibt es nicht nur mehr Alternativen für die Untersuchung am lebenden Organismus, sondern auch Methoden die schneller und einfacher sind. Die Studien nutzen am häufigsten eine einfache Methode, die klinische Beurteilung in – vivo, für die Analyse der Wundheilung. Ex – vivo Evaluierungen benötigen bei allen Möglichkeiten ein Mikroskop, eine damit verbundene vorhergehende Färbung oder andere technische Geräte, um eine Untersuchung der Haut durchzuführen.

Ebenso ist zu betonen, dass viele Studien, die aufgrund der Verwendung von Tierhaut ausgeschlossen wurden, eher ex – vivo Untersuchungen anwenden, da hier mehrere Versuchstiere zur Verfügung stehen und dementsprechend mehrere vergleichbare Hautbiopsien bewertet werden können.

Somit gibt dieser Review nur Aufschluss darüber in welchem Verhältnis die in – vivo und ex – vivo Beurteilung bei menschlicher Haut stehen und nicht für die Untersuchung von Wundheilung im Allgemeinen.

4.2 Evaluierung in vivo

Die Ergebnisse der in – vivo Evaluierungen zeigen, dass am häufigsten die Klinische Beurteilung herangezogen wurde (siehe Abbildung 5). Diese Evaluierungsmethode wurde meist nicht allein verwendet. Mehrere Studien, die andere Methoden nutzen, setzen die klinische Beurteilung ein, um sie miteinander zu vergleichen.

Nachfolgend werden die einzelnen Methoden noch einmal behandelt und sowohl ihre Vorteile als auch ihre Nachteile angeführt.

Wie oben angeführt, ist die klinische Evaluierung eine sehr vielfältige Methode, es gibt mehrere Merkmale einer Wunde, die zu einer Beurteilung herangezogen werden können. Eine Einschränkung dieser Methode könnte sein, dass meist eine subjektive Meinung einer Expertin/eines Experten verwendet wird.

So wird zum Beispiel in einer Studie der Geruch subjektiv bei dem Verbandswechsel evaluiert (13). Nicht nur der Geruch, sondern auch die Exsudat-Menge im Verband (16,21), der Wundbettstatus (25) und die Entzündungszeichen (27) werden subjektiv analysiert.

Eine Studie von Andrea Pokorná und David Leaper untersucht die Parameter der klinischen Wundbeurteilung und analysiert dessen Objektivität, dabei zeigen sie, dass die Größe und Lokalisation von Wunden, sowie der Schmerz die objektivsten Parameter sind und der Geruch am subjektivsten ist (12).

Um die klinische Evaluierung objektiver zu machen, werden Skalen, Bewertungsmodelle und andere Scores verwendet, somit können dann auch Vergleiche mit anderen Studien durchgeführt werden.

Es wurde nur eine Studie gefunden, die für die Wundbeurteilung Biomarker verwendet. Dabei wird die Protease-Aktivität bestimmt, um auf eine Entzündung schließen zu können (33).

Es gibt aber mehrere Marker, die zur Bewertung des Wundheilungsfortschrittes herangezogen werden können. Die Blutsenkung, das C-reaktive Protein und Interleukin-6 wären klassische Entzündungsmarker, die aber nur selten für akute

Wunden verwendet werden. Biomarkern wie Zytokinen und Proteasen wird viel Potential zugeschrieben und könnten als Prognoseinstrument für die Wundheilung verwendet werden. Zytokine, TNF- α , Interleukin-1 und IL-6 sind bei nicht heilenden Wunden erhöht. Allerdings sind diese Werte oft sehr unbeständig. (127)

Ein weiterer Biomarker sind die Matrix-Metalloproteasen (MMP) im Serum. Diese sind für eine ordnungsgemäße Wundheilung erforderlich und werden als potenzielle diagnostische Biomarker für die Wundheilung beschrieben (128).

Die Konzentration von MMP und auch die von Elastasen in der Wundflüssigkeit kann auch als guter Prognosemarker verwendet werden. Je niedriger die MMP-Spiegel, desto besser ist die Wundheilung. (127)

Die Anzahl der Stamm- und Vorläuferzellen im Serum können als Marker für den Heilungserfolg dienen, bei geheilten Patienten / Patientinnen sind mehr dieser Zellen im Blutkreislauf (128).

Ein weiterer biologischer Marker, der eine Heilung sowohl bei akuten als auch bei chronischen Wunden bewerten kann, ist die Bakterienmenge. Hohe Spiegel beeinträchtigen die Wundheilungsprozesse und verhindern eine ordnungsgemäße Heilung (127).

Wie oben erwähnt, ist die Größe und Lokalisation von Wunden eine objektive Möglichkeit Wunden zu evaluieren. Daher scheint es nicht fern, dass die Methode, die am zweithäufigsten verwendet wurde, genau diese Parameter berechnet.

Die 3D Fotometrie wurde im letzten Jahrzehnt oft verwendet, da sie eine schnelle und genaue Messung der Wundoberfläche und der Wundtiefe ermöglicht. Dabei benötigt man nur ein Gerät mit integrierter Bildgebung, Messung und Dokumentation des Wundheilungsfortschritts (105).

Die OCT ist das am häufigsten genutzte Bildgebungswerkzeug in vivo, das Bilder auf histologischer Ebene bietet.

Die Technik eignet sich zur Diagnose und Überwachung chronischer Wunden und des Wundheilungsprozesses. Sie ermöglicht eine Visualisierung von Merkmalen gesunder Haut sowie pathologischer Veränderungen chronischer Wunden. (62)

Histologische Schnitte sind der Goldstandard für die Bestimmung pathologischer Veränderungen. Die Studie von Kuck et al. besagt, dass die OCT eine herkömmliche Hautbiopsie nicht ersetzen kann, da ein Nachweis der gesamten Komplexität der Wundheilung nicht möglich ist. Für Überwachungszwecke ist die OCT aber ausreichend und zusätzlich kann sie die Anzahl der invasiven Hautbiopsien verringern und soll in naher Zukunft als Routineüberwachungsinstrument eingesetzt werden. (61)

Die LDF wurde von insgesamt 9 Studien genutzt. Die Laser Doppler Durchflussmessung ist ein nicht invasives Tool zur Messung der Mikrozirkulation, das in Echtzeit Daten zur Durchblutung liefern kann. Dabei blieb die LDF genauer als die TcPO₂ (69). Allerdings ist nur die Durchblutung beurteilbar, man sieht weder Entzündungszellen, noch ihre Bewegungen, keinen Gewebsumbau oder dergleichen.

Ebenso wie die LDF liegt das CLSM noch im mittleren Bereich in Bezug auf die Verwendungshäufigkeit. Das konfokale Laser Raster Mikroskop ermöglicht eine nicht-invasive Überwachung der Wundheilung über die Zeit und produziert dabei Bilder mit hoher Auflösung aber geringer Tiefe (74).

Ein Nachteil des CLSM ist, dass das Wundbett nicht beurteilt werden kann, wenn sich Wundschorf darauf befindet, da die Tiefe des Laser Raster Mikroskop bei nur circa 200 µm liegt. Dann können lediglich die Wundränder evaluiert werden. (75)

Die Foto-Spektrometrie wurde genauso oft verwendet wie das CLSM.

Ein großer Vorteil dieser Methode ist ihre einfache Anwendbarkeit. Sie ist tragbar, benötigt nur wenig Zeit und die Untersuchung ist für den Patienten / die Patientin nicht belastend. Eine Kombination der Foto-Spektrometrie mit dem LDF könnte invasive Methoden verdrängen. Durch die simultane Messung beider Methoden erhält man genaue Informationen über die Kapillarperfusion und die Sauerstoffsättigung des Gewebes. (68)

Die mit dieser Methode entstandenen Bilder (klinische Aufnahme, Perfusionsbild, Pigmentbild) müssen nachträglich analysiert werden. Das ist eine subjektive Form der Bewertung, hier können Pixelquantifizierungsanwendungen verwendet werden, um eine objektive Messung zu ermöglichen (80).

Auch der transepidermale Wasserverlust wurde 7-mal für die Wundanalyse verwendet. Diese Technik berechnet den Wasserverlust und kann so Aufschluss über die Barrierefunktion der Haut geben (70).

Kleinere Sensoren, die auf die Wunde aufgebracht werden können, bringen den großen Vorteil mit, zu wissen, wann der Verband zu wechseln ist. Dies nützt den Patienten und Patientinnen und kann sogar helfen Kosten einzusparen, indem unnötige Verbandwechsel nicht mehr durchgeführt werden. Der TEWL ist somit auch für die Telemedizin interessant. (85)

Die LDI wurde von nur 6 Studien genutzt, obwohl mittlerweile große Bereiche (bis zu 50 x 50 cm) gescannt werden können. Diese Methode ist jedoch relativ langsam, je nach Scanbereich und Auflösung dauert es etwa 1 oder 2 Minuten. (89)

Die Studie von Burke-Smith et al. beschreibt die LDI als Goldstandard für die Bewertung der Tiefe von Verbrennungen, heben aber die Vorteile der Thermographie und der Foto-Spektrometrie in Bezug auf Kosten und Benutzerfreundlichkeit hervor (79).

Genauso oft wie die LDI wurde die Laser-Speckle-Kontrast-Analyse verwendet. Diese Methode ermöglicht eine schnelle, nicht invasive Darstellung der Durchblutung und bleibt dabei zuverlässig. Die Studie von Limbourg et al. besagt auch, dass die LSCI intraoperativ genutzt werden kann. Weiters ist sie sinnvoll zur Kontrolle nach Lappenplastiken, zur Beurteilung der Narbenperfusion oder zur Erfolgskontrolle nach Lipofilling, Stoßwellentherapie oder dergleichen. (91)

Natürlich ist das LSCI nicht vergleichbar mit histologischen Aufnahmen, da es nur ein Perfusionsbild liefert.

5-mal wurde die Multiphotonentomographie für die Analyse der Wundheilung genutzt. Der Vorteil der MPT liegt darin, dass man nicht nur ein Bild bekommt, sondern auch einen Index, den SAAID. Die Phasen der Wundheilung können durch charakteristische SAAID-Verlaufskurven dargestellt werden, damit ist die MPT geeignet einzelne Wundheilungsphasen zu erkennen und etwaige Störungen der Wundheilung zu erfassen (95).

Eine Studie von Zieger et al. beschreibt die MPT als bedeutendes diagnostisches Tool, da sie eine hohe Auflösung bietet, dabei nicht-invasiv bleibt und keine Färbungen oder Markierungen benötigt. Allerdings sind teilweise Bildartefakte nicht zu vermeiden, beispielsweise bei arteriellen Pulsationen oder starken Atemexkursionen. (94)

Die Thermographie wurde von 4 Studien zur Beurteilung der Wundheilung herangezogen.

Diese Studien untersuchten Brandwunden und beschreiben die IRT genauer als die klinische Untersuchung bei der Vorhersage der Verbrennungstiefe (98). Aber auch für die Wundheilung im Allgemeinen eignet sich die Thermographie, da eine veränderte Wundbetttemperatur einer verzögerten Heilung entspricht (100).

Ebenso oft wurde die Bioelektrische Impedanz-Analyse angewendet. Bei dieser Methode entsteht kein Bild, jedoch kann man die ermittelten Werte im Verlauf beobachten und anhand dieser Kurven die Wundheilung beurteilen.

Die Studie von Kekonen et al. beschreibt die Bioimpedanz-Methode als ein vielversprechendes Instrument zur objektiven und quantitativen Beurteilung des Wundzustands und zur Überwachung der Wundheilung (102).

Die transkutane Sauerstoffmessung wurde nur von 3 Studien als Evaluierungsmethode für die Heilung von Haut herangezogen. Obwohl diese recht einfache Methode eine potenzielle Rolle bei der klinischen Behandlung von Wundzuständen wie Infektionen oder venösen Geschwüren spielen kann (104).

Auch die pH-Messung wurde nur 2-mal verwendet. Diese Methode ist zwar leicht in der Handhabung, liefert aber ebenso wie die Bioelektrische Impedanz-Analyse kein Bild, sondern einen Wert. Mit diesem könnte das Stadium eines Geschwürs bestimmt werden und Zusatzinformation zur Wundheilung geboten werden (60).

Die Methode eine Wunde mittels Smartphones zu überwachen ist in Zeiten der zunehmenden Digitalisierung nicht fern und auch für die Telemedizin von Bedeutung. Nichtsdestotrotz wurde diese Möglichkeit von nur 2 Studien verwendet. Die Methode beruht auf Fotos und manuellem Eingeben von beispielsweise der Exsudat-Menge.

Fotoplanimetrische Aufnahmen, um die Tiefe zu bestimmen, sind derzeit mit der Kamera des Smartphones zu ungenau. Apps wie „MowA®“ zeigen, dass Vermessungen im 2D-Bereich schon möglich sind. (107)

Am seltensten wurde die Methode des Hochfrequenz-Ultraschall gewählt.

Diese Möglichkeit kann den Wundgewebezustand analysieren und die Wirksamkeit einer Therapie bewerten. Die Studie von Mohafez et al. betont aber auch, dass der Hochfrequenz-Ultraschall noch weiterentwickelt werden muss, etwa die Kombination mit digitaler Fotografie oder die Vorstellung neuerer Modelle, um die Wundheilung besser darstellen zu können. (108)

Bei den eingeschlossenen Studien befinden sich allerdings nicht alle Möglichkeiten, um Wunden zu beurteilen. Die strikte Suche nach Hautwunden und der Ausschluss von Narben -Evaluierungen hat wahrscheinlich dazu geführt, dass einige Methoden nicht in den Ergebnissen enthalten sind.

Beispielsweise die Tonometrie, die die Haut einer mechanischen Beanspruchung aussetzt und die Verformung misst, eignet sich dafür die Hautelastizität und damit die Narbenqualität zu beurteilen (129).

Oder auch das Visiometer, ein Instrument zur Beurteilung des Mikroreliefs der Haut. Es misst die Textur, die Rauheit und die Furchentiefe und wird vor allem nach einem

„microneedling“ genutzt, um den Rückgang der Falten zu bewerten. Ähnlich dazu ist der Visioscan, dieser bestimmt ebenso die Rauheit, die Faltenbildung und die Glätte der Haut. (130)

4.3 Evaluierung ex vivo

Bei diesen Beurteilungsmöglichkeiten erkennt man, dass nahezu jede Studie die eine ex – vivo Analyse durchführten die histologische Färbung als Methode herangezogen hat.

Mit den vielen Färbungen, die es gibt zeigt sich diese Möglichkeit als vielfältig und gut etabliert. Man erhält einen guten Blick auf die morphologischen Gegebenheiten, wenn auch nur als Momentaufnahme. Darin besteht auch der große Nachteil. Die ex – vivo Methoden sind im Allgemeinen nicht zur Überwachung geeignet. Für die Forschung ist die histologische Färbung trotz des höheren Aufwandes aber nicht wegdenkbar. Sie ist auch nach wie vor der Goldstandard bei pathologischen Veränderungen (61).

Ein weiterer Grund, warum viele Studien die histologische Färbung nutzen, könnte sein, dass wenn ex – vivo Methoden, wie die Immunhistochemie oder die Immunfluoreszenz, zum Einsatz kommen, das Gewebe fast immer aufbereitet und geschnitten werden muss. Daher benötigt es nur geringen zusätzlichen Aufwand das bereits vorliegende Gewebe zu färben, um es im Anschluss vergleichen zu können. Weiters sind die immunhistochemischen Marker größtenteils teurer als etablierte Färbemethoden.

Die Hälfte der ex – vivo Studien nutzte die Immunhistochemie. Ihr großer Vorteil ist es, nahezu alles mit Markern darstellen zu können. Dadurch sind viele Phasen der Wundheilung gut erkennbar und bewertbar. Dafür wird ein Lichtmikroskop verwendet, der Aufwand besteht hauptsächlich in der Probenvorbereitung. Ein Nachteil könnten die höheren Kosten im Vergleich zu einer histologischen Färbung sein.

Nur 3 Studien verwenden die Immunfluoreszenz, diese funktioniert nach dem gleichen Prinzip wie die Immunhistochemie. Der Unterschied besteht in der Art des verwendeten Mikroskops, da man hier ein Fluoreszenzmikroskop einsetzt, und die verwendeten Marker sind mit fluoreszierenden Antikörpern versehen. Dies ist wahrscheinlich auch der Grund, warum die Publikationen die Immunhistochemie der Immunfluoreszenz vorgezogen haben.

Die UV-Fluoreszenz wurde von lediglich einer Studie genutzt. Die Autoren beschreiben das Fluoreszenz-Bildgebungsverfahren als wertvolles Werkzeug zur Untersuchung der Wundheilung, da diese Methode keine Färbung benötigt sondern mit bestimmten Wellenlängen Tryptophan anregt und diese als Bild darstellt (124).

4.4 Vergleich mit ähnlichen Studien

Beim Suchen nach Literatur fielen einige Reviews auf, die sich ebenfalls mit der Thematik „Evaluierung der Wundheilung“ auseinandersetzten. Dabei wird oft ausschließlich auf die in – vivo Evaluierungsmöglichkeiten eingegangen. Wenn man das letzte Jahrzehnt betrachtet wird ersichtlich, dass die in – vivo Evaluierungen häufiger verwendet wurden. Ziel einer Wundanalyse ist nicht nur die Forschung, sondern auch die Überwachung von Wunden bei Patienten und Patientinnen, daher hat eine Häufung in Richtung in – vivo durchaus ihre Berechtigung.

Wie zuvor schon erwähnt ist ein adäquates Wundmanagement von zentraler Bedeutung für das Gesundheitswesen, da man damit Kosten einsparen kann, beispielsweise durch das Vermeiden unnötiger Verbandswechsel. Auch die Qualität der Behandlung kann durch Erfolgskontrolle von Therapien verbessert werden. Die Nachfrage an möglichst einfachen, schnellen und auch objektiven Methoden ist gegeben, deshalb griffen auch einige Publikationen diese Thematik auf (129).

Dieser Review beschäftigt sich auch mit den ex – vivo Methoden, um Vergleiche diesbezüglich durchführen zu können. So gibt es zwar schon einige bildgebende in – vivo Evaluierungen mit hoher Auflösung, trotzdem aber bleibt die histologische Färbung der Goldstandard, wenn es um morphologische Veränderungen geht.

Andere vergleichbare Studien stellen nicht die Evaluierungs-Methoden vor, sondern untersuchen unterschiedliche Modelle. Der Review von Ud-Din et al. beschäftigt sich eben genau mit den Möglichkeiten, die es gibt, um Wunden für Wundheilungsuntersuchungen zu bekommen. Zum Beispiel wird ein in – silico Modell vorgestellt, dass die Wunde simulieren soll, aber auch in – vitro, in – vivo und ex – vivo Modelle werden präsentiert (131).

4.5 Limitationen

Diese Studie beschäftigt sich ausschließlich mit menschlicher Haut, alle Tierhaut-Modelle wurden ausgeschlossen, daher können die hier angeführten Ergebnisse nicht für die Wundheilung im Allgemeinen sprechen. Wie oben bereits erwähnt kann dies auch ein Grund für die Häufung im Bereich in – vivo sein.

Eine weitere Methode, die nicht in diesen Review eingeschlossen wurde, ist die Variante in – ovo oder auch in – chick. Dieses Modell ist auch in der Lage Angiogenese zu bewerten (132).

Für die Wundheilungsevaluierung fehlen auch andere Möglichkeiten wie zum Beispiel in – silico oder auch in – vitro Modelle.

Die strikte Suche nach Hautwunden und nicht nach Wunden im Allgemeinen hat wahrscheinlich auch den Effekt, dass manche Methoden zur Wundheilungsevaluierung nicht in den Ergebnissen aufzufinden sind.

Zusätzlich wurden Studien ausgeschlossen, die sich mit der Beurteilung von Narben auseinandersetzen. Die Intention dieses Reviews war es eine Übersicht der Beurteilungsmethoden über die Wundheilungsphasen bis hin zum Wundverschluss zu schaffen. Viele angeführte Methoden können ebenso für die Narbenevaluierung verwendet werden. Einige Möglichkeiten der Narbenbewertung wie zum Beispiel die Tonometrie (129) sind hier nicht gelistet.

Um eine komplette Übersicht über alle Möglichkeiten zu erstellen, wäre es von Nöten gewesen nicht nur die letzten 10 Jahre zu betrachten, sondern einen längeren Zeitraum. Allerdings wird somit ein aktuellerer Eindruck der Evaluierungsmethoden gewährleistet.

4.6 Schlussfolgerung

Die Wundheilung zu untersuchen und zu überwachen ist notwendig (74). Sowohl in der Forschung als auch im klinischen Alltag gibt es unterschiedliche Ziele, die man mit einer Wundanalyse erreichen will. In den letzten zehn Jahren wurden einige Methoden zur Evaluierung von Hautwunden am Menschen verwendet (siehe Abbildung 5 und Abbildung 11). Dabei werden die meisten in vivo durchgeführt, da dies den großen Vorteil der kontinuierlichen Überwachung mit sich bringt und zudem keine Biopsie von Nöten ist. Dennoch haben die ex – vivo Methoden ebenso ihre Berechtigung, da die Histologie nach wie vor als Goldstandard gilt (61). Nichtsdestotrotz bringen die neueren in – vivo Möglichkeiten, wie die OCT oder die CLSM gut aufgelöste Bilder mit angemessener Tiefe. Einige Geräte wie die SIA oder auch der TEWL sind nicht groß, praktisch und geben Auskunft über den Zustand einer Wunde. Die einfachste Art der Evaluierung ist die klinische Untersuchung, hier liegt aber das große Problem der Subjektivität. Für eine gute Wundbeurteilung ist es aber von Bedeutung, dass die Daten möglichst objektiv sind. Dazu können mehrere Methoden kombiniert werden, auch um möglichst viel Informationen zu bekommen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Evaluierungsmethoden eine große Rolle spielen, nicht nur um Fortschritte in der Erforschung der Wundheilung zu erzielen, sondern auch um im klinischen Alltag die Wunden zu überwachen und gegebenenfalls den Erfolg einer Therapie zu kontrollieren. Dabei sind unterschiedliche Parameter von Bedeutung, die von einer Vielzahl von Hilfsmitteln gemessen werden können, wobei aber nicht jedes Tool auch jeden Parameter ermitteln kann.

Dieser Review soll einen Überblick über die Methoden der Wundevaluierungsmöglichkeiten bringen, die in den letzten 10 Jahren verwendet wurden. Dabei kann er auch helfen die geeignete Methode zu finden und für eigene Studien einzusetzen.

5 Literaturverzeichnis

1. Lindholm C, Searle R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency: Wound management for the 21st century. *Int Wound J.* Juli 2016;13:5–15.
2. Linß W. Haut. Integumentum commune und Anhangsgebilde: Drüsen, Glandulae; Haare, Pili, und Nägel, Ungues. In: Anderhuber F, Pera F, Streicher J, Herausgeber. *Waldeyer - Anatomie des Menschen.* 19. Auflage. Berlin: de Gruyter; 2012. S. 85–8.
3. Moll I. Unsere dynamische Haut - Aufbau und Funktionen. In: Moll I, Jung EG, Augustin M, Herausgeber. *Dermatologie.* 8. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2016. S. 15–27. (Duale Reihe).
4. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res.* 2017;58(1–2):81–94.
5. Aust M, Reimers K, Sorg H. Biologische Grundlagen der Wundheilung. In: Vogt PM, Altintas MA, Herausgeber. *Praxis der plastischen Chirurgie: plastisch-rekonstruktive Operationen, plastisch-ästhetische Operationen, Handchirurgie, Verbrennungschirurgie.* Berlin: Springer Medizin; 2011. S. 4–11.
6. Müller Ch, Höfler G, Imhof BA, Holländer GA. Entzündung. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU, Höfler G, Kreipe HH, Moch H, Herausgeber. *Pathologie.* 5., vollständig überarbeitete Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2012. S. 43–73.
7. Reinke JM, Sorg H. Wound Repair and Regeneration. *European Surgical Research.* 2012;49(1):35–43.
8. Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology.* April 2016;74(4):589–605.

9. Childs DR, Murthy AS. Overview of Wound Healing and Management. *Surgical Clinics of North America*. Februar 2017;97(1):189–207.
10. Matsuzaki K, Upton D. Wound treatment and pain management: a stressful time. *Int Wound J*. Dezember 2013;10(6):638–44.
11. Lazarus GS. Definitions and Guidelines for Assessment of Wounds and Evaluation of Healing. *Arch Dermatol*. 1. April 1994;130(4):489.
12. Pokorná A, Leaper D. Assessment and documentation of non-healing, chronic wounds in inpatient health care facilities in the Czech Republic: an evaluation study. *International Wound Journal*. April 2015;12(2):224–31.
13. Kammerlander G, Assadian O, Eberlein T, Zweitmuller P, Luchsinger S, Andriessen A. A clinical evaluation of the efficacy and safety of singlet oxygen in cleansing and disinfecting stagnating wounds. *J Wound Care*. April 2011;20(4):149–50, 152, 154 passim.
14. Schulz A, Depner C, Lefering R, Kricheldorf J, Kästner S, Fuchs PC, u.a. A prospective clinical trial comparing Biobrane ® Dressilk ® and PolyMem ® dressings on partial-thickness skin graft donor sites. *Burns*. März 2016;42(2):345–55.
15. Stephen-Haynes J, Callaghan R, Wibaux A, Johnson P, Carty N. Clinical evaluation of a thin absorbent skin adhesive dressing for wound management. *J Wound Care*. November 2014;23(11):532, 534, 536 passim.
16. Cutting KF. Managing wound exudate using a super-absorbent polymer dressing: a 53-patient clinical evaluation. *J Wound Care*. Mai 2009;18(5):200, 202–5.
17. Singer AJ, Chale S, Taylor M, Domingo A, Ghazipura S, Khorasonchi A, u.a. Evaluation of a liquid dressing for minor nonbleeding abrasions and class I and II skin tears in the emergency department. *J Emerg Med*. Februar 2015;48(2):178–85.

18. Laird KF, Baer D, Leas ML, Renz EM, Cancio LC. Evaluation of an Oxygen-Diffusion Dressing for Accelerated Healing of Donor-Site Wounds: *Journal of Burn Care & Research*. 2014;35(3):214–8.
19. Ho MWS, Rogers SN, Brown JS, Bekiroglu F, Shaw RJ. Prospective evaluation of a negative pressure dressing system in the management of the fibula free flap donor site: a comparative analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. Oktober 2013;139(10):1048–53.
20. Frykberg RG, Cazzell SM, Arroyo-Rivera J, Tallis A, Reyzelman AM, Saba F, u.a. Evaluation of tissue engineering products for the management of neuropathic diabetic foot ulcers: an interim analysis. *J Wound Care*. 01 2016;25(Sup7):S18–25.
21. Meaume S, Perez J, Rethore V, Sebbane G, Domp Martin A, Bressieux JM, u.a. Management of chronic wounds with an innovative absorbent wound dressing. *J Wound Care*. Juli 2012;21(7):315–6, 318, 320–2.
22. Stern A, Mitsakakis N, Paulden M, Alibhai S, Wong J, Tomlinson G, u.a. Pressure ulcer multidisciplinary teams via telemedicine: a pragmatic cluster randomized stepped wedge trial in long term care. *BMC Health Serv Res*. 24. Februar 2014;14:83.
23. Suess-Burghart A, Zomer K, Schwanke D. A multicentre clinical evaluation of Cuticell Contact silicone wound contact layer in daily practice. *Br J Community Nurs*. Juni 2015;Suppl Community Wound Care:S35-36, S38-41.
24. Meaume S, Facy O, Munoz-Bongrand N, Ribemont A-C, Sigal M-L, Couffignal J-C, u.a. Cavity wounds management: a multicentre pilot study. *Br J Nurs*. 8. September 2013;22(15):S27-28, S30-34.
25. Elzinga G, van Doorn J, Wiersema AM, Klicks RJ, Andriessen A, Alblas JG, u.a. Clinical evaluation of a PHMB-impregnated biocellulose dressing on paediatric lacerations. *J Wound Care*. Juni 2011;20(6):280–4.

26. Kim H, Gallo J. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Plasma on Recovery After Ablative Fractional Photothermolysis. *JAMA Facial Plastic Surgery*. 1. März 2015;17(2):97.
27. Metcalf D, Parsons D, Bowler P. A next-generation antimicrobial wound dressing: a real-life clinical evaluation in the UK and Ireland. *J Wound Care*. März 2016;25(3):132, 134–8.
28. Dalac S, Sigal L, Addala A, Chahim M, Faivre-Carrere C, Lemdjadi Z, u.a. Clinical evaluation of a dressing with poly absorbent fibres and a silver matrix for managing chronic wounds at risk of infection: a non comparative trial. *J Wound Care*. September 2016;25(9):531–8.
29. Richter D, Stoff A, Ramakrishnan V, Exner K, Jernbeck J, Blondeel PN. A Comparison of a New Skin Closure Device and Intradermal Sutures in the Closure of Full-Thickness Surgical Incisions: *Plastic and Reconstructive Surgery*. Oktober 2012;130(4):843–50.
30. Chen K, Klapper AS, Voige H, Del Priore G. A Randomized, Controlled Study Comparing Two Standardized Closure Methods of Laparoscopic Port Sites. *JSLs : Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2010;14(3):391–4.
31. Blondeel PN, Richter D, Stoff A, Exner K, Jernbeck J, Ramakrishnan V. Evaluation of a New Skin Closure Device in Surgical Incisions Associated With Breast Procedures: *Annals of Plastic Surgery*. Dezember 2014;73(6):631–7.
32. Braumann C, Guenther N, Menenakos C, Muenzberg H, Pirlich M, Lochs H, u.a. Clinical experiences derived from implementation of an easy to use concept for treatment of wound healing by secondary intention and guidance in selection of appropriate dressings. *Int Wound J*. Juni 2011;8(3):253–60.
33. Lockmann A, Schill T, Hartmann F, Grönemeyer L-L, Holzkamp R, Schön MP, u.a. Testing Elevated Protease Activity: Prospective Analysis of 160 Wounds. *Adv Skin Wound Care*. Februar 2018;31(2):82–8.

34. Chadwick P, McCardle J. Open, non-comparative, multi-centre post clinical study of the performance and safety of a gelling fibre wound dressing on diabetic foot ulcers. *J Wound Care*. Mai 2016;25(5):290–300.
35. Bullough L, Johnson S, Forder R. Evaluation of a foam dressing for acute and chronic wound exudate management. *Br J Community Nurs*. September 2015;Suppl Wound Care:S17-18, S20, S22-24.
36. Durante CM. An open label non-comparative case series on the efficacy of an enzyme alginate. *J Wound Care*. Jänner 2012;21(1):22, 24–8.
37. Blome-Eberwein S, Johnson RM, Miller SF, Caruso DM, Jordan MH, Milner S, u.a. Hydrofiber dressing with silver for the management of split-thickness donor sites: A randomized evaluation of two protocols of care. *Burns*. August 2010;36(5):665–72.
38. Haith LR, Stair-Buchmann ME, Ackerman BH, Herder D, Reigart CL, Stoering M, u.a. Evaluation of Aquacel Ag for Autogenous Skin Donor Sites: *Journal of Burn Care & Research*. 2015;36(6):602–6.
39. Morris C, Emsley P, Marland E, Meuleneire F, White R. Use of wound dressings with soft silicone adhesive technology. *Paediatr Nurs*. April 2009;21(3):38–43.
40. Rashaan ZM, Krijnen P, Allema JH, Vloemans AF, Schipper IB, Breederveld RS. Usability and effectiveness of Suprathel® in partial thickness burns in children. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. August 2017;43(4):549–56.
41. Jacobs AM, Christenson LJ, Weaver AL, Appert DL, Phillips KP, Roenigk RK, u.a. Clinical Outcome of Cutaneous Flaps Versus Full-Thickness Skin Grafts After Mohs Surgery on the Nose: *Dermatologic Surgery*. Jänner 2010;36(1):23–30.

42. Husseman J, Szudek J, Monksfield P, Power D, O'Leary S, Briggs R. Simplified bone-anchored hearing aid insertion using a linear incision without soft tissue reduction. *The Journal of Laryngology & Otology*. Juli 2013;127(S2):S33–8.
43. Romanelli M, Piaggese A, Scapagnini G, Dini V, Janowska A, Iacopi E, u.a. EUREKA study - the evaluation of real-life use of a biophotonic system in chronic wound management: an interim analysis. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:3551–8.
44. Giuggioli D, Colaci M, Manfredi A, Mariano M, Ferri C. Platelet gel in the treatment of severe scleroderma skin ulcers. *Rheumatology International*. September 2012;32(9):2929–32.
45. Woo KY, Heil J. A prospective evaluation of methylene blue and gentian violet dressing for management of chronic wounds with local infection. *Int Wound J*. Dezember 2017;14(6):1029–35.
46. Gardner SE, Hillis SL, Frantz RA. A prospective study of the PUSH tool in diabetic foot ulcers. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. August 2011;38(4):385–93.
47. Rashaan ZM, Stekelenburg CM, van der Wal MBA, Euser AM, Hagendoorn BJM, van Zuijlen PPM, u.a. Three-dimensional imaging: a novel, valid, and reliable technique for measuring wound surface area. *Skin Research and Technology*. November 2016;22(4):443–50.
48. Ud-Din S, Greaves NS, Sebastian A, Baguneid M, Bayat A. Noninvasive device readouts validated by immunohistochemical analysis enable objective quantitative assessment of acute wound healing in human skin: Acute wound healing in human skin. *Wound Repair and Regeneration*. 12. November 2015;23(6):901–14.

49. Ud-Din S, Sebastian A, Giddings P, Colthurst J, Whiteside S, Morris J, u.a. Angiogenesis is induced and wound size is reduced by electrical stimulation in an acute wound healing model in human skin. *PLoS ONE*. 2015;10(4):e0124502.
50. Chiang N, Rodda OA, Kang A, Sleigh J, Vasudevan T. Clinical Evaluation of Portable Wound Volumetric Measurement Devices. *Adv Skin Wound Care*. August 2018;31(8):374–80.
51. Greaves NS, Benatar B, Baguneid M, Bayat A. Single-stage application of a novel decellularized dermis for treatment-resistant lower limb ulcers: Positive outcomes assessed by SIAscopy, laser perfusion, and 3D imaging, with sequential timed histological analysis: Decellularized dermis for leg ulcers. *Wound Repair and Regeneration*. November 2013;21(6):813–22.
52. Sabadotto M, Theunis J, Black D, Mengeaud V, Schmitt A-M. In vivo assessment of the effect of a cream containing Avena Rhealba® extract and hyaluronic acid on the restoration of the skin barrier in de-epidermised skin produced with an erbium-YAG laser. *Eur J Dermatol*. Oktober 2014;24(5):583–8.
53. Stockton KA, McMillan CM, Storey KJ, David MC, Kimble RM. 3D photography is as accurate as digital planimetry tracing in determining burn wound area. *Burns*. Februar 2015;41(1):80–4.
54. Bloemen MCT, Boekema BKHL, Vlig M, van Zuijlen PPM, Middelkoop E. Digital image analysis versus clinical assessment of wound epithelialization: A validation study. *Burns*. Juni 2012;38(4):501–5.
55. Ferrag Y, Black DR, Theunis J, Mordon S. Superficial wounding model for epidermal barrier repair studies: Comparison of erbium:YAG laser and the suction blister method. *Lasers in Surgery and Medicine*. September 2012;44(7):525–32.

56. Hauser J, Lehnhardt M, Daigeler A, Langer S, Steinau HU, Vogt PM. Photoplanimetric evaluation and impedance measurement of split-thickness skin grafts: a new model for objective wound-healing assessment in clinical trials. *Skin Res Technol*. Mai 2009;15(2):168–71.
57. Romanelli M, Mulder G, Paggi B, Macchia M, Panduri S, Dini V. The use of a collagen matrix in hard-to-heal venous leg ulcers. *J Wound Care*. November 2015;24(11):543–4, 546–7.
58. Veredas FJ, Mesa H, Morente L. Efficient detection of wound-bed and peripheral skin with statistical colour models. *Med Biol Eng Comput*. April 2015;53(4):345–59.
59. Parara SM, Manios A, de Bree E, Tosca A, Tsiftsis DD. Significant Differences in Skin Irritation by Common Suture Materials Assessed by a Comparative Computerized Objective Method: *Plastic and Reconstructive Surgery*. März 2011;127(3):1191–8.
60. Tadić V, Arsić I, Zvezdanović J, Zugić A, Cvetković D, Pavkov S. The estimation of the traditionally used yarrow (*Achillea millefolium* L. Asteraceae) oil extracts with anti-inflammatory potential in topical application. *J Ethnopharmacol*. 6. März 2017;199:138–48.
61. Kuck M, Strese H, Alawi SA, Meinke MC, Fluhr JW, Burbach GJ, u.a. Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing. *Skin Research and Technology*. Februar 2014;20(1):1–7.
62. Greaves NS, Benatar B, Whiteside S, Alonso-Rasgado T, Baguneid M, Bayat A. Optical coherence tomography: a reliable alternative to invasive histological assessment of acute wound healing in human skin? *British Journal of Dermatology*. April 2014;170(4):840–50.
63. Barui A, Banerjee P, Patra R, Das RK, Dhara S, Dutta PK, u.a. Swept-source optical coherence tomography of lower limb wound healing with histopathological correlation. *Journal of Biomedical Optics*. 2011;16(2):026010.

64. Sattler ECE, Poloczek K, Kästle R, Welzel J. Confocal laser scanning microscopy and optical coherence tomography for the evaluation of the kinetics and quantification of wound healing after fractional laser therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Oktober 2013;69(4):e165–73.
65. Springer S, Zieger M, Hipler UC, Lademann J, Albrecht V, Bueckle R, u.a. Multiphotonic staging of chronic wounds and evaluation of sterile, optical transparent bacterial nanocellulose covering: A diagnostic window into human skin. *Skin Research and Technology*. Jänner 2019;25(1):68–78.
66. Baran U, Choi WJ, Wang RK. Potential use of OCT-based microangiography in clinical dermatology. *Skin Research and Technology*. Mai 2016;22(2):238–46.
67. Baran U, Li Y, Choi WJ, Kalkan G, Wang RK. High resolution imaging of acne lesion development and scarring in human facial skin using OCT-based microangiography: IN VIVO IMAGING OF ACNE LESION DEVELOPMENT USING OCT. *Lasers in Surgery and Medicine*. März 2015;47(3):231–8.
68. Rohleder NH, Flensberg S, Bauer F, Wagenpfeil S, Wales CJ, Koerdt S, u.a. Can tissue spectrophotometry and laser Doppler flowmetry help to identify patients at risk for wound healing disorders after neck dissection? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. März 2014;117(3):302–11.
69. Raposio E, Bertozzi N, Moretti R, Grignaffini E, Grieco MP. Laser Doppler Flowmetry and Transcutaneous Oximetry in Chronic Skin Ulcers: A Comparative Evaluation. *Wounds*. Juli 2017;29(7):190–5.
70. Koskela M, Gäddnäs F, Ala-Kokko TI, Laurila JJ, Saarnio J, Oikarinen A, u.a. Epidermal wound healing in severe sepsis and septic shock in humans. *Critical Care*. 2009;13(3):R100.
71. Wohlrab J, Finke R, Franke WG, Wohlrab A. Clinical Trial for Safety Evaluation of Hyaluronidase as Diffusion Enhancing Adjuvant for Infiltration Analgesia of Skin with Lidocaine: *Dermatologic Surgery*. Jänner 2012;38(1):91–6.

72. Frangez I, Cankar K, Ban Frangez H, Smrke DM. The effect of LED on blood microcirculation during chronic wound healing in diabetic and non-diabetic patients—a prospective, double-blind randomized study. *Lasers in Medical Science*. Mai 2017;32(4):887–94.
73. Brandi C, Grimaldi L, Nisi G, Brafa A, Campa A, Calabrò M, u.a. The role of carbon dioxide therapy in the treatment of chronic wounds. *In Vivo*. April 2010;24(2):223–6.
74. Terhorst D, Maltusch A, Stockfleth E, Lange-Asschenfeldt S, Sterry W, Ulrich M, u.a. Reflectance confocal microscopy for the evaluation of acute epidermal wound healing: Confocal microscopy assessing wound healing after cryosurgery. *Wound Repair and Regeneration*. November 2011;19(6):671–9.
75. Lange-Asschenfeldt S, Bob A, Terhorst D, Ulrich M, Fluhr J, Mendez G, u.a. Applicability of confocal laser scanning microscopy for evaluation and monitoring of cutaneous wound healing. *Journal of Biomedical Optics*. 9. Juli 2012;17(7):0760161.
76. Rajadhyaksha M, Marghoob A, Rossi A, Halpern AC, Nehal KS. Reflectance confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside. *Lasers in Surgery and Medicine*. Jänner 2017;49(1):7–19.
77. Altintas AA, Altintas MA, Ipaktchi K, Guggenheim M, Theodorou P, Amini P, u.a. Assessment of microcirculatory influence on cellular morphology in human burn wound healing using reflectance-mode-confocal microscopy. *Wound Repair and Regeneration*. Juli 2009;17(4):498–504.
78. Altintas AA, Guggenheim M, Altintas MA, Amini P, Stasch T, Spilker G. To Heal or Not to Heal: Predictive Value of In Vivo Reflectance-Mode Confocal Microscopy in Assessing Healing Course of Human Burn Wounds. *Journal of Burn Care & Research*. Oktober 2009;PAP.

79. Burke-Smith A, Collier J, Jones I. A comparison of non-invasive imaging modalities: Infrared thermography, spectrophotometric intracutaneous analysis and laser Doppler imaging for the assessment of adult burns. *Burns*. Dezember 2015;41(8):1695–707.
80. Tan A, Pedrini FA, Oni G, Frew Q, Philp B, Barnes D, u.a. Spectrophotometric intracutaneous analysis for the assessment of burn wounds: A service evaluation of its clinical application in 50 burn wounds. *Burns*. Mai 2017;43(3):549–54.
81. Rothenberger J, Krauss S, Tschumi C, Rahmanian-Schwarz A, Schaller H-E, Held M. The Effect of Polyhexanide, Octenidine Dihydrochloride, and Tea Tree Oil as Topical Antiseptic Agents on In Vivo Microcirculation of the Human Skin: A Noninvasive Quantitative Analysis. *Wounds*. Oktober 2016;28(10):341–6.
82. Forstmeier V, Sorg H, Kabbani M, Herold C, Altintas M, Krämer R. Evaluation der kutanen Mikrozirkulation des Handrückens im Alter – Implikationen für die Wundheilung in der Handchirurgie? *Handchirurgie · Mikrochirurgie · Plastische Chirurgie*. 29. Oktober 2015;47(06):384–8.
83. Kellar RS, Audet RG, Roe DF, Rheins LA, Draelos ZD. Topically delivered dissolved oxygen reduces inflammation and positively influences structural proteins in healthy intact human skin. *J Cosmet Dermatol*. Juni 2013;12(2):86–95.
84. Tanaka K, Akita S, Yoshimoto H, Houbara S, Hirano A. Lipid-Colloid Dressing Shows Improved Reepithelialization, Pain Relief, and Corneal Barrier Function in Split-Thickness Skin-Graft Donor Wound Healing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. September 2014;13(3):220–5.
85. Milne SD, Seoudi I, Al Hamad H, Talal TK, Anoop AA, Allahverdi N, u.a. A wearable wound moisture sensor as an indicator for wound dressing change: an observational study of wound moisture and status: A wearable wound moisture sensor as an indicator for wound dressing change. *International Wound Journal*. Dezember 2016;13(6):1309–14.

86. Knight R, Pagkalos J, Timmons C, Jose R. Caffeine consumption does not have an effect on digital microvascular perfusion assessed by laser doppler imaging on healthy volunteers: a pilot study. *Journal of Hand Surgery (European Volume)*. Mai 2015;40(4):412–5.
87. Mill J, Cuttle L, Harkin DG, Kravchuk O, Kimble RM. Laser Doppler imaging in a paediatric burns population. *Burns*. September 2009;35(6):824–31.
88. Nguyen K, Ward D, Lam L, Holland AJA. Laser Doppler Imaging prediction of burn wound outcome in children: is it possible before 48 h? *Burns*. September 2010;36(6):793–8.
89. Hoeksema H, Baker RD, Holland AJA, Perry T, Jeffery SLA, Verbelen J, u.a. A new, fast LDI for assessment of burns: A multi-centre clinical evaluation. *Burns*. November 2014;40(7):1274–82.
90. Varol AL, Anderson CD. A minimally invasive human in vivo cutaneous wound model for the evaluation of innate skin reactivity and healing status. *Arch Dermatol Res*. Juli 2010;302(5):383–93.
91. Limbourg A, Radtke C, Ipaktchi R, Vogt P. Quantitative Perfusionsanalyse durch Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) Perfusions-Imaging von kritisch perfundierten Geweben Quantitative Perfusion. *Handchirurgie · Mikrochirurgie · Plastische Chirurgie*. 29. Dezember 2016;48(06):354–62.
92. Guangjun W, Yuying T, Shuyong J, Tao H, Weibo Z. Change of blood perfusion in Hegu acupoint after contralateral Hegu acupoint was stimulated. *J Altern Complement Med*. August 2012;18(8):784–8.
93. van Vuuren TM, Van Zandvoort C, Doganci S, Zwiers I, tenCate-Hoek AJ, Kurstjens RL, u.a. Prediction of venous wound healing with laser speckle imaging. *Phlebology*. Dezember 2017;32(10):658–64.
94. Zieger M, Springer S, Koehler MJ, Kaatz M. Multiphotonentomographie. *Der Hautarzt*. Juli 2015;66(7):511–21.

95. Springer S, Zieger M, Böttcher A, Lademann J, Kaatz M. Examination of wound healing after curettage by multiphoton tomography of human skin in vivo. *Skin Research and Technology*. November 2017;23(4):452–8.
96. Alex A, Weingast J, Weinigel M, Kellner-Höfer M, Nemecek R, Binder M, u.a. Three-dimensional multiphoton/optical coherence tomography for diagnostic applications in dermatology. *Journal of Biophotonics*. April 2013;6(4):352–62.
97. Koehler MJ, Preller A, Elsner P, König K, Hipler UC, Kaatz M. Non-invasive evaluation of dermal elastosis by in vivo multiphoton tomography with autofluorescence lifetime measurements: Evaluation of elastosis by in vivo FLIM. *Experimental Dermatology*. Jänner 2012;21(1):48–51.
98. Singer AJ, Relan P, Beto L, Jones-Koliski L, Sandoval S, Clark RAF. Infrared Thermal Imaging Has the Potential to Reduce Unnecessary Surgery and Delays to Necessary Surgery in Burn Patients: *Journal of Burn Care & Research*. 2016;37(6):350–5.
99. Nakagami G, Sanada H, Iizaka S, Kadono T, Higashino T, Koyanagi H, u.a. Predicting delayed pressure ulcer healing using thermography: a prospective cohort study. *J Wound Care*. November 2010;19(11):465–6, 468, 470 passim.
100. Dini V, Salvo P, Janowska A, Di Francesco F, Barbini A, Romanelli M. Correlation Between Wound Temperature Obtained With an Infrared Camera and Clinical Wound Bed Score in Venous Leg Ulcers. *Wounds*. Oktober 2015;27(10):274–8.
101. Lukaski HC, Moore M. Bioelectrical impedance assessment of wound healing. *J Diabetes Sci Technol*. 1. Jänner 2012;6(1):209–12.
102. Kekonen A, Bergelin M, Eriksson J-E, Vaalasti A, Ylänen H, Viik J. Bioimpedance measurement based evaluation of wound healing. *Physiol Meas*. 22. Juni 2017;38(7):1373–83.
103. Kenworthy P, Phillips M, Grisbrook TL, Gibson W, Wood FM, Edgar DW. Monitoring wound healing in minor burns-A novel approach. *Burns*. 2018;44(1):70–6.

104. Yip WL. Evaluation of the clinimetrics of transcutaneous oxygen measurement and its application in wound care: Evaluation of the clinimetrics of transcutaneous oxygen measurement. *International Wound Journal*. Dezember 2015;12(6):625–9.
105. Romanelli M, Dini V, Barbanera S, Bertone MS. Evaluation of the efficacy and tolerability of a solution containing propyl betaine and polihexanide for wound irrigation. *Skin Pharmacol Physiol*. 2010;23 Suppl:41–4.
106. Wang L, Pedersen PC, Strong DM, Tulu B, Agu E, Ignatz R. Smartphone-based wound assessment system for patients with diabetes. *IEEE Trans Biomed Eng*. Februar 2015;62(2):477–88.
107. Ciancio F, Portincasa A, Parisi D, Innocenti A. MowA®: A simple and economic way of monitoring chronic wounds outcome with your mobile devices. *Ann Ital Chir*. 2017;88:94.
108. Mohafez H, Ahmad SA, Hadizadeh M, Moghimi S, Roohi SA, Marhaban MH, u.a. Quantitative assessment of wound healing using high-frequency ultrasound image analysis. *Skin Research and Technology*. Februar 2018;24(1):45–53.
109. Bonferoni MC, Riva F, Invernizzi A, Dellera E, Sandri G, Rossi S, u.a. Alpha tocopherol loaded chitosan oleate nanoemulsions for wound healing. Evaluation on cell lines and ex vivo human biopsies, and stabilization in spray dried Trojan microparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Februar 2018;123:31–41.
110. Geraghty LN, Biesman B. Clinical evaluation of a single-wavelength fractional laser and a novel multi-wavelength fractional laser in the treatment of photodamaged skin. *Lasers in Surgery and Medicine*. August 2009;41(6):408–16.
111. Yücel A, Kan Y, Yesilada E, Akın O. Effect of St.John's wort (*Hypericum perforatum*) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. *Journal of Ethnopharmacology*. Jänner 2017;196:236–41.

112. Hodgkinson T, Bayat A. Ex vivo evaluation of acellular and cellular collagen-glycosaminoglycan flowable matrices. *Biomed Mater.* 16. Juli 2015;10(4):041001.
113. Kist DA, Elm CML, Eleftheriou LI, Studer JA, Wallander ID, Walgrave SE, u.a. Histologic analysis of a 2,940 nm fractional device. *Lasers in Surgery and Medicine.* Februar 2011;43(2):79–91.
114. Rütter L, Bolke L, Schlippe GR, Voss WA. Hyaluronan als Schlüssel zur schnelleren Wundheilung in humanen 3-D-Vollhautmodellen. *Der Hautarzt.* Dezember 2017;68(12):987–93.
115. Cao Y, Gao F, Li C-Z, Xue Y-M. Expression of leptin and its long-form receptor in the marginal cutaneous tissues of diabetic foot ulcers. *Acta Diabetol.* Dezember 2012;49 Suppl 1:S205-214.
116. Gibson ALF, Bennett DD, Taylor LJ. Improving the histologic characterization of burn depth. *Journal of Cutaneous Pathology.* Dezember 2017;44(12):998–1004.
117. Farkas JP, Richardson JA, Burrus CF, Hoopman JE, Brown SA, Kenkel JM. In Vivo Histopathologic Comparison of the Acute Injury Following Treatment With Five Fractional Ablative Laser Devices. *Aesthetic Surgery Journal.* 1. Mai 2010;30(3):457–64.
118. De Angelis B, Orlandi F, Fernandes Lopes Morais D'Autilio M, Scioli MG, Orlandi A, Cervelli V, u.a. Long-term follow-up comparison of two different bi-layer dermal substitutes in tissue regeneration: Clinical outcomes and histological findings. *International Wound Journal.* Oktober 2018;15(5):695–706.
119. Greaves NS, Iqbal SA, Hodgkinson T, Morris J, Benatar B, Alonso-Rasgado T, u.a. Skin substitute-assisted repair shows reduced dermal fibrosis in acute human wounds validated simultaneously by histology and optical coherence tomography. *Wound Repair Regen.* August 2015;23(4):483–94.

120. Wehrens KME, Arnoldussen CWKP, Booi DI, van der Hulst RRWJ. Clinical Evaluation of Wound Healing in Split-Skin Graft Donor Sites Using Microscopic Quantification of Reepithelialization. *Adv Skin Wound Care*. Juni 2016;29(6):254–60.
121. Mohammadi S, Nasiri S, Mohammadi MH, Malek Mohammadi A, Nikbakht M, Zahed Panah M, u.a. Evaluation of platelet-rich plasma gel potential in acceleration of wound healing duration in patients underwent pilonidal sinus surgery: A randomized controlled parallel clinical trial. *Transfusion and Apheresis Science*. April 2017;56(2):226–32.
122. Li X, Meng X, Wang X, Li Y, Li W, Lv X, u.a. Human acellular dermal matrix allograft: A randomized, controlled human trial for the long-term evaluation of patients with extensive burns. *Burns*. Juni 2015;41(4):689–99.
123. Mendoza-Garcia J, Sebastian A, Alonso-Rasgado T, Bayat A. Optimization of an ex vivo wound healing model in the adult human skin: Functional evaluation using photodynamic therapy: Optimization of cutaneous wound healing models. *Wound Repair and Regeneration*. September 2015;23(5):685–702.
124. Wang Y, Gutierrez-Herrera E, Ortega-Martinez A, Anderson RR, Franco W. UV fluorescence excitation imaging of healing of wounds in skin: Evaluation of wound closure in organ culture model: UV FLUORESCENCE EXCITATION IMAGING OF WOUND CLOSURE. *Lasers in Surgery and Medicine*. September 2016;48(7):678–85.
125. Glinos GD, Verne SH, Aldahan AS, Liang L, Nouri K, Elliot S, u.a. Optical coherence tomography for assessment of epithelialization in a human ex vivo wound model: OCT for human ex vivo wound assessment. *Wound Repair and Regeneration*. November 2017;25(6):1017–26.
126. Cicchi R, Kapsokalyvas D, De Giorgi V, Maio V, Van Wiechen A, Massi D, u.a. Scoring of collagen organization in healthy and diseased human dermis by multiphoton microscopy. *Journal of Biophotonics*. 21. September 2009;3(1–2):34–43.

127. Patel S, Maheshwari A, Chandra A. Biomarkers for wound healing and their evaluation. *Journal of Wound Care*. 2. Jänner 2016;25(1):46–55.
128. Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, Tomic-Canic M. Biology and Biomarkers for Wound Healing: Plastic and Reconstructive Surgery. September 2016;138:18S-28S.
129. Ud-Din S, Bayat A. Non-invasive objective devices for monitoring the inflammatory, proliferative and remodelling phases of cutaneous wound healing and skin scarring. *Exp Dermatol*. August 2016;25(8):579–85.
130. Hersant B, Abbou R, SidAhmed-Mezi M, Meningaud JP. Assessment Tools for Facial Rejuvenation Treatment: A Review. *Aesth Plast Surg*. August 2016;40(4):556–65.
131. Ud-Din S, Bayat A. Non-animal models of wound healing in cutaneous repair: In silico, in vitro, ex vivo, and in vivo models of wounds and scars in human skin: Models of wound repair in human skin. *Wound Rep and Reg*. April 2017;25(2):164–76.
132. Winter R, Dungal P, Reischies FMJ, Rohringer S, Slezak P, Smolle C, u.a. Photobiomodulation (PBM) promotes angiogenesis in-vitro and in chick embryo chorioallantoic membrane model. *Sci Rep*. Dezember 2018;8(1):17080.
133. Wikimedia Commons contributors. File:Skin layers.svg [Internet]. [zitiert 20. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Skin_layers.svg&oldid=360489202
134. Wikimedia Commons contributors. File:OCT B-Scan Setup.GIF [Internet]. [zitiert 21. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:OCT_B-Scan_Setup.GIF&oldid=306948536

135. Wikimedia Commons contributors. File:HautFingerspitzeOCT nonanimated.gif [Internet]. [zitiert 21. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:HautFingerspitzeOCT_nonanimated.gif&oldid=360489088
136. Wikimedia Commons contributors. File:Konfokal mikroskop prinzip.svg [Internet]. [zitiert 21. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Konfokal_mikroskop_prinzip.svg&oldid=158339273
137. Wikimedia Commons contributors. File:SHG collagen in liver.jpg [Internet]. [zitiert 22. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:SHG_collagen_in_liver.jpg&oldid=319183161
138. Wikimedia Commons contributors. File:Thermal image - hand - 1.jpg [Internet]. [zitiert 22. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Thermal_image_-_hand_-_1.jpg&oldid=222943220
139. Wikimedia Commons contributors. File:Rat skin (derma).jpg [Internet]. [zitiert 22. August 2019]. Verfügbar unter: [https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Rat_skin_\(derma\).jpg&oldid=272932367](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Rat_skin_(derma).jpg&oldid=272932367)
140. Wikimedia Commons contributors. File:Immunohistochemistry of the breast.jpg [Internet]. [zitiert 23. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Immunohistochemistry_of_the_breast.jpg&oldid=308264394
141. Wikimedia Commons contributors. File:Cadherin-human endothel.jpg [Internet]. [zitiert 23. August 2019]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Cadherin-human_endothel.jpg&oldid=258325827