

"Der Einfluß systemischer Wachstumshormongabe
auf die Spalthautdefektheilung beim Schwein"

Daniela Höller
aus
Bergisch Gladbach

"Der Einfluß systemischer Wachstumshormongabe auf die Spalthautdefektheilung beim Schwein"

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von
Daniela Höller
aus
Bergisch Gladbach

Berichter: Herr Universitätsprofessor
Dr. med. (Zürich) B. J. Messmer
Herr Universitätsprofessor
Dr. med. H. F. Merk

Tag der mündlichen Prüfung: 25. April 2002

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek
online verfügbar

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Physiologie und Wirkung des Wachstumshormons.....	1
1.2 Pathophysiologie der Katabolie und des Wachstumshormons.....	2
1.3 Das Verbrennungstrauma und seine Behandlung.....	4
1.4 Einsatz von Wachstumshormon in der Verbrennungstherapie.....	8
1.5 Verbandsmaterialien.....	10
1.6 Fragestellung.....	11
2 Material und Methoden.....	13
2.1 Verwendete Materialien.....	13
2.1.1 Tierversuche.....	13
2.1.2 Histologie, Immunhistologie.....	14
2.1.3 Geräte.....	15
2.2 Tierhaltung.....	16
2.3 Narkose.....	17
2.3.1 Operation.....	17
2.3.2 Verbandswechsel.....	17
2.3.3 Tötung.....	18
2.4 Gruppenbildung.....	18
2.5 Operation.....	19
2.6 Verlaufskontrolle.....	22
2.6.1 Tägliche Kontrollen.....	22
2.6.2 Verbandswechsel.....	22

2.7	Vorversuch.....	23
2.8	Histologie.....	24
2.8.1	Modifizierte Einbettung in Paraplast.....	24
2.8.2	Probenvorbereitung.....	25
2.8.3	Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	26
2.9	Immunhistologie.....	26
2.9.1	Kryokonservierung der Schnitte.....	26
2.9.2	Vorbereitung der Schnitte.....	26
2.9.3	Immunfluoreszenzfärbung.....	27
2.10	IGF-1-Bestimmung im Serum.....	29
2.10.1	Vorbereitung der Blutproben.....	29
2.10.2	Bestimmung des Serum IGF-1-Spiegels.....	29
2.11	Statistische Methoden.....	29
3	Ergebnisse.....	31
3.1	Vorversuch.....	31
3.2	IGF-1-Spiegel.....	31
3.2.1	IGF-1-Serumspiegel prä- und postoperativ.....	31
3.2.2	IGF-1-Serumspiegel im Verlauf der Wundheilung.....	34
3.3	Verbandsmaterialien.....	36
3.3.1	Abheilung der Epidermis.....	36
3.3.2	Abheilung der Basalmembranzone.....	48
3.4	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	53
3.4.1	IGF-1-Serumkonzentration.....	53
3.4.2	Verbandsmaterialien.....	56
3.4.2.1	Der Einfluß der Verbandsmaterialien auf die Wundheilung.....	56
3.4.2.2	Der Einfluß von Wachstumshormon in Kombination mit den Verbandsmaterialien auf die Wundheilung.....	56

4	Diskussion	60
4.1	Tiermodell Schwein.....	60
4.1.1	Vergleichbarkeit des Hautaufbaus zwischen Mensch und Schwein.....	60
4.1.2	Vergleichbarkeit des Wachstumshormons und seiner Wirkung.....	62
4.2	IGF-1-Serumspiegel.....	64
4.2.1	Änderung des IGF-1-Serumspiegels unter operativem Streß.....	64
4.2.2	Wirkung der systemischen Wachstumshormongabe auf den IGF-1-Serumspiegel.....	65
4.3	Verbandsmaterialien.....	67
4.3.1	Der Einfluß der Verbandsmaterialien auf die Spalthautdefektheilung.....	67
4.3.1.1	Braunovidon.....	69
4.3.1.2	Kaltostat.....	70
4.3.1.3	OpSite.....	72
4.3.1.4	Seide.....	74
4.3.1.5	Varihesive E.....	75
4.3.1.6	Zusammenfassende Bewertung.....	77
4.3.2	Einfluß der systemischer Wachstumshormontherapie in Kombination mit den Verbandsmaterialien auf die Wundheilung....	79
4.3.3	Abheilung der Basalmembranzone.....	81
4.4	Zusammenfassende Bewertung.....	81
5	Zusammenfassung	83
6	Literaturverzeichnis	86
7.	Danksagung	106
8.	Lebenslauf	107

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1-1:	Pathophysiologie des Verbrennungstraumas.....	2
Abb. 1-2:	Schematische Zusammenfassung der pathophysiologischen Veränderungen nach einem Verbrennungstruma.....	6
Abb. 1-3:	Schematische Darstellung des derzeitigen Therapieregimes nach Verbrennungstraumen.....	8
Abb. 2-1:	Schematischer Versuchsaufbau: Anordnung der Spalthaut- entnahmestellen und der Wundauflagen.....	21
Abb. 2-2:	Versuchstier nach der Spalthautentnahme.....	21
Abb. 3-1:	Spalthautdefekt versorgt mit Brauonovidon, 5. Tag p.o.....	38
Abb. 3-2:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.....	38
Abb. 3-3:	Spalthautdefekt versorgt mit Brauonovidon, 12. Tag p.o.....	39
Abb. 3-4:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.....	39
Abb. 3-5:	Spalthautdefekt versorgt mit Kaltostat, 5. Tag p.o.....	40
Abb. 3-6:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.....	40
Abb. 3-7:	Spalthautdefekt versorgt mit Kaltostat, 12. Tag p.o.....	41
Abb. 3-8:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.....	41
Abb. 3-9:	Spalthautdefekt versorgt mit OpSite, 5. Tag p.o.....	42
Abb. 3-10:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.....	42
Abb. 3-11:	Spalthautdefekt versorgt mit OpSite, 12. Tag p.o.....	43
Abb. 3-12:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.....	43
Abb. 3-13:	Spalthautdefekt versorgt mit Seide, 5. Tag p.o.....	44
Abb. 3-14:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.....	44
Abb. 3-15:	Spalthautdefekt versorgt mit Seide, 12. Tag p.o.....	45
Abb. 3-16:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.....	45
Abb. 3-17:	Spalthautdefekt versorgt mit Varihesive E, 5. Tag p.o.....	46
Abb. 3-18:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.....	46

Abb. 3-19:	Spalthautdefekt versorgt mit Varihesive E, 12. Tag p.o.....	47
Abb. 3-20:	HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.....	47
Abb. 3-21:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Laminin, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	50
Abb. 3-22:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Laminin, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	50
Abb. 3-23:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen Typ IV, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	51
Abb. 3-24:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen Typ IV, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	51
Abb. 3-25:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen Typ VII, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	52
Abb. 3-26:	Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen Typ VII, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive-Wundauflage.....	52
Abb. 3-27:	Vergleich der IGF-1-Serumwerte in ng/ml zwischen Verum- und Kontrollgruppe.....	55
Abb. 3-28:	Abheilungszeitpunkt der Epidermis der Spalthautdefekt- stellen in Tagen unter den unterschiedlichen Verbands- materialien.....	58
Abb. 3-29:	Abheilungszeitpunkt der Basalmembranzzone der Spalthaut- defektstellen in Tagen unter den unterschiedlichen Verbandsmaterialien.....	59

Tabellenverzeichnis

Tab. 2-1:	Herstellung von 4 % Formalin nach Lidi.....	25
Tab. 2-2:	TBS-Herstellung.....	28
Tab. 2-3:	Verdünnung der primären Antikörper.....	28
Tab. 2-4:	Verdünnung der sekundären Antikörper.....	28
Tab. 3-1:	Größenkorrelation zwischen den verschiedenen Entnahmetiefen beim Schwein und menschlicher Spalthautentnahmetiefe von 0,3 mm.....	32
Tab. 3-2:	Prä- und postoperativer IGF-1-Spiegel.....	33
Tab. 3-3:	IGF-1-Serumwerte der Verumgruppe in ng/ml.....	35
Tab. 3-4:	IGF-1-Serumwerte der Kontrollgruppe in ng/ml.....	35
Tab. 3-5:	Abheilungszeitpunkt der Epidermis in Tagen, Verumgruppe.....	37
Tab. 3-6:	Abheilungszeitpunkt der Epidermis in Tagen, Kontrollgruppe.....	37
Tab. 3-7:	Zeitpunkt der vollständigen Rekonstruktion der Basalmembranzone in Tagen, Verumgruppe.....	49
Tab. 3-8:	Zeitpunkt der vollständigen Rekonstruktion der Basalmembranzone in Tagen, Kontrollgruppe.....	49
Tab. 3-9:	Varianzanalyse mit Messwiederholung der IGF-1-Serumwerte in ng/ml.....	55
Tab. 3-10:	Varianzanalyse mit Messwertwiederholung der Verbandstoffe, Abheilung der Epidermis.....	58
Tab. 3-11:	Varianzanalyse mit Messwertwiederholung der Verbandstoffe, Abheilung der Basalmembranzone.....	59

Abkürzungsverzeichnis

A. dest.	=	Aqua destillata
Abb.	=	Abbildung
AK	=	Antikörper
FITC	=	Fluoresceinisothiocyanate
H0	=	Nullhypothese
H1	=	Alternativhypothese
HCl	=	Salzsäure
HE	=	Hämatoxylin-Eosin
I.E.	=	internationale Einheiten
i.m.	=	intramuskulär
i.v.	=	intravenös
IGF-1	=	Insulin-like growth factor 1
kg	=	Kilogramm
KG	=	Körpergewicht
MEC	=	Methylethylketon
mg	=	Milligramm
ml	=	Milliliter
MW	=	Mittelwert
NaCl	=	Natriumchlorid
ng	=	Nanogramm
p.o.	=	post operativ
PVP	=	Poly(1-vinyl-2-pyrrolidon)
RPE	=	R-Phycoerythrin
s.c.	=	subkutan
SIRS	=	"systemic inflammatory response syndrome"
SNS	=	Schweinenormalserum
Tab.	=	Tabelle
TBS	=	Trishydroxymethylaminomethan-gepufferte Salzlösung

1. Einleitung

1.1 Physiologie und Wirkung des Wachstumshormons

Das Wachstumshormon (WH) ist ein von der Hypophyse gebildetes, anabol wirkendes Hormon. Die Sekretion und der Spiegel des WH unterliegt tageszeitabhängigen und altersabhängigen Veränderungen. Der WH-Spiegel steigt bis zur Pubertät an, und fällt anschließend mit zunehmendem Alter kontinuierlich ab (Finkelstein et al. 1972).

Im Intermediärstoffwechsel hat das WH verschiedene direkte und indirekte Effekte. Den wichtigsten lokalen Mediator des WH stellt der in der Leber gebildete "insulin-like growth factor 1" (IGF-1) dar. Das WH erhöht über eine Steigerung der IGF-1-Bildung die Natrium-, Wasser-, Kalzium- und Phosphatresorption, steigert die Osteoblasten und -klastenaktivität und bewirkt im Bereich der Nieren und des Herzens eine Hypertrophie mit Funktionssteigerung (D'Ercole et al. 1984, Isaksson et al. 1987, Mathews et al. 1986, Ogle et al. 1992, Peterson et al. 1997).

Auf der Ebene des Substratstoffwechsels wird die Lipolyse und Fettoxidation stimuliert, gleichzeitig wird die Glukoseaufnahme durch die Muskulatur vermindert und die Glukoseoxidation reduziert (Davidson 1987, Fryburg et al. 1992, Goodman u. Schwartz 1974, Möller et al. 1990, Wolf et al. 1996).

1.2 Pathophysiologie der Katabolie und des Wachstumshormons

Auf jede Störung der Homöostase reagiert der Organismus mit typischen neuroendokrinen und metabolischen Veränderungen. Diese Veränderungen bezeichnet man als "systemic inflammatory response syndrome" (SIRS). Klinisch steht neben der traumainduzierten Immunsuppression die Katabolie, d.h. das Überwiegen des Proteinabbaus gegenüber dem Proteinaufbau, im Vordergrund (DeCamp u. Demling 1988, Finley et al. 1986, Goldstein u. Elwyn 1989, Hartl u. Jauch 1994, Wilmore 1990, Wilmore et al. 1974b, 1977) (Abb.1-1).

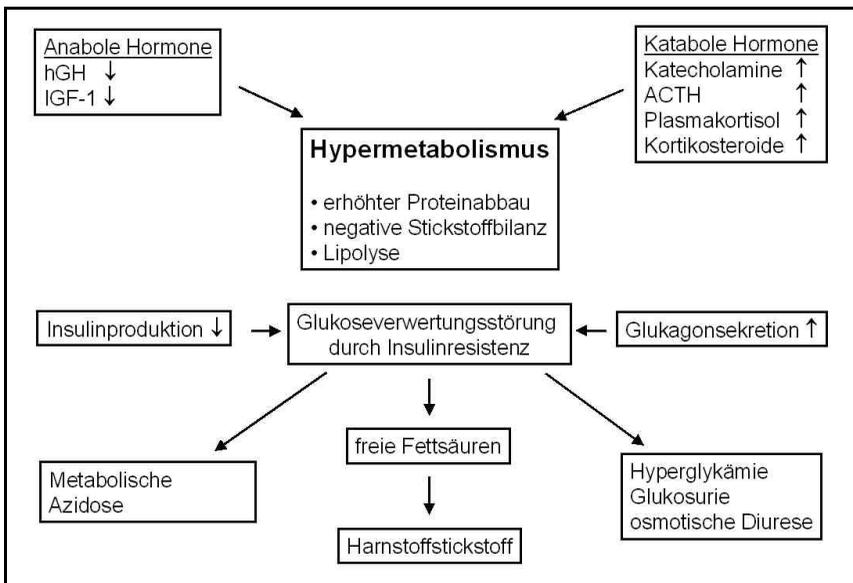


Abb. 1-1: Pathophysiologie des Verbrennungstraumas

Während Stress akut zu einer Freisetzung von WH führt, findet sich nach 24 Stunden bei Trauma-, Intensiv- oder elektiv operierten Patienten ein verminderter WH-Spiegel. Die stärkste Suppression der WH-Freisetzung ist bei älteren und übergewichtigen Patienten zu verzeichnen (Jeevanandem et al. 1992).

Weiterhin findet sich eine weitgehend aufgehobene Pulsatilität der WH-Freisetzung nach Traumen. Bei Normalpersonen beobachtete man 13-32 WH-Spitzen innerhalb von 24 Stunden (Finkelstein et al. 1972). Nach Traumen zeigten sich in Studien im Durchschnitt 7,1 Spitzenspiegel innerhalb von 24 Stunden und eine aufgehobene Oszillation (Melarvie et al. 1995, Ross et al. 1991). Hierdurch verändern sich die Effekte von WH, und übereinstimmend findet sich in der Literatur eine Reduktion des IGF-1 (Bentham et al. 1993, Dahn et al. 1988, Jeevanandam et al. 1992, Jeffries u. Vance 1992, Ross et al. 1991). Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass die Bildung von IGF-1 für die positiven anabolen Effekte unerlässlich ist. Bei einer Hemmung der IGF-1-Bildung, z.B. bei ausgeprägter Sepsis und Leberinsuffizienz, ist auch mit einer Resistenz gegenüber der WH-Therapie zu rechnen (Dahn et al. 1988, Roth et al. 1995).

Nach schwerem Trauma kann ein Ausgleich der Proteinhomöostase weder mit der standardisierten künstlichen Ernährung noch mit speziellen Diäten erzielt werden (Wilmore 1991). Es wird gefordert, dass bei drohenden Proteinverlusten von über 10 % der Körperzellmasse, neben dem Versuch einer Reduktion der Gesamtkörperinflammation und der Zufuhr spezieller Substrate, Wachstumsfaktoren zugegeben werden sollen. Diese sollen die Rekonvaleszenz nach Trauma, Sepsis oder Chemotherapie verkürzen sowie die Morbidität verringern und schließlich die Länge des Krankenhausaufenthaltes

vermindern (Ward et al. 1987, Wilmore 1991).

1.3 Das Verbrennungstrauma und seine Behandlung

Als Verbrennung bezeichnet man eine Gewebeerstörung durch Hitze- einwirkung bedingt durch Flammen, Gasexplosionen oder heiße Metalle, Flüssigkeiten und Dämpfe. Die Schwere einer Verbrennung wird durch den Grad der Ausdehnung und die Eindringtiefe bestimmt, die sich bis ins Korium erstrecken kann, wobei auch die Hautanhangsgebilde geschädigt sind (Braun-Falco 1995).

Die Gewebeschädigung führt zu dem klinischen Erscheinungsbild der Verbrennungskrankheit. Die Gefahr eines akuten Schocks besteht bei Erwachsenen, wenn 20 % der Körperoberfläche verbrannt sind, und steigt mit zunehmender Ausdehnung. Zunächst kommt es innerhalb von 48 Stunden nach der Verbrennung zu einem hypovolämischen Schock. Das Herzvolumen sowie das extrazelluläre und Plasmavolumen sind vermindert (Nguyen et al. 1996). Durch die Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens kommt es zu einer Senkung des onkotischen Drucks und zu einer hämodynamischen Insuffizienz. Im Verbrennungsgebiet werden Entzündungsmediatoren wie Zytokine, Prostaglandine und Stickstoff in hohen Konzentrationen freigesetzt, die zu einer lokalen Gewebeschädigung führen (Nguyen et al. 1993). Prostaglandin E2 führt zu einer Vasodilatation, die Leukotriene B4 - D4 bewirken eine Erhöhung der mikrovaskulären Permeabilität. Dies führt zu weiteren Wasserverlusten über die Wunde und durch Ödembildung im geschädigten Gewebe (Anggard u. Jonsson 1971, Harms et al. 1981, Robson et al. 1980, Wilmore 1990).

In der Frühphase der Verbrennung kommt es zunächst zu einer Anurie, die rasch durch eine langanhaltende Phase mit Polyurie, Stickstoffverlusten, Temperaturanstieg und einem Anstieg des Sauerstoffverbrauchs gekennzeichnet ist. Durch Wasser- und Wärmeverluste steigt die metabolische Rate (Caldwell 1976, Wallace et al. 1994). Die Freisetzung von Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α steigert die Katabolie, und bewirkt zusätzlich eine Immunsuppression (Drost et al. 1993, Nguyen et al. 1993). Ein weiterer Faktor, der die Katabolie in dieser Phase der Verbrennungskrankheit triggert, ist die Ausschüttung katabol wirkender Hormone wie Kortisol, Katecholamine und Glukagon. Dies führt zu einer gesteigerten Lipolyse, Proteolyse und Glukoneogenese (Gilpin u. Herndon 1996, Goldstein und Elwyn 1989, Wilmore et al. 1974a, 1974b). Die Brandwunde unterhält diesen Prozess durch die Ausschüttung von inflammatorisch wirkenden Mediatoren und Zytokinen (Bessey et al. 1984, Wilmore 1991) (Abb. 1-2).

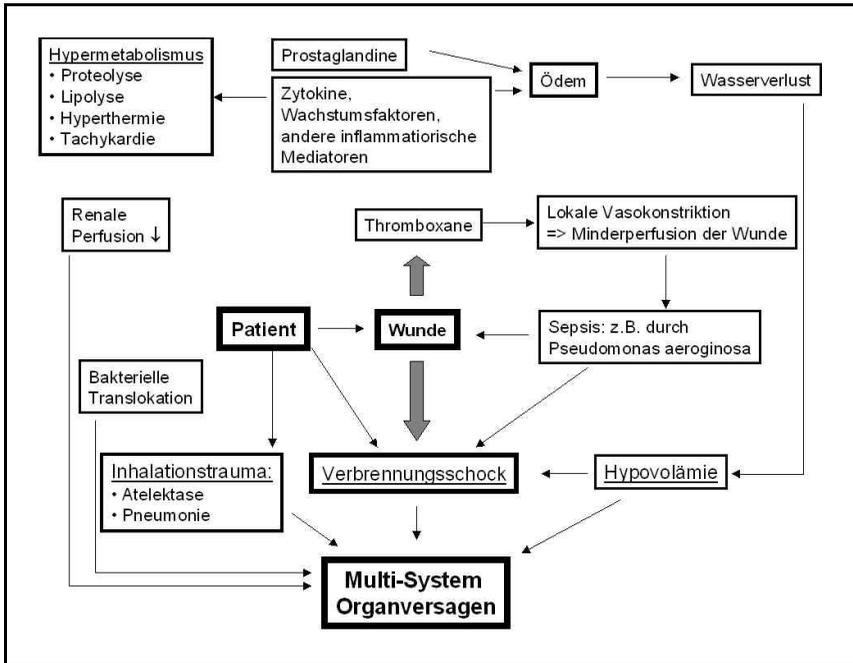


Abb. 1-2: Schematische Zusammenfassung der pathophysiologischen Veränderungen nach einem Verbrennungstrauma

Caldwell und Mitarbeiter beobachteten, dass durch eine Abdeckung der Wunden mit impermeablen Auflagen der Wasserverlust zu stoppen war (Caldwell 1976, 1981, Wallace et al. 1994). Weiter wurde versucht, die katabolische Phase durch frühzeitige Nekroseabtragung und Wunddeckung mit autologer Spalthaut zu verkürzen, was aber nur bedingt gelang (Rutan et al. 1986). Auch der Versuch, die Stickstoffverluste durch eine frühzeitige und hochkalorische Ernährung aufzufangen, brachte nicht die erhofften Erfolge (Finley et al. 1986, Gilpin et al. 1993, Hildreth et al. 1989).

Die zur Zeit beste Therapie der Verbrennungskrankheit ist die frühzeitig einsetzende ausreichende Flüssigkeitssubstitution sowie eine frühzeitige tangentielle Nekroseabtragung ab dem 1.-5. Tag mit anschließender Transplantation von autologer Spalthaut. Dieses Verfahren reduziert signifikant die Gefahr einer Wundinfektion durch die Verkleinerung der Wundfläche sowie die Mortalität der Patienten (Chamania et al. 1998, Cryer et al. 1991, Kisslaogglu et al. 1997, Scott-Conner et al. 1990, Yowler u. Fratianne 2000) (Abb. 1-3).

Bei Verbrennungen, die ca. 40 % der Körperoberfläche übersteigen, kann die Gewinnung von ausreichend autologer Spalthaut zu einem der Hauptprobleme bei der chirurgischen Behandlung werden (Heimbach et al. 1988, Herndon et al. 1987, Tompkins et al. 1986). In diesen Fällen läßt sich der Bedarf an Spalthaut mit Hilfe neuer Methoden, wie der Meek-Technik oder der chinesischen Mischhautmethode, verringern (Hettich u. Hafemann 1992, Kreis et al. 1994, Raff et al. 1996, Yang 1981). Trotzdem muss in vielen Fällen die Spalthaut aus demselben Spenderareal bis zu drei Mal entnommen werden. Die dabei entstehenden Hebedefekte stellen, bis sie abgeheilt sind, ebenfalls zweitgradige Wunden dar, über die es zu Wärme-, Wasser- und Proteinverlust kommt. Des weiteren besteht die Gefahr einer Keiminvasion mit den in der Folge auftretenden typischen Komplikationen, wie z.B. Wundheilungsstörungen, Sepsis etc. (Smith et al. 1994).

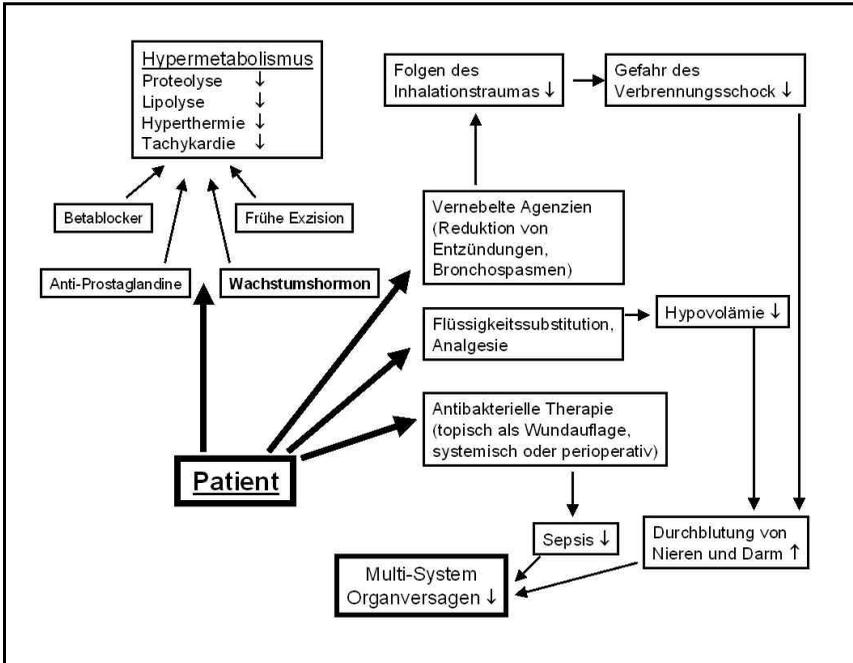


Abb. 1-3: Schematische Darstellung des derzeitigen Therapieregimes nach Verbrennungstraumen

1.4 Einsatz von Wachstumshormon in der Verbrennungstherapie

Erste Studien an Verbrennungspatienten zeigten, dass die systemische WH Therapie zu einem Anstieg des WH- und IGF-1-Spiegels im Serum führt (Fleming et al. 1992). Unter dieser Therapie konnte die stressinduzierte negative Stickstoffbilanz und damit der Protein- und Gewichtsverlust reduziert werden (Demling 1999, Horber und Haymond 1990, Jiang et al. 1989, Takagi et al. 1995, Wilmore et al. 1974a, Ziegler et al. 1988). Lediglich Belcher und Mitarbeiter

konnten in einer Studie an 12 Schwerverbrannten keine Beeinflussung des Proteinhaushaltes durch die systemische Verabreichung von WH beobachten (Belcher et al. 1989). Verschiedene Studien zeigten ein schnellere Erholung der posttraumatisch abfallenden Serumkonzentrationen verschiedener Funktionsproteine unter systemischer WH-Therapie (Behrmann et al. 1995, Fleming et al. 1992, Jarrer et al. 1997, Jeschke et al. 1999, Manson et al. 1986, 1988, Varathorbeck et al. 1993). Die systemische WH-Gabe vermindert weiterhin den Hypermetabolismus nach Verbrennungen und größeren chirurgischen Eingriffen (Demling 1999, Huang et al. 1993, Strock et al. 1990, Takagi et al. 1995). Es zeigte sich, dass das WH vor allem die Kollagenformation beeinflusst, und so den Hautaufbau unterstützt (Daughaday 1985). Diese Beobachtungen konnten im Tiermodell bestätigt werden (Jorgensen u. Andreassen 1987, 1988, Jorgensen et al. 1995).

Unter der systemischen Gabe von WH bei schwerverbrannten Kindern konnte eine Beschleunigung der Wundheilung von Spalthautdefekten beobachtet werden (Gilpin et al. 1994, Gore et al. 1991, Herndon et al. 1990, 1996, Koller et al. 1998, Rutan et al. 1994).

Für adulte Schwerstverbrannte liegt noch keine Zulassung für den therapeutischen Einsatz von rekombinantem WH vor. Deshalb beschränkt sich hier die Anwendung von WH auf die *ultima-ratio*-Therapie. An kleinen Patientenkollektiven von ca. 10-20 Patienten konnte ein Effekt von systemisch appliziertem rekombinantem WH auf die Spalthautdefektheilung nachgewiesen werden. Die Entnahmestellen der Spalthaut heilten in der Regel zwei Tage früher ab, als in der Kontrollgruppe (Demling 1999, Herndon et al. 1995, Knox et al.

1995, Sun et al. 1998). Ein Vergleich der Studien ist nicht möglich, da entscheidende Parameter differierten: Der Verbrennungsindex, die Verteilung der Verbrennungen, der Zeitpunkt der operativen Interventionen, der Beginn der systemischen WH-Therapie, die durchgemachten septischen Phasen und die Keimbesiedelung der Wunden. Für eine schlüssige Aussage bezüglich eines Effektes von WH auf die Abheilung von Spalthautdefekten beim erwachsenen Schwerstverbrannten sind kontrollierte klinische Studien erforderlich. Diese müssen mit einer sehr hohen Patientenzahl durchgeführt werden, um statistisch verwertbare Aussagen zu erhalten.

1.5 Verbandsmaterialien

Zur Wunddeckung von Spalthautdefekten werden zur Zeit verschiedene Materialien eingesetzt. Hierzu gehören unter anderem Hydrokolloidgele (Varihesive E), Polyurethanfolien (OpSite), Kalzium-Alginat-Kompressen (Kaltostat) und Jod-Salbegazen (Braunovidon). Diese Verbandsmaterialien wurden in zahlreichen klinischen Studien getestet. Hierbei wurden zumeist zwei Verbandsmaterialien gleichzeitig zur Deckung von Spalthautdefekten an einem Patienten angewandt. Die Dokumentation des Wundheilungsfortschrittes erfolgte mittels Planimetrie oder beschreibend (xx). Der Vergleich dieser Studien wird durch die unterschiedlichen Spalthautentnahmeareale und zusätzlich beeinflussende Faktoren, wie die Keimbesiedelung der Wunden und die zusätzlich bestehenden Verbrennungen, erschwert. Eine Untersuchung unter standardisierten Bedingungen zur Beurteilung des Einflusses der verschiedenen Verbandsmaterialien auf die Abheilung von Spalthautdefekten liegen nicht vor.

1.6 Fragestellung

Ein Ansatz, die Abheilung von Spalthautdefekten günstig zu beeinflussen, ist neben der Wahl des bestgeeigneten Verbandmaterials die Stimulierung des Heilungspotentials ortsständiger Zellen. Zur Stimulation werden v.a. Wachstumsfaktoren lokal und systemisch eingesetzt. In ultima-ratio-Therapien an adulten Schwerstverbrannten konnte ein Effekt der systemischen Wachstumshormongabe auf die Abheilung der Spalthautdefekte gezeigt werden. Die bisher durchgeführten Studien differierten im Aufbau, wie unter 1.4 beschrieben. Vor allem der Einfluss von Nebenerkrankungen erschwert die Vergleichbarkeit dieser Studien.

In der vorliegenden Untersuchung wurde das Tiermodell Schwein gewählt, um unter standardisierten Bedingungen den Einfluss der systemischen WH-Gabe auf den IGF-1-Spiegel und die Wundheilung zu untersuchen.

Zunächst sollte überprüft werden, ob die systemische Wachstumshormongabe bei adulten Schweinen zu einem Anstieg des IGF-1-Spiegels im Serum führt. Des weiteren wurde überprüft, ob es postoperativ (p.o.) im Tiermodell zu einem Abfall des basalen IGF-1-Spiegels kommt.

Unter Berücksichtigung der Heilungseigenschaften der Verbandsmaterialien Braunovidon, Kaltostat, OpSite, Seide und Varihesive E, sollte untersucht werden, ob die systemische WH-Therapie einen Effekt auf die Abheilung von Spalthautentnahmestellen hat.

Die verschiedenen Verbandsmaterialien sollten hinsichtlich ihrer Eignung als Wundauflage zur Abdeckung von Spalthautdefektstellen untersucht werden.

Hierbei sollte der Abheilungszeitpunkt und die Beschaffenheit der neugebildeten Epidermis hinsichtlich ihrer Eignung als erneutes Entnahmeareal als Eignungskriterium betrachtet werden.

2 Material und Methoden

2.1 Verwendete Materialien

2.1.1 Tierversuche

- Sterile Einmalspritzen, 10 und 20 ml Luer: Amefa, Limburg.
- Ringerlösung; Natriumchlorid-(NaCl)-Lösung 0,9 %: Boehringer, Ingelheim.
- 10 % Poly (1-vinyl-2-pyrrolidon) (PVP) -Iod-Komplex-Lösung (Betaisodona®); PVP-Iod-Komplex-Gaze (Braunovidon®-Salbengaze); Klebeverband (Fixomull® stretch): B. Braun, Melsungen.
- Hydrokolloidverband extradünn (Varihesive®E), Kalzium-Alginat-Verband (Kaltostat®): Bristol-Myers-Squibb, München.
- Einmalkanülen 24 G Luer; Venenverweilkatheder (Vasofix®) 20 1¼ x G Luer: Dahlhausen, Köln.
- Nahtmaterial, nicht resorbierbar (Vicryl®), Stärke 3.0: Ethicon, Hamburg.
- Skalpelle, verschiedene Größen: Feather, Köln.
- Vlieskompressen: Fuhrmann, Much.
- Azaperon (Stresnil®): Janssen, Neuss.
- Schweinekornfutter, Muskator UM91: Muskator, Kerpen.
- Rekombinantes Wachstumshormon (Genotropin®), 16 I.E.: Pharmacia, Erlangen.
- Op-Abdecksystem (Raucodrape®): Rauscher, Pattensen.
- Pentobarbital (Narcoren®): Rhone Merieux, Laupheim.
- Ketaminhydrochlorid 10 % (Ketamin®): Sanofi-Ceva, Düsseldorf.
- Leibbandagen (Helios®): Schumacher, Krefeld.
- Folienverband (OpSite®): Smith & Nephew, Spangenberg.

- Hautstanze (Biopsie Punch®), 6 mm Ø: Stiefel, Offenbach a.M.
- sechs Monate alte, männliche, kastrierte Schweine, Deutsche Landschweinrasse: Tierzuchtbetrieb Voets, Hückelhoven.
- Atropin (Atropinum sulfuricum solutum®): WDT, Hannover.
- Handelsübliche Seide, gammasterilisiert.

2.1.2 Histologie, Immunhistologie

- Aqua bidest.; Xylol reinst; Alkohol absolut, vergällt mit Methylethylketon (MEC); Stickstoff; Aceton reinst: Apotheke der Universitätsklinik der RWTH, Aachen.
- Einbettkassetten (Tissue Tek III): Bayer Diagnostics, New York, NY, USA.
- Zentrifugenröhrchen 20 ml: Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ, USA.
- Kaninchen anti-humanes Kollagen Typ IV-Antikörper (AK), Klon MC4-HA: Biodesign, Asbach.
- Eiweiß-Glycerin: Chroma-Gesellschaft, Münster.
- Antikörperverdünnungsmedium, hintergrundreduzierend, Schwein-Normalserum (SNS), Maus IgG1, polyklonale Kaninchen anti-Human Ig-Fraktion (normal), R-phycoerythrin-(RPE)-konjugierter Ziege anti-Maus Sekundär-AK; Fluoresceinisothiocyanate (FITC) Schwein anti-Kaninchen Sekundär-AK: DAKO, Glostrup, DN.
- Objektträger 76 x 26 mm; Deckgläser: Engelbrecht, Edermünde.
- Reagiergefäße, verschiedene Größen: Eppendorf, Hamburg.
- Einbettmedium für Gefrierschnitte: Jung, Nussloch.
- Einschlußmittel für mikroskopische Technik (Vitro-Clud®): R. Landenbrinck, Emmendingen.

- Formaldehyd 37 % säurefrei; Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) zur Analyse (z.A.); di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) z.A; Salzsäure (HCl) rauchend 37 % z.A.; HCl 1N; 2-Propanol, reinst; Mayers Hämalaunlösung, NaCl z.A.: Merck, Darmstadt.
- Probengefäße: Sarstedt, Nümbrecht.
- Feuchtkammer für die Immunhistochemie, Eosin Y wässrig: Shandon, Pittsburgh, PA, USA.
- Paraffin, Gewebeeinbettmaterial: Sherwood Medical, Sulzbach.
- Monoklonaler anti-humaner Laminin-AK aus der Maus, Klon LAM-89, monoklonaler anti-humaner Kollagen Typ VII-AK aus der Maus, Klon LH7.2: Sigma, Deisenhofen.

2.1.3 Geräte

- Dermatome, elektrisch; Schermesser, elektrisch: Aesculap, Tuttlingen.
- Thermoplatte S: Desaga, Heidelberg.
- Minifuge T; Brutschrank, Typ T5050: Heraeus, Hanau.
- Mikroprozessor pH-Meter, Calimatic Typ 762: Knick, Berlin.
- Warmwasserbecken Medax, Typ 24900: Nagel, Kiel.
- Histostat, Modell 8031; HistoSlide 2000: Reichert-Jung, Nussloch.
- Waage, Typ 1801, (MP8): Sartorius, Göttingen.
- Mikroskop, Axioskop 50 mit VHW 50f-2b UV-Lampe: Zeiss, Oberkochen.

2.2 Tierhaltung

Die Tierversuche wurden 1997 und 1998 im Institut für Versuchstierkunde der RWTH Aachen, Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Küppers durchgeführt, Genehmigungsnummer: Regierungspräsident Köln, 23.203.2 AC 28, 19/96.

Als Versuchstiere standen 17 sechs Monate alte, männliche, kastrierte Schweine der Deutschen Landschweinrasse zur Verfügung, deren Integument pigmentarm und spärlich behaart war. Das Gewicht der Tiere betrug $130 \text{ kg} \pm 10 \text{ kg}$.

Während der Versuchsdauer wurden die Tiere in $3 \times 1,5 \text{ m}$ großen Einzelboxen unter folgenden Bedingungen gehalten:

1. Temperatur: $22 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.
2. Luftfeuchtigkeit: 55-65 %.
3. Licht: 12-stündiger hell-dunkel-Rhythmus mit Kunstlicht.
4. Futter: Schweinekorndfutter ad libitum.
5. Wasser: keimarmes Wasser durch Ozonierung und Ansäuerung.

2.3 Narkose

2.3.1 Operation

Die Narkose wurde nach einem einheitlichen Schema durchgeführt. Die Tieren standen zwölf Stunden präoperativ zur Flüssigkeits- und Nahrungskarenz in speziellen Käfigen auf Kunststoffböden der Größe 1,5 x 1 m ein.

Die Prämedikation erfolgte mit 6 mg/kg Körpergewicht (KG) Atropin intramuskulär (i.m.). Nach zehn Minuten wurde den Tieren 10 mg/kg KG Ketamin i.m. gespritzt, nach weiteren zehn Minuten konnten die Tiere intubiert und ihnen ein intravenöser (i.v.) Zugang gelegt werden.

Die Narkose wurde mit einem Bolus von 10 ml Narcoren i.v. eingeleitet. Während der Operation wurden die Versuchstiere mit einem N₂O : O₂-Gemisch im Verhältnis 75 : 25 % beatmet. Die Narkose wurde mit 10 mg/kg KG/h Narcoren i.v. aufrechterhalten, zusätzlich wurden 500 ml/h NaCl-Lösung infundiert. Nach Operationsende wurde die Narkose mit Raumluft ausgeleitet.

Die Kontrolle der Vitalzeichen erfolgte für die Dauer der Operation mit einem Pulsoxymeter.

2.3.2 Verbandswechsel

Der Verbandswechsel wurde in Kurznarkose nach einem einheitlichen Schema durchgeführt.

Die Prämedikation erfolgte mit 6 mg/kg KG Stresnil und 0,2 mg/kg KG Atropin i.m. Nach zehn Minuten wurden 15 mg/kg KG Ketamin i.m. gespritzt, nach weiteren zehn Minuten konnte ein venöser Verweilkatheder gelegt und mit dem Verbandswechsel begonnen werden. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mit Ketamin i.v. nach Bedarf.

2.3.3 Tötung

Die Tiere wurden nach Versuchsende durch die Gabe von 100 mg/kg KG Narcoren ad exitum geführt.

2.4 Gruppenbildung

Zur Untersuchung des Einflusses der systemischen Gabe von WH auf die Spalthautdefektheilung wurden die Versuchstiere in zwei Gruppen eingeteilt:

Verumgruppe: 0,5 I.E. Genotropin/kg KG/d s.c. gluteal, morgendliche Gabe.

Kontrollgruppe: 4 ml NaCl/d s.c. gluteal, morgendliche Gabe.

Die Verumgruppe bestand aus acht Tieren, die Kontrollgruppe aus sieben Tieren. Zwei Versuchstiere mußten von der Studie ausgeschlossen werden. Das erste Tier verstarb nach fünf Versuchstagen an einer exogenen Hyperthermie, das zweite Tier zeigte nach sieben Versuchstagen das Vollbild einer Vaskulitis. Um einen Einfluss der Erkrankungen auf die Studie auszuschließen, wurden die Proben beider Tiere von der Studie ausgenommen.

Es wurden jeweils zwei Tiere gleichzeitig behandelt, je ein Tier der Verumgruppe und ein Tier der Kontrollgruppe, um eine gleiche Behandlung zwischen den Gruppen zu gewährleisten.

2.5 Operation

Die Tiere wurden wie unter 2.3.1 beschrieben prämediziert. Zur Bestimmung des basalen WH-Spiegels wurde von zehn Tieren präoperativ 10 ml Blut in heparinisierten Röhrchen entnommen und bei 4 °C aufbewahrt. Anschließend wurden die Tiere in Bauchlage auf dem Operationstisch gelagert. Die Flanken der Tiere wurde mit einem elektrischen Schermesser geschoren. Dabei wurde darauf geachtet, dass weder Hautrötungen, noch Hautverletzungen entstanden.

Es folgte die chirurgische Waschung des Operationsgebietes mit Betaisodona-Lösung und die Abdeckung mit sterilen Tüchern.

Zur Spalthautentnahme wurden zunächst die Entnahmeareale mit Hilfe einer Schablone der Größe 8 x 4 cm, wie in Abb. 2-1 dargestellt, markiert.

Das chirurgische Vorgehen bei der Spalthautentnahme wurde an die Technik der Spalthautentnahme beim Menschen angeglichen (Ablove und Howell 1997, Wilson 1990). Die Spalthaut wurde mit Hilfe eines Dermatoms in einer Dicke von 0,6 mm entnommen. Die Blutstillung erfolgte mit adrenalingetränkten Vlieskompressen. Anschließend wurde das Operationsgebiet gesäubert (Abb. 2-2).

Die Spalthautentnahmestellen wurden mit folgenden Verbandsmaterialien versorgt (Abb. 2-1):

1. Hydrokolloidverband (Varihesive E),
2. Kalzium-Alginat-Verband (Kaltostat),
3. PVP-Iod-Salbegaze (Braunovidon),
4. Seide, gammasterilisiert,
5. Polyurethan-Folienverband (OpSite).

Die Verbandsmaterialien wurden mit Vlieskompressen abgedeckt und mit einem Klebeverband fixiert. Um die Verbände vor Abreibung zu schützen, wurden zusätzlich noch Leibbandagen umgelegt.

Postoperativ wurde von zehn Tieren erneut 10 ml Blut entnommen. Je nach Gruppenzugehörigkeit wurde den Tieren 0,5 I.E. Genotropin/kg KG oder 4 ml NaCl s.c. gespritzt. Nach der Ausleitung der Narkose, wurden die Tiere in ihre Einzelboxen zurückverlegt.

Während aller Operationen traten keine Besonderheiten wie Kreislaufdysregulationen, Ateminsuffizienz, starke Blutverluste oder allergische Reaktionen auf.

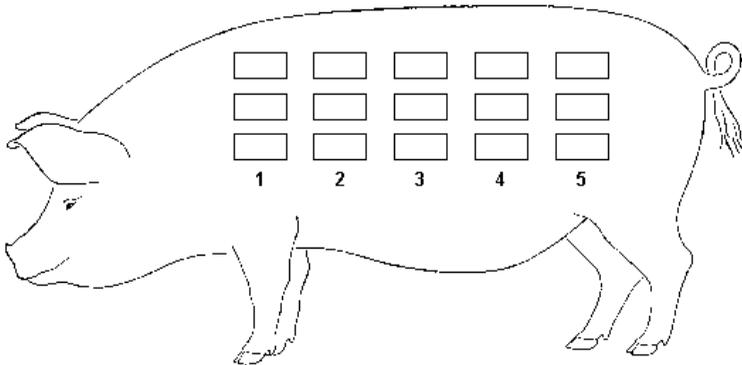


Abb. 2-1: Schematischer Versuchsaufbau: Anordnung der Spalthautentnahmestellen und der Wundauflagen

- | | |
|--|--------------------------------------|
| 1: VarihesiveE - Hydrokolloidverband | 4: Seide |
| 2: Kaltostat - Kalzium-Alginat-Verband | 5: OpSite - Polyurethanfolienverband |
| 3: Braunovidon - PVP-Iod-Salbegaze | |



Abb. 2-2: Versuchstier nach der Spalthautentnahme

2.6 Verlaufskontrolle

2.6.1 Tägliche Kontrollen

Einmal pro Tag wurde der Verband der Tiere auf korrekten Sitz kontrolliert, ggf. korrigiert und je nach Gruppenzugehörigkeit 0,5 I.E. Genotropin/kg KG oder 4 ml NaCl s.c. verabreicht.

2.6.2 Verbandswechsel

An den Versuchstagen 3, 5, 7, 10, 12 und 14 wurde ein Verbandswechsel zur Wundkontrolle durchgeführt.

Die Narkose wurde wie unter 2.3.2 beschrieben durchgeführt. Nach der Anlage eines venösen Verweilkatheders am Ohr wurden 10 ml Blut abgenommen und auf Eis gelagert.

Zunächst wurde der alte Verband komplett entfernt. Danach wurden die Wunden mit isotoner NaCl-Lösung gereinigt. Die Wundheilung wurde fotodokumentiert.

Für jedes Verbandsmaterial wurden zwei Biopsien aus einem Spalthautdefekt entnommen. Es wurde darauf geachtet, dass aus keinem Defekt zweimal die Biopsien entnommen wurden. Eine Biopsie wurde in eine Einbettkassette gegeben und sofort in 4 % Formalin n. Lidi (s. 2.8) fixiert, die zweite Biopsie wurde kurz in isotoner NaCl-Lösung bei 4 °C bis zur Kryofixierung (s. 2.9) aufbewahrt.

Auftretende Hautblutungen nach Biopsieentnahme wurden durch Kompression gestillt. Die Spalthautdefekte wurden wie unter 2.5 beschrieben erneut verbunden.

2.7 Vorversuch

Es wurde ein Vorversuch zur Bestimmung der Spalthauttiefenkorrelation zwischen Versuchstier und Mensch durchgeführt.

Das Versuchstier wurde wie unter 2.3.1 beschrieben prämediziert und in Bauchlage auf dem Operationstisch gelagert. Die Flanken wurden mit einem elektronischen Schermesser geschoren. Hierbei entstanden weder Hautrötungen, noch Verletzungen der Haut.

Es folgte die chirurgische Waschung des Operationsgebietes mit Betaisodona-Lösung und die Abdeckung mit sterilen Tüchern.

Zur Spalthautentnahme wurden zunächst elf Entnahmeareale mit Hilfe einer Schablone der Größe 7,5 x 7,5 cm markiert.

Die Spalthautentnahmetiefe wurde ausgehend von einer Dicke von 0,2 mm in 0,1 mm Schritten bis zu einer Tiefe von 1,2 mm variiert. Zusätzlich wurden aus jedem Wundgrund noch zwei Biopsien entnommen. Ein Stück der Spalthaut und eine Biopsie pro Spalthautentnahmestelle wurden in Einbettkassetten eingelegt und in 4 % Formalin n. Lidi fixiert (s. 2.8), ein zweites Stück Spalthaut und die zweite Biopsie wurde bis zur Kryofixierung in isotoner NaCl-Lösung bei 4 °C gelagert (s. 2.9).

Die Blutstillung erfolgte mit Adrenalin getränkten Vlieskompressen. Anschließend wurde das Operationsgebiet gesäubert.

Die Wunden wurden mit Jelonet Gaze und Vlieskompressen verbunden und der Verband mit einem Klebeverband fixiert. Um die Verbände vor Abreibung zu

schützen, wurden zusätzlich noch Leibbandagen umgelegt.

Das Tier wurde drei Tage postoperativ beobachtet und anschließend wie unter 2.3.3 beschrieben, getötet.

Die Hautproben wurden, wie unter 2.8 und 2.9 beschrieben, weiterverarbeitet.

Zunächst wurde mikroskopisch die Dickenkorrelation zwischen menschlicher Haut und Schweinehaut anhand der Exzidate bestimmt. Anschließend wurden die histologischen Schnitte der verschiedenen Spalthautentnahmetiefen mit einer 0,3 mm dicken, menschlichen Spalthaut und Biopsie aus der Entnahmestelle verglichen. Unter Einbeziehung der Größenkorrelation wurde die Spalthautentnahmetiefe beim Schwein ermittelt, die 0,3 mm menschlicher Haut entspricht.

2.8 Histologie

2.8.1 Modifizierte Einbettung in Paraplast

Ein Teil der Biopsien wurde nach der Entnahme in Einbettkassetten gelagert und in 4 % Formalin n. Lidi pH 7,25 (Tab. 2-1) 24 Stunden fixiert.

Die Formalinreste wurden eine Stunde mit kaltem, fließendem Leitungswasser ausgewaschen. Es folgte die Entwässerung der Proben in 60 %, 90 % und dreimal 100 % 2-Propanol für je eine Stunde auf dem Rotormix und eine Stunde bei 65 °C in einem 2-Propanol-Paraplast 1:1 Gemisch. Anschließend wurden die Proben bei 60 °C in reines Paraplast gegeben, das nach 12 Stunden nochmals gewechselt wurde.

Die so fixierten Proben wurden auf die Einbettboxen mit Hilfe eines HistoStat aufgeblickt, gekühlt und konnten dann bis zur Weiterverarbeitung bei Raumtemperatur gelagert werden.

Menge	Material
891,00 ml	37 % Formaldehyd, filtriert
3,25 g	Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)
7,26 g	Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$)
pH Einstellung mit 37 % rauchender HCl und 1N HCl auf pH 7,25	

Tab. 2-1: Herstellung von 4 % Formalin nach Lidi

2.8.2 Probenvorbereitung

Zur histologischen Weiterverarbeitung wurden 0,2 mm dünne Schnitte mit Hilfe des HistoSlide angefertigt. Die Schnitte wurden in einem 60 °C warmen Wasserbad luftblasenfrei auf gereinigte, Eiweiß-Glyzerin-beschichtete Objektträger aufgezogen, auf einer 60 °C Wärmeplatte getrocknet und zur Anheftung der Schnitte 24 Stunden bei 65 °C aufbewahrt.

Danach wurden die Proben dreimal 10 Minuten in Xylol entparaffiniert, in der absteigenden Alkoholreihe bei 2 x 3 Minuten in 100 % Alkohol (MEC), 2 x 1 Minute in 96 % Alkohol (MEC) und kurz in 80 % und 70 % Alkohol (MEC) gespült und in A. dest. eingestellt.

2.8.3 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Schnitte wurden aus dem A. dest. heraus 10 Minuten in gefilterter Mayer`s Hämalaunlösung gefärbt, dann in warmem Leitungswasser gespült und 10 Minuten gebläut. Anschließend wurden die Schnitte 90 Sekunden in 1 % wässriger Eosinlösung gefärbt, kurz mit Wasser abgespült. Die Differenzierung der Schnitte erfolgte in der aufsteigenden Alkoholreihe bei 70 % und 96 % 2-Propanol und wurde in 3 x 100 % 2-Propanol gestoppt. Die Schnitte wurden 3 x 10 Minuten in Xylol fixiert, mit Vitroclud eingedeckt und mikroskopisch ausgewertet.

2.9 Immunhistologie

2.9.1 Kryokonservierung der Schnitte

Die Biopsien wurden in stickstoffgekühltem Butanol schockgefroren und mit Einbettkleber auf Korkplatten aufgeblickt. Die so fixierten Proben wurden in Kunststoff-Probengefäßen bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C aufbewahrt.

2.9.2 Vorbereitung der Schnitte

Zunächst wurden aus den kryofixierten Proben 4-5 mm dünne Schnitte mit dem Kryocut gefertigt und auf gereinigte Objektträger aufgezogen.

Die Schnitte trockneten zunächst zwei Stunden bei Raumtemperatur, wurden dann 10 Minuten in frischem, reinem Aceton fixiert und anschließend 24 Stunden bei Raumtemperatur luftgetrocknet.

2.9.3 Immunfluoreszenzfärbung

Die fixierten Proben wurden in 0,05 M Trishydroxymethylaminomethan (Tris)-gepuffertes Salzlösung (TBS) pH 7,4 (s. Tab. 2-2) eingestellt und blasenfrei auf Färbekammern aufgezogen.

Die Inkubationslösungen, die zwischen die Objektträger und Färbekammern pipettiert wurden, hatten immer die exakte Menge von 100 µl.

Zunächst wurden die unspezifischen Bindungen des Gewebes mit frischem 1 % SNS in TBS abgesättigt. Die Lösung inkubierte 20 min.

Danach wurden die primären AK (s. Tab. 2-3) zugegeben. Alle AK reagierten kreuz mit dem Schwein. Als Negativkontrolle dienten IgG1-AK aus der Maus und Ig-Fraktions-AK aus dem Kaninchen. Nach 30 Minuten Inkubationszeit wurden die Coverplates 3 x 5 min mit TBS gespült.

Die folgenden Schritte fanden im Dunkeln statt.

Die Schnitte wurden 45 Minuten mit den fluoreszenzgebundenen Sekundär-AK (Tab. 2-4) inkubiert. Anschließend wurden die Coverplates erneut 3 x 5 min in TBS gespült, die Objektträger abgelöst und mit TBS-Glycerin eingedeckt. Die Schnitte wurden direkt im Anschluß an die Färbung mikroskopiert und fotodokumentiert, da die Fluoreszenzfärbung nur ca. 48 Stunden haltbar ist.

Menge	Material
6,06 g	Tris
50,00 ml	Aqua dest.
37,00 ml	1N HCl
8,80 g	NaCl in 800 ml Aqua dest.
pH Einstellung mit 37 % rauchender HCl und 1N HCl auf pH 7,4.	

Tab. 2-2: TBS-Herstellung

primärer Antikörper	Verdünnung
anti-Laminin-AK, monoklonal	1:2000
anti-Kollagen Typ IV-AK, polyklonal	1:150
anti-Kollagen Typ VII-AK, monoklonal	1:3000
IgG1-AK	1:250
Ig-Fraktions-AK	1:200

Tab. 2-3: Verdünnung der primären Antikörper

sekundäre Antikörper	Verdünnung
FITC Isomer 1-konjugierter AK gegen die Maus	1:50
RPE-konjugierter AK gegen das Kaninchen	1:30

Tab. 2-4: Verdünnung der sekundären Antikörper

2.10 IGF-1-Bestimmung im Serum

2.10.1 Vorbereitung der Blutproben.

Die entnommenen Blutproben wurden direkt nach der Entnahme 10 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert. Der Serumüberstand wurde anschließend abpipettiert und in Eppendorf-Hütchen bei - 80 °C gelagert.

2.10.2 Bestimmung des Serum IGF-1-Spiegels

Die Bestimmung des Serum IGF-1-Spiegels wurde in der Kinderklinik der Friedrich-Ebert-Universität Tübingen mittels Radioimmunoassay durchgeführt. Die Serumproben wurden zunächst gesammelt, bei - 80 C gelagert und dann auf Trockeneis in Styroporbehältern nach Tübingen verschickt. Während des Transportes wurde die Kühlkette nicht unterbrochen.

2.11 Statistische Methoden

Als statistischer Test zur Prüfung der Ergebnisse auf Signifikanz wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholung durchgeführt. Dieser Test eignet sich, um mehrere Stichproben miteinander zu vergleichen. Mit Hilfe einer Varianzanalyse kann die Streuung zwischen den Stichproben analysiert werden. Gleichzeitig kann neben dem Einfluss der Behandlung der Effekt eines anderen Faktors berücksichtigt werden. Als Voraussetzung für die Anwendung der Varianzanalyse wird gefordert, dass sie Werte in den einzelnen Stichproben normalverteilt sind und dieselbe Varianz aufweisen (Heinecke 1992).

Für die Überprüfung der systemischen WH-Gabe auf die IGF-1-Konzentration im Serum wird als Nullhypothese H_0 a definiert, dass die systemische WH-Gabe keinen Einfluss auf die IGF-1-Serumkonzentration hat. Die Alternativhypothese H_1 a, die bewiesen werden soll, besagt, dass die systemische WH-Gabe einen Einfluss auf die IGF-1-Serumkonzentration hat. Als zweiter Faktor wurde untersucht, ob es signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Meßzeitpunkten gibt, und ob diese signifikant innerhalb einer Verumgruppe sind.

Für die Überprüfung der Verbandstoffe wird als Nullhypothese H_0 b definiert, dass es keinen Unterschied im Einfluss der systemischen Therapie auf die Wundheilung gibt. Die Alternativhypothese H_1 b, die bewiesen werden soll, besagt, dass es einen Unterschied in der Wundheilung unter der systemischen Therapie mit WH gibt. Als zweiter Faktor wurde untersucht, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Pflastern gibt, und ob die Versuchsgruppen einen Einfluss auf die Wundheilung haben.

Als Entscheidungsgrundlage zur Prüfung der Wahrscheinlichkeit p auf Signifikanz wird für beide Analysen festgelegt:

	$p > 0,05$	H_1 wird abgelehnt	= nicht signifikant
0,01 <	$p < 0,05$	H_1 wird angenommen	= signifikant
	$p < 0,01$	H_1 wird angenommen	= hoch signifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Vorversuch

Es wurde histologisch die Spalthautentnahmetiefe beim Schwein eruiert, die einer Entnahmetiefe von 0,3 mm beim Menschen entspricht. Die Größenkorrelationen sind in Tab. 3-1 dargestellt.

Einer Entnahmetiefe von 0,3 mm entspricht eine Tiefe von 0,6 mm beim Schwein.

3.2 IGF-1-Spiegel

Die IGF-1-Werte wurden zu acht definierten Zeitpunkten, prä- und postoperativ am 1. Versuchstag und morgens am 3., 5., 7., 10., 12. und 14. Versuchstag aus dem Serum bestimmt. Die Werte waren normalverteilt.

3.2.1 IGF-1-Serumspiegel prä- und postoperativ

Ausgewertet wurden die Blutproben von 12 Schweinen. Untersucht wurde der prä- und der postoperative WH-Spiegel (Tab. 3-2).

1) Der Mittelwert des präoperativen IGF-1-Spiegels lag bei:

$83,17 \pm 19,19$ ng/ml

2) Der Mittelwert des postoperativen IGF-1-Spiegels lag bei:

$69,08 \pm 13,18$ ng/ml.

Die Differenz zwischen prä- und postoperativem IGF-1-Spiegel lag bei 14,08 ng/ml.

Spalthautentnahmetiefe	Verbleibende Epidermisdicke Schwein	Verbleibende Epidermisdicke human
0,2 mm	0,47	0,1
0,3 mm	0,35	0,03
0,4 mm	0,26	
0,5 mm	0,17	
0,6 mm	0,04	
0,7 mm	0	
0,8 mm	0	
0,9 mm	0	
1,0 mm	0	
1,1 mm	0	
1,2 mm	0	
Gesamtepidermis	0,65	0,33

Tab. 3-1: Größenkorrelation zwischen den verschiedenen Entnahmetiefen beim Schwein und menschlicher Spalthautentnahmetiefe von 0,3 mm

lfd. Nr.	präoperativer Spiegel	Postoperativer Spiegel	Differenz
1	80 ng/ml	71 ng/ml	9 ng/ml
2	80 ng/ml	77 ng/ml	3 ng/ml
3	65 ng/ml	61 ng/ml	4 ng/ml
4	64 ng/ml	64 ng/ml	0 ng/ml
5	125 ng/ml	61 ng/ml	64 ng/ml
6	80 ng/ml	68 ng/ml	12 ng/ml
7	78 ng/ml	87 ng/ml	-9 ng/ml
8	93 ng/ml	90 ng/ml	3 ng/ml
9	83 ng/ml	67 ng/ml	16 ng/ml
10	104 ng/ml	81 ng/ml	23 ng/ml
11	66 ng/ml	59 ng/ml	7 ng/ml
12	80 ng/ml	43 ng/ml	37 ng/ml
MW	83,17 ng/ml	69,08 ng/ml	14,08 ng/ml

Tab. 3-2: Prä- und postoperative IGF-1-Spiegel

3.2.2 IGF-1-Serumspiegel im Verlauf der Wundheilung

Ausgewertet wurden die Daten von 15 Schweinen, 8 Tiere aus der Verumgruppe und 7 Tiere aus der Kontrollgruppe.

1) Der Mittelwert der IGF-1-Serumkonzentration in der Verumgruppe nach der Gabe von 0,5 I.E./kg KG Genotropin s.c. (Tab. 3-3) beträgt.

nach 3 Tagen:	260,44 ng/ml
nach 5 Tagen:	327,44 ng/ml
nach 7 Tagen:	384,00 ng/ml
nach 10 Tagen:	370,00 ng/ml
nach 12 Tagen:	276,67 ng/ml
nach 14 Tagen:	212,56 ng/ml

2) Der Mittelwert der IGF-1-Serumkonzentration in der Kontrollgruppe nach der Gabe von 4 ml NaCl s.c. (Tab. 3-4) beträgt:

nach 3 Tagen:	59,86 ng/ml
nach 5 Tagen:	73,29 ng/ml
nach 7 Tagen:	76,57 ng/ml
nach 10 Tagen:	84,29 ng/ml
nach 12 Tagen:	86,00 ng/ml
nach 14 Tagen:	87,86 ng/ml

Tier Nr.	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10	Tag 12	Tag 14
1.1	339	415	507	465	290	278
1.2	360	475	499	354	311	303
1.3	224	261	362	322	261	194
1.4	258	391	456	376	366	170
1.5	322	408	496	425	363	266
1.6	414	508	541	527	454	390
1.7	352	386	482	387	332	225
1.8	72	98	106	104	101	73
MW	260,44	327,44	384	370	276,67	212,56

Tab. 3-3: IGF-1-Serumwerte der Verumgruppe in ng/ml

Tier Nr.	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10	Tag 12	Tag 14
2.1	41	26	27	26	40	90
2.2	74	106	105	105	96	96
2.3	54	102	90	101	96	94
2.4	34	66	81	73	74	77
2.5	57	69	81	79	83	80
2.6	90	82	97	111	124	93
2.7	69	62	55	95	89	85
MW	59,86	73,29	76,57	84,29	86	87,86

Tab. 3-4: IGF-1-Serumwerte der Kontrollgruppe in ng/ml

3.3 Verbandsmaterialien

3.3.1 Abheilung der Epidermis

Ausgewertet wurden 5 Gruppen mit je 15 Schweinen, 8 Tiere aus der Verumgruppe und 7 Tiere aus der Kontrollgruppe. Als Abheilungszeitpunkt wurde der histologische Nachweis einer beginnenden Verhornung in Korrelation zur durchgeführten Fotodokumentation der Wunden definiert.

1) Mittelwert des Abheilungszeitpunktes der verschiedenen Verbandstoffe innerhalb der Verumgruppe (Tab. 3-5) unter Therapie mit:

Braunovidon:	11,50 Tage	(Abb. 3-1, -2)
Kaltostat:	8,88 Tage	(Abb. 3-5, -6)
OpSite:	7,75 Tage	(Abb. 3-9, -10)
Seide:	8,00 Tage	(Abb. 3-13, -14)
Varihesive E:	6,13 Tage	(Abb. 3-17, -18)

2) Mittelwert des Abheilungszeitpunktes der verschiedenen Verbandstoffe innerhalb der Kontrollgruppe (Tab. 3-6) unter Therapie mit:

Braunovidon:	12,86 Tage	(Abb. 3-3, -4)
Kaltostat:	10,00 Tage	(Abb. 3-7, -8)
OpSite:	9,43 Tage	(Abb. 3-11, -12)
Seide:	10,29 Tage	(Abb. 3-15, -16)
Varihesive E:	9,00 Tage	(Abb. 3-19, -20)

Tier Nr.	Braunovidon	Kaltostat	OpSite	Seide	Varihesive E
1.1	12	10	10	7	7
1.2	12	10	10	10	7
1.3	12	7	7	10	7
1.4	12	10	7	6	6
1.5	10	7	7	7	5
1.6	12	10	7	10	7
1.7	10	7	7	7	5
1.8	12	10	7	7	5
MW	11,50	8,88	7,75	8,00	6,13

Tab. 3-5: Abheilungszeitpunkt der Epidermis in Tagen, Verumgruppe

Tier Nr.	Braunovidon	Kaltostat	OpSite	Seide	Varihesive E
2.1	12	13	12	10	12
2.2	14	10	10	10	7
2.3	14	10	10	11	10
2.4	14	10	10	12	10
2.5	12	10	10	10	7
2.6	12	10	7	10	10
2.7	12	7	7	9	7
MW	12,86	10	9,43	10,29	9

Tab. 3-6: Abheilungszeitpunkt der Epidermis in Tagen, Kontrollgruppe

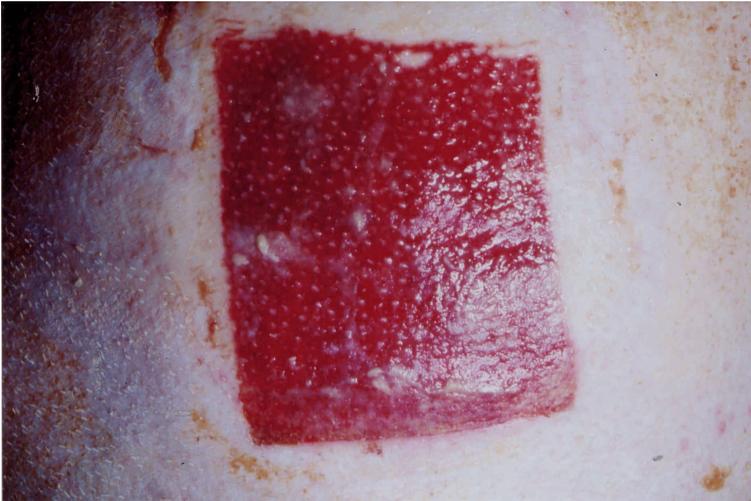


Abb. 3-1: Spalthautdefekt versorgt mit Braunovidon, 5. Tag p.o.

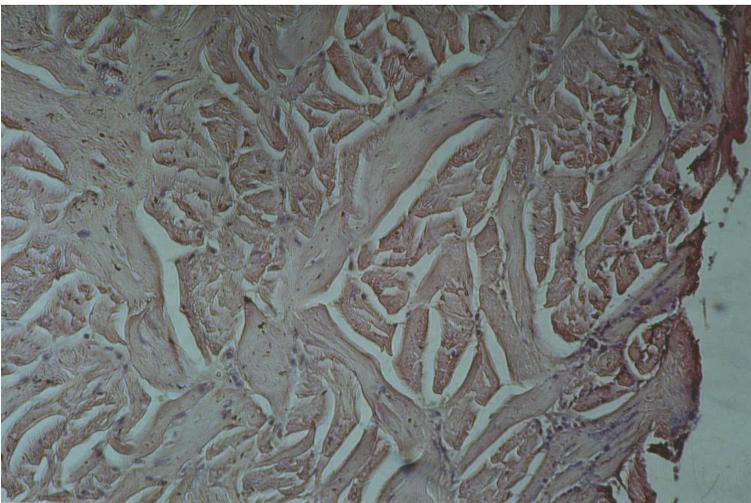


Abb. 3-2: HE-Färbung des Spalthautdefekt, 5. Tag p.o.

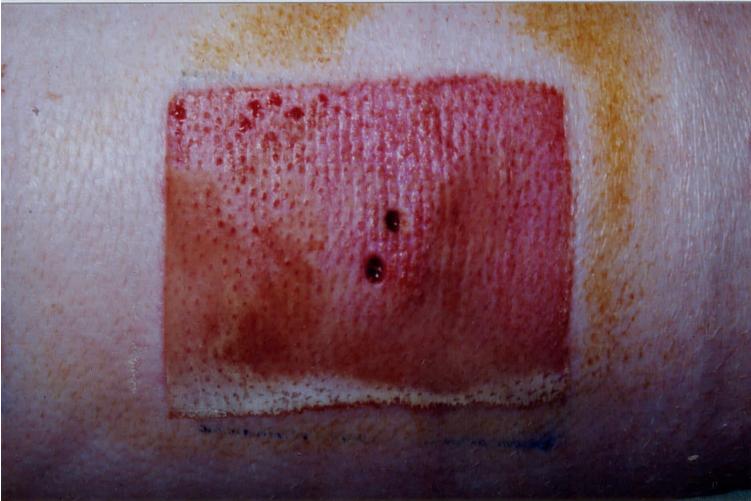


Abb. 3-3: Spalthautdefekt versorgt mit Braunovidon, 12. Tag p.o.

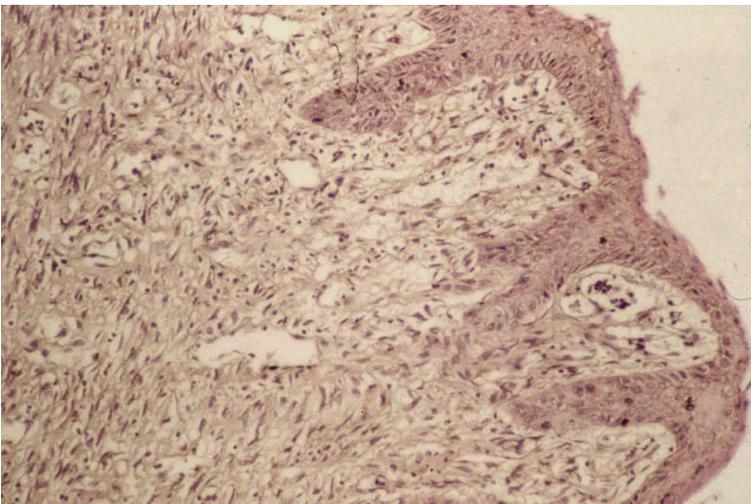


Abb. 3-4: HE-Färbung des Spalthautdefekt, 12. Tag p.o.



Abb. 3-5: Spalthautdefekt versorgt mit Kaltostat, 5. Tag p.o.

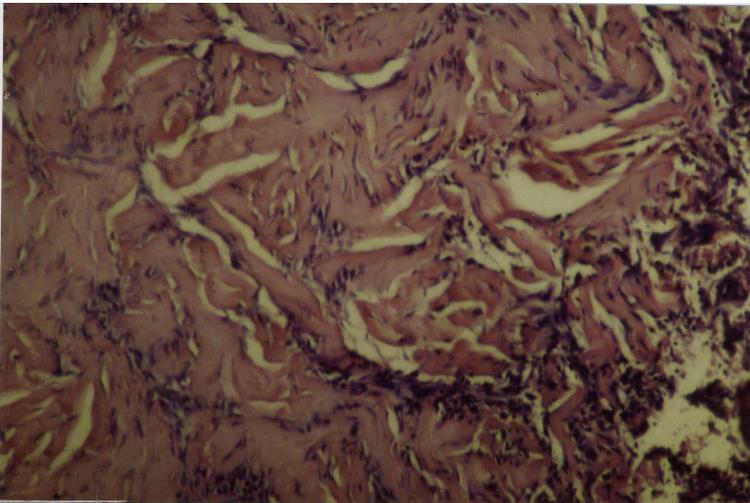


Abb. 3-6: HE-Färbung, Spalthautdefekt, 5. Tag p.o.



Abb. 3-7: Spalthautdefekt versorgt mit Kaltostat, 12. Tag p.o.

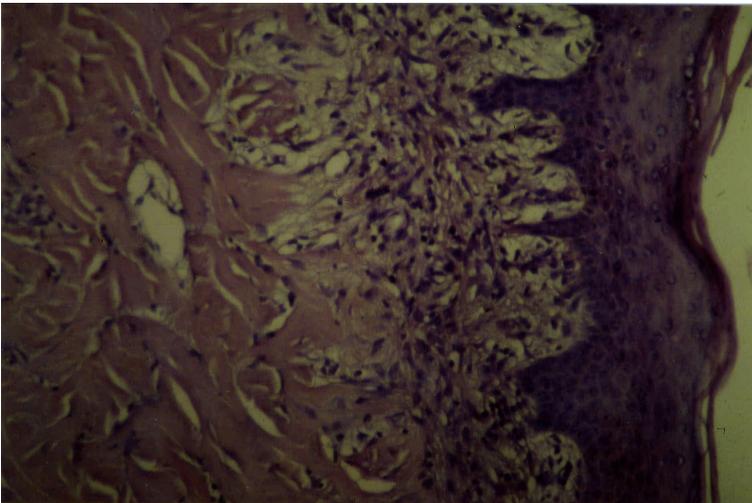


Abb. 3-8: HE-Färbung, Spalthautdefekt, 12. Tag p.o.



Abb. 3-9: Spalthautdefekt versorgt mit Opsite, 5. Tag p.o.

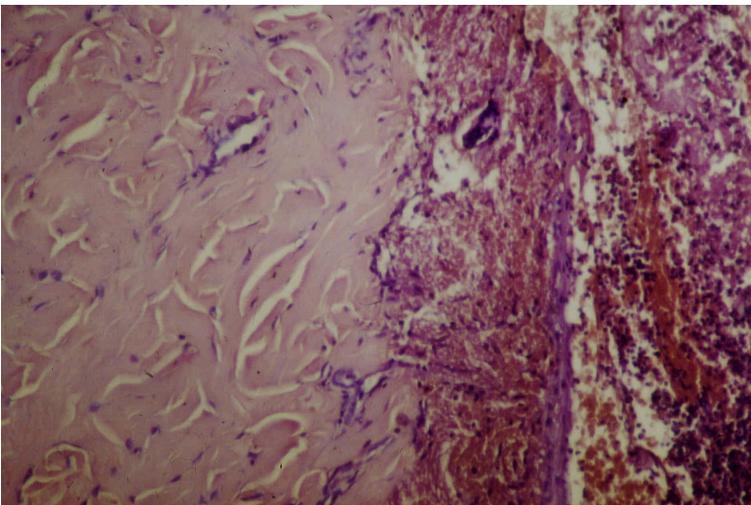


Abb. 3-10: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.

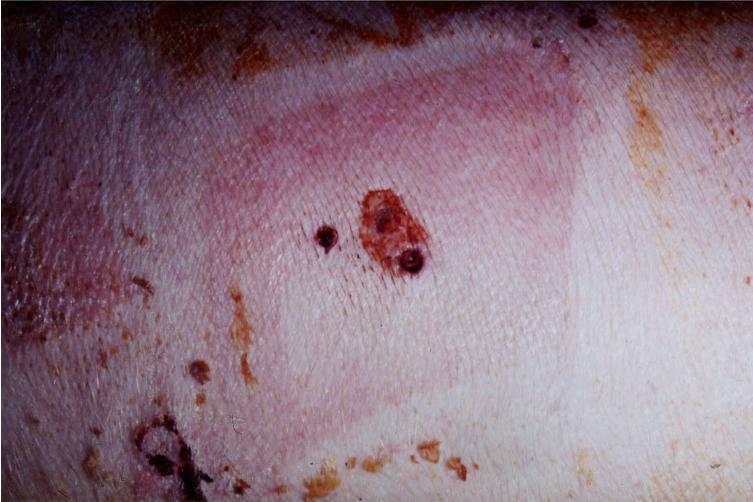


Abb. 3-11: Spalthautdefekt versorgt mit Opsite, 12. Tag p.o.

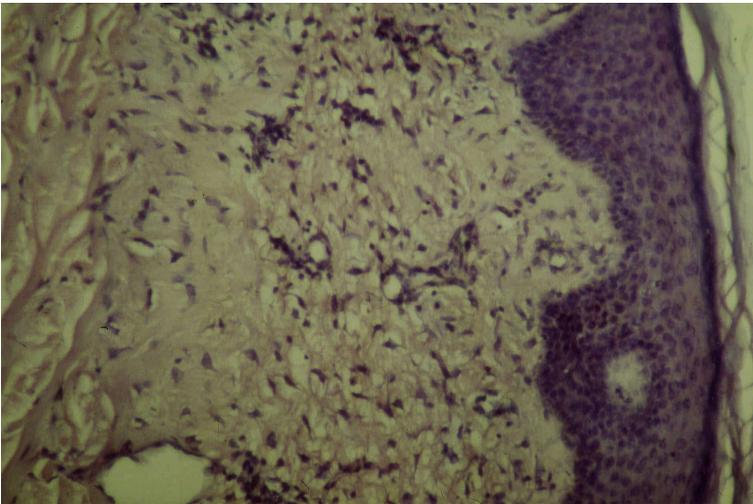


Abb. 3-12: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.

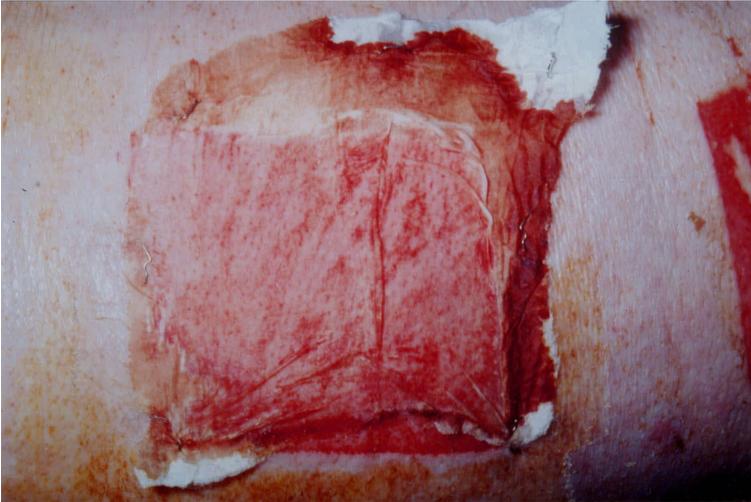


Abb. 3-13: Spalthautdefekt versorgt mit Seide, 5. Tag p.o.

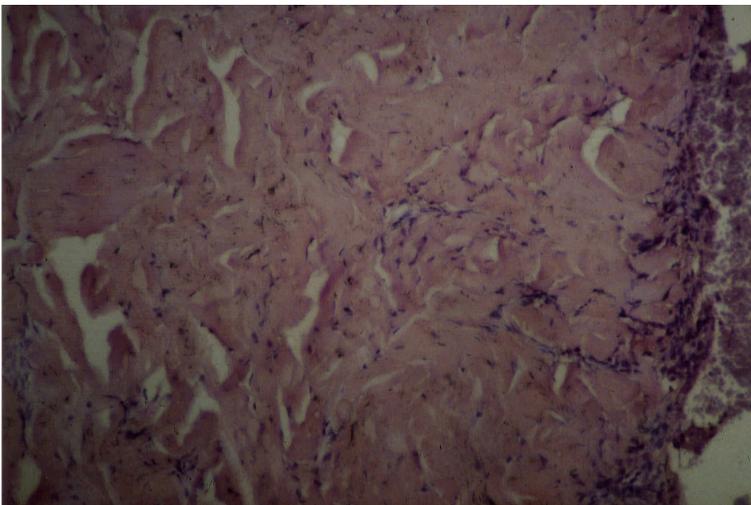


Abb. 3-14: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.



Abb. 3-15: Spalthautdefekt versorgt mit Seide, 12. Tag p.o.

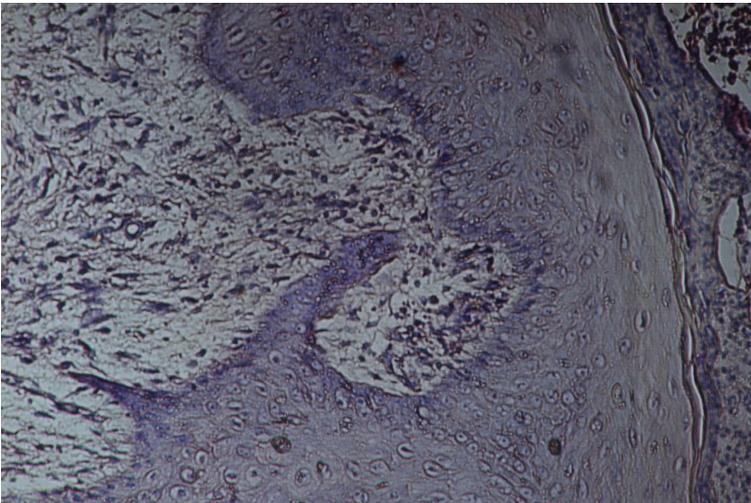


Abb. 3-16: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.

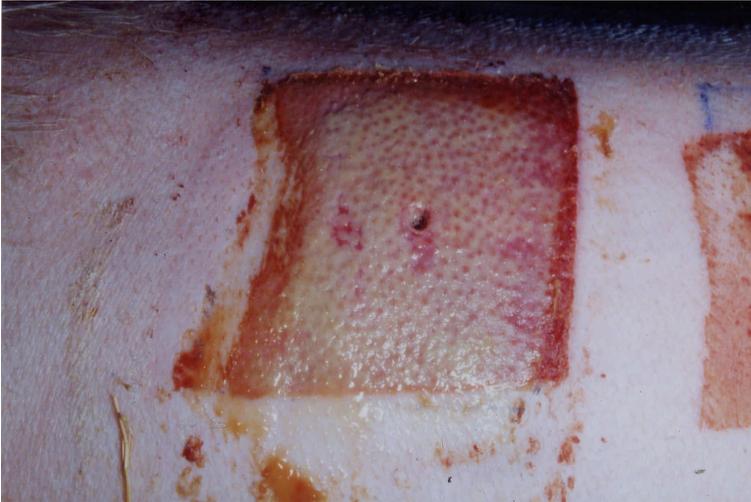


Abb. 3-17: Spalthautdefekt versorgt mit Varihesive E, 5. Tag p.o.

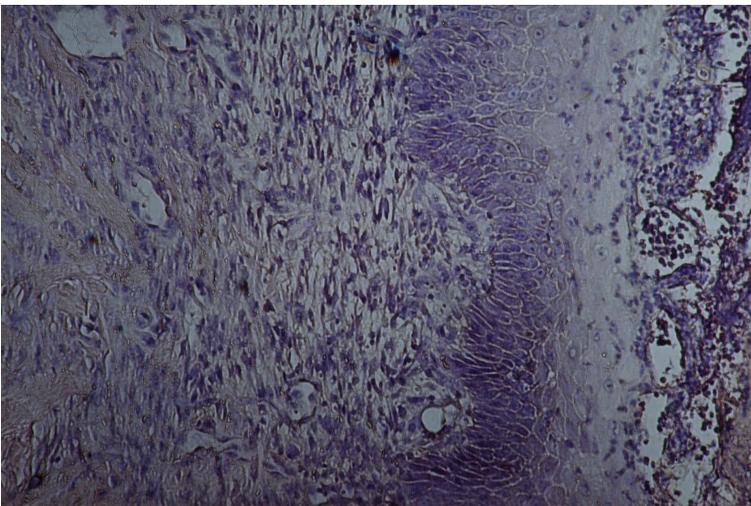


Abb. 3-18: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 5. Tag p.o.



Abb. 3-19: Spalthautdefekt versorgt mit Varihesive E, 12. Tag p.o.

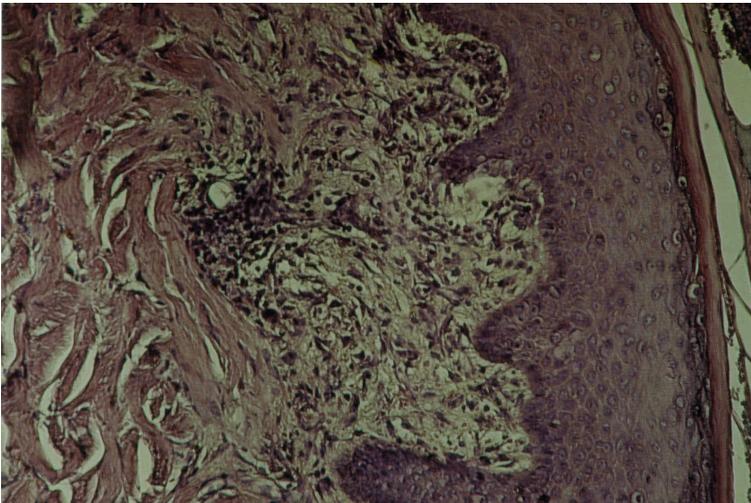


Abb. 3-20: HE-Färbung des Spalthautdefektes, 12. Tag p.o.

3.3.2 Abheilung der Basalmembranzone

Ausgewertet wurden 5 Gruppen mit je 15 Schweinen, 8 Tiere aus der Verumgruppe und 7 Tiere aus der Kontrollgruppe. Als Abheilungszeitpunkt wurde der Nachweis einer durchgehenden, intakten Basalmembran mittels Immunfluoreszenzfärbung von Laminin, Kollagen IV und Kollagen VII definiert.

1) Mittelwert des Abheilungszeitpunktes der verschiedenen Verbandstoffe innerhalb der Verumgruppe (Tab. 3-7, Abb. 3-21, -23, -25) unter Therapie mit:

Braunovidon:	7,63 Tage
Kaltostat:	7,38 Tage
OpSite:	7,13 Tage
Seide:	6,88 Tage
Varihesive E:	6,75 Tage

2) Mittelwert des Abheilungszeitpunktes der verschiedenen Verbandstoffe innerhalb der Kontrollgruppe (Tab. 3-8, Abb. 3-22, -24, -26) unter Therapie mit:

Braunovidon:	7,86 Tage
Kaltostat:	7,43 Tage
OpSite:	7,43 Tage
Seide:	7,00 Tage
Varihesive E:	6,85 Tage

Tier Nr.	Braunovidon	Kaltostat	Seide	OpSite	Varihesive E
1.1	8	7	7	7	7
1.2	8	7	8	6	7
1.3	7	7	6	7	7
1.4	8	7	7	7	6
1.5	8	8	8	7	7
1.6	7	8	7	7	7
1.7	8	7	7	7	7
1.8	7	8	7	7	6
MW	7,63	7,38	7,13	6,88	6,75

Tab. 3-7: Zeitpunkt der vollständigen Rekonstruktion der Basalmembranzone in Tagen, Verumgruppe.

Tier Nr.	Braunovidon	Kaltostat	Seide	OpSite	Varihesive E
2.1	8	7	7	7	7
2.2	8	7	8	6	7
2.3	8	7	7	7	7
2.4	8	8	7	8	6
2.5	8	8	8	7	7
2.6	7	8	7	7	7
2.7	8	7	8	7	7
MW	7,86	7,43	7,43	7,00	6,85

Tab. 3-8: Zeitpunkt der vollständigen Rekonstruktion der Basalmembranzone in Tagen, Kontrollgruppe.

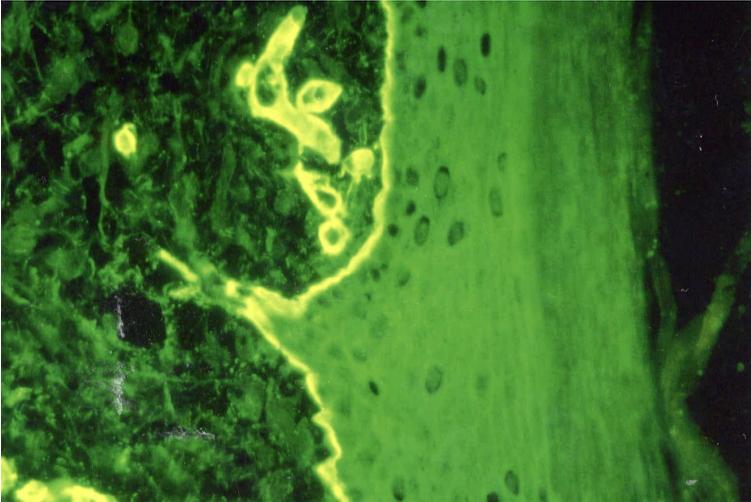


Abb. 3-21: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Laminin, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive E-Wundauflage

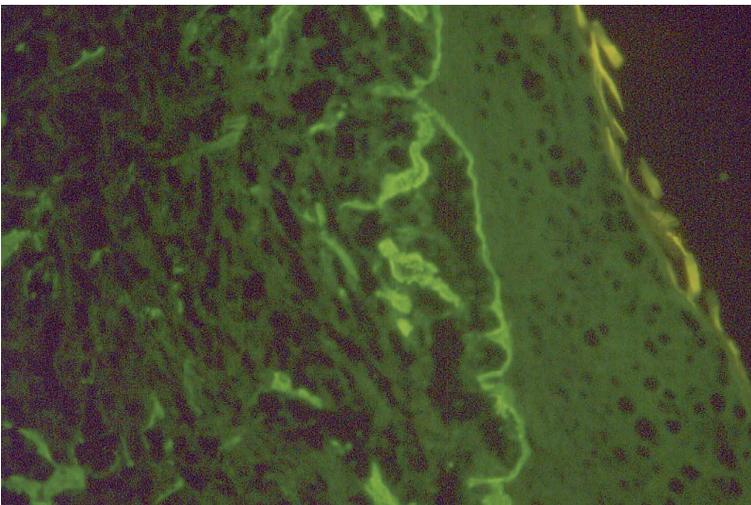


Abb. 3-22: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Laminin, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive E-Wundauflage

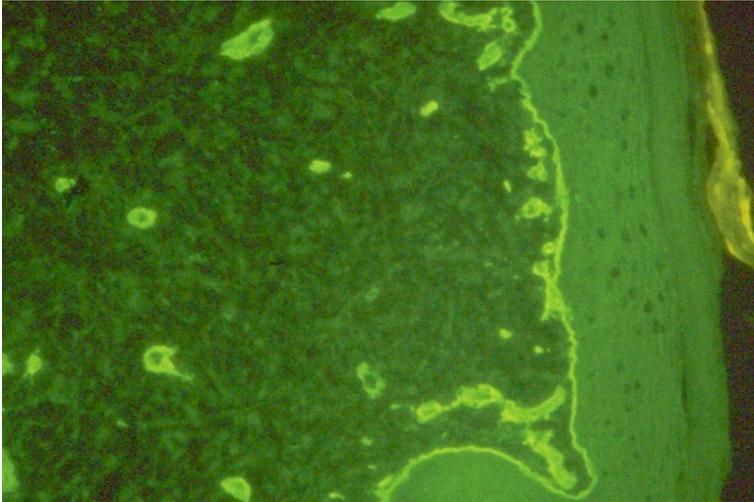


Abb. 3-23: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen IV, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive E-Wundauflage

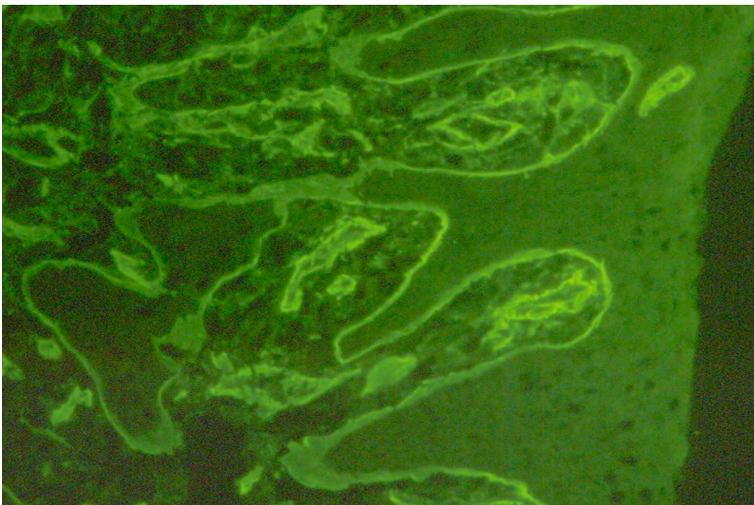


Abb. 3-24: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen IV, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive E-Wundauflage

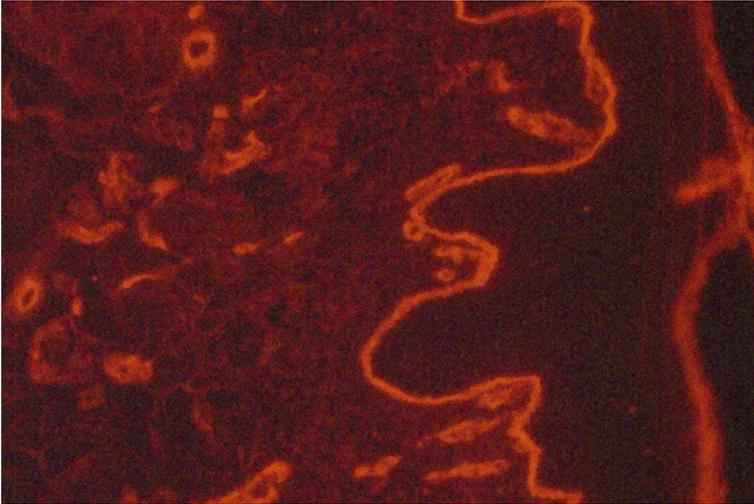


Abb. 3-25: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen VII, 7. Tag p.o., Verumgruppe, Varihesive E-Wundauflage

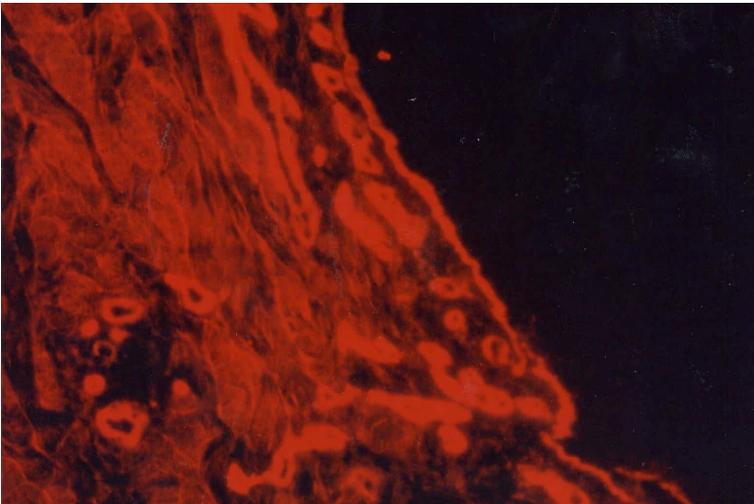


Abb. 3-26: Immunfluoreszenzfärbung zur Detektion von Kollagen VII, 7. Tag p.o., Kontrollgruppe, Varihesive E-Wundauflage

3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.4.1 IGF-1-Serumkonzentration

Bei der Untersuchung des prä- und postoperativen IGF-1-Serumspiegels wurde der einseitige parametrische t-Test für zwei heteroskedastische Stichproben verwendet. Dabei wurden die prä- und die postoperativen Serum IGF-1-Werte auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Von Interesse war hierbei, ob es perioperativ zu einem Abfall des Serum IGF-1-Wertes kommt. Für die Daten wurde ein Fehler von 5 % veranschlagt ($p = 0,05$). Die prä- und postoperativen Werte waren signifikant verschieden: $p = 0,029$.

Im Vergleich der IGF-1-Konzentration zu den definierten Zeitpunkten im Versuchsablauf zwischen der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe, zeigte sich unter der systemischen WH-Therapie ein starker Anstieg der IGF-1-Serumkonzentration zwischen dem 3. und 7. Versuchstag bis 384 ng/ml. Der Spiegel fiel ab dem 10. Versuchstag langsam auf einen Wert von 212,56 ng/ml am 14. Tag ab. Der Endwert innerhalb der Versuchsgruppe lag über dem basalen IGF-1-Wert. In der Kontrollgruppe blieb der IGF-1-Spiegel im Serum unter der systemischen Gabe von NaCl innerhalb enger Grenzen konstant. Nach einem leichten Abfall des postoperativen IGF-1-Spiegels näherte sich der Serum IGF-1-Wert im Versuchsverlauf bis zum 12. Tag mit einem Wert von 86 ng/ml dem präoperativen Wert an.

Die Gruppenanalyse der Serum IGF-1-Werte zeigte eine deutliche Signifikanz der Konzentrationsunterschiede zwischen der Verum- und der Kontrollgruppe zu jedem Zeitpunkt, $p < 0,001$. Weiterhin konnte ein hoch signifikanter Unterschied

zwischen den Gruppen über die gesamte Zeit, $p < 0,001$, nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Einzelanalysen zu den verschiedenen Zeitpunkten sind in der Tabelle 3-9 und Abb. 3-27 dargestellt.

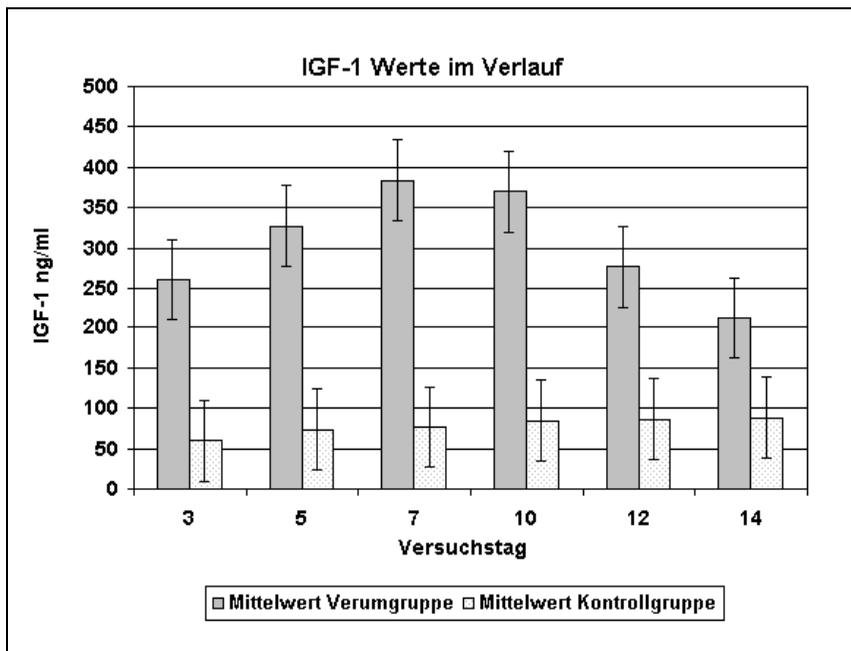


Abb. 3-27: Vergleich der IGF-1-Serumwerte in ng/ml zwischen Verum- und Kontrollgruppe.

Versuchstag	3	5	7	10	12	14
Mittelwert IGF-1 ng/ml	260,44	327,44	384	370	276,67	212,56
Verumgruppe						
Mittelwert IGF-1 ng/ml	59,86	73,29	76,57	84,29	86	87,86
Kontrollgruppe						
p-Wert	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,0012

Tab. 3-9: Varianzanalyse mit Messwiederholung der IGF-1-Serumwerte in ng/ml.

3.4.2 Verbandsmaterialien

Untersucht wurde der Einfluss der verschiedenen Wundauflagen auf die Spalthautdefektheilung sowie die Beeinflussung dieses Prozesses durch die systemische WH-Therapie.

3.4.2.1 Der Einfluss der Verbandsmaterialien auf die Wundheilung

Bei der Betrachtung der einzelnen Verbandstoffe, unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit, fand sich ein Unterschied im Abheilungszeitraum der Epidermis von 3 Tagen (s. Tab. 3-5 u. 3-6). Die Gruppenanalyse zwischen den einzelnen Wundauflagen zeigte einen statistisch hoch signifikanten Unterschied für die Heilung der Epidermis, $p < 0,001$.

Die Abheilung der Basalmembranzzone der einzelnen Verbandstoffe zeigte keinen Unterschied in der Abheilung. Der Heilungstag lag zwischen 6,85 und 7,86 Tagen. Die Gruppenanalyse zwischen den einzelnen Wundauflagen zeigte statistisch keinen signifikanten Unterschied, $p = 0,3395$.

3.4.2.2 Der Einfluss von Wachstumshormon in Kombination mit den Verbandsmaterialien auf die Wundheilung

Der Einfluss von WH in Kombination mit den Verbandsmaterialien auf die Abheilung der Epidermis zeigte im Gruppenvergleich keine Signifikanz, $p = 0,15$. Der Vergleich der Verbandstoffe der beiden Versuchsgruppen untereinander zeigte für Braunovidon, OpSite und Varihesive E eine Signifikanz zwischen der Verumgruppe und der Kontrollgruppe. In der Varianzanalyse wurde für

Braunovidon, $p = 0,0205$, ein statistisch signifikanter, für OpSite, $p = 0,0013$, und Varihesive E, $p = 0,0032$, ein hochsignifikanter Unterschied für den Abheilungszeitpunkt im Gruppenvergleich ermittelt. Für Kaltostat, $p = 0,2073$, und Seide, $p = 0,1383$, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen beschrieben werden (Tab. 3-10, Abb. 3-28).

Für die Abheilung der Basalmembranzzone konnte im Gruppenvergleich kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, $p=0,3398$ (Tab. 3-11, Abb. 3-29).

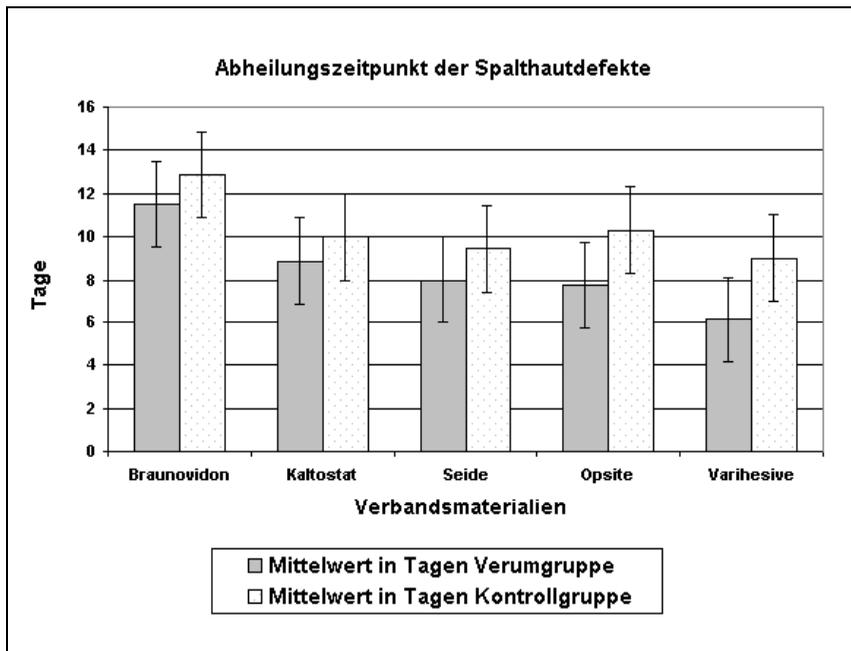


Abb. 3-28: Abheilungszeitpunkt der Epidermis der Spalthautdefektstellen in Tagen unter den unterschiedlichen Verbandsmaterialien.

Verbandstoff	Brauonividon	Kaltostat	Seide	OpSite	Varihesive E
Mittelwert in Tagen	11,50	8,88	8,00	7,75	6,13
Versuchsgruppe					
Mittelwert in Tagen	12,86	10	9,43	10,29	9
Kontrollgruppe					
p-Wert	0,0205	0,2073	0,0013	0,1383	0,0032

Tab. 3-10: Varianzanalyse mit Messwertwiederholung der Verbandstoffe, Abheilung der Epidermis.

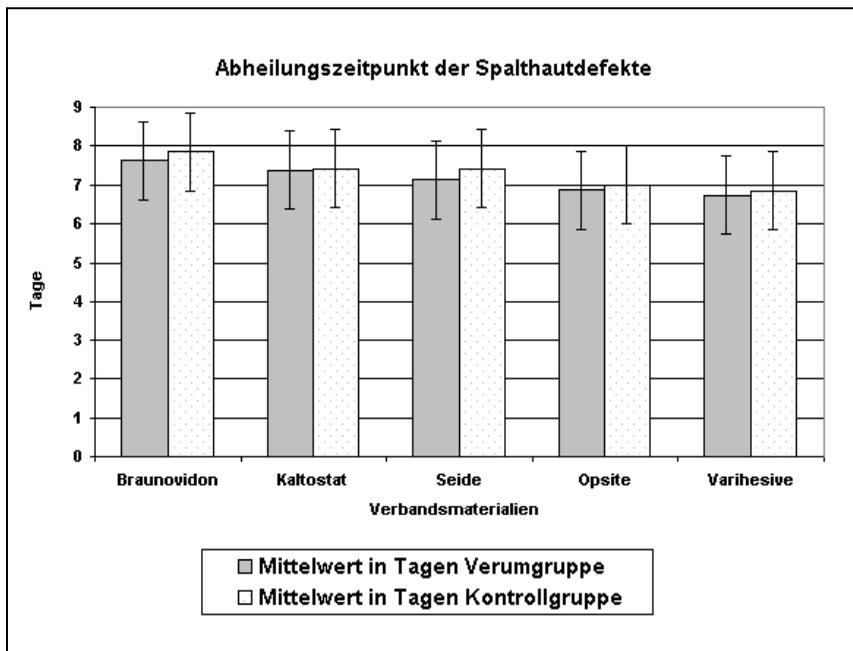


Abb. 3-29: Abheilungszeitpunkt der Basalmembranzzone der Spalthautdefektestellen in Tagen unter den unterschiedlichen Verbandsmaterialien.

Verbandstoff	Braunovidon	Kaltostat	Seide	OpSite	Varihesive E
Mittelwert in Tagen					
Versuchsgruppe	7,63	7,38	7,13	6,88	6,75
Mittelwert in Tagen					
Kontrollgruppe	7,86	7,43	7,43	7,00	6,85
p-Wert	0,1729	0,4234	0,1708	0,3498	0,3632

Tab. 3-11: Varianzanalyse mit Messwertwiederholung der Verbandstoffe, Abheilung der Basalmembranzzone.

4 Diskussion

4.1 Tiermodell Schwein

4.1.1 Vergleichbarkeit des Hautaufbaus

Die Haut hellhäutiger Zuchtschweine wurde sehr detailliert von Meyer beschrieben (Meyer 1986). Eine hohe Konkordanz wurde dabei vor allem im Aufbau der Epidermis festgestellt, die deutliche Parallelen in Bau, Metabolismus und grundlegenden stoffwechselphysiologischen Vorgängen zeigt. Die histologische Untersuchung von Schweinehaut zeigte Parallelen zur menschlichen Haut. Die Haut von Schweinen besteht aus einer Lage Basalzellen und einem 3-4-lagigem Stratum corneum. Die totale Erneuerungsrate einschließlich Stratum corneum dauert beim Menschen 28 Tage, beim Schwein 30 Tage, die Passage der vitalen Epidermis beträgt beim Menschen 13 Tage, beim Schwein 10-14 Tage. (Archambeau u. Bennett 1984, Jurnovoy et al. 1975, Meyer und Neurand 1975, Oehlert et al. 1966). Ähnlichkeiten fanden sich weiterhin in der Ausbildung der epidermalen Barriere. Durch den gleichen Aufbau der Lipidbarriere innerhalb des Stratum corneum aus Glykosphingolipiden und Ceramiden ist die Hautpermeabilität vergleichbar (Bartek et al. 1972, Gray und White 1978, Swartzendruber et al. 1989). Immunhistochemische Untersuchungen der Schweinehaut zeigten deutliche Parallelen in der Ausbildung von Keratinen, Filaggrin, Calmodulin, Fibronectin, Vimentin und Kollagen IV (Wollina et al. 1991). Gemeinsamkeiten beschrieb Meyer im biochemischen Aufbau der Haut. So fanden sich in beiden Fällen ähnliche freie Aminosäuren intraepidermal ausgebildet, die zu einer vergleichbaren Keratinisation der Haut führen, und beide Spezies wiesen eine vergleichbare Enzymausstattung auf. (Meyer und Neurand

1976, Meyer et al. 1978, 1991).

Strukturelle Gemeinsamkeiten zeigen sich ebenfalls für die Dermis, die sich zahlreiche biochemische Parameter beziehen, wie den Gehalt, die Struktur und die Verteilung von Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen (King und Tabiowo 1980, Tsukise und Meyer 1983).

Speziell das Kollagen der Schweinehaut entspricht weitgehend demjenigen der menschlichen Haut, da die Zusammensetzung der Aminosäuren in der alpha-1 und alpha-2 Kette in Schweine- und humanem Kollagen übereinstimmen (Allam u. Heidemann 1974, Heinrich et al. 1971). Neben der strukturellen Gemeinsamkeiten fand man ebenfalls Parallelen in der Anordnung der kollagenen und elastischen Fasern in der Dermis (Meyer et al. 1981, 1982).

Meyer beschrieb neben den Parallelen auch Unterschiede zur menschlichen Haut, die sich in der Epidermis auf die Langerhanszellen beziehen. Den Langerhanszellen der Haut kommt die Aufgabe der Antigenpräsentation zu. Diese Zellen treten beim Schwein in geringerer Zahl auf und unterscheiden sich in ihrer morphologischen Struktur und ihrer Fähigkeit, Fortsätze zu bilden, von den menschlichen Langerhanszellen. Einen weiteren morphologischen Unterschied sah man im Fehlen ekkriner Schweißdrüsen beim Schwein (Meyer 1986, Meyer et al. 1978, Neurand u. Meyer 1976, Tsukise und Meyer 1983).

Das hier getestete Modell läßt keine durch Schweißdrüsen oder Langerhanszellen bedingte Veränderungen der Ergebnisse erwarten.

4.1.2 Vergleichbarkeit des Wachstumshormons und seiner Wirkung

In der Literatur finden sich basale IGF-1-Werte sowohl für heranwachsende Schweine als auch für adulte Schweine. Die basalen Werte von heranwachsenden Schweinen betragen 219 ng/ml (Malmlöf et al. 1995), von adulten Schweinen 75 ng/ml (Malmlöf et al. 1994). Ab dem 45. Lebensjahr sinkt der WH-Spiegel bei Schweinen wie beim adulten Menschen ab, und zeigt ab diesem Zeitpunkt vergleichbare geschlechtsspezifische Unterschiede wie beim Menschen (Dubreuil et al. 1987, Louveau et al. 1991). Beim Menschen erreicht der WH-Spiegel in der Pubertät seinen Höchstspiegel, und fällt dann kontinuierlich ab. In der Literatur sind die Basalwerte für Jugendliche mit 168 ng/ml und für Erwachsene im Alter von 50 Jahren mit 60 ng/ml angegeben (Finkelstein et al. 1972, Gore et al. 1991). Hieran zeigt sich, dass beim Schwein, ähnlich wie beim Menschen, der Serumwert des IGF-1 nach der Pubertät abfällt. Der basale IGF-1-Wert der Versuchstiere unserer Studie beträgt 83,17 ng/ml. Diese Werte entsprechen den basalen WH-Spiegeln, die Malmlöf und Mitarbeiter bei adulten Schweinen ermittelt haben.

Verschiedene Studien untersuchten den Einfluss von Stress auf den IGF-1-Spiegel bei Schweinen. Hier konnte gezeigt werden, dass Stress bei Schweinen zu einem akuten Anstieg von Kortisol und WH, und einem Abfall des IGF-1-Spiegels führte (Farmer et al. 1991, Malmlöf et al. 1995). Untersuchungen über die Wirksamkeit von systemisch appliziertem WH zeigten, dass sowohl porcines als auch rekombinant humanes WH den IGF-1-Spiegel erhöhen und Aminosäureverluste verhindern kann (Buonomo et al. 1987, Malmlöf et al. 1995, Owens et al. 1990, Silence und Etherton 1987).

Aufgrund der Korrelation der Ergebnisse, kann man davon ausgehen, dass das gewählte Tiermodell die Physiologie des WH- und des IGF-1-Spiegels bei Adulten simuliert und die systemische Applikation von rekombinatem humanem WH zu einer Beeinflussung des IGF-1-Serumwertes führt.

Auf dieser Grundlage wurde das Tiermodell Schwein zur Testung der Wirksamkeit von humanem WH am Adulten gewählt. Den im Vergleich zu Kleintieren hohen Beschaffungs- und Unterhaltskosten des Versuchstieres Schwein stehen die beschriebenen methodischen und anatomischen Vorteile gegenüber.

Es wurden Parallelen, aber auch Unterschiede zwischen Menschen- und Schweinehaut aufgezeigt, welche die Aussagekraft entsprechender Experimente einschränken können. Auf eine bedingte Übertragbarkeit tierexperimentell an Schweinen erhobener Versuchsergebnisse auf den Menschen haben Meyer und Mitarbeiter hingewiesen (Meyer et al. 1978). Dies wird bei der Diskussion der Ergebnisse zu berücksichtigen sein.

4.2 IGF-1-Serumspiegel

4.2.1 Änderung des IGF-1-Serumspiegels unter operativem Stress

Zunächst wurde der basale IGF-1-Spiegel der Schweine bestimmt, der bei $83,17 \pm 19,19$ ng/ml liegt. Von allen Schweinen wurde postoperativ eine Blutprobe zur erneuten Bestimmung des IGF-1-Spiegels entnommen. Der postoperative IGF-1-Spiegel lag bei $69,08 \pm 13,18$ ng/ml. Der postoperative Abfall des WH-Spiegels ist signifikant, $p = 0,029$.

Versuche an Ratten und Schweinen zeigten, dass Stress, wie z.B. Verbrennungstraumen oder Operationen, zu einem Anstieg der katabol wirkenden Hormone, wie dem Kortisol, den Katecholaminen und dem Glukagon führt. Diese hormonellen Veränderungen bewirkten einen Abfall der Serumproteine, einen verstärkten Muskelproteinabbau und Stickstoffverluste über die Niere (Alberti et al. 1980, Belcher und Ellis 1990, Lowry 1992, Malmlöf et al. 1995, Takagi et al. 1995). Die Reaktion des anabolen WH wird kontrovers diskutiert. Verschiedene Arbeitsgruppen fanden einen Anstieg des WH-Spiegels unter Stress im Tiermodell und an Patienten in katabolischen Phasen (Farmer et al. 1991, Jenkins und Ross 1996, Malmlöf et al. 1995, Ross et al. 1991). Eine andere Arbeitsgruppe dokumentierte einen Abfall der WH-Konzentration als Reaktion auf traumatischen oder operativen Stress (Alberti et al. 1980). In einer Patientenstudie wird eine Erhöhung des WH-Spiegels nach Operationen und Traumen beschrieben (Wright und Johnson 1975). Sowohl im Tierversuch, als auch in klinischen Studien fand man ein Abfall der IGF-1-Konzentration, des peripheren Mittlers von WH unter Stress (Alberti et al. 1980, Farmer et al. 1991, Jenkins und Ross 1996, Malmlöf et al. 1995, Ross et al. 1991).

Der in der Literatur beschriebene Abfall des IGF-1-Spiegels unter Stress konnte in dem hier verwendeten Tiermodell für operativen Stress unter standardisierten Bedingungen reproduziert werden.

4.2.2 Wirkung der systemischen Wachstumshormongabe auf den Serum IGF-1-Spiegel

Die systemische Applikation von WH bewirkt im Tiermodell postoperativ einen starken Anstieg der IGF-1-Konzentration. Die Differenz der Serum-IGF-1-Werte zwischen den Versuchsgruppen ist zu jedem Zeitpunkt, und zudem auch zwischen den Versuchsgruppen hoch signifikant, $p < 0,001$.

Im Tiermodell konnte beim Schwein ein Anstieg der Serum IGF-1-Konzentration nach systemischer Applikation von porcinem WH dokumentiert werden (Owens et al. 1990, Sillence und Etherton 1987). An Mäusen konnte dann gezeigt werden, dass rekombinantes humanes WH auch im Tiermodell zu einer Induktion der mRNA-Expression und zu einer Erhöhung der Proteinkonzentration von IGF-1 führt (Mathews et al. 1988). Weitergehende Versuche zeigten, dass rekombinantes humanes WH auch beim Schwein wirksam ist, und dort zu einer Erhöhung des IGF-1-Serumspiegels führt (Malmjöf et al. 1995).

Erste Untersuchungen am Menschen zeigten, dass bei Kindern die systemische Gabe von humanem WH, unabhängig von der Applikationsart, zu einem Anstieg von IGF-1 führte (Albertsson-Wikland et al. 1986). Die verschiedenen klinischen Untersuchungen bezüglich der Wirkung systemischer WH-Gaben wurden von Jorgensen und Mitarbeitern in einer Übersichtsarbeit zusammengestellt. Es wurde in allen Studien eine Erhöhung des IGF-1-Spiegels unter systemischer

WH-Gabe gezeigt (Jorgensen et al. 1990). Bei dem therapeutischen Einsatz von WH bei Kindern mit Verbrennung konnte, neben einer Erhöhung des IGF-1-Serumspiegels, ein Anstieg hepatischer Proteine und ein Abfall akuter Phase Proteine gezeigt werden (Jeschke et al. 2000).

Bei Adulten wurde die WH-Gabe nach Verbrennungen bisher als ultima-ratio-Therapie angewandt. Die klinischen Studien an adulten Schwerverbrannten weisen erhebliche Unterschiede im Studiendesign auf. Die applizierte Menge WH variiert von 0,05 bis 2 I.E. WH. Weitere Unterschiede bestehen im Beginn der Substitutionsbehandlung, die vom 1. post-traumatischen Tag bis zum 10. post-traumatischen Tag variiert, und in der Applikationsart, subkutan, intramuskulär oder intravenös. Die Ergebnisse der Wundheilung wurden deskriptiv oder mittels Planimetrie dokumentiert. Problematisch bei der Auswertung der Ergebnisse sind, neben dem variierenden Studiendesign, auch die sehr kleinen Fallzahlen von 10-20 Patienten. Hierbei können Beeinflussungen der Ergebnisse durch Nebenerkrankungen nicht ausgeschlossen werden (Cioffi et al. 1994, Demling 1999, Herndon et al. 1995, Knox et al. 1995, Sun et al. 1998).

Aufgrund des standardisierten Aufbaus der tierexperimentellen Studie und des Vergleichs der Ergebnisse mit der Literatur, können Beobachtungen an adulten Schwerverbrannten bestätigt werden, wonach die Gabe von rekombinantem WH bei Adulten zu einer Erhöhung des IGF-1-Serumspiegels führt.

4.3 Verbandsmaterialien

4.3.1 Der Einfluss der Verbandsmaterialien auf die Wundheilung

Die Grundlage der heutigen Wundbehandlung, die feuchte Wundbehandlung, basiert auf den Wundheilungsexperimenten von Odland und Winter. Odland zeigte 1958 eine beschleunigte Reepithelisierung unter intakter Hautblase, und Winter demonstrierte 1962 eine doppelt so schnelle Reepithelisierung von Hautwunden unter Polyurethanfolien wie unter Luftexposition (Odland 1958, Winter 1962).

Feuchte Wundheilung heißt, dass im Idealfall Wundsekret durch Semiokklusion oder Absorption in bzw. unter der Wundauflage retiniert wird. Dieses Wundsekret enthält im feuchten Milieu mehr zelluläre Bestandteile und verschiedene Wachstumsfaktoren, wie z.B. das IGF-1. Zellaktivitäten wie Chemotaxis, mitotische Aktivität, Angiogenese, Matrixformation, dermale Reparatur, Keratinozytenmigration und autolytisches Debridement werden stimuliert (Banda et al. 1982, Dyson et al. 1988, Falanga 1988, Katz et al. 1991, Ono et al. 1995). Ein erhöhtes Infektionsrisiko unter der Semiokklusion konnte nicht festgestellt werden (Chalmers und Turner 1996, Hutchinson und Lawrence 1991). Hutchinson und McGuckin fanden im Vergleich der Infektionsrate unter semi-okklusiven versus trockenen Wundauflagen sogar eine reduzierte Infektionsrate von 2,6 % unter semi-okklusiven Auflagen gegenüber 7,1 % bei trockenen Auflagen (Hutchinson und McGuckin 1990).

Ein optimaler Verband sollte zur optimalen Wundbehandlung folgenden Anforderungen entsprechen:

- Aus sterilem, nicht toxischem und nicht sensibilisierendem Material bestehen,
- Schutz gegenüber physikalischen, chemischen und mikrobiellen Belastungen bieten,
- freien Gasaustausch zwischen Wunde und Umwelt ermöglichen,
- sich an die Wunde adaptieren können,
- überschüssiges Wundsekret ohne Wundaustrocknung aufnehmen können,
- keine Verbandsbestandteilen in die Wunde inkorporieren, sowie
- den Wundschmerz reduzieren.

Die in dieser Studie angewendeten Verbandsmaterialien wurden nach diesen Kriterien für einen optimalen Verband auf ihre Eignung als Wundabdeckung von Spalthautentnahmestellen untersucht.

4.3.1.1 Braunovidon

Trockene, nichthaftende Wundauflagen wie Braunovidon bestehen aus einem Fasergewirk aus Baumwolle oder Viskose, und können sowohl wirkstofffrei als auch wirkstoffhaltig, wie z.B. mit PVP-Jod, imprägniert sein. Unter den nichthaftenden Wundauflagen kann sich kein feuchtes Wundmilieu bilden, da die Wundflüssigkeit resorbiert wird und eintrocknet.

Trockene Wundauflagen wurden in tierexperimentellen und klinischen Studien vielfach, vor allem im Vergleich zu modernen Wundauflagen als Verbandsmaterial für Spalthautdefektstellen getestet. Übereinstimmend fand man eine längere Wundheilungszeit gegenüber feuchter Wundbehandlung unter okklusiven oder semiokklusiven Wundauflagen. Kontrovers wird lediglich der Unterschied in der Wundheilungszeit von Spalthautdefekten im Vergleich von trockenen Wundauflagen und Kalzium-Alginat-Verbänden diskutiert (Übersicht durch Ryan 1993). Die genauen Unterschiede werden in den folgenden Kapiteln exakt beschrieben.

Unter der Therapie mit Salbengazen, wie z.B. Braunovidon, können Kontaktallergien auftreten. Allergenisierend können nicht nur die Antibiotika/Antiseptika, sondern auch die Salbengrundlagen wie Wollwachsalkohole oder Perubalsam und die Konservierungsstoffe wie Parabene und Cetylstearylalkohol wirken (Niedner 1997). Ein weiteres Problem der imprägnierten Salbengaze stellt die potentielle Gefahr der Erregerresistenzbildung und damit verbunden die Züchtung von Problemkeimen dar.

Unter der Braunovidon Wundaufgabe heilten die Spalthautdefekte beim Schwein nach 12,86 Tagen ab. Die neugebildete Epidermis war gering hypertroph (Abb. 3-1 - 3-4).

4.3.1.2 Kaltostat

Kaltostat ist eine Wundaufgabe aus der Gruppe der Natrium-Kalzium-Alginate. Alginate sind zu Fasern versponnene Natrium-Kalzium-Salze der Alginsäure, die aus marinen Braunalgen gewonnen werden. Bei Kontakt mit Wundsekret werden durch Austausch von Natrium- und Kalziumionen die unlöslichen Fasern in lösliches Natrium-Kalzium-Alginat umgewandelt. Hieraus resultiert eine Gelbildung des zunächst faserigen Materials, wodurch ein feuchtes Wundmilieu geschaffen wird. Gleichzeitig wirken Alginate hämostyptisch, so dass sie auch bei blutenden Wunden eingesetzt werden können (Basse et al. 1992, Blair et al. 1990, Groves und Lawrence 1986). Daneben besitzen sie eine große Sekretaufnahme Kapazität, gleichzeitig werden Zelldetritus und Bakterien absorbiert.

Kalziumalginate wurden in den letzten Jahren vermehrt zur Behandlung von Spalthautentnahmestellen eingesetzt. Die Angaben über Wundheilungszeiten und Ergebnisse zur Wundheilungszeit unter Kalziumalginaten variieren stark. In klinischen Studien dokumentierten verschiedene Gruppen an variierenden Fallzahlen von 20 bis zu 130 Spalthautentnahmedefekten eine Reduktion der Wundheilungszeit auf 10 bis zu 7 Tage gegenüber trockener Wundbehandlung mit Gazen (Attwood 1989, Barnett und Varley 1987, Basse et al. 1992, O`Donoghue et al. 1997, Piacquadio und Nelson 1992, Vanstraelen 1992).

Butler und Mitarbeiter, und später Bettinger und Mitarbeiter konnten keinen Unterschied in der Heilung von Spalthautdefekten im Vergleich von Kaltostat mit trockenen Wundauflagen finden (Bettinger et al. 1995, Butler et al. 1993). Lawrence und Blake fanden in einer Studien an 46 Patienten sogar eine langsamere Heilung der Spalthautdefektstellen unter Kaltostat im Vergleich zu trockener Wundheilung (Lawrence und Blake 1991).

Die Abheilung von Spalthautdefekten unter Kalziumalginaten erfolgte unter Ausbildung einer glatten Epidermis ohne Hypertrophiebildung (Attwood 1989, Basse et al. 1992, Vanstraelen 1992). Voraussetzung hierfür scheint das Vorhandensein von ausreichenden Mengen Wundsekret zu sein. Nur wenn eine ausreichende Menge an Wundsekret vorhanden ist, können die Kalzium-Alginat-Fasern ein Gel bilden, und damit ihre volle Wirkung entfalten. Zur Behandlung wenig exsudativer Wunden ist Kaltostat nicht geeignet (Barnett und Varley 1987, Pirone et al. 1992). Am Schweinmodell konnte weiterhin gezeigt werden, dass Kaltostat Fasern im Wundgebiet hinterläßt (Agren 1996).

Die mit Kaltostat behandelten Patienten gaben Schmerzfreiheit während der Verbandswechsel an, die Compliance der Patienten war deutlich erhöht (Attwood 1989, Bettinger et al. 1995, Vanstraelen 1992).

Der Vergleich von Varihesive E mit Kaltostat ergab eine verzögerte Wundheilung von 15,5 gegenüber 10 Tagen unter Varihesive E sowohl in der klinischen Testung als auch am Tiermodell Schwein (Pirone et al. 1992, Porter 1991). Ein ähnliches Ergebniss ergab sich im Vergleich von Kaltostat mit OpSite. Auch hier war die Wundheilung unter Kaltostat deutlich langsamer (Bergman 1977). Im Tiermodell fiel auf, dass die Spalthautentnahmestellen beim Versuchstier

Schwein nicht exsudativ genug waren, um zu einer Gelbildung von Kaltostat zu führen (Pirone et al. 1992).

In dem hier vorliegenden Versuch betrug die Wundheilungszeit unter der Kaltostatwundaufgabe für die Epidermis 10 Tage. Die Wunden waren wenig exsudativ, so dass die Wundaufgabe nur unzureichend in ein Gel umgewandelt wurde. Die Epidermis heilte unter unregelmäßiger Hypertrophiebildung ab. Eine erneute Spalthautentnahme aus diesem Areal würde sich sehr schwierig gestalten (Abb. 3-5 - 3-8). Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das gewählte Tiermodell Schwein ist nach Vergleich mit der Literatur nicht ausgeschlossen. Die Ergebnisse müssten in klinischen Studien überprüft werden.

4.3.1.3 OpSite

Transparente Folienverbände, wie OpSite, bestehen aus einem dünnen Polyurethanfilm mit selbsthaftender Acrylat- oder Vinylether-Beschichtung. Sie sind semipermeabel, d.h. luft- und wasserdampfdurchlässig, jedoch impermeabel für Wasser und Mikroorganismen. Die Transparenz ermöglicht jederzeit eine Wundinspektion (Shively et al. 1981, Smith und Peterson 1983). Es wurden zahlreiche tierexperimentelle und klinische Studien zum Vergleich von Polyurethanfolien mit trockenen Wundaufgaben in der kutanen Wundheilung durchgeführt. Im Tiermodell am Schwein konnte unter OpSite eine Reduktion der Entzündungsparameter im Vergleich zur Hydrokolloidaufgabe, jedoch eine 3 Tage längere Wundheilungszeit eruiert werden (Agren et al. 1997). Die Abheilung der Wunden, speziell der Spalthautdefekte, war schneller abgeschlossen als unter trockenen Wundaufgaben, die Abheilungszeitpunkte variier-

ten jedoch stark zwischen 7-12,5 Tagen (Alvarez et al. 1983, Barnett et al. 1983, Bergman 1977, Birdsell et al. 1979, Demetriades u. Psaras 1992, Dinner et al. 1979, Dyson et al. 1988, Horch und Stark 1998, Iregbulem 1983, James und Watson 1975, Lal et al. 2000, Smith und Peterson 1983, Yadav et al. 1993). Morris und Lamb untersuchten OpSite im Vergleich zu Scarlet Red, einer Gazeauflage, und konnten keine signifikant verkürzte Heilungszeit unter der Behandlung mit OpSite feststellen (Morris u. Lamb 1990). Diese Beobachtungen entsprechen früheren Untersuchungen von Birdsell und Mitarbeitern, die bei Patienten mit Spalthautdefekten keinen positiven Einfluss auf die Wundheilungszeit nachweisen konnten (Birdsell et al. 1979). Feldman und Mitarbeiter dokumentierten sogar eine verzögerte Wundheilung bei Spalthautentnahmestellen, die mit OpSite verbunden wurden (Feldman et al. 1991).

Die Ergebnisse der klinischen Studien zeigten einen erhöhten Komfort bei der Anwendung, und deutlich reduzierte Schmerzen bei den Verbandswechseln (Barnett et al. 1983, Bergman 1977, Birdsell et al. 1979, Iregbulem 1983, James und Watson 1975, Morris u. Lamb 1990, Smith und Peterson 1983).

Polyurethanfolien sind nicht in der Lage, Wundsekret zu absorbieren. Exsudative Wunden, wie die Spalthautentnahmestellen, führen zu einem Leck des Folienverbandes und damit zum Ablösen an den Rändern mit Wundsekretaustritt (James u. Watson 1975).

Beim Vergleich von OpSite mit Varihesive E lag der Heilungszeitpunkt der Spalthautdefektstellen unter OpSite drei Tage hinter dem unter Varihesive E. Unter OpSite kam es vermindert zum Austritt von Wundsekret, so dass die

Wundauflage seltener gewechselt werden mußte. (Leicht et al. 1989).

In dem hier getesteten Modell heilte die Epidermis der Spalthautdefektstellen unter OpSite nach 9,43 Tagen ab. Die neugebildete Haut wies eine glatte Oberfläche auf, und war damit zur erneuten Spalthautentnahme geeignet (Abb. 3-9 - 3-12).

4.3.1.4 Seide

Seide ist ein Naturstoff, der hauptsächlich aus Fibroin besteht. Seide ist sehr elastisch und verfügt über die Fähigkeit bis zu 30 % des Eigengewichtes an Flüssigkeit aufzusaugen. Seide verhält sich zunächst flüssigkeitsabweisend, nach ca. 48 stündiger Inkubation mit Flüssigkeit saugt Seide diese auf. Aufgrund dieser Eigenschaften wurde Seide als Wundauflage im Sinne einer feuchten Wundbehandlung (s. 4.3.1) bei Spalthautdefekten getestet.

Es liegen bislang keine Studien vor, die sich mit Seide als Wundauflage befasst haben. In dem hier getesteten Modell konnten wir zeigen, dass Seide zunächst zu einer Retention des Wundsekrets unter der Auflage führte. Das Wundsekret wurde dann nach 2 Tagen von der Seide aufgesogen, und die Auflage heftete fest auf dem Wundgrund. Nach 10,29 Tagen heilten die Spalthautdefekte unter der Seidenauflage ab. Die Wundauflage fiel allein nach der kompletten Neubildung der Epidermis ab. Die neugebildete Haut wies eine glatte Oberfläche auf, die für die erneute Spalthautentnahme geeignet war (Abb. 3-13 - 3-16).

4.3.1.5 Varihesive E

Varihesive E zählt zu den Hydrokolloidverbänden. Diese sind zweischichtig aufgebaut: Der Wundkontakt wird über eine selbsthaftende Schicht aus hydrokolloidalen, flüssigkeitsabsorbierenden Mikrogranula, meist eine Kombination aus Carboxymethylcellulose, Polysaccharide und Proteine, die in eine hydrophobe Matrix eingebettet sind, gewährleistet. Die wundferne Schicht besteht aus einer semiokklusiven Polyurethanfolie, die vor sekundärer Kontamination schützt. Bei einer Aufnahme von Wundsekret in die hydrophilen Mikrogranula entsteht ein Gel, wodurch sich die adhäsiven Eigenschaften des Hydrokolloids über der Wundfläche verlieren. Eine Untersuchung von Hydrokolloidverbänden auf intakter Haut zeigte, dass unter der Verbandaufgabe der transepidermale Wasserverlust um 70 % bei konstanter Hauttemperatur, und einem leichten pH-Abfall reduziert war (Agren und Wijisinghe 1994).

Varihesive wurde in verschiedenen klinischen und tierexperimentellen Studien sowohl an tiefen Wunden als auch an Spalthautentnahmestellen getestet. Im Vergleich zu trockener Wundbehandlung konnte eine deutlich verkürzte Wundheilungszeit der Spalthautdefekte von 15 auf 7-10 Tage dokumentiert werden (Alvarez et al. 1983, Demetriades und Psaras 1992, Donati und Vigano 1988, Eaglstein 1985, Feldman et al. 1991, Smith et al. 1993, 1994, Tan et al. 1993a, 1993b).

Im Tiermodell an Ratten und Schweinen wurde gezeigt, dass hydrophobe Polymere der Wundaufgabe im Wundgebiet von Zellen resorbiert wurden, die als schwammige Zellen in der histologischen Begutachtung imponierten. Die eingeschlossenen Partikel schienen die Migration von Keratinozyten in der Frühphase

der Wundheilung zu behindern, und eine starke Entzündungsreaktion auszulösen. Eine Verzögerung der Wundheilungszeit konnte jedoch nicht nachgewiesen werden (Agren und Everland 1997, Agren et al. 1997). Die Wunden heilten unter Bildung einer homogenen Epidermis ab, und waren damit als erneute Spalthautentnahmestelle geeignet (Donati und Vigano 1988). Ein Problem in der Behandlung mit Varihesive stellten stark exsudative Wunden dar. Hydrokolloidverbände binden kein Wundsekret, so dass es häufig zu einem Austritt von Wundsekret unter der Wundaufgabe kam. Die Wundaufgabe musste häufig gewechselt werden (Leicht et al. 1989, Tan et al. 1993a). In klinischen Studien wurde ein höherer Komfort und Schmerzfreiheit bei Verbandswechseln angegeben (Feldman et al. 1991, Tan et al. 1993a).

Weiterhin wurden Vergleichsstudien zwischen Hydrokolloiden und Polyurethanfolien, bzw. Kalzium-Alginatverbänden als Wundaufgaben für Spalthautentnahmestellen tierexperimentell und in klinischen Studien getestet. In einer tierexperimentellen Studie am Schwein wurden Punchbiopsien mit Varihesive und OpSite verbunden. Es konnte hierbei kein Unterschied in der Wundheilungszeit zwischen OpSite und Varihesive verifiziert werden (Agren et al. 1997). Dagegen fand sich in einer klinischen Studie an 65 Patienten eine verkürzte Wundheilungszeit um 3 Tage von Spalthautdefekten unter der Therapie mit Varihesive gegenüber OpSite (Feldman et al. 1991). Der Komfort beider Wundaufgaben wurde von den Probanden gleich eingeschätzt. Die Wundaufgabe Varihesive musste häufiger gewechselt werden, da vermehrt Wundsekret unter dem Verband austrat (Leicht et al. 1989). Vergleiche mit Kalzium-Alginatverbänden im Tierversuch und in einer klinischen Studie zeigten, dass die Wundheilungszeit unter Varihesive deutlich verkürzt war (Pirone et al. 1992,

Smith et al. 1993).

Im Tierversuch am Schwein heilte die Epidermis nach Setzen der Spalthautdefekte ohne WH-Therapie unter der Varihesiveauflage innerhalb von 9 Tagen ab. Die tierexperimentell erhobenen Ergebnisse stimmen mit den in der Literatur angegebenen Wundheilungszeiten überein. Die neugebildete Epidermis war glatt und damit zur erneuten Spalthautentnahme geeignet (Abb. 3-17 - 3-20).

4.3.1.6 Zusammenfassende Bewertung

Betrachtet man die Abheilungszeitpunkte der Epidermis unter den einzelnen Wundaufgaben, so fällt auf, dass die Heilungszeit unter Varihesive E mit 9 Tagen, vor OpSite mit 9,43 Tagen erfolgreicher verläuft. Es folgen die Verbandstoffe Kaltostat mit einer Wundheilungszeit von 10 Tagen, und Seide mit 10,29 Tagen. Am langsamsten vollzieht sich die Wundheilung mit 12,86 Tagen unter Braunovidon. Der Unterschied in der Wundheilungszeit innerhalb der Kontrollgruppe unter den einzelnen Verbandstoffen ist signifikant.

Dieses Ergebnis lässt im Vergleich mit der Literatur den Schluss zu, dass die Wundheilungszeit unter okklusiver oder semiokklusiver Wundbehandlung deutlich verkürzt ist. Die neugebildete Haut weist eine glatte Oberfläche auf, und ist somit zur erneuten Spalthautentnahme geeignet. Die Wundheilungszeit unter Seide ist länger, die Hautoberfläche weist aber dieselbe Beschaffenheit auf, wie unter okklusiver/semiokklusiver Wundheilung.

Kaltostat hat eine längere Wundheilungszeit und eine inhomogene Oberfläche der neugebildeten Epidermis. Diese Unregelmäßigkeit erschwert eine erneute

Spalthautentnahme. Die Unregelmäßigkeit der Hautoberfläche ist in erster Linie auf die geringe Wundsekretproduktion der Spalthautentnahmestellen zurückzuführen. Dadurch konnten sich die Kalziumalginatauflagen nicht in ein Gel umwandeln, und somit war keine Grundlage für eine feuchte Wundheilung gegeben. Diese Ergebnisse stimmen mit Erkenntnissen anderer Forschergruppen am Tiermodell Schwein überein (Barnett und Varley 1987, Pirone et al. 1992). Für Spalthautdefekte beim Menschen ist dieses Phänomen nicht beschrieben worden, so dass man auf einen speziesspezifisches Problem schließen muss. Die Ergebnisse der Wundheilungszeit von Kaltostat müssten in einer klinischen Studie an Spalthautdefekten erneut überprüft werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Abheilung von Spalthautdefekten unter okklusiven/ semiokklusiven Verbandsmaterialien wie Varihesive E und OpSite im Vergleich zu trockener Wundheilung signifikant beschleunigt ist.

4.3.2 Einfluss von Wachstumshormon-Therapie und Verbandsmaterial auf die Wundheilung

In der Literatur finden sich keine Studien, die die Heilung von Spalthautdefekten unter der Therapie mit systemischer WH-Therapie und verschiedenen Verbandstoffen kombiniert betrachten.

In dieser Studie wurde überprüft, ob die Kombination der systemischen WH-Therapie und der verschiedenen Verbandstoffe, unter Berücksichtigung der Wundheilungseigenschaften der Verbandsmaterialien, synergistische Effekte haben. Es zeigte sich, dass im Gruppenvergleich aller Verbandsmaterialien keine Signifikanz der Kombinationstherapie festgestellt werden konnte, $p = 0,15$. Vergleicht man die einzelnen Verbandstoffe der beiden Versuchsgruppen untereinander, zeigt sich für Braunovidon, OpSite und Varihesive E eine Signifikanz zwischen der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe. In der Varianzanalyse wurde für Braunovidon, $p = 0,0205$, ein statistisch signifikanter, für OpSite, $p = 0,0013$, und Varihesive E, $p = 0,0032$, ein hochsignifikanter Unterschied für den Abheilungszeitpunkt im Gruppenvergleich ermittelt. Die Heilungstage verkürzten sich in der Braunovidongruppe von 12,86 auf 11,5 Tage um 1,36 Tage. Die Abheilungszeitpunkte innerhalb dieser Gruppe waren sehr homogen. Die Wundheilung unter den OpSite-Verbänden war von 9,43 auf 7,75 Tage um 1,68 Tage, und unter Varihesive E von 9 auf 6,13 Tage um 2,87 Tage vermindert. Auch hier waren die Gruppenergebnisse homogen.

Für die Verbandstoffe Kaltostat, $p = 0,2073$, und Seide, $p = 0,1383$, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen beschrieben werden. Der Abheilungszeitpunkt reduzierte sich unter der Therapie mit Kaltostat von 10

auf 8,88 Tage um 1,12 Tage, und unter der Therapie mit Seide als Wundauflage von 10,29 auf 8 Tage um 2,29 Tage. Durch die große Varianz der Abheilungszeitpunkte in diesen beiden Verbandsgruppen ist keine statistisch signifikante Aussage zu treffen (Tab. 3-10).

Die Ergebnisse unter den Verbandaufgaben Varihesive E, Opsite und Brauonidon erlauben aufgrund der Homogenität dieser Gruppen die Aussage, dass das Wachstumshormon einen Einfluss auf die Abheilung der Spalthautdefekte hat, der sich in einer Beschleunigung der Wundheilung um 1,36 bis 2,87 Tage innerhalb einer Verbandsgruppe äußert. Im Vergleich von Varihesive mit der Wundaufgabe Brauonidon differiert die Abheilungszeit zwischen den Gruppen um 5,37 Tage. Die Ergebnisse sind vorab von uns veröffentlicht worden (Ghofrani et al. 1999). Die Beschleunigung der Wundheilung unter der systemischen Therapie mit WH deckt sich mit ersten Therapieversuchen an adulten Schwerstverbrannten. Die Spalthautentnahmestellen dieser Patienten heilten in der Regel zwei Tage früher ab als in der Kontrollgruppe (Demling 1999, Herndon et al. 1995, Knox et al. 1995, Sun et al. 1998).

4.3.3 Abheilung der Basalmembranzone

In der Literatur sind keine Untersuchungen beschrieben, die den Einfluss von WH in Kombination mit den verschiedenen Verbandsmaterialien auf die Abheilung der Basalmembran zeigen.

In der hier durchgeführten Studie konnte sowohl für die Abheilung der Basalmembran unter den verschiedenen Verbandsmaterialien als auch in der

Kombination der Verbandsmaterialien mit der WH-Therapie kein signifikanter Unterschied im Einfluss auf die Abheilung der Basalmembranzzone nach Spalthautentnahme festgestellt werden (Tab. 3-11).

Ein Einfluss des Tiermodells Schwein auf diese Ergebnisse ist nicht sicher aus zuschließen, so dass eine Überprüfung dieser Ergebnisse in klinischen Studien angezeigt ist.

4.4 Zusammenfassende Bewertung

Im standardisierten Tierversuch konnte zunächst ein Abfall des präoperativen IGF-1-Serumspiegels postoperativ nachgewiesen werden. Des weiteren zeigte sich im Studienverlauf statistisch ein signifikanter Anstieg des Serum-IGF-1-Spiegels bei adulten Schweinen unter der systemischen Therapie mit 0,5 I.E. Genotropin. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die tierexperimentell am Schwein erhobenen Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, so dass der Einsatz von systemischem Wachstumshormon bei schwerstverbrannten Patienten, bei denen eine schnellere Abheilung der Spalthautentnahmestellen, z.B. zwecks mehrmaliger Entnahme, von vitaler Bedeutung ist, sinnvoll ist.

Daneben findet sich eine Beschleunigung der Abheilung von Spalthautentnahmestellen unter systemischer Wachstumshormongabe. Der Anstieg des Serum-IGF-1-Spiegels unter systemischer Wachstumshormongabe korrelierte positiv in der Verumgruppe mit der Abheilung der Spalthautentnahmestellen. Weiterhin korrelierte der Zeitpunkt der klinischen Abheilung der Spalthautentnahmestellen mit der beginnenden Verhornung in der Histologie.

Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Abheilung unter den verschiedenen Verbandstoffen, wobei die feuchte Wundheilung unter semiokklusiven und okklusiven Wundauflagen die besten Ergebnisse erzielt. Innerhalb dieser Gruppe konnte ein Einfluss der systemischen WH-Therapie auf die Spalthautdefektheilung nachgewiesen werden. Die Wunden heilten 1,36-2,87 Tage schneller ab.

Die tierexperimentell am Schwein nachgewiesene beste Kombination zur Behandlung von Spalthautentnahmestellen stellt demnach die Kombination der systemischen WH-Therapie mit 0,5 I.E. Genotropin s.c. mit okklusiven oder semiokklusiven Wundauflagen dar.

5 Zusammenfassung

Beim erwachsenen Schwerstverbrannten konnte im Rahmen von ultima-ratio-Therapien mit Wachstumshormon häufig ein schnelleres Abheilen von Spalthautentnahmestellen beobachtet werden. Daneben gibt es keine standardisierten Studien über den Einsatz der verschiedenen Verbandsmaterialien zur Deckung der Spalthautentnahmestellen.

Ziel dieser tierexperimentellen Studie war es, unter standardisierten Bedingungen den Einfluss von systemischer Wachstumshormongabe und verschiedener Wundauflagen auf die Abheilung von Spalthautentnahmestellen beim adulten Schwein zu untersuchen.

An 15 (8 Verum, 7 Kontrollen) männlichen, geschlechtsreifen Schweinen der Deutschen Landschweinrasse wurden je 30 Spalthautentnahmestellen der Größe 8 cm x 4 cm und der Tiefe von 0,6 mm gesetzt. Je sechs Spalthautentnahmestellen wurden mit dem gleichen Verbandmaterial verbunden. Es kam eine trockene Wundauflage (Braunovidon), eine Kalzium-Alginat-Auflage (Kaltostat), Seide, ein Folienverband (OpSite) und ein Hydrokolloidverband (Varihesive E) zum Einsatz. Die Versuchsdauer pro Schwein betrug 14 Tage, wobei täglich rekombinantes Wachstumshormon (0,5 I.E./kg KG) s.c. appliziert wurde. In der Kontrollgruppe wurde statt Wachstumshormon physiologische Kochsalzlösung s.c. appliziert. Alle 2-3 Tage wurden in Kurznarkose Verbandswechsel durchgeführt, bei denen pro Wundauflage je eine Haut-Stanzbiopsie genommen wurde. Weiterhin wurde pro Tier eine Blutprobe zur Bestimmung des IGF-1-Spiegels, des peripheren Mittlers des Wachstumshormons, entnommen, sowie eine Fotodokumentation durchge-

führt. Die Biopsien wurden histologisch mittels HE-Färbung und immunhistochemisch mittels Basalmembranzonen-Antikörper (Laminin, Kollagen IV und VII) untersucht. Als Abheilungskriterium wurde der histologische Nachweis einer beginnenden Verhornung gewertet.

Die Serum-IGF-1-Werte der Verum-Gruppe waren im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöht. Klinisch und histologisch konnte bei den Spalthautentnahmestellen der Verum-Gruppe für die Verbandstoffe Varihesive E, OpSite und Braunovidon eine signifikant schnellere Abheilung um 1,36-2,87 Tage, verglichen mit den Spalthautdefekten der Kontrollgruppe, festgestellt werden. Für die Verbandstoffe Kaltostat und Seide war eine schnellere Abheilungszeit zu dokumentieren, die jedoch nicht signifikant war. Immunhistochemisch wurde für alle Verbandstoffe sowohl in der Verum- als auch in der Kontrollgruppe ab dem 7.-8. Tag eine durchgängige Basalmembran gezeigt.

Im standardisierten Tierversuch konnte statistisch ein signifikanter Anstieg des Serum-IGF-1-Spiegels bei Adulten, sowie eine Beschleunigung der Abheilung von Spalthautentnahmestellen unter systemischer Wachstumshormongabe nachgewiesen werden. Der Anstieg des Serum-IGF-1-Spiegel unter systemischer Wachstumshormongabe korrelierte positiv in der Verumgruppe mit der Spalthautentnahmestellenabheilung. Weiterhin korrelierte der Zeitpunkt der klinischen Abheilung der Spalthautentnahmestellen mit der beginnenden Verhornung in der Histologie. Wenn die Ergebnisse aus dem Tiermodell auf den Menschen übertragbar sind, so ist der Einsatz von systemischem Wachstumshormon bei schwerstverbrannten Patienten, bei denen eine

schnellere Abheilung der Spalthautentnahmestellen, z.B. zwecks mehrmaliger Entnahme, von vitaler Bedeutung ist, sinnvoll.

6 Literaturverzeichnis

- Ablove RH, Howell RM: The physiology and technique of skin grafting. *Hand Clin* 13: 163-173 (1997)
- Agren MS: Four alginate dressings in the treatment of partial thickness wounds: a comparative experimental study. *Br J Plast Surg* 49: 129-134 (1996)
- Agren MS, Wijesinghe C: Occlusivity and effects of two occlusive dressings on normal human skin. *Acta Derm Venereol* 74: 12-14 (1994)
- Agren MS, Everland H: Two hydrocolloid dressings evaluated in experimental full-thickness wounds in the skin. *Acta Derm Venereol* 77: 127-131 (1997)
- Agren MS, Mertz PM, Franzen L: A comparative study of three occlusive dressings in the treatment of full-thickness wounds in pigs. *J Am Acad Dermatol* 36: 53-58 (1997)
- Alberti KG, Batstone GF, Foster KJ, Johnston DG: Relative role of various hormones in mediating the metabolic response to injury. *JPEN* 4: 141-146 (1980)
- Albertsson-Wikland K, Westphal O, Westgren U: Daily subcutaneous administration of human growth hormone in growth hormone deficient children. *Acta Paediatr Scand* 75: 89-97 (1986)
- Allam SS, Heidemann E: Isolation, characterization and comparative studies of the N-terminal peptides from soluble pig skin collagen. *FEBS Lett* 39: 187-189 (1974)
- Alvarez OM, Mertz PM, Eaglstein WH: The effect of occlusive dressings on collagen synthesis and re-epithelialization in superficial wounds. *J Surg Res* 35: 142-148 (1983)

- Anggard E, Jonsson CE: Efflux of prostaglandins in lymph from scalded tissue. *Acta Physiol Scand* 81: 440-447 (1971)
- Archambeau JO, Bennett GW: Quantification of morphologic, cytologic, and kinetic parameters of unirradiated swine skin: a histologic model. *Radiat Res* 98: 254-273 (1984)
- Attwood AI: Calcium alginate dressing accelerates split skin graft donor site healing. *Br J Plast Surg* 42: 373-379 (1989)
- Banda MJ, Knighton DR, Hunt TK, Werb Z: Isolation of a nonmitogenic angiogenesis factor from wound fluid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79: 7773-7777 (1982)
- Barnett A, Berkowitz RL, Mills R, Vistnes LM: Comparison of synthetic adhesive moisture vapor permeable and fine mesh gauze dressings for split-thickness skin graft donor sites. *Am J Surg* 145: 379-381 (1983)
- Barnett SE, Varley SJ: The effects of calcium alginate on wound healing. *Ann R Coll Surg Engl* 69: 153-155 (1987)
- Bartek MJ, LaBudde JA, Maibach HI: Skin permeability in vivo: comparison in rat, rabbit, pig and man. *J Invest Dermatol* 58: 114-123 (1972)
- Basse P, Siim E, Lohmann M: Treatment of donor sites - calcium alginate versus paraffin gauze. *Acta Chir Plast* 34: 92-98 (1992)
- Behrman SW, Kudsk KA, Brown RO, Vehe KL, Wojtysiak SL: The effect of growth hormone on nutritional markers in enterally fed immobilized trauma patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 19: 41-46 (1995)
- Belcher HJ, Mercer D, Judkins KC, Shalaby S, Wise S, Marks V, Tanner NS: Biosynthetic human growth hormone in burned patients: a pilot study. *Burns* 15: 99-107 (1989)

- Belcher HJ, Ellis H: Somatropin and wound healing after injury. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 939-943 (1990)
- Bentham J, Rodriguez-Arno J, Ross RJ: Acquired growth hormone resistance in patients with hypercatabolism. *Horm Res* 40: 87-91 (1993)
- Bergman RB: A new treatment of split-skin graft donor sites. *Arch Chir Neerl* 29: 69-72 (1977)
- Bessey PQ, Watters JM, Aoki TT, Wilmore DW: Combined hormonal infusion simulates the metabolic response to injury. *Ann Surg* 200: 264-281 (1984)
- Bettinger D, Gore D, Humphries Y: Evaluation of calcium alginate for skin graft donor sites. *J Burn Care Rehabil* 16: 59-61 (1995)
- Birdsell DC, Hein KS, Lindsay RL: The theoretically ideal donor site dressing. *Ann Plast Surg* 2: 535-537 (1979)
- Blair SD, Jarvis P, Salmon M, McCollum C: Clinical trial of calcium alginate haemostatic swabs. *Br J Surg* 77: 568-570 (1990)
- Braun-Falco O: Dermatologie und Venerologie. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH (Hrsg.), 4. überarbeitete Auflage, Springer Verlag: 481-483 (1995)
- Buonomo FC, Lauterio TJ, Baile CA, Campion DR: Determination of insulin-like growth factor 1 (IGF1) and IGF binding protein levels in swine. *Domest Anim Endocrinol* 4: 23-31 (1987)
- Butler PE, Eadie PA, Lawlor D, Edwards G, McHugh M: Bupivacaine and Kaltostat reduces post-operative donor site pain. *Br J Plast Surg* 46: 523-524 (1993)
- Caldwell FT Jr: Energy metabolism following thermal burns. *Arch Surg* 111: 181-185 (1976)

- Caldwell FT, Bowser BH, Crabtree JH: The effect of occlusive dressings on the energy metabolism of severely burned children. *Ann Surg* 193: 579-591 (1981)
- Chamania S, Patidar GP, Dembani B, Baxi M: A retrospective analysis of early excision and skin grafting from 1993-1995. *Burns* 24: 177-180 (1998)
- Cioffi WG, Gore DC, Rue LW, Carrougner G, Guler HP, McManus WF, Pruitt BA: Insulin-like growth factor-1 lowers protein oxidation in patients with thermal injury. *Ann Surg* 220: 310-316 (1994)
- Cryer HG, Anigian GM, Miller FB, Malangoni MA, Weiner L, Polk HC Jr: Effects of early tangential excision and grafting on survival after burn injury. *Surg Gynecol Obstet* 173: 449-453 (1991)
- Dahn MS, Lange MP, Jacobs LA: Insulinlike growth factor 1 production is inhibited in human sepsis. *Arch Surg* 123: 1409-1414 (1988)
- Daughaday WH: The anterior pituitary. In: Wilson JD, Foster DW (eds.) *William's Textbook of Endocrinology*, 7th ed. Philadelphia: Saunders, 598-602 (1985)
- Davidson MB: Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocr Rev* 8: 115-131 (1987)
- DeCamp MM, Demling RH: Posttraumatic multisystem organ failure. *JAMA* 260: 530-534 (1988)
- Demetriades D, Psaras G: Occlusive versus semi-open dressings in the management of skin graft donor sites. *S Afr J Surg* 30: 40-41 (1992)
- Demling RH: Comparison of the anabolic effects and complications of human growth hormone and the testosterone analog, oxandrolone, after severe burn injury. *Burns* 25: 215-221 (1999)

- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE: Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 935-939 (1984)
- Dinner MI, Peters CR, Sherer J: Use of a semipermeable polyurethane membrane as a dressing for split-skin graft donor sites. *Plast Reconstr Surg* 64: 112-114 (1979)
- Donati L, Vigano M: Use of the hydrocolloidal dressing duoderm for skin donor sites for burns. *Int J Tissue React* 10: 267-272 (1988)
- Drost AC, Burleson DG, Cioffi WG Jr, Jordan BS, Mason AD Jr, Pruitt BA Jr: Plasma cytokines following thermal injury and their relationship with patient mortality, burn size, and time postburn. *J Trauma* 35: 335-339 (1993)
- Dubreuil P, Pelletier G, Petitclerc D, Lapierre H, Couture Y, Brazeau P, Gaudreau P, Morisset J: Influence of age and sex on basal secretion of growth hormone (GH) and on GH-induced release by porcine GH-releasing factor pGRF(1-29NH₂) in growing pigs. *Domest Anim Endocrinol* 4: 299-307 (1987)
- Dyson MS, Young S, Pendle CL, Webster DF, Lang SM: Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair. *J Invest Dermatol* 91: 434-439 (1988)
- Eaglstein WH: Experiences with biosynthetic dressings. *J Am Acad Dermatol* 12: 434-440 (1985)
- Falanga V: Occlusive wound dressings. Why, when, which? *Arch Dermatol* 124: 872-877 (1988)

- Farmer C, Dubreuil P, Couture Y, Brazeau P, Petitclerc D: Hormonal changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. *Domest Anim Endocrinol* 8: 527-536 (1991)
- Feldman DL: Which dressing for split-thickness skin graft donor sites? *Ann Plast Surg* 27: 288-291 (1991)
- Feldman DL, Rogers A, Karpinski RH: A prospective trial comparing Biobrane, Duoderm and xeroform for skin graft donor sites. *Surg Gynecol Obstet* 173: 1-5 (1991)
- Finley RJ, Incullet RI, Pace R, Holliday R, Rose C, Duff JH, Groves AC, Woolf LI: Major operative trauma increases peripheral amino acid release during the steady-state infusion of total parenteral nutrition in man. *Surgery* 99: 491-500 (1986)
- Finkelstein JW, Roffwarg HP, Boyar RM, Kream J, Hellman L: Age-related change in the twenty-four-hour spontaneous secretion of growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 35: 665-670 (1972)
- Fleming RY, Rutan RL, Jahoor F, Barrow RE, Wolfe RR, Herndon DN: Effect of recombinant human growth hormone on catabolic hormones and free fatty acids following thermal injury. *J Trauma* 32: 698-702 (1992)
- Fryburg DA, Louard RJ, Gerow KE, Gelfand RA, Barrett EJ: Growth hormone stimulates skeletal muscle protein synthesis and antagonizes insulin's anti proteolytic action in humans. *Diabetes* 41: 424-429 (1992)
- Ghofrani A, Höller D, Schuhmann K, v Saldern S, Messmer BJ: The influence of systemic growth hormone administration on the healing time of skin graft donor sites in a pig model. *Plast Reconstr Surg* 104: 470-475 (1999)

- Gilpin DA, Muller MJ, Herndon DN: Enhancing wound healing in severely burned children. In: Wilmore DW, Carpentier YA eds. *Metabolic Support of the Critically Ill Patient. Series: Update in Intensive Care and Emergency Medicine*. New York: Springer-Verlag (1993)
- Gilpin DA, Barrow RE, Rutan RL, Broemeling L, Herndon DN: Recombinant human growth hormone accelerates wound healing in children with large cutaneous burns. *Ann Surg* 220: 19-24 (1994)
- Gilpin DA, Herndon DN: The acute metabolic response to skin injury following burns and the potential use of growth hormone. New York: Springer-Verlag/Year Book (1996)
- Goodmann H, Schwartz J: Growth hormone and lipid metabolism; in Knobil E, Sayer WH (eds.): *Handbook of Physiology*. Washington, American Physiological Society, vol 4, part 2: 211-232 (1974)
- Goldstein SA, Elwyn DH: The effects of injury and sepsis on fuel utilization. *Annu Rev Nutr* 9: 445-473 (1989)
- Gore DC, Honeycutt D, Jahoor F, Wolfe RR, Herndon DN: Effect of exogenous growth hormone on whole-body and isolated-limb protein kinetics in burned patients. *Arch Surg* 126: 38-43 (1991)
- Gray GM, White RJ: Glycosphingolipids and ceramides in human and pig epidermis. *J Invest Dermatol* 70: 336-341 (1978)
- Groves AR, Lawrence JC: Alginate dressing as a donor site haemostat. *Ann R Coll Surg Engl* 68: 27-28 (1986)
- Harms BA, Bodai BI, Smith M, Gunther R, Flynn J, Demling RH: Prostaglandin release and altered microvascular integrity after burn injury. *J Surg Res* 31: 274-280 (1981)

- Hartl WH, Jauch KW: Post-aggression metabolism: attempt at a status determination. *Infusionsther Transfusionsmed* 21: 30-40 (1994)
- Heimbach D, Luterman A, Burke J, Cram A, Herndon D, Hunt J, Jordan M, McManus W, Solem L, Warden G, et al: Artificial dermis for major burns. A multicenter randomized clinical trial. *Ann Surg* 208: 313-320 (1988)
- Heinecke A: *Medizinische Biometrie: Biomathematik und Statistik*. Heinecke A, Hutsch E, Reppes R (eds.). Berlin, Heidelberg: Springer (1992).
- Heinrich W, Lange PM, Stritz T, Iancu C, Heidemann E: Isolation and characterization of the large cyanogen bromide peptides from the $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ -chains of pig skin collagen. *FEBS Lett* 16: 63-67 (1971)
- Herndon DN, Curreri PW, Abston S, Rutan TC, Barrow RE: Treatment of burns. *Curr Probl Surg* 24: 341-397 (1987)
- Herndon DN, Barrow RE, Kunkel KR, Broemeling L, Rutan RL: Effects of recombinant human growth hormone on donor-site healing in severely burned children. *Ann Surg* 212: 424-431 (1990)
- Herndon DN, Hawkins HK, Nguyen TT, Pierre E, Cox R, Barrow RE: Characterization of growth hormone enhanced donor site healing in patients with large cutaneous burns. *Ann Surg* 221: 649-656 (1995)
- Herndon DN, Pierre EJ, Stokes KN, Barrow RE: Growth hormone treatment for burned children. *Horm Res* 45 (Suppl1): 29-31 (1996)
- Hettich R, Hafemann B: Hauttransplantation - Adaptation eines in China entwickelten Verfahrens. *Der informierte Arzt-GM* 3: 217-222 (1992)
- Hildreth MA, Herndon DN, Desai MH, Duke MA: Caloric needs of adolescent patients with burns. *Burn Care Rehabil* 10: 523-526 (1989)

- Horch RE, Stark GB: Comparison of the effect of collagen dressing and a polyurethane dressing on the healing of split thickness skin graft (STSG) donor sites. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 32: 407-413 (1998)
- Huang KF, Chung DH, Herndon DN: Insulinlike growth factor 1 (IGF-1) reduces gut atrophy and bacterial translocation after severe burn injury. *Arch Surg* 128: 47-53 (1993)
- Hutchinson JJ, McGuckin M: Occlusive dressings: a microbiologic and clinical review. *Am J Infect Control* 18: 257-268 (1990)
- Hutchinson JJ, Lawrence JC: Wound infection under occlusive dressings. *J Hosp Infect* 17: 83-94 (1991)
- Iregbulem LM: Use of a semi-permeable membrane dressing in donor sites in Nigerians. *Ann Acad Med Singapore* 12: 425-429 (1983)
- Isaksson OG, Lindahl A, Nilsson A, Isgaard J: Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. *Endocr Rev* 8: 426-438 (1987)
- James JH, Watson AC: The use of Opsite, a vapour permeable dressing, on skin graft donor sites. *Br J Plast Surg* 28: 107-110 (1975)
- Jarrar D, Wolf SE, Jeschke MG, Ramirez RJ, DebRoy M, Ogle CK, Papaconstantinou J, Herndon DN: Growth hormone attenuates the acute-phase response to thermal injury. *Arch Surg* 132: 1171-1175 (1997)
- Jeevanandam M, Ramias L, Shamos RF, Schiller WR: Decreased growth hormone levels in the catabolic phase of severe injury. *Surgery* 111: 495-502 (1992)
- Jeffries MK, Vance ML: Growth hormone and cortisol secretion in patients with burn injury. *J Burn Care Rehabil* 13: 391-395 (1992)

- Jenkins RC, Ross RJ: Acquired growth hormone resistance in catabolic states. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 10: 411-419 (1996)
- Jeschke MG, Herndon DN, Wolf SE, DebRoy MA, Rai J, Lichtenbelt BJ, Barrow RE: Recombinant human growth hormone alters acute phase reactant proteins, cytokine expression, and liver morphology in burned rats. *J Surg Res* 83: 122-129 (1999)
- Jeschke MG, Barrow RE, Herndon DN: Recombinant human growth hormone treatment in pediatric burn patients and its role during the hepatic acute phase response. *Crit Care Med* 28: 1578-1584 (2000)
- Jiang ZM, He GZ, Zhang SY, Wang XR, Yang NF, Zhu Y, Wilmore DW: Low-dose growth hormone and hypocaloric nutrition attenuate the protein-catabolic response after major operation. *Ann Surg* 210: 513-524 (1989)
- Jorgensen JO, Moller J, Moller N, Lauritzen T, Christiansen JS: Pharmacological aspects of growth hormone replacement therapy: route, frequency and timing of administration. *Horm Res* 33 (Suppl4): 77-82 (1990)
- Jorgensen PH, Andreassen TT: A dose-response study of the effects of biosynthetic human growth hormone on formation and strength of granulation tissue. *Endocrinology* 121: 1637-1641 (1987)
- Jorgensen PH, Andreassen TT: The influence of biosynthetic human growth hormone on biomechanical properties and collagen formation in granulation tissue. *Horm Metab Res* 20: 490-493 (1988)
- Jorgensen PH, Bang C, Andreassen TT, Flyvbjerg A, Orskov H: Dose-response study of the effect of growth hormone on mechanical properties of skin graft wounds. *J Surg Res* 58: 295-301 (1995)

- Jurnovoy JB, Forbes PD, Johnson WC: Tritiated thymidine uptake in pig skin. Comparison of in vivo and in vitro techniques. *Dermatologica* 150: 92-95 (1975)
- King IA, Tabiowo A: Isolation and characterization of plasma-membrane glycoproteins from pig epidermis. *Biochem J* 201: 287-295 (1982)
- Kisslaogglu E, Yuksel F, Uccar C, Karacaogglu E: Rationale for early tangential excision and grafting in burn patients. *Acta Chir Plast* 39: 9-12 (1997)
- Knox J, Demling R, Wilmore D, Sarraf P, Santos A: Increased survival after major thermal injury: the effect of growth hormone therapy in adults. *J Trauma* 39: 526-530 (1995)
- Koller J, Marinov Z, Kvalteni K: The use of growth hormone in the treatment of extensive burns: a case report. *Acta Chir Plast* 40: 76-78 (1998)
- Kreis RW, Mackie DP, Hermans RR, Vloemans AR: Expansion techniques for skin grafts: comparison between mesh and Meek island (sandwich-) grafts. *Burns* 20 (Suppl 1): S39-42 (1994)
- Lal S, Barrow RE, Wolf SE, Chinkes DL, Hart DW, Heggens JP, Herndon DN: Biobrane improves wound healing in burned children without increased risk of infection. *Shock* 14: 314-318 (2000)
- Lawrence JE, Blake GB: A comparison of calcium alginate and scarlet red dressings in the healing of split thickness skin graft donor sites. *Br J Plast Surg* 44: 247-249 (1991)
- Leicht P, Siim E, Sorensen B: Treatment of donor sites - Duoderm or Omiderm? *Burns Incl Therm Inj* 15: 7-10 (1989)

- Louveau I, Bonneau M, Salter DN: Age-related changes in plasma porcine growth hormone (GH) profiles and insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations in Large White and Meishan pigs. *Reprod Nutr Dev* 31: 205-216 (1991)
- Lowry SF: Modulating the metabolic response to injury and infection. *Proc Nutr Soc* 51: 267-277 (1992)
- Malmblöf K, Cortova Z, Saxerholt H, Arrhenius-Nyberg V, Karlsson E, Larsson C, Klingström G, Skottner A: IGF-I and GH: metabolic effects during experimental induced catabolism. "The insulin-like growth factors and their regulatory proteins", R.C. Baxter, P.D. Gluckman and R.G. Rosenfeld, ed. (1994)
- Malmblöf K, Cortova Z, Saxerholt H, Karlsson E, Arrhenius-Nyberg V, Skottner A: Effects of insulin-like growth factor-I and growth hormone on the net flux of amino acids across the hind limbs in the surgically traumatized pig. *Clin Sci (Colch)* 88: 285-292 (1995)
- Manson JM, Wilmore DW: Positive nitrogen balance with human growth hormone and hypocaloric intravenous feeding. *Surgery* 100: 188-197 (1986)
- Manson JM, Smith RJ, Wilmore DW: Growth hormone stimulates protein synthesis during hypocaloric parenteral nutrition. Role of hormonal-substrate environment. *Ann Surg* 208: 136-142 (1988)
- Mathews LS, Norstedt G, Palmiter RD: Regulation of insulin-like growth factor I gene expression by growth hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 9343-9347 (1986)

- Mathews LS, Hammer RE, Brinster RL, Palmiter RD: Expression of insulin-like growth factor I in transgenic mice with elevated levels of growth hormone is correlated with growth. *Endocrinology* 123: 433-437 (1988)
- Melarvie S, Jeevanandam M, Holaday NJ, Petersen SR: Pulsatile nature of growth hormone levels in critically ill trauma victims. *Surgery* 117: 402-408 (1995)
- Meyer W: Die Haut des Schweines. *Archiv für tierärztliche Fortbildung* 9 (Schlütersche, Hannover 1986)
- Meyer W, Neurand K: Enzyme histochemical studies of the epidermis in the domestic pig. *Z Mikrosk Anat Forsch* 89: 961-973 (1975)
- Meyer W, Neurand K: The distribution of enzymes in the skin of the domestic pig. *Lab Anim* 10: 237-247 (1976)
- Meyer W, Schwarz R, Neurand K: The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig. *Curr Probl Dermatol* 7: 39-52 (1978)
- Meyer W, Neurand K, Radke B: Elastic fibre arrangement in the skin of the pig. *Arch Dermatol Res* 270: 391-401 (1981)
- Meyer W, Neurand K, Radke B: Collagen fibre arrangement in the skin of the pig. *J Anat* 134: 139-148 (1982)
- Meyer W, Poehling HM, Neurand K: Intraepidermal distribution of free amino acids in porcine skin. *J Dermatol Sci* 2: 383-392 (1991)
- Möller N, Jorgensen JO, Alberti KG, Flyvbjerg A, Schmitz O: Short-term effects of growth hormone on fuel oxidation and regional substrate metabolism in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1179-1186 (1990)

- Morris WT, Lamb AM: Painless split skin donor sites: a controlled double-blind trial of Opsite, scarlet red and bupivacaine. *Aust N Z J Surg* 60: 617-620 (1990)
- Neurand K, Meyer W: Enzyme histochemical studies on the sebaceous glands of the domestic swine. *Anat Anz* 140: 286-293 (1976)
- Nguyen TT, Cox CS, Traber DL, Gasser H, Redl H, Schlag G, Herndon DN: Free radical activity and loss of plasma antioxidants, vitamin E, and sulfhydryl groups in patients with burns: the 1993 Moyer Award. *J Burn Care Rehabil* 14: 602-609 (1993)
- Nguyen TT, Gilpin DA, Meyer NA, Herndon DN: Current treatment of severely burned patients. *Ann Surg* 223: 14-25 (1996)
- Niedner R: Cytotoxicity and sensitization of povidone-iodine and other frequently used anti-infective agents. *Dermatology* 195 (Suppl 2): 89-92 (1997)
- Odland G: The fine structure and interrelationships of cells in the human epidermis. *J Biophys Biochem Cytol*: 429-435 (1958)
- O'Donoghue JM, O'Sullivan ST, Beausang ES, Panchal JI, O'Shaughnessy M, O'Connor TP: Calcium alginate dressings promote healing of split skin graft donor sites. *Acta Chir Plast* 39: 53-55 (1997)
- Oehlert W, Karasek J, Bertelmann J: Untersuchungen zur normalen und gesteigerten Zellneubildung im mehrschichtigen Plattenepithel der Schweineepidermis. *Beitr Pathol Anat* 134: 365-417 (1966)
- Ogle GD, Rosenberg AR, Kainer G : Renal effects of growth hormone. II. Electrolyte homeostasis and body composition.. *Pediatr Nephrol* 6: 483-489 (1992)

- Ono I, Gunji H, Zhang JZ, Maruyama K, Kaneko F: Studies on cytokines related to wound healing in donor site wound fluid. *J Dermatol Sci* 10: 241-245 (1995)
- Owens PC, Johnson RJ, Campbell RG, Ballard FJ: Growth hormone increases insulin-like growth factor-I (IGF-I) and decreases IGF-II in plasma of growing pigs. *J Endocrinol* 124: 269-275 (1990)
- Peterson CA, Carey HV, Hinton PL, Lo HC, Ney DM: GH elevates serum IGF-I levels but does not alter mucosal atrophy in parenterally fed rats. *Am J Physiol* 272: G1100-1108 (1997)
- Piacquadio D, Nelson DB: Alginates. A "new" dressing alternative. *J Dermatol Surg Oncol* 18: 992-995 (1992)
- Pirone LA, Bolton LL, Monte KA, Shannon RJ: Effect of calcium alginate dressings on partial-thickness wounds in swine. *J Invest Surg* 5: 149-153 (1992)
- Porter JM: A comparative investigation of re-epithelialisation of split skin graft donor areas after application of hydrocolloid and alginate dressings. *Br J Plast Surg* 44: 333-337 (1991)
- Raff T, Hartmann B, Wagner H, Germann G: Experience with the modified Meek technique. *Acta Chir Plast* 38: 142-146 (1996)
- Robson MC, DelBeccaro EJ, Hegggers JP, Loy GL: Increasing dermal perfusion after burning by decreasing thromboxane production. *J Trauma* 20: 722-725 (1980)
- Ross R, Miell J, Freeman E, Jones J, Matthews D, Preece M, Buchanan C: Critically ill patients have high basal growth hormone levels with attenuated oscillatory activity associated with low levels of insulin-like growth factor-I. *Clin Endocrinol* 35: 47-54 (1991)

- Roth E, Valentini L, Semsroth M, Holzenbein T, Winkler S, Blum WF, Ranke MB, Schemper M, Hammerle A, Karner J: Resistance of nitrogen metabolism to growth hormone treatment in the early phase after injury of patients with multiple injuries. *J Trauma* 38: 136-141 (1995)
- Rutan RL, Broemeling DL, Barrow RE, Herndon DN: Cost effectiveness of rh growth hormone therapy in pediatric patients. *Proc Am Burn Assoc* 26: 89 (1994)
- Rutan TC, Herndon DN, Van Osten T, Abston S: Metabolic rate alterations in early excision and grafting versus conservative treatment. *J Trauma* 26: 140-142 (1986)
- Ryan TJ: Wound dressing. *Dermatol Clin* 11: 207-213 (1993)
- Sawhney CP, Subbaraju GV, Chakravarti RN: Healing of donor sites of split skin grafts. An experimental study in pigs. *Br J Plast Surg* 22: 359-364 (1969)
- Scott-Conner CE, Love R, Wheeler W: Does rapid wound closure improve survival in older patients with burns? *Am Surg* 56: 57-60 (1990)
- Shively RE, Northington JW, Williamson GB, Gum RA: A simple skin graft dressing allowing early graft inspection. *Ann Plast Surg* 7: 334-335 (1981)
- Sillence MN, Etherton TD: Determination of the temporal relationship between porcine growth hormone, serum IGF-1 and cortisol concentrations in pigs. *J Anim Sci* 64: 1019-1023 (1987)
- Smith D, Peterson LJ: Treatment of skin graft donor sites with a semipermeable polyurethane dressing. *J Oral Maxillofac Surg* 41: 61-65 (1983)
- Smith DJ Jr, Thomson PD, Bolton LL, Hutchinson JJ: Microbiology and healing of the occluded skin-graft donor site. *Plast Reconstr Surg* 91: 1094-1097 (1993)

- Smith DJ, Thomson PD, Garner WL, Rodriguez JL: Donor site repair. *Am J Surg* 167: 49S-51S (1994)
- Strock LL, Singh H, Abdullah A, Miller JA, Herndon DN: The effect of insulin-like growth factor I on postburn hypermetabolism. *Surgery* 108: 161-164 (1990)
- Sun Y, Zhou Y, Jiang Z: The effect of growth hormone on wound healing rate in adult burns. *Chung Hua Cheng Hsing Shao Shang Wai Ko Tsa Chih* 14: 277-280 (1998)
- Swartzendruber DC, Wertz PW, Kitko DJ, Madison KC, Downing DT: Molecular models of the intercellular lipid lamellae in mammalian stratum corneum. *J Invest Dermatol* 92: 251-257 (1989)
- Takagi K, Tashiro T, Yamamori H, Mashima Y, Nakajima N, Sunaga K: Recombinant human growth hormone and protein metabolism of burned rats and esophagectomized patients. *Nutrition* 11: 22-26 (1995)
- Tan ST, Roberts RH, Blake GB: Comparing DuoDERM E with scarlet red in the treatment of split skin graft donor sites. *Br J Plast Surg* 46: 79-81 (1993a)
- Tan ST, Roberts RH, Sinclair SW: A comparison of Zenoderm with DuoDERM E in the treatment of split skin graft donor sites. *Br J Plast Surg* 46: 82-84 (1993b)
- Tompkins RG, Burke JF, Schoenfeld DA, Bondoc CC, Quinby WC Jr, Behringer GC, Ackroyd FW: Prompt eschar excision: a treatment system contributing to reduces burn mortality. A statistical evaluation of burn care at the Massachusetts General Hospital (1974-1984). *Ann Surg* 204: 272-281 (1986)
- Tsukise A, Meyer W: Histochemistry of complex carbohydrates in the hairy skin of the domestic pig. *Histochem J* 15: 845-860 (1983)

- Vanstraelen P: Comparison of calcium sodium alginate (KALTOSTAT) and porcine xenograft (E-Z DERM) in the healing of split-thickness skin graft donor sites. *Burns* 18: 145-148 (1992)
- Vara-Thorbeck R, Guerrero JA, Rosell J, Ruiz-Requena E, Capitan JM: Exogenous growth hormone: effects on the catabolic response to surgically produced acute stress and on postoperative immune function. *World J Surg* 17: 530-537 (1993)
- Wallace BH, Caldwell FT, Cone JB: The interrelationships between wound management, thermal stress, energy metabolism, and temperature profiles of patients with burns. *J Burn Care Rehabil* 15: 499-508 (1994)
- Ward HC, Halliday D, Sim AJ: Protein and energy metabolism with biosynthetic human growth hormone after gastrointestinal surgery. *Ann Surg* 206: 56-61 (1987)
- Wilmore DW: Pathophysiology of the hypermetabolic response to burn injury. *J Trauma* 30 (12 Suppl): S4-6 (1990)
- Wilmore DW: Catabolic illness. Strategies for enhancing recovery. *N Engl J Med* 325: 695-702 (1991)
- Wilmore DW, Moylan JA Jr, Bristow BF, Mason AD Jr, Pruitt BA Jr: Anabolic effects of human growth hormone and high caloric feedings following thermal injury. *Surg Gynecol Obstet* 138: 875-884 (1974a)
- Wilmore DW, Long JM, Mason AD Jr, Skreen RW, Pruitt BA Jr: Catecholamines: mediator of the hypermetabolic response to thermal injury. *Ann Surg* 180: 653-669 (1974b)
- Wilmore DW, Aulick LH, Mason AD, Pruitt BA Jr: Influence of the burn wound on local and systemic responses to injury. *Ann Surg* 186: 444-458 (1977)

- Wilson DG: Applications of skin grafting in large animals. *Probl Vet Med* 2: 442-462 (1990)
- Winter GD: Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 193: 293-294 (1962)
- Wolf SE, Barrow RE, Herndon DN: Growth hormone and IGF-I therapy in the hypercatabolic patient. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 10: 447-463 (1996)
- Wollina U, Berger U, Mahle G: Immunohistochemistry of porcine skin. *Acta Histochem* 90: 87-91 (1991)
- Wright PD, Johnston ID: The effect of surgical operation on growth hormone levels in plasma. *Surgery* 77: 479-486 (1975)
- Yadav JK, Singhvi AM, Kumar N, Garg S: Topical phenytoin in the treatment of split-thickness skin autograft donor sites: a comparative study with polyurethane membrane drape and conventional dressing. *Burns* 19: 306-310 (1993)
- Yang ZJ: Treatment of extensive third degree burns. A Chinese concept. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 85: 69-74 (1981)
- Yowler CJ, Fratianne RB: Current status of burn resuscitation. *Clin Plast Surg* 27: 1-10 (2000)
- Ziegler TR, Young LS, Manson JM, Wilmore DW: Metabolic effects of recombinant human growth hormone in patients receiving parenteral nutrition. *Ann Surg* 208: 6-16 (1988)

7 Danksagung

Ich danke dem ehemaligen kommissarischen Direktor der Plastischen, Verbrennungs- und Wiederherstellungschirurgie, Herrn Prof. Dr. med. B. J. Messmer, für die Überlassung des Dissertationsthemas.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. med. Afschin Ghofrani, der durch seine Bereitschaft mir jederzeit ein konstruktiver Ansprechpartner zu sein, wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Ich danke den Mitarbeitern im Labor der plastischen Chirurgie, Frau Tanja Oepen, Frau Dagmar Brenner und Frau Dr. rer. nat. Karla Ghofrani für ihre Hilfestellung und unermüdliche Geduld im Erlernen und Durchführen neuer Techniken.

Mein Dank gilt ebenfalls den Mitarbeitern der Versuchstierkunde, besonders Herrn Thadäus Stopinski, sowie Herrn Christoph Nickel, ohne deren Hilfe die Durchführung der Tierexperimente nicht möglich gewesen wäre und die mich mehr als einmal vor einem wilden Eber in Schutz genommen haben.

Herrn Dr. rer. nat. Bernd Hafemann, Herrn Dr. rer. med. Frank Jugert und meiner Schwester Birgit danke ich für das Lektorat.

Den Mitarbeitern der Abteilung "Medizinische Statistik und Biometrie" danke ich für ihre fachliche Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium und diese Doktorarbeit ermöglicht haben.

8 Lebenslauf

Name: Daniela Höller

Geburtsdatum: 19.02.1973

Geburtsort: Bergisch Gladbach

Familienstand: ledig

Schulbildung

1979-1983 Grundgrundschulschule, Neschen

1983-1992 Nicolaus Cusanus Gymnasium, Bergisch Gladbach

Juni 1992 Abitur

Hochschulbildung

1992-1995 Vorklinischer Abschnitt an der Universität Köln

März 1995 Ärztliche Vorprüfung

1995-1999 Klinischer Abschnitt an der RWTH Aachen

März 1996 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

September 1998 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Dezember 1999 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Berufstätigkeit

01/2000 - 06/2001 Ärztin im Praktikum in der Hautklinik, Universitätsklinik der RWTH Aachen, Prof. Dr. med. H.F. Merk

seit Juli 2001 Research Fellow, Laboratory for Gene Transfer and Tissue Repair, Division of Plastic Surgery, Brigham & women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.