

Diplomarbeit

**Zellbasierte Therapien in der Verbrennungsmedizin
mit speziellem Fokus auf den möglichen Einsatz
von mesenchymalen Stammzellen**

eingereicht von

Elena Saringer

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Drⁱⁿ. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Chirurgie

Klinische Abteilung für Plastische, Ästhetische und

Rekonstruktive Chirurgie

unter der Anleitung von

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

Graz, am 29.04.2024

Eidesstattliche Erklärung

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

Graz, am 29.04.2024

Elena Saringer eh.

Danksagungen

Ich möchte mich bei meinem Betreuer Herrn Univ. Prof. Dr.med. Lars-Peter Kamolz, MSc bedanken. Er hat mir die Bearbeitung dieses Themas erst ermöglicht, stand mir stets für Fragen zur Verfügung und gab mir hilfreiche Ratschläge zur Verbesserung meiner Diplomarbeit.

Mein Dank gilt meinem Vater Dr. Robert Jost, dem in meinem gesamten Studium nie eine Frage zu viel war und der mir als besonderes Vorbild für meine ärztlichen Tätigkeiten dient.

Auch Hannelore Kramser, die mit ihrem sozialen Verständnis und ihrer Großzügigkeit immer wieder große Bewunderung in meinen Augen erweckt.

Jakob, der mir in jeder Hinsicht eine Stütze war und auf den ich mich immer verlassen kann.

Zusammenfassung

Hintergrund: Verbrennungen sind häufig und gehen oft mit einer hohen Morbidität und Mortalität einher. Trotz des Fortschritts in der Verbrennungsbehandlung in den letzten Jahren, wurde noch keine Therapie gefunden, die problemlos bei allen Verbrennungen eingesetzt werden kann. Daher ist es unabdingbar neue Behandlungsansätze in der Therapie von Verbrennungsoptionen zu finden. Mesenchymale Stammzellen (mesenchymal stem cells, MSCs) haben das Potential die Wundheilung zu verbessern und auch den Folgen der Verbrennungen wie etwa einer übermäßigen Narbenbildung entgegenzuwirken. Diese Arbeit setzt sich mit mesenchymalen Stammzellen und deren Anwendung bei Verbrennungswunden auseinander.

Methoden: Zur Literaturrecherche wurde die Datenbank Pubmed verwendet und nach präklinischen Tierversuchsstudien, die die Verwendung mesenchymaler Stammzellen bei tiefen zweit- und drittgradigen Verbrennungswunden beschreiben, gesucht. Durch die Wahl gezielter Ein- und Ausschlusskriterien wurden 60 Publikationen in die Arbeit aufgenommen und hinsichtlich des Ursprungs der angewandten mesenchymalen Stammzellen in die folgenden Gruppen unterteilt: MSCs aus dem Fettgewebe, aus dem Knochenmark, aus der Nabelschnur und aus der Plazenta. In den Gruppen wurden zusätzlich zu den therapeutischen Potenzialen der MSCs auch die Effektivität deren Vorkonditionierung und deren Kombination mit herkömmlichen Therapien untersucht.

Ergebnisse: Die mesenchymalen Stammzellen aus dem Fettgewebe, dem Knochenmark, der Nabelschnur und der Plazenta haben positiven Einfluss auf die Wundheilungsgeschwindigkeit, die Durchblutung, die Entzündungsreaktion, die Kollagen- und Granulationsgewebsbildung und die Re-Epithelisierung. Darüber hinaus können sie auch zu neuen Hautanhangsgebilden führen. Insbesondere die Vorkonditionierung der MSCs und die Kombination mit herkömmlichen Therapien und diversen Gerüsten führten zu den besten Ergebnissen.

Schlussfolgerung: Trotz der großen Heterogenität der Studien, erwiesen sich die Anwendungen von MSCs in der Wundheilung von Tieren insgesamt als wirksam. Vor allem MSCs aus dem Fettgewebe gemeinsam mit Gerüsten führten zu vielversprechenden Ergebnissen. Für den routinemäßigen Einsatz am Menschen werden noch mehr (prä)klinische Studien benötigt. Insbesondere einheitliche Studien zur besseren Vergleichbarkeit sind notwendig.

Abstract

Background: Burns are common injuries and are often associated with a high morbidity and mortality. Despite advancements in the treatment of burns in the last years no therapy has been found to treat all burns effectively. It is thus essential to develop new approaches in the treatment of burn victims. Mesenchymal stem cells (MSCs) have the potential to improve wound healing and to avoid burn complications such as hypertrophic scars. This paper deals with the application of mesenchymal stem cells in the treatment of burn wounds.

Methods: The database Pubmed was used as the source for this literature review in searching for preclinical animal trial studies dealing with the use of MSCs in the treatment of deep second and third degree burn wounds. Using specific inclusion and exclusion criteria, 60 publications were included in this work. These publications were divided into groups based on the origins of the deployed mesenchymal stem cells: MSCs derived from adipose tissue, from bone marrow, from the umbilical cord and from the placenta. In each of these groups the therapeutic potential of MSCs, the effectivity of their preconditioning and their combination with conventional therapies was studied.

Results: The mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, from bone marrow, from the umbilical cord and from the placenta have a beneficial impact on the speed of wound healing, tissue blood flow, inflammatory reaction, collagen and granulation tissue formation and re-epithelialization. In addition, MSCs can also lead to the formation of new skin appendages such as hair and sweat glands. Notably, the best results were achieved through the preconditioning of MSCs and their combination with conventional therapies and diverse scaffolds.

Conclusion: Despite the significant heterogeneity of the studies one can conclude, that the application of MSCs in burn wound healing of animals proved to be generally beneficial. Above all, MSCs derived from adipose tissue applied together with scaffolds led to very promising results. Before MSCs can be routinely applied to

humans more (pre)clinical studies are necessary. In particular, more standardized studies for comparability are required.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	i
Danksagungen	ii
Zusammenfassung	iii
Abstract	v
Abkürzungsverzeichnis.....	x
Abbildungsverzeichnis.....	xiii
Tabellenverzeichnis.....	xiv
1 Einleitung.....	1
1.1 Die Haut	1
1.2 Anatomie der Haut	1
1.2.1 Epidermis.....	2
1.2.2 Dermis.....	3
1.2.3 Subkutis	5
1.2.4 Hautanhangsgebilde	6
1.3 Funktionen der Haut.....	7
1.4 Wundheilung	8
1.5 Verbrennungen	11
1.5.1 Verbrennungsursachen.....	12
1.5.2 Verbrennungsgrade	15
1.6 Pathophysiologie der Verbrennung	18
1.7 Therapie der Verbrennungswunde.....	19
1.7.1 Lokale Behandlung	19
1.7.2 Wundauflagen.....	20
1.7.3 Hautersatzmaterialien	23
1.8 Folgen der Verbrennung	26
1.9 Stammzellen	28

1.10	Zielsetzungen dieser Diplomarbeit.....	31
2	Material und Methoden	32
2.1	Einschlusskriterien	33
2.2	Ausschlusskriterien	34
3	Ergebnisse.....	35
3.1	Mesenchymale Stammzellen aus dem Fettgewebe (AD-MSCs).....	39
3.1.1	AD-MSCs in Kombination und im Vergleich mit herkömmlichen Therapien	41
3.1.2	Vorkonditionierte AD-MSCs	42
3.1.3	AD-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste.....	43
3.1.4	AD-MSCs in anderen Tieren.....	46
3.2	Mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark (BM-MSCs).....	47
3.2.1	BM-MSCs in Kombination und im Vergleich mit herkömmlichen Therapien	48
3.2.2	Vorkonditionierte BM-MSCs.....	50
3.2.3	BM-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste	52
3.3	Mesenchymale Stammzellen aus der Nabelschnur (UC-MSCs).....	53
3.3.1	Vorkonditionierte UC-MSCs.....	55
3.3.2	UC-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste	57
3.3.3	UC-MSCs in anderen Tieren.....	58
3.4	Mesenchymale Stammzellen aus der Plazenta (PD-MSCs)	59
3.5	MSCs in klinischen Studien.....	60
4	Diskussion	63
4.1	AD-MSCs	63
4.2	BM-MSCs.....	65
4.3	UC-MSCs.....	67
4.4	Autolog vs. Allogen	68
4.5	Die richtige Dosis	69

4.6	Vorkonditionierung und Kombination	70
4.7	Der parakrine Effekt	73
4.8	Die klinischen Studien.....	74
4.9	Limitationen.....	77
4.10	Schlussfolgerung.....	77
5	Literaturverzeichnis.....	79

Abkürzungsverzeichnis

AC-Gel	arginine and polysaccharide chitosan hydrogel
ADAMs	a disintegrin and metalloproteinases
A-MSCs	amniotic mesenchymal stem cells
AD-MSCs	adipose-derived mesenchymal stem cells
BM-MSCs	bone marrow-derived mesenchymal stem cells
CAS9	CRIPSR-associated protein 9
CEA	carcinoembryonic antigen
CEAs	cultured epidermal autografts
CINC-1	cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1
CK	cytokeratin
CRISPR	clustered regularly interspaced short palindromic repeats
CRP	c-reactive protein
CM	conditioned medium
COX	cyclooxygenase
CSM	chitosan microspheres
CTGF	connective tissue growth factor
c/cm ²	cells per square centimeter
DHAM	decellularized human amniotic membrane
DIM	diindolylmethane
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	deoxyribonucleic acid
ECM	extracellular matrix
EDA-A	ectodysplasin-A
EGF	epidermal growth factor
EPO	erythropoietin
ESCs	embryonic stem cells
FFP	fresh frozen plasma
FGF	fibroblast growth factor
FPEG	polyethylene glycol with fibrin
GAGs	glycosaminoglycans
GFP	green fluorescent protein
Gy	Gray
HGF	hepatocyte growth factor
HIF-1 α	hypoxia-inducible factor 1-alpha
HLA-DR	human leukocyte antigen-DR
HSP-90 α	heat shock protein 90 alpha
IFN- γ	interferon gamma
IGF	insulin-like growth factor

ILs	interleukins
IPN	interpenetrating polymer network
KGF	keratinocyte growth factor
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MEM- α	minimum essential medium eagle alpha modification
MHC	major histocompatibility complex
miRNA	micro RNA
MMPs	matrix metalloproteinases
MRI	magnetic resonance imaging
mRNA	messenger ribonucleic acid
MSCs	mesenchymal stem cells
NG2	neuron-glia antigen 2
PAUBM	porcine acellular urinary bladder matrix
PBS	phosphate-buffered saline
PAF	platelet activating factor
PCNA	proliferating cell nuclear antigen
PDGF	platelet-derived growth factor
PD-MSCs	placenta-derived mesenchymal stem cells
PGE2	prostaglandin E2
PMN	polymorphonuclear-leukocytes
POSAS	Patient and Observer Scar Assessment Scale
SNAP	S-nitroso- <i>N</i> -acetylpenicillamine
PRP	platelet-rich plasma
RUNX2	runt-related transcription factor 2
SCID	severe combined immunodeficiency
SDF-1	stromal cell-derived factor 1
SGCs	sweat gland like cells
SOD1	superoxide dismutase 1
SOX	SRY-related HMG box
SPIONs	superparamagnetic iron oxide nanoparticles
SSD	silver sulfadiazine
SVF	stromal vascular fraction
TBSA	total body surface area
TGF- β	transforming growth factor beta
TNF- α	tumor necrosis factor alpha
TSG-6	TNF-inducible gene 6 protein
UC-MSCs	umbilical cord-derived mesenchymal stem cells
UCB-MSCs	umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells
UM	unconditioned medium
UV	ultra violet
VEGF	vascular endothelial growth factor

VSS	Vancouver Scar Scale
vWF	von Willebrand factor
WBC	white blood cells
μm	micrometer
α-SMA	alpha-smooth muscle actin
2D	two-dimensional
3D	three-dimensional

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Histologischer Aufbau der Epidermis (7)	3
Abbildung 2: Der Aufbau der Haut mit Epidermis, Dermis und Subkutis (9).....	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Wundheilung (13).....	11
Abbildung 4: Verbrennung zweiten Grades (19).....	14
Abbildung 5: Graphische Veranschaulichung der Verbrennungsgrade 1 - 3 (21).	17
Abbildung 6: Spalthauttransplantat (Meshgraft) an der unteren Extremität (37)...	24
Abbildung 7: Keloid über dem Handgelenk (40)	27
Abbildung 8: Stammzellendifferenzierung in verschiedene Gewebszellen (48)	29
Abbildung 9: Anzahl der Studien eingeteilt nach Ursprung der Stammzellen	35
Abbildung 10: Flussdiagramm	38
Abbildung 11: MSCs und Makrophagen in einem Hydrogel (94).....	45
Abbildung 12: Kultivierte MSCs (134).....	54
Abbildung 13: Embryo mit umgebendem Amnion (153)	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vancouver Scar Scale 62

1 Einleitung

1.1 Die Haut

Die Haut ist mit einer Fläche von 1,5 bis 2m² und einem Gewicht von 3,5 bis 10kg das größte Organ des Menschen (1). Wir geben mit unserer Oberfläche nicht nur einen ersten Eindruck ab, sondern wir definieren uns auch damit. Das größte Organ ist aber nicht nur rein optisch von Bedeutung, vielmehr erfüllt es lebenswichtige Funktionen und bildet die Barriere unseres Körpers zur Außenwelt. Eine mäßige Verletzung der Haut heilt bei einem gesunden Menschen im Normalfall von allein und ohne medizinische Hilfe. Zu Problemen kommt es vor allem dann, wenn der Schaden größer ist, beziehungsweise der*die Patient*in zusätzlich an anderen Erkrankungen wie zum Beispiel Diabetes Mellitus leidet. Es ist von großer Bedeutung, die Intaktheit des Hautmantels bei Schäden möglichst schnell wieder herzustellen, damit dieser seinen physiologischen Tätigkeiten nachkommen kann.

1.2 Anatomie der Haut

Die Haut wird in drei Ebenen gegliedert: An der Oberfläche befindet sich die Epidermis (Oberhaut). Darunter folgt die bindegewebige Dermis (Lederhaut). Gemeinsam bilden sie die Kutis mit einer Dicke von 1,5 bis 4mm. Unterhalb der Lederhaut befindet sich das subkutane Fettgewebe, auch Subkutis (Unterhaut) genannt. Jedes Individuum besitzt ein eigenes, charakteristisches Oberflächenrelief. An den Handflächen und Fußsohlen ist das die sogenannte Leistenhaut. Das Relief entspricht hier den Papillarleisten. (2) Das spezielle Muster ermöglicht es jedem Menschen einen eigenen Fingerabdruck zuzuordnen (3). Den weitaus größeren Anteil macht die Felderhaut aus, welche im Gegensatz zur Leistenhaut Haare und Talgdrüsen enthält (4). Sie besitzt auch feine Furchen, aus denen die Haare wachsen und welche die Haut in polygonale Felder unterteilen. Daher auch der Name „Felderhaut“. (1) Je nach Lokalisation variiert sie in ihrer Dicke, ist im Vergleich zur Leistenhaut aber immer dünner (5). Vor allem für die Chirurgie interessant sind die sogenannten Hautspaltlinien. Diese entstehen aufgrund der Organisation der kollagenen und elastischen Fasern in der Dermis. Die Fasern sind parallel zu den Hautspaltlinien angeordnet. Bei der Durchführung

eines Hautschnitts ist es wichtig, sich längs der Hautspaltlinien zu orientieren. Somit bleiben die Wundränder näher zusammen und können bei nachfolgender Naht besser angepasst werden. (3)

1.2.1 Epidermis

Die Epidermis ist die oberste Hautschicht und besitzt ein verhorntes mehrschichtiges Plattenepithel. In einer Dicke von 30 bis 300µm befinden sich hier zwar Nerven aber keine Blutgefäße. Die Versorgung findet durch Diffusion der Gefäße aus der Dermis statt. (2) Die Oberhaut wird in vier Lagen eingeteilt. Die Hauptzellen, die Keratinozyten, entstehen durch Mitose ganz unten (basal) und wandern dann nach oben (apikal). Während dieser Wanderung differenzieren sich die lebenden Keratinozyten zu toten Hornzellen, die an der obersten Schicht abschilfern. Nur so kann die Epidermis ihrer Aufgabe als robuster Schutz gegen die Außenwelt nachkommen. Die körperinnerste Schicht wird Basalschicht (Stratum basale) genannt und beinhaltet neben vitalen Keratinozyten auch epidermale Stammzellen. (4) Die Keratinozyten bilden hier nur eine Lage und sind mit der Basallamina über Haftkomplexe (Hemidesmosomen) verbunden. Hier findet der Großteil der Zellvermehrung (Mitosen) statt. In der nachfolgenden Stachelzellschicht (Stratum spinosum) sind die Zellen in mehreren Lagen angeordnet. Sie werden nun immer flacher und stehen untereinander über spezielle Haftstrukturen (Desmosomen) in Kontakt. In der Körnerzellschicht (Stratum granulosum) beginnt der Verhornungsprozess. Nur in der Leistenhaut findet man folgend an das Stratum granulosum noch das Stratum lucidum. (5) Die oberste Schicht wird Hornschicht (Stratum corneum) genannt. Die einstigen basalen Keratinozyten mit viel Kern- und wenig Zytoplasmaanteil sind in dieser Schicht flach und haben ihre Zellkerne verloren. (1) Sie sind mehrlagig und in verzahnten Säulen angeordnet. Die Hornschicht bildet eine mechanische Barriere zur Umwelt, schützt vor Austrocknung, Keiminfiltration und vor UV-Strahlung. (6)

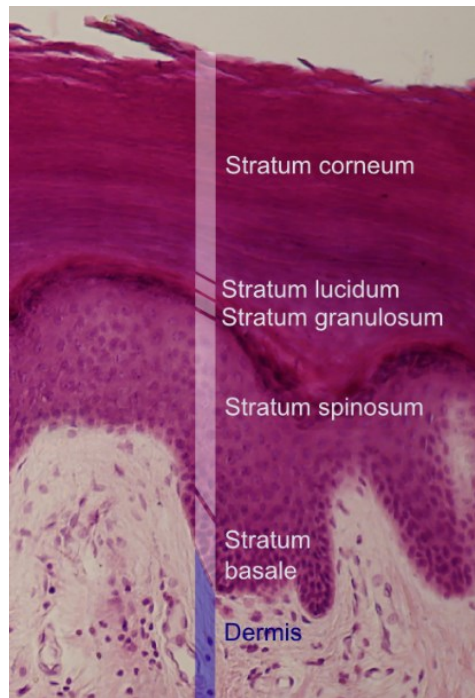


Abbildung 1: Histologischer Aufbau der Epidermis (7)

Neben den Keratinozyten, welche bis zu 90 Prozent des Epithels ausmachen, befinden sich noch Melanozyten, Merkelzellen und Langerhans-Zellen in der Oberhaut (6). Die Melanozyten sitzen in der Basalzellschicht und sezernieren Melanin, welches sie über ihre Ausläufer an die Keratinozyten abgeben. Das Melanin schützt die Keratinozyten vor den UVB-Strahlen, welche vor allem bei mitotisch aktiven Zellen zu Veränderungen in der DNA führen können. Darüber hinaus führt die vermehrte Produktion von Melanin zu einer dunkleren Hautfarbe. Die Langerhans-Zellen sind noch unreife, dendritische Zellen, welche durch Antigenpräsentation das Immunsystem unterstützen. Die Merkelzellen sind zuständig für die mechanische Tastfunktion. (4)

1.2.2 Dermis

Die Dermis und die darüber liegende Epidermis sind fest miteinander verbunden. Das Bindeglied der beiden Schichten ist die dermoepidermale Junctionszone, welche der Basalmembran entspricht (1). Teil dieser sind, neben der oberflächlichen Lamina lucida und der tiefer gelegenen Lamina densa, auch verschiedene Strukturproteine. Während Fasern aus der Dermis sich mit der Lamina densa verbinden, haftet die Lamina lucida an den Basalzellen. (6)

Die Lederhaut teilt sich in das oberflächennahe Stratum papillare und das tiefer gelegene Stratum reticulare. Im Stratum papillare (Papillarkörper) befinden sich viele Zellen, Gefäße, Nerven und Lymphbahnen eingebettet in einem lockeren Bindegewebe mit kollagenen und elastischen Fasern. Das Stratum reticulare (retikuläre Dermis) beherbergt einen kleineren Zellhaushalt, dafür mehr kollagene und elastische Fasern welche geflechtartig angeordnet sind. (3) Während das dünnere Stratum papillare vor allem aus Kollagen Typ III besteht, enthält das dickere Stratum reticulare vor allem Kollagen Typ I und bildet so eine hohe mechanische Stabilität (6). Die Kollagenfasern sind die wichtigsten Fasern und sorgen neben der hohen Stabilität auch für Dehnbarkeit. Die elastischen Fasern sind für die Elastizität und gleichzeitig für die Festigkeit der Haut verantwortlich. (1)

Die Hauptzellen der Dermis sind die Fibroblasten mit ihren langen Ausläufern (1). Auch finden sich im Bindegewebe ruhende Fibrozyten und Myofibroblasten. Letztere sind veränderte Fibroblasten mit der Fähigkeit der Kontraktion. Viele Myofibroblasten können zu langanhaltenden Verkürzungen im Gewebe führen. (4) Immunzellen kommen ebenfalls vor. Histozyten beispielsweise, werden nach der Aufnahme von toten Zellen und Abbaustoffen zu Makrophagen. Einen kleinen Teil machen Mastzellen, Melanozyten, Langerhans-Zellen und Lymphozyten aus. (1)

Um die Zellen herum befindet sich die extrazelluläre Matrix (ECM), die unter anderem von Fibroblasten gebildet wird. Diese kommt ungeformt als Grundsubstanz und geformt mit kollagenen und elastischen Fasern vor. In der Grundsubstanz befinden sich auch Glykosaminoglykane (GAGs), zu denen beispielsweise die Hyaluronsäure zählt. GAGs sind aufgrund ihrer hohen Wasserbindungskapazität für den Wassergehalt im Bindegewebe zuständig. (8) Die Matrix enthält neben Flüssigkeit auch Elektrolyte und ist verantwortlich für die Migration und Differenzierung der eingebetteten Zellen (6).

Das Blutgefäßsystem der Lederhaut teilt sich in ein oberflächliches (Plexus superficialis) und ein tiefer liegendes (Plexus profundus) System. Die beiden sind durch vertikale Gefäße miteinander verbunden. Neben ihrer Aufgabe, die Haut zu versorgen, sind sie auch an der Regulation der Körpertemperatur beteiligt. Das Nervengeflecht ist ähnlich dem Blutgefäßsystem angeordnet. Freie Nervenenden

sind für die Nozizeption zuständig. Sie ziehen bis in die Oberhaut und übermitteln Juckreiz und Schmerz. (4) Efferente Nervenfasern in der Haut innervieren Schweißdrüsen, Blutgefäße und die Musculi arrectores pilorum, welche nahe den Haaren liegen und durch Kontraktion zur „Gänsehaut“ führen (3).

1.2.3 Subkutis

Die Unterhaut oder Subkutis ist mit der darüberliegenden Lederhaut über Bindegewebssepten verbunden. Dieselben verbinden die Unterhaut auch mit den innen liegenden Knochenperiosten und den Muskelfaszien. (3) Die Subkutis fungiert als Verschiebeschicht. Besonders ersichtlich ist dies an den Augenlidern, am Penis und am Hodensack. (8) Die Bindegewebssepten umgeben auch die in der Subkutis vorkommenden Fettläppchen. Das Unterhautfettgewebe wiegt je nach Individuum 10 bis 20 kg, kann bei beleibten Personen aber auch ein Vielfaches davon annehmen. Bei Frauen befindet sich dieses sogenannte Depotfett eher an Hüfte, Gesäß, Oberschenkel und Busen während sich das Fettgewebe beim Mann vor allem am Bauch anlagert. Im Unterschied dazu kommt das Baufett an Hand- und Fußsohlen vor. Die Aufgabe ist hier nicht wie beim Depotfett die Speicherung von Energie und Flüssigkeit, sondern die Funktion als Druckpolster. (3)

Die Unterhaut beinhaltet weiters größere Blutgefäße und Nerven (5).

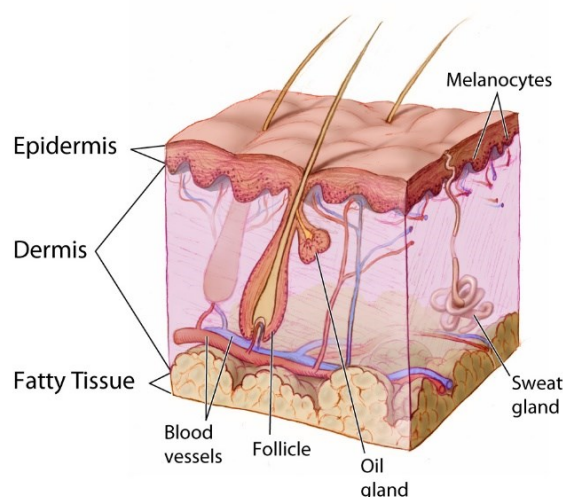


Abbildung 2: Der Aufbau der Haut mit Epidermis, Dermis und Subkutis (9)

1.2.4 Hautanhangsgebilde

Zu den Hautanhangsgebilden zählen Körperhaare, Nägel und die Schweiß- und Talgdrüsen, die alle Abkömmlinge der Epidermis sind. Die Haarfollikel und die Drüsen reichen bis in die Dermis und teilweise sogar bis in die Subkutis (siehe Abbildung 2). (4)

Der Aufbau eines Haares von körperfern nach körpernah beginnt mit dem Haarschaft. Es folgen die Haarwurzel, die verdickte Haarzwiebel welche Melanozyten beinhaltet und die Haarpapille, welche sich von unten in die Haarwurzel einstülpt. Die Wurzelscheide umgibt das einzelne Haar. (5) Die äußere Wurzelscheide beinhaltet den sogenannten Wulst, welcher Stammzellen für die Neubildung der Haare enthält. Haarfollikel sind Einstülpungen der Epidermis und werden bei der Geburt angelegt. Neben jedem Haarfollikel befindet sich eine Talgdrüse und ein glatter Muskel (Muskulus arrector pili). (4) Die Talgdrüse gibt ihr Sekret in den Haarfollikelkanal ab und bietet so Schutz für Haar und Haut (2). Die Muskuli arrectores pilorum haben zwei Aufgaben. Zum einen können sie die Haare aufstellen und somit zur bekannten „Gänsehaut“ führen und zum anderen fördern sie die Ausschüttung des Sekretes der Talgdrüsen (8).

Bei den Schweißdrüsen unterscheidet man die kleinen (ekkrinen) und die großen (apokrinen) Drüsen. Die ekkrinen Schweißdrüsen kommen an so gut wie jeder Stelle des Körpers vor. (5) Die größte Dichte ist im Bereich des Handtellers und die kleinste Dichte im Bereich des Rückens zu finden (8). Ihre Endstücke, welche zwischen Dermis und Subkutis liegen, sind umgeben von sogenannten Myoepithelzellen. Diese kontraktile Zellen fördern die Flüssigkeitsabgabe. Ihr Ausführungsgang mündet direkt an der Hautoberfläche. (5) Unter normalen Umgebungsbedingungen geben die Schweißdrüsen circa 300 bis 500ml Schweiß pro Tag ab. Bei erhöhter Außentemperatur kann dies um das 20-fache gesteigert werden. (3)

Die apokrinen Schweißdrüsen oder Duftdrüsen werden erst mit der Pubertät sekretorisch aktiv und befinden sich nur an bestimmten Stellen des Körpers wie etwa den Achselhöhlen, dem Brustwarzenhof und den großen Labien der Frau (5). Sie befinden sich wie die Talgdrüsen meist in direkter Nähe zu einem Haar. Das

abgegebene Sekret ist geruchslos, der typische Schweißgeruch entsteht erst durch die Zersetzung des Sekretes durch Bakterien. (2)

Die Talgdrüsen kommen entweder zusammen mit einem Haar oder als freie Talgdrüsen vor. Diese befinden sich dann an den Grenzzonen zwischen Haut und Schleimhaut, also an Lippen, Augenlidern, Anus, Brustwarzen, den kleinen Labien der Frau (Labia minora), der Eichel des Mannes (Glans penis) und der Vorhaut (Praeputium). (5) Die Talgdrüsen produzieren Talg welcher aus Teilen abgestorbener Talgdrüsenzellen und Fetten besteht (4).

1.3 Funktionen der Haut

Die Haut ist verantwortlich für mehrere, lebenswichtige Funktionen wie den Schutz unseres Körpers vor der Außenwelt, die Abgabe von Wärme zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur und die Reizaufnahme aus der Umwelt, um mit ihr zu kommunizieren und uns vor Gefahren zu schützen.

Neben dem Schutz vor mechanischen Schäden werden auch pathogene Erreger wie Bakterien weitgehend daran gehindert, durch die Haut in unseren Körper einzudringen. Durch die Melanin-produzierenden Melanozyten können Schäden, welche durch UV-, Röntgen-, und Gammastrahlen entstehen partiell abgewehrt werden. (8) Die Epidermis bietet auch Schutz vor chemische Schadstoffe wie Säuren und Laugen, wobei hier durch die Hornschicht vor allem Säuren besser abgewehrt werden können (4). Die Haut schützt uns auch vor Flüssigkeitsverlust. Bei fehlender Oberhaut würde es zu einem Wasserverlust von bis zu 20L am Tag kommen (1). Durch die Barriere werden in erster Linie hydrophile Substanzen am Eindringen gehindert wobei lipophilen Materialien noch eher der Eintritt gewährt ist. Die Haut besitzt einen Säureschutzmantel mit einem pH-Wert von circa 5,7. Dieser kommt durch den Aufbau der Hornschicht und das saure Sekret der Schweißdrüsen zustande. Es bildet sich ein Oberflächenfilm, der das Keimwachstum hemmt. Gelangen Erreger dennoch durch die Haut, reagieren das angeborene Immunsystem mit Makrophagen und Granulozyten und das erworbene Immunsystem mit B- und T-Lymphozyten. (2) Die Haut ist auch an der Temperaturregulation des Körpers beteiligt. Soll mehr Wärme vom Körper nach außen abgegeben werden, wird die Durchblutung der Haut maximiert und dadurch

die Hitze abgegeben. Gleichzeitig werden durch den vermehrten Blutstrom die Schweißdrüsen besser durchblutet und können so mehr Flüssigkeit abgeben, welche dann auf der Haut verdunstet und so den Körper abkühlt (3).

Die Haut verfügt weiters über die Fähigkeit Reize wahrzunehmen. Es werden drei verschiedene Empfindungen unterschieden: der mechanische Tastsinn, Schmerz und die Temperaturwahrnehmung. Die Temperatur und auch der Juckreiz werden über freie Nervenenden wahrgenommen. (1)

Zu den Mechanorezeptoren in der Haut zählen die Merkelzellen der Epidermis, welche Druck registrieren, Ruffini-Körperchen in der Dermis zur Wahrnehmung von Dehnung, Meissner-Körperchen für Berührung und Vater-Pacini-Körperchen in der Subkutis die Vibration wahrnehmen. Ihre dazugehörigen Axonendigungen sind myelinisiert. Die Schmerzwahrnehmung wird über die Nozizeptoren gesteuert. Ihre freien Nervenenden nehmen Gewebeschäden durch mechanische, chemische oder thermische Reize als Schmerz wahr. (4)

1.4 Wundheilung

Die Verletzung von Gewebe führt zum Absterben von Zellen und bedarf einer Wundheilung. Hierfür werden zwei Begriffe definiert, die Regeneration und die Reparation. Regeneration bedeutet, dass das geschädigte Areal am Ende wieder vollständig durch funktionsfähiges Gewebe und ohne Narbenbildung ersetzt wird. Bei der Reparation oder Narbenbildung wird stattdessen kollagenes Bindegewebe als Ersatz der geschädigten Parenchymzellen verwendet. (6)

Der Heilungsvorgang verläuft unabhängig von der Art der Schädigung immer in ähnlichen Phasen (10), welche die Exsudationsphase, die Granulationsphase sowie die Epithelisierungs- und Remodellierungsphase einschließen. Die verschiedenen Phasen sind komplex und finden zum Teil überlappend statt. Sie werden im Folgenden näher beschrieben.

Die Exsudationsphase:

Direkt nach der Verletzung kommt es zur Blutung und in weiterer Folge zur Bildung eines Blutgerinnsels. Dieser Prozess stellt makroskopisch den Beginn der Wundheilung dar. Die Thrombozyten im Blutkoagel sezernieren verschiedene

Zytokine und Wachstumsfaktoren (growth factors, GF), wie PDGF, TGF- β , EGF und IGF, um Immunzellen an den Verletzungsort zu leiten (11).

Durch die Zerstörung von Zellen nach der Verletzung wird indirekt Adrenalin frei, welches zu einer Vasokonstriktion führt. Diese wird kurz danach von einer Vasodilatation abgelöst, welche äußerst wichtig ist, um den Nährstoff- und Zellaustausch am Wundgebiet zu fördern. (10)

Aufgrund von Komponenten abgestorbener Zellen, Bakterien und Wachstumsfaktoren der Thrombozyten wird die Antwort des Immunsystems generiert. Die neutrophilen Granulozyten erscheinen als erstes am Wundbett. (4) Circa 48 bis 96 Stunden nach der Verletzung werden Monozyten über das Blut angespült, welche sich dann im Gewebe zu Makrophagen differenzieren (11). Diese besitzen den sogenannten M1-Phänotyp. Sie fördern den Entzündungsprozess und phagozytieren neben Zellresten auch untergegangene Neutrophile. (4) Die Makrophagen sezernieren einen Großteil von proinflammatorischen Zytokinen, wie beispielsweise Interleukine (IL). Die Faktoren IL-1a, IL-1b, IL-6 und TNF- α halten den Entzündungsprozess aufrecht. Während weitere Mediatoren wie TGF- β , FGF-2 und IGF stimulierend auf Fibroblasten wirken, sorgen EGF, FGF-2, IGF-1 und TGF- α für die Re-Epithelisierung. (10)

Die Granulationsphase:

In den nächsten Tagen wechseln Makrophagen ihren Phänotyp von M1 zu M2 und geben nun antiinflammatorische Zytokine ab um Fibroblasten anzulocken (4). Darüber hinaus produzieren sie auch ECM und fördern die Angiogenese (12).

Fibroblasten wandern entweder aus der näheren Wundumgebung ein oder entstehen neu aus undifferenzierten mesenchymalen Zellpopulationen. Gemeinsam mit den Endothelzellen und den Monozyten, nutzen sie das in der ECM vorkommende Fibronectin. Dieses Glykoprotein hilft den Zellen bei der Adhäsion und Migration im Wundareal. Fibroblasten produzieren Hyaluronsäure, Chondroitin-4-Sulfat, Heparansulfat und Dermatansulfat und bilden das Granulationsgewebe. (10)

Das Granulationsgewebe dient unter anderem als Gerüst für Immunzellen, neu gebildete ECM und Blutgefäße. Weiters fördern Fibroblasten die Veränderung des Wundmilieus, weg vom Entzündungsprozess und hin zur Wachstumsphase. Einige

Fibroblasten werden zu Myofibroblasten, die für die Wundkontraktilität sorgen und die Wundränder so näher zusammenziehen. (11)

In dieser Phase der Wundheilung ist eine gute Durchblutung wichtig. Diese wird durch den lokalen Sauerstoffmangel, den erniedrigten pH-Wert und den Laktatüberschuss induziert. Darüber hinaus sorgen Zytokine und Wachstumsfaktoren der sezernierenden Zellen für die Gefäßneubildung. Die wichtigsten Wachstumsfaktoren für die Stimulation der Angiogenese sind VEGF, TGF- β , FGF und Angiopoietin. (10) Am Ende entsteht ein zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, jedoch noch ohne große Widerstandsfähigkeit (4).

Epithelisierungsphase:

Parallel zur Bildung des Narbengewebes findet die Re-Epithelisierung statt (4).

Reife Keratinozyten aus der näheren Wundumgebung beziehungsweise Stammzellen aus den Haarbälgen gewährleisten diesen Prozess. Sie wandern zur Spitze des Granulationsgewebes und bilden die neue Epidermis. Die Wanderung dieser Zellen wird ähnlich wie bei der Angiogenese durch die physiologischen Wundbedingungen, Wachstumsfaktoren und Zytokine gewährleistet. (10)

Remodellierungsphase:

In der letzten Phase der Wundheilung entscheidet sich, ob eine Narbe gebildet oder ob sich die Haut wieder vollständig regenerieren wird (11). Die Epithelzellen an der Wundoberfläche bilden eine mechanisch noch nicht stark belastbare Schicht. Dies geschieht bei simplen Wunden bereits wenige Stunden nach der Verletzung. Es bildet sich eine neue Epidermis und die Wundheilung gilt als abgeschlossen, wenn die Epithelisierung vollendet ist. (10)

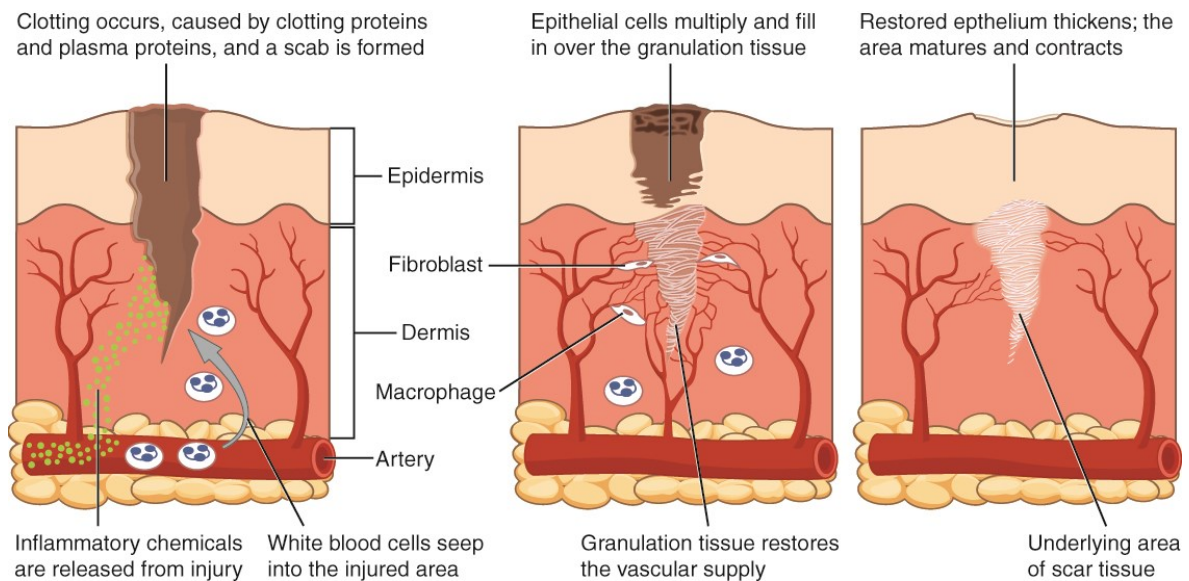


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Wundheilung (13)

Das Granulationsgewebe, entstanden durch Fibroblasten und die Angiogenese, wird zu einem Narbengewebe umgewandelt. Dieser Prozess kann Wochen bis Monate dauern. Während hier das Wundexsudat resorbiert wird, findet gleichzeitig eine vermehrte Kollagensynthese statt. (6) Der Kollagengehalt der Dermis besteht zu 80 Prozent aus Kollagen Typ I und zu 15 Prozent aus Kollagen Typ III. Während der Wundheilung erhöht sich zuerst das Typ III Kollagen, während später der Anteil am Typ I Kollagen wieder zunimmt. (14) Das Narbengewebe ist ein zellarmes jedoch faserreiches Bindegewebe. Bei übermäßiger Bildung kann es zu tumorartigen Narben, den sogenannten Keloiden, kommen. (4)

Eine komplikationslose, schnelle Wundheilung beispielsweise nach einer Operation nennt man Heilung „per primam intentionem“ oder primäre Wundheilung. Dauert die Wundheilung länger und entsteht am Ende ein deutlich erkennbares Granulationsgewebe, heißt das Heilung „per secundam intentionem“ oder sekundäre Wundheilung. (6) Vor allem wenn eine Wunde nach drei Wochen noch nicht verheilt ist, sind massive Narben und eine erhöhte Morbidität die Folge (15).

1.5 Verbrennungen

Verbrennungen sind ernst zu nehmende Traumata, welche ab einem gewissen Ausmaß nicht nur Teil der Haut, sondern auch fast jedes Organsystem des Körpers

betreffen. In den USA erleiden jährlich über 500.000 Menschen eine Verbrennung. Obwohl die meisten dieser Verletzungen klein und selbstlimitierend sind, müssen 40.000 bis 60.000 davon in einem Krankenhaus oder Verbrennungszentrum behandelt werden. Die Effektivität der Verbrennungsbehandlung ist in den letzten Jahrzehnten stark gestiegen. Grund hierfür sind unter anderem neuere Wundabdeckungsmaterialien, eine verbesserte Infektionskontrolle und eine angepasste Therapie der gesteigerten Stoffwechselaktivität. Neben der Pathophysiologie der Verbrennungswunde wird inzwischen auch die Methodik der Flüssigkeitssubstitution besser verstanden. Trotz der gebesserten Therapien erliegen in den USA jährlich circa 4.000 Menschen den Komplikationen ihrer Verbrennungen. Die Anzahl der Verbrennungsoffer, welche ihre Verletzungen überleben, ist dennoch wesentlich höher als noch vor 50 Jahren. Die Folge ist, dass es auch mehr Menschen mit langjährigen Komplikationen wie etwa hypertrophen Narben oder physikalischen Einschränkungen gibt. Der Mittelpunkt der Forschung liegt daher immer mehr im Bereich der Langzeitergebnisse. (15)

1.5.1 Verbrennungsursachen

Thermal:

Die häufigsten Verbrennungsursachen sind Verbrühungen durch heiße Flüssigkeiten, Flammenverbrennungen und Kontaktverbrennungen (16). Die meisten Menschen, welche in den USA in einer Verbrennungsklinik aufgenommen werden, unterliegen einer Flammenverletzung. Diese ist je nach Dauer der Exposition meist zweit- oder drittgradig. Kleidung dient im Allgemeinen als Schutz vor Flammen. Wenn sie sich jedoch entzündet, sind meist drittgradige Verbrennungen die Folge. Die zweithäufigste Ursache für thermische Schädigungen sind Verbrühungen, also Verbrennungen durch heiße Flüssigkeiten oder heißen Dampf. Das Ergebnis ist hier oft eine Mischung aus oberflächlichen und tiefen Verbrennungsgraden. Kleidung fördert hier die Verletzungstiefe, da sie Hitze aufnimmt und die Haut dadurch länger höheren Temperaturen ausgesetzt ist. Kontaktverbrennungen treten häufig bei Menschen mit eingeschränkter Reaktionszeit auf, wie beispielsweise bei alkoholisierten oder unter Drogen stehenden Personen. Sie werden durch heiße Materialien wie Metall, Plastik oder

Glas verursacht. Diese Art der Verbrennung ist oft kleinflächig aber meist sehr tief. (17)

Chemisch:

Verletzungen durch chemische Substanzen kommen meist in Form von Arbeitsunfällen vor (17). Sie machen nur einen kleinen Teil der Verbrennungen aus. Es gibt tausende unterschiedliche Säuren und Basen, welche der Haut schaden können. Das Ausmaß ist unter anderem von der Konzentration, der Dosis und der Art des wirkenden Agens, der Dauer der Exposition und der Tiefe der Penetration abhängig. (15) Während Basen auf der Haut verseifen und so immer tiefer in die Wunde eindringen, machen Säuren grundsätzlich weniger Schaden. Sie bilden eine Art Barriere, welche die Säure selbst daran hindert, weiter in das Gewebe einzudringen. (17) Weiters gilt, dass der Kontakt von Alkalien mit dem Gewebe zu einer Kolliquationsnekrose führt, also einer Verflüssigung der angegriffenen Strukturen. Im Unterschied dazu entsteht bei Säureverletzungen eine Koagulationsnekrose. Hier werden die Zellen zwar abgetötet, die Architektur bleibt aber weitestgehend erhalten. (16)

Elektrisch:

Elektroverbrennungen zählen wie chemische Verbrennungen zu den seltener vorkommenden Verbrennungen. Der Umfang des Schadens ist hier unter anderem von der Höhe und der Art des Stroms (Gleich- oder Wechselstrom), der Dauer der Einwirkzeit und vom Gewebswiderstand abhängig. (15)

Bei Kontakt mit dem Gewebe wird die elektrische Energie des Stroms in Hitze umgewandelt, welche dann zur Zerstörung von Zellen führt. Unterschieden werden hier die Niedrigspannung, welche meist kleine, aber tiefe zweitgradige Verbrennungen verursacht und die Hochspannung welche zu kritischeren Verletzungen führt. (17) Die oft kleinen Hautwunden täuschen in der Schwere des Schadens (16). Trockene Haut hat einen fünfmal höheren Widerstand als nasse Haut. Daher leitet sie den Strom auch weniger gut. Dies bietet nur begrenzten Schutz, denn im Körperinneren läuft dieser Prozess genau umgekehrt. In Gewebe mit hohem Widerstand wird mehr Energie in Hitze umgewandelt. (17) Den größten Widerstand im Körper haben die Knochen. Der an den Knochen entlang fließende

Strom kann vor allem an den Muskelansätzen zu massiven Gewebnekrosen führen. (18) Durch die Myoglobinfreisetzung und die entstehende Azidose besteht nachfolgend die Möglichkeit der Entwicklung eines Nierenversagens. Daher sind bei Elektroverbrennungen, noch mehr als bei anderen Verbrennungsarten, eine intensive Flüssigkeitstherapie und eine frühzeitige Operation indiziert. (17)

Radiation:

Hier unterscheidet man Gewebeschäden aufgrund von UV- oder Röntgenstrahlung. Im Gegensatz zu den oben genannten Verbrennungsarten, tritt hier eine typische Latenzzeit zwischen der Exposition und dem Sichtbarwerden der Hautveränderung auf. (1) Die ionisierende Strahlung wird beispielsweise zur Behandlung von diversen Karzinomen verwendet (18). Nach einer Röntgentherapie zeigen sich Erytheme und Blasen üblicherweise erst nach 21 bis 28 Tagen. UVB-Strahlenschäden treten bei einem Sonnenbrand auf und haben eine Latenzzeit von zwölf bis 24 Stunden. Ein Sonnenbrand stellt eine akute Entzündung der Epidermis und später auch der Dermis dar. Er kommt durch eine übermäßige Exposition der Haut gegenüber natürlichen oder künstlichen UVB-Strahlen zustande. Während sich ein leichter Sonnenbrand in einer rötlichen Pigmentierung äußert, ist für den schweren Sonnenbrand die Blasenbildung typisch. Die Folge bei letzterem kann eine hypopigmentierte, flache Narbe sein. Zusätzliche Symptome sind Schwellung, Schmerz und Juckreiz. (1)



Abbildung 4: Verbrennung zweiten Grades (19)

1.5.2 Verbrennungsgrade

Brandwunden werden, abhängig von der Tiefe des Schadens, in verschiedene Grade unterteilt. Ab einer Hitzeeinwirkung von 40 Grad Celsius kommt es zu einer reversiblen Denaturierung von Proteinen. Ab 45°C ist der Vorgang irreversibel, was sich in Form einer lokalen Gewebsnekrose zeigt. (15)

Während zwischen 45 und 51°C die Zerstörung innerhalb von Minuten zustande kommt, entsteht der Schaden bei Temperaturen zwischen 51 und 70°C im Bereich von Sekunden. Bei einer Hitzeeinwirkung über 70 Grad Celsius dauert dies nur Sekundenbruchteile. Der Bereich des entstehenden Schadens ist nicht nur von der Temperatur abhängig. Auch die Dauer der Hitzeeinwirkung, die Wärmeleitfähigkeit und Durchblutung der Haut und die Horn- und Haarschichten als Oberflächenbarriere sind hier einflussgebend. (17)

Grad 1 (engl. „superficial burn“):

Bei einer Verbrennung ersten Grades kommt es zur Zerstörung der oberflächlichen Epidermis ohne Zelluntergang (17). Das Wundareal ist rötlich und heilt ohne Narbenbildung wieder ab (1). Dieser Verbrennungsgrad ist schmerzhaft und tritt bei einem Sonnenbrand oder einer leichten Verbrühung auf (15). Unter normalen Umständen ist die Heilung, ausgehend von Keratinozyten aus den Hautanhangsgebilden, nach einer Woche abgeschlossen. (20)

Grad 2a (engl. „superficial partial thickness burn“):

Bei einer Verbrennung des Grades 2a liegt der Schaden im Bereich der Epidermis und der papillären Dermis (15). Blasenbildung und ein geröteter Wundgrund sind deutliche Anzeichen einer Verbrennung vom Grad 2a. Das Wundareal ist sehr schmerzhaft. (17) Haarfollikel sowie die Rekapillarierungszeit sind intakt. Der Wundgrund ist feucht und heilt innerhalb von ein bis zwei Wochen. An der betroffenen Hautstelle können nach Ende der Wundheilung auch nach längerer Zeit noch leichte Verfärbungen zu sehen sein. Oberflächliche zweitgradige Verbrennungen können beispielsweise durch Stichflammen oder zu heißes Badewasser zustande kommen. (15) Die Regeneration findet auch hier durch Keratinozyten aus Haarfollikeln und Schweißdrüsen statt. Je dichter diese

Hautanhangsgebilde ausgebildet sind, desto schneller verläuft der Heilungsprozess. Antiseptische Salben und wundschließende Verbände stellen die Therapie der Wahl dar. (20)

Grad 2b (engl. „deep partial thickness burn“):

Bei einer Verbrennung des Grades 2b sind die Epidermis und die retikuläre Dermis betroffen. Der Wundgrund ist hell, trocken und es zeigt sich eine Blasenbildung. (15) Bei tiefen zweitgradigen Verbrennungen kommt es zu einer teilweisen Zerstörung der Schmerzkörper. Daher wird Schmerz hier geringer wahrgenommen als bei oberflächlichen zweitgradigen Verbrennungen. (17) Die Wunden heilen innerhalb von zwei bis fünf Wochen ab und hinterlassen oft prominente Narben (15). Die tiefere Dermis besitzt eine geringere Bioaktivität als die oberflächliche. Folglich brauchen Verbrennungen vom Grad 2b mehr Zeit zum Heilen als jene von Grad 2a. (17) Therapeutisch finden hier, insbesondere bei großflächigen Arealen, zwei wesentliche Schritte statt. Nach dem Abtragen des toten Gewebes wird die vitale Wunde mit einem Hautersatzmaterial oder einem Hauttransplantat bedeckt. Dies führt zu einer verbesserten Wundheilung mit weniger Komplikationen und damit einhergehend zu einem akzeptablen Ergebnis. (20)

Grad 3 (engl. „full thickness burn“):

Bei einer Verbrennung dritten Grades liegt eine vollständige Zerstörung der Epidermis und der Dermis vor. Die Wunde erscheint entweder weiß, schwarz oder rot. Der Wundschorf ist hart und lederartig und der Wundgrund trocken. Weder Schmerzen noch intakte Hautanhangsgebilde sind vorhanden. Die Heilung muss hier von den Wundrändern aus stattfinden und dauert über 21 Tage. (15) Im Fokus der therapeutischen Strategie liegt zu allermeist die Wundexzision mit folgender Hauttransplantation (20).

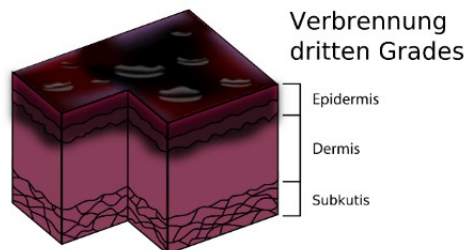
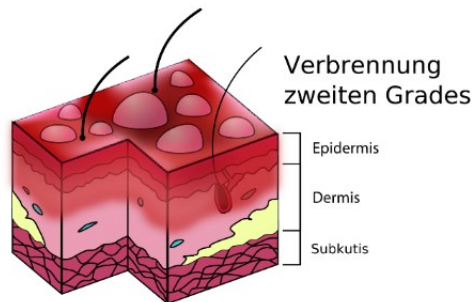
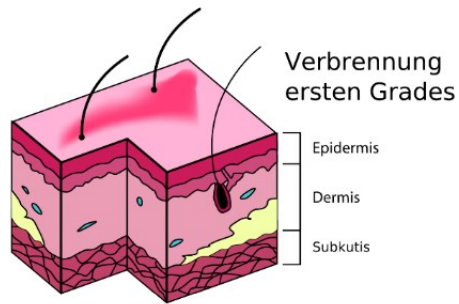


Abbildung 5: Graphische Veranschaulichung der Verbrennungsgrade 1 - 3 (21)

Eine tiefe Verbrennung entsteht, wenn die einwirkende Noxe entsprechend stark ist oder wenn das Opfer daran gehindert ist, sich von der Noxe zu befreien. Dies ist beispielsweise bei einer Immobilisation des*der Betroffenen oder bei einer Polyneuropathie der Fall. Darüber hinaus ist es möglich, dass sich die Verbrennungstiefe nach Befreiung des schädlichen Agens weiter verschlechtert. Die Entwicklung des Verbrennungsgrades ist ein dynamischer Prozess und kann im Normalfall erst nach 48 Stunden festgelegt werden. (17)

Die Beurteilung des Verbrennungsausmaßes ist in der Klinik unabdingbar. Nur so kann die weitere Therapie geplant werden. Bei der visuellen Beurteilung der Verbrennungstiefe wird die Wundoberfläche analysiert. Faktoren wie der Feuchtigkeitsanteil, die Durchblutung und Schmerzen werden hier miteinbezogen. Diese Methode stellt nach wie vor die am häufigsten angewendete dar. Darüber hinaus gibt es noch das histologische Assessment einer Vollschichtbiopsie der

Verbrennungswunde und die bildgebenden Verfahren. Beispiele hierfür sind das Laser-Doppler-Imaging und die Thermographie. (22)

Bezüglich der Evaluierung der beteiligten Fläche ist allen Verfahren gemein, dass der Anteil der Körperoberfläche pro Körperteil in Prozent angegeben und dieser dann mit der Fläche der verbrannten Haut verglichen wird. Verbrennungen ersten Grades sind von dieser Beurteilung ausgeschlossen. (17) Bei der Neunerregel werden den beiden Armen je neun Prozent zugeordnet. Kopf und Nacken ergeben zusammen auch neun Prozent. Die Beine besitzen je 18 Prozent genauso wie Rumpf oder Rücken. Die Genitalien entsprechen einem Prozent der Körperoberfläche. Die Handflächenregel wird eher bei kleineren Verbrennungen angewendet. Hier wird die gesamte Handfläche inklusive der Finger als ein Prozent der Körperfläche definiert. (15) Darüber hinaus gibt es noch die Lund and Browder Chart, die verschiedenen Altersgruppen verschiedene Körperanteile zuordnet und daher genauer als die Neunerregel ist (17).

1.6 Pathophysiologie der Verbrennung

Eine Brandwunde kann in drei Zonen unterteilt werden. In der Mitte der Läsion befindet sich die Nekrose- oder Koagulationszone. Hier entsteht eine charakteristische Koagulationsnekrose mit irreversibel geschädigtem Gewebe. Um die Nekrosezone herum befindet sich die indirekt geschädigte Stasezone. In den ersten 48 Stunden nach dem Trauma, kann sich in dieser Zone durch vermehrte Hypoxie und Ischämie auch eine irreversible Nekrose entwickeln. Während die Hypoxie Folge einer Ödembildung ist, entsteht die Ischämie durch eine verminderte Durchblutung. Sollte sich dies durch eine therapeutische Intervention nicht vermeiden lassen, kommt es zum sogenannten „Nachtiefen“ der Wunde. (23) Die äußerste Zone wird Hyperämiezone genannt. Dort findet man vitales Gewebe und eine Vasodilatation der Blutgefäße. Die Wundheilung geht von dieser Zone aus und es besteht hier kein Risiko zur Bildung einer Nekrose. (15)

Durch Schäden am Gewebe, den ortsständigen Zellen und auch durch die angelockten Immunzellen werden viele Entzündungsmediatoren wie Zytokine freigesetzt. Diese sind für den Ablauf vieler Reaktionen verantwortlich. Ab einem

Verbrennungsausmaß von 20 bis 30 Prozent der gesamten Körperoberfläche können die Mediatoren zu systemischen Reaktionen führen und ganze Organsysteme betreffen (15). Beispielsweise sorgen IL-1b und TNF- α unter anderem für die Produktion von Akute-Phase-Proteinen und IL-6. IL-6 aktiviert T-Zellen, welche indirekt verantwortlich für die Aktivierung von Makrophagen sind. (24) Makrophagen stellen in dieser Phase die wichtigsten Zellen dar. Sie produzieren wiederum diverse Faktoren zu denen auch das IL-6 und TNF- α gehören. TNF- α kann weiters Leukozyten und Monozyten aktivieren und die Bildung von IL-1 beeinflussen. (25) So findet ausgehend von proinflammatorischen Zytokinen eine Entzündungsreaktion statt.

1.7 Therapie der Verbrennungswunde

1.7.1 Lokale Behandlung

Lokale Antiseptika: Die Therapie von Verbrennungswunden mit topischen Antiseptika hat den Hintergrund, pathogene Mikroorganismen beim Wachstum zu hindern und gleichzeitig die körpereigenen Wundbestandteile nicht zu schädigen. Sie sollen also Infektionen vermeiden und die Wundheilung verbessern. Es werden zwei Arten der Anwendung unterschieden: Die Lotionen sind in erster Linie für die Reinigung zuständig und verbleiben nur kurze Zeit auf der Wunde. Cremes, Salben und imprägnierte Auflagen werden mit dem Hintergrund verabreicht, länger auf dem Wundareal zu verharren. (26) Ein lokales Antiseptikum basierend auf Silberionen ist das Silbersulfadiazin („Flammazine“). Es wirkt an der Zellwand und der DNA von Bakterien und hat so bakteriostatische und bakterizide Eigenschaften. In vielen Gebieten wird es noch als „Goldstandard“ in der lokalen Wundbehandlung eingesetzt, jedoch nicht mehr in der Ersten Welt. Die Indikationen sind tiefe zweitgradige und drittgradige Verbrennungen (siehe Abbildung 5, Kapitel 1.5.2). (17)

Escharotomie: Tiefe, zirkuläre Verbrennungen ab dem Grad 2b können, wenn sie sich an den Extremitäten, dem Brustkorb oder dem Bauch befinden, zu Einschnürungen führen. Ursächlich hierfür sind die hitzeverursachte Hautschrumpfung in Kombination mit der ödembedingten Gewebeswellung. (17)

Die Folge ist ein Kompartmentsyndrom, also eine Minderdurchblutung mit folgender Gewebischämie an den Extremitäten (27). Wenn sie sich um den Thorax oder das Abdomen befinden, kann es zu einer verminderten Lungendehnbarkeit und damit zu einer eingeschränkten Atmung kommen (17). Bei der Escharotomie werden verbrannte Hautschichten gespalten. Bei der tieferen Fasziotomie werden auch die Muskelfaszien miteinbezogen. (27)

Debridement: Das frühzeitige Debridement mit anschließender temporärer oder dauerhafter Wundabdeckung stellt das Standardverfahren bei tiefen Verbrennungen dar (28). Seit der Einführung dieser frühzeitigen Exzision in Kombination mit der Hauttransplantation im Jahre 1970, haben sich sowohl die Mortalität als auch die Krankenhausaufenthaltsdauer signifikant verringert (16). Der Prozess wird vorwiegend bis zum zwölften Tag nach dem Trauma durchgeführt, ist einer der wichtigsten chirurgischen Interventionen und ausschlaggebend für das Überleben der Patient*innen (29). Beim Debridement werden nekrotische Wundbestandteile entfernt, um Erregern die ideale Grundlage für das Wachstum zu nehmen, eine überschießende Immunantwort zu verhindern und um das Nachtiefen der Wunde zu stoppen. Wird dies innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Verbrennung durchgeführt, verringert sich zudem die Wahrscheinlichkeit einer Sepsis stark. (17)

Das chirurgische Debridement stellt den Goldstandard dar. Unterschieden werden hier die tangentiale und die epifasziale Exzision. (29) Beim tangentialen Debridement werden abgestorbene Gewebestücke Schicht für Schicht bis zum vitalen, blutenden Grund entfernt. Durchgeführt wird dies mit verschiedenen Messern oder Dissektoren. (30) Bei der epifaszialen Exzision wird das gesamte Gewebe bis zur Subkutis entfernt (29). Es gibt auch die Möglichkeit eines enzymatischen Debridements. Diese auf Bromelain, einem Mix aus proteolytischen Enzymen aus der Ananaspflanze mit antiinflammatorischer Wirkung (31), basierende Technik findet vor allem bei kleineren Wunden Anwendung (15).

1.7.2 Wundauflagen

Normalerweise erfolgt nach der Evaluierung von Wundtiefe und Wundfläche eine Reinigung mit nachfolgendem Debridement (15). Anschließend werden die

oberflächlichen Verbrennungen mit Wundverbänden bedeckt. Die Aufgaben dieser Wundaufgaben sind der Schutz vor Erregern, die Schmerzreduktion, die Verhinderung des Tieferwerdens der Wunde und die Schaffung einer feuchten Wundumgebung. (32) Sie stellen eine Barriere zur Umwelt dar und schaffen ideale Umgebungsbedingungen für die Wundheilung. Ihre systemische Toxizität sollte so gering wie möglich sein. (15) Erstgradige Verbrennungen benötigen in der Regel keine Wundaufgaben (17). Bei Verbrennungen vom Grad 2a sollen die Verbände, zusätzlich zu den oben genannten Aufgaben, Flüssigkeit absorbieren und das Aufweichen der Wunde verhindern. Wundaufgaben für Verletzungen mit dem Grad 2b und 3 haben die Hauptaufgabe, die Wunde für die anschließende Transplantation vorzubereiten und solange zu bedecken, bis genug Spalthaut zur Verfügung steht. Da der Heilungsprozess vor allem in den ersten 48 Stunden dynamisch ist, sollte zu Beginn ein Wundverband gewählt werden, welcher zwei Tage lang auf der Wunde belassen werden kann. Nach dieser Zeit wird die Wunde evaluiert und entschieden, ob die Indikation für einen definitiven Wundverschluss gegeben ist. (32)

Einteilung von Wundaufgaben:

In der Literatur werden vier Einteilungen der Wundverbände beschrieben: konventionelle, biologische, antiseptische und synthetische. Erstere enthalten keine Medikamente und sind zum Beispiel aus Silikon oder Vaseline. Zu den biologischen Wundverbänden zählen Allografts, Xenografts und das Amnion. Die antiseptischen Wundaufgaben sind unter anderem mit Silber, Cadexomer-Jod oder Honig angereichert. (33) Honig als natürliches Antiseptikum wird insbesondere aufgrund seiner antimikrobiellen und analgetischen Wirkung verwendet (34). Zu den biosynthetischen Wundaufgaben gehören zum Beispiel „Biobrane“ und „TransCyte“ (33) sowie „Epigard“ und „Dermagraft“ (17). Bei zweitgradigen Verbrennungen werden vor allem Wundaufgaben aus Paraffin, Weichsilikon oder Weichpolymer jeweils in Kombination mit einer Mullbinde verwendet. An kosmetisch exponierten Stellen kommen auch Hydrokolloide zur Anwendung. Tiefere drittgradige Wunden benötigen Wundaufgaben mit mehreren Schichten. Hier wird beispielsweise das Alginate verwendet. (35)

Hydrogele: Sie sind sehr hydrophil, enthalten also viel Flüssigkeit und sorgen so für einen feuchten Wundgrund. Dieser ist wichtig für eine adäquate Wundheilung. Hydrogele können natürlichen oder synthetischen Ursprungs sein und allein oder in Kombination mit antiseptischen Mitteln oder Anästhetika angewendet werden. Weiters sind sie auch für ihre kühlende Wirkung bekannt. Nachteilig ist, dass sie teilweise sehr fest auf der Wundoberfläche kleben. Bei regelmäßigen Verbandswechseln kann es daher zu Schmerzen und neuen epithelialen Wunden kommen. Darüber hinaus begünstigt der feuchte Wundgrund auch die Entstehung von Infektionen und stellt daher ein zusätzliches Infektionsrisiko dar. (34)

Alginat: Wundverbände basierend auf Alginaten sind Abkömmlinge von Meeresalgen. Sie finden auf Wunden mit viel Feuchtigkeit Anwendung und werden zu einem Gel, sobald sie mit Flüssigkeit in Kontakt kommen. Zusätzlich fördern sie die Blutgerinnung bei leicht blutenden Wunden. (32)

Allotransplantate und Xenotransplantate: Während Allografts von Organ Spendern stammen, sind Xenografts Hauttransplantate tierischen Ursprungs. Sie werden verwendet, wenn nach größeren Verbrennungen vorerst kein autologes Spalthauttransplantat verfügbar ist. Ihre Aufgabe ist der Schutz der Wunde vor Infektionen und Flüssigkeitsverlust und die Stimulation der Re-Epithelisierung. Bevor sie auf die Wunde aufgebracht werden, muss eine Exzision des toten Wundgewebes bis hin zum durchbluteten Wundgrund erfolgen. (22) Aufgrund der Abstoßungsreaktionen des Körpers können Allografts nur circa 14 Tage und Xenografts nur drei bis sechs Tagen auf der Wunde bleiben. Erstere kommen wesentlich öfter zum Einsatz und gehören zu den teuersten Wundverbänden. Sie haben einen positiven Effekt auf die Wundheilung, reduzieren die Keimzahl und zeigen eine schmerzmindernde Wirkung. (17)

Die plazentare Membran: Sie besteht aus vielen Wachstumsfaktoren und Zytokinen und kann unter anderem bei oberflächlichen zweitgradigen Verbrennungen angewendet werden. Die Vorteile dieser aus Amnion bestehenden Schicht sind, dass keine Immunreaktion des Körpers hervorgerufen wird. Weiters wirkt die

plazentare Membran Infektionen und der Narbenbildung entgegen und fördert die Wundheilung. Sie gehört zu den teuren Wundauflagen. (22)

1.7.3 Hautersatzmaterialien

Den Goldstandard für einen Wundverschluss stellt die autologe Spalthauttransplantation dar (17). Während Vollhauttransplantate aus Epidermis und Dermis bestehen, enthalten Spalthauttransplantate neben der Epidermis nur die obere Schicht der Dermis (33). Zudem werden Vollhauttransplantate selten in der Akutsituation verwendet, sie finden hauptsächlich in der rekonstruktiven Medizin Anwendung (36). Die Transplantate kommen auf die offene Wunde und werden durch Einnähen oder Anheften dort befestigt (15). Die Entnahmestelle heilt im Regelfall von allein wieder (17).

Biologische Hauttransplantate:

Steht nach der Verbrennung genug Eigenhaut zur Verfügung und ist der*die Patient*in kreislaufmäßig stabil, sollte die Hauttransplantation am frischen, exzidierten Wundbett erfolgen. Die Autografts sorgen dann für einen frühen Wundverschluss, einen Infektionsschutz, eine Schmerzminderung und eine frühe Mobilisation des*der Patient*in. (16) Ausschlaggebend für das Überleben des Transplantates ist der permanente Kontakt zum Wundareal, sodass hier in den nächsten drei bis fünf Tagen ein versorgendes Gefäßsystem einsprießen kann. Das Transplantat wird weiters mit einem Verbandmull stabilisiert. Dieser schützt auch vor einer zu großen Flüssigkeitsansammlung in der Wunde. (15)

Bei Verbrennungen von 30 bis 40 Prozent der gesamten Körperoberfläche (total body surface area, TBSA) werden die Hauttransplantate oft „gemesht“. Mit einem Meshdermatom werden hier Löcher in die entnommene Haut geschnitten und in weiterer Folge ein Gitternetz erstellt. Diese Poren sorgen für eine flächenmäßige Vergrößerung des Transplantates, eine bessere Aufnahme von topischen Agenzien wie Medikamenten und gewähren einen Flüssigkeitsdurchtritt. (16) Meist wird ein Bezug von 1:3 Transplantat zu abgedeckter Wundfläche geschaffen. Bei größeren Verhältnissen kommt es mit größerer Wahrscheinlichkeit zu einer sichtbaren Netzstruktur und einer verzögerten Wundheilung. (17) Das „Meshen“ verringert die

Qualität des Autografts und erhöht die Wahrscheinlichkeit einer gravierenden Narbe (33).

Bei Verbrennungen über 60 Prozent der TBSA ist der Großteil der intakten Haut zerstört und es müssen vorübergehend Allografts oder Xenografts zur Wundabdeckung verwendet werden (15). Auch bei bestehenden Infektionen der Wunden werden oftmals Allografts zur Überbrückung verwendet (16).



Abbildung 6: Spalthauttransplantat (Meshgraft) an der unteren Extremität (37)

Alternative Hautersatzmaterialien:

Insuffiziente oder gebrechliche autologe Spalthauttransplantate können nicht als Ersatzhaut fungieren (16). Alternativ werden andere biologische, synthetische oder eine Kombination aus beiden Hautersatzmaterialien verwendet (33). Sie können azellulär sein oder eine zelluläre Komponente besitzen. Die Dauer der Anwendung ist entweder permanent, semipermanent oder temporär. Darüber hinaus können Hautersatzmaterialien aus einer oder zwei Schichten bestehen. Ihre anatomische Struktur stellt entweder die Epidermis, die Dermis oder eine Kombination aus beiden dar. (15)

Zu den künstlichen Hautersatzmaterialien zählen dreidimensionale Gerüste. Sie fungieren als ECM und bilden ein Netzwerk für die Einsprossung von Kapillaren und

unterstützen die Zellen in der Migration, Differenzierung und Proliferation. In diese sogenannten „Scaffolds“ können vor der Implantation auch zusätzlich Wachstumsfaktoren und diverse Zellen integriert werden. (16)

Hautersatzmaterialien sollen folgende Charakteristika aufweisen (16):

- Resistenz gegen Scherkräfte während der Bearbeitung
- Struktur und Funktion der Haut mit ihren Aufgaben wie Schutz vor Infektionen und Verhinderung von Flüssigkeitsverlust
- Beherrbergung von Zellen für die Wundheilung
- Keine Toxizität gegenüber den körpereigenen Strukturen, kein Auslösen von immunologischen Reaktionen

Bei den alternativen Hautersatzmaterialien werden drei große Gruppen voneinander unterschieden, epidermale, dermale und kombinierte Ersatzmaterialien.

Die am häufigsten verwendeten epidermalen Ersatzmaterialien sind kultivierte epidermale Autotransplantate (cultured epidermal autografts, CEAs) (17). Sie bestehen aus zwei bis acht Lagen Keratinozyten, welche davor aus einer autologen Vollhautbiopsie extrahiert wurden. Die CEAs benötigen im Durchschnitt drei Wochen für die Kultivierung. (22) Die Wunden der Patient*innen werden bis zur Verfügbarkeit der CEAs mit Allografts bedeckt (36). Zu den Vorteilen der CEAs zählen die große verfügbare Fläche und das Fehlen neuer Verletzungen durch Spalthautentnahme (17). Jedoch sind sie teuer, fragil und nicht leicht am Wundbett anzubringen (16). Die synthetischen CEAs werden temporär angewandt (20). Um die Mängel etwas aufzuheben, kann man sie unter Anwendung der „Sandwich-Technik“ gemeinsam mit Mesh-Produkten verwenden (22).

Im Vergleich zu den epidermalen sind dermale Ersatzmaterialien stabiler und können auch gut vor Wundkontraktionen schützen. Zu den modifizierten Allotransplantaten gehört „Alloderm“. Bei diesem Produkt kommt es zu keiner immunologischen Abstoßungsreaktion des Körpers. Trotzdem wird es nur temporär

angewendet. (15) „Alloderm“ stellt einen natürlichen Ersatz bestehend aus dermalen, menschlicher Matrix dar (33). Weitere dermale Hautersatzmaterialien sind „Integra“ und „Matriderm“ (16). „Integra“ enthält Rinderkollagen und Glykosaminoglykane. Diese erleichtert die Einwanderung von Gefäßen und Fibroblasten. (36) Sie fungiert als Wundabdeckung und schafft eine ideale Umgebung für die Regeneration der Dermis (22). Am Ende kommt es oft zu günstigen Langzeitergebnissen (36).

Kombinierte Ersatzmaterialien haben den größten Vorteil und ersetzen sowohl die Epidermis als auch die Dermis. Zu den Nachteilen gehören die lange Produktionszeit, die hohen Kosten und die Abstoßungsreaktionen. Beispiele sind „StrataGraft“, „Epifix“ und „MatriStem“. (15)

1.8 Folgen der Verbrennung

Die meisten Verbrennungen hinterlassen Narben. Diese sind im Idealfall flach und gering dyspigmentiert (16). Häufig entstehen jedoch aberrante Narben, welche nicht nur kosmetisch störend, sondern auch physikalisch einschränkend sind. Bis zu 70 Prozent der Patient*innen entwickeln hypertrophe Narben nach Verbrennungen. Hypertrophe Narben und Keloide zählen zu den pathologischen Narben, wobei erstere wesentlich häufiger vorkommen. (38) Makroskopisch heben sich hypertrophe Narben meist von der Haut ab, sind unelastisch, können Schmerzen und Juckreiz hervorrufen und stellen ein Risiko für Kontrakturen dar (16). Keloide jedoch wachsen über den eigentlichen Wundrand hinaus, was hypertrophe Narben nicht tun. Nur bei hypertrophen Narben besteht die Möglichkeit einer spontanen Rückbildung. Keloide können zu Juckreiz und vor allem auch zu lokaler Überempfindlichkeit (Hyperästhesie) führen. (39) Sie infiltrieren in das gesunde Gewebe, entwickeln sich über Monate bis Jahre und sind oft sehr therapieresistent (16).



Abbildung 7: Keloid über dem Handgelenk (40)

Folgende Risikofaktoren sind zu nennen:

- Eine lange Heilungszeit, insbesondere über drei Wochen
Dies ist oft bei tiefen zweit- und drittgradigen Verbrennungen der Fall (16)
- Eine lange inflammatorische Phase in der Wundheilung (16)
- Stellen, welche viel Spannung und Dehnung ausgesetzt sind, da hier vermehrt Myofibroblasten aktiviert werden (38)

Bei höhergradigen Verbrennungen werden tief gelegene, große Fibroblasten aktiviert. Diese produzieren mehr Kollagen und weniger Kollagenasen als in herkömmlichen Narben. (38) Eine überschießende Bindegewebsbildung ist Mitgrund für die beiden oben genannten Folgen (6). Auch die Zytokine TGF- β und PDGF sind erhöht sowie eine vermehrte Präsenz von Myofibroblasten liegt vor (16). Myofibroblasten sorgen mit ihren kontraktile Eigenschaften dafür, dass sich das Wundareal über die Zeit hinweg verkleinert. Bei einer Dysregulation dieser sind Narbenkontrakturen die Folge. (6) Insbesondere an Gelenken kommt es dann zu einem Verlust der Bewegungsfreiheit (15).

Die Prophylaxe der aberranten Narbenbildung gehört zu einer wichtigen therapeutischen Strategie. Neben der Vermeidung von Infektionen gilt hier die frühe Exzision als effektivste Maßnahme. (38)

Zu den Therapiemöglichkeiten beider Narbenformen zählen unter anderem diverse Pharmaka, Narbenmassagen, das Lösen von Kontrakturen, die Narbenexzision und die Laser-Therapie (16).

1.9 Stammzellen

Es existieren bereits viele therapeutische Ansätze in der Behandlung von Verbrennungswunden, wie etwa eine gute Wundversorgung oder chirurgische Eingriffe (41). Die Wundexzision und die darauffolgende Hauttransplantation stellen bewährte Therapien in der Behandlung höhergradiger Verbrennungen dar. Vor allem autologe Haut ist aber je nach Verbrennungsausmaß nicht immer verfügbar. (42) Darüber hinaus ist die Erhaltung allogener und xenogener Hauttransplantate durch eine immunologische Abstoßung manchmal nur von kurzer Dauer (43). Auch konnten trotz der bereits großen Auswahl und Verfügbarkeit noch keine perfekte Wundauflage oder Hautersatzmaterial gefunden werden (44). Die Entwicklung weiterer Therapien für Verbrennungsoffer ist daher unabdingbar.

Stammzellen sind undifferenzierte Zellen des menschlichen Körpers (45), die durch ihre charakteristischen Eigenschaften ein Leben lang verlorene Zellen ersetzen und so neues Gewebe und Organe bilden können (46). Sie kommen in embryonalen, fetalen und adulten Lebensphasen vor (45) und weisen folgende Charakteristika auf (46):

- Fähigkeit der Selbsterneuerung (Self-Renewal)
- Fähigkeit der asymmetrischen Vervielfältigung (Proliferation)
- Fähigkeit der Differenzierung in andere Zellarten

Verschiedene Arten von Stammzellen haben verschiedene Differenzierungspotenziale. Embryonale Stammzellen finden sich pränatal in der Zygote und der Blastozyste. (45) Sie sind totipotent und pluripotent und können sich in alle drei Keimblätter, das Ektoderm, das Mesoderm und das Entoderm weiterentwickeln (44). Adulte Stammzellen sind multipotent und können sich deshalb nur in bestimmte gewebsspezifische Zellen umwandeln (45). Man findet sie unter anderem im Herz, der Haut, der Leber, im Knochenmark und Hirn (46). Diese gewebsspezifischen Stammzellen residieren in den entsprechenden Organen und

kommen zum Einsatz sobald ein Organschaden entsteht (45). Sie differenzieren sich also zu Zellen ihres Ursprungsgewebes (47).

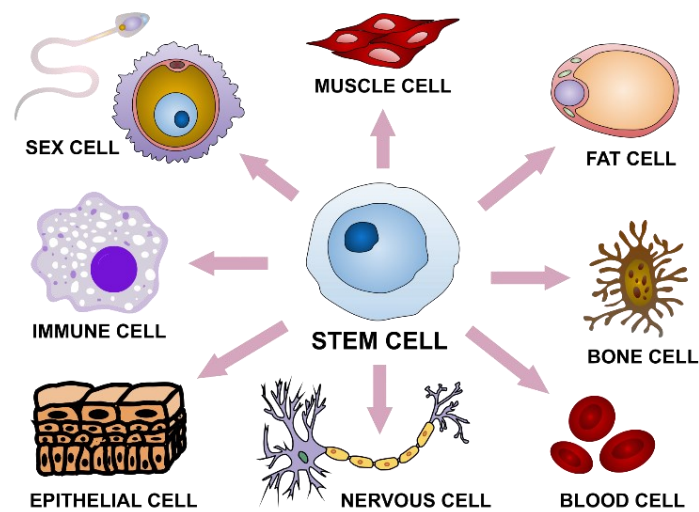


Abbildung 8: Stammzellendifferenzierung in verschiedene Gewebszellen (48)

Residente Stammzellen in der Haut tragen zur Wundheilung von Verbrennungswunden bei und es hat sich gezeigt, dass auch die parakrinen Faktoren von mesenchymalen Stammzellen (MSCs) therapeutisches Potenzial haben (41). Diese Art der Stammzellen sind die bekanntesten (45) und meist untersuchten adulten Stammzellen (49). Mesenchymale Stamm- oder Stromazellen (50) wurden das erste mal im Jahre 1968 von A. J. Friedenstein aus murinem Knochenmark isoliert und kultiviert (51).

Folgende Minimalkriterien müssen zutreffen, um MSCs als solche bezeichnen zu dürfen (52):

- Plastik-Adhärenz in Standardkulturbedingungen
- Expression der Oberflächenmoleküle: CD105, CD90, CD73
- Fehlen der Oberflächenmoleküle: CD34, CD45, CD14 und CD11b, CD79a, CD19 und HLA-DR
- Trilineare Differenzierung

Diese fibroblastenartigen Zellen können sich in verschiedene Zelltypen mesodermalen Ursprungs differenzieren. Dazu zählen Osteoblasten, Adipozyten und Chondrozyten (50). Sie besitzen nur einen geringen Anteil an MHC-Klasse-I-Molekülen, was sie vor natürlichen Killerzellen schützt (53). Weiters können sie sich durch die Abwesenheit von MHC-Klasse-II-Molekülen den CD4-T-Lymphozyten und so einer Immunreaktion entziehen (52). MSCs sind hypoimmunogen und haben die Fähigkeit mit Immunzellen zu interagieren und eine Alloreaktivität zu unterdrücken (53).

MSCs kommen in fast allen Bindegeweben des adulten Körpers vor (54) und haben daher eine Vielzahl an zugänglichen Quellen. Sie werden in der Regel aus dem Fettgewebe (adipose-derived, AD-MSCs), dem Knochenmark (bone marrow, BM-MSCs) oder der Nabelschnur (umbilical cord, UC-MSCs) gewonnen (51). Das Fettgewebe stellt neben dem Knochenmark die am häufigsten verwendete Quelle für mesenchymale Stammzellen dar (55). Durch die Liposuktion sind AD-MSCs zugänglich und können leicht aus dem Fettgewebe gewonnen werden (56). Bei der Beschaffung von AD-MSCs ist die Effektivität der Isolation bis zu 500 mal höher als bei der Gewinnung von BM-MSCs aus dem Knochenmark (50). AD-MSCs kamen in den letzten Jahren immer mehr zum Einsatz (56). Nachteilig ist, dass trotz der großen Präsenz des subkutanen Fettgewebes im Körper (47) bei schwerwiegender Fettatrophie keine AD-MSCs entnommen werden können. Darüber hinaus dauert die Gewinnung und Aufbearbeitung länger als bei BM-MSCs. (54)

Mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark weisen eine hohe Stabilität in der Kultur auf und sind einfach in der Aufbereitung (54). Der Gewinn des Knochenmarks mit den enthaltenen BM-MSCs ist jedoch schmerzhaft, bedarf einer Allgemeinanästhesie und die Patient*innen müssen mehrere Tage lang im Krankenhaus bleiben (57). Weiters besteht das Risiko einer Infektion des Knochens (54).

Die Nabelschnur wird nach der Geburt nicht mehr gebraucht und stellt daher eine schmerzlose und kostengünstigere Stammzellquelle als beispielsweise das Knochenmark dar (58). UC-MSCs können aus der Wharton Sulze, der Amnionmembran beziehungsweise dem äußeren Nabelschnurfutter und der perivaskulären Region gewonnen werden (59). Die Beschaffung dieser Stammzellen ist nicht invasiv (60), günstig (61), schmerzlos und die Zellen haben

eine schnellere Selbsterneuerung als BM-MSCs. Jedoch ist der Zugang zu dieser Art der MSCs weitaus kleiner als der zu AD-MSCs oder BM-MSCs und es bedarf diverser Tests um die Gesundheit ihres Genoms zu prüfen. (54)

MSCs finden bereits bei diversen Krankheiten Einsatz, vor allem bei jenen mit einer immunologischen oder inflammatorischen Komponente (50). Neben der Fähigkeit durch Sekretion verschiedener Faktoren die Immunantwort zu bremsen, haben sie auch das Potenzial Fibroblasten und Keratinozyten mittels Chemotaxis an den Wundherd herbeizurufen und die Angiogenese in der Wundheilung zu fördern (51). Die Verwendung von MSCs ist im Vergleich zu embryonalen Stammzellen frei von ethischen Konflikten und sie sind jene Stammzellen, welche am öftesten in klinischen Studien eingesetzt werden (62).

1.10 Zielsetzungen dieser Diplomarbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist es, einen Überblick über die Wirkung mesenchymaler Stammzellen in präklinischen Tierversuchsstudien zu geben. Am Ende soll die Frage beantwortet werden, ob diese Art der Stammzellen Potenzial für den Einsatz an menschlichen Verbrennungsoffern bieten.

2 Material und Methoden

Bei der vorliegenden Diplomarbeit handelt es sich um einen Literaturreview über die neuesten Studien der mesenchymalen Stammzellen (MSCs) und ihren Einsatz in der Verbrennungsmedizin. Das Hauptaugenmerk wurde auf prospektive, kontrollierte Interventionsstudien gelegt. Bei den verwendeten Arbeiten handelt es sich um präklinische Tierversuchsstudien, die die Verwendung der MSCs bei Verbrennungswunden beschreiben. Neben den Tierversuchsstudien wurden auch Case Reports ab acht Personen mit in diese Arbeit aufgenommen.

Die Literaturrecherche wurde über die Suchoberfläche „Pubmed“ mit der Datenbank „Medline“ durchgeführt (21.04.2023). Zu Beginn hat man eine Suche über das automatische „Term Mapping“ mit den Begriffen „Burns“, „Stem cells“ und „Animals“ vollzogen, um sich einen allgemeinen Überblick über das Thema zu machen. Dann wurde eine Schlagwortsuche im indexierten „Medline“ Bereich durchgeführt. Hier wurden die „MeSH“ – Terme „Mesenchymal stem cells“ und „Burns“ verwendet und miteinander kombiniert. 164 Artikel trafen auf die Suchanfrage zu. Die Suche wurde um den Filter „Free full text“ ergänzt und die „Results per year“ Zeitskala wurde auf das Jahr 2010 gestellt. Anhand der Titel, der Kurzfassungen und der Volltexte wurde entschieden, ob man einen Artikel miteinbezog oder nicht. Am Ende trafen 25 Arbeiten auf die Ein- und Ausschlussbedingungen zu. Danach wurde eine Stichwortliste erstellt und eine Suche im nicht-indexierten Bereich gemacht, um die Studien zu finden, welche noch nicht mit „MeSH“-Termen versehen waren.

Folgende Suchanfrage wurde gestartet:

```
(MSC[tw] OR MSCs[tw] OR mesenchymal stem[tw] OR mesenchymal stromal[tw] OR bone marrow stem[tw] OR bone marrow stromal[tw] OR Wharton Jelly cell*[tw] OR mesenchymal progenitor[tw] OR adipose-derived stem[tw] OR umbilical cord stem[tw]) AND (burn[tw] OR burns[tw]) NOT medline[sb]
```

Nach Eingrenzung der Suchkriterien trafen aus 89 Treffern 23 Studien auf die Bedingungen zu. Weiters wurde noch eine Freitextsuche durchgeführt. Die Suchanfrage war hier ident mit der im nicht-indexierten Bereich, mit der Ausnahme,

dass man am Ende den Term „NOT medline[sb]“ wegließ. Hier stimmten aus insgesamt 528 gefundenen Arbeiten neun mit den Bedingungen überein. Duplikate der vorherigen Suchanfragen wurden weggelassen. Am Ende konnten durch die Aufarbeitung der Referenzartikel der verwendeten Studien noch drei weitere Arbeiten gefunden werden.

Für diese Diplomarbeit wurde sprachlich nur englische Literatur miteinbezogen und nur die neuesten Artikel ab dem Jahr 2010 bis 2023 verwendet. Man studierte die gefundenen Publikationen und es wurde trotz der Ungleichheit der Studien versucht eine Einteilung zu machen. Die gefundenen Forschungsarbeiten ließen sich in Gruppen unterteilen. Die Gruppen wurden bezüglich der Herkunft der mesenchymalen Stammzellen erstellt, also aus dem Knochenmark, der Nabelschnur, dem Fettgewebe und der Plazenta. Die weiteren Unterteilungen entstanden abhängig von der Häufigkeit der Vorkommnisse in den Studien. Beispielsweise wurden Nagetiere öfters verwendet als Schweine oder Schafe und daher diese Versuchstiere zuerst beschrieben. Ebenso wurden Kontaktverbrennungen mit heißen Medien häufiger durchgeführt als andere Verbrennungsarten und auch hier das Augenmerk zuerst auf diese Kategorie gelegt.

Aufgrund der Heterogenität der Studien war es nötig genaue Ein- und Ausschlusskriterien festzulegen.

2.1 Einschlusskriterien

Präklinische Tierversuchsstudien beziehungsweise Case Reports wurden eingeschlossen, wenn folgende Kriterien zutrafen:

- Englische Arbeiten
- Ab dem Jahr 2010
- Freier Zugang und Volltext Arbeiten
- Mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark, dem Fettgewebe, der Nabelschnur oder aus der Plazenta
- Case Reports ab acht Personen
- Verbrennungen mittels heißer Medien, Radiation, Säuren und Verbrühungen

2.2 Ausschlusskriterien

Präklinische Tierversuchsstudien beziehungsweise Case Reports wurden aufgrund folgender Kriterien ausgeschlossen:

- Arbeiten in Französisch, Chinesisch
- Keine Kurzfassung, kein Volltext oder kein Zugang zu den Arbeiten
- Reine *in vitro* Studien
- Reviews, Single Case Reports
- Pädiatrische oder geriatrische Patient*innen
- Älter als aus dem Jahr 2010
- Kein Vorkommen von MSCs oder Verbrennungen
- Fokus der Arbeit auf chronische Wunden wie durch Diabetes Mellitus
- Alkali Verbrennungen der Kornea im Auge
- Heterotope Ossifikation
- Inhalationsverbrennungen der Lunge
- Anwendung der MSCs bei Hautkrankheiten
- Muskuloskelettale Verletzungen
- Fokus auf Verletzungen der inneren Organe
- Laser-induzierte Hautverletzungen
- Elektrische Verbrennungen
- Kälteverbrennungen

3 Ergebnisse

Mit der oben genannten Suchstrategie konnten insgesamt 60 präklinische Tierversuchsstudien inklusive drei Case Reports gefunden werden. In 23 Studien wurden AD-MSCs verwendet. In elf davon stammten die MSCs von Ratten ab, in vier von Menschen, in drei von Mäusen und in je einer Studie vom Schwein beziehungsweise vom Schaf. In drei Experimenten war der Ursprung der AD-MSCs nicht genau beschrieben. Der Einsatz von BM-MSCs wurde in 17 Studien untersucht. Davon entsprangen zehn von Ratten, drei von Menschen und wiederum drei von Mäusen. Die UC-MSCs, welche in 15 Experimenten verwendet wurden, stammten alle von Menschen ab. Zwei Publikationen gaben humane Plazentas als Quelle der MSCs an. In den genannten präklinischen Tierversuchsstudien wurden die MSCs entweder autolog, allogon oder xenogen verwendet. Die Publikationen mit AD-MSCs und BM-MSCs arbeiteten am häufigsten mit allogenen Zellen, während man die UC-MSCs nur xenogen einsetzte.

Die drei klinischen Studien zeigen den Einsatz autologer oder allogener AD-MSCs, BM-MSCs oder UC-MSCs am Menschen.

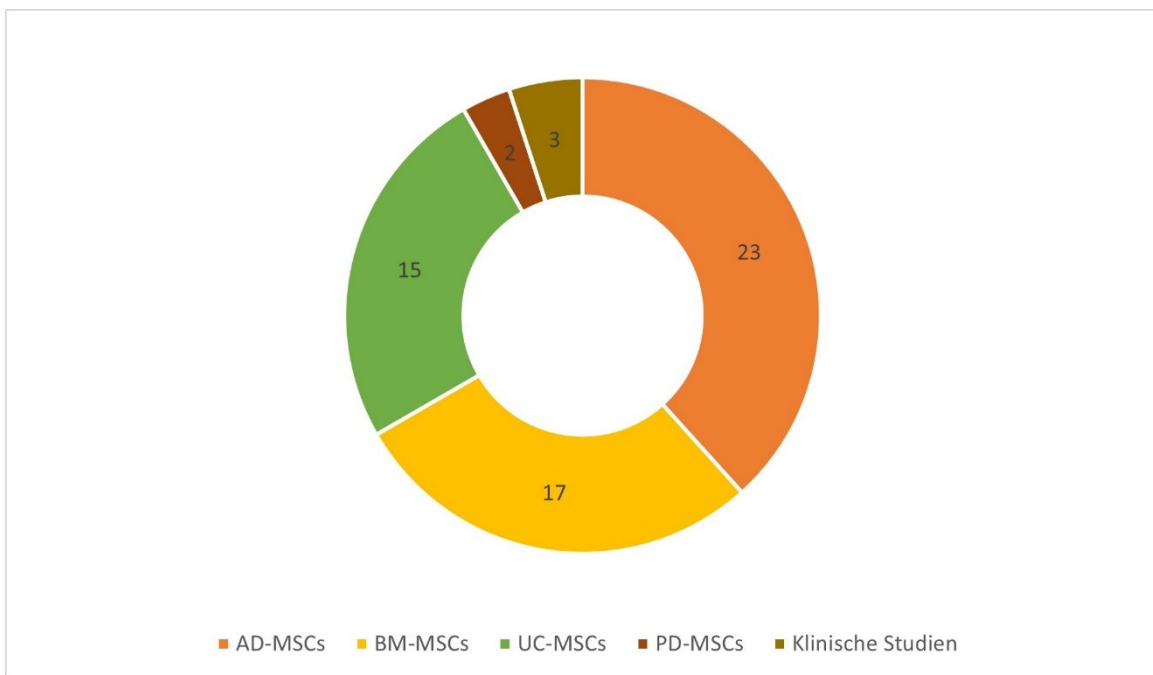


Abbildung 9: Anzahl der Studien eingeteilt nach Ursprung der Stammzellen

Den Großteil der Verbrennungsarten in den präklinischen Studien stellten Kontaktverbrennungen mittels heißer Medien dar. Diese kamen in 39 Studien vor. Verbrühungen wurden in 13, Strahlenschäden in zwei und Säureverbrennungen in einem Experiment beschrieben. In einer Publikation verwendete man einen Bunsenbrenner um die Verbrennungen zuzufügen und in einer anderen ist nicht eindeutig klar, ob die Verbrennungen mittels heißer Feststoffe oder heißer Flüssigkeiten indiziert wurde.

Bezüglich des Verbrennungsgrades wurden den Tieren in 25 Studien zweitgradige- und ebenso in 25 Studien drittgradige Verbrennungen zugefügt. In den zwei Radiations-Studien wurde der Verbrennungsgrad nicht angegeben und auch nicht in einem Experiment, welches die Verbrennung von Nagetierpfoten beschreibt. Aus den restlichen vier Studien geht nicht hervor, ob Verbrennungen vom Grad 2 oder 3 vorlagen, jedoch ist das Vorgehen des Verbrennungsablaufes genau beschrieben.

Die präklinischen Studien arbeiteten mit mindestens einem (63) und maximal 126 (64) Versuchsobjekten pro Studie. In den drei klinischen Studien wurden entweder acht, zehn oder 60 Menschen eingeschlossen.

Der Großteil der Experimente verwendete männliche, einige auch weibliche Versuchstiere. Bezüglich der Rattenarten waren vor allem Sprague Dawley, Wistar oder Albino Ratten vertreten während bei den Mäusen insbesondere C57BL/6, SCID, Balb/c oder Nacktmäuse zum Einsatz kamen. Yorkshire-Schweine wurden in zwei von drei Studien verwendet.

Die variable Beobachtungsdauer der Versuchstiere lag zwischen zwei Tagen (65) und 20 Wochen (66). Die Tiere wurden nach der Wundbehandlung jedoch vorwiegend 14, 21 oder 28 Tage lang beobachtet.

Die Kontrollgruppen in den Studien erhielten nach der Verbrennung zumeist nur Phosphat-Pufferlösung (phosphate buffered saline, PBS), einen Mullverband oder gar keine Therapie. Andere Kontrollgruppen wurden mit herkömmlichen Therapien wie etwa Silbersulfadiazin (67) behandelt.

Auch die Nutzung der Stammzellen an Verbrennungswunden variierte zwischen den Studien. Zum einen wurden die MSCs unterschiedlich auf den Wunden angewandt, entweder lokal als Injektion, topisches Gel oder Spray, gemeinsam mit einem Gerüst oder systemisch in den Blutkreislauf injiziert. Zum anderen unterscheiden sich die Menge der verwendeten Stammzellen, die Zeit der Applikation und die Anzahl der Wiederholungsapplikationen.

Auch die Wundgröße und die Anzahl der Wunden pro Tier variieren zwischen den Studien. In manchen Versuchen bekamen die Tiere zusätzlich zur Anästhesie auch eine Analgesie oder Antibiotika verabreicht. Andere desinfizierten die frischen Verbrennungswunden, verwendeten zusätzliche Abdeckungen für die Wunden oder führten später ein Wunddebridement durch, während andere die Wunden nach der Stammzelltherapie offenließen.

Auch wurden in den Studien nicht immer dieselben Endpunkte untersucht.

Die Vorgehensweise der Literaturrecherche wird mittels eines Flussdiagrammes dargestellt:

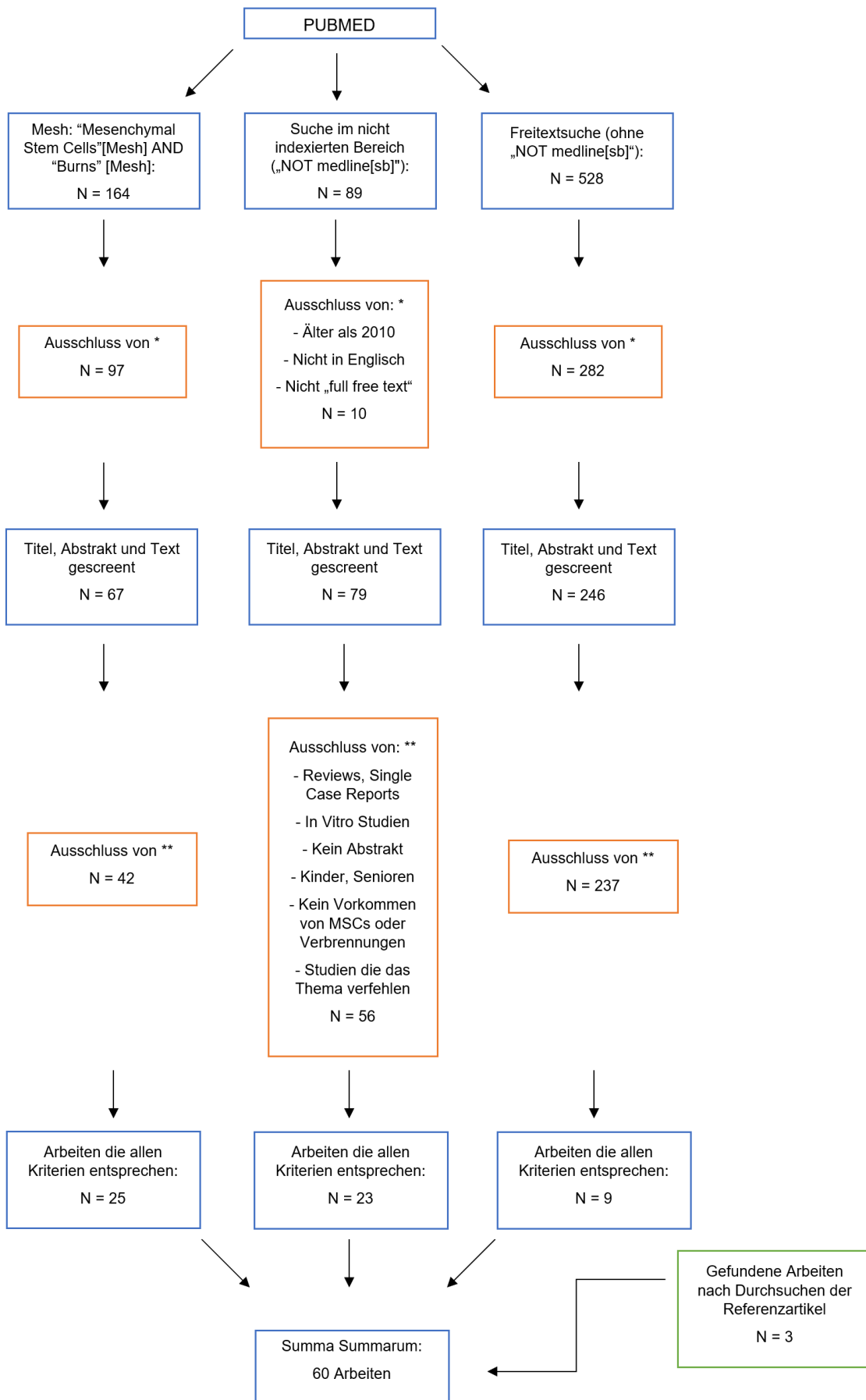


Abbildung 10: Flussdiagramm

3.1 Mesenchymale Stammzellen aus dem Fettgewebe (AD-MSCs)

Die intrakutane Injektion von AD-MSCs an zweitgradigen Verbrennungswunden in einem Rattenmodell zeigte ein besseres Haarwachstum nach einer Woche verglichen mit der Gruppe, welche mit PBS therapiert wurde. Auch wies die Stammzellgruppe nach den ersten zwei Wochen ein verkleinertes Wundareal auf. Die Anzahl der lebenden Haarfollikel, der CD31-positiven Zellen und die Blutgefäßdichte stiegen in der Versuchsgruppe in der dritten und vierten Woche an. Darüber hinaus kam es im Vergleich zur PBS-Kontrollgruppe zu einer Erhöhung des PCNA-Index in der dritten Woche. (68) Das PCNA kommt in Körperzellen vor und hängt mit der Zellproliferation und der DNA-Replikation zusammen (69).

Die Gegenüberstellung einer zweimaligen AD-MSC-Injektion mit einer unbehandelten Kontrollgruppe legte dar, dass die Behandlung mit mesenchymalen Stammzellen am Tag 14 im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einem kleineren Wundareal und einer geringeren Menge an Lymphgefäßen im Narbengewebe führte (70).

Weiters wurden autologe und allogene AD-MSCs verglichen und gleichzeitig deren Injektionsabstand zu Verbrennungswunden beurteilt. Die Ratten in der Kontrollgruppe erhielten eine K-NAC (*N*-acetylcysteine) Injektion in das Wundzentrum. Die Gruppe, in der autologe AD-MSCs in das Wundzentrum injiziert wurden, Gruppe I, und die, in der autologe AD-MSCs 0,5 cm weit vom Wundrand entfernt injiziert wurden, Gruppe II, zeigten am Tag 15 eine bessere Wundheilungsrate als die Kontrollgruppe. Eine schnellere Wundheilung hatte Gruppe II im Vergleich zur Gruppe I. Darüber hinaus wies Gruppe I auch einen besseren Heilungseffekt gegenüber der Gruppe III, in der allogene AD-MSCs in das Wundzentrum injiziert wurden, auf. Gruppe IV, die allogene AD-MSCs 0,5 cm weit vom Wundrand entfernt injiziert bekam, zeigte hier eine schnellere Wundheilung als Gruppe III. (71)

In einer anderen Studie wurden die Therapie mit der menschlichen stromavaskulären Fraktion (SVF), mit der Anwendung von plättchenreichem Plasma (PRP) und deren Kombination verglichen (72). Die SVF ist ein Teil des Fettgewebes, der Fettstamm- beziehungsweise Stromazellen (AD-MSCs), endotheliale Zellen, glatte Muskelzellen, Makrophagen, Lymphozyten und weitere Zellen beherbergt (73). Das PRP ist ein behandeltes Blutplasma mit vielen Wachstumsfaktoren wie etwa VEGF,

TGF- β und PDGF (74). Es sollte aufgeklärt werden, ob AD-MSCs eine höhere Potenz erlangen, wenn sie mit PRP kombiniert werden. Die gemeinsame Anwendung der SVF mit PRP zeigte bereits nach sieben Tagen die kleinste Wundfläche und die meisten Hautanhangsgebilde und Blutgefäße verglichen mit allen anderen Gruppen. Die SVF- und die PRP-Einzelgruppen hatten je eine dickere Epithelschicht und eine dichtere und besser organisierte Hautschicht als die Kontrollgruppe, welche nur eine Kochsalzlösung erhielt. Zusätzlich zeigte die SVF-Gruppe mehr Hautanhangsgebilde und Blutgefäße als die Kontrollgruppe. Nach sieben Tagen waren die Wunden in den drei Interventionsgruppen allmählich trocken und verkrustet, während die in der Kontrollgruppe noch nass erschienen. (72)

Man fand heraus, dass der Einfluss einer Verbrennung auf AD-MSCs nicht so ausgeprägt ist wie auf Adipozyten oder der SVF und dass der Entzündungsvorgang im Fettgewebe nach einer Verbrennung von Adipozyten und der SVF vermittelt wird. Im Vergleich zur unverbrannten Gruppe kam es nach 48 Stunden zu einer Erhöhung der IL-1 β -mRNA in Adipozyten und der SVF. Darüber hinaus erniedrigte sich die mRNA des Entzündungsmediators IL-6 in AD-MSCs, während sie sich in Adipozyten nach einer Verbrennung erhöhte. Die mRNA für MCP-1 war in AD-MSCs erniedrigt und die TNF- α -mRNA in Adipozyten erhöht. (75) Das MCP-1 gehört zur Gruppe der Chemokine und reguliert Entzündungsprozesse durch die Aktivierung von Entzündungszellen (76). Auch besitzt es die Fähigkeit, durch noch nicht geklärte Mechanismen, die Angiogenese zu fördern (77).

Die Injektion von transplantiertem Fettgewebe wurde entweder allein (Gruppe III) oder gemeinsam mit AD-MSCs (Gruppe I) durchgeführt und zeigte sich effektiv im Wundheilungsprozess. Die Gruppen I, II (alleinige AD-MSC-Injektion) und III hatten am Tag 14 eine verkleinerte Wundfläche im Vergleich zur PBS-Kontrollgruppe. Weiters lieferten die Gruppen I und II eine geringere Wundtiefe an den Tagen sieben und 14, während dieser Effekt in Gruppe III nur am Tag 14 vorhanden war. Die ersten beiden Interventionsgruppen zeigten eine verringerte Zellapoptose am Tag fünf. (78)

Ein anderes Experiment setzte sich mit dem lokalen Schmerz in Verbrennungsnarben an Rattenpfoten auseinander. Nachdem autologe AD-MSCs subkutan injiziert wurden, wies diese Gruppe drei Wochen nach der Therapie eine

höhere mechanische Schwelle auf, als die Gruppe mit der injizierten Kochsalzlösung. Darüber hinaus zeigte die Kontrollgruppe vier Wochen nach der Injektion lokal erhöhte Werte der inflammatorischen Marker COX-2, i-NOS und n-NOS. (79)

3.1.1 AD-MSCs in Kombination und im Vergleich mit herkömmlichen Therapien

Die tägliche Therapie mit einer einprozentigen Silbersulfadiazin (SSD) -Creme wurde der einmaligen Injektion von AD-MSCs gegenübergestellt. Die Stammzellgruppe hatte die höchste Wundschlussrate und Kollagenablagerung am Tag 21 im Vergleich zur nicht therapierten Kontrollgruppe. Auch zeigte die Stammzellgruppe am Tag 14 die niedrigste Zahl an Entzündungszellen, den höchsten Anteil an Fibroblasten und die größte Genexpression für TGF- β und VEGF. Eine bessere Angiogenese-Rate, verglichen mit der nicht therapierten Kontrollgruppe, konnte in der Stammzellgruppe an den Tagen sieben, 14 und 21 gefunden werden. (80)

Die Wirkung der lokalen SSD-Creme wurde auch mit einem AD-MSC-konditionierten Medium (AD-MSC-CM) in Gel-Form verglichen. In den Placebogruppen kamen MEM- α und ein sogenanntes „fresh-frozen plasma“ (FFP) zur Anwendung, in dem auch die AD-MSCs kultiviert wurden. Die CM-Gruppe zeigte am Tag 21 eine bessere Wundreduktionsrate als die unbehandelte Kontrollgruppe. Weiters konnte das schnellste Haarwachstum in der CM-Gruppe gefunden werden. (81)

Die Kombination von Aloe Vera und AD-MSCs (Gruppe I) zeigte eine geringere Wundrötung und Inflammation an den Tagen 14 und 28 verglichen mit der alleinigen Anwendung von Aloe Vera (Gruppe II). Die Interventionsgruppe mit den Stammzellen hatte weiters eine höhere Wundschlussrate an den Tagen sieben und 14. Hier war auch der mRNA-Level des Entzündungsfaktors IL-1b bis zum Ende der Studie am Tag 28 niedriger. Darüber hinaus konnte ein höherer Wert an der bFGF-mRNA an den Tagen 14 und 28 gefunden werden. Am 14. Studientag wurde in Gruppe I eine komplette und in Gruppe II eine inkomplette Re-Epithelisierung beobachtet. Die Gruppe, die mit der Kombination aus AD-MSCs und Aloe Vera behandelt wurde, zeigte wiederum eine höhere Zahl an neu gebildeten Blutgefäßen

am Tag sieben und mehr Fibroblasten und Fibrozyten am Tag 14. Während die Bindegewebszellen in der Interventionsgruppe mit den Stammzellen am 28. Tag wieder stark absanken, konnten zur selben Zeit besser organisierte Bindegewebsbündel in der Dermis gefunden werden. Ebenso stieg der Hydroxyprolin-Level, welcher als Indikator für den Kollagen-Level dient, am 14. Tag im Vergleich zur Gruppe II an. (82)

Die Studie von *Hermeto et al.* (83) legt dar, dass die gemeinsame Verwendung von lokalen AD-MSCs und Insulin im Vergleich zur alleinigen Therapie mit Stammzellen keinen Benefit brachte.

3.1.2 Vorkonditionierte AD-MSCs

Die Vorkonditionierung von Stammzellen mit Curcumin, einem Teil des Gewürzes Kurkuma, wurde mit unkonditionierten AD-MSCs verglichen und deren Anwendungen auf Säureverbrennungen getestet. Nach der Kultur der AD-MSCs in einem Curcumin-haltigen Medium erhöhten sich das Proliferationspotenzial, die Migrationsfähigkeit und die parakrine Sekretionsfähigkeit dieser Zellen. *In vivo* zeigte die Curcumin/AD-MSC-Gruppe im Vergleich zu allen anderen Gruppen die stärkste Wundreduktion bis zum Tag 20, die früheste Re-Epithelisierung und die vorteilhafteste Anordnung an Epidermis und Dermis. Weiters fanden sich hier die geringste Anzahl an Entzündungszellen, die höchste Kollagenablagerung und die ausgeprägteste Granulation. Neben der niedrigsten Rate an IL-1 β -, IL-6- und TNF- α -mRNA und Proteinen, fand sich in der vorkonditionierten Gruppe auch der höchste Anteil an VEGF, HGF, HIF-1 α , TGF- β 1, FGF-2, COL1a1 und SOD1. (84) Die Superoxid Dismutase 1 (SOD1) ist ein Enzym, dass für die Umwandlung von Superoxiden in weniger schädliches Wasserstoffperoxid zuständig ist (85). Der *in vivo* Vergleich der unkonditionierten AD-MSCs mit der Kontrollgruppe, welche nur eine Kochsalzlösung injiziert bekam, zeigte die gleichen Ereignisse wie oben beschrieben. Diese Resultate waren ebenfalls statistisch signifikant mit der Ausnahme der Erhöhung von SOD1. (84)

Eine weitere Studie führte die Transfektion von RUNX2 oder RUNX2-shRNA (RUNX2-Unterdrücker) mit Lentivirus Plasmiden in humanen AD-MSCs durch. Zuerst zeigte sich *in vitro*, dass die Beziehung zwischen dem Transkriptionsfaktor RUNX2 und dem Adhäsionsmolekül E-Cadherin wichtig für die epitheliale

Differenzierung von AD-MSCs ist. Durch die Hochregulierung von RUNX2 in den AD-MSCs erhöhte sich nicht nur das E-Cadherin, sondern auch das Zytokeratin CK18 und das Protein ZO-1. Die hochregulierten RUNX2-AD-MSCs zeigten im Vergleich zu den runterregulierten RUNX2-shRNA AD-MSCs einen höheren Wundschlussindex in einem Mausmodell. Darüber hinaus hatten die RUNX2 reichen Zellen *in vivo* eine höhere Überlebensrate und ein erhöhtes Differenzierungspotential. Die Transfektion der AD-MSCs mit RUNX2 brachte weiters eine verbesserte Re-Epithelisierung und eine dickere Dermis hervor. (86)

3.1.3 AD-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste

Die Therapie mit AD-MSCs auf einem Kollagen-Pullulan-Hydrogel (Gruppe I) wurde einer Stammzellinjektion (Gruppe II) gegenübergestellt (87). Pullulan ist ein natürliches, wasserlösliches und von Pilzen abstammendes Polysaccharid mit antimikrobiellen Eigenschaften (88). Die Gruppe I hatte neben der schnellsten Wundheilung auch die früheste Re-Epithelisierung. Gruppe II und die reine Hydrogel-Gruppe (Gruppe III) zeigten am Tag zehn eine kleinere Wundfläche als die Kontrollgruppe, welche keine Therapie erhielt (Gruppe IV). Die Interventionsgruppen wurden alle zweimal therapiert. Gruppe I entwickelte im Vergleich zu den Gruppen III und IV eine höhere Anzahl an Mikrogefäßen, mehr CD31-positive Zellen und eine kleinere Narbe. Eine höhere Anzahl an Mikrogefäßen konnte auch in der Stammzellgruppe verglichen mit den letzten zwei Gruppen gefunden werden. Weiters bildete Gruppe I mehr von den proangiogenen Faktoren MCP-1, SDF-1 und VEGF und eine verringerte Genexpression von dem profibrotischem Timp1 und dem proinflammatorischem TNF- α als die Kontrollgruppe IV. Dieselbe Studie führte ein zweites Experiment durch, in dem die Anwendung von sortierten AD-MSCs mit den Oberflächenmarkern CD26 und CD55, welche für proangiogene Fähigkeiten stehen, mit jener mit unsortierten AD-MSCs verglichen wurde. Die Behandlung mit den proangiogenen, sortierten AD-MSCs zeigte eine frühere Re-Epithelisierung und mehr Hautanhangsgebilde. (87)

Die Behandlung von Verbrennungswunden mit AD-MSCs integriert in ein Kollagen-Chitosan-Gerüst zeigte in 50 Prozent der Versuchstiere bereits nach zwei Wochen eine epidermale Schicht. Ebenfalls nach zwei Wochen wies die Kontrollgruppe, die

mit dem Gerüst ohne Stammzellen behandelt wurde, keine Anzeichen einer epidermalen Schicht auf. (89)

Die Therapie mit einem IPN-Hydrogel aus Typ-I-Kollagen, Gellangummi und Magnesiumchlorid und beladen mit AD-MSCs (Gruppe I) zeigte die kleinste Wundfläche an den Tagen drei und sieben im Vergleich zu allen anderen Gruppen (90). Gellangummi, als ein natürliches Polysaccharid, wird gerne in Kombination mit diversen Wundaufgaben verwendet und kann beispielsweise die Zellproliferation verbessern (91). Gruppe II erhielt ein IPN-Hydrogel mit AD-MSC-CM, Gruppe III bekam ein zellfreies IPN-Hydrogel und Gruppe IV wurde als Kontrollgruppe mit „Tegaderm“ behandelt. Bis zum Ende der Studie am Tag 21 zeigten alle Gruppen eine vollständige Wundheilung, wobei Gruppe II am Tag drei eine kleinere Wunde aufwies als die Gruppen III und IV. Am siebenten Studientag war in Gruppe I die Zahl an PMN-Leukozyten und Makrophagen verglichen mit den anderen Gruppen am geringsten. (90)

Ein Hydrogel bestehend aus SSD, Chitosan-Microspheres (CSM) und fibrinhaltigem Polyethylenglycol (FPEG) wurde allein (Gruppe II) oder in Kombination mit AD-MSCs (Gruppe I) verwendet. Die Stammzellen kamen neun Tage nach der Hydrogel-Applikation zusätzlich auf die Wunden. Die Versuchstiere wurden zuvor mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert. Gruppe II wies an den Tagen vier und sieben eine niedrigere Infektionsrate als Gruppe III auf, welche nur mit einer Salzlösung therapiert wurde (Kontrollgruppe). Darüber hinaus zeigte die Kontrollgruppe eine erhöhte Rate an TNF- α und weniger IL-10 am Tag sieben. In Gruppe I erschienen mehr NG2 und vWF am Tag 21 als in Gruppe III. Verglichen mit Gruppe II besaß Gruppe I eine erhöhte dermale Kollagenablagerung, dickeres Granulationsgewebe, eine definiertere Epidermis- und Dermisgrenze, eine bessere Re-Epithelisierung und weniger Wundschorf. (92) Der vWF ist ein im Blut vorkommendes Glykoprotein welches wichtige Funktionen in der Blutstillung erfüllt (93).

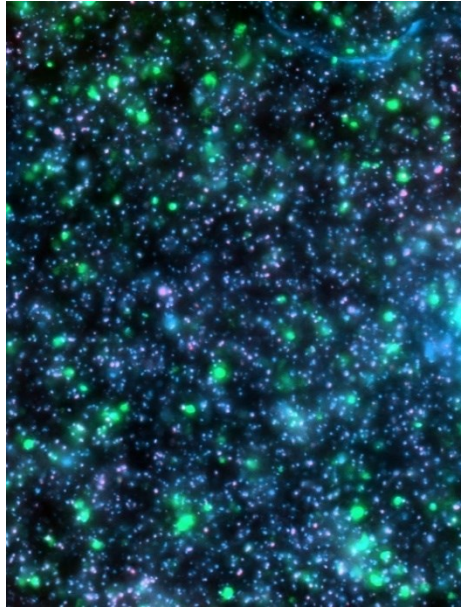


Abbildung 11: MSCs und Makrophagen in einem Hydrogel (94)

Ein anderes Experiment erschuf mithilfe eines 3D-Bioprinters ein Gerüst. Dieses Hydrogel bestand aus Gelatine-Natrium und Alginat. Es wurde entweder mit AD-MSCs (Gruppe II) oder mit S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) als NO-Spender (Gruppe III) oder beidem davon beladen (Gruppe I). (95) Stickstoffmonoxid wirkt antibakteriell und kann unter bestimmten Umständen zur Infektionskontrolle und Wundheilung beitragen (96). Innerhalb der ersten vier Stunden kam es zu einer schnellen Freisetzung des Stickstoffmonoxid, welche in den darauffolgenden fünf Tagen langsam und kontinuierlich wurde. Alle 3D-Konstrukte hatten am Tag sieben eine bessere Wundheilung als die Kontrollgruppe mit Verbandsmull, wobei die Wundstruktur in Gruppe I am regelmäßigsten erschien. Eine komplette Re-Epithelisierung zeigte sich am Tag 14 in allen Gruppen. Gruppe I wies zusätzlich die kleinste Wundfläche, mehr organisiertes Bindegewebe und vollständige Hautstrukturen auf. Darüber hinaus waren in der MSC-SNAP-Kombinationsgruppe an den Tagen sieben und 14 eine höhere Kollagenablagerung und mehr Blutgefäße vorhanden. Auch der proangiogene Faktor VEGF war höher als in allen anderen Gruppen. Die Gruppe II und die Kontrollgruppe zeigten eine höhere Entzündungszellinfiltration als die anderen beiden Gruppen. (95)

Drei verschiedene Nanomembranen, alle basierend auf Zellulose, wurden mit und ohne AD-MSCs an 70 Ratten getestet. Gruppenpaar I erhielt eine Wundaufgabe bestehend aus einer rekonstituierten Membran, Tamarind Xyloglukan, Gellangummi

und Lysozym, mit und ohne AD-MSCs. (97) Die Xyloglukane sind Polysaccharide und finden sich insbesondere in den Samen von Tamarinden (98) während das Lysozym als Hydrolase zum angeborenen Immunsystems gehört und stark antibakteriell wirkt (99). Gruppenpaar II bekam dieselbe Membran nur ohne Tamarind Xyloglukan, wiederum mit (Interventionsgruppe) oder ohne (Kontrollgruppe) AD-MSCs. Gruppe III wurde mit einem „Membracel“ Dressing behandelt. Die Kontrollgruppe erhielt einen Mullverband. Beide Gruppen der Kategorie I, mit und ohne AD-MSCs, zeigten am Tag 30 die niedrigsten akut-inflammatorischen Infiltrate. Die vaskuläre Proliferation war in beiden Gruppen der Kategorie II, mit und ohne AD-MSCs, am Tag fünf am stärksten. Die beste Epithelisierung zeigte sich in beiden Gruppen der Kategorie I im Vergleich zur Kontrollgruppe am Tag 30. Die Gruppen I, II und III hatten mehr Typ I Kollagen am Tag 30 und alle Gruppen mit AD-MSCs eine signifikante Erniedrigung der Wundfläche. Dies zeigte sich zwischen dem fünften und 30. Tag und verglichen mit der Kontrollgruppe. (97)

In einer Studie aus Taiwan wurde die Wirkung humaner AD-MSCs in einer 2D-Suspension mit jener von AD-MSCs in einer 3D-Sphäroid-Form verglichen. Die Stammzellen in der 2D- und in der 3D-Form wurden im Labor erstellt, auf ein Gelatine-basiertes Hydrogel gegeben und mit einer reinen Zellsuspensions-, einer reinen Hydrogel- und einer Kontrollgruppe verglichen. Die Sphäroid-Gruppe zeigte die höchste Wundkontraktionsrate und die kleinste Wundfläche am Tag zehn. Darüber hinaus hatte sie die größte Epidermisdicke, Kollagensynthese und am Tag 14 die meisten Mikrogefäße. Eine geringere Wundverfärbung und Wundraugigkeit konnten an den Tagen zehn und 14 in der 3D-Gruppe im Vergleich zur 2D- und zur reinen Hydrogel-Gruppe gefunden werden. (100)

Die Kombination humaner AD-MSCs mit einer Membran aus Kollagen und Gellangummi zeigte eine höhere Zelladhäsion und Zellproliferation als dieselbe Therapie ohne Gellangummi (63).

3.1.4 AD-MSCs in anderen Tieren

Eine Studie aus den USA verglich den Effekt von Spalthauttransplantaten gemeinsam mit AD-MSCs an sieben Schafen mit je vier Verbrennungen. Auf die Autotransplantate kamen entweder AD-MSCs (Gruppe I), AD-MSC-Kulturmedium

(Gruppe II) oder PBS (Kontrollgruppe). Gruppe I zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe einen stärkeren Blutfluss am Tag sieben, mehr VEGF und eine größere Fläche mit erhaltenem Transplantat am Tag 15. (101)

3.2 Mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark (BM-MSCs)

Die subkutane Injektion von BM-MSCs in einer Verbrennungsstudie mit 90 Albino Ratten zeigte sich vorteilhaft gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe. Während die Interventionsgruppe eine größere Wundkontraktionsrate am Tag sieben hatte, reduzierte sich diese am Tag 14 wieder. In der Kontrollgruppe konnte nach zwei Wochen noch eine Wundkruste nachgewiesen werden, wobei die Verletzung in der Stammzellgruppe eine annähernd normale Haut zeigte. Neben der verkleinerten ADAMs10-Expression konnte hier auch eine Erniedrigung der mRNA von IL-6, TNF- α , MMP-9 und miR-21 am Tag 14 festgestellt werden. (102) Die ADAMs gehören zu den Transmembranproteinen und sind unter anderem für die Zelladhäsion zuständig (103). Die Matrix-Metalloproteasen (MMPs) sind Zinkenzyme, die unter anderem für die Remodellierung der ECM zuständig sind und durch Faktoren wie das IL-1 β , TNF- α , Hitze und UV-Strahlungseinflüsse gebildet werden (104). Diese Kollagenasen führen zum Abbau von fibrillären Kollagenen wie Kollagen Typ I und III. Während sie in normaler Haut nur in geringem Ausmaß vorhanden sind, erhöht sich ihre Konzentration in der Wundheilung. (14) Das HSP-90 α war zur selben Zeit in der Stammzellgruppe erhöht (102). Dieses Protein kann während einer Hypoxie vermehrt von Zellen gebildet werden und führt durch die Stimulation von Fibroblasten zu einer besseren Wundheilung (105).

In einer weiteren Studie von *Xue et al.* (66) konnte eine effizientere Wundheilung in der Interventionsgruppe, die mit humanen BM-MSCs therapiert wurde, im Vergleich zur Kontrollgruppe, die mittels eines Wachstumsfaktor-reduziertem Matrigel behandelt wurde, nach sieben und 14 Tagen nachgewiesen werden. Die vollständige Wundheilung fand hier in der Interventionsgruppe fünf Tage vor der Kontrollgruppe statt. Neben erhöhten mRNA-Werten an Ang-1, Ang-2, CD31 und VEGF ließ sich in der BM-MS-Gruppe auch eine größere Kapillardichte nachweisen. Die Tiere der Interventionsgruppe schnitten beim Klettertest nach zwölf Wochen besser ab als die Kontrollgruppe. Die mit GFP markierten

Stammzellen konnten nicht in inneren Organsystemen nachgewiesen werden, sehr wohl aber lokal um den Wundrand herum und das noch nach Ende der Wundheilung. (66)

Verglichen mit der PBS-Kontrollgruppe zeigte die Behandlung mit xenogenen BM-MSCs sowohl eine bessere Überlebensrate der Versuchstiere ab Tag sieben als auch eine schnellere Wundheilung ab Tag 45. Darüber hinaus wies die BM-MS-Gruppe mehr Blutgefäße am Tag 15 und mehr Granulationsgewebe am Tag 30 auf. (106) In der Stammzellgruppe wurden am Tag sieben weniger CD4- und CD8-positive Zellen, also T-Lymphozyten (107), und an den Tagen 15 und 45 weniger CD4-positive Zellen gefunden. Weiters konnten im Serum am Tag 15 eine erhöhte Konzentration an TGF- β und am Tag 30 vermehrt IL-10 in der PBS-Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die Konzentration an GFP-positiven Stammzellen in den Wunden reduzierte sich im Laufe der Wundheilung, konnte jedoch selbst am 60. Tag noch nachgewiesen werden. (106)

Die lokale Bestrahlung mit 110 Gy für 312 Sekunden führte zum Auftreten von Verbrennungswunden 15 Tage nach der Exposition. Es zeigte sich eine schnellere Wundheilung in der Gruppe, die fünfmal mit parakrinen Peptiden von BM-MSCs injiziert wurde als in der Kontrollgruppe. Klinisch signifikante Unterschiede in der Wundheilung wurden zwischen beiden Gruppen ab dem 36. Tag nach der Verbrennung ersichtlich. Histologisch wies die Interventionsgruppe eine höhere Wundregenerationsrate, weniger Leukozyteninfiltration in der Dermis und Subkutis und mehr reifes Granulationsgewebe auf. (108)

Weiters wurde die Wirkung von MSCs auf ursprünglich unverbrannte Areale, die jedoch zwischen zwei Verbrennungswunden lagen und nachfolgend nekrotisch wurden, in einem Rattenmodell untersucht. In der Versuchsgruppe, die eine systemische Applikation von allogenen Stammzellen erhielt, zeigte sich nach sieben Tagen eine 20-prozentige Verminderung der nekrotischen Areale verglichen mit der PBS-Kontrollgruppe. (109)

3.2.1 BM-MSCs in Kombination und im Vergleich mit herkömmlichen Therapien

Die Wirkung von humanem, intraperitoneal injiziertem BM-MS-Gruppe I) wurde der Anwendung mit einer SSD-Creme (Gruppe II) und einer Kontrollgruppe

(Gruppe III) gegenübergestellt. Die Therapie in den Gruppen I und II fand die ersten 14 Tage täglich statt. Eine schnellere Wundheilung zeigte sich in den Gruppen I und II an den Tagen 14 und 27. Die Kontrollgruppe hatte die geringste Menge an neugebildeter Epidermis nach 15 und 28 Tagen und die geringste Menge an Dermis am Tag sieben. Auch das Faser- und Granulationsgewebe waren hier, an den Tagen sieben, 15 und 28 im Vergleich zu den anderen Gruppen reduziert. Darüber hinaus wies die Kontrollgruppe die höchste Konzentration an neutrophilen Leukozyten und Lymphozyten an den Tagen sieben und 28 auf. Die Menge an Fibroblasten war hier an den Tagen sieben und 15 am geringsten und auch die der Basalzellen war verkleinert. Es wurde ersichtlich, dass Gruppe I am 28. Tag bei all den oben genannten Faktoren bessere Werte erzielte als Gruppe II. Auch zeigte sich der vWF in Gruppe I erhöht. Gruppe I und Gruppe II wiesen die größte Längendichte an Gefäßen an den Tagen sieben und 15 auf. (110)

In einer weiteren Studie wurde die Behandlung von Verbrennungen mit einer Kombination aus Aloe Vera und BM-MSCs (Gruppe I), mit Aloe Vera allein (Gruppe II), mit BM-MSCs alleine (Gruppe III), der Kombination von Chitosan und BM-MSCs (Gruppe IV), nur mit Chitosan (Gruppe V) und eine Kontrollgruppe miteinander verglichen. Die fünf Interventionsgruppen hatten alle eine bessere Wundschlussrate als die Kontrollgruppe. Die höchste Wundschlussrate konnte in den Gruppen I und IV am Tag 28 gezeigt werden. Die Gruppen IV und V wiesen die meiste, die Gruppe III die niedrigste Inflammation auf. Während eine vermehrte Angiogenese in den Gruppen I und II ersichtlich war, hatten die Gruppen IV und V ein dickeres Granulationsgewebe. Die Aloe Vera-Stammzellgruppe I wies im Vergleich zu den anderen Gruppen eine gesteigerte Epithelisierungsrate auf, gleichzeitig konnte in den Gruppen I, IV und V eine besser strukturierte Epidermis beobachtet werden. Die höchste VEGF- und Kollagen Typ I-Genexpression konnte am Tag 14 in den Gruppen I und IV gezeigt werden, während die Kollagen Typ III-Genexpression in der Gruppe I am Tag 21 erhöht war. Bezüglich der ersten beiden Faktoren zeigte Gruppe I die höchsten Werte. (111)

Die Therapie mit Mikrovesikel aus dem Überstand von kultivierten BM-MSCs (Gruppe I) wies eine kleinere Wundfläche im Vergleich zur Behandlung mit PRP (Gruppe II) nach zwei Wochen auf. Derselbe Effekt konnte in Gruppe I bei der Gegenüberstellung mit der Kontrollgruppe nach zwei und drei Wochen gezeigt

werden. Der Fokus dieses Experiments wurde insbesondere auf die Narben regulierenden Faktoren MMP-3, TGF- β , CTGF, Hyaluronsäure und Typ I und III Kollagen gelegt. Die beiden Interventionsgruppen linderten den inflammatorischen Marker IL-6 und die Hyaluronsäure im Vergleich zur Kontrollgruppe. Weiters zeigten sie verringerte Werte an der miRNA203, CTGF, TNF- α und erhöhte Werte des Antioxidationsmarkers Nrf-2. (112) Während das α -SMA als Myofibroblastmarker gilt (113) hat die mikroRNA-203 die Möglichkeit, indirekt den Differenzierungsprozess von epidermalen Keratinozyten zu steuern (114). Der CTGF ist ein Protein, dass unter anderem die Migration von mikrovaskulären endothelialen Zellen bewirkt (115). Gruppe I zeigte überall signifikant bessere Ergebnisse als Gruppe II. Darüber hinaus erhöhte Gruppe I zusätzlich noch IL-10 im Vergleich zur Kontrollgruppe. Während die Kontrollgruppe keine Anzeichen einer Epithelisierung zeigte, hatte die Interventionsgruppe, die mittels Mikrovesikeln behandelt wurde, eine vollständige Epithelschicht und verminderte Entzündungszellinfiltrate. Gruppe II hatte Anzeichen einer Epithelisierung und vorhandenes Granulationsgewebe. (112)

In einer Studie aus China wurde ein Gel bestehend aus Fibrinkleber und BM-MSCs produziert, welches zwischen sieben und 21 Tagen nach der Nutzung die schnellste Wundheilung aufwies. Im Vergleich zu den Kontrollgruppen, welche entweder nur Fibrinkleber oder keine Therapie erhielten, zeigte nur die Interventionsgruppe eine haarfollikelartige Struktur mit Talgdrüsen in der Epidermis und Dermis. (116)

Die gemeinsame Verwendung von BM-MSCs und Simvastatin wies neben der höchsten Wundschlussrate am Tag 14 ebenfalls die größte Wundbruchfestigkeit auf. Auch konnten in dieser Gruppe die höchste epidermale Dicke, das am meisten remodellierte Kollagen und die höchste Konzentration an CD31 und VEGF dargelegt werden. Die alleinige Therapie mit BM-MSCs oder Simvastatin lieferten hier überall bessere Ergebnisse als die Kontrollgruppe. (117) Simvastatin kann neben seiner eigentlichen Funktion den Blutfettspiegel zu senken auch antimikrobiell wirken und die Wundheilung verbessern (118).

3.2.2 Vorkonditionierte BM-MSCs

Es zeigte sich, dass die Inkubation von BM-MSCs in einem mit EPO-integriertem Kulturmedium Vorteile gegenüber normalen BM-MSCs aufwies (119). Menschliche

MSCs exprimieren den Erythropoietin-Rezeptor und sind empfänglich für dieses Peptidhormon. EPO-ausgesetzte BM-MSCs können unter bestimmten Umständen vermehrt proangiogene Faktoren ausschütten. (120) Die EPO/BM-MSC-Gruppe hatte neben der besten Wundreduktionsrate nach 21 Tagen auch die stärkste Reduktion an IL-1 β und eine Hochregulierung an IL-10. Hinzukommen die erfolgreichste Epithelisierung und die günstigste Kollagen-Remodellierung. Weiters wies die Interventionsgruppe gemeinsam mit der Gruppe, welche mit normalen BM-MSCs behandelt wurde, eine stärkere Genexpression von Vimentin, VEGF und PDGF auf. (119) Vimentin gehört zur Gruppe der Intermediärfilamente (121). Es kam in beiden Gruppen zu einer Abnahme des Entzündungsparameters COX-2 im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Die Therapie mit normalen BM-MSCs zeigte ebenfalls eine schnellere Wundheilung, ein erniedrigtes IL-1 β beziehungsweise ein erhöhtes IL-10 und eine bessere Epithelisierung und Kollagen-Modellierung als die Kontrollgruppe. Die mit PKH26-markierten, injizierten Stammzellen konnten in den ersten beiden Gruppen in der Dermis gesichtet werden. (119) PKH sind hoch fluoreszierende Farbstoffe, die dazu imstande sind, biologische und künstliche Membranen zu färben (122).

Die Transfektion von BM-MSCs mit HGF-tragenden adenoviralen Vektoren (ad-HGF) wurde mit normalen BM-MSCs und einer Kontrollgruppe verglichen. Die Kombinationsgruppe zeigte in den ersten beiden Wochen die höchste Wundkontraktionsrate, die größte Epidermisfläche nach sieben Tagen und die größte Epidermisdicke nach 21 Tagen. Am Tag 21 wies diese Gruppe den kleinsten und dünnsten Kollagen Typ I Gehalt auf. Die höchste HGF-Expression sowie die niedrigste Menge an Hydroxyprolin am Tag sieben konnten ebenfalls in der vorkonditionierten MSC-Gruppe nachgewiesen werden. (123)

In einer anderen Studie wurde CRISPR/dCAS9 verwendet, um die EDA-A-Transkription in humanen BM-MSCs durchzuführen und so die Umwandlung von Stammzellen in schweißdrüsenartige Zellen hervorzurufen (124). CRISPR-Cas 9 ist ein genetisches Manipulationswerkzeug, welches gezielt Veränderungen hervorrufen kann. D/CAS9 hat die Möglichkeit, sich mit genetischen Transkriptionsregulatoren zu verbinden und so die Genexpression zu verändern. (125) EDA-A ist ein Transmembranprotein, angehörig zur TNF-Familie (126). In Kombination mit seinem EDA-Rezeptor hat es die Möglichkeit, die Wundheilung in

Menschen beziehungsweise Mäusen zu verbessern (127). In der *in vitro* Analyse stiegen neben der erhöhten EDA-Genexpression auch die Schweißdrüsen-Biomarker CEA und CK19 verglichen mit normalen BM-MSCs an. Die vorkonditionierten, humanen Stammzellen wurden in die verbrühten Hinterbeine von Mäusen injiziert, während die Kontrollgruppe nur eine Salzlösung erhielt. Die Versuchsgruppe hatte eine schnellere Wundheilung, eine verbesserte Re-Epithelisierung und weniger Kollagenablagerung. Der Proliferationsmarker Ki-67 und das CD31 waren erhöht. Nach der Durchführung des Jod-Stärke-Test zeigte die Behandlung mit den vorkonditionierten BM-MSCs acht von zehn positive Ergebnisse, während die Kontrollgruppe negativ war. (124) Beim Jod-Stärke-Test wird Jod auf die Haut aufgetragen und gewartet, bis die betroffenen Areale trocken sind. Nach dem Bestäuben der ausgewählten Bereiche mit Stärke provoziert man eine Schweißabsonderung bei den Versuchstieren und bei Positivität erscheinen die Areale dunkelblau. (128) Eine größere Anzahl an Schweißdrüsen konnte in der Interventionsgruppe gefunden werden (124).

Ein anderes Experiment befasste sich mit dem SDF-1 α . Dieser schien insbesondere sieben Tage nach einer Verbrennung stark von epidermalen und dermalen Stromazellen gebildet zu werden. Im Vergleich zu unverbrannter Haut war sein Suppressor, miR-27b, unter denselben Umständen vermindert. Es zeigte sich, dass miR-27b die SDF-1 α Proteinexpression unterdrückt und seine Überexpression die Migration von MSCs zur Epidermis hemmt. Die Gruppe mit der miR-27b Überexpression wies eine längere Wundheilungsdauer als die Kontrollgruppe auf. (129)

3.2.3 BM-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste

Die Verwendung von BM-MSCs integriert in AC-Gels zeigte hinsichtlich jedes untersuchten Faktors ein besseres Ergebnis als die alleinige Verwendung von AC-Gels oder die Kontrollgruppe mit dem Stammzellmedium. AC-Gels bestehen aus Arginin-Polyesteramid und Chitosan-Abkömmlingen und dienen als Gerüst für die MSCs. Neben der erhöhten Wundschlussrate, Epithelisierung und Granulationsgewebs-Ablagerung hatte die Interventionsgruppe (Kombination aus BM-MSCs und AC-Gels) auch mehr CD31 und IL-10 und weniger TNF- α . Die drei

Botenstoffe zeigten sich auch in der reinen AC-Gel-Gruppe vorteilhafter als in der Kontrollgruppe. (130)

Eine andere Studie verwendete eine vom Schwein stammende azelluläre Harnblasenmatrix (porcine acellular urinary bladder matrix, PAUBM) und kombinierte sie entweder mit PDGF-B-transfizierten BM-MSCs (Gruppe I), BM-MSCs (Gruppe II) oder PDGF-B-haltigen Vektoren (Gruppe III). Gruppe IV verwendete das Gerüst allein und die Kontrollgruppe wurde mit SSD behandelt. Die Gruppen I und II wiesen die schnellste Wundheilung auf. Darüber hinaus auch mehr und dickere Kollagenbündel innerhalb der ersten Woche und weniger Entzündungszellen und eine bessere Gerüst-Integration in der zweiten Woche. Die beiden Gruppen hatten auch mehr gebildete Kapillaren und vermehrt PDGF-B und VEGF als die anderen drei Gruppen, wobei hier Gruppe I bessere Werte zeigte als Gruppe II. Eine erhöhte Wundkontraktionsrate und mehr Granulationsgewebe konnten in den Gruppen I, II und III gefunden werden. Weiters zeigte die Interventionsgruppe I mehr Haarfollikel und Talgdrüsen am Tag 28 als Gruppe II. Die Verbrennungen der Gruppen I und II, die mit dem PAUBM-Gerüst in Kombination mit unterschiedlichen BM-MSCs behandelt wurden, heilten als einzige am Tag 28 ohne Narbenbildung vollständig aus. (67)

3.3 Mesenchymale Stammzellen aus der Nabelschnur (UC-MSCs)

Die Injektion humaner UC-MSCs in die Schwanzvene von Ratten (64) oder subkutan um die Verbrennungswunden herum (131) zeigten eine kürzere Wundheilungsdauer und eine höhere Wundheilungsrate zwischen zwei und vier Wochen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Beide Applikationsmethoden wiesen eine verringerte Menge an IL-6 und TNF- α und mehr Kapillaren nach 21 Tagen auf (64, 131). Während die systemische Stammzellapplikation zwischen zwei und vier Wochen ein erhöhtes Verhältnis an Kollagen Typ I zu III hatte (64), deutete die lokale Therapie zum selben Zeitpunkt auf das vermehrte Granulationsgewebe und die Fibroblasten hin (131). Die systemische Therapie zeigte zusätzlich noch verringerte Mengen an IL-1 und erhöhte Mengen an den antiinflammatorischen Faktoren IL-10 und TSG-6. Darüber hinaus konnte man hier in der Interventionsgruppe eine kleinere Menge an Entzündungszellen feststellen, während in der Kontrollgruppe Eiterherde gesichtet wurden. Die systemisch

applizierten MSCs wanderten innerhalb einer Woche zur Wunde und sammelten sich an der Wundbasis und den Wundrändern. (64) Die lokale MSC-Therapie wies eine Reduktion der WBC- und der CRP-Konzentration nach zwei Tagen auf (131). Eine stärkere Re-Epithelisierung in der Therapie mit UC-MSCs verglichen mit der Anwendung eines Vaseline-Wundverbandes konnte in einer Studie aus dem Iran gezeigt werden. Die Stammzellen wurden mit GFP markiert, auf die Wunde gesprüht und zusätzlich noch mit einer sterilen Vaseline-Wundauflage verbunden. Neben der besseren Blutstillung wies die Interventionsgruppe auch ein weiterentwickeltes Granulationsgewebe auf. Die UC-MSCs konnten in der Wunde, jedoch nicht in inneren Organen nachgewiesen werden. (132)

Die Behandlung von Verbrennungswunden mit UC-MSCs und UC-MSC-Exosomen zeigten ähnliche Ergebnisse. Beide lieferten annähernd dieselbe Anzahl an epidermalen und dermalen Zellen nach einer Woche und eine vergleichbare Re-Epithelisierung nach zwei Wochen. Gleichzeitig hatten sie auch beinahe dieselbe Menge an PCNA-positiven Zellen zu den Beobachtungszeitpunkten, ein erhöhtes Verhältnis an Kollagen Typ I zu III und einen erhöhten Spiegel an epithelialem CK19 verglichen mit der PBS-Kontrollgruppe. Weiters zeigte sich, dass die Hemmung von Wnt4, vorkommend in UC-MSC-Exosomen, die Transkriptions-aktivität von β -Catenin blockiert und so die Wundheilung verzögert. (133)

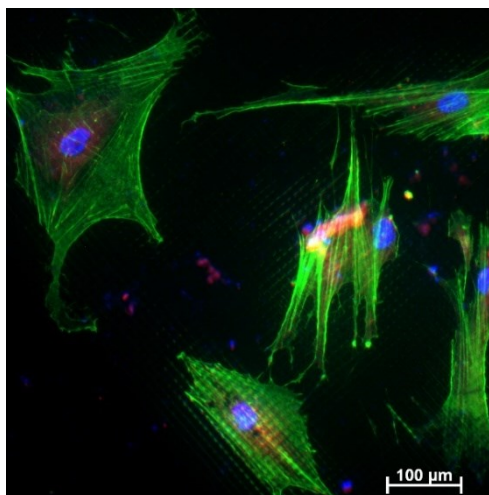


Abbildung 12: Kultivierte MSCs (134)

3.3.1 Vorkonditionierte UC-MSCs

Das 3,3'-Diindolylmethan (DIM), ein natürliches Molekül, führt gemeinsam mit dem Zwischenglied Wnt11 zu einer β -Catenin Aktivierung (135). Catenine sind zytoplasmatische Proteine, die mit den Zelladhäsionsmolekülen Catherinen Komplexe eingehen. Die zuerst entdeckten Catenine waren das α - und β -Catenin. (136) Man fand heraus, dass die Überexpression von Wnt11 in DIM-vorbehandelten UC-MSCs zu einer vermehrten Abgabe von Wnt11 in den MSC-Exosomen führt und dass diese stark autokrin wirken. In einem Rattenmodell wurde die Wirkung von in DIM-vorkonditionierten MSCs (Gruppe I), normalen MSCs (in Dimethylsulfoxid kultiviert, Gruppe II) und einer Kontrollgruppe verglichen. Die beiden Interventionsgruppen hatten eine bessere Re-Epithelisierung, mehr PCNA-positive Zellen und eine höhere Kollagen Typ I zu III-Expression. Gruppe I zeigte vorteilhaftere Ergebnisse bezüglich der zwei zuletzt genannten Effekte. Auch eine besser regenerierte Epidermis, Dermis und Haarfollikel und mehr CK19 und β -Catenin-positive Zellen konnten im Vergleich zur Gruppe II gefunden werden. Die genannten Erfolge wurden durch die Injektion eines β -Catenin-Inhibitors oder eines Wnt11-Inhibitors in DIM-UC-MSCs aufgehoben. (135)

Eine andere Studie legt dar, dass die Herunterregulierung von SOX-9 in UC-MSCs im Vergleich zu normalen UC-MSCs *in vitro* zu einer verminderten Zellproliferation, Zellmigration, IL-8-Expression und zu einer vermehrten VEGF-Expression führt (137). SOX zählt zu den Transkriptionsfaktoren und beeinflusst unter anderem die Zelldifferenzierung (138). *In vivo* waren die Ki-67-positiven Zellen, Haarfollikel, Drüsen und die epithelialen Marker CK14 und CK18 in der normalen MSC-Gruppe erhöht (137).

Die Behandlung mit systemischen UC-MSC-Exosomen wies, im Vergleich mit einer Kontrollgruppe, reduzierte Level an TNF- α und IL-1 β und erhöhte Mengen an IL-10 nach 24 Stunden auf. Die Versuchsgruppe zeigte eine vermehrte miR-181c (microRNA)-Expression nach den ersten beiden Tagen. Die Gegenüberstellung von herkömmlichen UC-MSC-Exosomen (Gruppe I) mit miR-181c transfizierten UC-MSC-Exosomen (Gruppe II) demonstrierte, dass Versuchstiere der Gruppe II geringere Mengen an WBC, TNF- α , IL-1 β und mehr an IL-10 aufwiesen. (65)

Die Wirkung von UC-MSCs vorkonditioniert mit dem antiinflammatorischen Stoff Isorhamnetin (Gruppe I) und dessen Vergleich mit normalen UC-MSCs (Gruppe II)

und einer Kontrollgruppe (Gruppe III) wurde in einer pakistanischen Studie erforscht (139). Isorhamnetin ist natürlichen Ursprungs und kommt unter anderem in den Blüten des Sanddorns und den Blättern des Ginkobaumes vor (140). Bei den Tieren der Gruppe I wurde eine schnellere Wundheilung im Vergleich zur Gruppe II festgestellt, welche wiederum eine schnellere Wundheilung aufwies als Gruppe III. Während Gruppe II verglichen mit der Kontrollgruppe am Tag sieben eine vermehrte Angiogenese, eine geringere Entzündung in den Haarfollikeln und eine stärkere Bildung der Epidermis aufwies, reduzierten sich all diese Effekte am Tag 14 wieder. Zum selben Zeitpunkt wies die UC-MS-Gruppe bereits Granulationsgewebe auf. In Gruppe I fand man zu diesem Zeitpunkt eine noch bessere Wundheilung mit einer kompletten Re-Epithelisierung, Haarwuchs und fehlenden Anzeichen einer Entzündung oder Narbenbildung. In den Gruppen I und II konnte eine Senkung von IL-1 β , IL-6 und dem proapoptotischen Protein Bax gefunden werden. Weiters zeigten die zwei Gruppen eine Hochregulierung des antiinflammatorischen TGF- β und des proangiogenen VEGF am Tag sieben. Nur in Gruppe I ergab sich am siebenten Tag eine Steigerung des antiapoptotischen Bcl-2. (139)

Die Behandlung der verbrannten Pfoten von Mäusen mit einer schwerwiegenden kombinierten Immundefizienz (severe combined immunodeficiency, SCID) mit Schweißdrüsen-ähnlichen Zellen (sweat gland-like cells, SGCs) zeigte sich effektiv gegenüber der PBS-Kontrollgruppe. Die UC-MSs wurden entweder in einem SG-Basis-Medium oder in einem KGF-Medium kultiviert und differenzierten sich zu den eingesetzten SGCs. Aus beiden Media entwickelten sich SGCs und beide Gruppen zeigten bessere Ergebnisse als die PBS-Kontrollgruppe. In den Interventionsgruppen konnten neben einer reduzierten Pfortenschwellung nach 14 Tagen auch eine schnellere Wundheilung beobachtet werden. Darüber hinaus wurden nach 21 Tagen eine neu gebildete Haut, Schweißdrüsen-ähnliche Strukturen und die SG Biomarker CEA, CK14 und CK19 im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen. (141)

Die Vorkonditionierung von UC-MS-Exosomen mit 455nm blauem Licht zeigte, dass diese Art der Stimulierung in einem Verbrennungsmodell zu einer Erhöhung von epidermalen, dermalen, CD31- und α -SMA-positiven Zellen führt. Diese Gruppe hatte im Vergleich zu unbehandelten UC-MS-Exosomen eine vermehrte Infiltration an endothelialen Zellen in das herbergende Matrigel. Als Ursache dieses

Mechanismus konnte eine Vermehrung der mikro-RNAs miR-135b-5p und miR-499a-3p in der Stimulationsgruppe nachgewiesen werden. (142)

3.3.2 UC-MSCs integriert in Auflagen und Gerüste

Eine Studie aus China erstellte ein thermosensitives Hydrogel bestehend aus Chitosan, Kollagen, β -Glycerophosphat und UC-MSC-CM (Gruppe I). Die Vergleichsgruppen wurden mit UC-MSC-CM (Gruppe II), einem nicht konditionierten Medium Hydrogel (unconditioned medium, UM-Hydrogel; Gruppe III) oder nur UM (Kontrollgruppe) behandelt. Gruppe I zeigte die kürzeste Wundheilungsdauer, die größte Epithelzunge und die kleinste Dicke an Entzündungsinfiltraten am Tag vier. Auch die größte Fibroblastendichte am Tag 14, die größte epidermale Dicke am Tag 28 und die höchste Rate an Ki-67-positiven Zellen konnten in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Die Gruppen II und III hatten eine kürzere Heilungsdauer und eine größere Fibroblastendichte als die Kontrollgruppe. Am Tag 14 wurde dickeres Granulationsgewebe in den Gruppen I und II verglichen mit der Kontrollgruppe gefunden. Zur gleichen Zeit zeigten die Gruppen I und III eine höhere Kapillardichte und eine größere epidermale Dicke als die Gruppe II und die Kontrollgruppe. Die alleinige Therapie mit UC-MSC-CM wies eine größere Kapillardichte als die Kontrollgruppe auf. (143)

Mit speziellen Eisenoxid-Nanopartikeln (superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs) markierte UC-MSCs wurden auf eine azelluläre dermale Matrix aus menschlicher Haut gegeben und in Verbrennungswunden eingesetzt. Die Stammzellen wurden mithilfe der MRI gesucht und zeigten *in vitro* eine erhöhte Lebensfähigkeit am Tag sechs. Im Rattenmodell konnte kein Unterschied im Bax/Bcl-2-Verhältnis verglichen mit normalen UC-MSCs gefunden werden. (144)

Eine azelluläre amniotische Membran (DHAM) beladen mit UC-MSCs (Gruppe I) wurde einer MSC-Injektion (Gruppe II), einer topischen MSC-Streuung (Gruppe III) und einer reinen DHAM (Gruppe IV) gegenübergestellt. Das verbrannte Areal war der einzige Ort, an dem die markierten UC-MSCs beobachtet werden konnten. In der ersten Woche zeigte Gruppe III die schlechteste Re-Epithelisierung und die Gruppen I und IV die beste Durchblutung. Nur in Gruppe IV konnte noch eine Inflammation gefunden werden. Die beste Re-Epithelisierung, die vorteilhafteste

Narbenbildung und eine reduzierte Durchblutung konnten am Tag 14 in der ersten Gruppe beobachtet werden. (145)

3.3.3 UC-MSCs in anderen Tieren

Die Wirksamkeit verschiedener UC-MSC-Konzentrationen eingebettet in „Integra“ wurde mit „Integra“ allein in acht Yorkshire-Schweinen verglichen. Zwischen 200 c/cm² und 2.000.000 c/cm² kamen zum Einsatz und die Wundevaluierung erfolgte nach 28 Tagen. Entsprechend der Narbenbildungsrate, der CD31-Rate für die Gefäßneubildung, der Menge an α -SMA für die Fibrosierung und der Typ I Makrophagen zeigte die Gruppe mit 40.000 c/cm² die besten Ergebnisse. Die größte Fläche an Epithelgewebe und die geringste Menge an Typ II Makrophagen konnten in der Gruppe mit 5.000 c/cm² gesichtet werden. Während die Gruppe mit 200.000 c/cm² die vorteilhafteste epidermale Dicke zeigte, hatte die Gruppe mit 200 c/cm² die höchste Kollagendichte. Die Gruppe mit den 2.000.000 c/cm² schnitt insgesamt am schlechtesten ab. Alle Versuchsgruppen erschienen im Vergleich zur Kontrollgruppe mit „Integra“ weniger entzündet und mit einer homogeneren Vernarbung. Darüber hinaus bildeten sie mehr Kollagen und Gefäße und hatten weniger α -SMA-positive Zellen. (146)

Eine kanadische Studie entwickelte ein Handinstrument, welches die Applikation eines Hautvorläufermodells direkt auf die Verbrennungswunden von vier Schweinen ermöglichen sollte. Die Hautkonstruktion beinhaltete eine Fibrin-basierte-Biotinte („bioink“) mit inkludierter Hyaluronsäure und eine Thrombinlösung. Während die „Bioink“ für die Lebensfähigkeit und Proliferation der darin eingebetteten UC-MSCs verantwortlich war diente die zusätzliche Thrombinlösung als „Cross-Linker“ oder Vernetzer. Insbesondere für große und unregelmäßige Wundflächen sollte diese Form der Therapie infrage kommen. Als Kontrollgruppen dienten die Therapie mit azellulären Materialien aus Fibrin und Hyaluronsäure und unbehandelte Verbrennungswunden. Nach 28 Tagen zeigte die Interventionsgruppe eine bessere Wundheilung mit weniger Entzündung, Narbenbildung und Kontrakturen. Während sich hier weiters eine physiologisch dicke Epidermis entwickelte, hatten die anderen beiden Gruppen maximal eine dünne Epidermis mit abwechselnder Hyper- und Hypoplasie. (147) Vermehrt Kollagen und CD31-positive Zellen und weniger α -SMA

und die Makrophagenmarker CD163 (148) und CD11b (149) konnten in der Interventionsgruppe gefunden werden (147).

3.4 Mesenchymale Stammzellen aus der Plazenta (PD-MSCs)

Eine Studie verwendete humane Plazentas, um mesenchymale Stammzellen aus dem Amnion (A-MSCs), einem Bestandteil der plazentaren Membran (22), zu entnehmen (150). Die Injektion von A-MSCs aus der menschlichen Amnionmembran (Gruppe I) und die Behandlung mit A-MSC-CM (Gruppe II) in zweitgradigen Verbrennungswunden zeigten beide die schnellste Wundheilungsrate. Auch wiesen sie mehr epidermale und dermale Zellen am Tag sieben auf verglichen mit dem Kulturmedium DMEM (Gruppe III) und PBS (Gruppe IV). Die Anzahl an Keratinozyten am Tag 14 war ebenso erhöht, was mit einer besseren Re-Epithelisierung einhergeht. Nach sieben und nach 14 Tagen zeigte sich in den ersten beiden Gruppen eine verringerte Zellapoptose und eine Erhöhung des Proliferationsmarkers PCNA, des Epithelisierungsmarkers CK19 und des Neovaskularisierungsmarkers CD31. *In vitro* fand man heraus, dass A-MSCs den PI3K/AKT Signalweg aktivieren können und so auch den Bcl-2-Protein-Level steigern beziehungsweise den Bax-Protein-Level senken. Darüber hinaus sind sie auch für die Aktivierung des GSK3 β / β -Catenin Signalweges wichtig. (150)

Es zeigte sich, dass die Therapie von mit *Staphylokokkus aureus* infizierten Verbrennungswunden mit plazentarem MSC-CM, eingebettet in ein Chitosan-Gel, das geringste Entzündungszellinfiltrat an den Tagen vier und acht aufwies. Diese Gruppe hatte auch die größte Vaskularisierung am Tag acht. Die genannte Interventionsgruppe, die „Bepanthen-Plus“-Gruppe und die Miramistin-Gruppe zeigten verglichen mit der Kontrollgruppe eine komplette Eliminierung des *Staphylokokkus aureus*. Darüber hinaus wies die Kontrollgruppe die schlechteste Epithelisierungsrate an den Tagen vier und acht und gemeinsam mit der Bepanthen-Plus-Gruppe mehr Entzündungszeichen als die Miramistin-Gruppe auf. (151) Miramistin ist unter anderem für seine antibakteriellen Eigenschaften bekannt und in der Klinik in Verwendung (152).

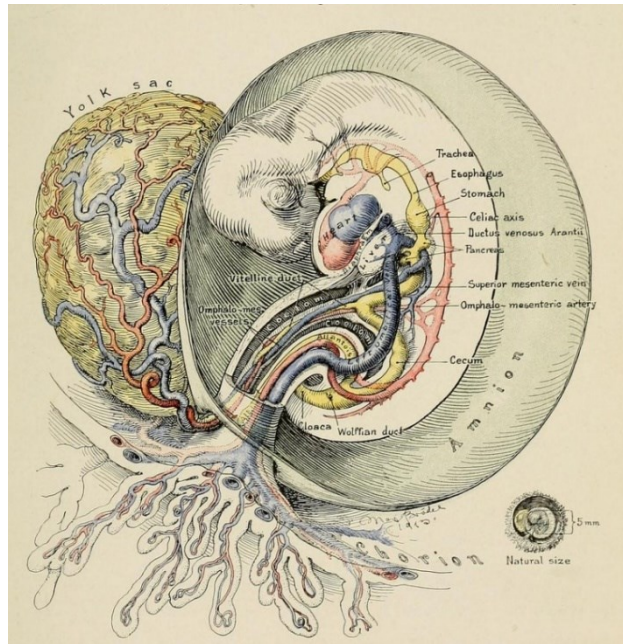


Abbildung 13: Embryo mit umgebendem Amnion (153)

3.5 MSCs in klinischen Studien

Den klinischen Studien gemein ist, dass die menschlichen Verbrennungsoffer alle eine Einverständniserklärung abgaben und dass die Beobachtungsdauer nach der Therapie bei sechs Monaten lag.

Eine ägyptische Fall-Kontroll-Studie stellte die Wirkung injizierter autologer BM-MSCs (Gruppe I) oder allogener UC-MSCs (Gruppe II) denen der Standardtherapie mit früher Exzision und Hauttransplantation (Gruppe III als Kontrollgruppe) gegenüber. Die 60 eingeschlossenen Patient*innen hatten alle drittgradige Verbrennungen mit einer TBSA zwischen zehn bis 25 Prozent und waren zwischen 15 und 50 Jahre alt. Die Testpersonen wurden zufällig einer der drei Gruppen zugeteilt, wobei vor der zweimaligen MSC-Injektion in den ersten beiden Gruppen ebenfalls eine chirurgische Exzision durchgeführt wurde. Eine tangential Exzision mit anschließender Transplantation einer autologen, gemeshten Spalthaut fand in Gruppe III statt. Es zeigte sich, dass die Gruppen I und II eine kürzere Krankenhausaufenthaltsdauer hatten. Auch wies zweite Gruppe im Verlauf ein geringeres Verbrennungsausmaß als die Kontrollgruppe auf. Zu den frühen Komplikationen zählten Infektionen oder ein Transplantatverlust, wobei erstere in Gruppe I zu 25 Prozent und in Gruppe II zu 70 Prozent vorkam. 50 Prozent der Proband*innen in Gruppe III zeigten Infektionen oder einen Transplantatverlust. Die

erste Gruppe wies die geringsten Spät komplikationen mit 45 Prozent auf, wobei hier vor allem die Hypopigmentierung auftrat. Gruppe II zeigte in 70 Prozent Spät komplikationen. Hier lag die Hyperpigmentierung im Vordergrund. 95 Prozent der Fälle in der dritten Gruppe hatten Spät komplikationen, wobei sich hier die meisten hypertrophen Narben entwickelten. (154)

Der Einsatz von $2,5 \times 10^3$ c/cm² (Gruppe I) oder 5×10^3 c/cm² (Gruppe II) allogenen BM-MSCs in zweitgradigen Verbrennungswunden wurde an zehn Patient*innen durchgeführt. In dieser Phase-I-Studie mit Dosissteigerung untersuchte man die Sicherheit und Wirksamkeit der MSCs. Die Testpersonen waren zwischen 24 und 63 Jahre alt, hatten Flammenverbrennungen, Verbrühungen oder Verbrennungen mittels heißer Flüssigkeiten und bekamen entweder eine oder zwei MSC-Applikationen. In neun Proband*innen wurden die BM-MSCs nach dem Wunddebridement topisch auf die Wunde appliziert, nur eine Person erhielt eine MSC-Injektion. Die Bewertung der therapierten Wunden fand mithilfe der POSAS (patient and observer scar assessment scale) statt. (155) Hier werden mithilfe von zwei Skalen die Narben vom*von der Patient*in selbst und von einem/einer Beobachter*in begutachtet und Faktoren wie das Aussehen und das lokale Gefühl beschrieben (156). Die amerikanische Studie zeigte, dass alle Patient*innen am Ende eine vollständige Wundschlussrate und keine negativen Folgen durch die Stammzelltherapie hatten. Gruppe II wies eine größere Wundschlussrate und auch niedrigere Werte in allen Bereichen der POSAS am Ende der Studie auf, was jedoch nicht statistisch signifikant war. Lediglich die Vaskularität war in der zweiten Gruppe im frühen Stadium signifikant geringer. (155)

Die Therapie von zwischen sechs und 216 Monate alten, hypertrophen oder keloidartigen Narben mit autologen AD-MSCs zeigte sich in allen acht Verbrennungsoffern effektiv. Drei Proband*innen bekamen eine Exzision mit folgender AD-MSC-Applikation. Fünf Testpersonen erhielten eine Lipotransplantation, wobei zwei Patient*innen davor eine Exzision und eine Person davon eine Dermabrasion bekam. (157) Bei der Dermabrasion wird die Haut bis zur Dermismitte abgetragen mit dem Ziel der schöneren Hauterscheinung nach einer Verletzung (158). Die Studienteilnehmer*innen mit der Lipotransplantation wurden mit einer Applikation von autologem Fettgewebe auf das Narbenareal behandelt. Zahorec et al. (157) verwendeten die VSS (Vancouver scar scale) um die Narben

zu evaluieren, wobei der Durchschnitt hier vor der Therapie bei 7,63 Punkten und der nach sechs Monaten bei 2,38 Punkten lag. Die Reduktion des übermäßigen Narbengewebes konnte in allen Fällen gezeigt werden. (157) Die VSS untersucht die vier Punkte Pigmentierung, Vaskularisierung, Biegsamkeit und Höhe. Mit Bewertungsskalen für Brandnarben werden Veränderungen im Gewebe über einen längeren Zeitraum begutachtet und so Risikofaktoren für die Entwicklung hypertropher Narben frühzeitig gefunden. Die VSS wird folgend tabellarisch veranschaulicht. (159)

Tabelle 1: Vancouver Scar Scale

Pigmentierung	Normal	0
	Hypopigmentiert	1
	Hyperpigmentiert	2
Vaskularisierung	Normal	0
	Pink	1
	Rot	2
	Lila	3
Biegsamkeit	Normal	0
	Geschmeidig	1
	Nachgiebig	2
	Fest	3
	Bänderung	4
	Kontraktur	5
Höhe	Normal (flach)	0
	0 – 2 mm	1
	2 – 5 mm	2
	>5 mm	3
	Maximaler Score:	13

4 Diskussion

4.1 AD-MSCs

In den Studien mit mesenchymalen Stammzellen aus dem Fettgewebe sind die meisten Widersprüche zu finden. Bei der Beurteilung des Kollagenanteils zeigt sich dieser in den MSC-Gruppen, sofern er untersucht wurde, meist erhöht. Im Vergleich eines mit AD-MSCs beladenen Kollagen-Pullulan-Hydrogels mit einer Kontrollgruppe konnte am Tag 25 kein Unterschied in der Kollagendichte gefunden werden (87). Die Wunden wurden hier erst fünf Tage nach der Verbrennung therapiert und bei einem längeren Untersuchungszeitraum wäre vielleicht eine Veränderung sichtbar gewesen. Die Studie von *Laksmitawati et al.* (81) beschreibt sogar ein verringertes Kollagen in einer AD-MSC-CM-Gruppe verglichen mit einer SSD- und einer Placebo-Gruppe am Tag 21. Das Verhältnis der Kollagen-Typen I und III beeinflusst den Wundheilungsfortschritt (64). Das Typ III Kollagen erhöht sich gewöhnlich zu Beginn und ist für die Remodellierung zuständig, während es sich später beim Wundverschluss erniedrigt und das Typ I Kollagen vermehrt wird (70). Obwohl das Typ I Kollagen vorherrschend in der fetalen und adulten Wundheilung vorkommt, besteht ein Bezug zu einem erhöhten Verhältnis von Kollagen III zu I in fetalen Wunden. Diese sind unter anderem für ihre narbenfreie Wundheilung bekannt. (160) Ein vergrößerter Kollagen I zu III Anteil kann daher mit einer erhöhten Narbenbildung einhergehen (161). Aus der Studie wird nicht ersichtlich, um welches Kollagen es sich handelt. Sollte das verminderte Kollagen vom Typ I sein, könnte das bedeuten, dass die AD-MSCs dessen Bildung hemmen und damit die Narbenbildung verbessern.

Es zeigte sich, dass AD-MSCs das Typ III Kollagen am 14. Studientag erhöhten, während das Typ I Kollagen zum selben Zeitpunkt gleich hoch wie in der Kontrollgruppe war (70).

Neben dem Kollagen waren im Regelfall auch die Anzahl der Blutgefäße und die Re-Epithelisierung in den MSC-Gruppen erhöht. Eine schnellere Re-Epithelisierung durch AD-MSCs zeigte sich auch in einer Studie, in der Basenverbrennungen an Tieraugen untersucht wurden (162). Einige Arbeiten in diesem Review hatten allerdings gleichbleibende Werte. Die Vaskularisierung wies entweder an den

Tagen fünf (78), 14 (70) oder 21 (81) keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe auf. Möglicherweise sind in den ersten beiden Fällen durch die kurze Nachbeobachtung wichtige Entwicklungsschritte verborgen geblieben. Es zeigte sich, dass in der Therapie von Alkaliverbrennungen am Auge eine niedrigere Neovaskularisierung in den MSC-Gruppen im Vergleich zur Therapie mit PBS (162) oder zu keiner Therapie (163) gefunden werden konnte. Dennoch wies die Interventionsgruppe eine bessere Wundheilung der beschädigten Kornea auf (162). Die AD-MSCs sind offenbar auch dazu imstande die Vaskularisierung zu reduzieren, je nachdem wo sie Anwendung finden. Auch konnte in einer Publikation mit AD-MSC-CM (81) und in einer Spalthauttransplantat-Studie (101) in der Gegenüberstellung mit der Vergleichsgruppe kein gravierender Unterschied in der Re-Epithelisierung beobachtet werden.

Es wurden zwei Studien gefunden, die in den MSC-Gruppen keine Differenz in der Menge an Entzündungszellen (70) oder an neutrophilen Granulozyten (81) zeigten. Die Neutrophilen und die Monozyten sind die ersten Entzündungszellen die zum Wundort migrieren (164). Die Funktion dieser Zellen ist wichtig, um in den ersten Tagen nach der Verletzung potenzielle Erreger und abgestorbene Materialien am Wundort zu phagozytieren. Zu viele inflammatorische Zellen können jedoch die Wundheilung beeinträchtigen. Dies zeigt sich unter anderem in fetalen Wunden, welche eine weniger ausgeprägte Immunantwort als Erwachsene haben und auch dadurch eine reduzierte Narbenbildung aufweisen. (165)

Darüber hinaus treten Unstimmigkeiten in Bezug auf das TGF- β auf. Während es in der Stammzellgruppe meist erhöht war, erwies sich das TGF- β 1 in der Kombination von MSCs und Aloe Vera am Tag 28 erniedrigt (82). Der „Transforming growth factor- β “ besitzt drei Isoformen, das TGF- β 1, 2 und 3. Die erste Isoform kommt überwiegend vor und wird nach einer Verletzung insbesondere von den Thrombozyten und Keratinozyten ausgeschüttet. (166) Die Isoformen des Wachstumsfaktors TGF- β wirken auf eine Vielzahl von Zellen und beeinflussen so den Wundheilungsprozess (167). Die Therapie mit diesem Wachstumsfaktor führt zu einer Angiogenese und zu einer Stimulation von Fibroblasten. Dadurch kommt es zu einer Vermehrung von Kollagen und Granulationsgewebe. (168) Daneben trägt TGF- β auch zur Bildung von Myofibroblasten bei. Am Ende kann es aber neben einem Fortschritt in der Wundheilung auch zu einer vermehrten Fibrose

kommen. (169) Es zeigte sich, dass das TGF- β 1 in hypertrophen Narben erhöht war und dass dessen Hemmung zu einer verringerten Narbenbildung führt (160). Abgesehen davon führt die Überexpression von TGF- β 1 in der Epidermis zur Hemmung der Keratinozytenproliferation und so zu einer verzögerten Re-Epithelisierung (166). Der Wachstumsfaktor kann also zur Wundheilung beitragen oder die Wundheilung verzögern, je nachdem wann und in welchem Ausmaß TGF- β 1 gebildet und ausgeschüttet wird.

In einer Studie von *Banerjee et al.* (92) wurde kein signifikanter Unterschied in der Wundschlussrate zwischen der Behandlung mit AD-MSCs und der Kontrollgruppen sichtbar. Das könnte aufgrund der späten Therapie der Stammzellen sein, welche erst nach neun Tagen auf die Wunde appliziert wurden. Auch wurden die Läsionen zuvor mit dem Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* infiziert. Möglicherweise hat dies die MSCs negativ in ihrer Arbeit beeinflusst. Obwohl hier kein Unterschied im Wundschluss detektiert wurde, konnte dennoch ein qualitativ besserer Heilungsvorgang in der Interventionsgruppe, mit einer Vermehrung des Granulationsgewebes und der Vaskularisierung, gefunden werden. Nur eine Studie legt dar, dass die Therapie mit in Spalthauttransplantaten inkludiertem FPEG mit und ohne Stammzellen keinen Unterschied in der Wundkontraktion und der Granulationsgewebemenge hervorbrachte (170).

Die AD-MSCs sind jene Stammzellen, welche am häufigsten in den Studien angewendet und am besten erforscht wurden. Gleichzeitig wurden sie auch am öftesten mit diversen Gerüsten kombiniert. Wie beschrieben sind mesenchymale Stammzellen aus dem subkutanen Fettgewebe leicht zugänglich und die Effektivität deren Isolation ist höher als bei BM-MSCs oder UC-MSCs. Aus diesen Gründen und der Tatsache, dass die meisten Studien zur Therapie von Verbrennungen im Tierversuch mittels AD-MSCs durchgeführt worden sind, gilt es wegen der teils noch ungeklärten und widersprüchlichen Ergebnisse diese Art der Zellen weiter zu erforschen.

4.2 BM-MSCs

In den Therapien mit BM-MSCs resultierten ebenfalls widersprüchliche Ergebnisse in der Kollagenmenge. Es zeigte sich, dass die Behandlung mit xenogenen BM-MSCs verglichen mit der Kontrollgruppe keinen Unterschied in der

Kollagenablagerung hervorbrachte (106). Darüber hinaus wiesen *Imam et al.* (112) auf die reduzierte Menge der Kollagene Typ I und Typ III in der BM-MSC-Mikrovesikel-Gruppe hin. Wenngleich die Kollagenablagerung ausschlaggebend für die Wundheilung ist (160) und zur Zelladhäsion, Zellmigration und zur Gewebsmorphogenese beiträgt (14) führt übermäßiges Kollagen zur Fibrose (171). Herkömmliche Narben gehen mit einer ausgeprägten Fibrose einher und vor allem hypertrophe Narben zeigen ein Ungleichgewicht zwischen der Kollagenbildung und dem Kollagenabbau (14). Wie bereits beschrieben, ist hier neben der Art des Kollagens vor allem auch die richtige Menge und das Verhältnis zwischen unterschiedlichen Kollagen Typen für einen komplikationslosen Heilungsvorgang wichtig. Obwohl die Menge und die Art des gebildeten Kollagens in den Studien manchmal variieren, konnte in den Gruppen, die mit MSCs behandelt wurden, meist eine schnellere oder qualitativ bessere Wundheilung als in den Kontrollgruppen beobachtet werden.

Die Therapie mit mesenchymalen Stammzellen aus dem Knochenmark führte bis zum 14. Studientag zu mehr Entzündungsgewebe als es in der unbehandelten Kontrollgruppe zu beobachten war (172). Weiters war die Anzahl an Entzündungszellen und der Myeloperoxidase, also die Neutrophileninfiltration, in der Stammzellgruppe bis hin zum 45. Studientag erhöht (106). Für letztere Studie kommen zwei Erklärungen infrage. Zum einen wurden bakterielle Besiedelungen in den Wunden gefunden. Die BM-MSCs könnten dem Immunsystem signalisiert haben, darauf zu reagieren. Das wäre auch deshalb wahrscheinlich, da in derselben Studie auch die proinflammatorischen Faktoren IL-6 und CINC-1 erhöht waren (106). Zum anderen bilden die Neutrophilen bestimmte Matrix-Metalloproteinasen, welche die Kollagen-Typen I und III abbauen können. Der Neutrophileneinstrom dürfte so zu einer verringerten Narbenbildung beitragen. Normalerweise findet man in der Therapie mit MSCs jedoch eine verringerte Inflammation. Das zeigte sich auch in der Therapie von Erfrierungen (173) und Laser-induzierten Verbrennungen (174), in der in den Interventionsgruppen verringerte Mengen an proinflammatorischen Zytokinen gefunden werden konnten.

Ähnlich wie bei den AD-MSCs, gab es auch bei den BM-MSCs Widersprüche bezüglich des Wachstumsfaktors TGF- β . Die Therapie mit BM-MSCs führte zu einer Verringerung der TGF- β -mRNA (102). Wobei hier zu erwähnen ist, dass bereits zu

dieser Zeit, am Tag 14, das Ende der Wundheilung in der Interventionsgruppe durch die wieder annähernd normale Haut erreicht wurde (102). Eine Erniedrigung des TGF- β konnte auch in der Therapie mit BM-*MSC*-Mikrovesikel gezeigt werden (112) währenddessen eine Erhöhung des TGF- β Spiegels in einer anderen Studie beschrieben wird (106). Da eine gesteigerte Konzentration der Faktoren TGF- β 1 und 2 zu einer exzessiven Narbenbildung führen kann, vermindert sich deren Menge am Ende der Wundheilung normalerweise wieder (14).

Kontroverse Ergebnisse liegen auch bezüglich des Markers α -SMA vor. Er zeigte sich in einer BM-*MSC*-Mikrovesikel-Gruppe (112) und in einer BM-*MSC*-Gruppe (119) verglichen mit der Kontrollgruppe erniedrigt. In der Therapie mit in PAUBM integrierte, PDGF-B-transfizierte BM-*MSCs* war er jedoch am Tag 28 erhöht (67). Das α -SMA wird von Myofibroblasten exprimiert, welche sich im Wundbett unter mechanischer Belastung aus Fibroblasten entwickeln (160). Myofibroblasten bilden reichlich ECM-Proteine und sind für die Wundkontraktion wichtig. Eine überschießende Myofibroblastenaktivität bringt jedoch eine Fibrose und verstärkte Narbenbildung mit sich. (175) Es zeigte sich, dass der Anteil an α -SMA in Keloiden und hypertrophen Narben erhöht war (14). Es ist also von großer Bedeutung, dass die Rate an Myofibroblasten am Ende der Wundheilung wieder rückläufig wird. Trotz des gesteigerten α -SMA in den PAUBM-Stammzellgruppen, heilten deren Wunden am Tag 28 ohne Narbenbildung wieder aus (67).

4.3 UC-*MSCs*

Die Arbeiten, die UC-*MSCs* an Tieren untersuchten, wiesen die geringste Anzahl an Widersprüchen auf. Es zeigte sich, dass die Injektion von UC-*MSCs* vergleichbare Werte in der Wundheilungsgeschwindigkeit und der Dicke an Epidermis im Verhältnis zur Kontrollgruppe hatte. In der Stammzellgruppe wurden zwar bis zum Ende der Studie am Tag 15 bessere Werte erzielt, jedoch war der Unterschied nicht statistisch signifikant. (137) Ähnliches beschreibt die Studie von *Zhou et al.* (143), wobei hier am Tag 28 eine vergleichbare Menge an Epidermis in beiden Gruppen beobachtet werden konnte. Möglicherweise wäre, insbesondere in der ersten Arbeit, eine deutliche Abweichung erreicht worden, hätte man die Nachbeobachtungszeit verlängert.

In der Therapie mit UC-MSCs wurde am 14. Studientag eine Erhöhung der MMP-9 detektiert (139). Im selben Beobachtungszeitraum zeigte sich in einer anderen Studie eine reduzierte Rate der mRNA dieser Matrix-Metalloproteinase (102). Auch beobachteten *Imam et al.* (112) eine verringerte MMP-3-Konzentration in Wunden, die mit BM-MSC-Mikrovesikel behandelt wurden. Die MMPs sind wichtige Enzyme in allen Stadien der Wundheilung. Sie tragen wesentlich zum Um- und Abbau der ECM bei und erlauben die Zellmigration. Dennoch ist eine übermäßige Anzahl an Matrix-Metalloproteinasen ein Marker für chronische Wunden. Sie können die Remodellierung behindern und die Wundheilung einschränken. Deshalb wird die MMP-Expression vom Körper normalerweise streng kontrolliert. (176) Weder eine übermäßige noch eine zu niedrige Produktion der MMPs ist somit förderlich für die Wundheilung.

In allen Arbeiten unabhängig der MSC-Herkunft konnten, sofern untersucht, in der MSC-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe eine Erhöhung von IL-10 festgestellt werden. Auch in der Therapie von Laser-induzierten Verbrennungen erwies sich dieser Faktor als vergrößert (174). Es wurde nur eine Studie gefunden, die eine Erniedrigung des antiinflammatorischen Markers zeigte (131). Eine mögliche Erläuterung dafür ist, dass die Kontrollgruppe mehr IL-10 ausschüttet, um die exzessive Entzündungsreaktion des Körpers wieder zu dämpfen, da hier auch wesentlich mehr inflammatorische Zytokine beobachtet wurden als in der Stammzellgruppe.

In diesem Review wurden UC-MSCs weniger oft in den Studien eingesetzt als AD-MSCs oder BM-MSCs. Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Beschaffung und Kultivierung von UC-MSCs in vielen Fällen aufwendiger und begrenzter als bei der Gewinnung aus dem Fettgewebe oder dem Knochenmark ist. Auch ist im Gegensatz zu den UC-MSCs, die praktisch nur allogenen oder xenogen verwendet werden, bei AD-MSCs und BM-MSCs der autologe Einsatz möglich.

4.4 Autolog vs. Allogen

Ein Großteil der Studien zog allogene MSCs zur Therapie der Verbrennungswunden heran und alle trugen positiv zur Wundheilung bei. Es wurde nur ein präklinischer Tierversuch gefunden, der die Wirkung von autologen mit allogenen Stammzellen miteinander verglich. Das Ergebnis war eine schnellere Wundheilung durch die

Anwendung von autologen MSCs verglichen mit den allogenen. Weiters konnten durch die Behandlung mit allogenen MSCs keine besseren Ergebnisse als in der Kontrollgruppe erzielt werden (71). Weitere Faktoren der Wundheilung wurden nicht untersucht. Detailliertere Informationen sind unbedingt notwendig, um eine etwaige Ursache für dieses Ergebnis finden zu können. Eine klinische Studie fand ebenfalls mehr Früh- und Spät komplikationen nach der Behandlung mit allogenen Zellen im Vergleich zur Therapie mit autologen MSCs (154). Eine mögliche Erklärung ist, dass allogene Stammzellen vielleicht eher dazu imstande sind eine Immunantwort auszulösen und dadurch die Wundheilung negativ beeinflussen. Nichtsdestotrotz werden, laut einem Artikel aus dem Jahr 2020 (56), allogene AD-MSCs immer häufiger eingesetzt. Ein weiterer Vorteil allogener Stammzellen ist, dass bereits durch wenige, im besten Fall junge und gesunde Spender, eine Vielzahl an MSCs gezüchtet werden können. Durch die Kryokonservierung werden sie haltbar gemacht und danach in der Akutphase einer Verletzung eingesetzt. (56) Die Kultivierung autologer Stammzellen hingegen benötigt oft viel Zeit für den akuten Einsatz (155) und deren Beschaffung fügt den bereits verletzten Patient*innen zusätzliche Wunden zu.

4.5 Die richtige Dosis

In einigen Studien wurden auch verschiedene Stammzell Dosen miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass die höchste Dosis nicht immer den besten Effekt erzielt. Der Vergleich von gemeshen Auto-Spalthauttransplantaten mit FPEG und AD-MSCs mit den Dosen 50k, 250k und 500k an sechs Yorkshire Schweinen offenbarte, dass kein Unterschied in der Wundkontraktion und in der Granulationsgewebemenge gefunden werden konnte (170). Auch wies die Kontrollgruppe mit demselben Transplantat nur ohne Stammzellen keinen signifikanten Unterschied zur Interventionsgruppe, die in Kombination mit MSCs behandelt wurde, auf. Zwischen den Stammzellkonzentrationen fand sich auch kein Unterschied in der Blutgefäßmenge, jedoch stieg die Querschnittsfläche der Blutgefäße zusammen mit der Stammzelldosis an. Die niedrigste AD-MSC-Konzentration zeigte ein verringertes Hydroxyprolin. (170) Diese Ergebnisse demonstrieren, dass bei höherer MSC-Dosis auch die Kollagendichte in der Wunde ansteigen könnte. *Eylert et al.* (146) untersuchten UC-MSC-Dosen von 200 c/cm²

bis 2.000.000 c/cm² eingebettet in „Integra“ und stellten fest, dass die höchste Dosis die schlechtesten Ergebnisse in der Wundheilung erzielte. Die Studie bezieht sich hier auf die Weisheit „Die Dosis macht das Gift“ und nimmt an, dass zu viele Stammzellen die vorhandenen Ressourcen aufbrauchen und der resultierende Mangel an Nährstoffen und Sauerstoff zum Zelltod und einer verspäteten Wundheilung führt. Darüber hinaus führe eine zu geringe MSC-Dosis auch zu einem frühen Zelluntergang, jedoch würden deren bleibenden parakrinen Faktoren benachbarte Zellen zum Wachstum verhelfen. (146) Man kann also annehmen, dass eine zu kleine Menge an Stammzellen eine bessere Wundheilung mit sich bringt als eine zu große. Dennoch sollte für jede Wunde eine angemessene MSC-Dosis gefunden werden. Da sich Verbrennungswunden in ihrer Größe und Tiefe unterscheiden, kann aus meiner Sicht zum derzeitigen Wissensstand keine einheitliche Zellzahl für alle Patient*innen genannt werden. Eine klinische Studie dokumentiert, dass bei der Anwendung der doppelten BM-MSC-Dosis kein signifikanter Unterschied in der Wundschlussrate im Vergleich zur einfachen MSC-Dosis beobachtet werden konnte (155).

4.6 Vorkonditionierung und Kombination

Die Vorkonditionierung der MSCs mit diversen Stoffen erwies sich in der Wundheilung, im Vergleich zu unbehandelten MSCs, fast immer von Vorteil (84, 119, 123, 135, 139). Ursächlich hierfür waren unter anderem die vermehrte parakrine Aktivität und das Migrationspotenzial (84), die verstärkte Proliferation (119) und Kollagenaseaktivität (123) und die verbesserte Differenzierungsfähigkeit (135) und die erhöhte Überlebensfähigkeit (139) der vorbehandelten mesenchymalen Stammzellen. Durch diesen Leistungswandel können sie zu einer noch besseren beziehungsweise schnelleren Wundheilung als „normale“ MSCs beitragen.

Die Gegenüberstellung von systemisch appliziertem BM-MSC-CM mit der Therapie einer topischen SSD-Creme wies zwar in der Gruppe, die mittels Stammzelltherapie behandelt wurde, eine schnellere Wundheilung auf, jedoch war der Unterschied nicht statistisch signifikant. Dennoch zeigte sich in der Stammzellgruppe am Ende der Studie eine höhere Menge an Epidermis und Dermis und ein geringeres

Entzündungszellinfiltrat. (110) Es zeigte sich weiters, dass herkömmliche Therapien manchmal bessere Resultate in der Wundheilung lieferten als die mesenchymalen Stammzellen. *Imbarak et al.* (172) untersuchten in ihrer Studie die Wirkung einer täglichen Therapie mit topischem Aloe Vera Gel (Gruppe II) im Vergleich zur einmaligen Injektion von BM-MSCs (Gruppe I) und beobachtete ein besseres Wundheilungsergebnis in der Aloe Vera Gruppe. Während alle Tiere der Gruppe II eine vollständige Wundheilung nach 14 Tagen erreichten, geschah dies in Gruppe I erst nach 21 Tagen. In der unbehandelten Gruppe III konnte dieser Effekt zu keinem Zeitpunkt gezeigt werden. Gruppe I wies im Vergleich zur Gruppe II und zur Gruppe IV, in der die Versuchstiere keine Verbrennungen erhielten, eine dickere Epidermis mit hypertrophem Granulationsgewebe auf. Es waren hier auch mehr dünnwandige Blutgefäße und Entzündungszellen am Tag 14, jedoch keine Talgdrüsen wie sie in Gruppe II am Tag 21 beobachtet wurden, ersichtlich. Auch die Aloe Vera-Gruppe hatte eine dickere Epidermis als Gruppe IV. Haarfollikel konnten in Gruppe II bereits am Tag 14 und in Gruppe I erst am Tag 21 nachgewiesen werden. Es stellte sich weiters heraus, dass die Dichte der Kollagenfasern in Gruppe I an den Tagen 14 und 21 geringer war als in Gruppe IV, wobei dies in Gruppe II nur am Tag 14 der Fall war. Gruppe I zeigte dennoch dichteres Kollagen als Gruppe III. (172) Wichtig ist hier die Tatsache, dass die Therapie mit dem Aloe Vera Gel zweimal täglich stattfand, während die lokale Injektion mit allogenen BM-MSCs nur ein einziges mal durchgeführt wurde. Eine potenzielle Theorie dazu ist, dass vor allem die Häufigkeit der lokalen Therapie mit Aloe Vera zu einer besseren Wundheilung führte. Vermutlich hätte man in der Stammzellgruppe durch eine mehrmalige MSC-Applikation einen höheren Effekt erzielen können. Denkbar ist auch, dass es zum Absterben einiger Stammzellen aufgrund der lokal erschwerten Überlebensbedingungen kam.

Die oben genannten Aussagen machen es offensichtlich, dass die alleinige und einmalige Anwendung von MSCs in Verbrennungswunden kein Wunderheilmittel darstellt. Nichtsdestotrotz deuten Erkenntnisse darauf hin, dass die gemeinsame Verwendung der Stammzellen mit herkömmlichen Therapien sehr vielversprechend ist. In den allermeisten Fällen zeigte die Kombination eine schnellere Wundschlussrate als die jeweils alleinige Therapie (72, 111, 117). Dies beruht

vermutlich auf einer synergistischen Wirkung der beteiligten Parameter. Beispielsweise beeinflussen die im PRP enthaltenen Wachstumsfaktoren die MSCs entweder direkt oder sie haben einen gemeinsamen additiven Effekt mit den parakrinen Vesikeln der Stammzellen (72). Bei der Integration von BM-MSCs in ein Chitosan-Gel wurde eine höhere Überlebensfähigkeit der Stammzellen angenommen (111). Chitosan-basierte Hydrogele können eine feuchte Wundumgebung schaffen und hämostatisch und antimikrobiell wirken (177). Dem Chitosan allein mangelt es jedoch am regenerativen und angiogenen Potenzial (151). Es ist wahrscheinlich, dass sich die heilenden Eigenschaften der Stammzellen und des Chitosan-Gerüsts in der gemeinsamen Therapie ergänzen. Aloe Vera, als eine weitere bewährte Therapie, enthält viele Aminosäuren, Vitamine, Kohlenhydrate und Elektrolyte, welche unter anderem zur erhöhten Lebensfähigkeit von AD-MSCs beitragen (82). Die Pflanze ist ebenfalls für ihre antiinflammatorischen, antimikrobiellen und feuchtigkeitsspendenden Wirkungen bekannt (178). Darüber hinaus konnte in einer Studie gezeigt werden, dass die Anwendung von Aloe Vera Gel zur Förderung der Fibroblastenproliferation und -migration und der Keratinozytenproliferation und -migration führt (179). Vermutlich haben MSCs und Aloe Vera einen synergistischen Effekt, der ihnen erlaubt proangiogen und antiinflammatorisch zu wirken und der zudem auch zu einer vermehrten Freisetzung von Zytokinen und damit zu einer besseren Wundheilung führt. Eine andere Erklärung dieses Effektes wäre, dass durch die proliferative und differenzierende Wirkung von Aloe Vera auf AD-MSCs, diese dadurch mehr Wachstumsfaktoren abgeben. (82) Der Vorteil der gemeinsamen Verwendung von BM-MSCs mit Simvastatin liegt vermutlich in der additiven Wirkung der Angiogenese durch die vermehrte Sekretion von VEGF und CD31 (117).

Sofern die Kombination von MSCs mit diversen Gerüsten untersucht und der jeweils alleinigen Therapie gegenübergestellt wurde, zeigte sie vorteilhafte Ergebnisse in der Wundheilung. Die gemeinsame Anwendung wirkte sich in allen Studien positiv auf die Epithelisierung (87, 143, 145) beziehungsweise auf die Wundheilungsgeschwindigkeit (87, 143) aus. Hydrogele sind als Gerüste sehr beliebt, da sie diverse Zellen beherbergen können und ihnen die Proliferation und vor allem das Überleben erleichtern. Von Vorteil ist hier ihre Ähnlichkeit mit der

biologischen ECM, welche als natürliches Zellumfeld gilt und ebenfalls hydrophil und dreidimensional aufgebaut ist. Hydrogele haben weiters die Fähigkeit, Sauerstoff und Nährstoffe aufzunehmen und können gleichzeitig vor einer immunologischen Antwort schützen. (180) Neben Zellen geben die Hydrogele auch Wachstumsfaktoren und Zytokine an die Umgebung ab (143). Gerüste mit einer angemessenen Porosität und Porengröße sind auch dazu imstande, die Angiogenese zu fördern (180). Zwei der oben genannten Studien fügten ihren Hydrogelen Kollagen hinzu (87, 143). Es konnte festgestellt werden, dass die Kultivierung von AD-MSCs in einem kollagenhaltigen Medium die Proliferation und Aktivität der Zellen steigerte. Weiters führten diese Stammzellen in einem präklinischen Tiermodell zu einer schnelleren Wundheilung als die „normalen“, nicht vorkonditionierten AD-MSCs. (181) Kollagen ist darüber hinaus nützlich für die Zelladhäsion, -migration und -differenzierung (143). Eine Hypothese besagt, dass die alleinige Transplantation von Stammzellen am akuten Wundort durch die feindlichen Umgebungsbedingungen zu Schwierigkeiten in der Zellintegration und der Zellerhaltung führt (182). Daher dürfte die Kombination der MSCs mit Gerüsten das therapeutische Potenzial noch mehr fördern als die alleinige Behandlung mit den Zellen. Wichtig bei der Therapie mit Gerüsten ist, dass sie sich leicht in den Wirt integrieren lassen und eine ideale Umgebung für das Zellwachstum schaffen (145).

4.7 Der parakrine Effekt

Die Studien belegen, dass nicht nur alle untersuchten Arten der mesenchymalen Stammzellen zur Wundheilung beitragen, sondern dass auch die reine Anwendung ihres Sekretoms beziehungsweise Teile davon positive Effekte aufweisen. Zehn Arbeiten wurden gefunden, die entweder das CM (81, 90, 110, 143, 150, 151), die parakrinen Faktoren (108), die Exosomen (65, 133) oder die Mikrovesikel (112) der MSCs zur Therapie verwendeten und die Wundheilung im Vergleich zur Kontrollgruppe in bestimmten Aspekten verbesserten. Nach der Kultivierung der MSCs in einem Kulturmedium enthält dieses die von den Stammzellen abgegebenen Faktoren und wird danach als konditioniertes Medium oder Sekretom bezeichnet (183). Dieses umfasst unter anderem Wachstumsfaktoren, Zytokine, Chemokine, Lipide, freie Nukleinsäuren und extrazelluläre Vesikel wie Exosomen und Mikrovesikel (184). Diese Stoffe sind wichtig für die Kommunikation zwischen

den Zellen und ihrer Umgebung und führen so bestimmte biologische Funktionen aus (183). In dem CM befinden sich also parakrine Faktoren der Stammzellen, zu denen auch die Wachstumsfaktoren VEGF, EGF, KGF und IGF1 gehören (185). Während Mikrovesikel zwischen 100 und 1000 nm groß sind, sind Exosomen kleiner und umfassen nur 30 bis 100 nm (186). Diese extrazellulären Vesikel transportieren genetische Materialien wie miRNAs (186), mRNAs, Lipide und Proteine und tragen so ebenfalls zur Wiederherstellung von Gewebe bei (184). Die untersuchten Studien zeigen, dass die abgegebenen Faktoren der MSCs die Wundschlussrate beschleunigten (81, 90, 108, 110, 112, 143, 150) und dass sie auch gemeinsam mit Gerüsten anwendbar sind (90, 143). Zusätzlich beschreiben *Kudinov et al.* (151), dass das MSC-Sekretom auch antiinflammatorische und antimikrobielle Eigenschaften besitzt. Mesenchymale Stammzellen können also nicht nur durch die direkte Differenzierung in beispielsweise Endothelzellen zur Wundheilung beitragen. Es wird sogar angenommen, dass der weitaus größere Effekt am Wundmanagement durch ihre parakrinen Faktoren stattfindet. (182) Durch die Hypothese, dass transplantierte Stammzellen gegenüber Noxen sehr empfindlich sind und in der Folge am Wundort relativ schnell zugrunde gehen, scheint die ausschließliche Therapie mit ihren parakrinen Faktoren großes Potential in der MSC-assoziierten Wundheilung zu spielen (187, 188).

4.8 Die klinischen Studien

In zwei der drei Studien an menschlichen Verbrennungsoptionen wurden keine Nebenwirkungen durch MSCs beobachtet und beide Studien bestätigen, dass die therapeutische Verwendung der jeweiligen mesenchymalen Stammzellen gerechtfertigt ist (155, 157). Nur eine Arbeit beschreibt frühe und späte Komplikationen der Wunden trotz Anwendung der MSCs (154). Wichtig zu erwähnen ist, dass letztere Arbeit drittgradige Verbrennungswunden behandelte (154), während *Schulman et al.* (155) nur Patient*innen mit zweitgradigen Verbrennungen in die Studie miteinschloss. Daher wäre es möglich, dass mesenchymale Stammzellen in geringgradigeren Wunden ihre Wirkung besser entfalten könnten.

Im Vergleich dazu wird in vier Case Reports beschrieben, dass die Kombination von Exzision, autologer Spalthauttransplantation und der Applikation lokaler MSCs die

Wundheilung positiv beeinflussen (189-192). Es zeigte sich, dass allogene BM-MSCs für eine Neovaskularisierung sorgen (190) während UC-MSCs zu einer starken Wundreduktion führen (189). Zusätzlich demonstriert letztere Studie, dass mehrere Monate nach der Verbrennung keine Anzeichen hypertropher Narben oder Keloide beobachtet werden konnten (189). Wie bereits oben beschrieben berichten auch *Zahorec et al.* (157), dass MSCs effektiv gegen Narbengewebe eingesetzt werden können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich MSCs, trotz der großen Heterogenität der Arbeiten, als effektiv in der Wundheilung erweisen. Die untersuchten Stammzellen konnten die Durchblutung im Wundgebiet erhöhen, die Entzündungsreaktion einschränken und neue Hautanhangsgebilde hervorbringen. Weiters begünstigten sie die Wundheilung durch Einfluss auf die Kollagenablagerung, die Bildung von Granulationsgewebe und die Re-Epithelisierung. Viele der Studien zeigen, dass durch die Therapie mit diesen Stammzellen die Wundschlussrate beziehungsweise Wundschlussgeschwindigkeit erhöht werden konnten. Nur vier Arbeiten beschreiben kontroverse Ergebnisse (71, 92, 137, 170).

Es fällt auf, dass es insbesondere in der Behandlung mit AD-MSCs zu einem besseren Haar- und Drüsenwachstum kam, während die BM-MSCs vor allem den Entzündungsprozess einschränkten.

Es wurde versucht, die Fähigkeiten der MSCs zu optimieren, indem man sie vorkonditionierte oder sie mit herkömmlichen Therapien kombinierte. Auch die gemeinsame Verwendung mit diversen Gerüsten maximierte ihren Nutzen, da diese eine ausgezeichnete Umgebung darstellen und die Überlebenschancen der MSCs am Wundort erhöhen. Im Allgemeinen sorgte die Kombination der MSCs mit herkömmlichen Therapien wie etwa Chitosan oder Aloe Vera für eine schnellere Wundheilung beziehungsweise eine stärkere Angiogenese. Die gemeinsame Verwendung mit Gerüsten verfügte neben der erhöhten Wundschlussrate zumeist auch über eine verbesserte Re-Epithelisierung. Darüber hinaus begünstigte die Vorkonditionierung mit diversen Stoffen wie beispielsweise Curcumin oder

Isorhamnetin ebenfalls die Wundheilung gegenüber unkonditionierten MSCs. Hier stiegen größtenteils die Re-Epithelisierung beziehungsweise die Epidermisbildung an.

Es kann festgehalten werden, dass sowohl die Stammzellkombination mit üblichen Therapien als auch mit verschiedenen Gerüsten in den allermeisten Fällen zu einer gesteigerten und besseren Wundheilung führte als die jeweils alleinige Therapie.

Weiters zeigte sich, dass autologe, allogene und xenogene MSCs zu einer positiven Wirkung führten. Neben der lokalen Stammzelltherapie als Injektion, Spray oder Gel waren auch die systemischen Anwendungen wirkungsvoll.

Die perfekte Heilmethode für tiefe zweitgradige und drittgradige Verbrennungen ist noch nicht in Stein gemeißelt (193). MSCs als eine alternative Therapiemethode zeigen Wirksamkeit. Jedoch müssen die ideale MSC-Quelle und ihre Applikationsart noch gefunden werden. Insbesondere AD-MSCs reflektieren Potenzial, da sie relativ leicht zu beschaffen sind, am häufigsten in den Studien eingesetzt und am öftesten mit Gerüsten kombiniert wurden.

Festzuhalten ist auch, dass neben den eigentlichen Stammzellen die alleinige Behandlung mit ihren Sekretionsprodukten effektiv zur Wundheilung beiträgt. In zwei Studien wird die annähernd gleiche Wirksamkeit zwischen den beiden Therapeutika beschrieben (133, 150). Eine andere Arbeit dokumentiert eine schnellere Wundheilung in der Zellgruppe (90). Es lässt sich daher nicht sagen, ob die Behandlung mittels der parakrinen Sekretion von MSCs in Zukunft mehr Potenzial mit sich bringen wird als die reine Zelltherapie.

Der Vergleich der Arbeiten ist aufgrund der Heterogenität nicht leicht und Schlussfolgerungen müssen mit Vorsicht getroffen werden. Zu beachten ist auch, dass die Tierversuche vor allem an Nagetieren durchgeführt wurden. Da sich Maushaut anatomisch und im Heilungsvorgang von menschlicher Haut differenziert (194), darf beim Einsatz am Menschen allenfalls mit differenten Ergebnissen

gerechnet werden. Im Gegensatz dazu ähnelt Schweinehaut der Menschenhaut mehr (194), und könnte eine geeignetere Grundlage für zukünftige Versuche bieten.

4.9 Limitationen

Der Einsatz der MSCs an Verbrennungswunden in Menschen konnte nicht wiedergegeben werden, da hier das Augenmerk auf Tierversuchsstudien gelegt wurde. Weiters wurden mit den Stammzellen aus dem Fettgewebe, dem Knochenmark, der Nabelschnur und der Plazenta die großen Gruppen der Quellen für die Gewinnung von MSCs abgedeckt. Nichtsdestotrotz gibt es mehr Quellen für MSCs die nicht in die Arbeit miteinbezogen wurden. Beispielsweise scheinen auch die „Hair-follicle mesenchymal stem cells“ potent zu sein. Aufgrund der großen Heterogenität der Studien, der verwendeten und angewendeten Stammzellen (vorkonditioniert und nicht vorkonditioniert beziehungsweise aus unterschiedlichen Quellen) und ihren Kombinationen mit Hydrogelen oder Kulturmedien ist ein Vergleich der Studienergebnisse untereinander nur schwer darzustellen. Auch die unterschiedlichen Verbrennungsgrade sowie Verbrennungsursachen und die verschiedenen Behandlungszeiträume erschweren die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Einheitliche Studiendesigns mit gleichen Endpunkten und Beobauungskriterien sind erforderlich, um die Ergebnisse der bisherigen Studien verifizieren zu können.

4.10 Schlussfolgerung

Dieser Review gibt einen Überblick über die Fähigkeiten mesenchymaler Stammzellen an Verbrennungswunden in präklinischen Tierversuchsstudien der letzten zehn Jahre. Es hat sich gezeigt, dass AD-MSCs, BM-MSCs und UC-MSCs wirkungsvoll in der Wundheilung sind. Insbesondere die mesenchymalen Stammzellen aus dem Fettgewebe und vor allem die Kombination mit diversen Gerüsten zeigen das Potenzial, auch in Zukunft erfolgreich in der Verbrennungsmedizin eingesetzt werden zu können. Mit dieser Literaturrecherche wird ein Überblick über den aktuellen Stand der MSCs in Verbrennungswunden wiedergegeben und die Arbeit liefert Grundlagen für weitere Studien. Abschließend kann gesagt werden, dass sich der Einsatz mesenchymaler Stammzellen in Verbrennungswunden an einem experimentellen Punkt befindet und noch Thema

intensiver Forschung ist, wobei die letzten Anwendungen vielversprechend sind. Aufgrund des Mangels an Studien und einheitlichen Ergebnissen kann der Einsatz der Stammzellen ohne Bedenken noch nicht empfohlen werden. Es sind daher mehr (prä)klinische Studien zur Wirkung und möglichen Nebenwirkungen der Anwendungen von mesenchymalen Stammzellen zur Behandlung von Verbrennungswunden erforderlich, um die routinemäßige Anwendung am Menschen durchführen zu können. Insbesondere gleichbeschaffene Versuchsstudien sind notwendig, um diese besser miteinander vergleichen zu können. Am Ende kann dargelegt werden, dass mesenchymale Stammzellen das Potenzial bieten, eine neue Therapieoption für Verbrennungsoffer zu werden.

5 Literaturverzeichnis

1. Moll I, Augustin M, editors. Dermatologie. 8th ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2016.
2. Terhorst D. Basics Dermatologie. 5th ed. München: Elsevier; 2019.
3. Anderhuber F, Pera F, Streicher J, editors. Waldeyer - Anatomie des Menschen. 19th ed. Berlin Boston: De Gruyter; 2012.
4. Lüllmann-Rauch R, Asan E. Taschenlehrbuch Histologie. 6th ed. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag; 2019.
5. Hartmann M, Papst M-A, Dohr G. Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie. 5th ed. Wien: facultas.wuv; 2011.
6. Höfler G, Kreipe HH, Moch H, editors. Pathologie das Lehrbuch. 6th ed. München: Elsevier; 2019.
7. Mikael Häggström bowbWhcwowFEIp, „Epidermal layers“, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/legalcode>. layers of the skin. [zitiert 10. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Epidermal_layers.png.
8. Aumüller G, Aust G, Engele J, Kirsch J, Maio G, Mayerhofer A, et al. Anatomie. 5th ed. Stuttgart: Thieme; 2020.
9. Don Bliss (artist) ATS-NVO, als gemeinfrei gekennzeichnet, Details auf Wikimedia Commons. Skin and its layers: Shown is a drawing of the layers of skin and associated glands and vessels (epidermis, dermis, fatty tissue, blood vessels, follicle, oil gland, sweat gland). [zitiert 10. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Anatomy_The_Skin_-_NCI_Visuals_Online.jpg.

10. Reimers K, Aust M, Sorg H. Biologische Grundlagen der Wundheilung. In: Praxis der Plastischen Chirurgie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 3-11.
11. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev.* 2019;99(1):665-706.
12. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res.* 2017;58(1-2):81-94.
13. OpenStax College
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:417_Tissue_Repair.jpg) TR,
<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/legalcode>. Illustration from Anatomy & Physiology. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:417_Tissue_Repair.jpg.
14. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015;4(3):119-36.
15. Jeschke MG, Kamolz L-P, Shahrokhi S, editors. Burn Care and Treatment. 2nd ed. Cham, Switzerland: Springer; 2021.
16. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6(1):11.
17. Kamolz L-P, Herndon DN, Jeschke MG, editors. Verbrennungen. Wien: SpringerWienNewYork; 2009.
18. Friedstat J, Brown DA, Levi B. Chemical, Electrical, and Radiation Injuries. *Clin Plast Surg.* 2017;44(3):657-69.
19. ErikHmn (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brandwond-graad2.JPG>) B-g, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/legalcode>. Brandwond graad 2. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brandwond-graad2.JPG>.

20. Papini R. Management of burn injuries of various depths. *Bmj*. 2004;329(7458):158-60.
21. Original Author was Persian Poet Gal at en.wikipedia (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Burn_Degree_Diagram-de.png) BDD-d, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/legalcode>. Zeichnerische Darstellung der Verbrennungsgrade 1 bis 3 und Kennzeichnung der geschädigten Hautschichten. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Burn_Degree_Diagram-de.png.
22. Karim AS, Shaum K, Gibson ALF. Indeterminate-Depth Burn Injury- Exploring the Uncertainty. *J Surg Res*. 2020;245:183-97.
23. Kayapınar M, Seyhan N, Avunduk MC, Savacı N. Saving the zone of stasis in burns with melatonin: an experimental study in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2015;21(6):419-24.
24. Rose LF, Chan RK. The Burn Wound Microenvironment. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016;5(3):106-18.
25. Nielson CB, Duethman NC, Howard JM, Moncure M, Wood JG. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *J Burn Care Res*. 2017;38(1):e469-e81.
26. Norman G, Christie J, Liu Z, Westby MJ, Jefferies JM, Hudson T, et al. Antiseptics for burns. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7(7):Cd011821.
27. Spanholtz TA, Theodorou P, Amini P, Spilker G. Severe burn injuries: acute and long-term treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106(38):607-13.
28. Bittner EA, Shank E, Woodson L, Martyn JA. Acute and perioperative care of the burn-injured patient. *Anesthesiology*. 2015;122(2):448-64.
29. Browning JA, Cindass R. Burn Debridement, Grafting, and Reconstruction. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.

30. Evers LH, Bhavsar D, Mailänder P. The biology of burn injury. *Exp Dermatol*. 2010;19(9):777-83.
31. Maurer HR. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life Sci*. 2001;58(9):1234-45.
32. Douglas HE, Wood F. Burns dressings. *Aust Fam Physician*. 2017;46(3):94-7.
33. Wang Y, Beekman J, Hew J, Jackson S, Issler-Fisher AC, Parungao R, et al. Burn injury: Challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;123:3-17.
34. Markiewicz-Gospodarek A, Koziół M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Büchner E, Przekora A. Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(3).
35. Benson A, Dickson WA, Boyce DE. Burns. *Bmj*. 2006;332(7542):649-52.
36. Jeschke MG, Shahrokhi S, Finnerty CC, Branski LK, Dibildox M. Wound Coverage Technologies in Burn Care: Established Techniques. *J Burn Care Res*. 2018;39(3):313-8.
37. Giftrapped
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Skin_Graft_on_Ankle_after_Third_Degree_Burns.jpg) SGoAaTDB, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>. Skin graft performed on the ankle due to third degree burns. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Skin_Graft_on_Ankle_after_Third_Degree_Burns.jpg.
38. Finnerty CC, Jeschke MG, Branski LK, Barret JP, Dziewulski P, Herndon DN. Hypertrophic scarring: the greatest unmet challenge after burn injury. *Lancet*. 2016;388(10052):1427-36.

39. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. J Chin Med Assoc. 2018;81(2):94-101.
40. Michael Rodger (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Keloid.jpg>) K, <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/legalcode>. Keloid formed after operation. One year since surgery. Wound caused by motorcycle accident and stitched up. [zitiert am 19. Februar 2024]. Verfügbar unter: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Keloid.jpg>.
41. Wang M, Xu X, Lei X, Tan J, Xie H. Mesenchymal stem cell-based therapy for burn wound healing. Burns Trauma. 2021;9:tkab002.
42. Roshangar L, Soleimani Rad J, Kheirjou R, Reza Ranjkesh M, Ferdowsi Khosroshahi A. Skin Burns: Review of Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. Wounds. 2019;31(12):308-15.
43. Erdag G, Morgan JR. Allogeneic versus xenogeneic immune reaction to bioengineered skin grafts. Cell Transplant. 2004;13(6):701-12.
44. Surowiecka A, Chrapusta A, Klimeczek-Chrapusta M, Korzeniowski T, Drukała J, Strużyna J. Mesenchymal Stem Cells in Burn Wound Management. Int J Mol Sci. 2022;23(23).
45. Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. Respiration. 2013;85(1):3-10.
46. Nourian Dehkordi A, Mirahmadi Babaheydari F, Chehelgerdi M, Raeisi Dehkordi S. Skin tissue engineering: wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. Stem Cell Res Ther. 2019;10(1):111.
47. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. Sultan Qaboos Univ Med J. 2018;18(3):e264-e77.
48. Haileyfournier (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stem_cell_differentiation.svg) Scd, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>. Stem cell

differentiation into various tissue types. [zitiert am 23. Februar 2024].

Verfügbar unter:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stem_cell_differentiation.svg.

49. Stanko P, Kaiserova K, Altanerova V, Altaner C. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2014;158(3):373-7.
50. Mikłosz A, Nikitiuk BE, Chabowski A. Using adipose-derived mesenchymal stem cells to fight the metabolic complications of obesity: Where do we stand? *Obes Rev.* 2022;23(5):e13413.
51. Jo H, Brito S, Kwak BM, Park S, Lee MG, Bin BH. Applications of Mesenchymal Stem Cells in Skin Regeneration and Rejuvenation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5).
52. Guerrouahen BS, Sidahmed H, Al Sulaiti A, Al Khulaifi M, Cugno C. Enhancing Mesenchymal Stromal Cell Immunomodulation for Treating Conditions Influenced by the Immune System. *Stem Cells Int.* 2019;2019:7219297.
53. Berebichez-Fridman R, Gómez-García R, Granados-Montiel J, Berebichez-Fastlicht E, Olivos-Meza A, Granados J, et al. The Holy Grail of Orthopedic Surgery: Mesenchymal Stem Cells-Their Current Uses and Potential Applications. *Stem Cells Int.* 2017;2017:2638305.
54. Oryan A, Kamali A, Moshiri A, Baghaban Eslaminejad M. Role of Mesenchymal Stem Cells in Bone Regenerative Medicine: What Is the Evidence? *Cells Tissues Organs.* 2017;204(2):59-83.
55. Krawczenko A, Klimczak A. Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Contribution to Angiogenic Processes in Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5).

56. Laloze J, Fiévet L, Desmoulière A. Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells in Regenerative Medicine: State of Play, Current Clinical Trials, and Future Prospects. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2021;10(1):24-48.
57. Mazini L, Rochette L, Amine M, Malka G. Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *Int J Mol Sci*. 2019;20(10).
58. Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev*. 2006;2(2):155-62.
59. Ding DC, Chang YH, Shyu WC, Lin SZ. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy. *Cell Transplant*. 2015;24(3):339-47.
60. Feng H, Liu Q, Deng Z, Li H, Zhang H, Song J, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate erectile dysfunction in rats with diabetes mellitus through the attenuation of ferroptosis. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):450.
61. Shaikh MS, Shahzad Z, Tash EA, Janjua OS, Khan MI, Zafar MS. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells: Current Literature and Role in Periodontal Regeneration. *Cells*. 2022;11(7).
62. Wei X, Yang X, Han ZP, Qu FF, Shao L, Shi YF. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol Sin*. 2013;34(6):747-54.
63. Souza CM, Mesquita LA, Souza D, Irioda AC, Francisco JC, Souza CF, et al. Regeneration of skin tissue promoted by mesenchymal stem cells seeded in nanostructured membrane. *Transplant Proc*. 2014;46(6):1882-6.
64. Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai J, Duan H, Chu W, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. *PLoS One*. 2014;9(2):e88348.
65. Li X, Liu L, Yang J, Yu Y, Chai J, Wang L, et al. Exosome Derived From Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Mediates MiR-181c

- Attenuating Burn-induced Excessive Inflammation. *EBioMedicine*. 2016;8:72-82.
66. Xue L, Xu YB, Xie JL, Tang JM, Shu B, Chen L, et al. Effects of human bone marrow mesenchymal stem cells on burn injury healing in a mouse model. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(7):1327-36.
 67. Paramasivam T, Maiti SK, Palakkara S, Rashmi, Mohan D, Manjunthaachar HV, et al. Effect of PDGF-B Gene-Activated Acellular Matrix and Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Full Thickness Skin Burn Wound in Rat Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2021;18(2):235-51.
 68. Feng CJ, Lin CH, Tsai CH, Yang IC, Ma H. Adipose-derived stem cells-induced burn wound healing and regeneration of skin appendages in a novel skin island rat model. *J Chin Med Assoc*. 2019;82(8):635-42.
 69. Strzalka W, Ziemienowicz A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Ann Bot*. 2011;107(7):1127-40.
 70. Franck CL, Senegaglia AC, Leite LMB, de Moura SAB, Francisco NF, Ribas Filho JM. Influence of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on the Burn Wound Healing Process. *Stem Cells Int*. 2019;2019:2340725.
 71. Chang YW, Wu YC, Huang SH, Wang HD, Kuo YR, Lee SS. Autologous and not allogeneic adipose-derived stem cells improve acute burn wound healing. *PLoS One*. 2018;13(5):e0197744.
 72. Karina, Samudra MF, Rosadi I, Afini I, Widyastuti T, Sobariah S, et al. Combination of the stromal vascular fraction and platelet-rich plasma accelerates the wound healing process: pre-clinical study in a Sprague-Dawley rat model. *Stem Cell Investig*. 2019;6:18.
 73. Bora P, Majumdar AS. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):145.

74. Naderi N, Griffin MF, Mosahebi A, Butler PE, Seifalian AM. Adipose derived stem cells and platelet rich plasma improve the tissue integration and angiogenesis of biodegradable scaffolds for soft tissue regeneration. *Mol Biol Rep.* 2020;47(3):2005-13.
75. Prasai A, El Ayadi A, Mifflin RC, Wetzel MD, Andersen CR, Redl H, et al. Characterization of Adipose-Derived Stem Cells Following Burn Injury. *Stem Cell Rev Rep.* 2017;13(6):781-92.
76. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol.* 2021;101(Pt B):107598.
77. Kwaifa IK, Bahari H, Yong YK, Noor SM. Endothelial Dysfunction in Obesity-Induced Inflammation: Molecular Mechanisms and Clinical Implications. *Biomolecules.* 2020;10(2).
78. Loder S, Peterson JR, Agarwal S, Eboda O, Brownley C, DeLaRosa S, et al. Wound healing after thermal injury is improved by fat and adipose-derived stem cell isografts. *J Burn Care Res.* 2015;36(1):70-6.
79. Lin CH, Wu SH, Lee SS, Lin YN, Kuo YR, Chai CY, et al. Autologous Adipose-Derived Stem Cells Reduce Burn-Induced Neuropathic Pain in a Rat Model. *Int J Mol Sci.* 2017;19(1).
80. Rezaei Yazdi F, Ghahary A, Mirdoraghi M, Sarvnaz H, Asgardoon MH, Rastegar T, et al. Promotion of Burn Wound Healing by Local Application of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells: An Experimental Study. *Med J Islam Repub Iran.* 2021;35:172.
81. Laksmiawati DR, Noor SU, Sumiyati Y, Hartanto A, Widowati W, Pratami DK. The effect of mesenchymal stem cell-conditioned medium gel on burn wound healing in rat. *Vet World.* 2022;15(4):841-7.
82. Oryan A, Alemzadeh E, Mohammadi AA, Moshiri A. Healing potential of injectable Aloe vera hydrogel loaded by adipose-derived stem cell in skin tissue-engineering in a rat burn wound model. *Cell Tissue Res.* 2019;377(2):215-27.

83. Hermeto LC, DeRossi R, Oliveira RJ, Gomes FG, Ferreira WR, Galhardo JA, et al. The efficacy of topical insulin application on rat model with burn wounds treated with adipose-derived stem cells. *Int J Burns Trauma*. 2020;10(6):296-306.
84. Azam M, Ghufran H, Butt H, Mehmood A, Ashfaq R, Ilyas AM, et al. Curcumin preconditioning enhances the efficacy of adipose-derived mesenchymal stem cells to accelerate healing of burn wounds. *Burns Trauma*. 2021;9:tkab021.
85. Horspool AM, Chang HC. Superoxide dismutase SOD-1 modulates *C. elegans* pathogen avoidance behavior. *Sci Rep*. 2017;7:45128.
86. Li Q, Zhao H, Xia S, Wei H, Chen F, Jin P. RUNX2 promotes epithelial differentiation of ADSCs and burn wound healing via targeting E-cadherin. *Oncotarget*. 2018;9(2):2646-59.
87. Barrera JA, Trotsyuk AA, Maan ZN, Bonham CA, Larson MR, Mittermiller PA, et al. Adipose-Derived Stromal Cells Seeded in Pullulan-Collagen Hydrogels Improve Healing in Murine Burns. *Tissue Eng Part A*. 2021;27(11-12):844-56.
88. Agrawal S, Budhwani D, Gurjar P, Telange D, Lambole V. Pullulan based derivatives: synthesis, enhanced physicochemical properties, and applications. *Drug Deliv*. 2022;29(1):3328-39.
89. Shokrgozar MA, Fattahi M, Bonakdar S, Ragerdi Kashani I, Majidi M, Haghighipour N, et al. Healing potential of mesenchymal stem cells cultured on a collagen-based scaffold for skin regeneration. *Iran Biomed J*. 2012;16(2):68-76.
90. Ng JY, Zhu X, Mukherjee D, Zhang C, Hong S, Kumar Y, et al. Pristine Gellan Gum-Collagen Interpenetrating Network Hydrogels as Mechanically Enhanced Anti-inflammatory Biologic Wound Dressings for Burn Wound Therapy. *ACS Appl Bio Mater*. 2021;4(2):1470-82.

91. Feketshane Z, Alven S, Aderibigbe BA. Gellan Gum in Wound Dressing Scaffolds. *Polymers (Basel)*. 2022;14(19).
92. Banerjee J, Seetharaman S, Wrice NL, Christy RJ, Natesan S. Delivery of silver sulfadiazine and adipose derived stem cells using fibrin hydrogel improves infected burn wound regeneration. *PLoS One*. 2019;14(6):e0217965.
93. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:395-424.
94. National Center for Advancing Translational Sciences from Bethesda M, Human Stem Cells (40529583203), als gemeinfrei gekennzeichnet, Details auf Wikimedia Commons. Co-culture of human macrophages with human mesenchymal stem cells (hMSCs) in a three-dimensional hydrogel scaffold for 15 days. Green: hMSCs; Blue: Live cells (hMSCs & macrophages); Red: Dead cells. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Human Stem Cells \(40529583203\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Human Stem Cells (40529583203).jpg).
95. Wu Y, Liang T, Hu Y, Jiang S, Luo Y, Liu C, et al. 3D bioprinting of integral ADSCs-NO hydrogel scaffolds to promote severe burn wound healing. *Regen Biomater*. 2021;8(3):rbab014.
96. Li M, Aveyard J, Doherty KG, Deller RC, Williams RL, Kolegraff KN, et al. Antimicrobial Nitric Oxide-Releasing Electrospun Dressings for Wound Healing Applications. *ACS Mater Au*. 2022;2(2):190-203.
97. Costa de Oliveira Souza CM, de Souza CF, Mogharbel BF, Irioda AC, Cavichiolo Franco CR, Sierakowski MR, et al. Nanostructured Cellulose-Gellan-Xyloglucan-Lysozyme Dressing Seeded with Mesenchymal Stem Cells for Deep Second-Degree Burn Treatment. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:833-50.
98. Koziół A, Cybulska J, Pieczywek PM, Zdunek A. Evaluation of Structure and Assembly of Xyloglucan from Tamarind Seed (*Tamarindus indica* L.) with Atomic Force Microscopy. *Food Biophys*. 2015;10(4):396-402.

99. Nawaz N, Wen S, Wang F, Nawaz S, Raza J, Iftikhar M, et al. Lysozyme and Its Application as Antibacterial Agent in Food Industry. *Molecules*. 2022;27(19).
100. Lu TY, Yu KF, Kuo SH, Cheng NC, Chuang EY, Yu JS. Enzyme-Crosslinked Gelatin Hydrogel with Adipose-Derived Stem Cell Spheroid Facilitating Wound Repair in the Murine Burn Model. *Polymers (Basel)*. 2020;12(12).
101. Fujiwara O, Prasai A, Perez-Bello D, El Ayadi A, Petrov IY, Esenaliev RO, et al. Adipose-derived stem cells improve grafted burn wound healing by promoting wound bed blood flow. *Burns Trauma*. 2020;8:tkaa009.
102. Abdel-Gawad DRI, Moselhy WA, Ahmed RR, Al-Muzafar HM, Amin KA, Amin MM, et al. Therapeutic effect of mesenchymal stem cells on histopathological, immunohistochemical, and molecular analysis in second-grade burn model. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):308.
103. Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. *Mol Aspects Med*. 2008;29(5):258-89.
104. Zhang H, Liu L, Jiang C, Pan K, Deng J, Wan C. MMP9 protects against LPS-induced inflammation in osteoblasts. *Innate Immun*. 2020;26(4):259-69.
105. Li W, Li Y, Guan S, Fan J, Cheng CF, Bright AM, et al. Extracellular heat shock protein-90alpha: linking hypoxia to skin cell motility and wound healing. *Embo j*. 2007;26(5):1221-33.
106. Caliari-Oliveira C, Yaochite JN, Ramalho LN, Palma PV, Carlos D, Cunha Fde Q, et al. Xenogeneic Mesenchymal Stromal Cells Improve Wound Healing and Modulate the Immune Response in an Extensive Burn Model. *Cell Transplant*. 2016;25(2):201-15.
107. Natalini A, Simonetti S, Favaretto G, Peruzzi G, Antonangeli F, Santoni A, et al. OMIP-079: Cell cycle of CD4(+) and CD8(+) naïve/memory T cell

- subsets, and of Treg cells from mouse spleen. *Cytometry A*. 2021;99(12):1171-5.
108. Temnov A, Astrelina T, Rogov K, Moroz B, Lebedev V, Nasonova T, et al. Use of paracrine factors from stem cells to treat local radiation burns in rats. *Stem Cells Cloning*. 2018;11:69-76.
109. Singer DD, Singer AJ, Gordon C, Brink P. The effects of rat mesenchymal stem cells on injury progression in a rat model. *Acad Emerg Med*. 2013;20(4):398-402.
110. Aryan A, Bayat M, Bonakdar S, Taheri S, Haghparast N, Bagheri M, et al. Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium Promotes Wound Healing in Deep Second-Degree Burns in Male Rats. *Cells Tissues Organs*. 2018;206(6):317-29.
111. Sharifi E, Chehelgerdi M, Fatahian-Kelishadroki A, Yazdani-Nafchi F, Ashrafi-Dehkordi K. Comparison of therapeutic effects of encapsulated Mesenchymal stem cells in Aloe vera gel and Chitosan-based gel in healing of grade-II burn injuries. *Regen Ther*. 2021;18:30-7.
112. Imam RA, Amer MM. Potential therapeutic role of microvesicles derived from mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma in murine burn wound healing: scar regulation and antioxidant mechanism. *Folia Morphol (Warsz)*. 2022.
113. Kage H, Borok Z. EMT and interstitial lung disease: a mysterious relationship. *Curr Opin Pulm Med*. 2012;18(5):517-23.
114. Viticchiè G, Lena AM, Cianfarani F, Odorisio T, Annicchiarico-Petruzzelli M, Melino G, et al. MicroRNA-203 contributes to skin re-epithelialization. *Cell Death Dis*. 2012;3(11):e435.
115. Markiewicz M, Nakerakanti SS, Kapanadze B, Ghatnekar A, Trojanowska M. Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates angiogenic effect of S1P in human dermal microvascular endothelial cells. *Microcirculation*. 2011;18(1):1-11.

116. Yang Y, Zhang W, Li Y, Fang G, Zhang K. Scalded skin of rat treated by using fibrin glue combined with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells. *Ann Dermatol.* 2014;26(3):289-95.
117. Mohajer Ansari J, Ramhormozi P, Shabani R, Pazoki-Toroudi H, Yari A, Barati M, et al. Simvastatin combined with bone marrow mesenchymal stromal cells (BMSCs) improve burn wound healing by ameliorating angiogenesis through SDF-1 α /CXCR4 pathway. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(6):751-9.
118. Farghaly Aly U, Abou-Taleb HA, Abdellatif AA, Sameh Tolba N. Formulation and evaluation of simvastatin polymeric nanoparticles loaded in hydrogel for optimum wound healing purpose. *Drug Des Devel Ther.* 2019;13:1567-80.
119. Imam RA, Rizk AA. Efficacy of erythropoietin-pretreated mesenchymal stem cells in murine burn wound healing: possible in vivo transdifferentiation into keratinocytes. *Folia Morphol (Warsz).* 2019;78(4):798-808.
120. Tsiftoglou AS. Erythropoietin (EPO) as a Key Regulator of Erythropoiesis, Bone Remodeling and Endothelial Transdifferentiation of Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Implications in Regenerative Medicine. *Cells.* 2021;10(8).
121. Ridge KM, Eriksson JE, Pekny M, Goldman RD. Roles of vimentin in health and disease. *Genes Dev.* 2022;36(7-8):391-407.
122. Pužar Dominkuš P, Stenovec M, Sitar S, Lasič E, Zorec R, Plemenitaš A, et al. PKH26 labeling of extracellular vesicles: Characterization and cellular internalization of contaminating PKH26 nanoparticles. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2018;1860(6):1350-61.
123. Ha XQ, Lu TD, Hui L, Dong F. Effects of mesenchymal stem cells transfected with human hepatocyte growth factor gene on healing of burn wounds. *Chin J Traumatol.* 2010;13(6):349-55.
124. Sun S, Xiao J, Huo J, Geng Z, Ma K, Sun X, et al. Targeting ectodysplasin promotor by CRISPR/dCas9-effector effectively induces the reprogramming

- of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells into sweat gland-like cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):8.
125. Moradpour M, Abdulah SNA. CRISPR/dCas9 platforms in plants: strategies and applications beyond genome editing. *Plant Biotechnol J.* 2020;18(1):32-44.
 126. Li S, Zhou J, Bu J, Ning K, Zhang L, Li J, et al. Ectodysplasin A protein promotes corneal epithelial cell proliferation. *J Biol Chem.* 2017;292(32):13391-401.
 127. Garcin CL, Huttner KM, Kirby N, Schneider P, Hardman MJ. Ectodysplasin A Pathway Contributes to Human and Murine Skin Repair. *J Invest Dermatol.* 2016;136(5):1022-30.
 128. Ribeiro L, Rocha R, Martins J, Monteiro A. Starch-iodine test: a diagnostic tool for Horner syndrome. *BMJ Case Rep.* 2020;13(9).
 129. Lü MH, Hu CJ, Chen L, Peng X, Chen J, Hu JY, et al. miR-27b represses migration of mouse MSCs to burned margins and prolongs wound repair through silencing SDF-1a. *PLoS One.* 2013;8(7):e68972.
 130. Alapure BV, Lu Y, He M, Chu CC, Peng H, Muhale F, et al. Accelerate Healing of Severe Burn Wounds by Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Seeded Biodegradable Hydrogel Scaffold Synthesized from Arginine-Based Poly(ester amide) and Chitosan. *Stem Cells Dev.* 2018;27(23):1605-20.
 131. Zhang J, La X, Fan L, Li P, Yu Y, Huang Y, et al. Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cell transplantation in rat burn models. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(5):5129-36.
 132. Pourfath MR, Behzad-Behbahani A, Hashemi SS, Derakhsahnfar A, Taheri MN, Salehi S. Monitoring wound healing of burn in rat model using human Wharton's jelly mesenchymal stem cells containing cGFP integrated by lentiviral vectors. *Iran J Basic Med Sci.* 2018;21(1):70-6.

133. Zhang B, Wang M, Gong A, Zhang X, Wu X, Zhu Y, et al. HucMSC-Exosome Mediated-Wnt4 Signaling Is Required for Cutaneous Wound Healing. *Stem Cells*. 2015;33(7):2158-68.
134. Mz888ms (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stem_Cells.TIF) SC, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>. Mesenchymal stem cells after 24 hours cultured on titanium substrate. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stem_Cells.TIF.
135. Shi H, Xu X, Zhang B, Xu J, Pan Z, Gong A, et al. 3,3'-Diindolylmethane stimulates exosomal Wnt11 autocrine signaling in human umbilical cord mesenchymal stem cells to enhance wound healing. *Theranostics*. 2017;7(6):1674-88.
136. El-Wahed Gaber MA, El-Halim Kandil MA, El-Farargy SM, Galbet DA. Beta-catenin expression in psoriasis. *Indian Dermatol Online J*. 2015;6(1):13-6.
137. Bie Q, Zhai R, Chen Y, Li Y, Xie N, Wang B, et al. Sox9 Is Crucial for Mesenchymal Stem Cells to Enhance Cutaneous Wound Healing. *Int J Stem Cells*. 2021;14(4):465-74.
138. Lefebvre V, Dvir-Ginzberg M. SOX9 and the many facets of its regulation in the chondrocyte lineage. *Connect Tissue Res*. 2017;58(1):2-14.
139. Aslam S, Khan I, Jameel F, Zaidi MB, Salim A. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells preconditioned with isorhamnetin: potential therapy for burn wounds. *World J Stem Cells*. 2020;12(12):1652-66.
140. Gong G, Guan YY, Zhang ZL, Rahman K, Wang SJ, Zhou S, et al. Isorhamnetin: A review of pharmacological effects. *Biomed Pharmacother*. 2020;128:110301.
141. Xu Y, Hong Y, Xu M, Ma K, Fu X, Zhang M, et al. Role of Keratinocyte Growth Factor in the Differentiation of Sweat Gland-Like Cells From Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(1):106-16.

142. Yang K, Li D, Wang M, Xu Z, Chen X, Liu Q, et al. Exposure to blue light stimulates the proangiogenic capability of exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):358.
143. Zhou P, Li X, Zhang B, Shi Q, Li D, Ju X. A Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium/Chitosan/Collagen/beta-Glycerophosphate Thermosensitive Hydrogel Promotes Burn Injury Healing in Mice. *Biomed Res Int.* 2019;2019:5768285.
144. Mehrabani D, Nazempour M, Mehdinavaz-Aghdam R, Hashemi SS, Jalli R, Moghadam MS, et al. MRI tracking of human Wharton's jelly stem cells seeded onto acellular dermal matrix labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles in burn wounds. *Burns Trauma.* 2022;10:tkac018.
145. Hashemi SS, Pourfath MR, Derakhshanfar A, Behzad-Behbahani A, Moayedi J. The role of labeled cell therapy with and without scaffold in early excision burn wounds in a rat animal model. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(5):673-9.
146. Eylert G, Dolp R, Parousis A, Cheng R, Auger C, Holter M, et al. Skin regeneration is accelerated by a lower dose of multipotent mesenchymal stromal/stem cells-a paradigm change. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12(1):82.
147. Cheng RY, Eylert G, Garipey JM, He S, Ahmad H, Gao Y, et al. Handheld instrument for wound-conformal delivery of skin precursor sheets improves healing in full-thickness burns. *Biofabrication.* 2020;12(2):025002.
148. Guo L, Akahori H, Harari E, Smith SL, Polavarapu R, Karmali V, et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2018;128(3):1106-24.
149. Moldobaeva A, Zhong Q, Eldridge L, Wagner EM. CD11b(+) interstitial macrophages are required for ischemia-induced lung angiogenesis. *Physiol Rep.* 2018;6(11):e13721.

150. Li JY, Ren KK, Zhang WJ, Xiao L, Wu HY, Liu QY, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells and their paracrine factors promote wound healing by inhibiting heat stress-induced skin cell apoptosis and enhancing their proliferation through activating PI3K/AKT signaling pathway. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):247.
151. Kudinov VA, Artyushev RI, Zurina IM, Lapshin RD, Snopova LB, Mukhina IV, et al. Antimicrobial and Regenerative Effects of Placental Multipotent Mesenchymal Stromal Cell Secretome-Based Chitosan Gel on Infected Burns in Rats. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14(12).
152. Fromm-Dornieden C, Rembe JD, Schäfer N, Böhm J, Stuermer EK. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management - prospects and limitations. *J Med Microbiol.* 2015;64(Pt 4):407-14.
153. Cullen TS, 1868-1953, Human- Embryo, about 5 mm. long, als gemeinfrei gekennzeichnet, Details auf Wikimedia Commons. Sagittal View of a Human Embryo 5 mm. in Length. [zitiert am 20. Februar 2024]. Verfügbar unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Human-Embryo,_about_5_mm._long.jpg.
154. Abo-Elkheir W, Hamza F, Elmofty AM, Emam A, Abdl-Moktader M, Elsherefy S, et al. Role of cord blood and bone marrow mesenchymal stem cells in recent deep burn: a case-control prospective study. *Am J Stem Cells.* 2017;6(3):23-35.
155. Schulman CI, Namias N, Pizano L, Rodriguez-Menocal L, Aickara D, Guzman W, et al. The effect of mesenchymal stem cells improves the healing of burn wounds: a phase 1 dose-escalation clinical trial. *Scars Burn Heal.* 2022;8:20595131211070783.
156. Carrière ME, Mokkink LB, Tyack Z, Westerman MJ, Pijpe A, Pleat J, et al. Development of the Patient Scale of the Patient and Observer Scar Assessment Scale (POSAS) 3.0: a qualitative study. *Qual Life Res.* 2023;32(2):583-92.

157. Zahorec P, Sarkozyova N, Ferancikova N, Bukovcan P, Danisovic L, Bohac M, et al. Autologous mesenchymal stem cells application in post-burn scars treatment: a preliminary study. *Cell Tissue Bank*. 2021;22(1):39-46.
158. Bedford L, Daveluy S. *Skin Resurfacing Dermabrasion*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
159. Thompson CM, Sood RF, Honari S, Carrougher GJ, Gibran NS. What score on the Vancouver Scar Scale constitutes a hypertrophic scar? Results from a survey of North American burn-care providers. *Burns*. 2015;41(7):1442-8.
160. Leung A, Crombleholme TM, Keswani SG. Fetal wound healing: implications for minimal scar formation. *Curr Opin Pediatr*. 2012;24(3):371-8.
161. Kim HY, Im HY, Chang HK, Jeong HD, Park JH, Kim HI, et al. Correlation between Collagen Type I/III Ratio and Scar Formation in Patients Undergoing Immediate Reconstruction with the Round Block Technique after Breast-Conserving Surgery. *Biomedicines*. 2023;11(4).
162. Almaliotis D, Koliakos G, Papakonstantinou E, Komnenou A, Thomas A, Petrakis S, et al. Mesenchymal stem cells improve healing of the cornea after alkali injury. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015;253(7):1121-35.
163. Hussein Abed H, Hameed Fathullah Al-Bayati A. Clinical and Histopathological Study of the Effect of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells on Corneal Neovascularization following Alkali Burn in a Rabbit Model. *Arch Razi Inst*. 2022;77(5):1715-21.
164. Tiwari VK. Burn wound: How it differs from other wounds? *Indian J Plast Surg*. 2012;45(2):364-73.
165. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012;49(1):35-43.

166. Yang L, Chan T, Demare J, Iwashina T, Ghahary A, Scott PG, et al. Healing of burn wounds in transgenic mice overexpressing transforming growth factor-beta 1 in the epidermis. *Am J Pathol.* 2001;159(6):2147-57.
167. Schmid P, Itin P, Cherry G, Bi C, Cox DA. Enhanced expression of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar. *Am J Pathol.* 1998;152(2):485-93.
168. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Roche NS, Wakefield LM, et al. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(12):4167-71.
169. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(5).
170. Burmeister DM, Stone R, 2nd, Wrice N, Laborde A, Becerra SC, Natesan S, et al. Delivery of Allogeneic Adipose Stem Cells in Polyethylene Glycol-Fibrin Hydrogels as an Adjunct to Meshed Autografts After Sharp Debridement of Deep Partial Thickness Burns. *Stem Cells Transl Med.* 2018;7(4):360-72.
171. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7).
172. Imbarak N, Abdel-Aziz HI, Farghaly LM, Hosny S. Effect of mesenchymal stem cells versus aloe vera on healing of deep second-degree burn. *Stem Cell Investig.* 2021;8:12.
173. Volkova MV, Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Kovaleva EV, Othman AA, Melerzanov AV, et al. Local injection of bone-marrow derived mesenchymal stromal cells alters a molecular expression profile of a contact frostbite injury wound and improves healing in a rat model. *Burns.* 2023;49(2):432-43.

174. Li X, Wei Z, Zhang W, Lv H, Li J, Wu L, et al. Anti-Inflammatory Effects of Magnetically Targeted Mesenchymal Stem Cells on Laser-Induced Skin Injuries in Rats. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:5645-59.
175. Li B, Wang JH. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement. *J Tissue Viability*. 2011;20(4):108-20.
176. Caley MP, Martins VL, O'Toole EA. Metalloproteinases and Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(4):225-34.
177. Liu H, Wang C, Li C, Qin Y, Wang Z, Yang F, et al. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC Adv*. 2018;8(14):7533-49.
178. Hekmatpou D, Mehrabi F, Rahzani K, Aminiyan A. The Effect of Aloe Vera Clinical Trials on Prevention and Healing of Skin Wound: A Systematic Review. *Iran J Med Sci*. 2019;44(1):1-9.
179. Teplicki E, Ma Q, Castillo DE, Zarei M, Hustad AP, Chen J, et al. The Effects of Aloe vera on Wound Healing in Cell Proliferation, Migration, and Viability. *Wounds*. 2018;30(9):263-8.
180. Slaughter BV, Khurshid SS, Fisher OZ, Khademhosseini A, Peppas NA. Hydrogels in regenerative medicine. *Adv Mater*. 2009;21(32-33):3307-29.
181. Kou Z, Li B, Aierken A, Tan N, Li C, Han M, et al. Mesenchymal Stem Cells Pretreated with Collagen Promote Skin Wound-Healing. *Int J Mol Sci*. 2023;24(10).
182. Chen JS, Wong VW, Gurtner GC. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cutaneous wound healing. *Front Immunol*. 2012;3:192.
183. L PK, Kandoi S, Misra R, S V, K R, Verma RS. The mesenchymal stem cell secretome: A new paradigm towards cell-free therapeutic mode in regenerative medicine. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2019;46:1-9.

184. Beer L, Mildner M, Ankersmit HJ. Cell secretome based drug substances in regenerative medicine: when regulatory affairs meet basic science. *Ann Transl Med.* 2017;5(7):170.
185. Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS One.* 2008;3(4):e1886.
186. Wang K, Zhang S, Weber J, Baxter D, Galas DJ. Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(20):7248-59.
187. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9).
188. Balaji S, Keswani SG, Crombleholme TM. The Role of Mesenchymal Stem Cells in the Regenerative Wound Healing Phenotype. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2012;1(4):159-65.
189. Jeschke MG, Rehou S, McCann MR, Shahrokhi S. Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of severe burn injury. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):337.
190. Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA, Krasheninnikov ME, Kravchenko VI, Gorshenin TL, et al. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med.* 2005;139(1):141-4.
191. Bey E, Prat M, Duhamel P, Benderitter M, Brachet M, Trompier F, et al. Emerging therapy for improving wound repair of severe radiation burns using local bone marrow-derived stem cell administrations. *Wound Repair Regen.* 2010;18(1):50-8.
192. Lataillade JJ, Doucet C, Bey E, Carsin H, Huet C, Clairand I, et al. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery

combined with autologous mesenchymal stem cell therapy. *Regen Med.* 2007;2(5):785-94.

193. Li Y, Xia WD, Van der Merwe L, Dai WT, Lin C. Efficacy of stem cell therapy for burn wounds: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):322.
194. Padmanabhan J, Maan ZN, Kwon SH, Kosaraju R, Bonham CA, Gurtner GC. In Vivo Models for the Study of Fibrosis. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2019;8(12):645-54.