

Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Prof. Dr. med. Thomas Tschernig

**Wachstum postmortalen Haut in vitro –  
Einfluss von MALP-2 und Eap**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde  
der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2024

vorgelegt von Lili Karapetjanová

geboren am 01.05.1998 in Prag, Tschechische Republik

Tag der Disputation: 21.03.2025

Dekan: Prof. Dr. Matthias Hannig

Berichterstatter: Prof. Dr. Thomas Tschernig  
Prof. Dr. Thomas Vogt

Meinen lieben Eltern und Großeltern in Dankbarkeit gewidmet.

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
%	Prozent
µg	Mikrogramm
Abb.	Abbildung
AVK	Arterielle Verschlusskrankheit
CXC	Chemokin
DNA	Desoxyribonukleinsäure, Engl. <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
Eap	Extrazelluläres Adhärenzprotein, Engl. <i>Extracellular Adherence Protein</i>
Emp	Engl. <i>Extracellular Matrix Protein</i>
Engl.	Englisch
et al.	<i>Et alii</i> , lateinisch für „und andere“
FCS	Engl. <i>Fetal Calf Serum</i>
GM-CSF	Engl. <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
h	Stunde(n)
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
ICAM-1	Engl. <i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
IL	Interleukin
kDa	Kilodalton
KHK	Koronare Herzkrankheit
KS	Körperspender
l	Liter
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
MAC	Membranangriffskomplex
MALP	Engl. <i>Macrophage-activating Lipopeptide</i>
Map	Engl. <i>Major Histocompatibility Complex Class II Analog Protein</i>
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MCP-1	Engl. <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MHC-Klasse-II	Engl. <i>Major Histocompatibility Complex Class II</i>
min	Minuten
MIP	Engl. <i>Macrophage Inflammatory Protein</i>

ml	Milliliter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>S. aureus</i>
NET	Die extrazelluläre Neutrophilenfalle, Engl. <i>Neutrophil Extracellular Trap</i>
NF- $\kappa$ B	Engl. <i>Nuclear factor <math>\kappa</math>-light-chain-enhancer of activated B-cells</i>
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
p70	Protein 70
Pen/Strep	Penicillin-Streptomycin
PMN	Engl. <i>Polymorphonuclear Neutrophils</i>
REF	Referenznummer
RPMI	Roswell Park Memorial Institute, Zellkulturmedium
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	Engl. <i>Standard Error of the Mean</i> , Standardfehler
SERAM	Engl. <i>Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules</i>
Tab.	Tabelle
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor-alpha
TSST-1	Toxic-shock-syndrome-Toxin 1
VRSA	Vancomycin-resistenter <i>S. aureus</i>

## Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung .....	1
1.1 Deutsche Zusammenfassung.....	1
1.2 Abstract .....	3
2. Einleitung.....	5
2.1 Aufbau der Haut .....	5
2.2 Physiologie der Wundheilung .....	7
2.3 Die postmortalen Veränderungen der Haut .....	9
2.4 Makrophagen-aktivierendes Lipopeptid 2.....	10
2.4.1 Geschichte und Struktur.....	10
2.4.2 Eigenschaften .....	11
2.4.3 Bedeutung für die Wundheilung .....	13
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.6 Extrazelluläres Adhärenzprotein.....	15
2.6.1 Geschichte .....	15
2.6.2 Aufbau.....	16
2.6.3 Eigenschaften .....	17
2.6.4 Bedeutung für die Wundheilung.....	19
2.7 Ziele der Arbeit und Fragestellungen.....	22
3. Material und Methoden .....	23
3.1 Eingesetzte Materialien und Geräte .....	23
3.1.1 Chemikalien .....	23
3.1.2 Geräte .....	24
3.1.3 Verbrauchsmaterialien .....	25
3.1.4 Andere Materialien .....	26
3.2 Probenmaterial .....	26
3.2.1 Körperspende.....	26
3.2.2 Übersicht der Spender .....	27
3.2.3 Fixierung .....	28
3.2.4 Auswahl des Probenmaterials .....	28
3.3 Übersicht des Prozesses der histologischen Präparatherstellung.....	28
3.4 Probenentnahme und Fixierung .....	29
3.5 Zellinkubation .....	30
3.6 Paraffineinbettung .....	32

3.7 Anfertigung von Paraffinschnitten .....	34
3.8 HE-Färbung.....	34
3.9 Auswertung der Daten .....	36
3.9.1 Auswahl der Präparate .....	36
3.9.2 Auswertungsparameter .....	36
3.9.3 Grafische Darstellung.....	37
4. Ergebnisse.....	38
4.1 Körperspender 1.....	38
4.1.1 Messung der Schichtdicke .....	38
4.1.2 Messung des Abstands .....	39
4.2 Körperspender 2.....	42
4.2.1 Messung der Schichtdicke .....	42
4.2.2 Messung des Abstands .....	43
4.3 Körperspender 3.....	46
4.3.1 Messung der Schichtdicke .....	46
4.3.2 Messung des Abstands .....	47
4.4 Körperspender 4.....	50
4.4.1 Messung der Schichtdicke .....	50
4.4.2 Messung des Abstands .....	51
4.5 Körperspender 5.....	54
4.5.1 Messung der Schichtdicke .....	54
4.5.2 Messung des Abstands .....	55
4.6 Körperspender 6.....	58
4.6.1 Messung der Schichtdicke .....	58
4.6.2 Messung des Abstands .....	60
4.7 Körperspender 7.....	64
4.7.1 Messung der Schichtdicke .....	64
4.7.2 Messung des Abstands .....	66
4.8 Körperspender 8.....	70
4.8.1 Messung der Schichtdicke .....	70
4.8.2 Messung des Abstands .....	72
4.9 Mittelwerte .....	76
4.9.1 Messung der Schichtdicke .....	76
4.9.2 Messung des Abstands .....	79
5. Diskussion .....	82

5.1 Diskussion der Methoden.....	82
5.2 Diskussion der Ergebnisse.....	84
5.3 Fazit und Perspektive.....	87
6. Abbildungsverzeichnis .....	89
7. Tabellenverzeichnis .....	91
9. Literaturverzeichnis .....	92
10. Quellenverzeichnis .....	103
11. Danksagung.....	104
12. Lebenslauf.....	105



## 1. Zusammenfassung

### 1.1 Deutsche Zusammenfassung

Die Wundheilung ist ein lebenswichtiger biologischer Prozess, der durch verschiedene lokale und systemische Faktoren, darunter auch bakterielle Infektionen, beeinflusst werden kann. Unter den zahlreichen Bakterien, die Wunden infizieren können, ist *Staphylococcus aureus* einer der häufigsten Krankheitserreger, der in chronischen Wunden vorkommt. Vorherige Arbeiten haben gezeigt, dass das extrazelluläre Adhäsionsprotein (Eap) von *S. aureus* sezerniert wird und die Wundheilung beeinträchtigt, in dem es die Proliferation und Migration von Immunzellen sowie die Neovaskularisierung inhibiert. Während einige Bakterien durch die Wirkung von Virulenzfaktoren die Wundheilung verzögern, haben andere eine positive Auswirkung auf den Heilungsprozess. In vorherigen Studien wurde festgestellt, dass das von *Mycoplasma fermentans* isolierte Makrophagen-aktivierende Lipopeptid-2 (MALP-2) regenerative Eigenschaften besitzt.

In dieser Arbeit wurde erstmalig das Modell *Punch within a Punch* zur Untersuchung der postmortalen Wundheilung unter dem Einfluss von MALP-2 und Eap angewendet. Das Ziel dieser Pilotstudie war es, die Wirkung von MALP-2 und Eap an postmortalen Proben und die Eignung des Modells für weitere Versuche zu analysieren. Die Verwendung von postmortalen menschlichen Geweben kann dazu beitragen, sowohl ethische Herausforderungen zu bewältigen als auch das wissenschaftliche Verständnis der Wundheilung beim Menschen voranzutreiben.

Die Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes unter der Betreuung von Prof. Dr. Markus Bischoff. Für die Arbeit wurden Hautproben von der Innenseite des Unterarms von acht Körperspendern gewonnen. Es wurde ein postmortales Intervall von bis zu 24 Stunden eingehalten. Nach dem Modell *Punch within a Punch* wurde das Gewebematerial mit einer Biopsiestanze mit einem Durchmesser von 8 mm und danach in der Mitte mit einem Durchmesser von 2 mm geschnitten. Die Proben mit der Wunde in der Mitte wurden in Well-Platten unter Zusatz von Medium, 1 µg/ml MALP-2 und 40 µg/ml Eap inkubiert. Aus den Proben wurden histologische Schnittpräparate angefertigt und diese wurden mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt.

Die Studienergebnisse bestätigen, dass die postmortale Proliferation der Keratinozyten möglich ist. Das wurde durch die Messung der Schichtdicke und des kleinsten Abstands der Wundränder nachgewiesen. In den meisten Messungen wurde eine Zunahme der Werte beobachtet, was auf eine Zellproliferation hindeuten kann. Eine eindeutige Bewertung der positiven und negativen Auswirkungen von MALP-2 und Eap war in dieser Pilotstudie nicht möglich. In weiteren Untersuchungen wäre es sinnvoll, die Messungen um zusätzliche Parameter zu erweitern, zum Beispiel um die Fläche des neu gebildeten Gewebes. Zur Untersuchung der potenziellen therapeutischen Wirkung von MALP-2 und Eap wären weitere Versuche mit einem größeren Probengut von Vorteil.

## 1.2 Abstract

Wound healing is a vital biological process that can be influenced by various systemic and local factors, including bacterial infections. *Staphylococcus aureus* is one of the numerous bacteria that can infect wounds and is also found in chronic wounds. The previous studies have shown that the secretion of the extracellular adhesion protein (Eap) by *S. aureus* hinders the wound healing by preventing the growth and migration of cells in the immune system and the formation of new blood vessels. While some bacteria delay wound healing process through the virulence factors, others can positively impact the wound healing. In the recent studies, macrophage activating lipopeptide 2 (MALP-2), which was isolated from *Mycoplasma fermentans*, was found to have regenerative properties.

In this work the *Punch within a Punch* model was used for the first time to study post-mortem wound healing under the influence of MALP-2 and Eap. The aim of this pilot study was to examine the effects of MALP-2 and Eap on the postmortem samples and the suitability of this model for the future studies. The use of the postmortem human tissues can help address the ethical concerns and improve clinical relevance and understanding of wound healing in humans.

The study was created in collaboration with the Institute for Medical Microbiology and Hygiene at the Medical Faculty of Saarland University under the supervision of Prof. Dr. Markus Bischoff. For this study skin samples were collected from the inner side of the forearm of eight body donors. A postmortem interval was up to 24 hours. According to the *Punch within a Punch* model, the tissue material was cut with the biopsy punch with a diameter of 8 mm and then in the middle with a diameter of 2 mm. The samples with the wound in the middle were incubated in the well plates with the addition of medium, 1 µg/ml MALP-2 and 40 µg/ml Eap. Histological sections were created from the samples and stained using hematoxylin-eosin.

The study results confirmed that postmortem proliferation of keratinocytes is possible. This was proven by measuring the thickness of the samples and the smallest distance between the edges of the wound. In most measurements increased values were observed, which may indicate the cell proliferation. In this pilot study a clear statement of the positive and negative effects of MALP-2 and Eap could not be made. In further studies it would make sense to expand the measurements to include additional parameters, such as the area of the newly formed tissue. To investigate the potential

therapeutic effects of MALP-2 and Eap, it would be advantageous to test more samples in the further experiments.

## 2. Einleitung

### 2.1 Aufbau der Haut

Die Haut (Kutis) ist mit einer Fläche von 1,2 bis 2,3 m<sup>2</sup> das größte Organ des Menschen (Junqueira et al., 2005). Sie hat eine hohe Fähigkeit zur Regeneration und Heilung von Verletzungen und wird in drei Schichten aufgeteilt: Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Hypodermis (Subkutis, Unterhaut) (Junqueira et al., 2005). Die Haut erfüllt eine Vielzahl von Funktionen. Neben der Thermoregulation und Synthese von Vitamin D<sub>3</sub> spielt sie eine bedeutende Rolle beim Schutz des Körpers vor äußeren Reizen wie UV-Strahlung, Chemikalien und Pathogenen. Zudem schützt sie den Organismus vor Austrocknung (Junqueira et al., 2005). Außerdem ermöglicht sie die Sinneswahrnehmung über Sensoren und erfüllt eine immunologische Funktion über antigenpräsentierende Langerhans-Zellen und Lymphozyten (Junqueira et al., 2005).

Die äußerste Schicht, die Epidermis, besteht hauptsächlich aus Keratinozyten, die kontinuierlich im Laufe von 4 Wochen erneuert werden (Welsch et al., 2014). Die Epidermis wird durch ein verhorntes, mehrschichtiges Plattenepithel gebildet. Die Schichtung der Keratinozyten in der Epidermis ermöglicht die Unterscheidung von Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum, Stratum lucidum und Stratum corneum (Junqueira et al., 2005).

Das Stratum basale (Basalzellschicht) ist die unterste Schicht der Epidermis. Es besteht aus einer Schicht von kubischen bis hochprismatischen Epithelzellen (Junqueira et al., 2005). Zudem enthält es Stammzellen, aus denen sich die Keratinozyten entwickeln (Junqueira et al., 2005). Letztere werden Keratinozyten genannt, weil sie Keratin produzieren und damit eine bedeutende Rolle bei der Regeneration der Haut spielen (Junqueira et al., 2005). Außerdem kommen in dieser Schicht Melanin produzierende Melanozyten vor (Junqueira et al., 2005). Das Stratum basale und das Stratum spinosum, das darüber liegt, bilden zusammen das Stratum germinativum (*germinare* lateinisch für wachsen), denn die Zellen teilen sich in beiden Schichten und wandern nach oben (Junqueira et al., 2005).

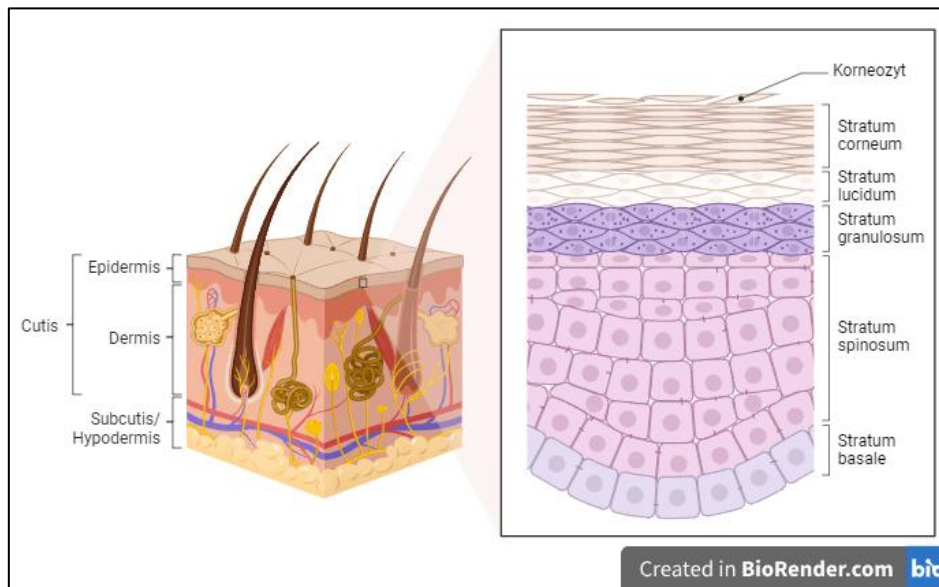
Das Stratum spinosum (Stachelzellschicht) besteht aus stachelig aussehenden Zellen, die über Desmosomen verbunden sind (Welsch et al., 2014). Das Stratum granulosum (Körnerschicht) wird durch abgeflachte Zellen mit Keratohyalin granula und

Lamellengranula, die Lipide und Proteine enthalten, gebildet (Welsch et al., 2014). Das dünne Stratum lucidum befindet sich ausschließlich in der dicken Haut (Leistenhaut) an den Handflächen und Fußsohlen und stellt eine Übergangszone zwischen den lebenden und den verhornten Zellen dar (Welsch et al., 2014). Die äußerste Schicht der Haut ist das Stratum corneum (Hornschicht). Diese besteht aus Korneozyten (Hornzellen). Sie entstehen aus Keratinozyten in einem Prozess der Keratinisierung, in dem sie ihre Organellen und Zellkerne verlieren (Welsch et al., 2014).

Zu den weiteren Zellen der Epidermis gehören die Langerhans-Zellen (dendritische Zellen), die vor allem im Stratum spinosum vorkommen und eine bedeutende Rolle bei der Antigenpräsentation und dadurch bei der Immunabwehr spielen (Junqueira et al., 2005). Neben den Keratinozyten, Melanozyten, Langerhans-Zellen, Lymphozyten und Korneozyten kommen in der Epidermis die Merkel-Zellen vor, die sich vor allem im Stratum basale befinden. Sie sind mit den Nervenendigungen verbunden und gehören zu den Mechanorezeptoren (Junqueira et al., 2005).

Die Dermis wird durch Stratum papillare und Stratum reticulare gebildet. Das Stratum papillare besteht aus „lockerem Bindegewebe, Fibroblasten und freien Zellen des Bindegewebes wie Mastzellen und Makrophagen“ (Junqueira et al., 2005). Es hat einen höheren zellulären Anteil als das Stratum reticulare, das vor allem durch Fasern gebildet wird (Junqueira et al., 2005). Das Stratum papillare enthält zahlreiche Papillen, die in die Epidermis ragen. Das dickere Stratum reticulare besteht aus straffem Bindegewebe und enthält Kollagenfasern, meistens vom Typ I, sowie elastische Fasern, die die Elastizität der Haut unterstützen (Junqueira et al., 2005). Außerdem kommen Haarfollikel, Drüsen (Schweißdrüsen und Talgdrüsen), Nervenfasern sowie Blut- und Lymphgefäße in der Dermis vor (Junqueira et al., 2005).

Die Hypodermis besteht aus lockerem Bindegewebe sowie Fettgewebe und enthält die Mechanorezeptoren Vater-Pacini-Körperchen zur Wahrnehmung von Vibrationen (Junqueira et al., 2005).



**Abb. 1: Schematische Darstellung der Hautschichten**

(modifiziert von Tucak-Smajić *Structure of the Epidermis* und *Anatomy of the Skin*, Biorender.com)

## 2.2 Physiologie der Wundheilung

Während der Wundheilung können zwei Mechanismen auftreten: Regeneration und Reparatur (Narbe) (Lippert, 2006). Die Regeneration bezieht sich auf den Prozess, bei dem geschädigtes Gewebe durch neues, gesundes Gewebe ersetzt wird (Lippert, 2006). Dies tritt vor allem bei oberflächlichen oder kleineren Wunden auf und es kommt nicht zur Narbenbildung (Lippert, 2006). Die Reparatur hingegen ist der Prozess, bei dem geschädigtes Gewebe durch Bindegewebe ersetzt wird (Lippert, 2006). Dies geschieht vor allem bei größeren oder tieferen Wunden (Lippert, 2006). Das neu gebildete Bindegewebe füllt die Wunde aus und bildet eine Narbe (Lippert, 2006).

Man unterscheidet zwischen der primären und der sekundären Wundheilung. Bei der primären Wundheilung liegen die Wundränder nah beieinander und die Wunde kann schnell ohne Infektion ausheilen (Lippert, 2006). Im Gegensatz dazu wird die Wunde bei der sekundären Wundheilung aufgrund von Gewebeerlust mit Granulationsgewebe ausgefüllt und erst später wird ein neues Epithel gebildet (Lippert, 2006). Die Heildauer ist länger und es kann eine chronische Wunde entstehen (Lippert, 2006).

Die Wundheilung lässt sich in vier Phasen, die teilweise parallel verlaufen, aufteilen: „die exsudative Phase (1.–8. Stunde), die resorptive Phase (1.–4. Tag), die proliferative Phase (3.–10. Tag) und die reparative Phase (7. Tag bis Monate)“ (Lippert, 2006).

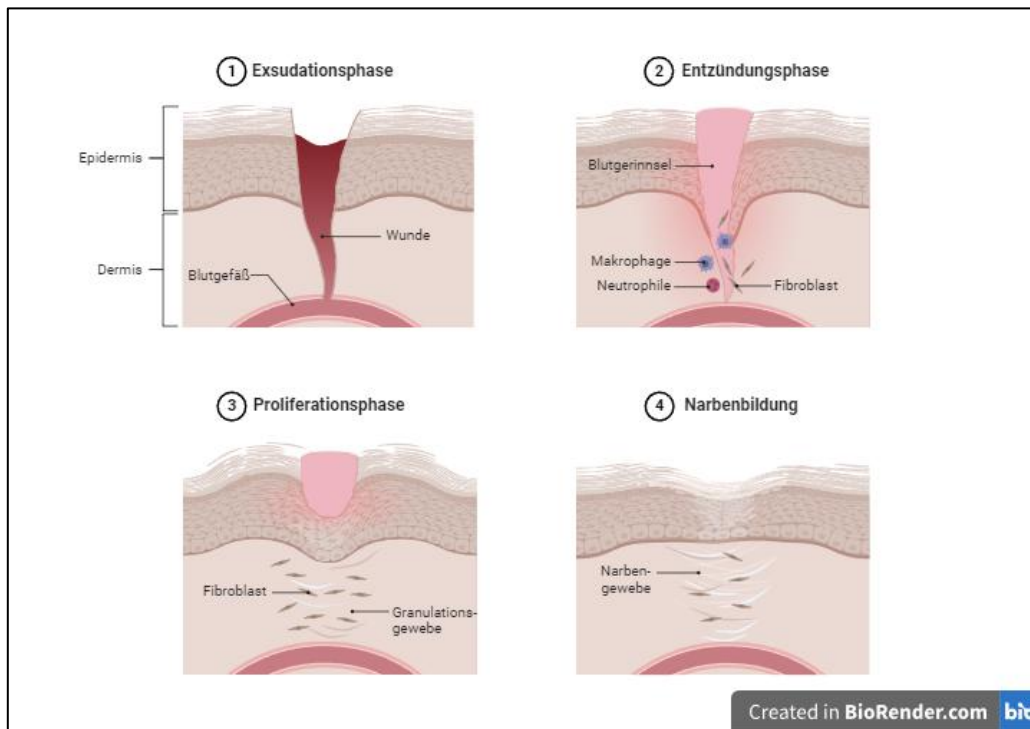
Die exsudative Phase beginnt mit einer Entzündungsreaktion unmittelbar nach einer Verletzung. Die kurze Vasokonstriktion sorgt für die primäre Hämostase (Blutstillung) durch Thrombozytenaggregation und Fibrinagglutination. Ihr folgt die Vasodilatation (Lippert, 2006). Die erhöhte Durchblutung ermöglicht den Transport von Leukozyten (Lippert, 2006). Es entsteht Wundsekret, das aus Blut und Lymphe zusammengesetzt ist (Lippert, 2006).

Die resorptive Phase ist durch die Invasion von inflammatorischen Zellen wie neutrophilen Granulozyten und Makrophagen gekennzeichnet, die Bakterien sowie Zelldebris phagozytieren und für die Auflösung von abgestorbenem Gewebe sorgen (Lippert, 2006). In dieser Phase werden auch Wachstumsfaktoren freigesetzt, beispielweise  $\beta$ -FGF (Fibroblastenwachstumsfaktor), das für die Vermehrung von Fibroblasten und für die Angiogenese zuständig ist (Lippert, 2006). Diese Phase ist für die infektiionslose Abheilung der Wunde von Bedeutung (Lippert, 2006).

Die Proliferationsphase umfasst mehrere Prozesse. Es entstehen neue Blutgefäße (Angiogenese) und es findet die Reepithelisierung statt (Lippert, 2006). Die Fibroblasten, die für die Kollagenbildung zuständig sind, proliferieren (Lippert, 2006). In dieser Phase nimmt die Anzahl von Fibroblasten, Angioblasten und Keratinozyten zu (Lippert, 2006). Es entsteht Granulationsgewebe aus Makrophagen, Fibroblasten, Angioblasten und Keratinozyten (Lippert, 2006). Schließlich kommt es zur Kontraktion von Myofibroblasten, die aus Fibroblasten entstehen, und die Wunde verkleinert sich (Lippert, 2006).

In der letzten reparativen Phase reift das Bindegewebe aus. Die Kollagenasen bauen Kollagenfasern ab und die Fasern werden neu vernetzt (Lippert, 2006). Das neu gebildete Gewebe wird umstrukturiert und stabilisiert (Lippert, 2006). Zum Schluss entsteht Narbengewebe. Die Reißfestigkeit nimmt mit der Zeit zu und aus der roten Narbe (gefäßreich) entsteht die weiße Narbe (gefäßarm) (Lippert, 2006). Das neu entstandene Narbengewebe ist heller und besitzt keine Haarfollikel, weil die Melanozyten und die Haarfollikel nicht regeneriert werden können (Lippert, 2006).





### Abb. 2: Phasen der Wundheilung

In der Exsudationsphase (1) kommt es zur Vasokonstriktion und Blutstillung. In der Entzündungsphase (2) wandern die Neutrophilen und Makrophagen ein. Die Fibroblasten proliferieren und es entsteht das Granulationsgewebe (3). Schließlich kommt es zur Narbenbildung (4). (modifiziert von *Wound Healing*, Biorender.com)

### 2.3 Die postmortalen Veränderungen der Haut

Nach dem Tod kommt es zu zahlreichen Veränderungen, die den ganzen Organismus betreffen. Diese resultieren aus dem zellulären Zerfall sowie aus biochemischen Prozessen und sind von der Temperatur, der Feuchtigkeit, der Luftbewegung, dem Zustand des Körpers und anderen Faktoren abhängig (Grassberger und Schmid, 2013). Man unterscheidet zwischen den vitalen und postmortalen Veränderungen sowie den frühen und späten Leichenerscheinungen. Die vitalen Veränderungen entstehen anders als die postmortalen noch im lebenden Organismus. Diese Reaktionen werden in der Forensik verwendet, damit die Todeszeit und Todesursachen festgestellt werden können. Die postmortalen Veränderungen können unter anderem durch die Manipulation und den Transport der Leiche entstehen und diese Verletzungen sind ähnlich zu den vitalen Verletzungen (Glemser et al., 2021).

Zu den frühen Leichenerscheinungen gehören Totenflecke (Livores), Totenstarre (Rigor mortis), Abkühlung der Leiche (Algor mortis) und Vertrocknung. Die späten

Leichenerscheinungen umfassen Fäulnis, Verwesung, Mumifizierung, Leichenlipidbildung (Fettwachs), Tierfraß und Skelettierung (Grassberger und Schmid, 2013).

Zu den Veränderungen, die die Haut betreffen, gehören Totenflecken (Livores mortis). Diese sind die ersten erkennbaren Erscheinungen (Grassberger und Schmid, 2013). Es handelt sich um blauviolette Flecken, die in den unteren Teilen des Körpers erscheinen und in den ersten 10 bis 20 Stunden noch wegdrückbar sind (Grassberger und Schmid, 2013). Sie werden durch die Schwerkraft verursacht, die zum Absinken des Blutes führt (Grassberger und Schmid, 2013). Eine weitere typische Veränderung der Haut und der Schleimhäute ist die Vertrocknung. Im Bereich der Epithelabschürfungen entstehen nach dem Tod honiggelbe Hautvertrocknungen (Glemser et al., 2021). In den späteren Phasen kommt es zu Zersetzung (Autolyse) und Fäulnis des Gewebes und zum Schluss zur Skelettierung (Dettmeyer et al., 2014).

Diese Transformationen weisen auf degenerative Prozesse hin. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob es nach dem Tod auch zu regenerativen Veränderungen kommen kann.

## **2.4 Makrophagen-aktivierendes Lipopeptid 2**

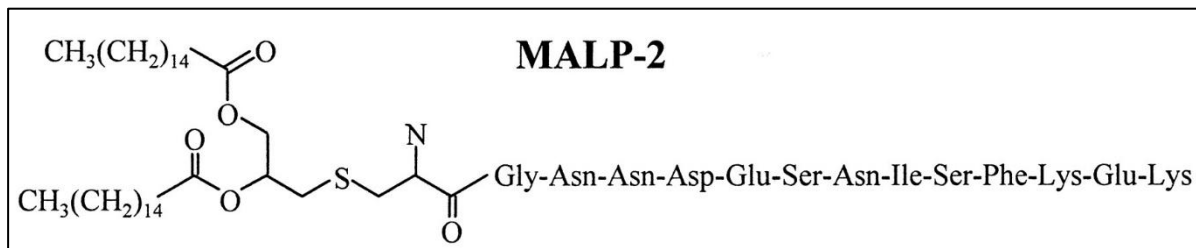
### **2.4.1 Geschichte und Struktur**

Im Jahr 1990 isolierten Quentmeier und Kollegen eine *Mycoplasma-fermentans*-assoziierte Substanz, die sie als „mycoplasma-derived high-molecular-weight material“ (MDHM) benannten (Quentmeier et al., 1990). Das MDHM war in der Lage, humane Monozyten und murine Makrophagen zu aktivieren. In weiteren Untersuchungen wurde herausgefunden, dass die Wirkung von MDHM zur Freisetzung von Interleukin(IL)-6 und -1, Tumornekrosefaktor(TNF)- $\alpha$  sowie Prostaglandinen und in der Kombination mit Interferon(IFN)-gamma zur Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) führt (Mühlradt und Schade, 1991; Ruschmeyer et al., 1993). Das NO trägt zur Abtötung von Erregern bei, die von Phagozyten aufgenommen wurden. Darüber hinaus hemmt MDHM die Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen auf Makrophagen, was zu einer beeinträchtigten Antigenpräsentation gegenüber T-Zellen führt (Frisch et al., 1996).

Im Jahr 1997 gelang es Mühlradt und Kollegen, ein amphiphiles Molekül, das ebenfalls außergewöhnliche stimulierende Eigenschaften auf Monozyten und Makrophagen

zeigte, zu isolieren (Mühlradt et al., 1997). Das Molekül, das aus der Membran von *Mycoplasma fermentans* isoliert wurde, wurde mit dem Namen *Makrophagen-aktivierendes Lipopeptid-2* (MALP-2, Engl. *Macrophage-activating Lipopeptide of Molecular Mass 2 kDa*) versehen (Mühlradt et al., 1997).

Das Lipopeptid wird heutzutage auch synthetisch hergestellt. Das synthetische Derivat ist wie das natürliche MALP-2 ein starker Induktor von Chemokinen und Zytokinen (Mühlradt et al., 1991; Kaufmann et al., 1999). Im Vergleich zu anderen typischen bakteriellen Lipopeptiden besitzt das MALP-2 einen freien NH<sub>2</sub>-Terminus, der für die biologische Aktivität zuständig ist (Mühlradt et al., 1998), und es handelt sich um ein kleines Molekül (molekulare Masse etwa 2 kDa) (Mühlradt et al., 1997). Das synthetische MALP-2 kann in zwei Konfigurationen vorkommen: R und S. Das R-MALP zeigte eine höhere Aktivität als das S-MALP (Takeuchi et al., 2000).



**Abb. 3: Struktur von MALP-2**  
(Okusawa et al., 2004)

### 2.4.2 Eigenschaften

Das MALP-2 gehört zu den Toll-like-Rezeptor-Agonisten (TLR-2 und TLR-6) und spielt eine zentrale Rolle bei der Aktivierung von Makrophagen sowie anderen Zellen, die ein TLR-2 oder TLR-6 besitzen (Takeuchi et al., 2000; Takeuchi et al., 2001). Die Toll-like-Rezeptoren (TLRs) gehören zu den Mustererkennungsrezeptoren (Engl. *Pattern Recognition Receptors*, PRRs). Sie dienen zur Erkennung von Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (Engl. *Pathogen associated Molecular Patterns*, PAMPs) wie Lipiden, Lipoproteinen, Proteinen und Nukleinsäuren und initiieren dadurch die Immunantwort, um bakterielle Infektionen zu bekämpfen (O'Neill et al., 2013; Akira et al., 2006; Kawai und Akira, 2007). Diese Rezeptoren können die Immunantwort über die Mitogen-aktivierte Proteinkinase(MAPK)-Kaskade oder über eine Signalkaskade aktivieren, die zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB (Engl. *Nuclear Factor κ-Light-Chain-Enhancer of activated B-cells*) führt (McGuire und Arthur, 2015).

Die Toll-like-Rezeptoren lassen sich in mehrere Unterfamilien unterteilen. Die TLR-1, -2, -4 und -6 erkennen Lipide und TLR-3, -7, -8 und -9 erkennen virale sowie bakterielle Nukleinsäuren (Kawai und Akira, 2007). TLRs werden auf verschiedenen Immunzellen wie Makrophagen, B-Zellen, T-Zellen oder dendritischen Zellen und sogar auf anderen Zellen wie Fibroblasten und Epithelzellen exprimiert (Akira et al., 2006). Die TLR-1, -2, -4, -5 und -6 werden an der Zellmembran exprimiert; die restlichen TLRs (TLR-3, -7, -8 und -9) befinden sich intrazellulär, zum Beispiel an den Endosomen (Akira et al., 2006). Der TLR-2 spielt eine bedeutende Rolle bei der Erkennung von grampositiven Bakterien und ist an der Erkennung von mikrobiellen Komponenten wie Lipoproteinen, Proteoglykanen und Lipoteichonsäuren beteiligt (Akira et al., 2006). Der TLR-2 interagiert mit TLR-1 und TLR-6, indem sie zusammen Komplexe (Heterodimere) bilden. Zur Erkennung von diacyliertem Lipopeptid-MALP-2 ist die Kooperation von TLR-2 und TLR-6 nötig (Takeuchi et al., 2001).

Die TLR-2 und -6 kommen unter anderem in Makrophagen und Fibroblasten vor (Deiters et al., 2004). Dadurch aktiviert MALP-2 nicht nur Makrophagen, sondern auch Fibroblasten und stimuliert so die Freisetzung von Chemokinen wie MCP-1 (Engl. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*) (Morr et al., 2002; Deiters et al., 2004). Die Chemokine regen die Wanderung von Granulozyten und Makrophagen in die Wunde an und zusammen mit den freigesetzten Wachstumsfaktoren beschleunigen sie die Wundheilung (Deiters et al., 2004).

Makrophagen werden durch die Bestandteile der mikrobiellen Zellwand aktiviert. Dazu gehören Peptidoglykanfragmente (Staber et al., 1978; Baschang, 1989), Lipopolysaccharide (Bodel und Atkins, 1967; Mizel et al., 1978), Lipoteichonsäuren (Keller et al., 1992) und bakterielle Lipoproteine (Hoffmann et al., 1988). Außerdem können Makrophagen durch zellwandlose Mykoplasmen wie *Mycoplasma fermentans* aktiviert werden (Mühlradt et al., 1997).

In weiteren Studien wurde die Wirkung von MALP-2 auf Tumorzellen untersucht. Es wurde gezeigt, dass die intratracheale Anwendung von MALP-2 bei Mäusen zu einem signifikanten Rückgang von Lungenmetastasen geführt hat, was auf ihr Potenzial als neuartiges Mittel zur Vorbeugung von Tumormetastasen hinweist (Shingu et al., 2003). Zwei Jahre später zeigte MALP-2 eine suppressive Wirkung bei murinen Pankreastumoren (Schneider et al., 2004). Die weiteren Untersuchungen wiesen eine längere Überlebensrate bei einer kombinierten Therapie mit MALP-2 und Chemotherapie nach

(Schneider et al., 2004). Die Analyse der Auswirkungen von MALP-2 auf verschiedene Tumorarten und seiner optimalen Anwendung erfordert jedoch weitere Studien.

### **2.4.3 Bedeutung für die Wundheilung**

Das MALP-2 hat eine positive Wirkung auf die Wundheilung. Es stimuliert die Freisetzung verschiedener an der Wundheilung beteiligter Mediatoren und fördert die Wund-, Gefäß- sowie Knochenheilung (Liao et al., 2023). In der Vergangenheit wurde bereits nachgewiesen, dass MALP-2 die Wundheilung bei Mäusen mit Diabetes und Adipositas beschleunigt (Deiters et al., 2004). Außerdem fördert MALP-2 die Angiogenese über die TLR-2 und -6 (Grote et al., 2010). Darüber hinaus induziert MALP-2 die Proliferation und Migration von Endothelzellen sowie die Ausschüttung des Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktors (GM-CSF) (Grote et al., 2010). Dadurch wird der Blutfluss verbessert und die Abwehr von Pathogenen sowie die Geweberegeneration durch Immunzellen werden gewährleistet (Grote et al., 2010).

Niebuhr und Kollegen führten im Jahr 2008 eine klinische Phase-I-Studie mit 12 Patienten (6 Frauen und 6 Männer zwischen 52 und 87 Jahren) durch. Es wurden künstliche Wunden mit einer Biopsiestanze hergestellt und es wurde gezeigt, dass die intrakutane Injektion von MALP-2 Nebenwirkungen wie vorübergehendes Erythem und lokale Entzündungen verursacht, die nach 48 Stunden abklingen. Diese Studie bestätigt die Verträglichkeit von MALP-2 bis zu einer Dosis von 1 µg. Die Erkenntnisse können auf die potenzielle Wirksamkeit von MALP-2 bei der Heilung von chronischen Wunden wie Beingeschwüre, Druckgeschwüre und diabetische Fußgeschwüre hindeuten (Niebuhr et al., 2008). Darüber hinaus untersuchten Grote und Kollegen in ihrer Studie die Reendothelialisierung nach einer Gefäßverletzung der Arteria carotis communis. Die Neubildung von Endothel wurde durch MALP-2 beschleunigt und die Injektion von MALP-2 verhinderte die Bildung von Neointima (Grote et al., 2013).

Das MALP-2 kann mehrere Mechanismen beeinflussen, die zur Aktivierung der Immunzellen und der Wundheilung beitragen. Es aktiviert Monozyten und Makrophagen, was die Freisetzung von Zytokinen sowie Chemokinen zur Folge hat (Kaufmann et al., 1999). Zu den freigesetzten entzündungsfördernden Mediatoren gehören Interleukin-6 und -1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , Cyclooxygenase-2 und die Chemokine MCP-1,

MIP-1 $\alpha$  und -1 $\beta$  (Engl. *Macrophage Inflammatory Protein*) sowie CXC (Kaufmann et al., 1999; Liao et al., 2023). Das MALP-2 fördert die Freisetzung des Granulozyten-Makrophagen-Kolonie stimulierenden Faktors (GM-CSF) (Engl. *Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor*), der die Umwandlung von Stammzellen zu Makrophagen und Granulozyten unterstützt und dadurch das Immunsystem stimuliert (Deiters et al., 2004; Rodero und Khosrotehrani, 2010). Zusätzlich induziert MALP-2 die Expression von Hämoxxygenase-1 (Ma et al., 2013; Liao et al., 2023). Letztere hat eine proangiogenetische sowie antiinflammatorische Wirkung und ist somit bei der Wundheilung relevant. Darüber hinaus stimuliert MALP-2 die neutrophilen Granulozyten (Engl. *Polymorphonuclear Neutrophils*, PMN) und unterstützt so die Phagozytose sowie die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren wie IL-8 und MIP-1 $\beta$  (Wilde et al., 2007; Liao et al., 2023).

Mithilfe weiterer Versuche wurden die Auswirkungen von MALP-2 auf die dendritischen Zellen untersucht. Dendritische Zellen können als antigenpräsentierende Zellen durch ihre MHC-Klasse-II-Komplexe T-Lymphozyten Antigene präsentieren. Es wurde gezeigt, dass MALP-2 die dendritischen Zellen, die Expression von MHC-Klasse-II-Komplexen und die Freisetzung von Zytokinen wie IL-1 $\alpha$ , IL-6 und IL-12 stimuliert und so die antigenpräsentierende Fähigkeit von dendritischen Zellen verstärkt (Link et al., 2004; Liao et al., 2023). Außerdem zeigt MALP-2 eine indirekte stimulierende Wirkung auf die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). Durch die Reizung von Monozyten und die Freisetzung von Mediatoren wie IL-10 und MIP-1 $\alpha$  wird die Zytotoxizität von NK-Zellen erhöht (Liao et al., 2023). Schließlich aktiviert MALP-2 die B-Zellen über TLR-2-Rezeptoren (Borsutzky et al., 2005). Diese Aktivierung steigert die Proliferation von B-Zellen und trägt so zur gesamten Immunantwort bei.

Zusammenfassend führt die kombinierte Wirkung von MALP-2 auf die Makrophagenaktivierung, die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren sowie die Rekrutierung von Immunzellen zur Beschleunigung und Erleichterung der Wundheilung. Die beschriebenen Eigenschaften von MALP-2 werden in dieser Dissertation im Zusammenhang mit der postmortalen Wundheilung bei Menschen untersucht.

## **2.5 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus*, der bekannteste Vertreter der Familie der Staphylococcae, ist ein grampositives, fakultativ anaerobes, kugelförmiges und in traubenförmigen Kolonien wachsendes Bakterium (von altgriechisch „*staphylé*“ – Weintraube). Im Jahr 1884

wurden die Bakterien von Rosenbach isoliert und aufgrund ihrer charakteristischen Pigmentierung in der Zellmembran durch das Carotinoid Staphyloxanthin als *S. aureus* (Lateinisch „golden“) bezeichnet (Rosenbach, 1884; Marshall und Wilmoth, 1981). *Staphylococcus aureus* kommt auf der Haut, auf den Schleimhäuten des Vestibulum nasi sowie des Gastrointestinaltrakts und im Bereich der Achseln und Vagina vor (Wertheim et al., 2005). Die Bakterien besiedeln die Nasenschleimhäute bei etwa 20 % der Bevölkerung dauerhaft, bei 30 % vorübergehend und bei der Hälfte nicht (Wertheim et al., 2005; Gordon und Lowy, 2008). Wenn die Immunabwehrmechanismen des Wirts beeinträchtigt werden, können die Bakterien über Hautverletzungen, durch chirurgische Eingriffe oder durch Einsetzen eines Katheters ins Gewebe gelangen und dort Infektionen verursachen (Gordon und Lowy, 2008). Die Bakterien können auch in den Blutkreislauf geraten und zu Endokarditis, Osteomyelitis, Pneumonie und Sepsis führen (Petti und Fowler, 2003; Gordon und Lowy, 2008). Einige Stämme von *S. aureus* produzieren bakterielle Toxine, die beispielsweise Lebensmittelvergiftungen (durch Enterotoxine) und das toxische Schocksyndrom (durch Toxic-shock-syndrome-Toxin 1, TSST-1) verursachen können (Dinges et al., 2000; Otto, 2014). Methicillin-sensible *S. aureus* können mit Beta-Laktam-Antibiotika therapiert werden. Die Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) werden mit Glykopeptid-Antibiotika wie Vancomycin oder Teicoplanin behandelt (Gordon und Lowy, 2008). Ab 2002 wurden *S.-aureus*-Stämme identifiziert, die eine Resistenz gegenüber Vancomycin aufweisen und als Vancomycin-resistente *S. aureus* (VRSA) bezeichnet werden (Cong et al., 2020).

*S. aureus* besitzt zahlreiche Virulenzfaktoren, die den Bakterien die Adhäsion an der Zellmembran sowie das Eindringen und die Zerstörung der Wirtszelle ermöglichen. Die Adhäsion wird unter anderem durch SERAM (Engl. *Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules*) vermittelt (Chavakis et al., 2005). Zu dieser Gruppe gehört auch das extrazelluläre Adhärenzprotein (Eap).

## 2.6 Extrazelluläres Adhärenzprotein

### 2.6.1 Geschichte

Das Eap ist von großer Bedeutung für die Pathogenese von *S. aureus*. Es wurde in den neunziger Jahren des 20. Jahrhunderts in mehreren Studien isoliert. Yousif und Kollegen bezeichneten das Protein im Jahr 1991 als *p70* (Protein 70) (Yousif et al.,

1991). Das Protein mit einer Größe von 70 Kilodalton (kDa) war auf der Zelloberfläche von *S. aureus* Wood 46 (Stamm) lokalisiert und zeigte im Rattenmodell eine starke Bindung an die Basalmembran (Yousif et al., 1991). Bodén und Flock identifizierten im Jahr 1992 ein Fibrinogen-bindendes Protein mit der Masse von 60 kDa (Bodén und Flock, 1992). Ein Jahr später berichteten McGavin und Kollegen von einem Oberflächenprotein mit unterschiedlichen Molekulargewichten (zwischen 60 und 72 kDa) in verschiedenen Stämmen (FDA 574 und Newman), das in der Lage war, an Bestandteile in der extrazellulären Matrix wie Fibronectin, Fibrinogen und Knochen-Sialoprotein (BSP) zu binden (McGavin et al., 1993). Das Protein mit der Masse von 72 kDa wurde von Jönsson und Kollegen im Jahr 1995 als Map (Engl. *Major Histocompatibility Complex Class II analog Protein*) bezeichnet (Jönsson et al., 1995). Der Name entstand aufgrund der Homologien der Aminosäuresequenz zu einer Unterdomäne von MHC-2 (Engl. *Major Histocompatibility Complex Class II*). Erst im Jahr 1999 untersuchten Palma und Kollegen den Stamm Newman des *S. aureus* und bezeichneten das Protein aufgrund seiner adhäsiven Eigenschaften als Eap (Palma et al., 1999). Im Jahr 2001 wiesen Hussain et al. in einer PCR-Analyse nach, dass p70, Map und Eap identische Proteine darstellen (Hussain et al., 2001). Obwohl die Größe von Eap je nach Stamm erheblich variiert, wurde das Protein in mehr als 97 % der untersuchten Isolate von *S. aureus* nachgewiesen (Hussain et al., 2001). Trotz der großen Bedeutung von Eap in *S. aureus* wurde es in anderen Arten wie *Staphylococcus epidermidis* nicht gefunden (Hussain et al., 2001).

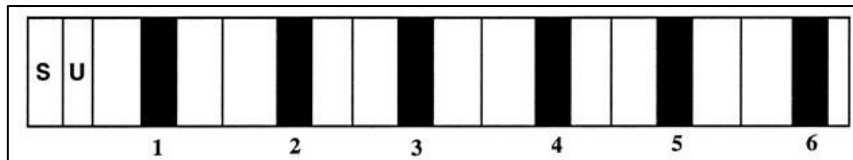
Das Eap kann sich über die neutrale Phosphatase (NPtase) mit der bakteriellen Zellwand binden (Flock und Flock, 2001). Das Eap ermöglicht es, dass sich *S. aureus* an Wirtskomponenten sowie Zellen wie Fibroblasten und Epithelzellen anhaftet (Palma et al., 1999; Hussain et al., 2002). Das Eap kann auch an andere Eap-Moleküle binden und so zur Aggregation der Bakterien beitragen (Hussain et al., 2008).

### 2.6.2 Aufbau

Das Eap besteht aus repetitiven Eap-Domänen mit stammabhängigen 4 bis 6 Wiederholungen (Geisbrecht et al., 2005) und hat eine Größe von 60 bis 72 kDa. Der erste beschriebene Stamm von *S. aureus* war FDA 574 (Jönsson et al., 1995). Diese besteht aus 689 Aminosäuren. Jede Domäne aus 110 Aminosäuren besitzt eine Subdomäne aus 31 Aminosäuren. Die Subdomänen zeigen Homogenität mit dem N-Terminus der  $\beta$ -Ketten der MHC-Klasse-II-Moleküle. Dies führte zu der Bezeichnung *Map* (Jönsson



et al., 1995; McGavin et al., 1993; Eisenbeis, 2019). Außerdem besteht Eap aus einer Signalsequenz mit 30 Aminosäuren und einer darauffolgenden Sequenz mit 19 Aminosäuren, die mit den Eap-Domänen verbunden ist (Jönsson et al., 1995; Eisenbeis, 2019). Die Untersuchungen der dreidimensionalen Kristallstruktur der Domänen zeigten, dass es sich um eine vierfach gedrehte  $\alpha$ -Helix handelt, die diagonal einem fünfsträngigen, gemischten  $\beta$ -Faltblatt aufliegt (Geisbrecht et al., 2005; Eisenbeis, 2019).



**Abb. 4: Struktur von Eap**

Das Protein besteht aus einer Signalsequenz (S) aus 30 Aminosäuren, gefolgt von einer Sequenz (U) aus 19 Aminosäuren und 6 gleichen Domänen (1–6) (jede enthält etwa 110 Aminosäuren). Innerhalb jeder Domäne gibt es eine Subdomäne (schwarz) aus 31 Aminosäuren, die homolog zu einem Teil der Peptidbindungsregion in MHC-Klasse-II-Molekülen ist (Jönsson et al., 1995).

### 2.6.3 Eigenschaften

Das Eap gehört zu den Adhäsinen und ist dadurch ein Virulenzfaktor, der es dem Erreger ermöglicht, sich an die Wirtsstrukturen zu haften. Es kann an verschiedenen Plasmaproteinen, Komponenten der extrazellulären Matrix, eukaryotischen Zellrezeptoren und sogar an sich selbst binden. Es ist bekannt, dass Eap mit zahlreichen Plasmaproteinen wie Fibronectin, Fibrinogen, Vitronectin, Kollagen, Prothrombin, Osteopontin und Thrombospondin interagiert (McGavin et al., 1993; Palma et al., 1999). Aufgrund des breiten Adhäsionsspektrums spielt Eap eine bedeutsame Rolle bei der bakteriellen Anhaftung und Invasion von Wirtszellen. Bei der Adhäsion an Kollagen wurde selektives Verhalten von Eap nachgewiesen (Hansen et al., 2006). Kollagen Typ I in monomolekularer Form wird von Eap gebunden, jedoch nicht Kollagen Typ II oder Kollagen-Typ-I-Fibrillen. Außerdem kann Eap Mikrofibrillen, die Kollagen Typ VI enthalten, und Basalmembran-assoziiertes Kollagen IV binden (Hansen et al., 2006).

Das Eap trägt zur Adhäsion von *S. aureus* an eukaryotische Zellen bei. Es verstärkt die Bindung von *S. aureus* an Epithelzellen und Fibroblasten signifikant, vermutlich aufgrund der doppelten Affinität von Eap zu Plasmaproteinen und zu den Bakterien selbst (Palma et al., 1999). Außerdem trägt Eap zur Internalisierung von *S. aureus* in eukaryotische Zellen bei (Hagggar et al., 2003).

In der Studie von Hussain und Kollegen wurde gezeigt, dass durch die Zugabe von Eap die Agglutination von *S. aureus* verstärkt wurde (Hussain et al., 2002). Es sind mehrere Wiederholungen von Eap-Domänen für die Agglutination, Adhäsion und zelluläre Invasion von *S. aureus* erforderlich, aber nicht für die Proliferation von mononukleären Zellen des peripheren Bluts (PBMC), dies sind zum Beispiel Leukozyten (Hussain et al., 2008).

Eine wesentliche Erkenntnis über die Interaktion zwischen Eap und ICAM-1 (Engl. *Inter-cellular Adhesion Molecule 1*) konnten Chavakis und Kollegen gewinnen. Das interzelluläre Zelladhäsionsmolekül 1 wird von Endothelzellen exprimiert. Somit beteiligt es sich bei der Diapedese und unterstützt die entzündlichen Prozesse. Es wurde gezeigt, dass Eap direkt mit ICAM-1, Fibrinogen und Vitronektin interagiert (Chavakis et al., 2002). Dadurch werden die Bindung von Leukozyten an Endothelzellen und die Leukodiapedese im infizierten Gewebe gehemmt (Chavakis et al., 2002). Darüber hinaus beeinflusst Eap die transendotheliale Migration von Neutrophilen sowie die ICAM-1-vermittelte Hochregulierung der NFκB-Aktivität und die Expression von Tissue-Factor, indem es reduziert wird, und damit übt Eap entzündungshemmende Wirkungen aus (Athanasopoulos et al., 2006).

Das Eap besitzt auch immunmodulatorische Eigenschaften durch die Interaktion mit T-Zellen. Hagggar und Kollegen beobachteten eine konzentrationsabhängige Wirkung von Eap auf PBMCs (Engl. *Peripheral Blood Mononuclear Cells*); das sind zum Beispiel Lymphozyten, Monozyten, NK-Zellen oder dendritische Zellen (Hagggar et al., 2005). Bei niedrigerer Konzentration von Eap ( $\leq 9 \mu\text{g/ml}$ ) wurde die Zellproliferation von T-Zellen gefördert, während eine höhere Konzentration ( $\geq 27 \mu\text{g/ml}$ ) zu einer signifikanten Hemmung der T-Zell-Proliferation führte. Außerdem wurde bei höheren Konzentrationen ein programmierter Zelltod von B- und T-Zellen ausgelöst (Lee et al., 2002; Hagggar et al., 2005). Die fördernde Wirkung von Eap wurde bereits von Jahreis und Kollegen im Jahr 1995 beschrieben. Das Eap (p70) induzierte die Ausschüttung von IL-2 und die Proliferation von PBMCs (Jahreis et al., 1995).

Im Jahr 2002 haben Lee und Kollegen die Wechselwirkung von Map (Eap) und T-Zellen an Map-(Eap)-positiven und -negativen Mäusen beschrieben. Sie zeigten, dass Mäuse, die mit *S. aureus* ohne Map-Protein (Eap) infiziert waren, eine deutlich geringere Tendenz zur Arthritis, Osteomyelitis und Abszessen in Herz und Nieren hatten (Bremell et al., 1991; Lee et al., 2002). Das wurde damit begründet, dass Map (Eap)

die Proliferation von Typ1-T-Helferzellen verringert und damit zur lokalen Hemmung des Immunsystems führt (Lee et al., 2002).

Außerdem wurde die Wirkung von Eap am Komplementsystem beschrieben. Das Komplementsystem gehört zur angeborenen humoralen Immunabwehr. Es besteht aus Plasmaproteinen (Komplementfaktoren), die hauptsächlich in der Leber synthetisiert werden (Merle et al., 2015). Sie können direkt Pathogene angreifen und die Bakterien über den Membranangriffskomplex (MAC) abtöten oder die Pathogene werden über die Opsonierung markiert und dadurch wird die Phagozytose beschleunigt. Die Komplementfaktoren können durch Chemotaxis auch die lokale Immunabwehr unterstützen. Allerdings entwickelten viele pathogene Organismen, einschließlich *S. aureus*, Mechanismen, um dem Komplementsystem zu entgehen. Das Eap inhibiert den klassischen Aktivierungsweg und den Lektinweg des Komplementsystems. Es bindet an den C4b-Faktor und hemmt die Wechselwirkung zwischen C4b und C2, wodurch die Bildung der C3-Prokonvertase aus C4b2b inhibiert wird (Woehl et al., 2014, 2017).

In einer weiteren Studie wurde festgestellt, dass das Eap von *S. aureus* die Bildung der extrazellulären Neutrophilenfalle (Engl. *Neutrophil Extracellular Trap*, NET) blockiert (Eisenbeis et al., 2018). Neutrophile Granulozyten setzen Granulatproteine und Chromatin frei, die zusammen ein DNA-haltiges Netz (NET) bilden, das Bakterien fangen und abtöten kann (Brinkmann et al., 2004). Im Jahr 2018 beschrieben Eisenbeis und Kollegen die Bindung an lineare DNA-Moleküle von Eap. Die Untersuchungen mittels Rasterkraftmikroskopie zeigten, dass Eap ein DNA-bindendes und -aggregierendes Protein ist, das die NET-Bildung inhibiert, wodurch *S. aureus* vor den Abwehrmechanismen des Wirts geschützt wird (Eisenbeis et al., 2018). Die bislang beschriebenen Erkenntnisse zeigen, dass Eap einen Einfluss auf das angeborene Immunsystem des Wirts hat und die antibakteriellen Mechanismen hemmen kann.

### **2.6.4 Bedeutung für die Wundheilung**

Das Eap ist von zentraler Bedeutung bei der Pathogenese von *S. aureus*, indem es die Wundheilung verzögert, was häufig bei chronisch mit *S. aureus* infizierten Wunden oder Ulcera beobachtet wurde (Madsen et al., 1996; Grimbale et al., 2001). Die Interaktion von Eap mit ICAM-1 und die Hemmung der Rekrutierung von Leukozyten wurden von Chavakis und Kollegen untersucht (Chavakis et al., 2002). Das Eap verhindert die

Einwanderung von Leukozyten in das entzündete Gewebe (Chavakis et al., 2002) und in mit Eap behandelten Wunden wurde eine verhinderte Angiogenese beobachtet (Sobke et al., 2006).

Athanasopoulos und Kollegen stellten fest, dass das Eap von *S. aureus* die Wundheilung hemmt, indem es die Abwehr- und Reparaturmechanismen des Wirts stört (Athanasopoulos et al., 2006). Die Forscher führten Experimente an Mäusen durch, die zeigten, dass Eap die Rekrutierung von Entzündungszellen an der Wunde sowie die Neovaskularisation der Wunde verhindert (Athanasopoulos et al., 2006). In den Versuchen wurden die Wunden an Mäusen mit *S. aureus* infiziert. Der Wundverschluss wurde nach 14 bis 15 Tagen beobachtet. Im Vergleich dazu heilten die Kontrollwunden nach 10 bis 11 Tagen (Athanasopoulos et al., 2006). Das Eap beeinflusst mehrere kritische Aspekte des Wundheilungsprozesses, einschließlich Entzündungsphase, Angiogenese und Rekrutierung von Leukozyten.

Während der Entzündungsphase der Wundheilung inhibiert Eap die Rekrutierung von Leukozyten, die für die erste Reaktion auf eine Verletzung und die Aktivierung anderer an der Gewebereparatur beteiligter Zellen wie Fibroblasten, Keratinozyten und Endothelzellen notwendig sind (Martin, 1997; Singer und Clark, 1999; Athanasopoulos et al., 2006). Für die Versorgung des heilenden Gewebes mit Nährstoffen und Sauerstoff ist die Neovaskularisation von entscheidender Bedeutung; diese wird jedoch durch Eap beeinträchtigt (Athanasopoulos et al., 2006). Die Forscher fanden heraus, dass Eap den Blutfluss in den infizierten Wunden um 40 bis 50 % reduziert, was auf eine starke antiangiogenetische Wirkung hinweist (Athanasopoulos et al., 2006). Außerdem blockiert Eap die  $\alpha_v$ -Integrin-abhängige Migration von Endothelzellen, die für die Angiogenese nötig ist (Athanasopoulos et al., 2006).

Des Weiteren wird dem extrazellulären Adhärenzprotein eine Rolle bei der Produktion von Biofilm zugeschrieben, was zu einer verzögerten Wundheilung beiträgt. Johnson und Kollegen stellten fest, dass die Proteine Eap und Emp (Engl. *Extracellular Matrix Protein*) die Biofilmbildung unter Wachstumsbedingungen, bei denen Eisenmangel herrscht, beeinflussen (Johnson et al., 2008). Die Bakterien sind in vivo dem Eisenmangel und den nährstoffarmen Bedingungen ausgesetzt, was auch in den Versuchen simuliert wurde (Johnson et al., 2008). Außerdem wurde Eap in 100 % der *S. aureus*-Stämme identifiziert, die aus Infektionen von Gelenkprothesen nach Knieendoprothetik isoliert wurden, was darauf hindeutet, dass Eap für die Biofilmbildung in vivo relevant

sein könnte (Rohde et al., 2007). Darüber hinaus wurde die verzögerte Reepithelialisierung und dadurch auch die beeinträchtigte Wundheilung dem bakteriellen Biofilm zugeschrieben (Schierle et al., 2009; Gurjala et al., 2011).

Die verlangsamte Wundheilung mit *S. aureus* infizierten Wunden im Zusammenhang mit Eap wurde im Jahr 2017 durch Eisenbeis und Kollegen beschrieben. Es wurde in vitro gezeigt, dass Eap eine verminderte Proliferation und Migration der Keratinozyten, die bei der Wundheilung beteiligt sind, verursacht (Eisenbeis et al., 2017).

Diese Erkenntnisse können darauf hindeuten, dass das Vorhandensein von Eap für die Wundheilung bei Patienten mit Diabetes, bei denen die Wundheilungsmechanismen gestört sind, eine Herausforderung darstellen kann.

## 2.7 Ziele der Arbeit und Fragestellungen

Es ist bereits bekannt, dass MALP-2 die Angiogenese und die Wundheilung fördert (Deiters et al., 2004; Grote et al., 2010). In vergangenen Studien wurde nachgewiesen, dass Eap die Wundheilung durch seine entzündungshemmenden und antiangiogenetischen Eigenschaften beeinträchtigt und durch seine proliferations- und migrationshemmende Wirkung sowie durch eine Veränderung der Zellmorphologie von Keratinozyten die Reepithelialisierung – eine unerlässliche Phase bei der Wundheilung – negativ beeinflusst (Athanasopoulos et al., 2006; Eisenbeis et al., 2017).

In dieser Arbeit wird das postmortale Wachstum von menschlicher Haut in vitro in unterschiedlichen Lösungen (MALP-2, Eap und Medium) untersucht und in einen Zusammenhang mit der Wundheilung gebracht. Weiterhin sollen die Veränderungen der postmortalen Haut mit Messungen dargestellt werden. Schließlich wird der Einfluss von allen drei Lösungen (MALP-2, Eap und Medium) auf Heilungsprozesse verglichen.

Zusammenfassend sind folgende Fragestellungen von Bedeutung:

- Ist das postmortale Wachstum von menschlicher Haut in vitro histologisch nachweisbar?
- Sind Veränderungen von menschlichen Hautproben in unterschiedlichen Lösungen (MALP-2, Eap und Medium) nachweisbar?
- Eignet sich die verwendete Methode für weitere Versuche mit MALP-2 und Eap?

Diese Erkenntnisse können als Unterstützung für die Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Hautwunden oder von persistierenden Wunden bei Diabetikern dienen.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Eingesetzte Materialien und Geräte

In diesem Kapitel werden die verwendeten Chemikalien, Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bearbeitung des Probenmaterials in Tabellenform aufgelistet.

##### 3.1.1 Chemikalien

Chemikalien	Hersteller
2-Propanol	Zentrales Chemikalienlager Universität des Saarlandes
Eosin 0,1 %	Zentrales Chemikalienlager Universität des Saarlandes
Essigsäure	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % neutral gepuffert	Otto Fischar GmbH & CO. KG, Saarbrücken, Deutschland
Hämatoxylin-Lösung nach Ehrlich	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Hautantiseptikum octeniderm	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Methylbenzoat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Paraffin Pastillen	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Roti <sup>®</sup> fair 10x PBS 7.4	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Roti <sup>®</sup> Histokitt (Histologischer Kleber)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Xylol	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland

Tab. 1: Übersicht der verwendeten Chemikalien

## 3.1.2 Geräte

Geräte	Hersteller
CO <sub>2</sub> -Inkubator HERAcell 240	Heraeus, Hanau, Deutschland
GFL-Paraffinbad 1052	Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland
Karussellgewebeeinbettter MTP	SLEE medical GmbH, Mainz, Deutschland
Kühlanlage für Körperspender	Thalheimer Kühlung GmbH & Co. KG, Ellwangen-Jagst, Deutschland
Kühlplatte MPS/C	SLEE medical GmbH, Mainz, Deutschland
Labor-Abzugshaube Captair®Flex® M321	Erlab®group, Val-de-Reuil Cedex, Frankreich
Lichtmikroskop Leica	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
MikroCam (Mikroskopkamera)	Bresser GmbH, Rhede, Deutschland
Mikroskop Leica DM1000 LED	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
Mikrotom Leica RM 2025	Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland
Paraffin Ausgießstation MPS/P1	SLEE medical GmbH, Mainz, Deutschland
Paraffin-Dispenser	MEDAX GmbH & Co. KG, Neumünster, Deutschland
Pipetten	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Sterilbank Herasafe	Heraeus, Hanau, Deutschland
VWR Heizplatte W10 für Objektträger	Kunz Instruments, Sandelsgatan, Schweden
VWR INCU-Line IL 56 Inkubator	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Wärme-/Trockenschrank VT6025	Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Geräte



**3.1.3 Verbrauchsmaterialien**

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
Anatomische Pinzette	Schreiber GmbH, Fridingen an der Donau, Deutschland
Biopsiestanze (8 mm und 2 mm)	Acuderm inc., Fort Lauderdale, USA
Deckgläser 24 x 50 mm	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Einbettkassetten Macro	Simport Scientific Inc., Bernard-Pilon Be- loeil, Kanada
Einbettringe	Simport Scientific Inc., Bernard-Pilon Be- loeil, Kanada
Falcon	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
FFP 2 Maske	Shunmei Medical Co., Shenzhen, China
Filterpapier	Macherey-Nagel GmbH und Co. KG, Dü- ren, Deutschland
Mikrotomklinge DB80	Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Deutschland
Objektträger SuperFrost® Plus	R.Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
OP-Handschuhe Gammex Latex	Ansell, Richmond, Australien
Petrischalen	Greiner Bio-One, Kremsmünster, Öster- reich
Pipettenspitzen	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Prolene Nahtmaterial	Ethicon US LLC, Cincinnati, USA
Reagiergefäß 1,5 ml	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Skalpellgriff	C. Bruno Bayha GmbH, Tuttlingen, Deutschland
Sterile Skalpellklingen Nr. 22	C. Bruno Bayha GmbH, Tuttlingen, Deutschland

Zellkultur-Testplatte 12 Well	TPP Techno Plastic Products AG, Trasadingen, Schweiz
-------------------------------	--

Tab. 3: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien

### 3.1.4 Andere Materialien

In diesem Unterkapitel werden die verwendeten Zellkulturmedien, Seren, Antibiotika und bakteriellen Lipopeptide sowie Proteine aufgelistet. Das Eap wurde von Prof. Dr. Markus Bischoff aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes bereitgestellt.

Name	Hersteller
RPMI-Medium 1640	Gibco, Darmstadt, Deutschland, REF 21875-034
FCS-Superior	Biochrom, Berlin, Deutschland, REF S0615
Penicillin-Streptomycin-Lösung	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland, REF P4333
MALP-2	MALP-Research, Braunschweig, Deutschland
Eap	Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universität des Saarlandes

Tab. 4: Übersicht über sonstige verwendete Materialien

## 3.2 Probenmaterial

### 3.2.1 Körperspende

Die Hautproben, die für die Versuche erforderlich waren, wurden den Körperspendern am Universitätsklinikum des Saarlandes entnommen. Jede volljährige Person kann die Entscheidung treffen, dass ihr Körper nach dem Tod dem Anatomischen Institut der Universität des Saarlandes übergeben wird. Diese Menschen erweisen einen großen Dienst für die Lehre sowie für Präparierkurse und Forschung. Die Studie wurde von dem Vorsitzenden der Ethikkommission bei der Ärztekammer des Saarlandes in einer E-Mail vom 22.02.2018 genehmigt.

### 3.2.2 Übersicht der Spender

In diesem Kapitel werden die Körperspender, von denen die Proben entnommen wurden, zusammen mit ihrem Geschlecht, Geburtsjahr sowie Todeszeitpunkt und dem Zeitpunkt der Probenentnahme tabellarisch dargestellt.

Spender	Geschlecht	Geburtsjahr (Sterbealter)	Tod	Probenentnahme
Spender 1	weiblich	1947 (75)	25.07.2022 01:10	25.07.2022 16:00
Todesursache	KHK, Myokardrevaskularisation			
Spender 2	weiblich	1944 (78)	24.10.2022 15:00	25.10.2022 11:30
Todesursache	Herzstillstand, Herzklappenfehler mit Klappenersatz, AVK, Hypertonie			
Spender 3	männlich	1927 (95)	28.11.2022 15:47	29.11.2022 11:00
Todesursache	Herz-Kreislaufstillstand, Herzinsuffizienz, Altersschwäche, Demenz			
Spender 4	männlich	1934 (88)	13.12.2022 00:23	13.12.2022 13:00
Todesursache	Herz-Kreislaufversagen, schwere KHK, mit wiederholten Angina pectoris Anfällen			
Spender 5	männlich	1936 (86)	18.01.2023 20:00	19.01.2023 12:00
Todesursache	Multiorganversagen			
Spender 6	männlich	1935 (87)	19.07.2023 03:15	19.07.2023 11:00
Todesursache	Multiorganversagen, Herzinsuffizienz, arterielle Hypertonie			
Spender 7	weiblich	1950 (72)	07.08.2023 18:14	08.08.2023 14:00
Todesursache	Respiratorische Insuffizienz, Nierenversagen, metastasierendes Magenkarzinom			

Spender 8	weiblich	1948 (74)	15.08.2023 13:30	16.08.2023 11:00
Todesursache	Leberkarzinom, Metastasen in Lunge und Lymphknoten			

Tab. 5: Übersicht der Körperspender

### 3.2.3 Fixierung

Für die Versuche wurden Körperspender ausgesucht, die noch nicht fixiert waren. Die Proben wurden bis 24 Stunden nach dem Tod entnommen.

Die Fixierung erfolgte in Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % erst nach der Entnahme der Hautproben. Näheres dazu wird in Kapitel 3.4 *Probenentnahme und Fixierung* beschrieben.

### 3.2.4 Auswahl des Probenmaterials

Für die Versuche wurden Hautproben von der Innenseite des Unterarms verwendet, die von den Körperspendern des Universitätsklinikums Homburg gewonnen wurden. Die Voraussetzung für die Studie war, dass die Hautproben ein postmortales Intervall von bis zu 24 Stunden aufwiesen.

Zuerst wurde die passende Stelle der Hautproben ausgewählt. Es wurden Hautproben von der Stirn, vom Rumpf, vom Thorax und vom Unterarm eines bereits fixierten Körperspenders entnommen. Alle Stellen waren leicht zugänglich. Danach wurden die Proben eingebettet, geschnitten und mit der HE-Färbung gefärbt. Die besten Ergebnisse beim Schneiden zeigten sich aufgrund der Hautdicke bei den Hautproben von der Innenseite des Unterarms. Deshalb wurde diese Stelle für die weiteren Probenentnahmen verwendet.

## 3.3 Übersicht des Prozesses der histologischen Präparatherstellung

Zur Auswertung der Ergebnisse war die Herstellung der histologischen Präparate nötig. Folgendes Flussdiagramm (Abb. 5) stellt die chronologische Reihenfolge der Verarbeitung der Proben dar. Alle folgenden Schritte erfolgten eigenständig.

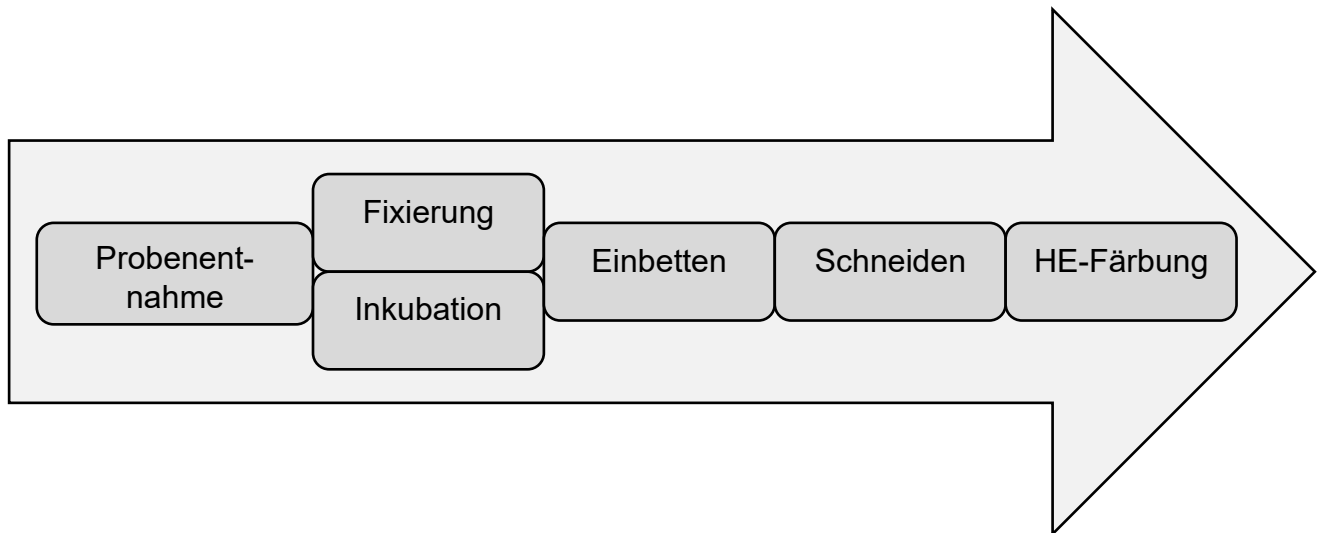


Abb. 5: Reihenfolge der Verarbeitung der Proben

### 3.4 Probenentnahme und Fixierung

Die Hautproben wurden von der Innenseite des Unterarms von acht nicht fixierten Körperspendern entnommen. Dazu wurden neben dem Präparierbesteck auch Biopsiestanzen mit den Durchmessern 8 mm und 2 mm verwendet. Das Präparierbesteck wurde mit 70%igem Ethanol desinfiziert. Während der Gewebeentnahme wurden FFP2-Maske, Laborkittel und sterile Handschuhe getragen. Zuerst wurde die Haut an der Stelle der Entnahme mit einem alkoholischen Hautantiseptikum desinfiziert. Als Nächstes wurde das Gewebematerial mit der zylinderförmigen Schneide der Hautstanze mit dem Durchmesser von 8 mm und danach in der Mitte der Stanze mit dem Durchmesser von 2 mm geschnitten, sodass runde Hautproben mit einer Öffnung in der Mitte mit einem Durchmesser von 2 mm entstanden. Das Modell wurde in der Studie von Moll und Kollegen als *Punch within a Punch* (Stanze in Stanze) bezeichnet (Moll et al., 1998). Unter Zuhilfenahme eines Skalpell und einer anatomischen Pinzette konnten die Gewebeproben von dem umliegenden Gewebe getrennt werden. Am Ende wurde die Haut an der Stelle der Inzision vernäht.

Ein Teil der Hautproben wurde zur Haltbarmachung mit Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % fixiert und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Am nächsten Tag wurden die Hautproben in PBS-Lösung gelegt und im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Diese Proben sind im Ergebnisteil dem Tag 0 zugeordnet.

Der zweite Teil der Proben wurde direkt nach der Entnahme in eine Petrischale mit PBS gelegt und in einer Box mit Eis dem Labor der Mikrobiologie übertragen, wo die nächsten Schritte der Versuche stattfanden.

#### **3.5 Zellinkubation**

Für die Inkubation der Zellen wurde ein CO<sub>2</sub>-Brutschrank verwendet. Durch dieses Verfahren können die Zellen in einer kontrollierten Umgebung kultiviert werden. Der Brutschrank schafft die idealen Bedingungen für das keimfreie Zellwachstum bei einer Temperatur von 37 °C, einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von 4,8 % und angepasster Feuchtigkeit.

Die Probenentnahme und die Inkubation fanden nicht im gleichen Labor statt, deshalb wurden für den Transport eine mit Eis gefüllte Box und sterile Petrischalen verwendet. Für diese Dissertation wurden zwei Versuche durchgeführt, die sich in ihrem Ablauf während der Phase der Inkubation unterschieden. Die restlichen Arbeitsschritte wie Einbetten, Schneiden und Färben blieben bei beiden Versuchen gleich.

Der erste Versuch fand an fünf Körperspendern statt. Von jedem Körperspender wurden 9 Proben entnommen, was insgesamt 45 Proben für den ersten Versuch ergab. Drei Proben von jedem Körperspender wurden direkt nach der Entnahme in einem Reaktionsgefäß mit Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % fixiert. Die restlichen sechs wurden zum Labor der Mikrobiologie gebracht. Als Kulturmedium wurde RPMI-1640-Medium verwendet, das mit FCS (fetales Kälberserum) und Pen/Strep (Penicillin/Streptomycin) gemischt wurde, um ein geeignetes Nährmedium für Zellkulturen zu schaffen. Das RPMI-1640-Medium enthält Nährstoffe wie Vitamine und Aminosäuren, die für das Zellwachstum und die Zellvermehrung erforderlich sind. Das FCS wurde dem Medium hinzugefügt, um den Zellen zusätzliche Wachstumsfaktoren zur Verfügung zu stellen. Um das Wachstum von Bakterien oder Pilzen sowie Kontaminationen in der Kultur zu verhindern, wurde Penicillin und Streptomycin eingesetzt. Die Kombination dieser Komponenten schafft ein optimales Milieu für die Proliferation von Zellen in einer Well-Platte.

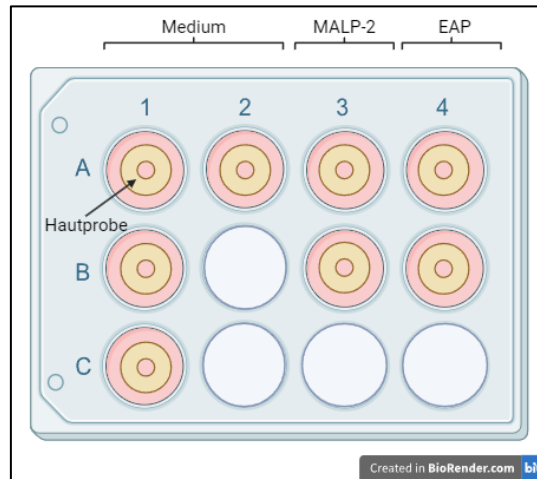
Nach jeder Entnahme musste das Medium frisch vorbereitet werden. Unter der Sterilbank wurden 10 ml des RPMI-1640-Mediums, 1 ml FCS und 0,1 ml Pen/Strep in einem konischen Zentrifugenröhrchen (Falcon) gemischt. Anschließend wurde das Medium im CO<sub>2</sub>-Brutschrank vorgewärmt. Danach wurde jeweils 1 ml von dem vorbereiteten

Medium in sechs Kalotten der Zellkultur-Testplatte (Well-Platte) pipettiert und die Hautproben wurden mit einer sterilen Pinzette so in die Zellkultur-Testplatte gelegt, dass in jeder Kalotte eine Probe lag. Die Pinzette wurde vor der Benutzung in 70%igem Ethanol desinfiziert und es wurde abgewartet, bis die Pinzette trocken war, bevor sie verwendet wurde. Anschließend wurden die Hautproben in der Zellkultur-Testplatte im CO<sub>2</sub>-Brutschrank inkubiert. Danach konnten jeweils drei Proben mit einer keimfreien Pinzette entnommen werden und in einem Reaktionsgefäß mit Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % fixiert werden. In Tabelle 6 ist die genaue Inkubationszeit bei jedem Körperspender dargestellt. Diese konnte aufgrund von Feiertagen und Wochenenden nicht bei allen Proben gleich gehalten werden.

<b>Körperspender</b>	<b>1. Entnahme (3 Proben)</b>	<b>2. Entnahme (3 Proben)</b>
Körperspender 1	Nach 2 Tagen	Nach 4 Tagen
Körperspender 2	Nach 3 Tagen	Nach 6 Tagen
Körperspender 3	Nach 2 Tagen	Nach 6 Tagen
Körperspender 4	Nach 2 Tagen	Nach 6 Tagen
Körperspender 5	Nach 4 Tagen	Nach 6 Tagen

**Tab. 6: Übersicht der Inkubationszeiten (Versuch 1)**

Der zweite Versuch wurde an drei Körperspendern durchgeführt. Es wurden von jedem davon wieder 9 Proben entnommen, sodass insgesamt 27 Proben für den zweiten Versuch verwendet wurden. Anders als beim ersten Teil wurden neben dem Medium auch MALP-2 und Eap eingesetzt. Die erwünschte Massenkonzentration von MALP-2 war 1 µg/ml und von Eap 40 µg/ml. Um diese zu erreichen, wurden MALP-2 und Eap mit dem Kulturmedium verdünnt. Bei diesem Versuch wurde das Kulturmedium auf die gleiche Weise vorbereitet wie beim ersten Versuch, sodass RPMI-1640-Medium, FCS und Pen/Strep gemischt wurden. Aus den neun Proben wurde eine Probe direkt in einem Reaktionsgefäß mit Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % fixiert. Die restlichen 8 Proben wurden in einer Zellkultur-Testplatte inkubiert (Abb. 6). In vier Kalotten wurde Zellkulturmedium, in zwei Kalotten verdünntes MALP-2 und in zwei Kalotten verdünntes Eap pipettiert. In jede Kalotte wurde 1 ml der Lösung gegeben. Anschließend wurden die Hautproben mit einer sterilen Pinzette getrennt in die Zellkultur-Testplatte gelegt und die Pinzette wurde nach jeder Benutzung in 70%igem Ethanol desinfiziert. Die Inkubation erfolgte wie im ersten Versuch im CO<sub>2</sub>-Brutschrank. Die Inkubationszeit ist in Tabelle 7 dargestellt. Danach wurden die Proben mit einer keimfreien Pinzette entnommen und in einem Reaktionsgefäß mit Formaldehyd-Lösung 3,5–3,7 % fixiert.



**Abb. 6: Die Aufteilung der Hautproben in einer Zellkultur-Testplatte**  
(hergestellt mit Biorender.com)

Inkubationszeit (Tage)	Zellkulturmedium	MALP-2	Eap
3	eine Probe		
6	eine Probe	eine Probe	eine Probe
9	eine Probe		
12	eine Probe	eine Probe	eine Probe

**Tab. 7: Übersicht der Inkubationszeiten (Versuch 2)**

### 3.6 Paraffineinbettung

Zuerst wurden die Hautproben in Einbettkassetten gebracht und beschriftet. Anschließend wurden die Einbettkassetten mit den Proben in eine Box gelegt und unter fließendem Leitungswasser für 3 Stunden gewässert. Als Nächstes wurden die Proben für eine Stunde in einer 70%igen 2-Propanol-Lösung eingelegt. Nach der Vorbereitung der Proben für die Einbettung erfolgten die nächsten Schritte automatisiert im Einbettautomat. Hier wurden die Proben in mehreren Stationen mit aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Methylbenzoat inkubiert. Schließlich wurden sie mit flüssigem Paraffin infiltriert. In der folgenden Tabelle 8 sind die Stationen im Gewebeeinbettautomaten dargestellt.

Station	Lösung	Verweildauer in Stunden
1	70 % 2-Propanol	3 h
2	80 % 2-Propanol	1,5 h
3	90 % 2-Propanol	1,5 h
4	100 % 2-Propanol	1,5 h
5	100 % 2-Propanol	1,5 h



6	Methylbenzoat (Benzoesäuremethylester)	1,5 h
7	Methylbenzoat	1,5 h
8	Methylbenzoat	1,5 h
9	Paraffin	2 h
10	Paraffin	2 h

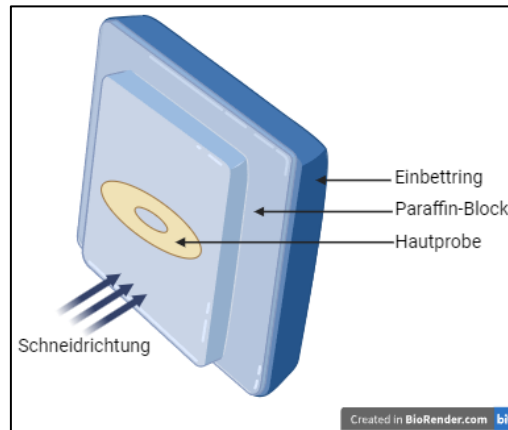
**Tab. 8: Die Stationen im Gewebeeinbettautomaten**

Nach ungefähr 17,5 Stunden war das Programm fertig. Die Proben konnten entnommen, in einem Dispenser mit flüssigem Paraffin eingelegt und weiterverarbeitet werden.

Die nächsten Schritte erfolgten in der Paraffin-Ausgießstation. Die Proben wurden nacheinander aus dem Dispenser genommen, in Ausgießförmchen überführt und mit flüssigem Paraffin bedeckt. Dabei musste beachtet werden, dass die Proben in der richtigen Position verbleiben. Unter Zuhilfenahme einer Pinzette und einer Sonde konnten die Hautproben aufgerichtet werden. In Abbildung 7 ist die gewünschte Position der Gewebeprobe im Paraffin-Block dargestellt. Zum Schluss wurden die beschrifteten Einbettringe aufgesetzt und bis zum Rand mit Paraffin gefüllt.

Die Paraffin-Ausgießstation besteht aus drei Stationen mit unterschiedlichen Temperaturen. Damit die Paraffin-Pellets schmelzen konnten, musste der Paraffinbehälter auf mindestens 58 °C erhitzt werden. Die Temperatur bei der Wärmeplatte betrug ungefähr 51,5 °C. Am Ende wurden die Ausgießförmchen auf eine Kälteplatte mit ungefähr -4 °C verbracht und dort zum Auskühlen belassen. Als das Paraffin vollständig ausgehärtet war, konnte es leicht aus dem Ausgießförmchen gelöst werden.

Die Lagerung der Paraffinblöcke kann bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank erfolgen. Für bessere Ergebnisse beim Schneiden wird die Lagerung im Kühlschrank empfohlen oder diese sollte zumindest für einige Stunden vor dem Schneiden erfolgen.



**Abb. 7: Die Position einer Hautprobe im Paraffinblock**  
(hergestellt mit Biorender.com)

### 3.7 Anfertigung von Paraffinschnitten

Die mikroskopischen Schnitte wurden mithilfe eines Mikrotoms angefertigt. Die Schichtdicke betrug 7  $\mu\text{m}$ . Die dünnen Paraffinschnitte wurden in ein vorgewärmtes Wasserbad mit 37 °C gelegt. Darin wurden sie gestreckt und geglättet. Anschließend konnten sie auf Objektträger gegeben und auf eine Wärmeplatte mit 37 °C gelegt werden. Zum Schluss wurden die Objektträger in Küvetten verbracht und im Inkubator über Nacht bei 37 °C trocknen gelassen. Die so angefertigten Schnitte können für Jahre in Präparatekästen aufbewahrt werden.

### 3.8 HE-Färbung

Für die Beurteilung der Proben wurde die HE-Färbung verwendet. Der basische Farbstoff Hämatoxylin verfärbt die basophile Komponente des Gewebes (zum Beispiel Nukleinsäure und Glykane) blau und der saure Farbstoff Eosin verbindet sich mit den azidophilen Komponenten wie Mitochondrien und Kollagen und verfärbt sie rot (Junqueira et al., 2005). Diese Färbemethode ist aufgrund von unzureichender Verfärbung ungeeignet zur Darstellung von elastischen Fasern.

Die HE-Färbung bestand aus zwei Schritten: Entparaffinieren und Färben. Kurz vor dem Prozess wurden zunächst sämtliche Vorbereitungen getroffen. Das 0,01%ige Eosin wurde vor dem Verbrauch mit zwei Tropfen Essigsäure gemischt, die mit einer Pasteurpipette zugeführt worden waren. Das Hämatoxylin nach Ehrlich und Eosin wurden mit einem Filterpapier und Trichter gefiltert und die Küvetten wurden mit einem Deckel bedeckt. Der Verlauf des Entparaffinierens und Färbens ist in Tabelle 9 dargestellt.

<b>Entparaffinieren (unter dem Abzug)</b>	
<b>Chemikalien</b>	<b>Verweildauer</b>
Xylol	5 min
Xylol	5 min
Xylol	5 min
100 % 2-Propanol	5 min
100 % 2-Propanol	5 min
90 % 2-Propanol	5 min
80 % 2-Propanol	5 min
<b>Färben (ab 90% 2-Propanol unter dem Abzug)</b>	
<b>Chemikalien/Lösungen</b>	<b>Verweildauer</b>
Hämatoxylin nach Ehrlich	8 min
Spülen in destilliertem Wasser	Bis die überschüssige Farbe entfernt ist
Blauen in fließendem Leitungswasser	12 min
Spülen in destilliertem Wasser	30 s
Eosin	2 min 30 s
90 % 2-Propanol	So lange dippen, bis die gewünschte Farbe erreicht ist
100 % 2-Propanol	5 min
100 % 2-Propanol	5 min
Xylol	5 min
Xylol	5 min
Xylol	5 min

Tab. 9: Protokoll der HE-Färbung

Nach dem Färben wurden die Objektträger mit Deckgläsern der Größe 24 x 50 mm bedeckt. Zuerst wurden die Objektträger nacheinander aus dem Xylol entnommen und mit Zellstofftupfern getrocknet. Es wurden 1 bis 3 Tropfen des histologischen Klebers Roti-Histokitt mit einer Pasteurpipette neben den Proben aufgebracht. Anschließend wurde die Spitze einer Präpariersonde zwischen das Deckglas und den Objektträger gelegt und langsam entfernt. Dieser Schritt verlangsamt die Absenkung des Deckglases und ermöglicht dadurch eine blasenfreie Verteilung des Klebers. Die bedeckten Objektträger wurden in einer Präparatmappe über Nacht im Laborabzug gelassen, damit der histologische Kleber aushärten konnte. Schließlich wurden die Objektträger mit den gefärbten Proben in einem Präparatekasten aufbewahrt.

### **3.9 Auswertung der Daten**

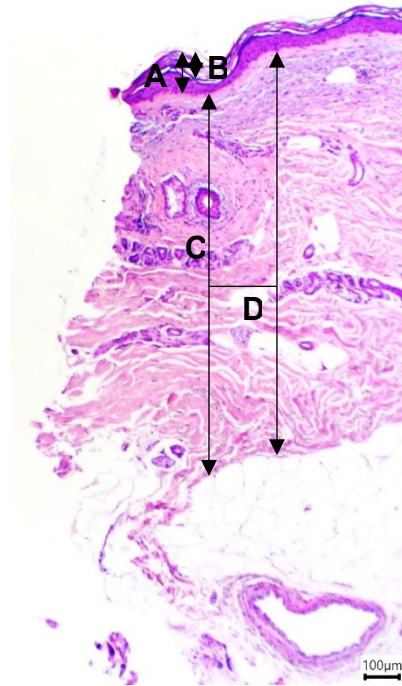
Die Präparate wurden eigenständig beurteilt und mithilfe eines Lichtmikroskops ausgewertet. Die digitale Fotografie erfolgte mithilfe einer Mikroskopkamera (MikroCam von Bresser). Zunächst mussten die Vergrößerungen im System kalibriert werden. Dafür wurde ein Objektträger mit einer eingebauten Referenz genutzt. Die verwendeten Vergrößerungen waren 4-fach, 10-fach und 40-fach. Nach der Kalibrierung konnten die Bilder und Messungen mit der MikroCamLab-Software von Bresser digital erfasst werden. In dieser Software wurden die Helligkeit und der Kontrast der Bilder bearbeitet.

#### **3.9.1 Auswahl der Präparate**

Im ersten Schritt wurden nur die gefärbten Präparate ausgewählt, die eine ausreichende Qualität aufwiesen. Es wurden Präparate ausgewertet, die morphologisch intakt und gleichmäßig gefärbt waren. Präparate mit Artefakten oder Bläschen wurden aussortiert. Außerdem wurde darauf geachtet, dass auf den Präparaten die Wundränder klar erkennbar waren, da sich die Messungen auf diese Stelle bezogen.

#### **3.9.2 Auswertungsparameter**

Für die Auswertung wurden zwei Parameter gemessen: die Schichtdicke der Haut und der Abstand der Wundränder. Die Schichtdicken von Stratum corneum, Epidermis und Dermis wurden getrennt erfasst. Somit konnte ein fixer Anfangs- und Endpunkt bestimmt werden. Bei der Abstandsmessung wurde der kleinste Abstand der Wundränder der Epidermis und Dermis ermittelt. Für die Bestimmung der Schichtdicke und des Abstands wurden gleiche histologische Präparate verwendet. Die Messungen erfolgten mithilfe eines Lineals und der MikroCam-Lab-Software. Bei der Bestimmung der Schichtdicke wurde zwischen den einzelnen Messungen bei einem Präparat ein Abstand von 2 cm eingehalten.



**Abb. 8: Messung der Schichtdicke**

Im folgenden Beispiel ist die Messung von Epidermis (A), Stratum corneum (B) und Dermis (C) dargestellt. Zwischen allen Messungen wurde mithilfe eines Lineals ein Abstand von 2 cm (D) auf dem Bildschirm ermittelt, damit die Messungen in gleichmäßigen Abständen erfolgen konnten.

**3.9.3 Grafische Darstellung**

Für die übersichtliche Darstellung der Daten wurde ein Punktdiagramm mit Verbindungslinien ausgewählt und der Standardfehler (Engl. *Standard Error of the Mean* oder SEM) wurde bestimmt. Mit dem Standardfehler wird festgestellt, wie stark sich der Mittelwert der Stichprobe von der Grundgesamtheit durchschnittlich unterscheidet (Benning, 2023).

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 72 Gewebeproben aus 8 Körperspendern untersucht. Bei der Bestimmung der Schichtdicke wurden 135 Werte pro Körperspender und pro Hautschicht (Stratum corneum, Epidermis und Dermis) erhoben. Es wurden drei Präparate pro Probe mit jeweils fünf Messstellen pro Hautschicht ausgewertet. Insgesamt wurden 405 Messungen pro Körperspender durchgeführt. In Versuch 2 ergaben sich 285 bis 405 Messungen, da nicht alle Stellen messbar waren. Bei der Auswertung des kleinsten Abstands der Wundränder wurden 27 Messungen pro Körperspender und pro Hautschicht (Epidermis und Dermis) durchgeführt. Zusammenfassend wurden insgesamt 54 Messungen pro Körperspender erfasst. Auch hier gab es Abweichungen in Versuch 2. Eine ausführlichere Darstellung der Messungen folgt im nächsten Kapitel.

## 4. Ergebnisse

Unter Berücksichtigung der zu Beginn beschriebenen Zielsetzung der Arbeit werden in diesem Kapitel die Ergebnisse zu den einzelnen Körperspendern dargestellt und schließlich wird das Gesamtergebnis präsentiert.

### 4.1 Körperspender 1

#### 4.1.1 Messung der Schichtdicke

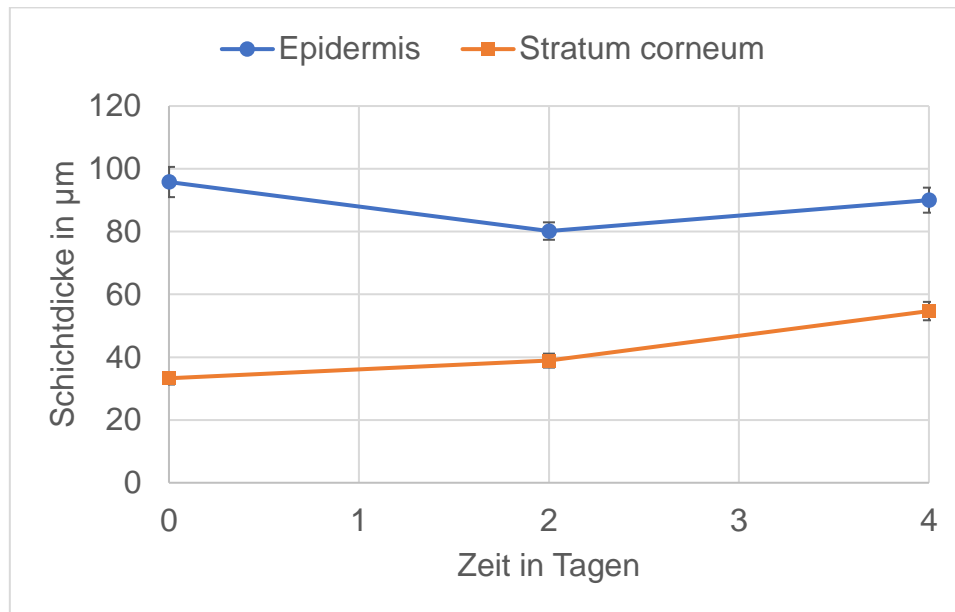
Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Stratum corneum ( $\mu\text{m}$ )	Dermis ( $\mu\text{m}$ )
0	$95 \pm 4$	$33 \pm 2$	$1367 \pm 41$
2	$80 \pm 2$	$38 \pm 2$	$1372 \pm 47$
4	$90 \pm 3$	$54 \pm 2$	$1482 \pm 32$

Tab. 10: KS 1: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ )

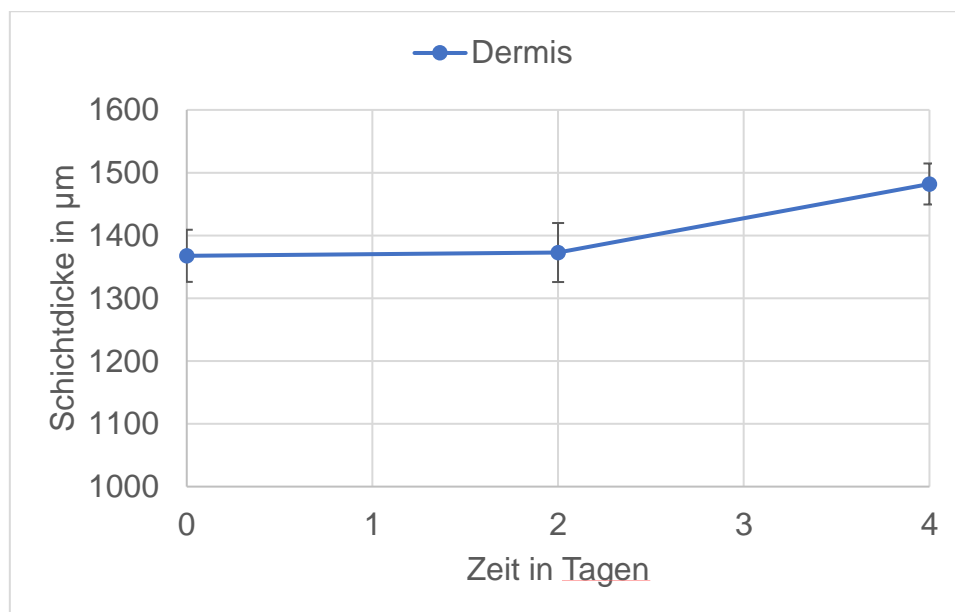
Die Schichtdicke der Epidermis sank in 4 Tagen von  $95 \pm 4 \mu\text{m}$  auf  $90 \pm 3 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke des Stratum corneums stieg in 4 Tagen von  $33 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $54 \pm 2 \mu\text{m}$ , während die Schichtdicke der Dermis in 4 Tagen von  $1367 \pm 41 \mu\text{m}$  auf  $1482 \pm 32 \mu\text{m}$  zunahm.

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 4 findet sich in den folgenden Grafiken.



**Abb. 9: KS 1: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 10: KS 1: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.1.2 Messung des Abstands

Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis und zeigt die Differenz zum Tag 0.

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	$1663 \pm 79$	0	$1103 \pm 101$	0
2	$1415 \pm 70$	-247	$939 \pm 82$	-163,67
4	$1536 \pm 57$	-127	$971 \pm 93$	-131,56

Tab. 11: KS 1: Abstand (in  $\mu\text{m}$ )

Der Abstand der Epidermis sank nach 4 Tagen von  $1663 \pm 79 \mu\text{m}$  auf  $1536 \pm 57 \mu\text{m}$ . Der Abstand der Dermis nahm nach 4 Tagen von  $1103 \pm 101 \mu\text{m}$  auf  $971 \pm 93 \mu\text{m}$  ab.

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 4 findet sich in der folgenden Grafik.

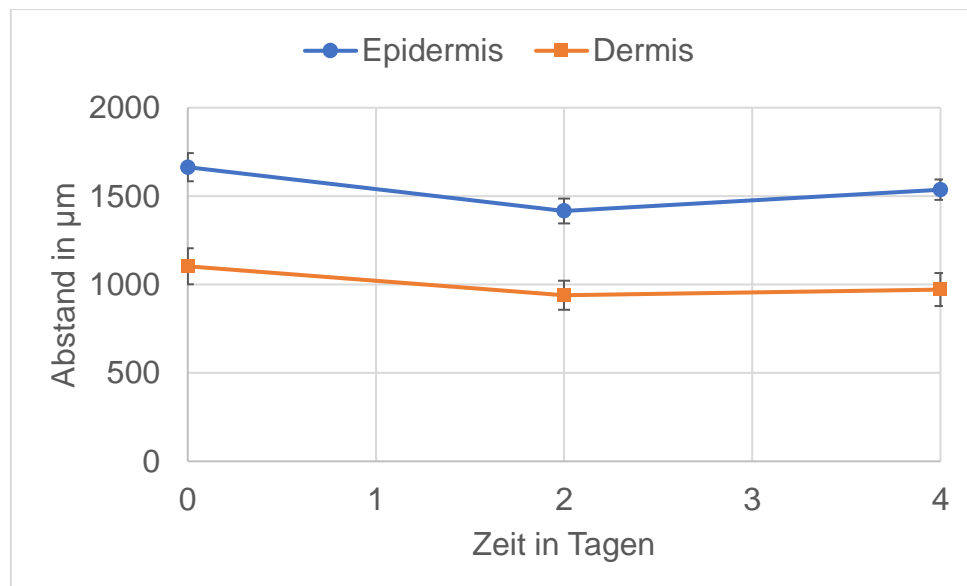
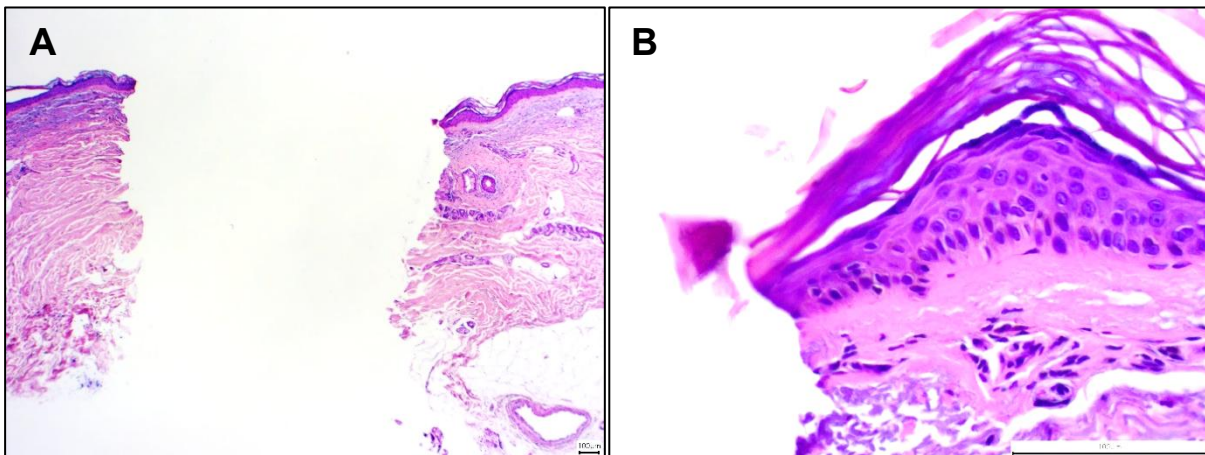


Abb. 11: KS 1: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis

Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

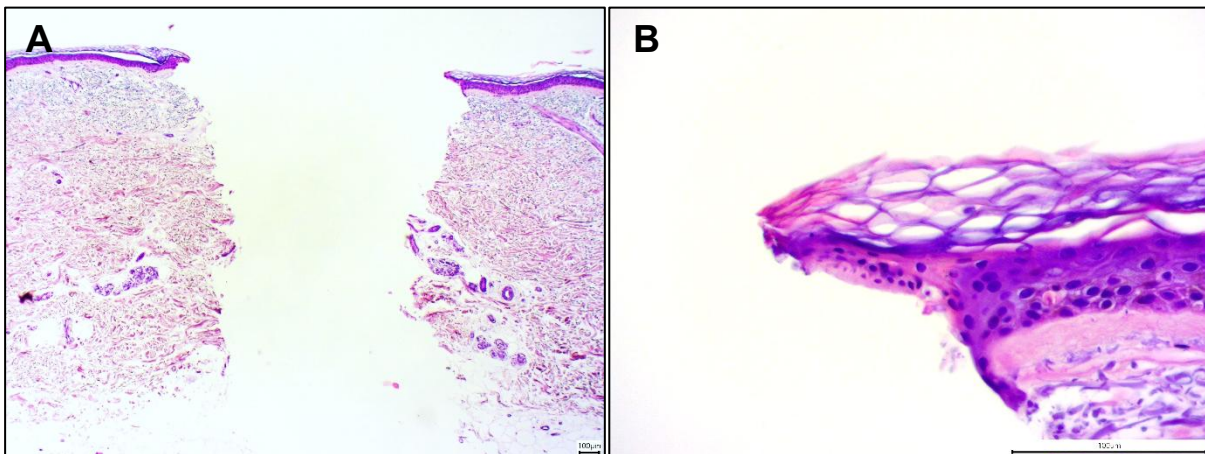


Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



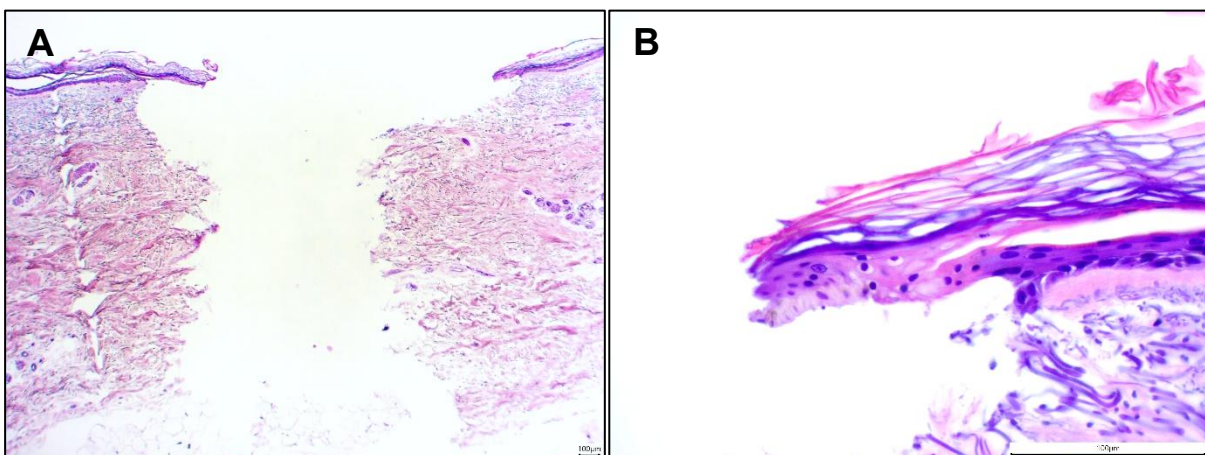
**Abb. 12: Tag 0, Körperspender 1**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 13: Tag 2, Körperspender 1**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 14: Tag 4, Körperspender 1**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.2 Körperspender 2

### 4.2.1 Messung der Schichtdicke

Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Stratum corneum ( $\mu\text{m}$ )	Dermis ( $\mu\text{m}$ )
0	$72 \pm 2$	$28 \pm 2$	$982 \pm 73$
3	$102 \pm 5$	$65 \pm 5$	$1092 \pm 39$
6	$97 \pm 4$	$47 \pm 2$	$940 \pm 42$

Tab. 12: KS 2: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ )

Die Schichtdicke der Epidermis stieg in 6 Tagen von  $72 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $97 \pm 4 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke des Stratum corneums stieg in 6 Tagen von  $28 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $47 \pm 2 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke der Dermis sank in 6 Tagen von  $982 \pm 73 \mu\text{m}$  auf  $940 \pm 42 \mu\text{m}$ , aber zeigt eine Steigerung am dritten Tag von  $1092 \pm 39 \mu\text{m}$ .

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in den folgenden Grafiken.

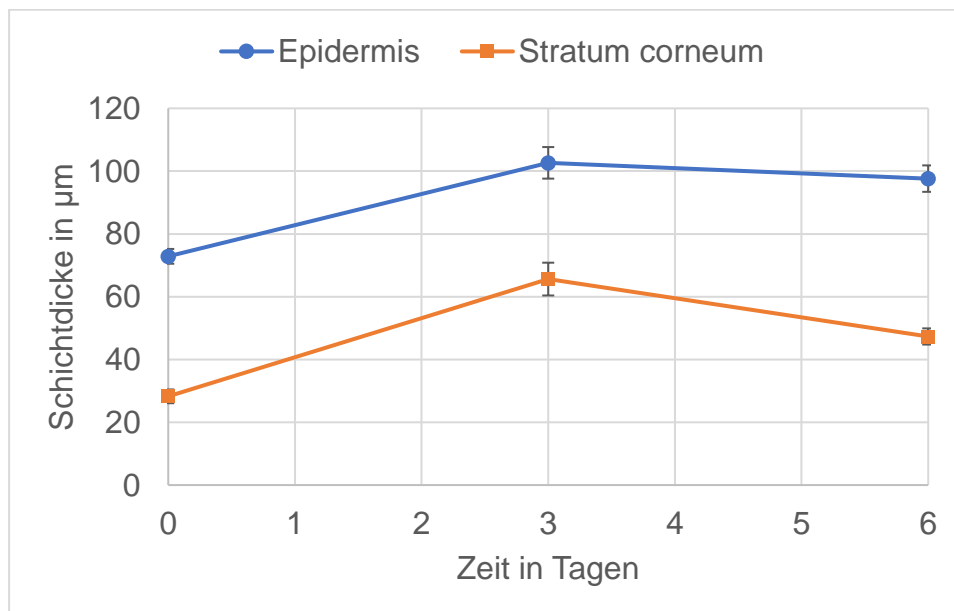
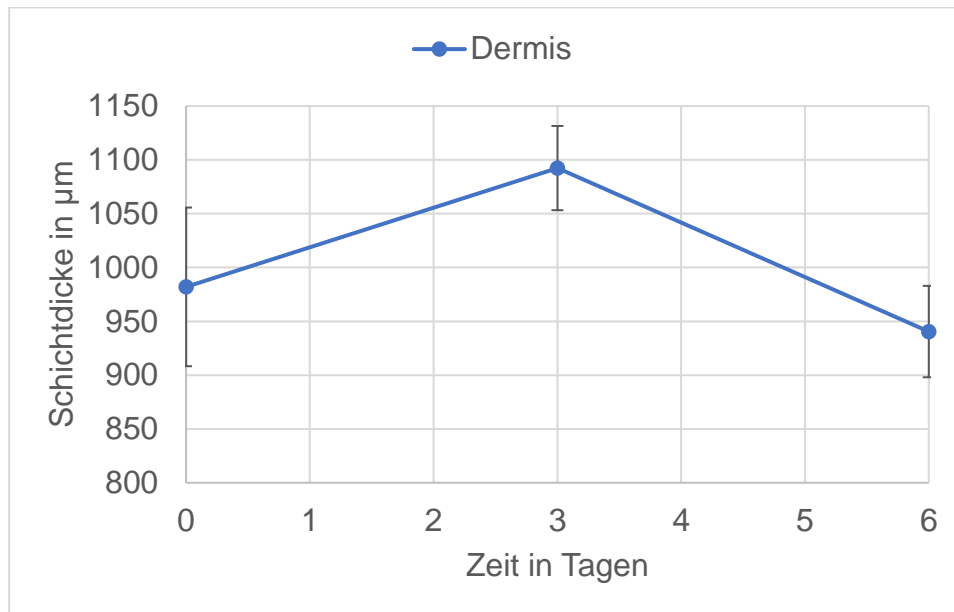


Abb. 15: KS 2: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 16: KS 2: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.2.2 Messung des Abstands

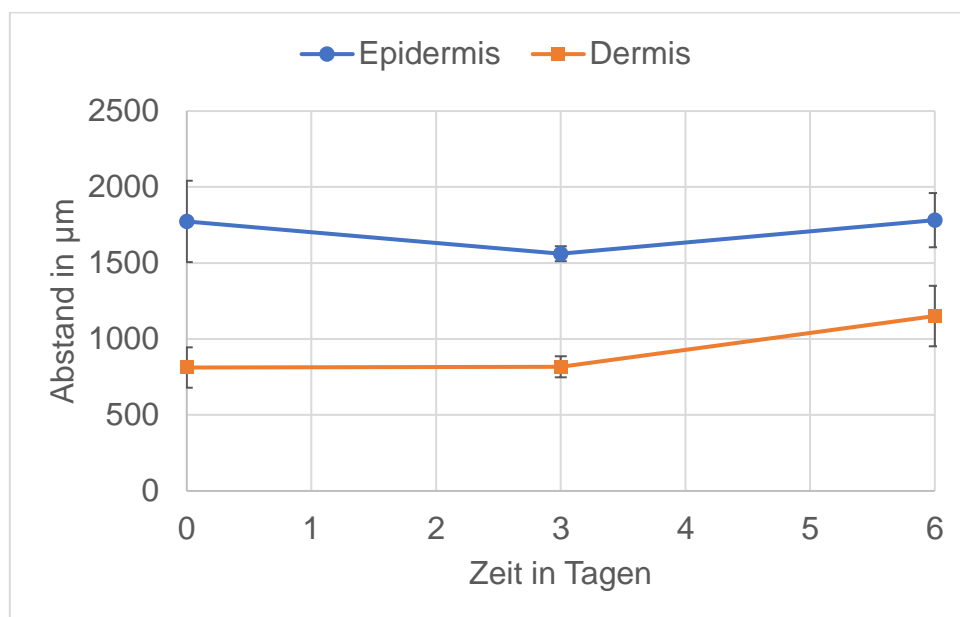
Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis und zeigt die Differenz zum Tag 0.

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	1773 $\pm$ 267	0	812 $\pm$ 132	0
3	1561 $\pm$ 49	-212	817 $\pm$ 69	4
6	1782 $\pm$ 178	8	1151 $\pm$ 198	338

**Tab. 13: KS 2: Abstand (in  $\mu\text{m}$ )**

Der Abstand der Epidermis stieg nach 6 Tagen von 1773  $\pm$  267  $\mu\text{m}$  auf 1782  $\pm$  178  $\mu\text{m}$ , obwohl es am dritten Tag auf 1561  $\pm$  49  $\mu\text{m}$  sank. Der Abstand der Dermis stieg nach 6 Tagen von 812  $\pm$  132  $\mu\text{m}$  auf 1151  $\pm$  198  $\mu\text{m}$ .

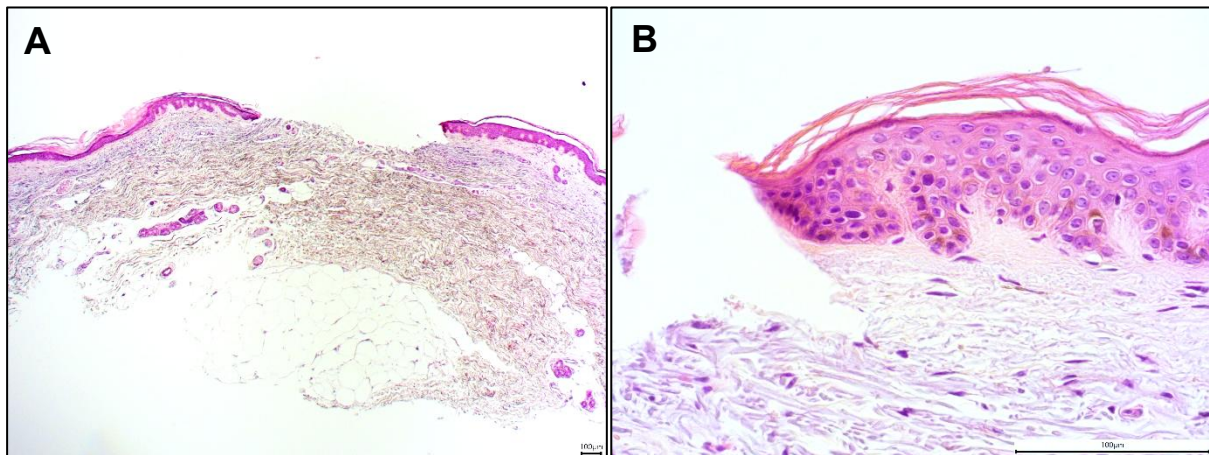
Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in der folgenden Grafik.



**Abb. 17: KS 2: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis**

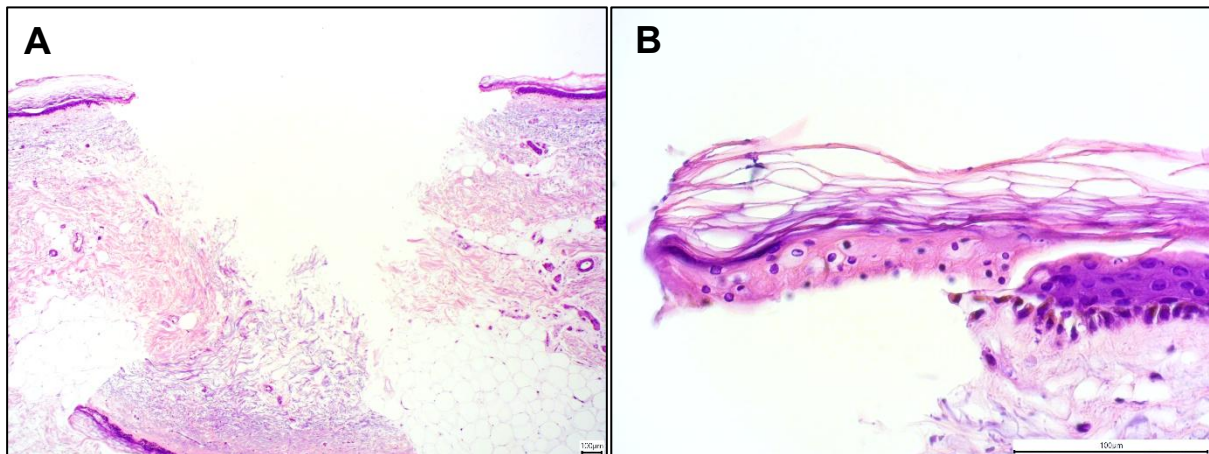
Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



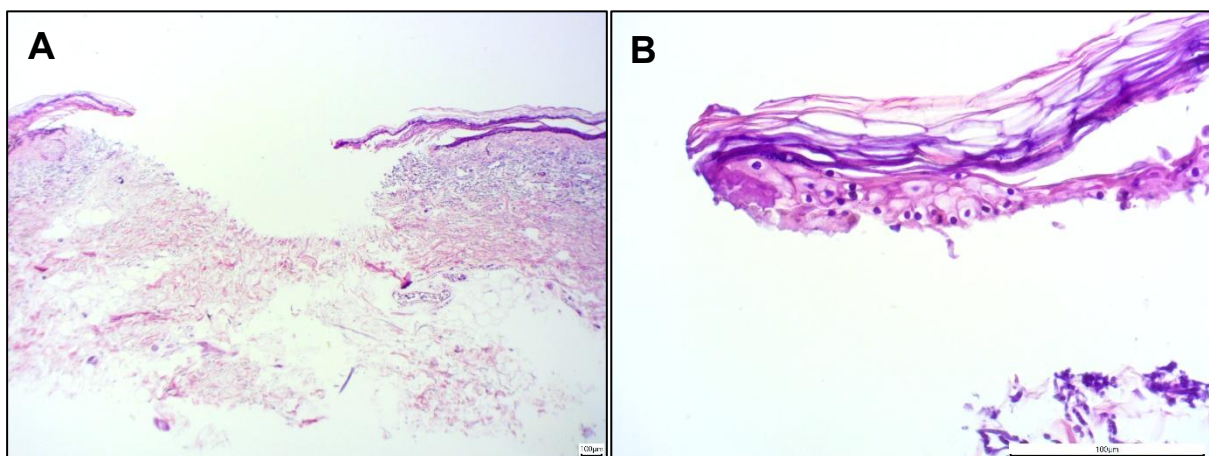
**Abb. 18: Tag 0, Körperspender 2**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 19: Tag 3, Körperspender 2**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 20: Tag 6, Körperspender 2**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung

### 4.3 Körperspender 3

#### 4.3.1 Messung der Schichtdicke

Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Stratum corneum ( $\mu\text{m}$ )	Dermis ( $\mu\text{m}$ )
0	$48 \pm 1$	$17 \pm 1$	$808 \pm 155$
2	$84 \pm 3$	$33 \pm 1$	$964 \pm 33$
6	$80 \pm 3$	$29 \pm 1$	$924 \pm 24$

Tab. 14: KS 3: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ )

Die Schichtdicke der Epidermis stieg in 6 Tagen von  $48 \pm 1 \mu\text{m}$  auf  $80 \pm 3 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke des Stratum corneums stieg in 6 Tagen von  $17 \pm 1 \mu\text{m}$  auf  $29 \pm 1 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke der Dermis stieg in 6 Tagen von  $808 \pm 155 \mu\text{m}$  auf  $924 \pm 24 \mu\text{m}$ .

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in den folgenden Grafiken.

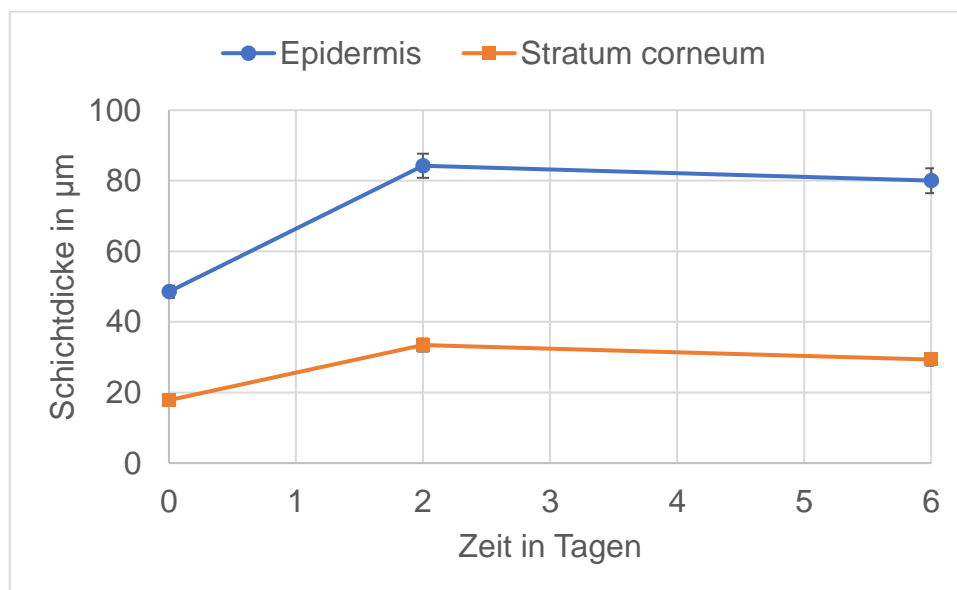
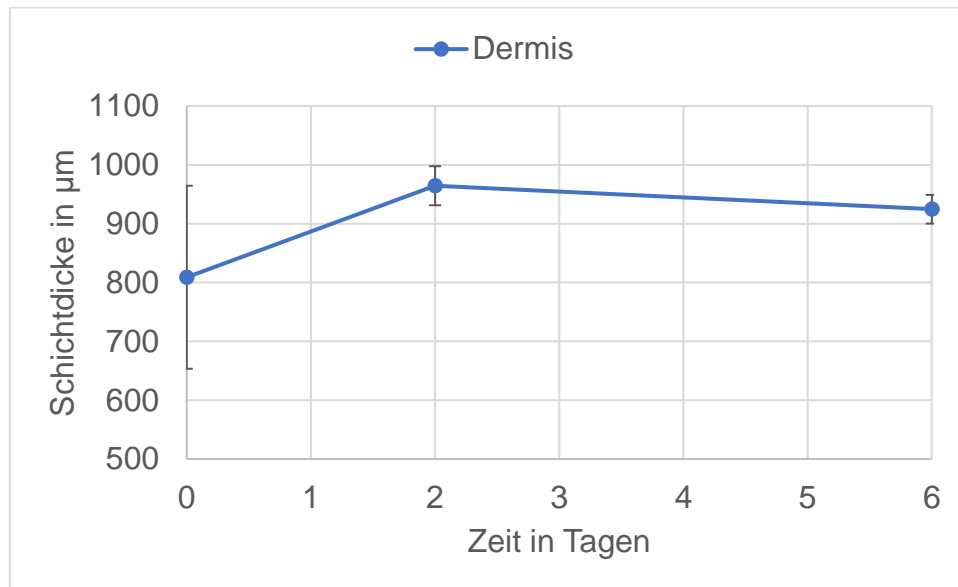


Abb. 21: KS 3: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 22: KS 3: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.3.2 Messung des Abstands

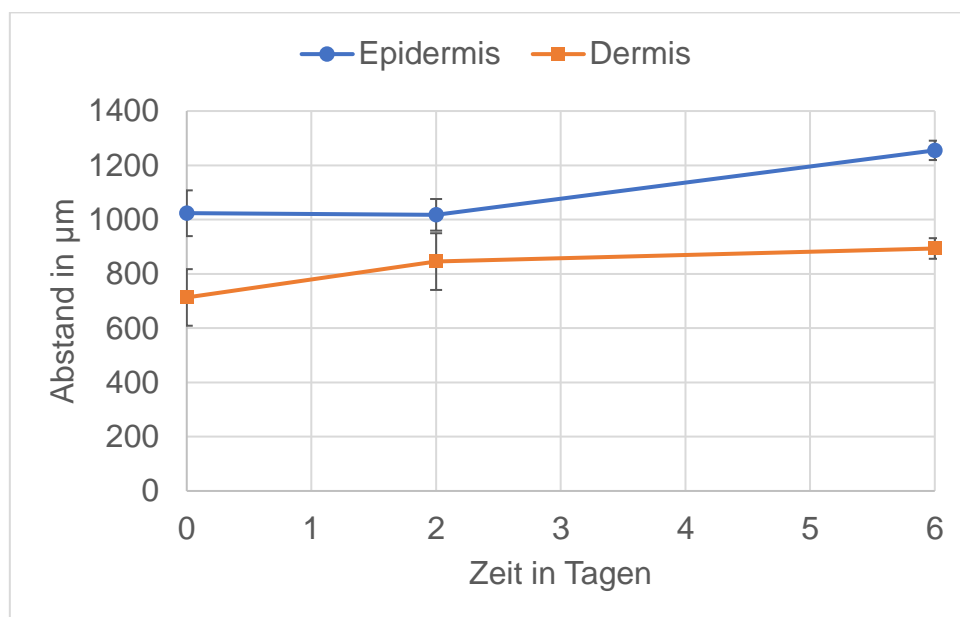
Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis und zeigt die Differenz zum Tag 0.

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	$1023 \pm 84$	0	$713 \pm 104$	0
2	$1017 \pm 58$	-5	$845 \pm 104$	132
6	$1255 \pm 35$	231	$893 \pm 38$	180

**Tab. 15: KS 3: Abstand (in  $\mu\text{m}$ )**

Der Abstand der Epidermis stieg nach 6 Tagen von  $1023 \pm 84 \mu\text{m}$  auf  $1255 \pm 35 \mu\text{m}$ , obwohl es am zweiten Tag auf  $1017 \pm 58 \mu\text{m}$  sank. Der Abstand der Dermis stieg nach 6 Tagen von  $713 \pm 104 \mu\text{m}$  auf  $893 \pm 38 \mu\text{m}$ .

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in der folgenden Grafik.

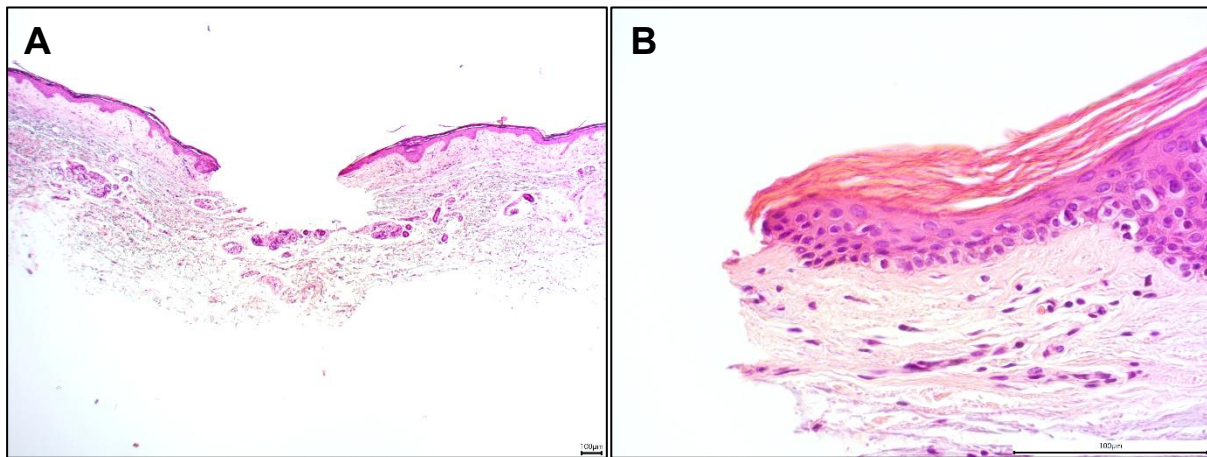


**Abb. 23: KS 3: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis**

Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

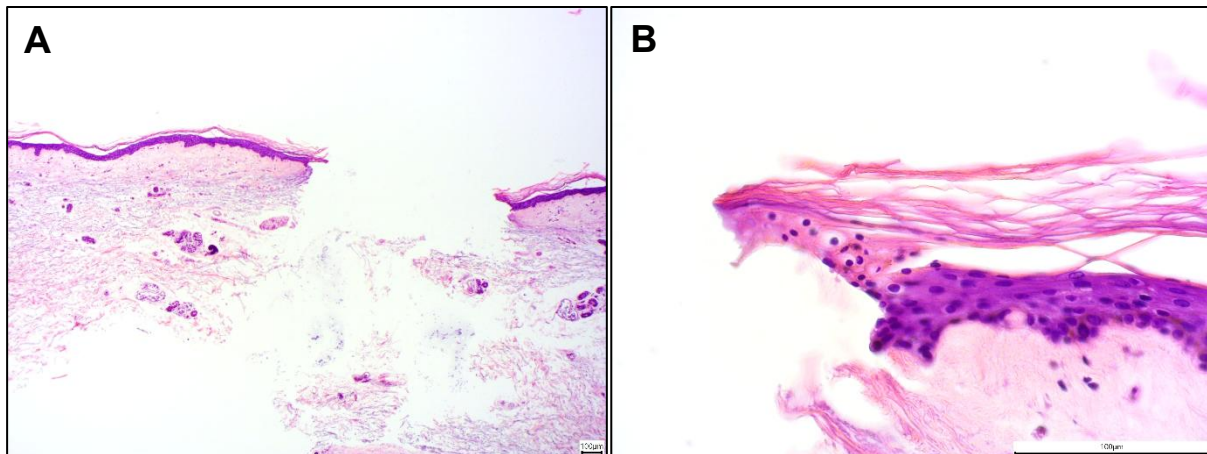


Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



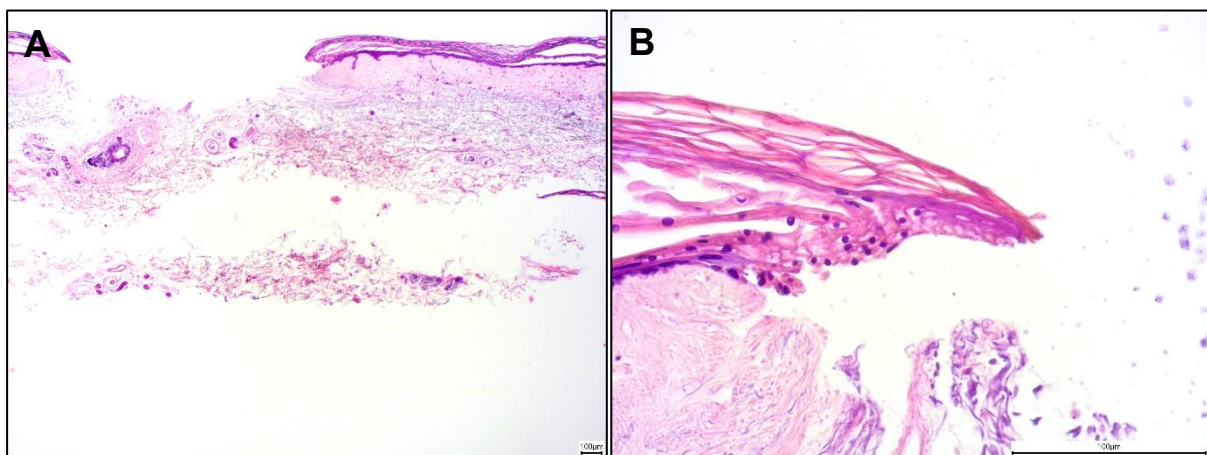
**Abb. 24: Tag 0, Körperspender 3**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 25: Tag 2, Körperspender 3**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 26: Tag 6, Körperspender 3**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung

#### 4.4 Körperspender 4

##### 4.4.1 Messung der Schichtdicke

Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Stratum corneum ( $\mu\text{m}$ )	Dermis ( $\mu\text{m}$ )
0	$71 \pm 2$	$35 \pm 1$	$678 \pm 29$
2	$69 \pm 2$	$41 \pm 2$	$1043 \pm 52$
6	$81 \pm 3$	$58 \pm 3$	$1041 \pm 40$

Tab. 16: KS 4: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ )

Die Schichtdicke der Epidermis stieg in 6 Tagen von  $71 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $81 \pm 3 \mu\text{m}$ . Die Schichtdicke des Stratum corneums stieg in 6 Tagen von  $35 \pm 1 \mu\text{m}$  auf  $58 \pm 3 \mu\text{m}$ , während die Schichtdicke der Dermis in 6 Tagen von  $678 \pm 29 \mu\text{m}$  auf  $1041 \pm 40 \mu\text{m}$  zunahm.

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in den folgenden Grafiken.

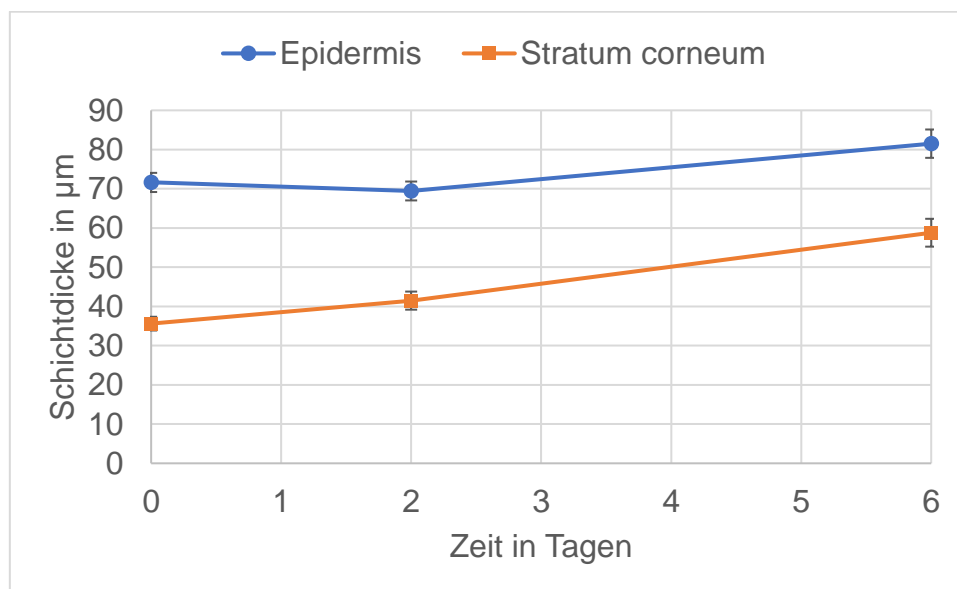
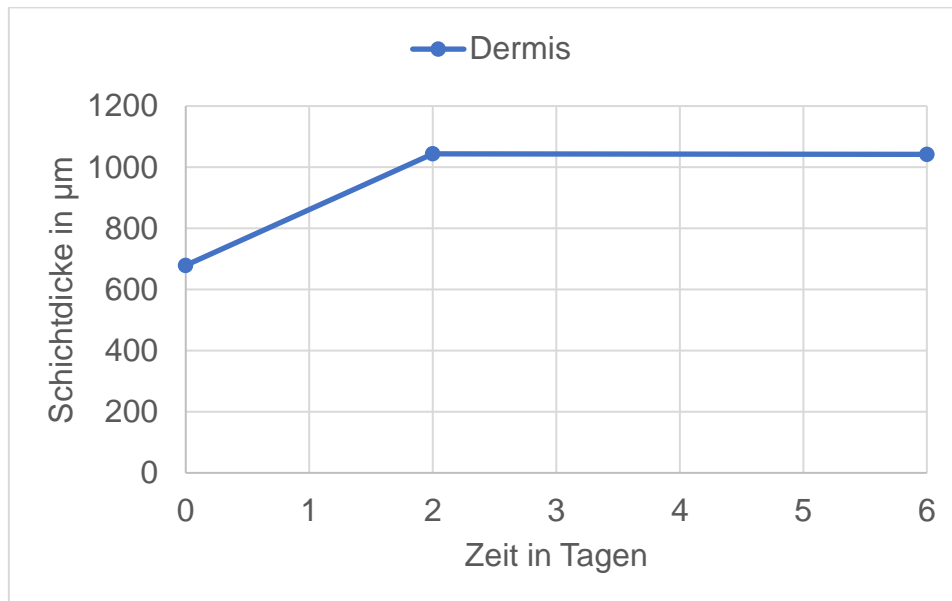


Abb. 27: KS 4: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 28: KS 4: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.4.2 Messung des Abstands

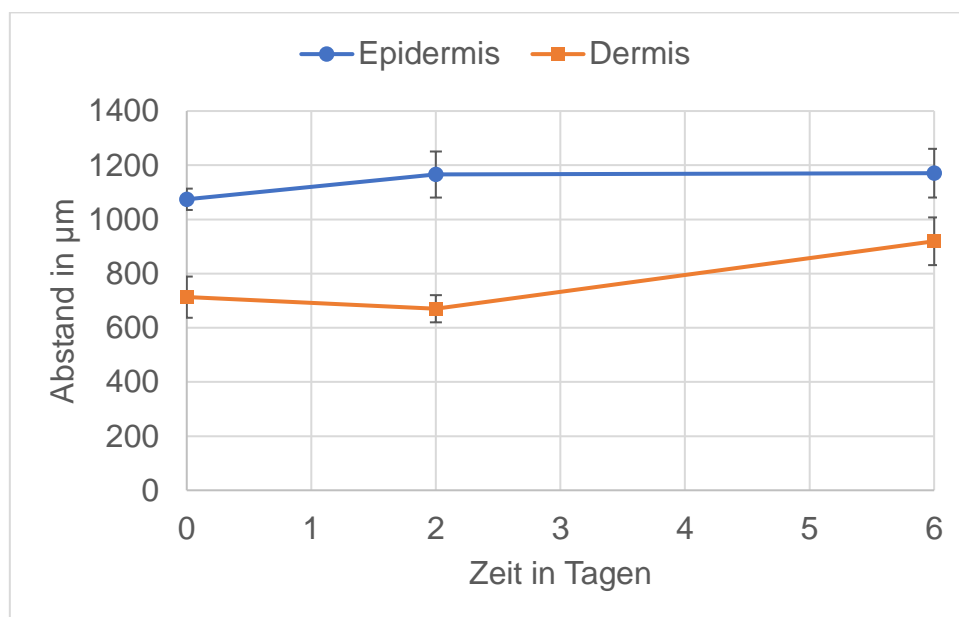
Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis und zeigt die Differenz zum Tag 0.

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	$1074 \pm 39$	0	$712 \pm 76$	0
2	$1165 \pm 85$	91	$670 \pm 50$	-42
6	$1170 \pm 89$	96	$919 \pm 88$	206

**Tab. 17: KS 4: Abstand (in  $\mu\text{m}$ )**

Der Abstand der Epidermis stieg nach 6 Tagen von  $1074 \pm 39 \mu\text{m}$  auf  $1170 \pm 89 \mu\text{m}$ . Der Abstand der Dermis stieg nach 6 Tagen von  $712 \pm 76 \mu\text{m}$  auf  $919 \pm 88 \mu\text{m}$ , obwohl es nach 2 Tagen auf  $670 \pm 50 \mu\text{m}$  abnahm.

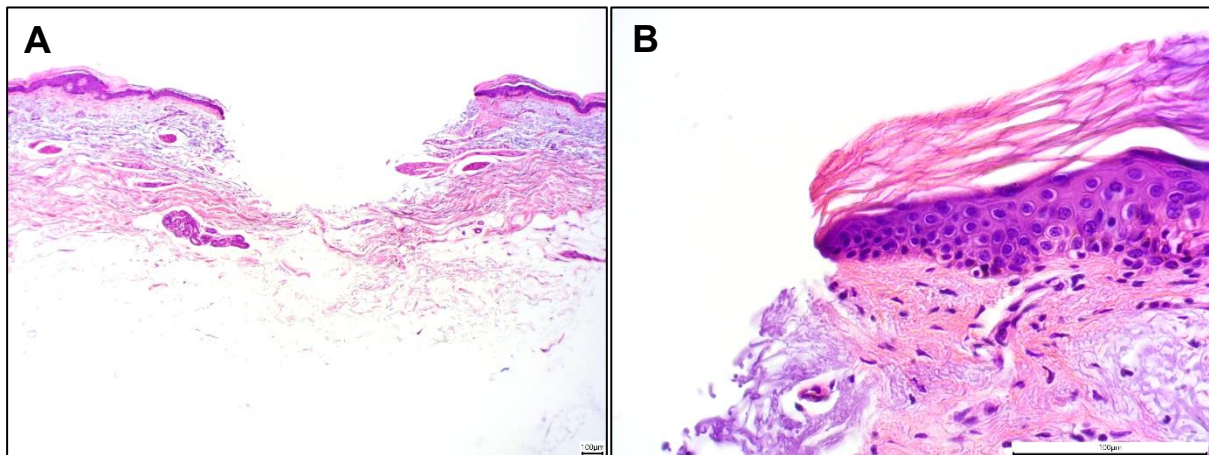
Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in der folgenden Grafik.



**Abb. 29: KS 4: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis**

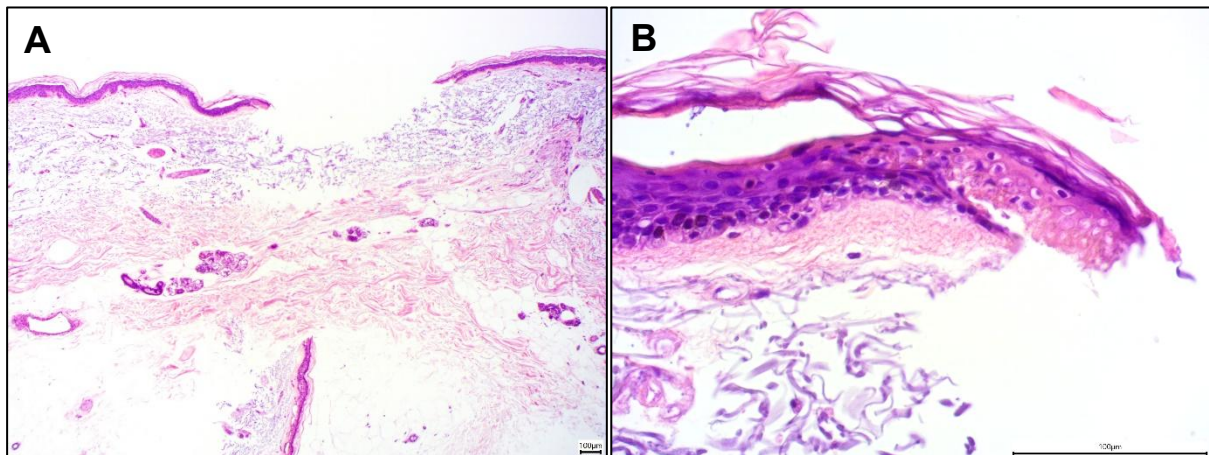
Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



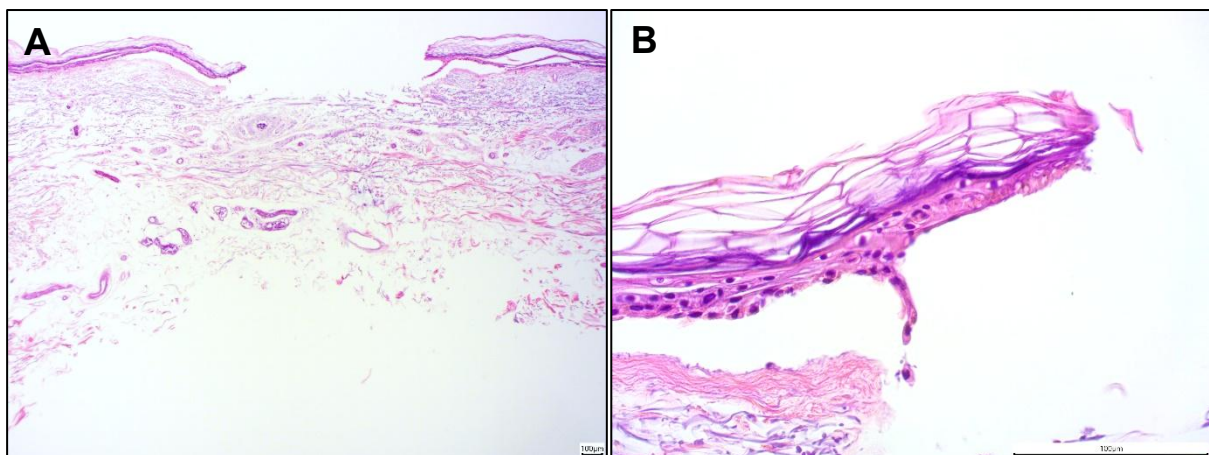
**Abb. 30: Tag 0, Körperspender 4**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 31: Tag 2, Körperspender 4**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 32: Tag 6, Körperspender 4**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.5 Körperspender 5

### 4.5.1 Messung der Schichtdicke

Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Stratum corneum ( $\mu\text{m}$ )	Dermis ( $\mu\text{m}$ )
0	$79 \pm 2$	$36 \pm 2$	$710 \pm 55$
4	$70 \pm 3$	$28 \pm 2$	$1348 \pm 36$
6	$98 \pm 4$	$54 \pm 3$	$1325 \pm 70$

Tab. 18: KS 5: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ )

Die Schichtdicke der Epidermis stieg in 6 Tagen von  $79 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $98 \pm 4 \mu\text{m}$ , obwohl es am vierten Tag auf  $70 \pm 3 \mu\text{m}$  sank. Die Schichtdicke des Stratum corneums stieg in 6 Tagen von  $36 \pm 2 \mu\text{m}$  auf  $54 \pm 3 \mu\text{m}$ , obwohl es am vierten Tag auf  $28 \pm 2 \mu\text{m}$  sank. Die Schichtdicke der Dermis stieg in 6 Tagen von  $710 \pm 55 \mu\text{m}$  auf  $1325 \pm 70 \mu\text{m}$ .

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in den folgenden Grafiken.

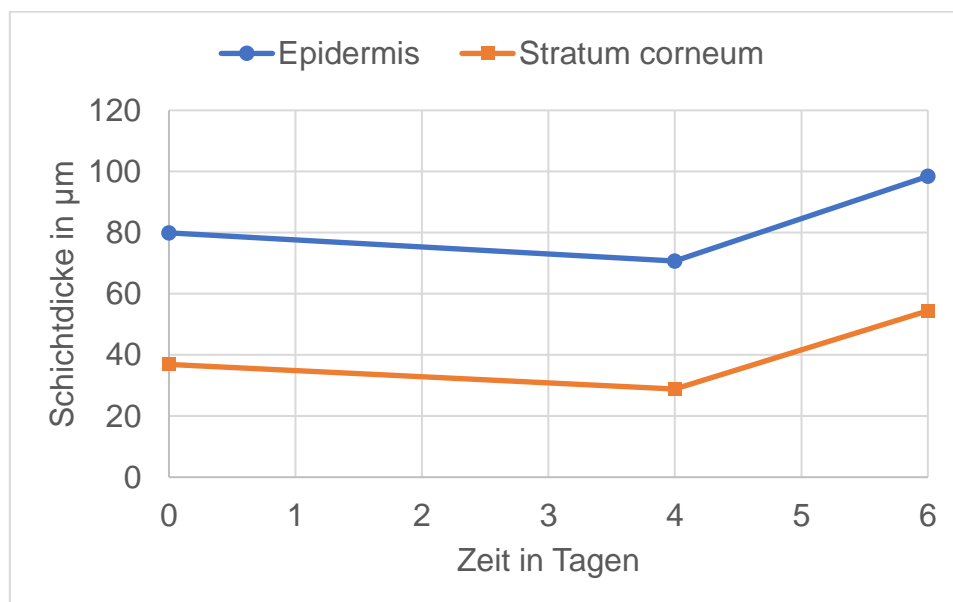
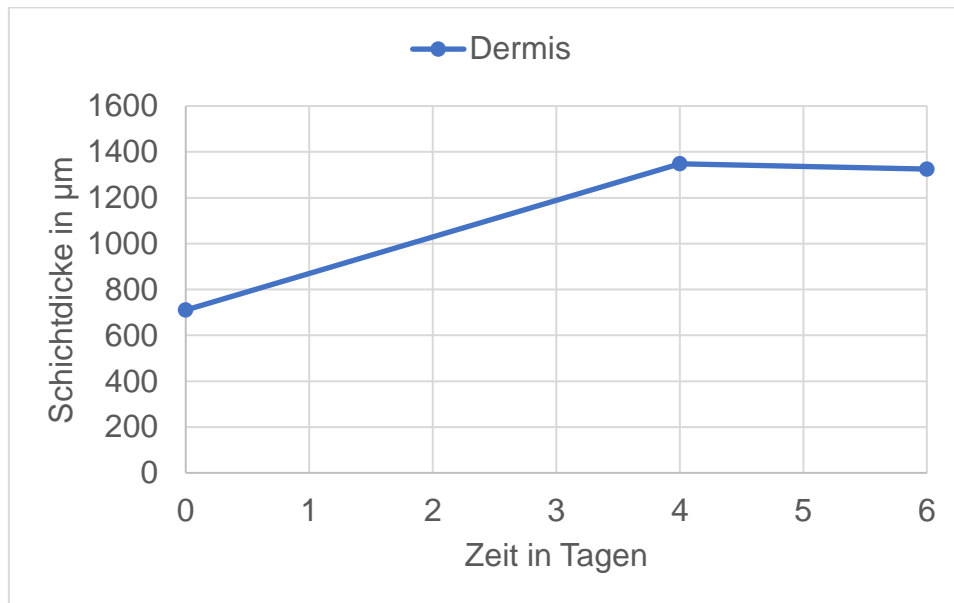


Abb. 33: KS 5: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 34: KS 5: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.5.2 Messung des Abstands

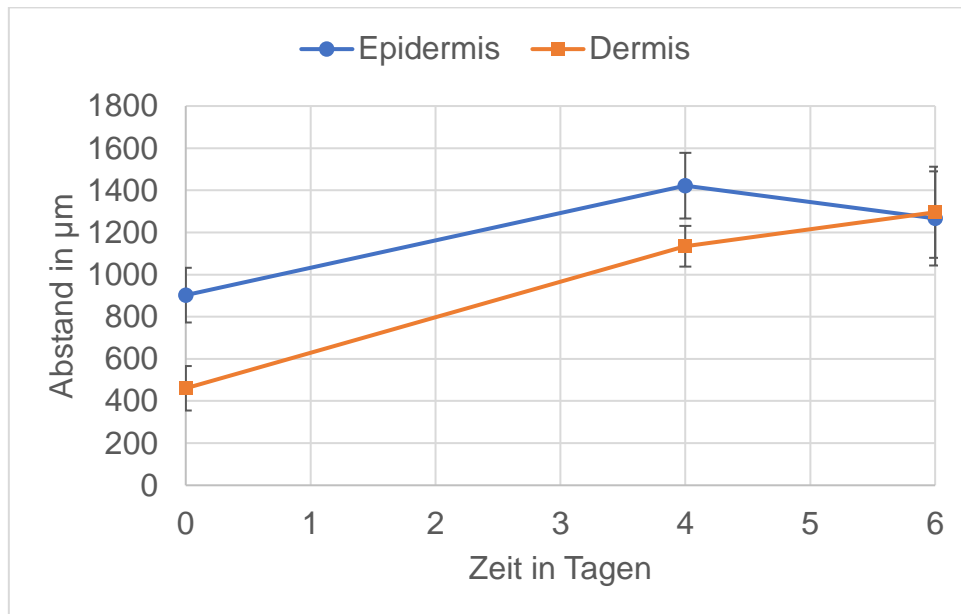
Die folgende Tabelle bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis und zeigt die Differenz zum Tag 0.

Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	902 $\pm$ 129	0	460 $\pm$ 105	0
4	1422 $\pm$ 155	519	1134 $\pm$ 96	674
6	1266 $\pm$ 223	364	1295 $\pm$ 216	835

**Tab. 19: KS 5: Abstand (in  $\mu\text{m}$ )**

Der Abstand der Epidermis stieg nach 6 Tagen von 902  $\pm$  129  $\mu\text{m}$  auf 1266  $\pm$  223  $\mu\text{m}$ . Der Abstand der Dermis nahm nach 6 Tagen von 460  $\pm$  105  $\mu\text{m}$  auf 1295  $\pm$  216  $\mu\text{m}$  zu.

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 6 findet sich in der folgenden Grafik.

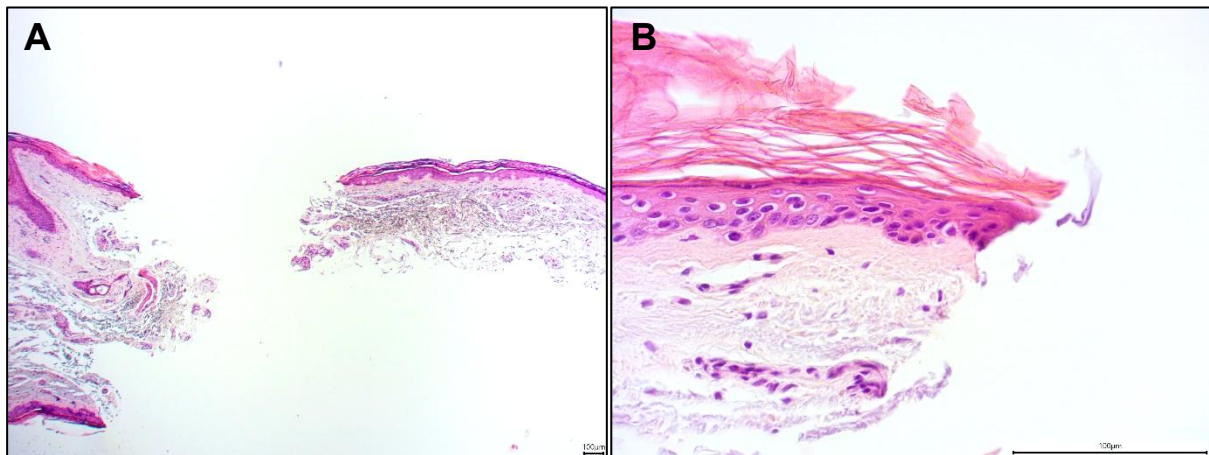


**Abb. 35: KS 5: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis**

Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis und Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

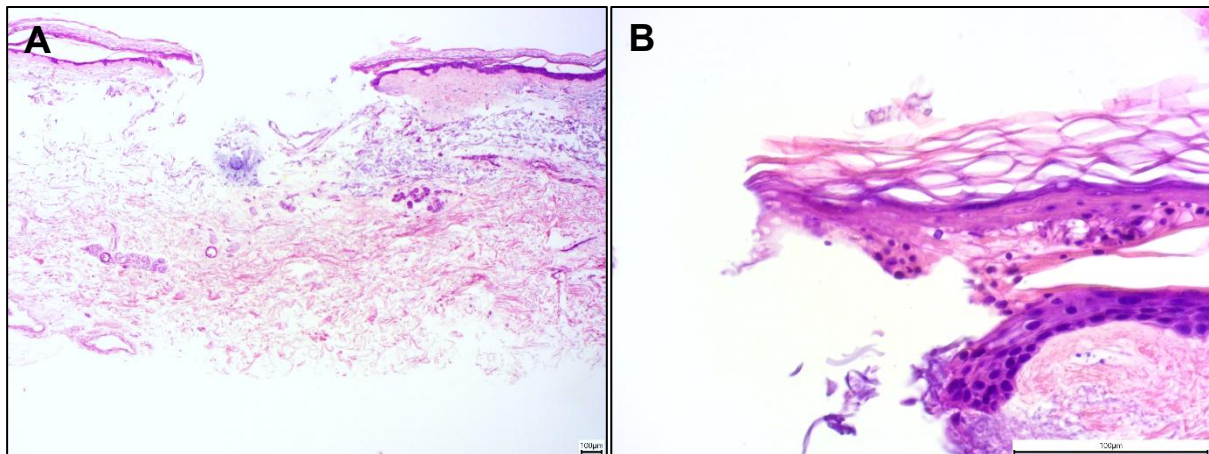


Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



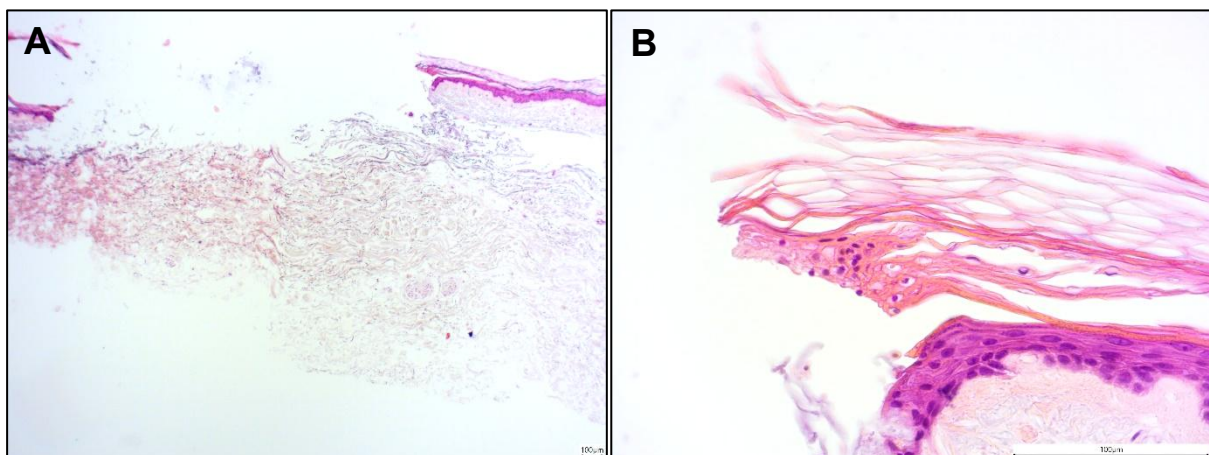
**Abb. 36: Tag 0, Körperspender 5**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 37: Tag 4, Körperspender 5**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 38: Tag 6, Körperspender 5**

**A:** Kutis in 4x-Vergrößerung, **B:** Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.6 Körperspender 6

### 4.6.1 Messung der Schichtdicke

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ).

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	59 $\pm$ 3	59 $\pm$ 3	59 $\pm$ 3
3	107 $\pm$ 7		
6	140 $\pm$ 8	123 $\pm$ 4	199 $\pm$ 10
9	163 $\pm$ 18		
12	171 $\pm$ 14	51 $\pm$ 5	118 $\pm$ 16

Tab. 20: KS 6: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

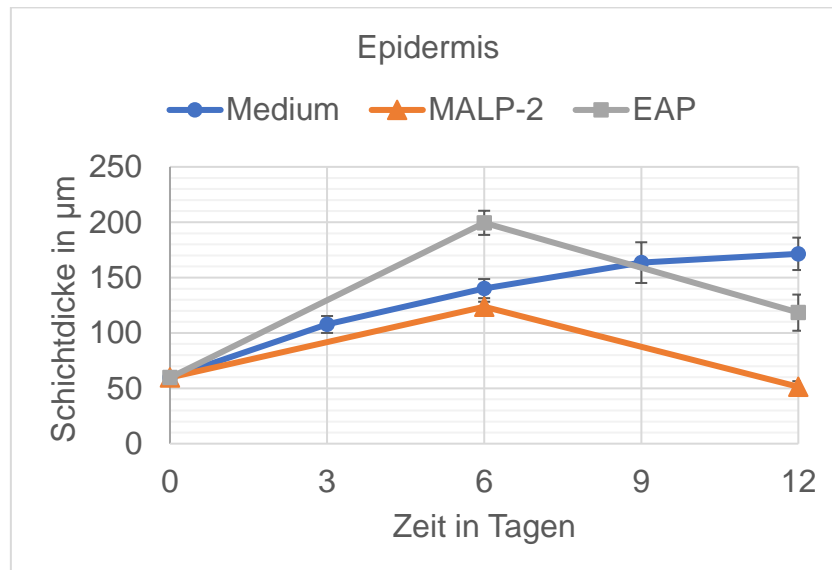
Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	40 $\pm$ 3	40 $\pm$ 3	40 $\pm$ 3
3	71 $\pm$ 5		
6	90 $\pm$ 4	69 $\pm$ 2	139 $\pm$ 7
9	117 $\pm$ 14		
12	131 $\pm$ 12	36 $\pm$ 5	83 $\pm$ 12

Tab. 21: KS 6: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	425 $\pm$ 38	425 $\pm$ 38	425 $\pm$ 38
3	543 $\pm$ 9		
6	386 $\pm$ 14	615 $\pm$ 13	827 $\pm$ 23
9	1304 $\pm$ 44		
12	925 $\pm$ 38	926 $\pm$ 67	777 $\pm$ 57

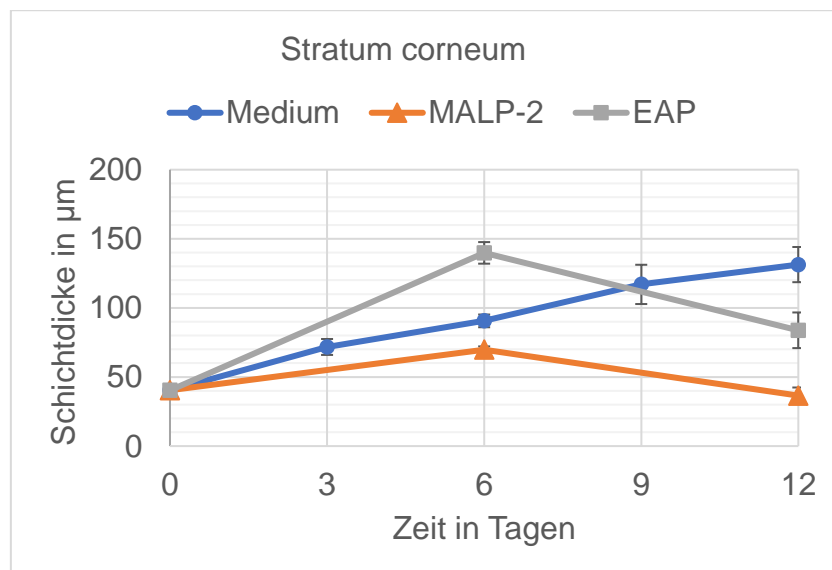
Tab. 22: KS 6: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in den folgenden Grafiken.



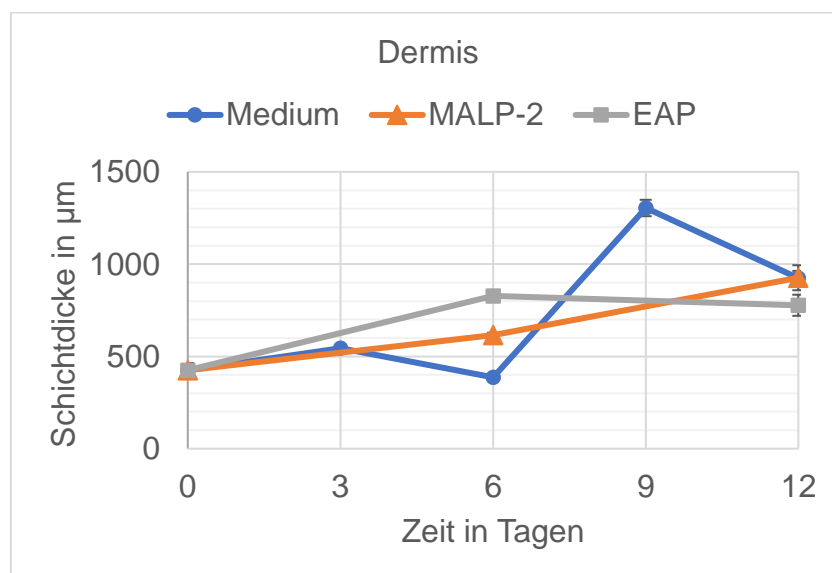
**Abb. 39: KS 6: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 40: KS 6: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum**

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 41: KS 6: Schichtdicke (in µm), Dermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.6.2 Messung des Abstands

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in µm) der Epidermis und Dermis und zeigen die Differenz zum Tag 0. Das Minuszeichen (-) bedeutet, dass eine Auswertung nicht möglich war.

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1311 ± 29	0	860 ± 48	0
3	861 ± 88	-450	668 ± 50	-192
6	1243 ± 6	-68	1083 ± 12	222
9	1067 ± 84	-244	626 ± 48	-234
12	1174 ± 72	-137	585 ± 35	-275

**Tab. 23: KS 6: Abstand (in µm), Medium**

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1311 ± 29	0	860 ± 48	0

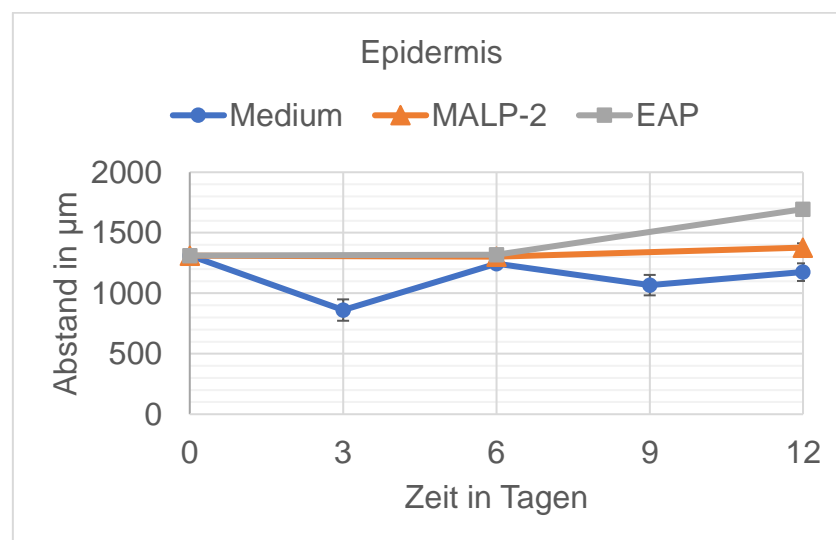
3				
6	1302 ± 25	-9	935 ± 32	75
9				
12	1377 ± 35	65	-	-

Tab. 24: KS 6: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), MALP-2

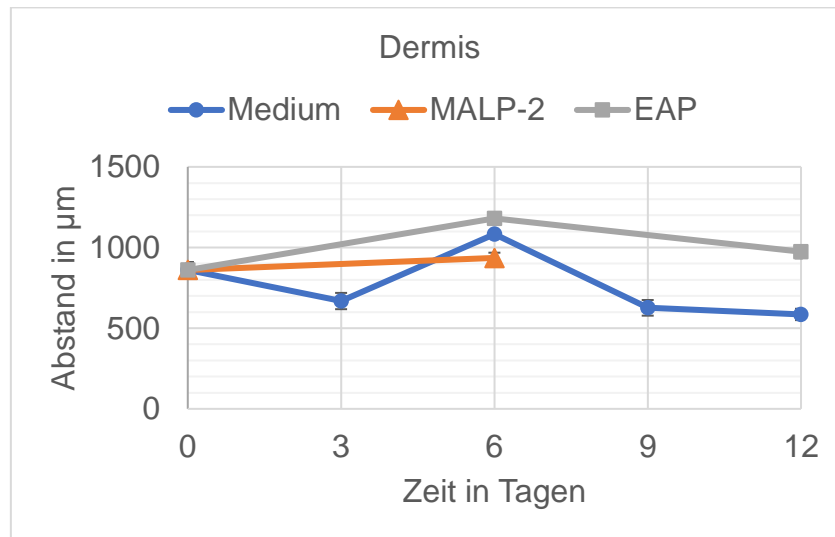
Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	1311 ± 29	0	860 ± 48	0
3				
6	1317 ± 5	5,67	1180 ± 10	320
9				
12	1695 ± 5	383,33	974 ± 40	113

Tab. 25: KS 6: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Eap

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in den folgenden Grafiken.

Abb. 42: KS 6: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

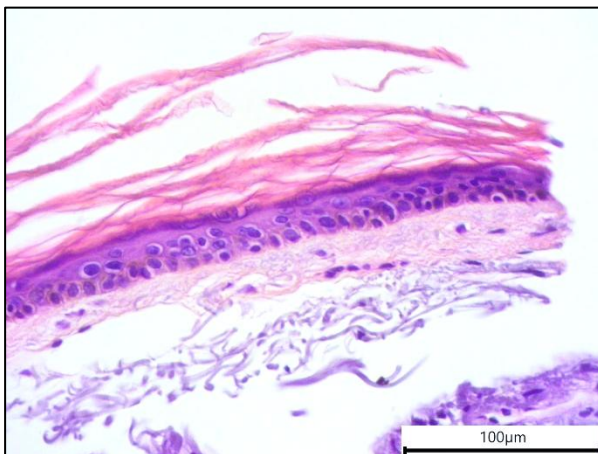
Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



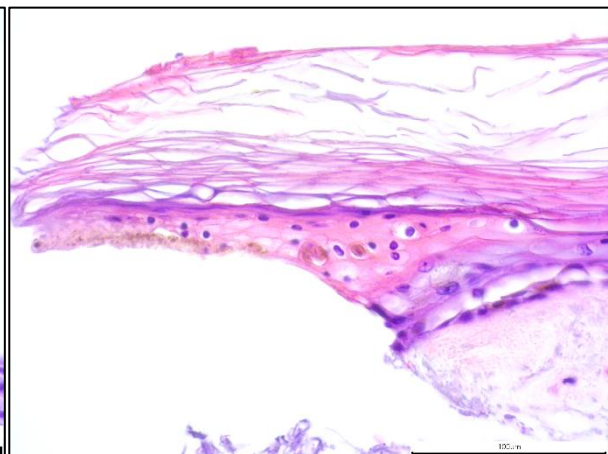
**Abb. 43: KS 6: Abstand (in µm), Dermis**

Der Abstand (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

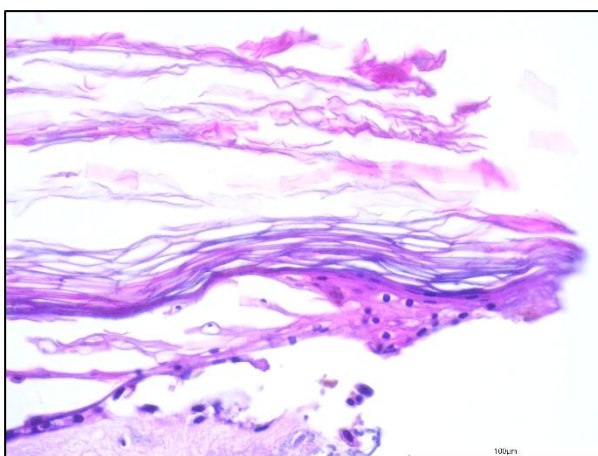
Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



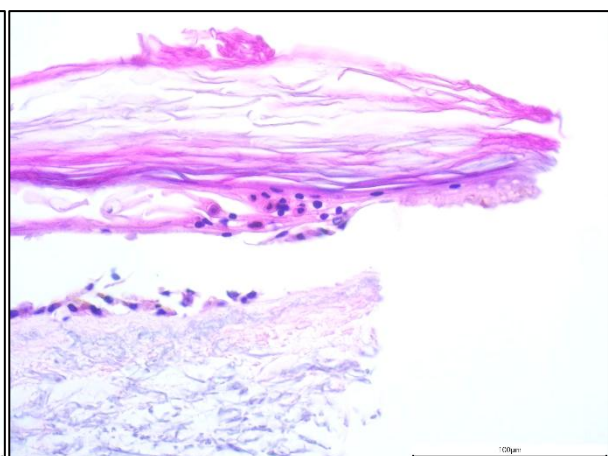
**Abb. 44: KS 6: Tag 0**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



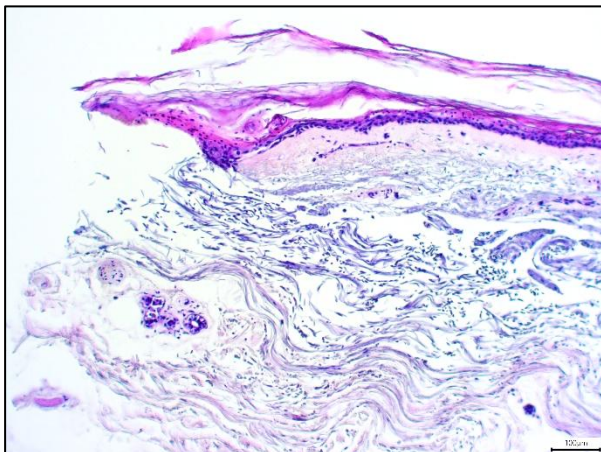
**Abb. 45: KS 6: Tag 3, Medium**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



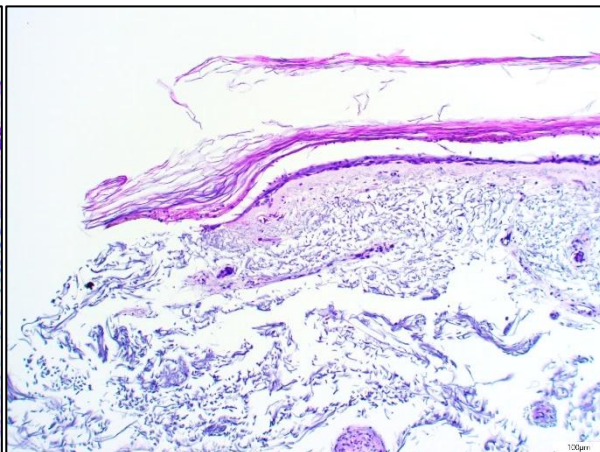
**Abb. 46: KS 6, Tag 6, Medium**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



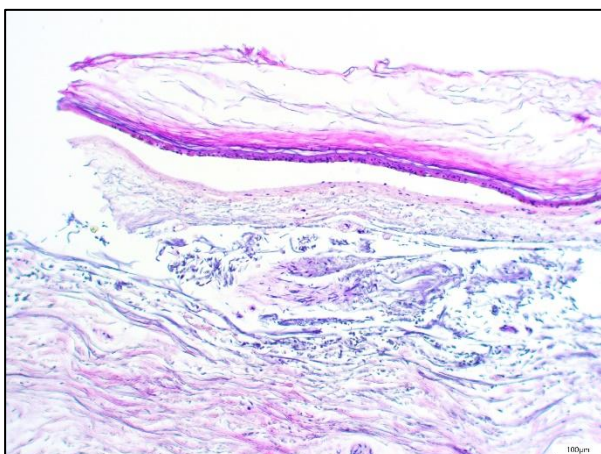
**Abb. 47: KS 6: Tag 6, MALP-2**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



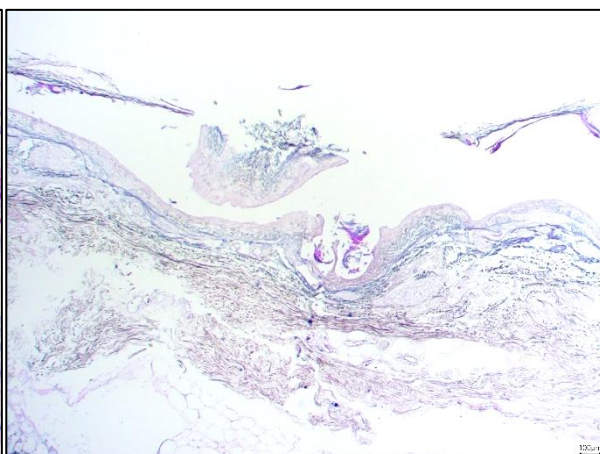
**Abb. 48: KS 6, Tag 6, Eap**  
Epidermis in 10x-Vergrößerung, HE-Färbung



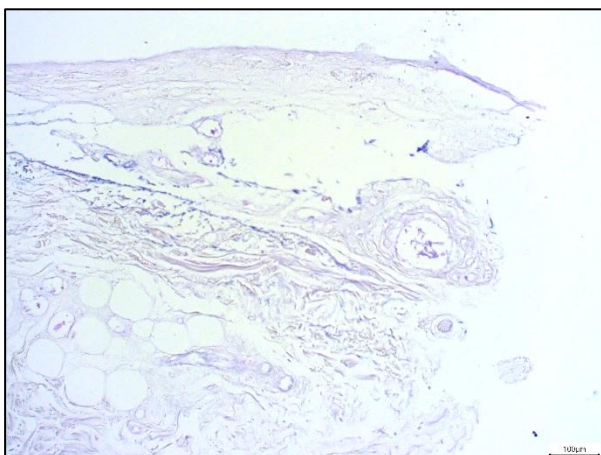
**Abb. 49: KS 6, Tag 9, Medium**  
Epidermis in 10x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 50: KS 6, Tag 12, Medium**  
Epidermis in 10x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 51: KS 6, Tag 12, MALP-2**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 52: KS 6, Tag 12, Eap**  
Epidermis in 10x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.7 Körperspender 7

### 4.7.1 Messung der Schichtdicke

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ). Das Minuszeichen (-) bedeutet, dass eine Auswertung nicht möglich war.

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	37 $\pm$ 1	37 $\pm$ 1	37 $\pm$ 1
3	65 $\pm$ 4		
6	131 $\pm$ 10	92 $\pm$ 6	-
9	-		
12	-	71 $\pm$ 3	61 $\pm$ 7

Tab. 26: KS 7: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	7 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1
3	26 $\pm$ 2		
6	30 $\pm$ 3	17 $\pm$ 1	-
9	-		
12	-	15 $\pm$ 1	28 $\pm$ 1

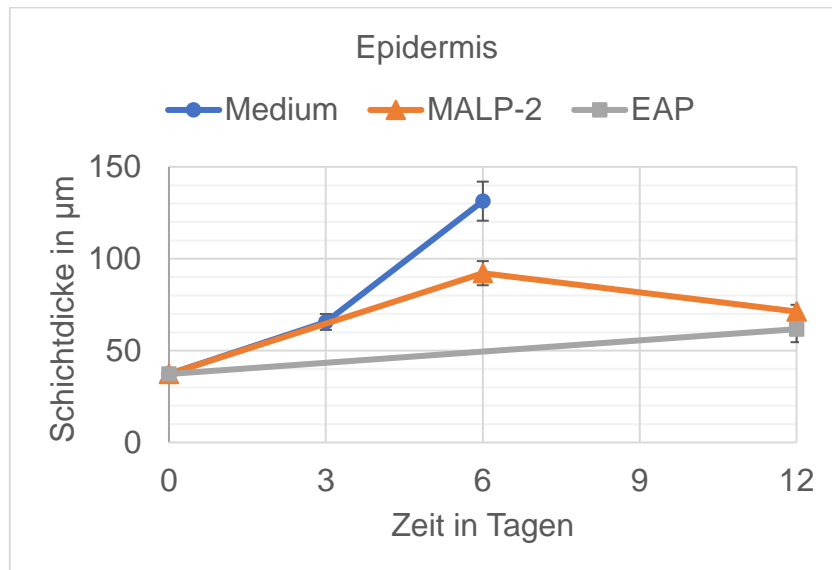
Tab. 27: KS 7: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	1391 $\pm$ 26	1391 $\pm$ 26	1391 $\pm$ 26
3	1800 $\pm$ 22		
6	1391 $\pm$ 29	1598 $\pm$ 32	1513 $\pm$ 35
9	1609 $\pm$ 61		
12	1724 $\pm$ 40	1231 $\pm$ 44	1110 $\pm$ 36

Tab. 28: KS 7: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis

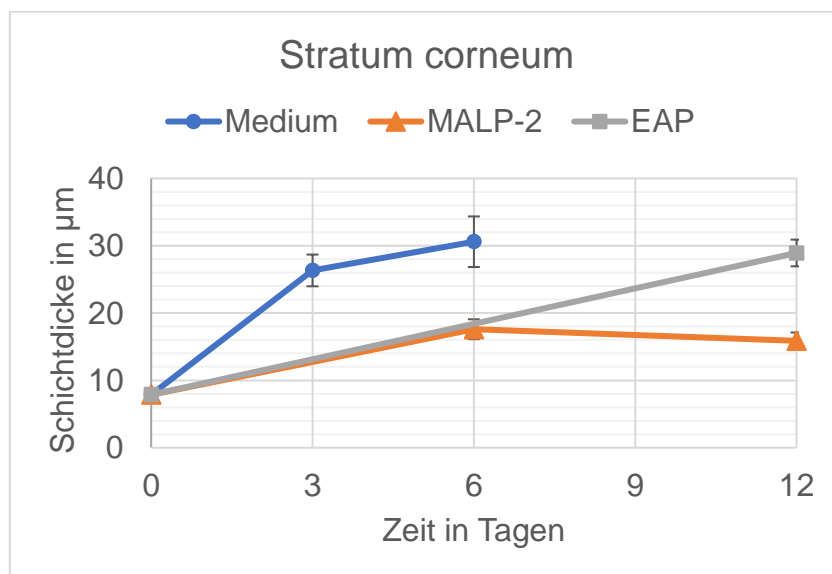
Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in folgenden Grafiken.





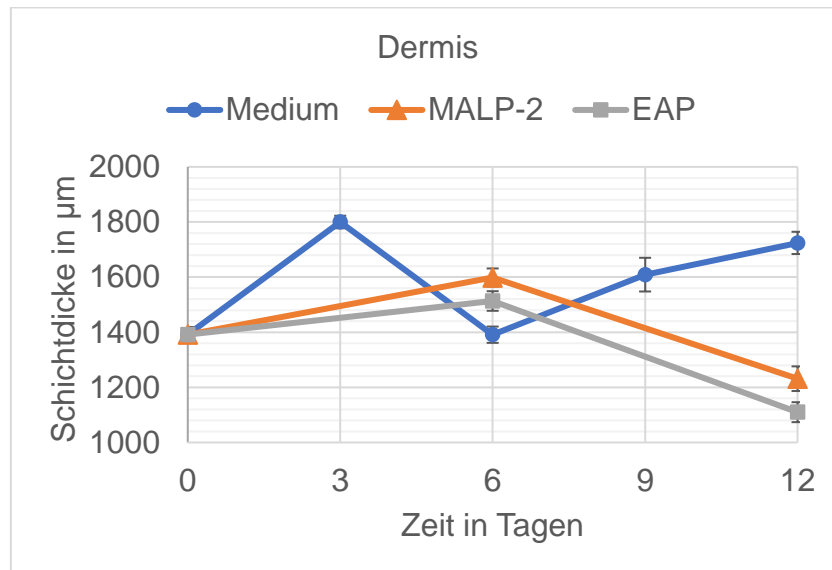
**Abb. 53: KS 7: Schichtdicke (in µm), Epidermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 54: KS 7: Schichtdicke (in µm), Stratum corneum**

Die Schichtdicke (in µm) des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 55: KS 7: Schichtdicke (in µm), Dermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.7.2 Messung des Abstands

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in µm) der Epidermis und Dermis und zeigen die Differenz zum Tag 0. Das Minuszeichen (-) bedeutet, dass eine Auswertung nicht möglich war.

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1092 ± 52	0	770 ± 50	0
3	1597 ± 9	504	1116 ± 36	346
6	1353 ± 7	261	1277 ± 8	507
9	-	-	511 ± 24	-258
12	-	-	988 ± 17	218

**Tab. 29: KS 7: Abstand (in µm), Medium**

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1092 ± 52	0	770	0

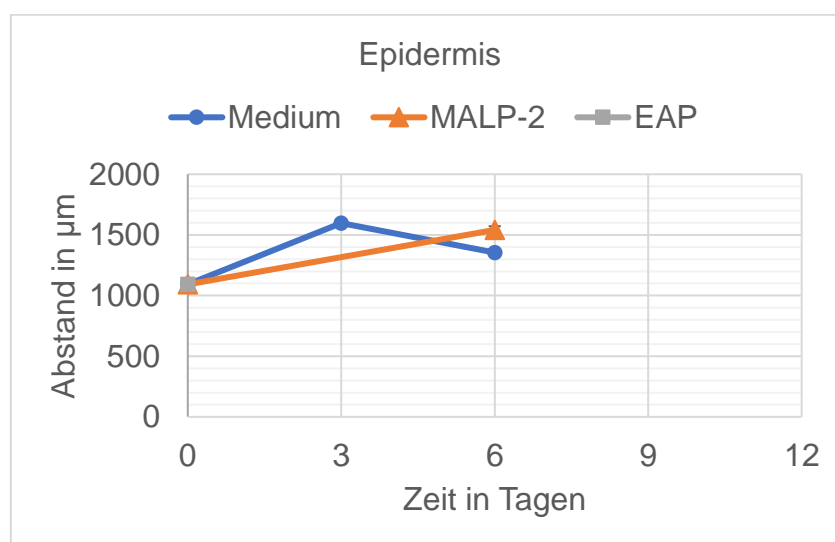
3				
6	1541 ± 30	448	853 ± 45	83
9				
12	-	-	1043 ± 33	273

Tab. 30: KS 7: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), MALP-2

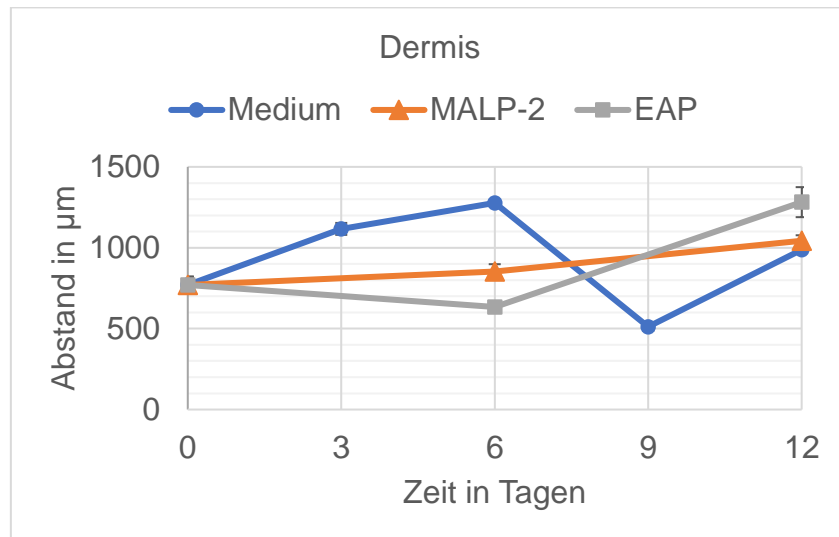
Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	1092 ± 52	0	770 ± 50	0
3				
6	-	-	634 ± 33	-136
9				
12	-	-	1282 ± 92	512

Tab. 31: KS 7: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Eap

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in den folgenden Grafiken.

Abb. 56: KS 7: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

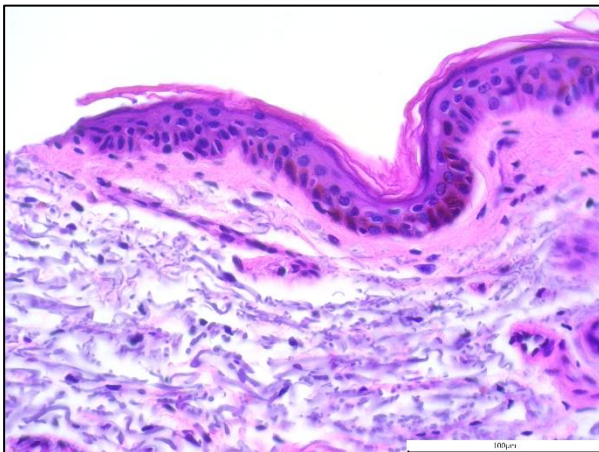
Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



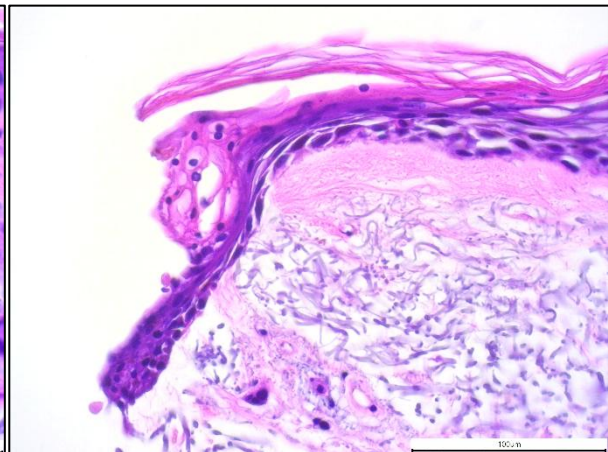
**Abb. 57: KS 7: Abstand (in µm), Dermis**

Der Abstand (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

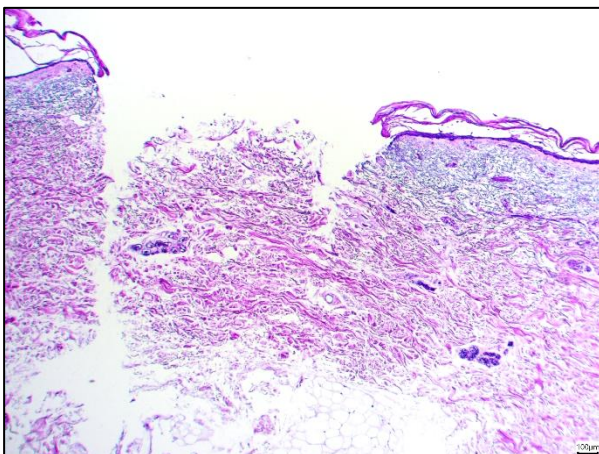
Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



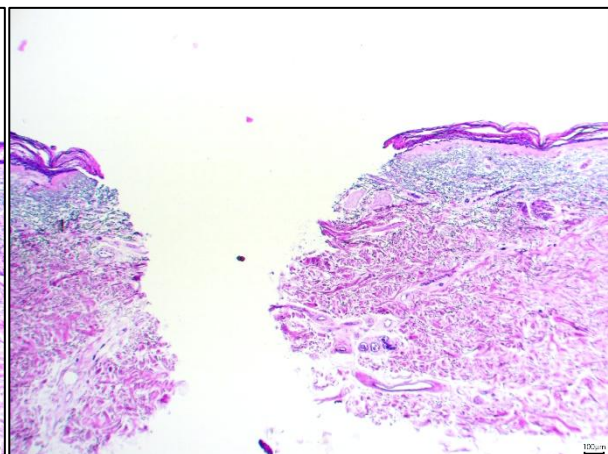
**Abb. 58: KS 7, Tag 0**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



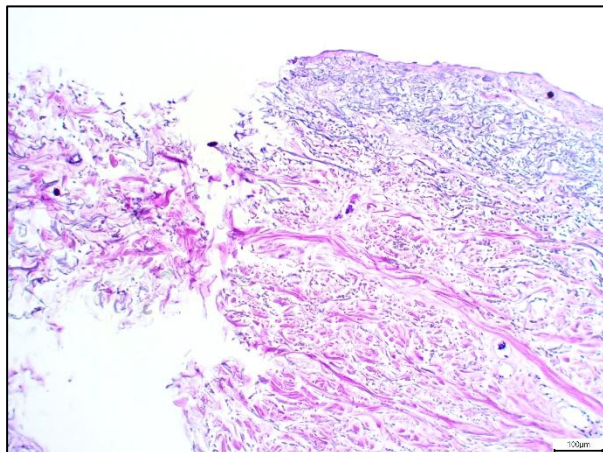
**Abb. 59: KS 7, Tag 3, Medium**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



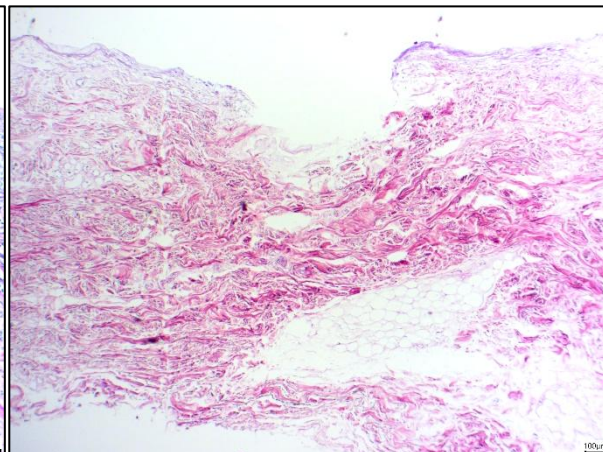
**Abb. 60: KS 7, Tag 6, Medium**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



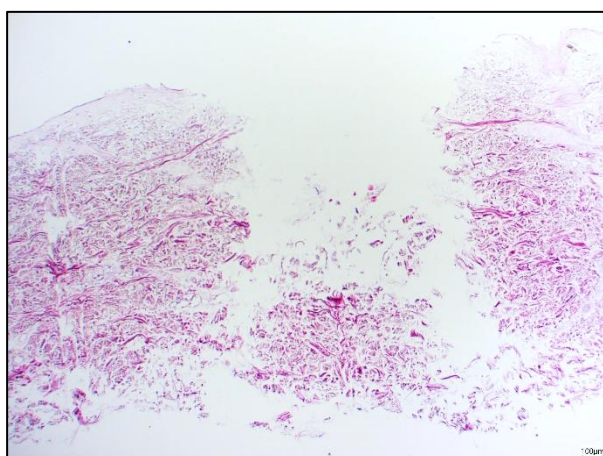
**Abb. 61: KS 7, Tag 6, MALP-2**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



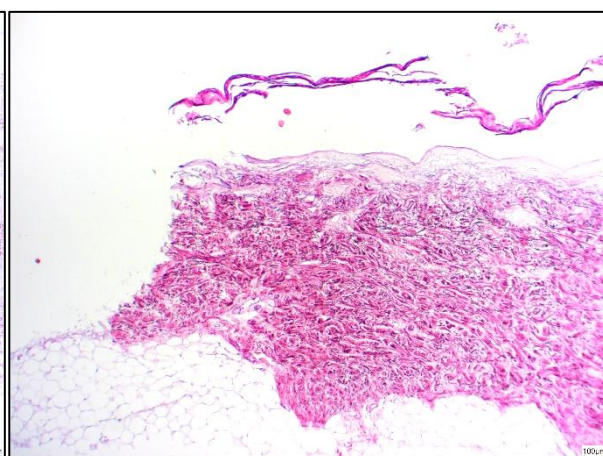
**Abb. 62: KS 7, Tag 6, Eap**  
Kutis in 10x-Vergrößerung, HE-Färbung



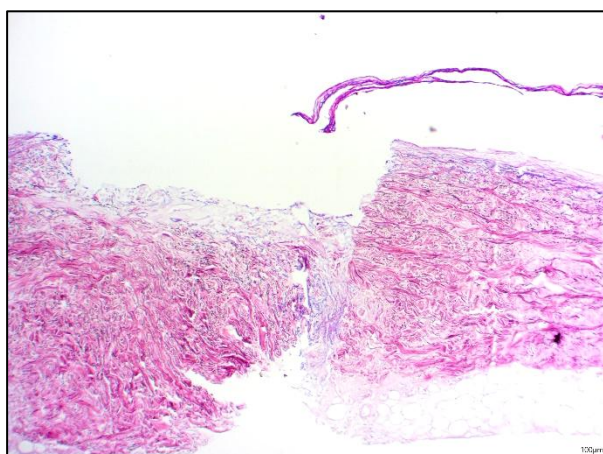
**Abb. 63: KS 7, Tag 9, Medium**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 64: KS 7, Tag 12, Medium**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 65: KS 7, Tag 12, MALP-2**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 66: KS 7, Tag 12, Eap**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.8 Körperspender 8

### 4.8.1 Messung der Schichtdicke

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ). Das Minuszeichen (-) bedeutet, dass eine Auswertung nicht möglich war.

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	187 $\pm$ 53	187 $\pm$ 53	187 $\pm$ 53
3	77 $\pm$ 4		
6	153 $\pm$ 19	99 $\pm$ 7	80 $\pm$ 3
9	-		
12	-	-	-

Tab. 32: KS 8: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

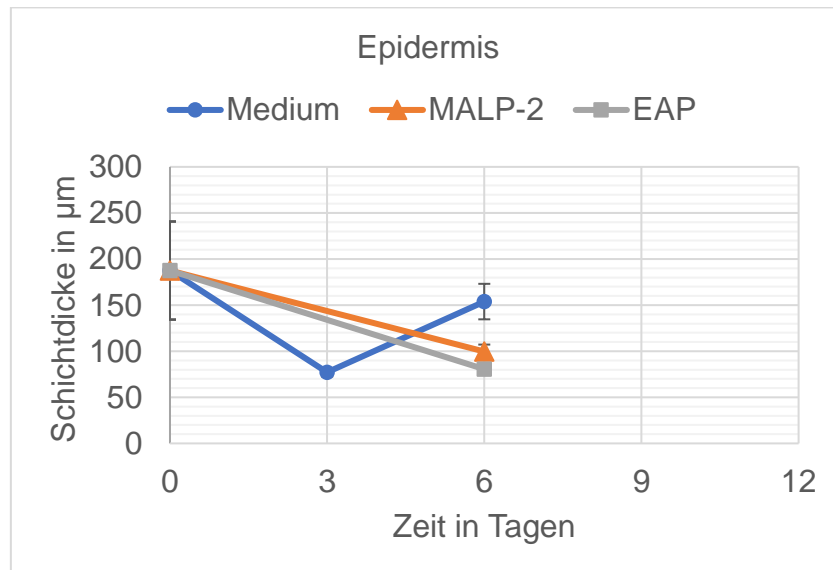
Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	53 $\pm$ 13	53 $\pm$ 13	53 $\pm$ 13
3	43 $\pm$ 1		
6	30 $\pm$ 3	26 $\pm$ 1	21 $\pm$ 3
9	-		
12	-	-	-

Tab. 33: KS 8: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	989 $\pm$ 35	989 $\pm$ 35	989 $\pm$ 35
3	1048 $\pm$ 29		
6	1583 $\pm$ 51	1107 $\pm$ 34	1435 $\pm$ 71
9	1323 $\pm$ 36		
12	1510 $\pm$ 77	1308 $\pm$ 89	1191 $\pm$ 28

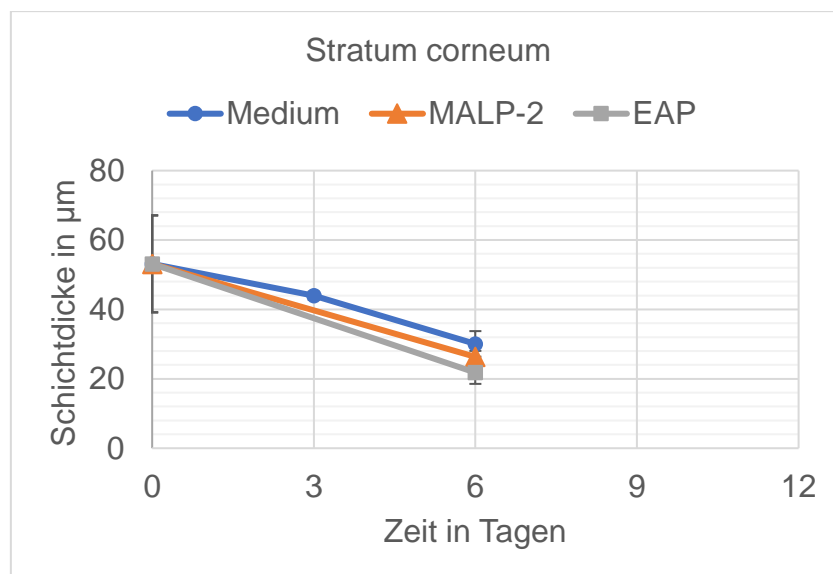
Tab. 34: KS 8: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in folgenden Grafiken.



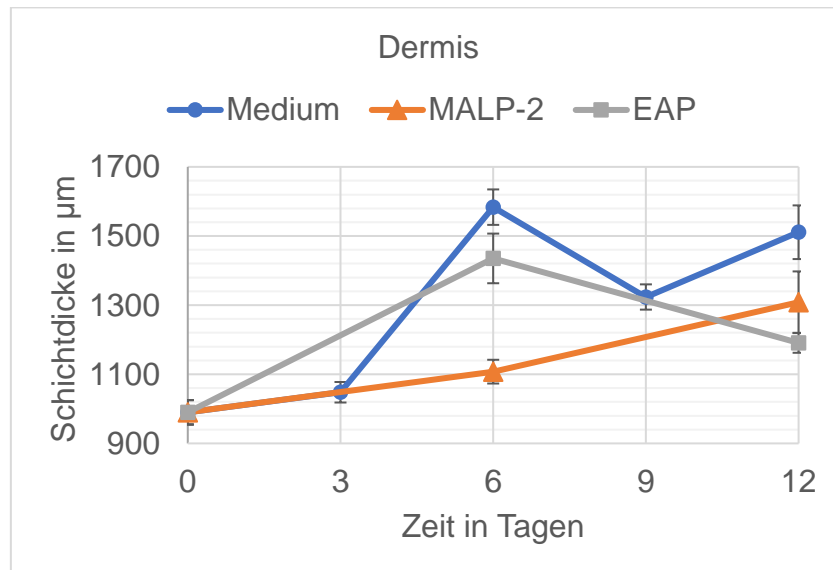
**Abb. 67: KS 8: Schichtdicke (in µm), Epidermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 68: KS 8: Schichtdicke (in µm), Stratum corneum**

Die Schichtdicke (in µm) des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 69: KS 8: Schichtdicke (in µm), Dermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

#### 4.8.2 Messung des Abstands

Die folgenden Tabellen bieten eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in µm) der Epidermis und Dermis und zeigen die Differenz zum Tag 0. Das Minuszeichen (-) bedeutet, dass eine Auswertung nicht möglich war.

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1591 ± 7	0	628 ± 20	0
3	1577 ± 14	-14	1419 ± 17	791
6	1130 ± 78	-461	1155 ± 33	527
9	-	-	866 ± 91	238
12	-	-	1361 ± 30	733

**Tab. 35: KS 8: Abstand (in µm), Medium**

Tag	Epidermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0	Dermis (µm)	Differenz Δ zum Tag 0
0	1591 ± 7	0	628 ± 20	0



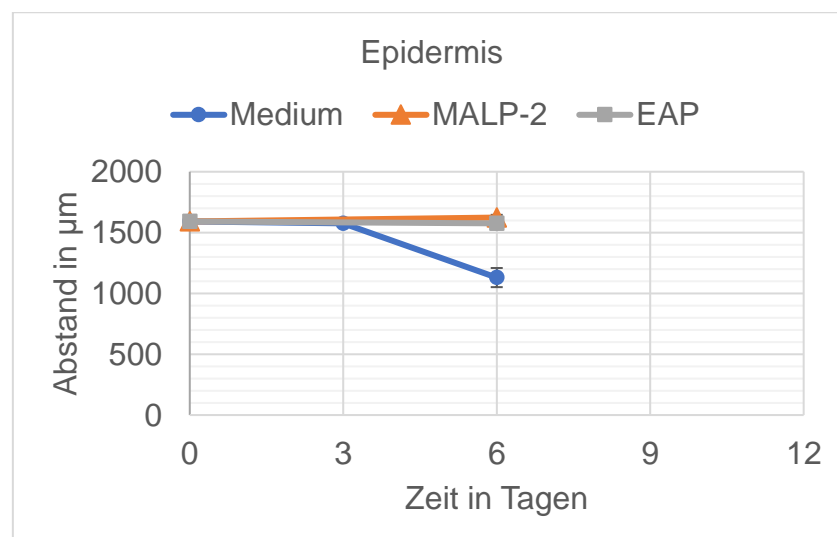
3				
6	1623 ± 22	32	785 ± 45	157
9				
12	-	-	530 ± 65	-98

Tab. 36: KS 8: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), MALP-2

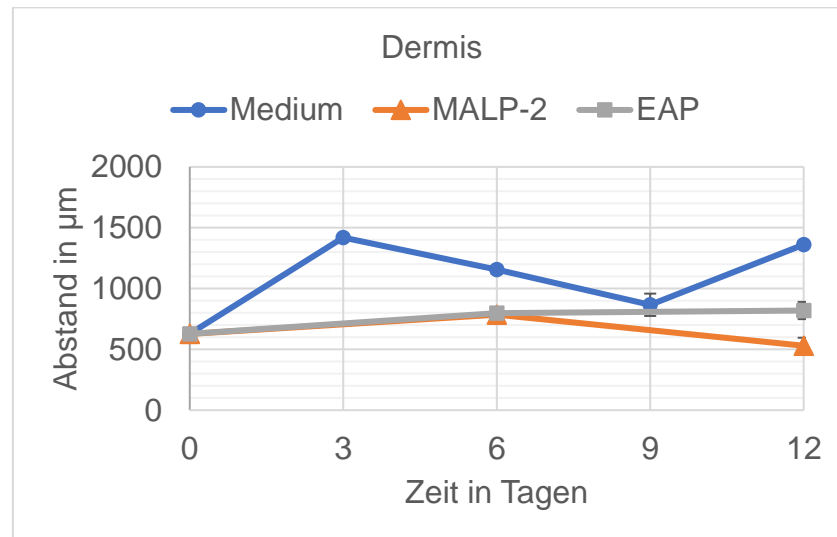
Tag	Epidermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	Dermis ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	1591 ± 7	0	628 ± 20	0
3				
6	1575 ± 48	-15	798 ± 30	170
9				
12	-	-	819 ± 70	191

Tab. 37: KS 8: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Eap

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in den folgenden Grafiken.

Abb. 70: KS 8: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

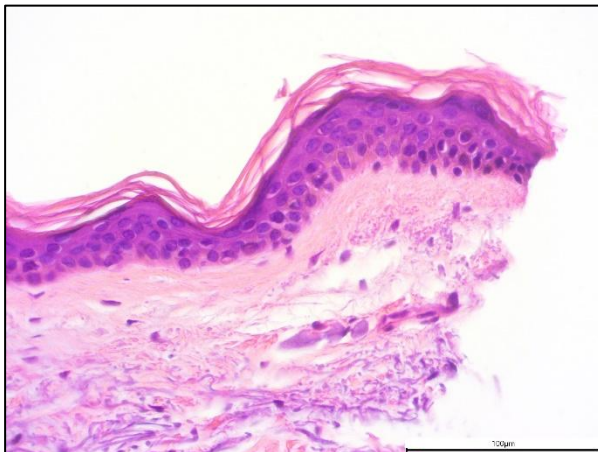
Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



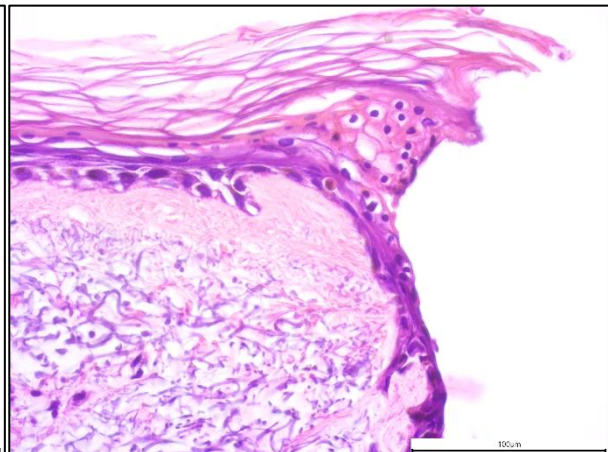
**Abb. 71: KS 8: Abstand (in µm), Dermis**

Der Abstand (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

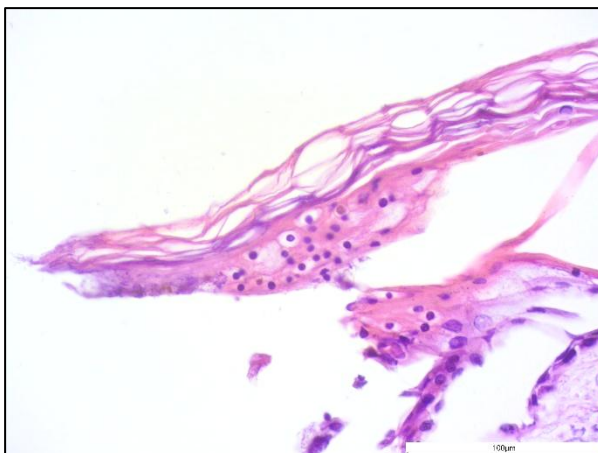
Die beigefügten Bilder veranschaulichen beispielhaft das erzielte Ergebnis.



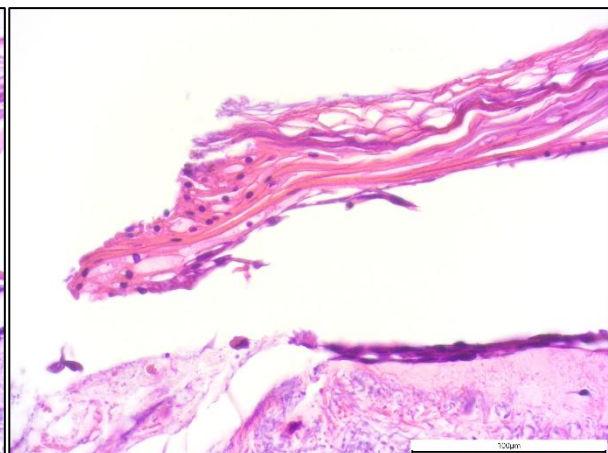
**Abb. 72: KS 8, Tag 0**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



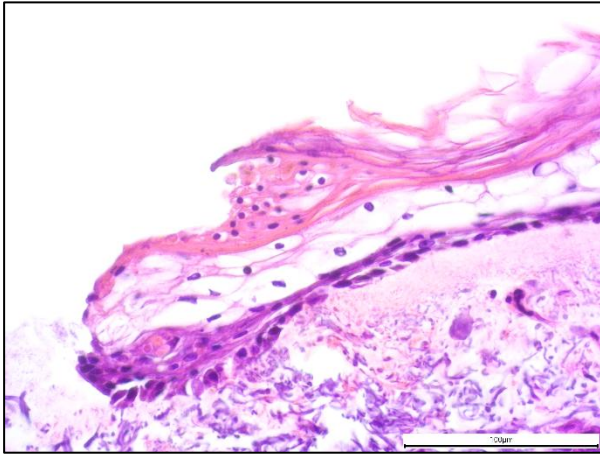
**Abb. 73: KS 8, Tag 3, Medium**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



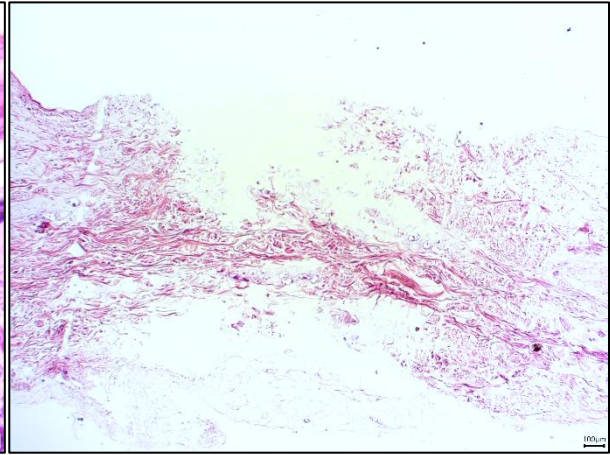
**Abb. 74: KS 8, Tag 6, Medium**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



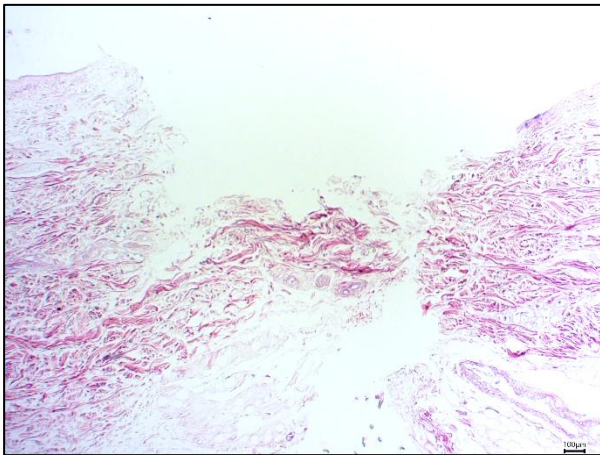
**Abb. 75: KS 8, Tag 6, MALP-2**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



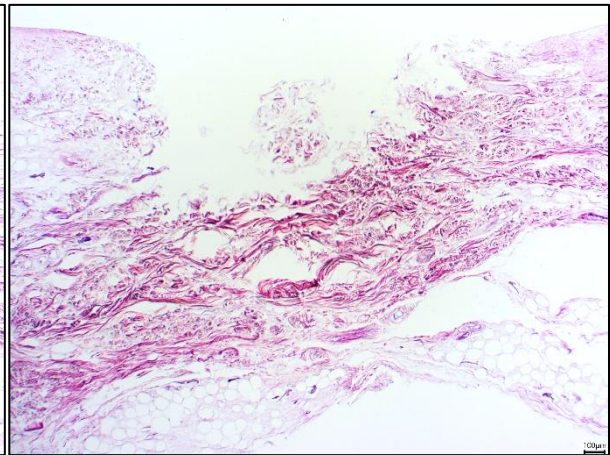
**Abb. 76: KS 8, Tag 6, Eap**  
Epidermis in 40x-Vergrößerung, HE-Färbung



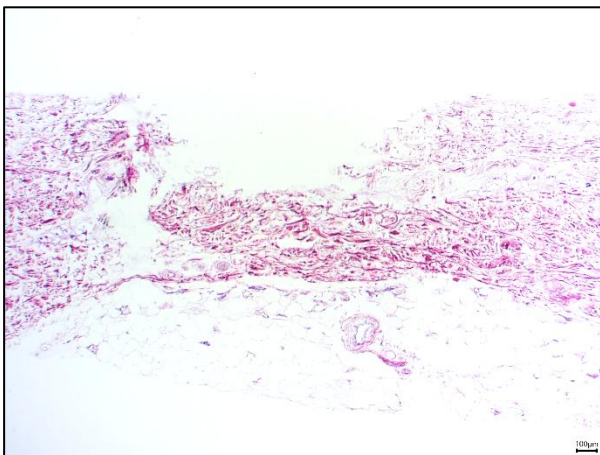
**Abb. 77: KS 8, Tag 9, Medium**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 78: KS 8, Tag 12, Medium**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 79: KS 8, Tag 12, MALP-2**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung



**Abb. 80: KS 8, Tag 12, Eap**  
Kutis in 4x-Vergrößerung, HE-Färbung

## 4.9 Mittelwerte

In diesem Kapitel werden die Mittelwerte von allen Körperspendern zusammengefasst.

### 4.9.1 Messung der Schichtdicke

In den folgenden Tabellen wird eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Schichtdicken (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis gegeben, die bei allen Körperspendern gemessen wurden.

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	77 $\pm$ 3	77 $\pm$ 3	77 $\pm$ 3
2	77 $\pm$ 1		
3	93 $\pm$ 3		
4	80 $\pm$ 2		
6	99 $\pm$ 2	105 $\pm$ 4	140 $\pm$ 12
9	163 $\pm$ 18		
12	171 $\pm$ 14	61 $\pm$ 3	90 $\pm$ 10

Tab. 38: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	30 $\pm$ 1	30 $\pm$ 1	30 $\pm$ 1
2	37 $\pm$ 1		
3	56 $\pm$ 3		
4	41 $\pm$ 2		
6	48 $\pm$ 1	37 $\pm$ 3	80 $\pm$ 11
9	117 $\pm$ 14		
12	131 $\pm$ 12	26 $\pm$ 3	56 $\pm$ 8

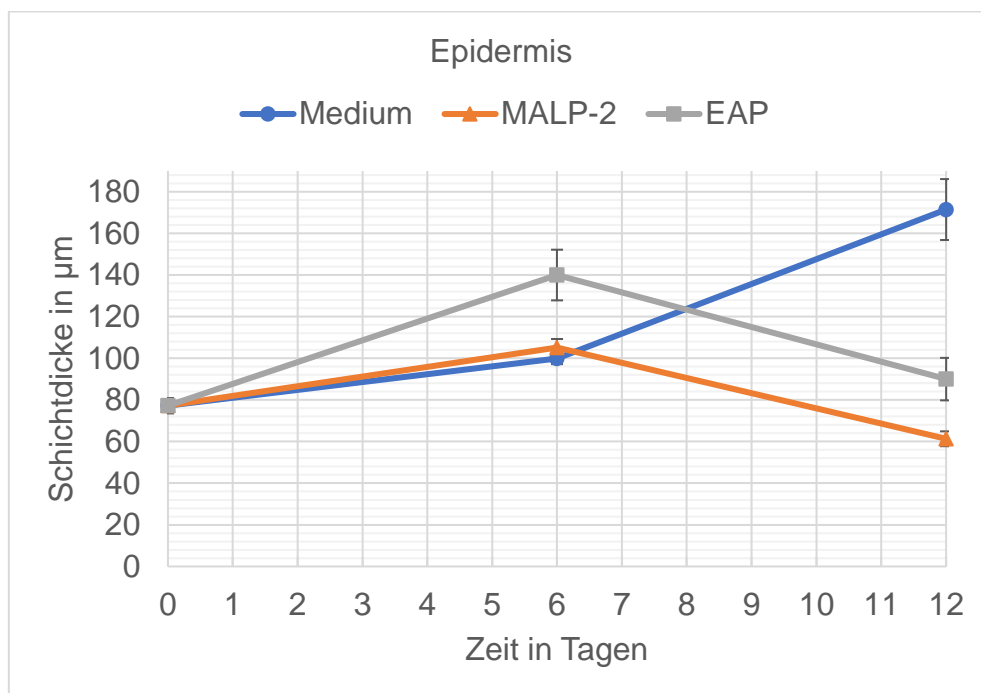
Tab. 39: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	EAP ( $\mu\text{m}$ )
0	913 $\pm$ 35	913 $\pm$ 35	913 $\pm$ 35
2	1126 $\pm$ 29		
3	1110 $\pm$ 43		
4	1415 $\pm$ 25		
6	1070 $\pm$ 26	1107 $\pm$ 62	1258 $\pm$ 53

9	1412 ± 34		
12	1386 ± 59	1155 ± 46	1026 ± 36

Tab. 40: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis

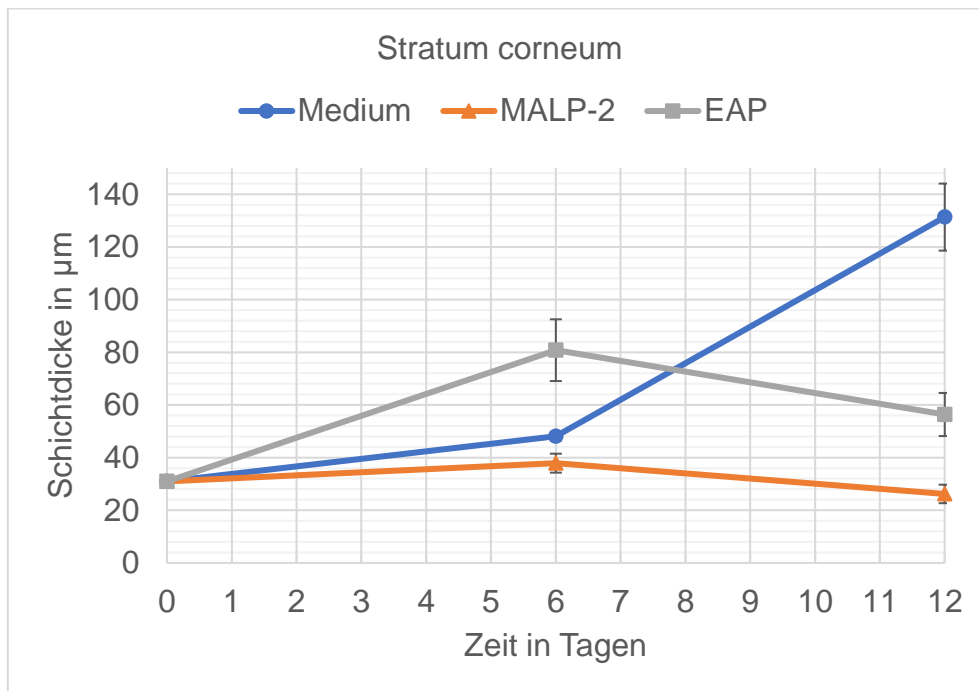
Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis von Tag 0 bis 12 findet sich in der folgenden Grafik. In den folgenden Abbildungen sind nur die Tage 0, 6 und 12 berücksichtigt, weil nur diese Tage auch im Versuchsteil 2 mit MALP-2 und Eap ausgewertet wurden.

Abb. 81: Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

Die Schichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

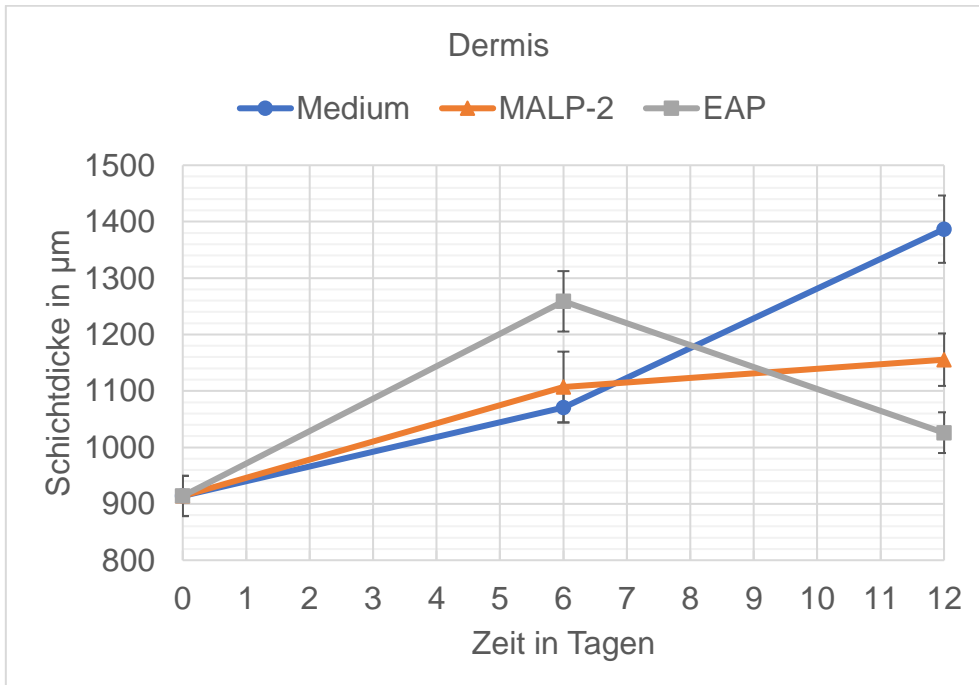
Die Schichtdicke der Epidermis bei den Proben im Medium stieg deutlich nach 6 und 12 Tagen. Bei MALP-2 und Eap war eine Erhöhung der Schichtdicke der Epidermis nach 6 Tagen erkennbar, aber an Tag 12 sanken die Werte. Bei MALP-2 war der Wert an Tag 12 niedriger als an Tag 0 und geringer als beim Medium und bei Eap.

Die Auswertung der Schichtdicke des Stratum corneums lieferte ähnliche Ergebnisse. Beim Medium stieg die Schichtdicke an Tag 6 und 12 (vgl. Abb. 82). Bei MALP-2 und Eap nahmen die Werte nach 6 Tagen zu, sanken aber an Tag 12. Bei MALP-2 war der Wert wieder an Tag 12 geringer als an Tag 0 und niedriger als beim Medium und bei Eap.



**Abb. 82: Schichtdicke (in µm), Stratum corneum**

Die Schichtdicke (in µm) des Stratum corneums wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.



**Abb. 83: Schichtdicke (in µm), Dermis**

Die Schichtdicke (in µm) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

Die Schichtdicke der Dermis bei den Proben im Medium stieg deutlich nach 6 und 12 Tagen (vgl. Abb. 83). Bei MALP-2 und Eap nahmen die Werte nach 6 Tagen zu, jedoch

sanken sie bei Eap an Tag 12. Bei allen 3 Lösungen stieg die Schichtdicke im Vergleich zum Tag 0.

#### 4.9.2 Messung des Abstands

In den folgenden Tabellen findet sich eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler des kleinsten Abstands (in  $\mu\text{m}$ ) zwischen den Wundrändern der Epidermis und Dermis, der bei allen Körperspendern gemessen wurde, und über die Differenz zum Tag 0.

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	EAP ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	1330 $\pm$ 72	0	1330 $\pm$ 72	0	1330 $\pm$ 72	0
2	1199 $\pm$ 51	-130				
3	1453 $\pm$ 71	123				
4	1479 $\pm$ 81	149				
6	1343 $\pm$ 67	13	1488 $\pm$ 53	158	1446 $\pm$ 69	116
9	1067 $\pm$ 146	-263				
12	1174 $\pm$ 126	-155	1377 $\pm$ 61	47	1695 $\pm$ 9	364

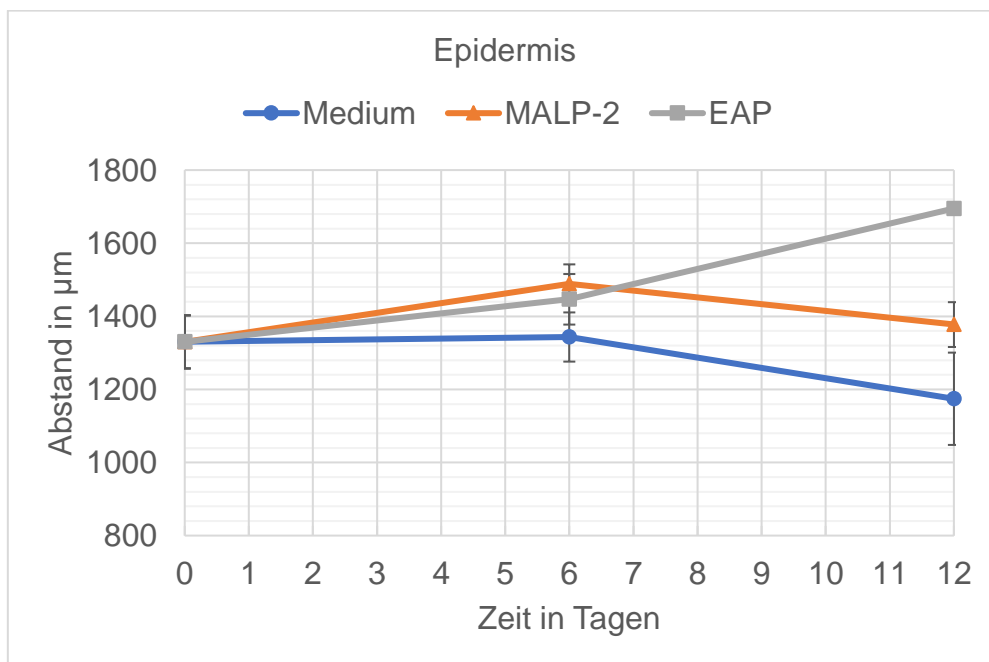
Tab. 41: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis

Tag	Medium ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	MALP-2 ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0	EAP ( $\mu\text{m}$ )	Differenz $\Delta$ zum Tag 0
0	779 $\pm$ 47	0	779 $\pm$ 47	0	779 $\pm$ 47	0
2	818 $\pm$ 50	39				
3	942 $\pm$ 71	163				
4	1053 $\pm$ 68	273				
6	1086 $\pm$ 63	307	858 $\pm$ 42	78	871 $\pm$ 84	91

9	668 ± 129	-111				
12	978 ± 198	199	786 ± 128	7	1025 ±	245
					91	

**Tab. 42: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis**

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler der Epidermis und Dermis von Tag 0 bis 12 bieten die folgenden Grafiken. In den Abbildungen sind nur die Tage 0, 6 und 12 berücksichtigt, weil nur diese Tage auch im Versuchsteil 2 mit MALP-2 und Eap ausgewertet wurden.

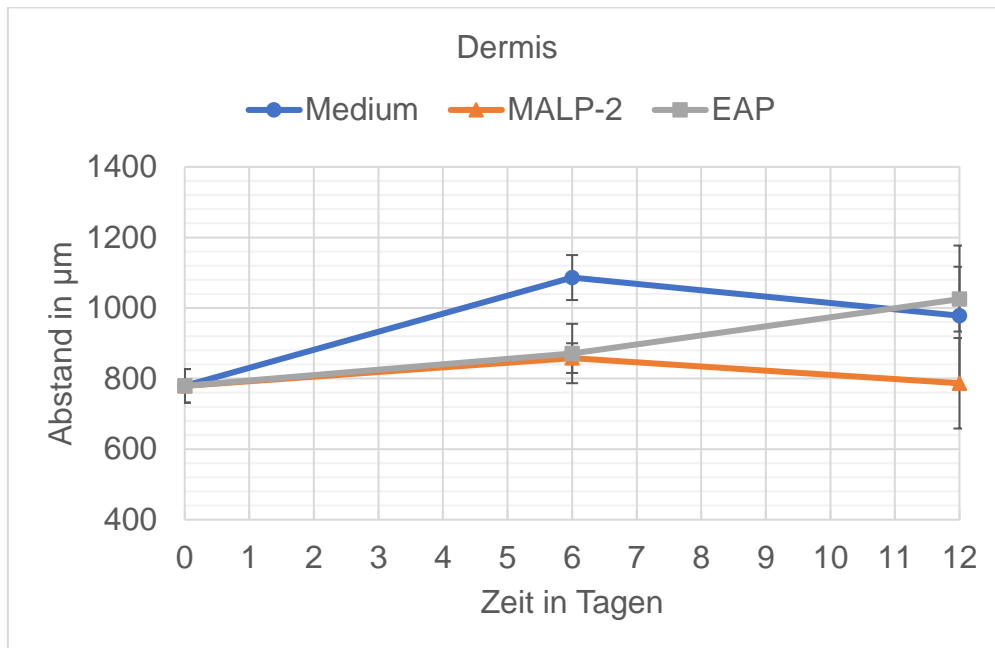


**Abb. 84: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Epidermis**

Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Epidermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

Die Auswertung des kleinsten Abstands zwischen den Wundrändern der Epidermis hat beim Medium, bei MALP-2 und bei EAP an Tag 6 eine Zunahme gezeigt. Diese Werte sanken an Tag 12 beim Medium und bei MALP-2, was auf eine Verkleinerung der Wunde hindeuten konnte.





**Abb. 85: Abstand (in  $\mu\text{m}$ ), Dermis**

Der Abstand (in  $\mu\text{m}$ ) der Dermis wurde in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) untersucht. Gezeigt sind die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern.

Bei den Messungen des kleinsten Abstands bei der Dermis wurde festgestellt, dass es in allen Lösungen zu einer Zunahme des Abstands kam. Die geringste Steigerung wurde bei MALP-2 beobachtet, was auf eine Tendenz zur Wundschließung hindeuten konnte.

## 5. Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methoden

In diesem Kapitel werden die angewandten Methoden kritisch hinterfragt und Limitationen sowie mögliche Verbesserungsvorschläge werden diskutiert.

Für die Untersuchung der Wundheilung benutzen die meisten Forschungsgruppen Tiermodelle. Die Forschung von MALP-2 und Eap in menschlichen Geweben war jedoch bislang unzureichend untersucht. Studien an Körperspendern liefern direkte relevante Informationen über die menschliche Biologie und über Krankheitsprozesse. Diese Erkenntnisse können in den praktischen Anwendungen für die menschliche Gesundheit umgesetzt werden. Seit 2009 ist die Verwendung von Tieren zur Erhebung toxikologischer Daten für kosmetische Inhaltsstoffe in der Europäischen Union verboten (Van Gele et al., 2011). Durch die Verwendung von Körperspendern werden die ethischen Probleme, die Tierversuche mit sich bringen, vermieden, sodass es sich um einen akzeptableren Ansatz handelt (Crueltyfreeinternational.org). Darüber hinaus können die Forschungsmethoden mit menschlichen Proben kostengünstiger und schneller sein (Stone, 2012). Allerdings bieten Tiermodelle (Mäuse, Kaninchen oder Fledermäuse) zahlreiche Vorteile wie die intakte Mikrozirkulation, die in der Wundheilung essenziell ist und die Versuche über einen längeren Zeitraum ermöglicht.

Hirel und Kollegen untersuchten die Lebensfähigkeit und Proliferation kultivierter menschlicher Keratinozyten, die aus der postmortalen Haut gewonnen wurden (Hirel et al., 1996). Es wurden sonnenexponierte (äußere) und sonnengeschützte (innere) Stellen des Oberarms miteinander verglichen (Hirel et al., 1996). Das postmortale Intervall betrug 24 Stunden – wie in der vorliegenden Arbeit. Die sonnengeschützten Stellen zeigten im Vergleich zu den sonnenexponierten Bereichen eine höhere Lebensfähigkeit und Proliferation (Hirel et al., 1996). Darüber hinaus wurde herausgefunden, dass die postmortale Haut eine alternative Quelle für lebens- und funktionsfähige Epidermiszellen darstellen kann (Hirel et al., 1996). Diese Erkenntnisse wurden auch mit der vorliegenden Arbeit bestätigt.

Der Nachteil dieses Modells ist allerdings das eingeschränkte postmortale Intervall. Für die Experimente wurden Hautproben von der Innenseite des Unterarms mit einem postmortalen Intervall von bis zu 24 Stunden verwendet. Aufgrund dieses festen Intervalls war die Zeit zwischen der Probenentnahme und der Inkubation eingeschränkt

und deshalb sollte die Probenentnahme möglichst schnell erfolgen. Außerdem eignete sich aufgrund dieser Schwerpunktsetzung nur eine geringe Anzahl an Körperspendern für die Probenentnahme und die Messungen.

Am Anfang musste die geeignete Stelle für die Entnahme der Hautproben gefunden werden, weshalb Proben von verschiedenen Körperstellen getestet wurden. Es wurden Proben von der Stirn, vom Rücken, vom Thorax und vom Unterarm eines bereits fixierten Körperspenders entnommen. Aus diesen Testproben zeigten die Hautproben aus dem Unterarm aufgrund der Hautdicke die besten Ergebnisse beim Schneiden und Färben. Die Stelle war zudem bei den Körperspendern problemlos zu erreichen und dadurch wurde auch der Prozess der Probenentnahme beschleunigt.

Forscher haben bereits Stanzbiopsien an postmortalen Hautproben verwendet, um verschiedene Aspekte zu untersuchen, beispielsweise die Wundheilung (Deiters et al., 2004; Niebuhr et al., 2008). Stanzbiopsien ermöglichen eine kontrollierte Entnahme und einen Gewinn von einheitlichen Hautproben im Vergleich zu anderen Methoden wie Rasierbiopsien.

In dieser Pilotstudie wurden Stanzbiopsien verwendet, um Hautproben mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Wunde in der Mitte mit einem Durchmesser von 2 mm zu gewinnen. Diese Methode ermöglichte die Messung und Beurteilung des kleinsten Abstands der Wundränder. Es wurden Proben beurteilt, die sich ungefähr in der Mitte der Wunde befanden. Während des Schneidens der Proben mit dem Mikrotom war es nicht möglich, die genau Mitte zu bestimmen, weil nicht alle Schnitte zur weiteren Bearbeitung einsetzbar waren. Das stellte eine Herausforderung bei dieser Methode dar. Deshalb wurden für die Messungen die Proben mit dem größten Durchmesser der Wunde verwendet. In zukünftigen Forschungsarbeiten wäre es sinnvoll, die Mitte der Wunden zum Beispiel mithilfe einer Tätowierung so zu markieren, dass sie während des Schneidens erkennbar ist.

Das Modell *Punch within a Punch* (Stanze in Stanze) wurde in der Studie von Moll und Kollegen verwendet. Sie haben die Wundheilung durch transplantierte Keratinozyten im Zellkulturmedium beschleunigt (Moll et al., 1998). Weiterhin wurde das Modell zur Untersuchung der Reepithelialisierung von menschlicher Haut und Froschhaut durch Thyreotropin-Releasing-Hormon (TRH) eingesetzt (Meier et al., 2013). Trotz der positiven Ergebnisse in diesen Studien kann das Fehlen des Wundgrundes, der eine

bedeutsame Rolle bei der sekundären Wundheilung spielt und die Heilung der Wunde vom Wundgrund aufwärts ermöglicht, bei diesem Modell kritisiert werden. Deshalb kann bei weiteren Forschungsansätzen der Wundboden in den Schnitten belassen werden. So wird die physiologische Wundheilung genauer dargestellt.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die postmortale Wundheilung wurde bereits in tierischen und menschlichen Geweben untersucht. Die Forscher beobachteten den Einfluss verschiedener Faktoren wie Zytokine, Wachstumsfaktoren und Proteasen auf den Heilungsprozess von Wunden. In diesem Zusammenhang wurden auch die Wirkungen von MALP-2 und Eap auf die Wundheilung gezeigt. In dieser Arbeit wurde erstmalig die Anwendbarkeit des in vitro Punch-within-a-Punch-Modells bei postmortaler menschlicher Haut mit MALP-2 und Eap untersucht. Dazu wurden die Hautproben bis zu 12 Tage unter Zusatz von MALP-2 und Eap kultiviert. Es folgten die Messungen der Schichtdicke der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis sowie des kleinsten Abstands der Wundränder der Epidermis und Dermis.

Die Ergebnisse bestätigen, dass das Modell zum Nachweis der Wundheilung angewendet werden kann. Ein deutlicher Hinweis darauf ist die Proliferation der Keratinozyten, die auf den mikroskopischen Bildern bei allen Körperspendern erkennbar war. Die Reepithelialisierung wurde in Form von epithelialen Zungen (Engl. *Epithelial Tongues*) erkennbar, die auch Meier und Kollegen in ihrer Arbeit beschreiben (Meier et al., 2013). Dabei handelt es sich um ein neu gebildetes Gewebe, das vom Wundrand ausgeht. Die meisten Messungen (außer die von Tag 12 bei Epidermis und Stratum corneum bei MALP-2) zeigten, dass es unter allen Kulturbedingungen im Vergleich zum Tag 0 zu einer Zunahme der Schichtdicke gekommen war. Diese Erkenntnisse werden auch durch die mikroskopischen Bilder gestützt. Mit steigender Kulturdauer ist auf den Bildern eine Zunahme der Länge der epithelialen Zungen erkennbar. Der Anstieg der Schichtdicke kann auf die Proliferation der Zellen hindeuten, die über die Kulturdauer zunimmt.

Die Senkungen der Werte am Tag 12 bei MALP-2 und Eap sind durch wenige auswertbare Proben verursacht. Die Epidermis löste sich ab Tag 6 bei vielen Proben ab und deshalb wurden diese Proben nicht miteinbezogen. Diese Erkenntnisse deuten darauf

hin, dass die Anwendung des Modells ab dem sechsten Tag nicht mehr sinnvoll ist. Außerdem sind zur Verifizierung der Ergebnisse weitere Untersuchungen mit mehreren Proben notwendig.

Bei den meisten Abstandsmessungen wurde eine Zunahme des Abstands zwischen den Wundrändern unter allen Kulturbedingungen festgestellt. Durch diese Ergebnisse konnte nicht eindeutig auf einen Wundverschluss, der im Idealfall beim Medium und bei MALP-2 zu erwarten war, zurückgeschlossen werden. Die Zunahme des Abstands ist möglicherweise auf die Kontraktion der elastischen Fasern in den Hautproben oder auf ein Aufquellen des Gewebes in den Lösungen zurückzuführen. Die Abweichungen der Messungen von dem erwarteten Ergebnis können auch auf Ungenauigkeiten der Methoden hindeuten. Allerdings wurde bei den Messungen des kleinsten Abstands bei der Dermis die geringste Zunahme bei MALP-2 beobachtet und damit kann das auf eine Tendenz zur Wundschließung hindeuten.

Die Untersuchungen unter Zusatz von MALP-2 zeigten, dass es zu einer Erhöhung der Schichtdicke der Hautproben gekommen war. Die Messungen der Dermis waren genauer, weil sich die Epidermis ab dem sechsten Tag ablöste. Dadurch waren Messungen an diesen Proben nicht möglich. Bei der Bestimmung des kleinsten Abstands der Wundränder wurde bei MALP-2 ebenfalls eine Zunahme beobachtet. Deswegen war ein eindeutiger Wundverschluss bei MALP-2 nicht feststellbar. Jedoch war die Proliferation von Keratinozyten durch die Erhöhung der Schichtdicke erkennbar. Die histologischen Bilder lieferten einen weiteren Informationsgewinn bezüglich der Reepithelialisierung in Form von neu gebildeten epithelialen Zungen.

In der Vergangenheit wurde bereits nachgewiesen, dass MALP-2 die Wundheilung bei Mäusen mit Diabetes und Adipositas beschleunigt (Deiters et al., 2004). Die Studie von Niebuhr und Kollegen hat die Verträglichkeit von MALP-2 bei Menschen bis zu einer Dosis von 1 µg bestätigt. Diese Erkenntnisse können auf seine potenzielle Wirksamkeit bei der Heilung chronischer Wunden wie Beingeschwüre, Druckgeschwüre und diabetische Fußgeschwüre hindeuten (Niebuhr et al., 2008). Die positive Wirkung von MALP-2 wurde auch bei der Gefäß- und Knochenheilung herausgefunden (Liao et al., 2023). Grote und Kollegen haben in ihrer Studie die Reendothelialisierung nach einer Gefäßverletzung der Arteria carotis communis untersucht. Die Neubildung von Endothel wurde durch MALP-2 beschleunigt und die Injektion von MALP-2 verhinderte die Bildung von Neointima (Grote et al., 2013). Die Wirkung von MALP-2 wurde auch

im Zusammenhang mit Medpor bei Mäusen untersucht. Dabei handelt es sich um ein poröses Polyethylen, das als alloplastisches Material bei Rekonstruktionen in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie verwendet wird. Das MALP-2 stimulierte effektiv die Vaskularisation von Medpor-Implantaten (Laschke et al., 2014). Dementsprechend war zu erwarten, dass das Biomaterial schneller an der Implantationsstelle einbindet (Laschke et al., 2014).

Ein abweichendes Ergebnis haben Fritz und Kollegen erzielt. In ihrer Studie wurde MALP-2 topisch bei Mäusen mit partiellen Sehnenverletzungen angewendet. Es wurde festgestellt, dass MALP-2 die Heilung der verletzten Sehnen verzögert. Das wurde mit einem erhöhten intrazellulären Stress und einer unterdrückten Zellproliferation begründet (Fritz et al., 2022).

Die Ergebnisse der Messungen unter Zusatz von Eap zeigten, dass es zu einer Zunahme der Schichtdicke kam. Allerdings sanken die Werte nach Tag 6, was auf eine hemmende Wirkung hindeuten könnte. Die Messungen des Abstands haben ebenfalls erhöhte Werte geliefert. Im Vergleich zu MALP-2 und Medium waren jedoch die Werte des Abstands am Tag 12 bei Eap am höchsten. Das kann wieder auf eine Tendenz zur Hemmung der Wundheilung hindeuten.

Laut der bisherigen Forschung verlangsamt Eap die Wundheilung, was häufig bei chronisch mit *S. aureus* infizierten Wunden oder Ulcera beobachtet wurde (Madsen et al., 1996; Grimbale et al., 2001). Außerdem stört Eap die Abwehr- und Reparaturmechanismen des Wirts und dadurch auch die Wundheilung (Athanasopoulos et al., 2006). Mithilfe von Studien an Mäusen wurde nachgewiesen, dass Eap den Blutfluss in infizierten Wunden um 40 bis 50 % reduziert, was auf eine antiangiogenetische Wirkung hinweist (Athanasopoulos et al., 2006). Mäuse, die mit *S. aureus* ohne Map (Eap) infiziert waren, zeigten eine geringere Tendenz zu Arthritis, Osteomyelitis und Abszessen (Bremell et al., 1991; Lee et al., 2002). Zusammenfassend verzögert Eap den Prozess der Wundheilung, indem es verschiedene Aspekte der Wundheilung negativ beeinflusst, zum Beispiel Angiogenese, Immunreaktionen und Entzündungsprozesse. Die Ergebnisse dieser Studie geben keine eindeutigen Hinweise auf vergleichbare Beobachtungen bei der Kultivierung unter Zusatz von Eap.

Für eine weitere Untersuchung der Wirkung von Eap und MALP-2 wären Experimente mit mehreren Proben und eine Einhaltung der Kulturdauer von bis zu 6 Tagen not-

wendig. In zukünftigen Forschungsansätzen wäre es sinnvoll, zusätzlich die Fläche des neu gebildeten Epithels zu messen. Dadurch könnten weitere Informationen bezüglich der positiven sowie negativen Wirkungen von MALP-2 und Eap auf die Wundheilung gewonnen werden.

### **5.3 Fazit und Perspektive**

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen den Schluss zu, dass das Modell der *Punch within a Punch* zur Untersuchung der postmortalen Wundheilung unter dem Einfluss von MALP-2 und Eap angewendet werden kann. Das wurde in dieser Pilotstudie erstmalig untersucht. Die Ergebnisse bestätigten, dass die postmortale Proliferation der Keratinozyten möglich ist. Als Nachweis dienten Messungen der Schichtdicke der Epidermis, des Stratum corneums und der Dermis sowie des kleinsten Abstands der Wundränder der Epidermis und Dermis. Die histologischen Bilder lieferten einen weiteren Informationsgewinn. Bei den meisten Messungen konnte eine Zunahme der Werte beobachtet werden, was auf die Proliferation der Zellen hindeuten kann. Eine eindeutige Aussage über die positive und negative Wirkung von MALP-2 sowie Eap konnte durch die Messungen in dieser Pilotstudie nicht geliefert werden. Lohnenswert sind daher zukünftige Versuche mit Messungen, die um weitere Parameter wie die Fläche des neu gebildeten Epithels erweitert werden. Für eine genauere Darstellung der physiologischen Wundheilung sollte der Wundboden in den Schnitten belassen werden. Darüber hinaus wäre es von Vorteil ein größeres Probengut zu untersuchen und die Kulturdauer von bis zu 6 Tagen einzuhalten.

Chronische Wunden wie das diabetische Fußsyndrom oder Dekubitus können schwerwiegende Folgen für Patienten haben, darunter ein erhöhtes Risiko für Infektionen sowie Amputationen und eine verminderte Lebensqualität. Ein besseres Verständnis des Wundheilungsprozesses kann zu wirksameren Behandlungen und Therapien führen, die eine schnellere Heilung fördern sowie Komplikationen vorbeugen. Die Untersuchungen der Wundheilung direkt an menschlichen Geweben können klinisch relevantere Erkenntnisse liefern und anatomische Unterschiede zu Tiermodellen wie die Dicke der Epidermis und die Dichte der Haarfollikel überwinden. Außerdem berücksichtigen die Versuche die ethischen Bedenken, die mit der Verwendung von Tiermodellen verbunden sind. Die Nutzung von postmortalem menschlichem Gewebe kann dazu

beitragen, diese ethischen Probleme zu lösen und gleichzeitig das wissenschaftliche Verständnis der Wundheilung bei Menschen voranzutreiben.

*Staphylococcus aureus* gehört zu den Haupterregern chronischer Infektionen der Haut und Weichgewebe und ist ein menschlicher Krankheitserreger, der zahlreiche Virulenzfaktoren besitzt, die zur bakteriellen Besiedlung beitragen. Hier wurde das extrazelluläre Adhärenzprotein (Eap) beschrieben. Dieses verzögert den Wundschluss, indem es unter anderem die Proliferation und Migration von Immunzellen inhibiert. Außerdem besitzt es eine entzündungshemmende Wirkung, indem es die Rekrutierung von Leukozyten im Wirt hemmt. Ob diese Eigenschaften zur Therapie von hyperinflammatorischen Erkrankungen dienen können, kann in folgenden Studien geklärt werden. Die inhibierenden Eigenschaften von Eap können auch in der Onkologie bei der antikarzinogenen Therapie eine wesentliche Rolle spielen und sollten in zukünftigen Forschungsarbeiten in Betracht gezogen werden.

Das Lipopeptid MALP-2 wird als ein potenzielles Therapeutikum für chronische Wunden dargestellt. Jedoch sind weitere Versuche – vor allem an den menschlichen Geweben – notwendig, um klinisch relevante Erkenntnisse zu gewinnen. Fraglich bleibt, bei welchem Schweregrad der chronischen Wunden und in welcher Form der Einsatz von MALP-2 am sinnvollsten wäre. Dies sollte in weiterführenden Forschungsarbeiten untersucht werden.



**6. Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1: Schematische Darstellung der Hautschichten .....	7
Abb. 2: Phasen der Wundheilung .....	9
Abb. 3: Struktur von MALP-2 .....	11
Abb. 4: Struktur von Eap.....	17
Abb. 5: Reihenfolge der Verarbeitung der Proben .....	29
Abb. 6: Die Aufteilung der Hautproben in einer Zellkultur-Testplatte.....	32
Abb. 7: Die Position einer Hautprobe im Paraffinblock .....	34
Abb. 8: Messung der Schichtdicke .....	37
Abb. 9: KS 1: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums .	39
Abb. 10: KS 1: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis.....	39
Abb. 11: KS 1: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis .....	40
Abb. 12: Tag 0, Körperspender 1 .....	41
Abb. 13: Tag 2, Körperspender 1.....	41
Abb. 14: Tag 4, Körperspender 1 .....	41
Abb. 15: KS 2: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums	42
Abb. 16: KS 2: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis.....	43
Abb. 17: KS 2: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis .....	44
Abb. 18: Tag 0, Körperspender 2 .....	45
Abb. 19: Tag 3, Körperspender 2.....	45
Abb. 20: Tag 6, Körperspender 2.....	45
Abb. 21: KS 3: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums	46
Abb. 22: KS 3: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis.....	47
Abb. 23: KS 3: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis .....	48
Abb. 24: Tag 0, Körperspender 3 .....	49
Abb. 25: Tag 2, Körperspender 3.....	49
Abb. 26: Tag 6, Körperspender 3.....	49
Abb. 27: KS 4: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums	50
Abb. 28: KS 4: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis.....	51
Abb. 29: KS 4: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis .....	52
Abb. 30: Tag 0, Körperspender 4.....	53
Abb. 31: Tag 2, Körperspender 4.....	53
Abb. 32: Tag 6, Körperspender 4.....	53
Abb. 33: KS 5: Schichtdicke: Mittelwerte der Epidermis und des Stratum corneums	54
Abb. 34: KS 5: Schichtdicke: Mittelwerte der Dermis.....	55
Abb. 35: KS 5: Abstand: Mittelwerte der Epidermis und Dermis .....	56
Abb. 36: Tag 0, Körperspender 5.....	57
Abb. 37: Tag 4, Körperspender 5.....	57
Abb. 38: Tag 6, Körperspender 5.....	57
Abb. 39: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	59
Abb. 40: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum.....	59
Abb. 41: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis.....	60
Abb. 42: KS 6: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	61
Abb. 43: KS 6: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	62
Abb. 44: KS 6: Tag 0.....	62
Abb. 45: KS 6: Tag 3, Medium .....	62

---

Abb. 46: KS 6, Tag 6, Medium .....	62
Abb. 47: KS 6: Tag 6, MALP-2.....	62
Abb. 48: KS 6, Tag 6, Eap .....	63
Abb. 49: KS 6, Tag 9, Medium .....	63
Abb. 50: KS 6, Tag 12, Medium.....	63
Abb. 51: KS 6, Tag 12, MALP-2.....	63
Abb. 52: KS 6, Tag 12, Eap .....	63
Abb. 53: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	65
Abb. 54: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum.....	65
Abb. 55: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis.....	66
Abb. 56: KS 7: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	67
Abb. 57: KS 7: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	68
Abb. 58: KS 7, Tag 0.....	68
Abb. 59: KS 7, Tag 3, Medium .....	68
Abb. 60: KS 7, Tag 6, Medium .....	68
Abb. 61: KS 7, Tag 6, MALP-2.....	68
Abb. 62: KS 7, Tag 6, Eap .....	69
Abb. 63: KS 7, Tag 9, Medium .....	69
Abb. 64: KS 7, Tag 12, Medium.....	69
Abb. 65: KS 7, Tag 12, MALP-2.....	69
Abb. 66: KS 7, Tag 12, Eap .....	69
Abb. 67: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	71
Abb. 68: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum.....	71
Abb. 69: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis.....	72
Abb. 70: KS 8: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	73
Abb. 71: KS 8: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	74
Abb. 72: KS 8, Tag 0.....	74
Abb. 73: KS 8, Tag 3, Medium .....	74
Abb. 74: KS 8, Tag 6, Medium .....	74
Abb. 75: KS 8, Tag 6, MALP-2.....	74
Abb. 76: KS 8, Tag 6, Eap .....	75
Abb. 77: KS 8, Tag 9, Medium .....	75
Abb. 78: KS 8, Tag 12, Medium.....	75
Abb. 79: KS 8, Tag 12, MALP-2.....	75
Abb. 80: KS 8, Tag 12, Eap .....	75
Abb. 81: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	77
Abb. 82: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum.....	78
Abb. 83: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis.....	78
Abb. 84: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	80
Abb. 85: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Dermis.....	81

## 7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht der verwendeten Chemikalien .....	23
Tab. 2: Übersicht der verwendeten Geräte .....	24
Tab. 3: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien .....	26
Tab. 4: Übersicht über sonstige verwendete Materialien .....	26
Tab. 5: Übersicht der Körperspender .....	28
Tab. 6: Übersicht der Inkubationszeiten (Versuch 1) .....	31
Tab. 7: Übersicht der Inkubationszeiten (Versuch 2) .....	32
Tab. 8: Die Stationen im Gewebeeinbettautomaten .....	33
Tab. 9: Protokoll der HE-Färbung .....	35
Tab. 10: KS 1: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ) .....	38
Tab. 11: KS 1: Abstand (in $\mu\text{m}$ ) .....	40
Tab. 12: KS 2: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ) .....	42
Tab. 13: KS 2: Abstand (in $\mu\text{m}$ ) .....	43
Tab. 14: KS 3: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ) .....	46
Tab. 15: KS 3: Abstand (in $\mu\text{m}$ ) .....	47
Tab. 16: KS 4: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ) .....	50
Tab. 17: KS 4: Abstand (in $\mu\text{m}$ ) .....	51
Tab. 18: KS 5: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ) .....	54
Tab. 19: KS 5: Abstand (in $\mu\text{m}$ ) .....	55
Tab. 20: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	58
Tab. 21: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum .....	58
Tab. 22: KS 6: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	58
Tab. 23: KS 6: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Medium .....	60
Tab. 24: KS 6: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), MALP-2 .....	61
Tab. 25: KS 6: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Eap .....	61
Tab. 26: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	64
Tab. 27: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum .....	64
Tab. 28: KS 7: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	64
Tab. 29: KS 7: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Medium .....	66
Tab. 30: KS 7: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), MALP-2 .....	67
Tab. 31: KS 7: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Eap .....	67
Tab. 32: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	70
Tab. 33: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum .....	70
Tab. 34: KS 8: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	70
Tab. 35: KS 8: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Medium .....	72
Tab. 36: KS 8: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), MALP-2 .....	73
Tab. 37: KS 8: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Eap .....	73
Tab. 38: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	76
Tab. 39: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Stratum corneum .....	76
Tab. 40: Schichtdicke (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	77
Tab. 41: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Epidermis .....	79
Tab. 42: Abstand (in $\mu\text{m}$ ), Dermis .....	80

---

**9. Literaturverzeichnis**

1. Akira, S., Uematsu, S. und Takeuchi, O. (2006) „Pathogen recognition and innate immunity“, *Cell*, 124(4), S. 783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015.
2. Athanasopoulos, A. N., Economopoulou, M., Orlova, V. V., Sobke, A., Schneider, D., Weber, H., Augustin, H. G., Eming, S. A., Schubert, U., Linn, T., Nawroth, P. P., Hussain, M., Hammes, H.-P., Herrmann, M., Preissner, K. T. und Chavakis, T. (2006) „The extracellular adherence protein (Eap) of *Staphylococcus aureus* inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms“, *Blood*, 107(7), S. 2720–2727. doi: 10.1182/blood-2005-08-3140.
3. Baschang, G. (1989) „Muramylpeptides and lipopeptides: Studies towards immunostimulants“, *Tetrahedron*, 45(20), S. 6331–6360. doi: 10.1016/s0040-4020(01)89512-0.
4. Bodel, P. und Atkins, E. (1967) „Release of endogenous pyrogen by human monocytes“, *The New England journal of medicine*, 276(18), S. 1002–1008. doi: 10.1056/nejm196705042761803.
5. Bodén, M. K. und Flock, J.-I. (1992) „Evidence for three different fibrinogen-binding proteins with unique properties from *Staphylococcus aureus* strain Newman“, *Microbial pathogenesis*, 12(4), S. 289–298. doi: 10.1016/0882-4010(92)90047-r.
6. Borsutzky, S., Kretschmer, K., Becker, P. D., Mühlradt, P. F., Kirschning, C. J., Weiss, S., & Guzmán, C. A. (2005) „The mucosal adjuvant macrophage-activating lipopeptide-2 directly stimulates B lymphocytes via the TLR2 without the need of accessory cells“, *The journal of immunology*, 174(10), S. 6308–6313. doi: 10.4049/jimmunol.174.10.6308.
7. Bremell, T., Lange, S., Yacoub, A., Rydén, C. und Tarkowski, A. (1991) „Experimental *Staphylococcus aureus* arthritis in mice“, *Infection and immunity*, 59(8), S. 2615–2623. doi: 10.1128/iai.59.8.2615-2623.1991.
8. Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y. und Zychlinsky, A. (2004) „Neutrophil extracellular traps kill bacteria“, *Science (New York, N.Y.)*, 303(5663), S. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385.
9. Chavakis, T., Hussain, M., Kanse, S. M., Peters, G., Bretzel, R. G., Flock, J.-I., Herrmann, M. und Preissner, K. T. (2002). „*Staphylococcus aureus* extracellular

- adherence protein serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes“, *Nature medicine*, 8(7), S. 687–693. doi: 10.1038/nm728.
10. Chavakis, T., Wiechmann, K., Preissner, K. T. und Herrmann, M. (2005). „Staphylococcus aureus interactions with the endothelium: The role of bacterial “Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules” (SERAM) in disturbing host defense systems“, *Thrombosis and haemostasis*, 94(08), S. 278–285. doi: 10.1160/th05-05-0306.
  11. Cong, Y., Yang, S. und Rao, X. (2020) „Vancomycin resistant Staphylococcus aureus infections: A review of case updating and clinical features“, *Journal of advanced research*, 21, S. 169–176. doi: 10.1016/j.jare.2019.10.005.
  12. Deiters, U., Barsig, J., Tawil, B. und Mühlradt, P. F. (2004) „The macrophage-activating lipopeptide-2 accelerates wound healing in diabetic mice“, *Experimental dermatology*, 13(12), S. 731–739. doi: 10.1111/j.0906-6705.2004.00233.x.
  13. Dettmeyer, R. B., Schütz, H. F. und Verhoff, M. (2014). *Rechtsmedizin* (2. Aufl.). Springer.
  14. Dinges, M. M., Orwin, P. M. und Schlievert, P. M. (2000) „Exotoxins of Staphylococcus aureus“, *Clinical microbiology reviews*, 13(1), S. 16–34. doi: 10.1128/cmr.13.1.16.
  15. Eisenbeis, J., Peisker, H., Backes, C. S., Bur, S., Hölter, S., Thewes, N. und Bischoff, M. (2017) „The extracellular adherence protein (Eap) of Staphylococcus aureus acts as a proliferation and migration repressing factor that alters the cell morphology of keratinocytes“, *International journal of medical microbiology: IJMM*, 307(2), S. 116–125. doi: 10.1016/j.ijmm.2017.01.002.
  16. Eisenbeis, J., Saffarzadeh, M., Peisker, H., Jung, P., Thewes, N., Preissner, K. T., Herrmann, M., Molle, V., Geisbrecht, B. V., Jacobs, K. und Bischoff, M. (2018) „The staphylococcus aureus extracellular adherence protein eap is a DNA binding protein capable of blocking neutrophil extracellular trap formation“, *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8. doi: 10.3389/fcimb.2018.00235.
  17. Eisenbeis, J. (2019) „Der Einfluss des multifunktionalen extrazellulären Adhäsionsproteins (Eap) von Staphylococcus aureus auf die Morphologie und Funktion von eukaryotischen Zellen“. Universität des Saarlandes.
  18. Flock, M., Flock, J.-I. (2001) „Rebinding of extracellular adherence protein Eap to Staphylococcus aureus can occur through a surface-bound neutral phosphatase“, *J*, 183, S. 3999–4003.

19. Frisch, M., Gradehandt, G. und Mühlradt, P. F. (1996) „Mycoplasma fermentans-derived lipid inhibits class II major histocompatibility complex expression without mediation by interleukin-6, interleukin-10, tumor necrosis factor, transforming growth factor- $\beta$ , type I interferon, prostaglandins or nitric oxide“, *Eur J Immunol*, 26, S. 1050–1057.
20. Fritz, T., Schäfer, J., Scheuer, C., Stutz, J., Histing, T., Pohlemann, T., Menger, M. D., Laschke, M. W., Klein, M. und Orth, M. (2022). „Macrophage-activating lipoprotein (MALP)-2 impairs the healing of partial tendon injuries in mice“, *Anatomischer Anzeiger [Annals of anatomy]*, 239(151818), S. 151818. doi: 10.1016/j.aanat.2021.151818.
21. Geisbrecht, B. V., Hamaoka, B. Y., Perman, B., Zemla, A. und Leahy, D. J. (2005). „The crystal structures of EAP domains from staphylococcus aureus reveal an unexpected homology to bacterial superantigens“, *The journal of biological chemistry*, 280(17), S. 17243–17250. doi: 10.1074/jbc.m412311200.
22. Glemser, P. A. u. a. (Hrsg.) (2021) *Radiologie der Gewalt: Einführung in Methodik und Begutachtung für Radiologen und Rechtsmediziner*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. doi: 10.1055/b-004-132205
23. Gordon, R. J. und Lowy, F. D. (2008). „Pathogenesis of methicillin-resistant staphylococcus aureus infection“, *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(S5), S. S350–S359. doi: 10.1086/533591.
24. Grassberger, M. und Schmid, H. (2013) *Todesermittlung: Befundaufnahme und Spurensicherung*. 2. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
25. Grimbly, S. A. J., Magee, T. R. und Galland, R. B. (2001) „Methicillin resistant staphylococcus aureus in patients undergoing major amputation“, *European journal of vascular and endovascular surgery: the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 22(3), S. 215–218. doi: 10.1053/ejvs.2001.1436.
26. Grote, K., Schuett, H., Salguero, G., Grothusen, C., Jagielska, J., Drexler, H., Mühlradt, P. F. und Schieffer, B. (2010) „Toll-like receptor 2/6 stimulation promotes angiogenesis via GM-CSF as a potential strategy for immune defense and tissue regeneration“, *Blood*, 115(12), S. 2543–2552. doi: 10.1182/blood-2009-05-224402.
27. Grote, K., Sonnenschein, K., Kapopara, P. R., Hillmer, A., Grothusen, C., Salguero, G. und Schieffer, B. (2013) „Toll-like receptor 2/6 agonist macrophage-

- activating lipopeptide-2 promotes reendothelialization and inhibits neointima formation after vascular injury“, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 33(9), S. 2097–2104. doi: 10.1161/atvbaha.113.301799.
28. Gurjala, A. N., Geringer, M. R., Seth, A. K., Hong, S. J., Smeltzer, M. S., Galiano, R. D. und Mustoe, T. A. (2011) „Development of a novel, highly quantitative in vivo model for the study of biofilm-impaired cutaneous wound healing“, *Wound repair and regeneration*, 19(3), S. 400–410. doi: 10.1111/j.1524-475x.2011.00690.x.
29. Haggar, A., Hussain, M., Lönnies, H., Herrmann, M., Norrby-Teglund, A. und Flock, J.-I. (2003) „Extracellular adherence protein from *Staphylococcus aureus* enhances internalization into eukaryotic cells“, *Infection and immunity*, 71(5), S. 2310–2317. doi: 10.1128/iai.71.5.2310-2317.2003.
30. Haggar, A., Shannon, O., Norrby-Teglund, A., Flock, J.-I. (2005) „Dual effects of extracellular adherence protein from *Staphylococcus aureus* on peripheral blood mononuclear cells“, *The journal of infectious diseases*, 192(2), S. 210–217. doi: 10.1086/430948.
31. Hansen, U., Hussain, M., Villone, D., Herrmann, M., Robenek, H., Peters, G., Sinha, B. und Bruckner, P. (2006) „The anchorless adhesin Eap (extracellular adherence protein) from *Staphylococcus aureus* selectively recognizes extracellular matrix aggregates but binds promiscuously to monomeric matrix macromolecules“, *Matrix biology: journal of the International Society for Matrix Biology*, 25(4), S. 252–260. doi: 10.1016/j.matbio.2006.01.005.
32. Hirel, B., Watier, E., Chesne, C., Patoux-Pibouin, M. und Guillouzo, A. (1996) „Culture and drug biotransformation capacity of adult human keratinocytes from post-mortem skin“, *The British journal of dermatology*, 134(5), S. 831–836. doi: 10.1046/j.1365-2133.1996.113848.x.
33. Hoffmann, P., Heinle, S., Schade, U. F., Loppnow, H., Ulmer, A. J., Flad, H. D., Jung, G. und Bessler, W. G. (1988) „Stimulation of human and Murine adherent cells by bacterial lipoprotein and synthetic lipopeptide analogues“, *Immunobiology*, 177(2), S. 158–170. doi: 10.1016/s0171-2985(88)80036-6.
34. Hussain, M., Becker, K., von Eiff, C., Peters, G. und Herrmann, M. (2001) „Analogues of Eap protein are conserved and prevalent in clinical *Staphylococcus aureus* isolates“, *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 8(6), S. 1271–1276. doi: 10.1128/cdli.8.6.1271-1276.2001.

35. Hussain, M., Hagggar, A., Heilmann, C., Peters, G., Flock, J.-I., Herrmann, M. (2002) „Insertional inactivation of Eap in *Staphylococcus aureus* strain Newman confers reduced staphylococcal binding to fibroblasts“, *Infect*, 70, S. 2933–2940.
36. Hussain, M., Hagggar, A., Peters, G., Chhatwal, G.S., Herrmann, M., Flock, J.-I. und Sinha, B. (2008) „More than one tandem repeat domain of the extracellular adherence protein of *Staphylococcus aureus* is required for aggregation, adherence, and host cell invasion but not for leukocyte activation“, *Infect*, 76, S. 5615–5623.
37. Jahreis, A., Yousif, Y., Rump, J.A., Drager, R., Vogt, A., Peter, H.H. und Schlesier, M. (1995) „Two novel cationic staphylococcal proteins induce IL-2 secretion, proliferation and immunoglobulin synthesis in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of both healthy controls and patients with common variable immunodeficiency (CVID)“, *Clinical and experimental immunology*, 100(3), S. 406–411. doi: 10.1111/j.1365-2249.1995.tb03714.x.
38. Johnson, M., Cockayne, A. und Morrissey, J. A. (2008) „Iron-regulated biofilm formation in *Staphylococcus aureus* Newman requires the secreted protein Emp“, *Infection and immunity*, 76(4), S. 1756–1765. doi: 10.1128/iai.01635-07.
39. Jönsson, K., McDevitt, D., McGavin, M. H., Patti, J. M. und Höök, M. (1995) „*Staphylococcus aureus* expresses a major histocompatibility complex class II analog“, *The journal of biological chemistry*, 270(37), S. 21457–21460. doi: 10.1074/jbc.270.37.21457.
40. Junqueira, L. C. U., Carneiro, J., Mayerhofer, A. und Wurziger, L. J. (2005) *Histologie* (6. Aufl.; M. Gratzl, Hrsg.). Berlin: Springer. ISBN 978-3-540-21965-1
41. Kaufmann, A., Mühlradt, P. F., Gemsa, D. und Sprenger, H. (1999) „Induction of cytokines and chemokines in human monocytes by *Mycoplasma fermentans*-derived lipoprotein MALP-2“, *Infection and immunity*, 67(12), S. 6303–6308. doi: 10.1128/iai.67.12.6303-6308.1999.
42. Kawai, T. und Akira, S. (2007) „TLR signaling“, *Seminars in immunology*, 19(1), S. 24–32. doi: 10.1016/j.smim.2006.12.004.
43. Keller, R., Fischer, W., Keist, R. und Bassetti, S. (1992) „Macrophage response to bacteria: induction of marked secretory and cellular activities by lipoteichoic acids“, *Infection and immunity*, 60(9), S. 3664–3672. doi: 10.1128/iai.60.9.3664-3672.1992.



44. Laschke, M. W., Augustin, V., Kleer, S., Tschernig, T. und Menger, M. D. (2014). „Locally applied macrophage-activating lipopeptide-2 (MALP-2) promotes early vascularization of implanted porous polyethylene (Medpor®)“, *Acta biomaterialia*, 10(11), S. 4661–4669. doi: 10.1016/j.actbio.2014.07.004.
45. Lee, L. Y., Miyamoto, Y. J., McIntyre, B. W., Höök, M., McCrea, K. W., McDevitt, D. und Brown, E. L. (2002) „The Staphylococcus aureus Map protein is an immunomodulator that interferes with T cell-mediated responses“, *The journal of clinical investigation*, 110(10), S. 1461–1471. doi: 10.1172/jci16318.
46. Liao, D., Su, X., Wang, J., Yu, J., Luo, H., Tian, W. und He, J. (2023) „Pushing the envelope: Immune mechanism and application landscape of macrophage-activating lipopeptide-2“, *Frontiers in immunology*, 14. doi: 10.3389/fimmu.2023.1113715.
47. Link, C., Gavioli, R., Ebensen, T., Canella, A., Reinhard, E. und Guzmán, C. A. (2004) „The Toll-like receptor ligand MALP-2 stimulates dendritic cell maturation and modulates proteasome composition and activity“, *European journal of immunology*, 34(3), S. 899–907. doi: 10.1002/eji.200324511.
48. Lippert, H. (2006) *Wundatlas: Kompendium der komplexen Wundbehandlung* (H. Lippert, Hrsg.; 2. Aufl.). Thieme.
49. Ma, X., You, X., Zeng, Y., He, J., Liu, L., Deng, Z., Jiang, C., Wu, H., Zhu, C., Yu, M. und Wu, Y. (2013) „Mycoplasma fermentans MALP-2 induces heme oxygenase-1 expression via mitogen-activated protein kinases and Nrf2 pathways to modulate cyclooxygenase 2 expression in human monocytes“, *Clinical and vaccine immunology: CVI*, 20(6), S. 827–834. doi: 10.1128/cvi.00716-12.
50. Madsen, S. M., Westh, H., Danielsen, L. und Rosdahl, V. T. (1996) „Bacterial colonization and healing of venous leg ulcers“, *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 104(7–8), S. 895–899. doi: 10.1111/j.1699-0463.1996.tb04955.x.
51. Marshall, J. H. und Wilmoth, G. J. (1981) „Pigments of Staphylococcus aureus, a series of triterpenoid carotenoids“, *Journal of bacteriology*, 147(3), S. 900–913. doi: 10.1128/jb.147.3.900-913.1981.
52. Martin, P. (1997) „Wound healing--aiming for perfect skin regeneration“, *Science (New York, N.Y.)*, 276(5309), S. 75–81. doi: 10.1126/science.276.5309.75.

53. McGavin, M.H., Krajewska-Pietrasik, D., Ryden, C., Hook, M., (1993) „Identification of a *Staphylococcus aureus* extracellular matrix-binding protein with broad specificity“, *Infection and immunity*, 61, S. 2479–2485.
54. McGuire, V. A. und Arthur, J. S. C. (2015) „Subverting toll-like receptor signaling by bacterial pathogens“, *Frontiers in immunology*, 6. doi: 10.3389/fimmu.2015.00607.
55. Meier, N. T., Haslam, I. S., Pattwell, D. M., Zhang, G.-Y., Emelianov, V., Paredes, R., Debus, S., Augustin, M., Funk, W., Amaya, E., Kloepper, J. E., Hardman, M. J., & Paus, R. (2013) „Thyrotropin-releasing hormone (TRH) promotes wound re-epithelialisation in frog and human skin“, *PloS one*, 8(9), S. e73596. doi: 10.1371/journal.pone.0073596.
56. Merle, N. S., Noe, R., Halbwachs-Mecarelli, L., Fremeaux-Bacchi, V., & Roumenina, L. T. (2015) „Complement system part II: Role in immunity“, *Frontiers in immunology*, 6. doi: 10.3389/fimmu.2015.00257.
57. Mizel, S. B., Oppenheim, J. J., & Rosentreich, D. L. (1978) „Characterization of Lymphocyte-Activating Factor (LAF) Produced by a Macrophage Cell Line, P388D1. II. Biochemical Characterization of LAF Induced by Activated T Cells and LPS“, *The Journal of Immunology*, 120(5), S. 1504–1508.
58. Moll, I., Houdek, P., Schmidt, H., & Moll, R. (1998). „Characterization of epidermal wound healing in a human skin organ culture model: Acceleration by transplanted Keratinocytes1“, *The journal of investigative dermatology*, 111(2), S. 251–258. doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00265.x.
59. Morr, M., Takeuchi, O., Akira, S., Simon, M. M., & Mühlradt, P. F. (2002) „Differential Recognition of Structural Details of Bacterial Lipopeptides by Toll-like Receptors“, *European Journal of Immunology*, 32(12), S. 3337–3347.
60. Mühlradt, P. F. und Schade, U. (1991) „MDHM, a macrophagestimulatory product of *Mycoplasma fermentans*, leads to in vitro interleukin-1 (IL-1), IL-6, tumor necrosis factor, and prostaglandin production and is pyrogenic in rabbits“, *Infect Immun*, 59, S. 3969–3974.
61. Mühlradt, P. F., Quentmeier, H. und Schmitt, E. (1991) „Involvement of interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-2, and IL-4 in generation of cytolytic T cells from thymocytes stimulated by a *Mycoplasma fermentans*-derived product“, *Infection and Immunity*, 59(11), S. 3962–3968.

62. Mühlradt, P. F., Kieß, M., Meyer, H., Süßmuth, R., & Jung, G. (1997) „Isolation, structure elucidation, and synthesis of a macrophage stimulatory lipopeptide from *Mycoplasma fermentans* acting at picomolar concentration“, *The journal of experimental medicine*, 185(11), S. 1951–1958. doi: 10.1084/jem.185.11.1951.
63. Mühlradt, P. F., Kiess, M., Meyer, H., Süßmuth, R., & Jung, G. (1998) „Structure and Specific Activity of Macrophage-Stimulating Lipopeptides from *Mycoplasma hyorhinis*“, *Infection and immunity*, 66(10), S. 4804–4810. doi: 10.1128/iai.66.10.4804-4810.1998.
64. Niebuhr, M., Mühlradt, P. F., Wittmann, M., Kapp, A., & Werfel, T. (2008) „Intracutaneous injection of the macrophage-activating lipopeptide-2 (MALP-2) which accelerates wound healing in mice – a phase I trial in 12 patients“, *Experimental dermatology*, 17(12), S. 1052–1056. doi: 10.1111/j.1600-0625.2008.00750.x.
65. O’Neill, L. A. J., Golenbock, D. und Bowie, A. G. (2013) „The history of Toll-like receptors — redefining innate immunity“, *Nature reviews. Immunology*, 13(6), S. 453–460. doi: 10.1038/nri3446.
66. Okusawa, T., Fujita, M., Nakamura, J.-I., Into, T., Yasuda, M., Yoshimura, A., Hara, Y., Hasebe, A., Golenbock, D. T., Morita, M., Kuroki, Y., Ogawa, T., & Shibata, K.-I. (2004). „Relationship between structures and biological activities of mycoplasmal diacylated lipopeptides and their recognition by Toll-like receptors 2 and 6“, *Infection and immunity*, 72(3), S. 1657–1665. doi: 10.1128/iai.72.3.1657-1665.2004.
67. Otto, M. (2014) „*Staphylococcus aureus* toxins“, *Current opinion in microbiology*, 17, S. 32–37. doi: 10.1016/j.mib.2013.11.004.
68. Palma, M., Haggar, A. und Flock, J.-I. (1999) „Adherence of *Staphylococcus aureus* is enhanced by an endogenous secreted protein with broad binding activity“, *Journal of bacteriology*, 181(9), S. 2840–2845. doi: 10.1128/jb.181.9.2840-2845.1999.
69. Petti, C. A. und Fowler, V. G., Jr (2003) „*Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis“, *Cardiology clinics*, 21(2), S. 219–233. doi: 10.1016/s0733-8651(03)00030-4.
70. Quentmeier, H., Schmitt, E., Kirchhoff, H., Grote, W., & Mühlradt, P. F. (1990) „*Mycoplasma fermentans*-derived high-molecular-weight material induces interleukin-6 release in cultures of murine macrophages and human monocytes“, *Infection and immunity*, 58(5), S. 1273–1280. doi: 10.1128/iai.58.5.1273-1280.1990.

71. Rodero, M. P. und Khosrotehrani, K. (2010) „Skin wound healing modulation by macrophages“, *International journal of clinical and experimental pathology*, 3(7), S. 643–653.
72. Rohde, H., Burandt, E. C., Siemssen, N., Frommelt, L., Burdelski, C., Wurster, S., Mack, D. (2007) „Polysaccharide intercellular adhesion or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections“, *Biomaterials*, 28(9), S. 1711–1720. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.046.
73. Rosenbach, F. J. (1884) „Mikro-Organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des“, Herausgegeben von Menschen J. F. Bergman.
74. Ruschmeyer, D. (1993) „MDHM, a macrophage-activating product of *Mycoplasma fermentans*, stimulates murine macrophages to synthesize nitric oxide and become tumoricidal“, *FEMS immunology and medical microbiology*, 7(3), S. 223–229. doi: 10.1016/0928-8244(93)90016-w.
75. Schierle, C. F., De la Garza, M., Mustoe, T. A., & Galiano, R. D. (2009) „Staphylococcal biofilms impair wound healing by delaying reepithelialization in a murine cutaneous wound model“, *Wound repair and regeneration*, 17(3), S. 354–359. doi: 10.1111/j.1524-475x.2009.00489.x.
76. Schneider, C., Schmidt, T., Ziske, C., Tiemann, K., Lee, K.-M., Uhlinsky, V., Behrens, P., Sauerbruch, T., Schmidt-Wolf, I. G. H., Mühlradt, P. F., Schmidt, J., & Märten, A. (2004) „Tumour suppression induced by the macrophage activating lipopeptide MALP-2 in an ultrasound guided pancreatic carcinoma mouse model“, *Gut*, 53(3), S. 355–361. doi: 10.1136/gut.2003.026005.
77. Shingu, K., Kruschinski, C., Lührmann, A., Grote, K., Tschernig, T., Von Hörsten, S., & Pabst, R. (2003) „Intratracheal macrophage-activating lipopeptide-2 reduces metastasis in the rat lung“, *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 28(3), S. 316–321. doi: 10.1165/rcmb.2002-0106oc.
78. Singer, A. J. und Clark, R. A. F. (1999) „Cutaneous wound healing“, *The New England journal of medicine*, 341(10), S. 738–746. doi: 10.1056/nejm199909023411006.
79. Sobke, A. C. S., Selimovic, D., Orlova, V., Hassan, M., Chavakis, T., Athanasopoulos, A. N., Schubert, U., Hussain, M., Thiel, G., Preissner, K. T., & Herrmann, M. (2006) „The extracellular adherence protein from *Staphylococcus aureus* abrogates angiogenic responses of endothelial cells by blocking Ras activation“,

- FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 20(14), S. 2621–2623. doi: 10.1096/fj.06-5764fje.
80. Staber, F. G., Gisler, R. H., Schumann, G., Tarcsay, L., Schläfli, E., & Dukor, P. (1978) „Modulation of myelopoiesis by different bacterial cell-wall components: Induction of colony-stimulating activity (by pure preparations, low-molecular-weight degradation products and a synthetic low-molecular analog of bacterial cell-wall components) in vitro“, *Cellular immunology*, 37(1), S. 174–187. doi: 10.1016/0008-8749(78)90185-5.
81. Takeuchi, O., Kaufmann, A., Grote, K., Kawai, T., Hoshino, K., Morr, M., Mühlradt, P. F., & Akira, S. (2000) „Cutting edge: Preferentially the R-stereoisomer of the mycoplasmal lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2 activates immune cells through a Toll-like receptor 2- and MyD88-dependent signaling pathway“, *The journal of immunology*, 164(2), S. 554–557. doi: 10.4049/jimmunol.164.2.554.
82. Takeuchi, O., Kawai, T., Mühlradt, P. F., Morr, M., Radolf, J. D., Zychlinsky, A., Takeda, K., & Akira, S. (2001) „Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6“, *International immunology*, 13(7), S. 933–940. doi: 10.1093/intimm/13.7.933.
83. Van Gele, M., Geusens, B., Brochez, L., Speeckaert, R., & Lambert, J. (2011) „Three-dimensional skin models as tools for transdermal drug delivery: challenges and limitations“, *Expert opinion on drug delivery*, 8(6), S. 705–720. doi: 10.1517/17425247.2011.568937.
84. Welsch, U., Kummer, W., Deller, T. (2014) *Lehrbuch Histologie*, 4. Aufl., München: Urban & Fischer, Elsevier. ISBN 978-3-437-44433-3
85. Wertheim, H. F. L., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005) „The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections“, *The Lancet infectious diseases*, 5(12), S. 751–762. doi: 10.1016/s1473-3099(05)70295-4.
86. Wilde, I., Lotz, S., Engelmann, D., Starke, A., van Zandbergen, G., Solbach, W., & Laskay, T. (2007) „Direct stimulatory effects of the TLR2/6 ligand bacterial lipopeptide MALP-2 on neutrophil granulocytes“, *Medical microbiology and immunology*, 196(2), S. 61–71. doi: 10.1007/s00430-006-0027-9.
87. Woehl, J. L., Stapels, D. A. C., Garcia, B. L., Ramyar, K. X., Keightley, A., Ruyken, M., Syriga, M., Sfyroera, G., Weber, A. B., Zolkiewski, M., Ricklin, D., Lambris, J. D., Rooijackers, S. H. M., & Geisbrecht, B. V. (2014) „The extracellular adherence

- protein from *Staphylococcus aureus* inhibits the classical and lectin pathways of complement by blocking formation of the C3 proconvertase“, *The journal of immunology*, 193(12), S. 6161–6171. doi: 10.4049/jimmunol.1401600.
88. Woehl, J. L., Ramyar, K. X., Katz, B. B., Walker, J. K., & Geisbrecht, B. V. (2017) „The structural basis for inhibition of the classical and lectin complement pathways by *S. aureus* extracellular adherence protein“, *Protein science: a publication of the Protein Society*, 26(8), S. 1595–1608. doi: 10.1002/pro.3195.
89. Youssif, Y., Mertz, A., Batsford, SR., and Vogt, A. (1991). „Cationic staphylococcal antigens have affinity for glomerular structures: Possible pathogenetic role in glomerulonephritis“, *Zentbl. Bakteriol*, 21, S. 168–169.

**10. Quellenverzeichnis**

1. Alternatives to animal testing. (o. J.). Crueltyfreeinternational.org. <https://crueltyfreeinternational.org/about-animal-testing/alternatives-animal-testing>. Abgerufen am 28. März 2024.
2. Benning, V. (2023, 23. Mai). Den Standardfehler des Mittelwertes verstehen und berechnen. Scribbr. <https://www.scribbr.de/statistik/standardfehler/>. Abgerufen am 19. Februar 2024.
3. BioRender (2020). Anatomy of the Skin. <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-5fa1b09414975d00a74907b2-anatomy-of-the-skin>. Abgerufen am 16. Februar 2024.
4. BioRender (2020). Wound Healing. <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-5fa1b1622a60ac00a3d858ec-wound-healing>. Abgerufen am 16. Februar 2024.
5. BioRender (2024). Abb. 8: Die Aufteilung von den Hautproben in einer Zellkultur-Testplatte (Well-Platte). <https://app.biorender.com/illustrations/65d38e751512237868155cfd>. Abgerufen am 19. Februar 2024.
6. BioRender (2024). Abb. 9: Die Position von einer Hautprobe im Paraffin-Block. <https://app.biorender.com/illustrations/65d4052a1f948de7c68e0661>. Abgerufen am 19. Februar 2024.
7. Stone, K. (2012). Costs of animal and non-animal testing. Humane Society International. [https://www.hsi.org/news-resources/time\\_and\\_cost/](https://www.hsi.org/news-resources/time_and_cost/). Abgerufen am 28. März 2024.
8. Tucak-Smajić, A. (2023). Structure of the Epidermis. <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-650170a96ab49294fa103acc-structure-of-the-epidermis>. Abgerufen am 16. Februar 2024.

## 11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank Herrn Professor Dr. Thomas Tschernig für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit meine Doktorarbeit mit ihm als Doktorvater zu absolvieren. Ich möchte ihm für die kompetente Betreuung und Unterstützung danken. Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Professor Dr. Markus Bischoff für die Betreuung sowie für die Bereitstellung von Eap und des Labors der Mikrobiologie für die Versuche. Ihre konstruktive Kritik, förderliche Ratschläge, Hilfsbereitschaft und Aufmunterungen haben wesentlich zum Gelingen meiner Doktorarbeit beigetragen. Ohne ihre Unterstützung wäre die Arbeit nie entstanden.

Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Labors Frau Schek, Herrn Wieland und Frau Hilgert für ihren Geduld, für die Einweisung in das Labor, für die freundliche Arbeitsatmosphäre und stete Hilfsbereitschaft bedanken.

Bei dieser Gelegenheit muss ich zudem den Körperspendern und deren Familien meinen Dank äußern, die einen großen Beitrag für die Forschung leisten.

Schließlich gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, meinen Großeltern, meinem Bruder und meinen Freundinnen Céline und Merve für die uneingeschränkten Ermutigungen und liebevolle Unterstützung während meines gesamten Studiums. Ihr habt dazu beigetragen, dass ich mein Studium und meine Doktorarbeit abschließen konnte und dafür bin ich unendlich dankbar.



## **12. Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.