

Diplomarbeit

**Übersicht über die aktuellen in vivo Modelle  
hypertropher Narben**

eingereicht von

**Stefan Rössler**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Chirurgie**

**Abteilung für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive  
Chirurgie**

unter der Anleitung von

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

**Dr. med. Sebastian Nischwitz**

Graz, am 27.04.2021

## Eidesstattliche Erklärung

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

*Graz, am 27.04.2021*

*Stefan Rössler eh.*

## **Danksagungen**

Eingangs bedanke ich mich herzlich bei Herrn Univ. Prof. Dr. med. Lars- Peter Kamolz, Msc und Herrn Dr. med. Sebastian Nischwitz, welche es mir ermöglichten meine Diplomarbeit an der Abteilung für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive Chirurgie der Univ. Klinik für Chirurgie Graz zu verfassen. Beide standen mir bei Fragen stets helfend zur Seite und gaben mir kontinuierlich wertvolles Feedback um meine Diplomarbeit weiter zu verbessern. Außerdem ermöglichten sie es mir einen Einblick in die Ausführung von medizinischer Forschung an Tiermodellen zu erlangen, was mir bei der Erstellung meiner Diplomarbeit weiter half.

Zusätzlich möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, ohne deren Unterstützung es mir nicht möglich gewesen wäre Medizin zu studieren.

# Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung .....	i
Danksagungen .....	ii
Abkürzungsverzeichnis .....	v
Abbildungsverzeichnis.....	vi
Tabellenverzeichnis.....	vi
Zusammenfassung.....	vii
Abstract.....	viii
1 Einleitung.....	1
1.1 Anatomie der Haut.....	1
1.1.1 Epidermis .....	1
1.1.2 Dermis.....	3
1.1.3 Hypodermis .....	5
1.2 Funktionen der Haut .....	5
1.3 Wundheilung.....	6
1.4 Hypertrophe Narben .....	8
1.4.1 Definition/ Klinik/ Epidemiologie .....	8
1.4.2 Histologie/ Ätiologie/ Pathophysiologie.....	10
1.4.3 Differenzierung zum Keloid .....	11
1.4.4 Prävention und Therapieoptionen .....	13
1.4.5 HTS- Forschung und die 3R.....	17
1.5 Fragestellung .....	19
2 Methoden.....	20
3 Ergebnisse.....	22
3.1 Die verschiedenen Mausmodelle.....	22
3.2 Das Rattenmodell .....	27
3.3 Das Hasenohrenmodell .....	28
3.4 Das Meerschweinchenmodell .....	32
3.5 Schweinemodelle .....	33
3.6 Das Hundemodell .....	36
3.7 Das Affenmodell.....	37
3.8 Die verschiedenen Modelle im Vergleich .....	37
4 Diskussion .....	41
4.1 Durch HTS verursachte Probleme .....	41

4.2	Schwierigkeiten ein auf den Menschen übertragbares Tiermodell zu finden .....	41
4.3	Analyse der Mausmodelle in der HTS- Forschung.....	42
4.3.1	TSM- Modell .....	43
4.3.2	NMM.....	44
4.3.3	Bleomycinmodell .....	45
4.3.4	Spannungsmodell-Maus.....	45
4.4	Analyse des Rattenmodells.....	46
4.5	Analyse des Hasenohrenmodells.....	47
4.6	Analyse des Meerschweinchenmodells .....	49
4.7	Analyse der Schweinemodelle .....	50
4.8	Die Verwendung von Hunden und Affen .....	52
4.9	Ersatz von Tiermodellen durch in vitro und in silico Modelle.....	53
4.10	Reduktion und Verbesserung von Tiermodellen .....	54
4.11	Die Qual der Wahl.....	55
4.12	Limitationen.....	58
4.13	Konklusion .....	59
5	Literaturverzeichnis.....	60

## Abkürzungsverzeichnis

ATM	athymische Maus
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
BoNT-A	Botulinum Toxin A
ca.	zirka
cm	Zentimeter
CTGF	Connective Tissue Growth Factor
EGF	Epidermal Growth Factor
et al.	et alii
EZM	extrazelluläre Matrix
FGF	Fibroblast Growth Factor
GAG	Glycosaminoglycan
HTS	Hypertrophe Narbe
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 beta
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
miRNA	micro ribonucleic acid
mm	Millimeter
mRNA	messenger ribonucleic acid
n	Anzahl
nm	Nanometer
NMM	Nude-Mouse-Modell
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PDL	Pulsed Dye Laser
PDS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PG	Proteoglycan
SHT	Spalthauttransplantat
TAC	Triamcinolonacetonide
TGF- $\beta$	Tissue Growth Factor beta
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- alpha
TSM	Tight-Skin-Mouse
UV-Strahlung	Ultraviolettstrahlung
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VHT	Vollhauttransplantat
z.B.	zum Beispiel
3R	Replacement, Reduction, Refinement
5-FU	5-Fluorouracil
$\alpha$ -SMA	Alpha-Smooth Muscle Actin
$\mu$ m	Mikrometer
%	Prozent

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schichten der Epidermis.....	2
Abbildung 2: Schichten der Haut im Überblick .....	4
Abbildung 3: Wundheilungsphasen im Überblick .....	8
Abbildung 4: Klinik und Komplikationen von HTS.....	9
Abbildung 5: Einflussfaktoren auf die HTS- Bildung .....	11
Abbildung 6: HTS und Keloide .....	13
Abbildung 7: Die 3R .....	18
Abbildung 8: Flussdiagramm der Literatursuche .....	21
Abbildung 9: Das NMM .....	26
Abbildung 10: Das Rattenmodell .....	28
Abbildung 11: Das Hasenohrenmodell .....	31
Abbildung 12: Narben in Schweinemodellen .....	35

Die Verwendung fremder Abbildungen erfolgte mit freundlicher Genehmigung der Urheber bzw. Rechteinhaber.

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Unterschiede zwischen Hypertrophen Narben und Keloiden.....	12
Tabelle 2: Tiermodelle in der HTS- Forschung.....	40

# Zusammenfassung

**Hintergrund:** Hypertrophe Narben können trotz diverser Präventionsansätze nach wie vor signifikante körperliche und psychische Beschwerden verursachen. Die Therapiemöglichkeiten für diese pathologischen Narben sind überschaubar und verfügen über eine geringe Evidenz. Aus diesem Grund ist die Verwendung zahlreicher Tiermodelle in der Narbenforschung unabdingbar. Jedoch konnte sich bisher keines der Modelle als Goldstandard durchsetzen. Diese Übersichtsarbeit vergleicht die derzeit existenten Modelle und untersucht deren Vor- und Nachteile.

**Methoden:** Pubmed wurde mittels MeSH nach den Schlagworten „Cicatrix, Hypertrophic scar AND Models, Animal“ durchsucht (n=176). CINAHL wurde nach den Schlagworten „Hypertrophic scar AND Animal Model“ durchsucht (n=81). Von den gefundenen 257 Referenzen wurden 157 Referenzen analysiert.

**Ergebnisse:** Die Narbenforschung verwendet derzeit Mäuse-, Ratten-, Meerschweinchen-, Hasen- und Schweinemodelle. Mäuse und Ratten haben den Vorteil von leichter Verfügbarkeit und geringer Kosten, wobei nur eine Narbe pro Tier erzeugt werden kann und die Übertragbarkeit von Studienergebnissen auf den Menschen fraglich ist. Meerschweinchen, Hasen und Schweine bieten die Möglichkeit, mehrere Narben pro Tier zu untersuchen, wobei auch bei diesen, Nachteile wie fragliche Übertragbarkeit auf den Menschen oder aufwendige Narbenerzeugung bestehen. In Bezug auf die 3R, welche bei der Anwendung von Tiermodellen zu beachten sind, sollten Modelle gewählt werden, bei denen die Tiere nicht unnötig leiden und die Tierversuche möglichst reduziert werden können.

**Konklusion:** Keines der untersuchten Tiermodelle kann eindeutig als Standardmodell in der Narbenforschung empfohlen werden, da die jeweilige Forschungsfrage berücksichtigt werden muss, um ein passendes Modell zu wählen. In jedem Fall ist auf eine adäquate Berücksichtigung der 3R zu achten. In diesem Zusammenhang sollte gründlich abgewogen werden, ob ein Tierversuch notwendig ist, oder ob ein in vitro Versuch die Forschungsfrage nicht auch beantworten kann. Dies ist jedoch nicht immer möglich, weswegen die Verbesserung bestehender und die Kreierung neuer Modelle ein wichtiger Bestandteil der Narbenforschung sind, um effiziente und ethisch korrekte Forschung betreiben zu können.

## Abstract

**Background:** Despite various prevention approaches, hypertrophic scars can still cause significant physical and mental disturbances. Treatment measures for these scars are limited and have low evidence. Therefore, the use of many animal models in scar research is indispensable. However none of the models could be implemented as gold standard until now. This review compares the currently existing models and analyzes their advantages and disadvantages.

**Methods:** Pubmed was searched for the terms „Cicatrix, Hypertrophic scar AND Models, Animal“ using MeSH (n=176). CINAHL was searched for the terms „Hypertrophic scar AND Animal Model“ (n=81). 157 of the 257 found references were further analyzed.

**Results:** Currently, mouse, rat, guinea pig, rabbit and pig models are used in scar research. Mice and rats provide the advantage of easy availability and low costs with the downside of only one possible scar per animal in addition to the questionable transferability to humans. Guinea pig, rabbit and pig models have the advantage of the possibility to analyze more than one scar per animal but also have the problem of questionable transferability on to humans and complex scar creation. The 3R should be considered using animal models, therefore, a model, in which the animals do not suffer unnecessary pain and animal testing per se can be reduced, should be chosen.

**Conclusion:** None of the analyzed animal models can be clearly recommended as a standard model in scar research because the particular research question must be considered to choose a suitable model. In either case the 3R should be maintained. Concerning to this it must be gauged carefully if animal testing is necessary or research questions can be answered with in vitro models. This is not always possible and therefore the improvement of existing models and the creation of new models is an important part of scar research to pursue efficient and ethically correct research.

# 1 Einleitung

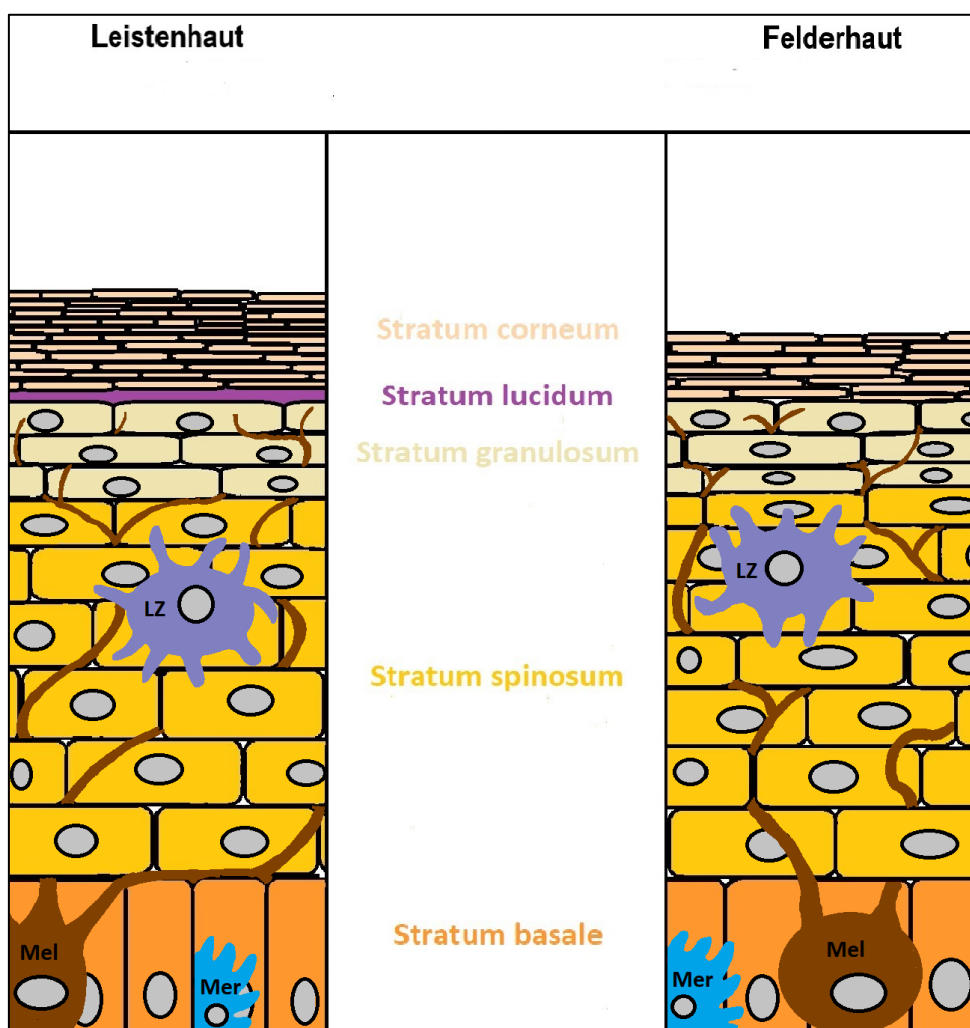
## 1.1 Anatomie der Haut

Die Haut ist mit einer Gesamtoberfläche von bis zu 2m<sup>2</sup> das größte Organ des menschlichen Körpers (1). Aufgrund ihres regional unterschiedlichen Oberflächenreliefs unterscheidet man zwischen Leistenhaut und Felderhaut. Als Leistenhaut versteht man jene haarlose Haut, welche man an den Fingerinnenseiten und Hand- und Fußsohlen findet. Sie macht ungefähr 4% der Körperoberfläche aus und verläuft in parallelen Furchen und bildet so bei jedem Menschen einen einzigartigen Fingerabdruck, welcher die Unterscheidung von verschiedenen Personen ermöglicht (2). Die restlichen 96% der Körperoberfläche werden von Felderhaut bedeckt. Diese ist durch schmale Furchen in unregelmäßige, rautenförmige Felder unterteilt und man findet dort im Gegensatz zur Leistenhaut auch Haare und Talgdrüsen. Schweißdrüsen findet man in beiden genannten Hautformen. Neben der makroskopischen Einteilung in Leisten- und Felderhaut, wird die Haut histologisch grob in Haut und Unterhaut unterteilt. Da man in der Haut jedoch wieder zwischen Epidermis und Dermis unterscheidet, gliedert sich die Haut im Wesentlichen in 3 Schichten. Diese sind von außen nach innen: Oberhaut (Epidermis), Lederhaut (Dermis) und Unterhaut (Hypodermis).

### 1.1.1 Epidermis

Die Epidermis ist eine gefäßlose Hautschicht, welche hauptsächlich aus Hornzellen (Keratinocyten) besteht. Diese sind durch Desmosomen und Tight Junctions fest miteinander verbunden und bilden somit eine widerstandsfähige Barriere gegen Umwelteinflüsse. In der Epidermis der Felderhaut unterscheidet man von außen nach innen zwischen Hornschicht (Stratum corneum), Körnerzellschicht (Stratum granulosum), Stachelzellschicht (Stratum spinosum) und Basalschicht (Stratum basale). In der Leistenhaut findet man histologisch zusätzlich ein Stratum lucidum, welches eine Übergangszone zwischen Körnerzellschicht und Hornschicht bildet (siehe *Abbildung 1: Schichten der Epidermis*). Die Einteilung in die genannten

Schichten beruht auf der Tatsache, dass die Neubildung der Haut im Stratum basale beginnt und sich die Keratinozyten im Laufe ihres Differenzierungsvorganges immer weiter nach oben bewegen und ihre Form verändern. Im Stratum corneum verlieren sie schließlich ihren Kern und bilden in ihrer Gesamtheit ein „totes Schutzschild“ gegen äußere Einflüsse. Neben Keratinozyten findet man in der Epidermis auch Langerhans-Zellen (Antigenpräsentierende Zellen, Immunabwehr), Merkel-Zellen (Druckrezeptoren) und Melanozyten (Produktion von Melanin und Schutz vor genom- schädigender Wirkung von UV- Strahlung) (1,3).

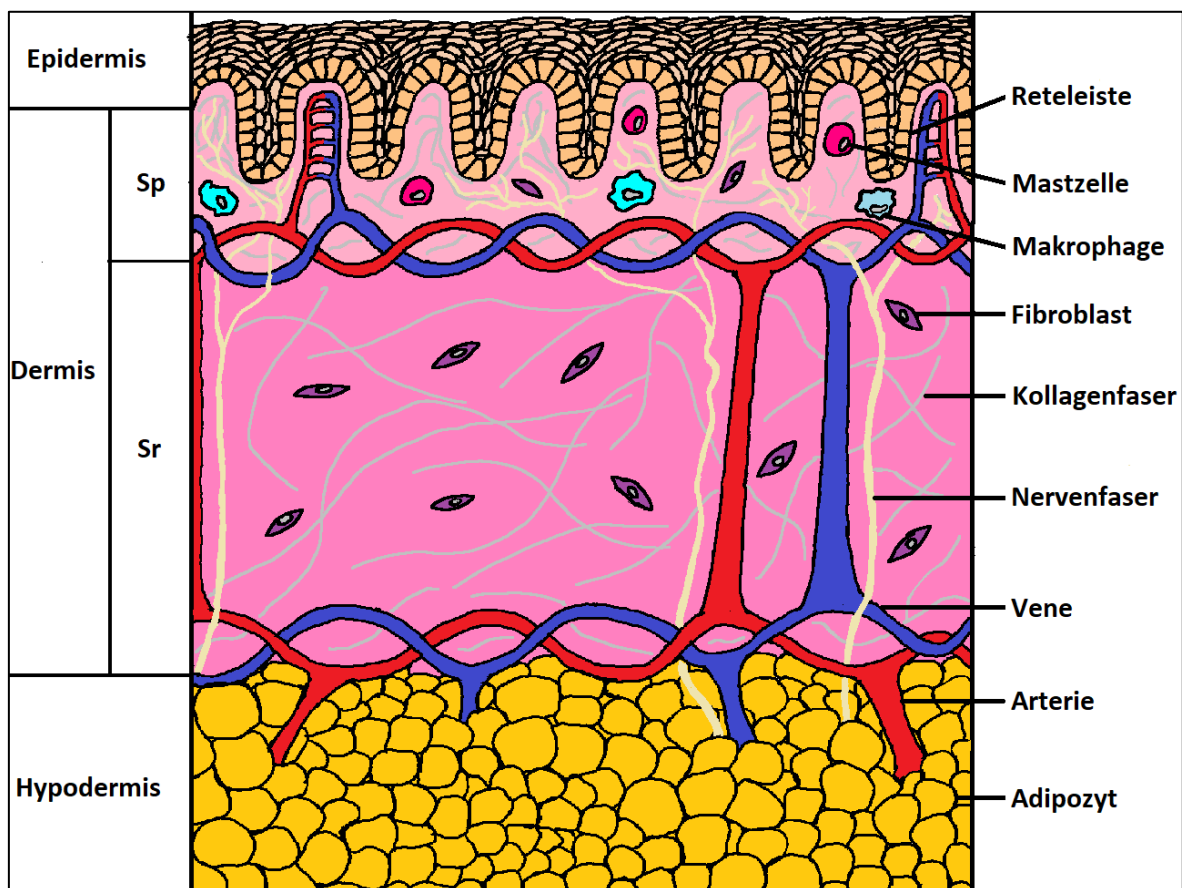


**Abbildung 1:** Schichten der Epidermis. Diese Abbildung zeigt die aus Keratinozyten bestehenden Schichten der Epidermis, sowie zusätzlich in der Epidermis vorkommende Zellen wie Langerhans-Zellen (LZ), Merkelzellen (Mer) und Melanozyten (Mel)

### 1.1.2 Dermis

Unter der Epidermis befindet sich die Dermis (*siehe Abbildung 2: Schichten der Haut im Überblick*). Sie ist über die dermo-epidermale Junctionszone fest mit der Oberhaut verbunden. Die Dermis besteht aus zellulärer Sicht hauptsächlich aus Fibroblasten und Fibrozyten. Diese produzieren die sogenannte extrazelluläre Matrix (EZM), welche den Raum zwischen den Zellen ausfüllt und über Adhäsionsproteine (z.B. Fibronectine) und EZM- Rezeptoren (z.B. Integrine) mit den Fibroblasten und Fibrozyten in Verbindung steht. Durch diese Verbindung ist die EZM in der Lage die zelluläre Proliferation und Differenzierung zu beeinflussen. Die EZM besteht aus Kollagenfasern, elastischen Fasern, Glycosaminoglycanen und Proteoglycanen. Kollagenfasern haben einen Durchmesser von ca. 2-20µm und bestehen aus zahlreichen Kollagenfibrillen (Durchmesser von 15-130nm) (4). Die Kollagenfibrillen wiederum setzen sich aus Kollagenmolekülen zusammen. Derzeit kennt man 28 verschiedene Kollagentypen, allerdings sind nicht alle Typen zur Kollagenfibrillenbildung in der Lage. Kollagenfibrillen bestehen meist nicht ausschließlich aus einem Kollagentyp, sondern aus mehreren verschiedenen Typen. In der Haut findet man in den Fibrillen vorwiegend Kollagen vom Typ 1 und 3, wobei der Kollagentyp die Dicke der Fibrillen beeinflusst (4). Kollagenfasern sind zugfest und in Richtung der unter ihnen befindlichen Muskelfasern ausgerichtet. Die Ausrichtung der Kollagenfasern bezeichnet man auch als *Langer's lines* oder Spaltlinien der Haut (1,5). Diese Ausrichtung macht man sich in der Chirurgie zu Nutze, da Hautschnitte entlang dieser Linien deutlich weniger klaffen und besser heilen, als senkrecht zu den Spaltlinien verlaufende Schnitte (1,6). Neben Kollagenfasern enthält die Haut auch elastische Fasern (Durchmesser von ca. 2µm), welche aus Fibrillin- Mikrofibrillen und Elastin bestehen. Diese Fasern sorgen für die reversible Dehnbarkeit der Haut. Zwischen den Kollagenfasern und elastischen Fasern findet man Glycosaminoglycane (GAG) und Proteoglycane (PG). GAGs (z.B. Hyaluronan) bestehen aus multiplen Disaccharid-Einheiten und dienen als Wasserspeicher. PGs (z.B. Decorin) bestehen aus einem Proteinfaden mit angelagerten GAGs und sind in der Lage den Abstand zwischen den Kollagenfibrillen zu regulieren. Neben Fibroblasten, Fibrozyten und EZM findet man in der Dermis zusätzlich Makrophagen, Plasmazellen, Mastzellen, Meissner-Tastkörperchen (Druckrezeptoren), freie Nervenendigungen

(Schmerzwahrnehmung) und Blutgefäße (1). Histologisch unterteilt man die Dermis in ein oberflächliches Stratum papillare und tiefes Stratum reticulare (1,3). Das Stratum papillare besteht aus lockerem Bindegewebe in welchem man zahlreiche dünne Kollagenfasern (Typ 1 und 3) und elastische Fasern findet. Über seine Papillen ist das Stratum fest mit den anliegenden Reteleisten der Epidermis verzahnt, was den Zusammenhalt dieser beiden Hautschichten sichert. Das Stratum reticulare besteht im Gegensatz zum Stratum papillare aus straffem Bindegewebe mit dicken Kollagenfasern des Typs 1.



**Abbildung 2:** Schichten der Haut im Überblick. Diese Abbildung gibt einen groben Überblick über den anatomischen Aufbau der Haut und die in dieser vorkommenden Zelltypen. **Sp** (Stratum papillare), **Sr** (Stratum reticulare)

### **1.1.3 Hypodermis**

Unter der Dermis befindet sich die Hypodermis. Diese Schicht besteht aus lockerem Bindegewebe und enthält, im Gegensatz zu den beiden bereits genannten oberen Hautschichten, zahlreiche, in Lämpchen angeordnete Fettzellen (Adipozyten), welche durch Bindegewebssepten (Retinacula cutis) voneinander getrennt werden. Diese Septen verbinden die Cutis mit tieferliegenden Strukturen, wie zum Beispiel Faszien und Knochenhaut (Periost) und verhindern, dass die Haut übermäßig verschoben werden kann. Außerdem findet man in diesen Septen auch Gefäße und Nerven, welche aus der Tiefe kommend, weiter in die Dermis ziehen. Alle genannten Hautschichten machen die Haut in ihrer Gesamtheit zu einem Organ, welches zahlreiche lebenswichtige Funktionen erfüllt (1,3).

## **1.2 Funktionen der Haut**

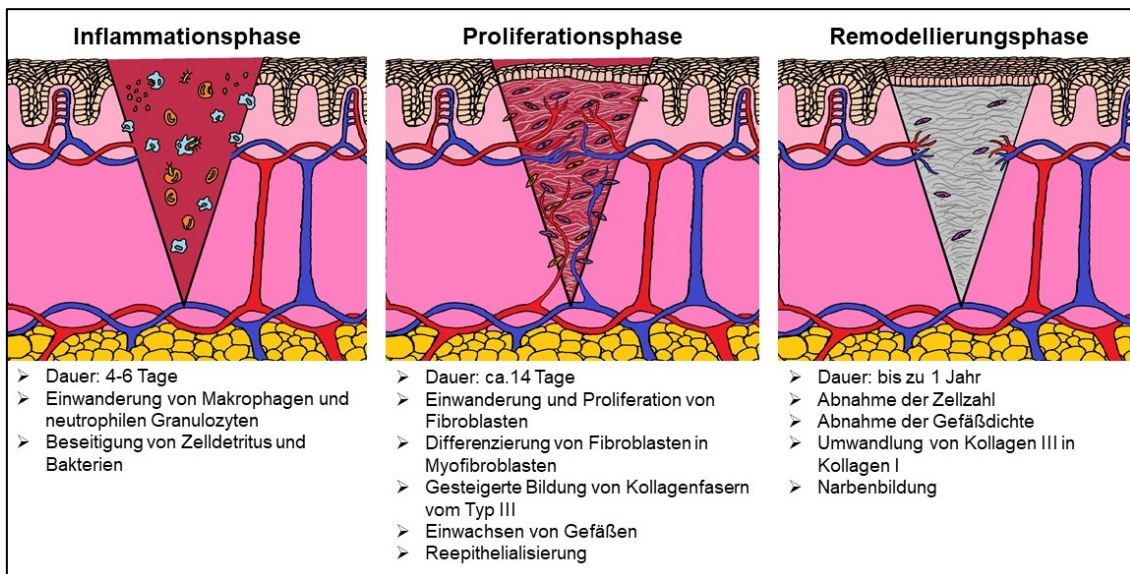
Obwohl die Epidermis an der Leistenhaut nur eine Dicke von 1mm besitzt und im Bereich der Felderhaut mit 50-100µm sogar noch dünner ist, macht sie die Haut zu einem lebensnotwendigen Organ (1). So hat die Haut eine Barrierefunktion gegen Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten. Zusätzlich dient die Haut als Wasserspeicher, welcher durch in der Dermis und Hypodermis vorkommenden Hyaluronane und Proteoglycane vermittelt wird (4). So kann Wassermangel (Exsikkose) bereits oft schon von außen durch einen verminderten Hautturgor festgestellt werden. Auch die Wärmeregulation unseres Körpers ist stark von unserer Haut abhängig. Bei hoher Umgebungstemperatur kommt es in Gefäßen der Haut zu einer Vergrößerung des Gefäßdurchmessers, was eine Verstärkung der Durchblutung und eine verstärkte Wärmeabgabe ermöglicht. Zusätzlich werden Schweißdrüsen aktiviert, welche durch vermehrte Sekretion von Schweiß und dessen Verdunstung die Haut kühlen können. Bei zu niedrigen Umgebungstemperaturen kommt es in den Gefäßen der Haut zu einer Verminderung des Gefäßdurchmessers, was zu verminderter Durchblutung der Körperschale führt und den Wärmeverlust einschränkt (7). Neben den bereits genannten Funktionen ist die Haut auch an der Hormonproduktion von Vitamin D beteiligt, welches eine zentrale Rolle im Knochenstoffwechsel spielt und bei Mangel zu Osteoporose führen kann (8). Bei

Verletzungen der Haut ist es nötig die Integrität dieses Organs so schnell wie möglich wieder herzustellen, um jene Funktionen ausführen zu können, welche oben bereits genannt wurden.

### **1.3 Wundheilung**

Wie die meisten anderen menschlichen Organe, ist auch die Haut nur begrenzt in der Lage sich nach Verletzungen zu regenerieren (9). Während oberflächliche, ausschließlich die Epidermis betreffende Wunden durch Keratinozyten aus tieferen Schichten aufgefüllt werden können und somit nach der Verletzung keine bleibenden Veränderungen auffindbar sind, kommt es bei tieferen Wunden, welche die Dermis erreichen, lediglich zu einer Defektheilung und Narbenbildung (10,11). Die dafür erforderlichen Reparaturprozesse verlaufen in mehreren sich teilweise überlappenden Wundheilungsphasen ab, wobei man zwischen einer Inflammationsphase, Proliferationsphase und Remodellierungsphase unterscheidet (*siehe Abbildung 3: Wundheilungsphasen im Überblick*) (11). Nach einer Verletzung der Haut kommt es zum Austreten von Blut aus den Kapillaren. Dadurch werden in die Wunde eingedrungene Fremdkörper und Mikroorganismen aus der Wunde gespült. Zusätzlich wird eine Gerinnungskaskade in Gang gesetzt, welche schließlich zur Bildung eines Wundschorfes aus koaguliertem Blut und Fibrin führt. Das daraus entstandene Fibringerüst ermöglicht es Zellen vom Wundrand her in die Wunde einzuwandern. Durch die bei der Verletzung der Haut herbeigeführte Zerstörung von Körperzellen kommt es zu einer Freisetzung von Entzündungsmediatoren, was die Einwanderung von Neutrophilen Granulozyten und Makrophagen des M1- Phänotyps (proinflammatorisch) begünstigt. Hierdurch wird die in etwa 4 bis 6 Tage dauernde Inflammationsphase einleitet. Diese Phase ist gekennzeichnet durch Einwanderung von weiteren Entzündungszellen und Beseitigung von Zelldetritus und in die Wunde eingedrungenen Mikroorganismen (12). Auf die Inflammationsphase folgt die in etwa bis zur zweiten Woche dauernde Proliferationsphase. In dieser Phase wandeln sich Macrophagen in den M2- Phänotyp um, welcher antiinflammatorische Zytokine und Wachstumsfaktoren produziert. Hierdurch kommt es zu vermehrter Einwanderung und Proliferation von

Kapillaren und Fibroblasten, welche sich zum Teil zu Myofibroblasten differenzieren (4,13). Ebenfalls ist eine gesteigerte Synthese von Kollagenfasern vom Typ III durch Fibroblasten und Myofibroblasten zu beobachten. Außerdem kommt es zu vermehrter Gefäßneubildung (Angiogenese), welche durch zahlreiche Kapillaren im Wundgebiet gekennzeichnet ist. Das neugebildete Gewebe aus Fibroblasten, Myofibroblasten, Kollagenfasern und Kapillaren bezeichnet man auch als Granulationsgewebe. Weiters kommt es in der Proliferationsphase zur Reepithelialisierung der Wunde. An die Proliferationsphase schließt die Remodellierungsphase an. In dieser letzten Phase der Wundheilung kommt es zum Umbau von Granulationsgewebe in faserreiches und gefäßarmes Narbengewebe. Dies kann Monate bis Jahre dauern und es kommt mit zunehmender Reifung der Narbe zum Abbau von Kollagen III und Ersatz durch Kollagen I, wodurch die Narbe an Stabilität gewinnt (14,15). Normalerweise findet man nach abgeschlossener Wundheilung im Bereich der Verletzung eine weiche, weißlich pigmentierte Narbe (11,16). Histologisch betrachtet sind im Bereich der Narbe keine Reteleisten, Haare und Melanozyten zu finden (11). Kommt es im Laufe der Wundheilung zu Störungen kann dies schwerwiegende Folgen wie zum Beispiel nicht heilende Wunden oder pathologische Narbenbildungen haben (11,14,17). Faktoren welche die Bildung von solchen Narben beeinflussen können biologischer (bakterielle Kolonisation, junges Alter), physikalischer (Zugbelastung, Spannung) oder chemischer Natur sein, währenddessen Chemotherapie, Statine und Rauchen deren Entstehung entgegenwirken (18). Hypertrophe Narbe (HTS) und Keloide sind Typen solch pathologischer Narbenbildungen. Im Folgenden wird näher auf diese Narbentypen eingegangen.



**Abbildung 3:** Wundheilungsphasen im Überblick. Diese Abbildung gibt einen groben Überblick über die Wundheilung mit den 3 Wundheilungsphasen, sowie die in den jeweiligen Phasen ablaufenden physiologischen Prozessen.

## 1.4 Hypertrophe Narben

### 1.4.1 Definition/ Klinik/ Epidemiologie

Unter einer HTS versteht man eine Narbe, welche im Gegensatz zu einer normalen Narbe durch exzessive Kollagenbildung und erhöhte Proliferation von Myofibroblasten definiert ist (19). Klinisch erscheinen HTS als rötliche, schmerzhafte, juckende, kontraktile Narben mit unebener Oberfläche und fester Konsistenz, welche das umgebende Hautniveau deutlich überragen, jedoch niemals über den Rand der ursprünglichen Verletzung hinauswachsen (14,17,20). Neben einer ästhetischen Komponente, welche zu psychologischer Belastung führen kann, können gelenksnahe HTS durch Kontrakturen zu schwerwiegenden Bewegungseinschränkungen führen und die Lebensqualität der betroffenen Patientinnen und Patienten deutlich einschränken (17,21–24) (siehe Abbildung 4: *Klinik und Komplikationen von HTS.*) Treten solche Narben im Gesicht auf, kann durch Zug der Narbe am umliegenden Gewebe ein Ektropium entstehen, welches rasch behandelt werden sollte um weitere Komplikationen zu vermeiden (25,26).

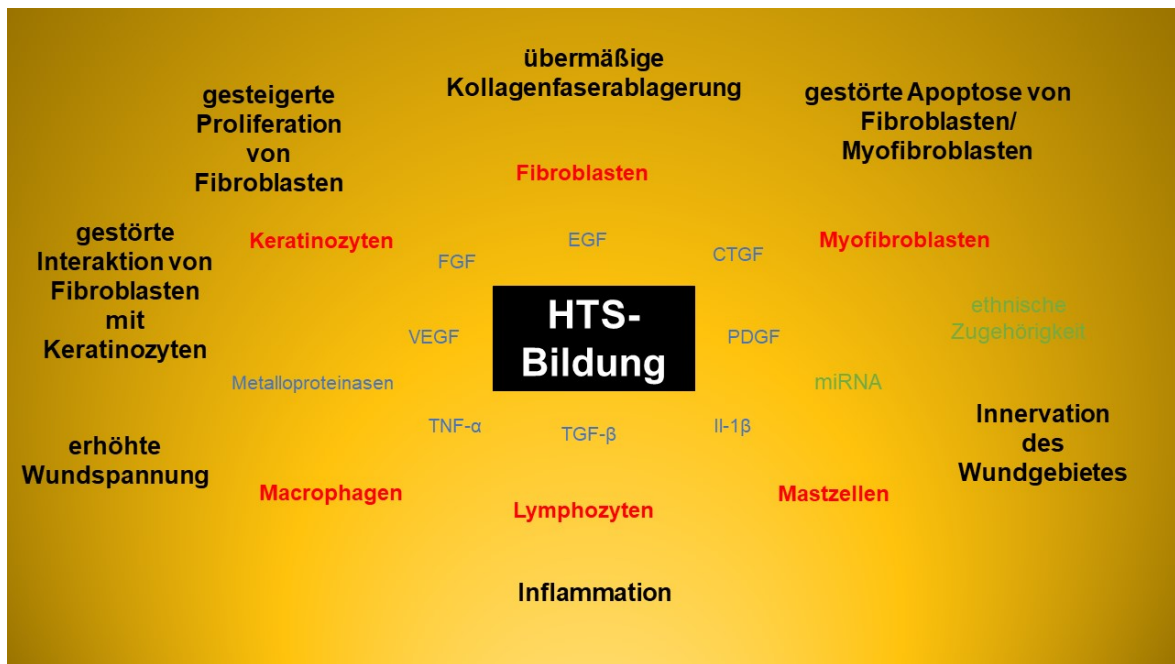
Hypertrophe Narben entwickeln sich für gewöhnlich vier bis acht Wochen nach einer Verletzung, wobei die Art und Tiefe der Verletzung und die ethnische Zugehörigkeit die Häufigkeit des Auftretens beeinflusst (17,27). Je nach Literatur bilden Patientinnen und Patienten nach operativen Eingriffen in 30% bis 50% der Fälle eine HTS, während Patientinnen und Patienten nach Verbrennungen in 30% bis zu 91% der Fälle eine HTS bilden (17,27–32). Es kann innerhalb von Monaten bis Jahren zu einer spontanen Regression von HTS kommen, wobei eine vollständige Rückbildung sehr unwahrscheinlich ist (33,34).



**Abbildung 4:** Klinik und Komplikationen von HTS. A.) HTS am Unterschenkel 4 Monate nach chirurgischem Eingriff (28). B.) Gelenkskontraktur nach Brandverletzung (34). C.) Narbenektropium (35). D.) HTS nach Verbrennung, welche durch Kontrakturen zu eingeschränkter Fingerbeweglichkeit und eingeschränkter Mundöffnung führten (36).

### 1.4.2 Histologie/ Ätiologie/ Pathophysiologie

Histologisch unterscheiden sich HTS von normaler Haut vor allem durch die unterschiedliche Menge und Anordnung von Kollagen Typ 1 und Typ 3 in der Dermis (14,37). So ist die Expression von Kollagen Typ 1 und Typ 3 in Fibroblasten von HTS deutlich erhöht, während die Expression von Kollagenase (spaltet Kollagen) deutlich verringert ist (38–40). Bei HTS findet man in der Dermis feine, gewellte und parallel zur Hautoberfläche ausgerichtete Kollagenfasern sowie Knoten, welche Kollagenfasern und Myofibroblasten enthalten, während Kollagenfasern in normaler Haut eher ungeordnet erscheinen (37,41). Neben der durch überschüssiges Kollagen deutlich verdickten Dermis findet man bei HTS auch vermehrt Blutgefäße, Entzündungszellen sowie Mastzellen (42–44). Die Epidermis kann bei HTS verdickt sein (14). Obwohl man verschiedene histologische Charakteristika von HTS entdeckt hat, sind Ätiologie und Pathophysiologie dieser Pathologie bis jetzt noch immer nicht eindeutig geklärt (*siehe Abbildung 5: Einflussfaktoren auf die HTS-Bildung*) (45). Es ist jedoch bekannt, dass mehrere Faktoren wie beispielsweise gestörte Apoptose und gesteigerte Proliferation von Fibroblasten, übermäßige Kollagenfaserablagerungen, ethnische Zugehörigkeit, erhöhte Wundspannung, gestörte Interaktion von Fibroblasten mit Keratinozyten und entzündliche Reaktionen einen Teil zur pathologischen Narbenbildung und somit zur Entstehung von HTS beitragen (27,45–52). Weiters gibt es Hinweise darauf, dass auch Mastzellen, miRNAs, Makrophagen, Lymphozyten, Metalloproteinasen und die Innervation des Wundgebiets die Bildung von HTS beeinflussen (53–62). Außerdem gibt es eine große Anzahl von inflammatorischen und fibroproliferativen Zytokinen und Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, PDGF, FGF, EGF, CTGF und TGF- $\beta$ , welche bei HTS in abnormer Menge vorkommen (14,19,63,64). Das wohl am Besten untersuchte Zytokin welches bei HTS in abnormer Menge vorkommt, nennt sich TGF- $\beta$ . In seiner Unterform TGF-  $\beta$ 1 steigert es die Synthese von Kollagen und Prostaglandinen (28). Weiters steigert TGF- $\beta$ 1 die Differenzierung von Fibrozyten in Myofibroblasten (47). Im Gegensatz zu TGF- $\beta$ 1 ist TGF- $\beta$ 3, welches der Proliferation von Fibroblasten und somit der Entstehung von Narben entgegen wirkt, bei HTS verringert (65). Ein weiterer für HTS typischer Marker ist das von Myofibroblasten produzierte  $\alpha$ -SMA (45).



**Abbildung 5:** Einflussfaktoren auf die HTS- Bildung. Diese Abbildung gibt einen Überblick über die pathophysiologischen Prozesse (schwarz), Zellen (rot), Zytokine/Wachstumsfaktoren/Enzyme (blaugrau) und Genetik (grün) von denen man annimmt, dass sie die HTS-Bildung beeinflussen.

### 1.4.3 Differenzierung zum Keloid

Um Verwechslungen zwischen HTS und Keloiden zu vermeiden wird hier noch einmal kurz auf deren Unterschiede eingegangen (*siehe Tabelle 1: Unterschiede zwischen Hypertrophen Narben und Keloiden*). Der Hauptunterschied zwischen HTS und Keloiden liegt im klinischen Erscheinungsbild (*siehe Abbildung 6: HTS und Keloide*). Während HTS sich nicht über das ursprüngliche Wundareal hinaus ausbreiten, sind Keloide genau durch dieses Kriterium von HTS zu unterscheiden (14,66,67). Sowohl für die Entstehung von HTS als auch Keloiden ist grundsätzlich eine Verletzung der Haut erforderlich, wobei Fälle beobachtet wurden, in denen sich Keloide auch ohne ein solches Trauma entwickelten (68,69). Histologisch kann man HTS nicht eindeutig von Keloiden unterscheiden, da beide Erkrankungen durch eine verdickte Dermis mit vermehrter Vaskularisation und Infiltration von Entzündungszellen gekennzeichnet sind (43). Im Gegensatz zu HTS können bei Keloiden aber hyalinisierte Kollagenfasern vorhanden sein (41,43). Weiters

unterscheiden sich HTS und Keloide durch das Verhältnis von Kollagen I zu Kollagen III (70,71). Während in HTS deutlich mehr Kollagen III als Kollagen I abgelagert wird, ist es bei Keloiden genau umgekehrt (70,71). Aus diesem Grund ist es möglich HTS mit Immunhistochemie von Keloiden zu unterscheiden (70). Ein weiterer Unterschied von HTS und Keloiden ist das zeitliche Auftreten. Während sich HTS vier bis acht Wochen nach einer Verletzung entwickeln, können Keloide auch erst Jahre nach der Verletzung auftreten (28,72). Zusätzlich scheint neben Inflammation und mechanischer Spannung auch die Hautfarbe ein Risikofaktor für das Auftreten von Keloiden zu sein (43). Obwohl zwischen HTS und Keloiden viele Unterschiede bestehen, gibt es eine Gemeinsamkeit dieser beiden Krankheitsbilder: Trotz ausgiebiger Forschung gibt es bis jetzt keine Therapieoption, welche sich als evidenzbasierter Goldstandard für die Behandlung von HTS und Keloiden etablieren konnte (73).

**Tabelle 1:** Unterschiede zwischen Hypertrophen Narben und Keloiden

	Hypertrophe Narbe	Keloid
Klinik	Erhabene auf das Wundgebiet begrenzte Narbe	Narbe welche das ursprüngliche Wundgebiet überschreitet
Histologie	Vorwiegend fein gewellte, parallel zur Hautoberfläche und teils in Knoten angeordnete Kollagen 3 Fasern	Vorwiegend Typ 1 Fasern; selten in Knoten angeordnet; Fasern können hyalinisiert sein
Auftreten	4-8 Wochen nach Verletzung der retikulären Dermis	Manchmal erst Jahre nach der Verletzung; Fälle ohne Verletzung wurden beobachtet
Risikofaktoren	Inflammation, mechanische Spannung	Inflammation, mechanische Spannung, dunkle Hautfarbe
Verlauf	Regression möglich	Keine spontane Regression



**Abbildung 6:** HTS und Keloide. A.) 34-jähriger Patient mit HTS 8 Monate nach Verbrennung (36). B.) 12-jähriges Kind mit Keloiden nach Brandverletzung (36). C.) 51-jährige Patientin mit Keloid im Bereich des Sternums (74). D.) Keloid am rechten Ohr, ohne erinnerliches Trauma (28).

#### 1.4.4 Prävention und Therapieoptionen

Wie auch bei vielen anderen Erkrankungen gibt es einige präventive Maßnahmen, welche die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von HTS vermindern können. Bei chirurgischen Eingriffen werden Hautschnitte, wenn möglich, entlang der Hautspaltlinien gesetzt, um ein Klaffen der Wunde zu verhindern und die Wundheilung so zu verbessern (1,6,16). Weiters wird darauf geachtet, dass die Wunde nach Wundverschluss unter so wenig Spannung wie möglich steht. Bei nicht chirurgisch verursachten Wunden wird ein Wunddebridement durchgeführt und vorhandene Fremdkörper entfernt um eine übermäßige Entzündungsreaktion, welche die Entstehung einer pathologischen Narbe begünstigt, zu verhindern (75). Neben diesen Allgemeinmaßnahmen zur Prävention von HTS und Keloiden, gibt es noch einige andere Maßnahmen, wie zum Beispiel Silikonverbände, Flavonoidgels und Drucktherapie, welche das Auftreten von solchen Pathologien verhindern

sollen. Trotz dieser Präventionsmaßnahmen ist es nicht immer möglich die Entstehung einer HTS zu verhindern. Derzeit gibt es eine breite Auswahl von Therapiemöglichkeiten, von denen sich jedoch keine als Standardtherapie durchsetzen konnte. So kommen chirurgische Eingriffe, Radiotherapie, intraläsionale Injektionen, Kryotherapie oder Lasertherapie bei der Behandlung von HTS und Keloiden zum Einsatz (76). Die chirurgische Behandlungsoption kommt vor allem bei reifen Narben in Frage welche die Remodellierungsphase abgeschlossen haben und zu Gelenkskontrakturen führen (16). So ist es möglich mit bspw. einer Z-Plastik die durch eine Narbe verursachte Bewegungseinschränkung deutlich zu verbessern. An manchen Körperregionen, an denen ausreichende Gewebereserven um die Narbe bestehen, ist es möglich die Narbe komplett zu entfernen und den dadurch entstanden Hautdefekt spannungsfrei zu verschließen. Leider kann es, wenn auch nicht so häufig wie bei Keloiden, nach dem chirurgischen Eingriff zur Bildung einer neuen HTS kommen. Um die Wahrscheinlichkeit für ein Neuauftreten von Keloiden nach chirurgischer Entfernung zu vermindern ist es möglich eine adjuvante Radiotherapie durchzuführen. Auf diese Weise ist es möglich die Rezidivrate von Keloiden nach chirurgischer Entfernung von 45% bis 100% auf 9,59% zu senken (77–80). Obwohl die Strahlentherapie durch ihre Hemmung der Angiogenese und Fibroblastenaktivität nützliche Eigenschaften für die Behandlung von Keloiden mit sich bringt, sollte man nicht vergessen, dass diese Therapie auch eine karzinogene Wirkung besitzt und somit keine optimale Therapieoption darstellt (81,82). Ein therapeutisches Vorgehen, welches eine deutlich geringere Invasivität als die chirurgische Entfernung besitzt, ist die intraläsionale Injektion von verschiedenen Medikamenten wie zum Beispiel Corticosteroiden, 5-Fluorouracil (5-FU), Bleomycin, Interferon und Botulinum Toxin A (BoNT-A) (83–87). Ein Corticosteroid das für die Behandlung von HTS und Keloiden eingesetzt wird, ist Triamcinolonacetonide (TAC) (88). TAC wirkt durch Vasokonstriktion, Immunsuppression und Hemmung der Fibroblastenproliferation und besitzt daher einige Wirkungen, welche man sich bei der Behandlung von HTS und Keloiden zu Nutze machen kann. Obwohl die Corticosteroid Injektionen zu einer Reduktion von Juckreiz und Schmerz führt, wird die Injektion von Patienten doch als schmerzhaft empfunden und es können unter Umständen Teleangiektasien, Hautatrophie und Hypopigmentation als Nebenwirkung entstehen (89). Ein weiters als intrakutane

Injektion verabreichtes Medikament, welches auch in der Behandlung von Aktinischen Keratosen und Basalzellkarzinomen verwendet wird, ist 5-FU (90). Obwohl 5-FU vorwiegend in der Onkologie eingesetzt wird, konnte auch nachgewiesen werden, dass es durch seine antiproliferative Wirkung auch zu einer Größenreduktion von Keloiden führen kann (91). Nach 5-FU Injektion kann es zu brennenden Schmerzen und Ulcera kommen (91). Weiters wurden bei Patientinnen und Patienten mit dunkler Hautfarbe Pigmentierungsstörungen beobachtet (92). Ein weiteres erst seit kurzem in der Therapie von HTS eingesetztes Medikament ist BoNT-A (87,93). Durch die Fähigkeit von BoNT-A die neuromuskuläre Transmission zu blockieren, sorgt es für eine verminderte Muskelspannung, was sich positiv auf die Wundspannung auswirkt (94,95). Ebenfalls gibt es Hinweise dafür, dass BoNT-A in der Lage ist Narben weicher zu machen und Schmerz sowie Juckreiz bei Keloiden zu lindern (93,96,97). Durch die Fähigkeit Fibroblastenproliferation sowie TGF- $\beta$ 1 Expression zu hemmen bietet es neben der Verringerung der Wundspannung zwei weitere nützliche Angriffspunkte für die Therapie von HTS (98–100). Weitere Medikamente die aufgrund ihres, die Kollagensynthese hemmenden Effektes bei der Behandlung von HTS und Keloiden als intrakutane Injektion verabreicht werden, sind Interferone und Bleomycin (84–86,93,101–103). Auch diese Medikamente haben einige Nebenwirkungen und so können Interferone, auch wenn sie zu einer Verringerung des Narbenvolumens führen, nach Verabreichung zu Schmerzen im Bereich der Einstichstelle und zu grippeähnlichen Symptomen führen, während Bleomycin zwar zur Besserung von Juckreiz und Schmerzen führt, aber leider auch Ulcera, Hautatrophie und Hyperpigmentation verursachen kann (93,101,104–107). Neben operativer Entfernung und intraläsionaler Injektion, besteht auch die Möglichkeit HTS und Keloide mit Laser- oder Kryotherapie zu behandeln (108,109). Die Kryotherapie kann mittels Spray oder Nadel erfolgen, wobei die intrakutane Kryotherapie mittels Nadel bessere Resultate erzielt (108). In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass Kryotherapie zu einer deutlichen Reduktion des Narbenvolumens führt (108,110). Wie auch bei vielen anderen Hauterkrankungen besteht die Möglichkeit HTS mittels Laser zu behandeln (109,111). Derzeit werden für die Behandlung von HTS gepulste Farbstofflaser (PDL) oder fraktionierte Laser verwendet. PDL führen über selektive Fotothermolyse zur Zerstörung von kleinsten Blutgefäßen (112). Weiters hemmen sie die TGF- $\beta$ 1 Expression, die Fibroblastenproliferation und die

Ablagerung von Kollagen Typ 3 (113). PDL-Therapie führt zu einer Verbesserung des kosmetischen Erscheinungsbildes und zu einer Verringerung von Juckreiz und Rötung, ist aber nicht in der Lage das Narbenvolumen signifikant zu vermindern (113–115). Fraktionierte Laser basieren darauf, dass man multiple, winzigste Löcher (microscopic treatment zones) in die Narbe lasert. Auf diese Weise soll die disorganisierte EZM der Narbe zerstört und durch neugebildetes Kollagen ersetzt werden (116). In manchen Studien konnte nachgewiesen werden, dass fraktionierte Laser in der Lage sind das Narbenvolumen zu verringern, wobei es auch Arbeiten gibt, in welchen kein signifikanter Einfluss von fraktionierten Laser auf die Narbendicke beschrieben wurde (117,118). Um die Nebenwirkungen der genannten Behandlungsmethoden gering zu halten und ein bestmögliches Outcome zu erzielen, werden die verschiedenen bekannten Therapieoptionen häufig miteinander kombiniert (67,119,120). Nichtsdestotrotz konnte sich bis jetzt keine Mono- oder Kombinationstherapie als Standardtherapie zur Behandlung von HTS und Keloiden durchsetzen. Grund dafür ist sicher das unzureichende Verständnis der Pathophysiologie dieser pathologischen Narbenbildungen und ein geringer Grad an Evidenz der einzelnen Therapieoptionen. Um die genaue Pathophysiologie der HTS- Bildung zu verstehen und neu Angriffspunkte für Therapieansätze zu finden bedarf es somit weiterer Forschung.

#### 1.4.5 HTS- Forschung und die 3R

HTS- Forschung kann in vitro oder in vivo erfolgen. Aufgrund der Komplexität der HTS- Entstehung ist es bisher nicht möglich, eine adäquate Narbenbildung in vitro darzustellen, weshalb in vivo Modelle häufig bevorzugt werden. Bei der Verwendung von in vivo Modellen in Form von Tierversuchen sollte jeder Versuch unter Einhaltung der 3R stattfinden. In der medizinischen Forschung versteht man unter den 3R Richtlinien, welche aus ethischen Gründen eingeführt wurden und deren Ziel es ist, Tiermodelle, wenn möglich durch andere Modelle zu ersetzen, beziehungsweise vorhandene Tiermodelle zu optimieren (*siehe Abbildung 7: Die 3R*). Bei der Anwendung von in vivo Modellen in der HTS-Forschung sind somit aus ethischen Gründen folgende 3 Punkte (3R) zu berücksichtigen: Ersatz (Replacement), Reduktion (Reduction), Verbesserung (Refinement) (121). Unter dem ersten R (Replacement) versteht man, dass es von jedem Wissenschaftler angestrebt werden muss, anstatt von Tiermodellen Modelle zu wählen, welche kein Schmerzempfinden aufweisen. Zwar gibt es einige in vitro Modelle in welchen man versucht die menschliche Haut auf künstlichem Wege herzustellen, jedoch bestehen diese Modelle meist nur aus Keratinozyten und Fibroblasten (208). Somit ist es in diesen künstlich hergestellten Modellen nicht möglich den komplexen, von verschiedenen Faktoren abhängigen pathophysiologischen Prozess der HTS-Bildung näher zu erforschen. Um in vivo Modelle in der HTS-Forschung komplett durch in vitro Modelle zu ersetzen, bräuchte es Modelle in welchen neben Keratinozyten und Fibroblasten auch weitere Zellarten, wie zum Beispiel Mastzellen, Makrophagen und Lymphozyten integriert sind, da all diese Zellen in der Haut vorkommen und in den Entstehungsprozess von HTS involviert sind (53,56,58). Da derzeitige in vitro Modelle nicht in der Lage sind diese Voraussetzungen zu erfüllen, können Tiermodelle noch nicht vollkommen durch diese ersetzt werden (122). Wenn man in der Forschung darauf angewiesen ist auf Tiermodelle zurückzugreifen, ist es erforderlich das zweite R (Reduction) zu berücksichtigen. Darunter versteht man, dass die Anzahl der in Studien verwendeten Tiere so gering wie möglich gehalten werden muss, wobei darauf zu achten ist, dass eine zu kleine Anzahl ebenfalls vermieden werden sollte, da so keine statistisch signifikanten Ergebnisse gewonnen werden können und die verwendeten Tiere somit einem nutzlosen Leid ausgesetzt werden. Um die Anzahl

der für die Durchführung der HTS- Studien erforderlichen Tiere zu reduzieren, ist es möglich mehrere Narben an einem Tier zu erzeugen, wobei die Körperoberfläche der Tiere die Anzahl der möglichen Narben limitiert und somit größere Tiere zu bevorzugen sind. Eine weitere Reduktion der erforderlichen Tiere erreicht man, indem man bereits veröffentlichte Studien berücksichtigt und für eine ausreichende Wundtiefe und Wunddurchmesser sorgt, da es sonst eventuell zu keiner HTS-Bildung kommt und das jeweilige verletzte Tier somit nicht zu einem Wissensgewinn beiträgt. Zu guter Letzt muss in der Forschung mit Tiermodellen auch das dritte R (Refinement) berücksichtigt werden. Unter Refinement versteht man, dass man die Belastung der Tiere so gering wie möglich halten muss. Um die Belastung und das Leid der Tiere so gering wie möglich zu halten, ist es nötig die erforderlichen Eingriffe unter Anästhesie durchzuführen und anschließend für eine angemessene Schmerztherapie sowie für eine artgerechte Unterbringung zu sorgen. Werden diese Punkte nicht erfüllt, führt dies bei den Tieren zu Stress, was sich wiederum auf die Wundheilung und den Entstehungsprozess von HTS auswirken könnte (123). Die Einhaltung des dritten R (Refinement) führt somit nicht nur zu einer geringeren Belastung der Tiere, sondern verbessert auch die Qualität und Aussagekraft von Studien mit Tieren, was in jedem Fall wünschenswert ist. Wie bereits erwähnt muss in der HTS- Forschung für die Beantwortung einiger Forschungsfragen noch immer auf Tiermodelle zurückgegriffen werden, wobei sich bis jetzt keines der derzeit verwendeten Modelle als Standardmodell durchsetzen konnte.

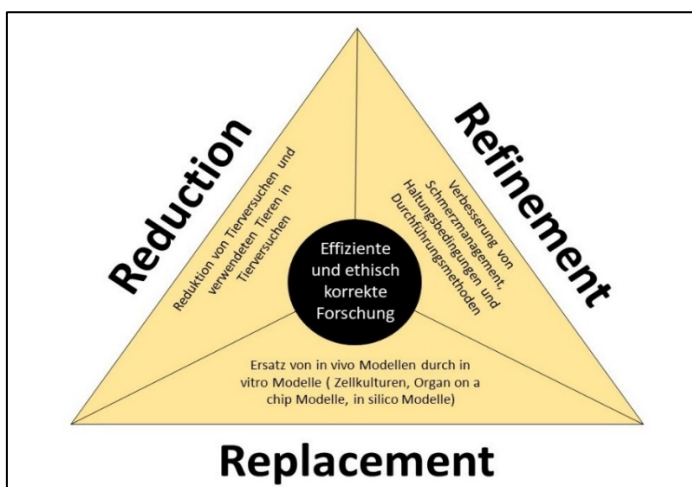


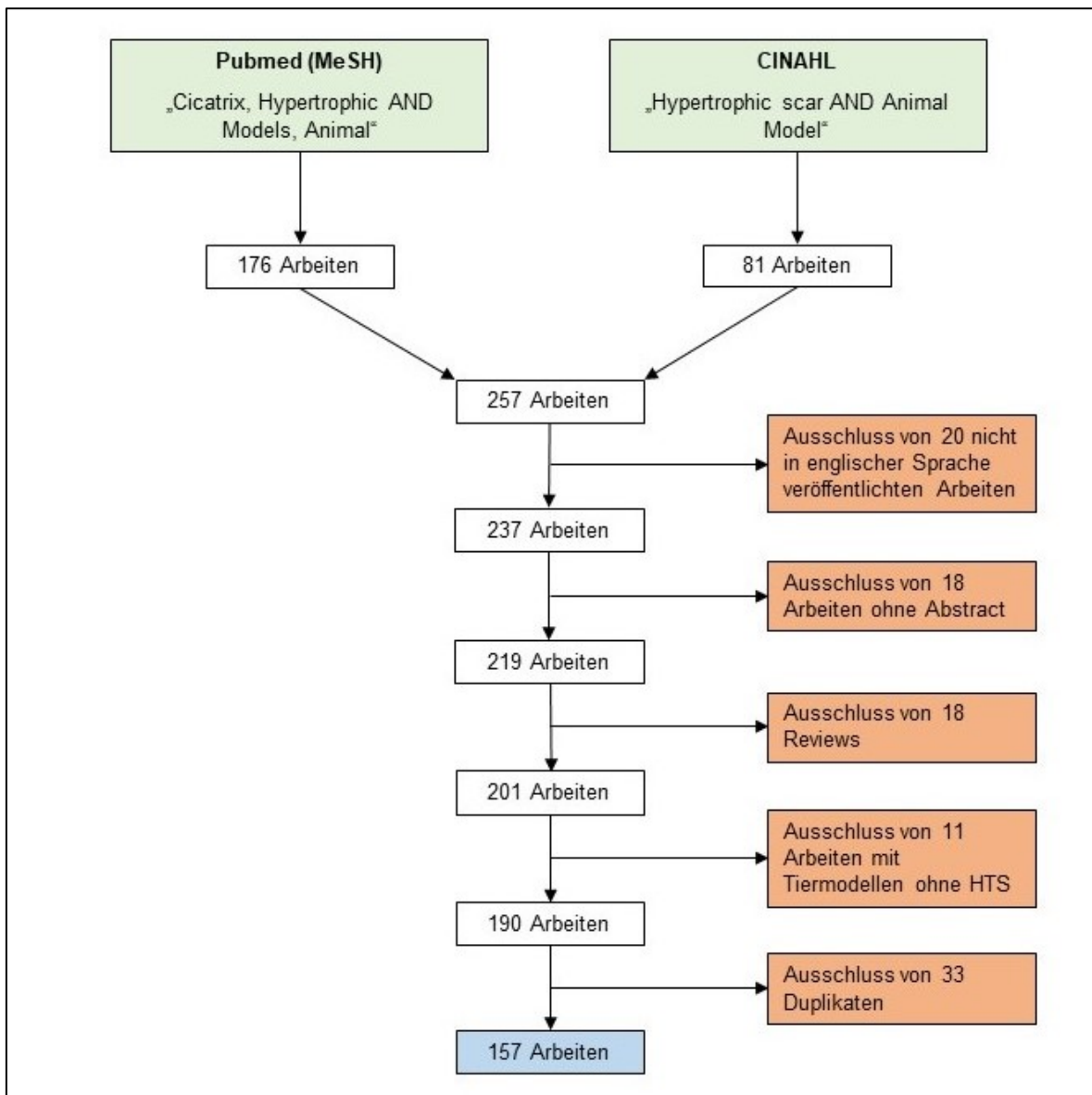
Abbildung 7: Die 3R

## 1.5 Fragestellung

Bei Verletzung von tieferen Hautschichten ist die Haut nicht in der Lage sich vollständig zu regenerieren und es kommt zur Defektheilung mit Bildung einer Narbe. Sollten während der Wundheilung Störungen auftreten, kommt es zur pathologischen Narbenbildung und somit zur Entstehung von HTS oder Keloiden. Diese Narbenformen können zu einem unzufriedenstellenden Erscheinungsbild führen und Betroffene psychisch belasten. Außerdem kann es bei Narben über Gelenken zu Kontrakturen und Bewegungseinschränkungen kommen, was die Lebensqualität der betroffenen Personen beeinträchtigt. Obwohl es bereits eine Vielzahl von bekannten Angriffspunkten für die Therapie von HTS gibt, gibt es noch immer keine optimalen Therapieoptionen. Gerade deswegen ist es unbedingt erforderlich auf diesem Gebiet weitere Forschung zu betreiben, um bessere Einblicke in die Pathophysiologie von HTS zu bekommen und neue Angriffspunkte für Therapiemöglichkeiten zu finden. In der Forschung verwendet man derzeit in vitro und in vivo Modelle um neue Behandlungsmöglichkeiten für HTS zu finden. Obwohl sich in vitro Modelle zur Untersuchung von einzelnen Zellarten eignen, ist es bis jetzt nicht möglich, die Komplexität der lebenden, menschlichen Haut in vitro vollkommen nachzustellen. Dies ist in der HTS- Forschung jedoch von besonderer Bedeutung, da sich verschiedene Zellen gegenseitig beeinflussen (124,125). Daher ist es notwendig auf Tiermodelle zur Erzeugung von HTS zurückzugreifen. Eine Vielzahl verschiedener Tiere kommt in der HTS- Forschung zum Einsatz, wobei sich bis jetzt keines dieser Tiere als Standardversuchstier durchsetzen konnte. Dies erschwert die Planung und den Vergleich von Studien zu HTS und verzögert somit den Wissensgewinn und das Finden von neuen besseren Therapieoptionen. Dementsprechend ist es wichtig, die bereits angewendeten Tiermodelle zu vergleichen und zu bewerten, um herauszufinden ob es ein Modell gibt, welches den anderen Modellen hinsichtlich der Übertragbarkeit auf den Menschen, den Kosten und der Verfügbarkeit des jeweiligen Tieres überlegen ist. Das Ziel der Diplomarbeit ist es, einen Überblick über die derzeit in der HTS-Forschung verwendeten Tiermodelle zu liefern und die Vor- und Nachteile der verschiedenen Modelle zu diskutieren, um in zukünftigen Studien das für die jeweilige Forschungsfrage geeignetste Model zu wählen.

## 2 Methoden

Um einen Überblick über die derzeit verfügbaren Tiermodelle der HTS-Forschung zu liefern und deren Vor- und Nachteile zu analysieren wurde eine Literaturrecherche über Pubmed und CINAHL durchgeführt. In Pubmed wurde für die Literatursuche MeSH verwendet. So wurde Pubmed mittels MeSH nach den Schlagworten „Cicatrix, Hypertrophic AND Models, Animal“ durchsucht. CINAHL wurde nach den Stichworten „Hypertrophic scar AND Animal Model“ durchsucht. Für die Auswertungen wurden Arbeiten herangezogen, welche zwischen 1960 und 2020 veröffentlicht wurden. So wurden über Pubmed 176 und über CINAHL 81 Arbeiten gefunden. Anschließend wurden folgende Ausschlusskriterien festgelegt: nicht in englischer Sprache veröffentlichte Arbeiten, Artikel ohne Abstrakt, Reviews und Arbeiten mit Tiermodellen ohne HTS. Auf diese Weise wurden 67 Arbeiten der insgesamt 257 gefundenen Arbeiten ausgeschlossen. Von den verbliebenen 190 Arbeiten wurden dann weitere 33 Duplikate ausgeschlossen. So wurden die verbliebenen 157 Arbeiten analysiert und die verschiedenen Tiermodelle hinsichtlich Vor- und Nachteile beurteilt. Weiters wurden für die Verfassung der Diplomarbeit zusätzlich zu diesen 157 Arbeiten wichtige Referenzartikel der verwendeten Studien herangezogen. Der Vorgang der Literatursuche wird im Folgenden mit Hilfe eines Flussdiagramms dargestellt (*siehe Abbildung 8: Flussdiagramm der Literatursuche*).



**Abbildung 8:** Flussdiagramm der Literatursuche. Diese Abbildung zeigt den Ablauf der Literaturrecherche mit den in den jeweiligen Datenbanken verwendeten Suchbegriffen (grün), festgelegten Ausschlusskriterien (orange) und Anzahl der in dieser Übersichtsarbeit analysierten Arbeiten (blau).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Die verschiedenen Mausmodelle

Eines der in der medizinischen Forschung wohl am häufigsten verwendeten Versuchstiere ist die Maus. Im Vergleich zu anderen Versuchstieren bieten Mäuse den Vorteil von leichter Verfügbarkeit und Haltung sowie geringen Kosten (122). Es ist also nicht verwunderlich, dass man auch versuchte ein Mausmodell zu entwickeln, welches in der Forschung zu HTS genutzt werden kann. Da die Maus jedoch eine subkutane Muskelschicht namens Panniculus carnosus besitzt, welche beim Menschen ausschließlich am Hals als Platysma und am Skrotum als Musculus Dartos zu finden ist, kommt es durch Anspannung dieser Muskelschicht nach Verletzungen zu einer stark von Kontraktion abhängigen Wundheilung (126). Weiters steht die Haut von Mäusen im Vergleich zu menschlicher Haut unter viel geringerer Spannung, was sich ebenfalls auf die Narbenbildung auswirkt (34,126). Sowohl Panniculus carnosus als auch die geringe Hautspannung sorgen dafür, dass Verletzungen an Mäusehaut ohne die Bildung von deutlich sichtbaren Narben abheilen (126). Aus diesem Grund wurden spezielle Methoden entwickelt, um auch an Mäusen Forschung zu HTS betreiben zu können. 1976 beschrieben Green M.C. et al. einen Mäusestamm mit einer autosomal-dominanten Mutation auf Chromosom 2, welche dazu führt, dass diese sogenannten Tight-Skin-Mäuse (TSM) im Vergleich zu anderen Mäusen eine deutlich straffere Haut besitzen, welche fest am Panniculus carnosus befestigt ist (127–129). 1982 untersuchten H. Paul Ehrlich et al. inwiefern sich die Wundheilung von TSMs im Vergleich zu Mäusen mit normaler Haut unterscheidet. In ihrem Experiment fügten sie TSMs und Mäusen mit normaler Haut mittels Skalpell Wunden am Rücken zu und beobachteten insgesamt 9 Wochen lang welche Unterschiede zwischen den beiden Mäusestämmen im Bezug auf Wundkontraktion, histologischem Erscheinungsbild und Dauer der Wundheilung zu finden waren. Es zeigte sich, dass die Wunden von TSMs deutlich langsamer heilten, weil die Wundkontraktion erst nach 3 Wochen einsetzte. Diese verzögerte Wundkontraktion führte dazu, dass es bei den TSMs im Vergleich zu den normalen Mäusen zu einer deutlich ausgeprägteren Bildung von Granulationsgewebe kam, welches über das umliegende Hautniveau hinausragte.

Dieses Erscheinungsbild war bis zu 6 Wochen nach Verwundung nachweisbar. In der histologischen Untersuchung ließen sich bei TSMs eine deutlich verdickte Dermis mit zahlreichen Fibroblasten und Kollagenfasern nachweisen, wobei die Anordnung dieser Fasern ähnlich wie bei humanen HTS war (130). Eine weitere Möglichkeit HTS an Mäusen zu untersuchen bietet das sogenannte Nude- Mouse-Modell (NMM). Dabei werden menschliche Hauttransplantate auf den Rücken der Tiere transplantiert (*siehe Abbildung 9: Das NMM*). Da es bei immunkompetenten Mäusen jedoch zur Abstoßung des aufgebracht humanen Gewebes kommt, braucht man für die Durchführung dieses Modells spezielle Mäuse mit eingeschränktem Immunsystem (131). Bereits 1966 beschrieb Flanagan einen Mäusestamm, bei welchem es aufgrund einer Mutation im Foxn1- Gen zu fehlender Körperbehaarung und Thymusbildung kommt, was folglich zu einem Mangel von T-Zellen und eingeschränkter Immunabwehr führt und sich positiv auf das Überleben eines Transplantates auswirkt (131–134). Wegen ihres Erscheinungsbilds werden diese immungeschwächten Tiere Nacktmäuse (nude mouse) oder athymische Mäuse (ATM) genannt. 1987 transplantierten Robb et al. humane Vollhauttransplantate auf den Rücken von ATM und fügten diesen anschließend Brandwunden zu (131). Auf diese Weise bildeten die Mäuse Narben welche eine deutlich erhöhte Menge an Kollagenfasern aufwiesen, wobei diese Menge auch von der Hautfarbe des humanen Transplantates abhing. Weiters konnte gezeigt werden, dass Hauttransplantate mit HTS von Verbrennungspatienten nach Transplantation auf den Mäuserücken bis zu 6 Monate lang typische histologische und makroskopische Kriterien aufweisen. Yang et al. erkannten, nachdem sie ebenfalls versucht hatten HTS durch Brandwunden an auf Mäuse transplantierten humanen Vollhauttransplantaten zu erzeugen, dass athymischen Mäuse auch ohne zusätzliche Verletzung nach der Transplantation im Bereich des humanen Gewebes HTS entwickeln (135). 2005 wurde versucht diese Entdeckung zu replizieren und es gelang Yang et al. zu beweisen, dass es für die Erzeugung von HTS im NMM keine weiteren Verletzungen des menschlichen Vollhauttransplantates braucht (136). In ihrem Experiment ohne zusätzliche Verwundung des Transplantates begannen sich nach 20 Tagen deutlich gerötete und feste Narben zu bilden, welche das umliegende Hautniveau sichtbar überschritten und somit makroskopische Zeichen von menschlichen HTS aufwiesen. 10% der verwendeten Tiere zeigten jedoch keine signifikante hypertrophe Narbenbildung. Bei 90% der Mäuse bei

welchen es zur HTS- Bildung kam, blieben diese Narben im Durchschnitt bis 135 Tagen bestehen, wobei bei einigen Mäusen auch 6 Monate nach Wundsetzung noch gerötete, feste und das umliegende Hautniveau deutlich überragende Narben sichtbar waren. Neben den makroskopischen konnten auch histologische Zeichen gefunden werden, welche typisch für HTS sind. So wies man eine durch überschüssige Kollagenfaserbildung verdickte Dermis nach, in welcher die genannten Fasern oberflächlich in Knoten angeordnet waren und in tieferen Hautschichten parallel zur Hautoberfläche verliefen. Yang et al. zeigten ebenfalls, dass es nicht möglich ist HTS an Hauttransplantaten von Ratten zu erzeugen, was auch in anderen Studien nachgewiesen werden konnte (136,137). 2011 untersuchten Wang et al. inwiefern sich die Dicke des humanen Hauttransplantates auf die Erzeugung von HTS im NMM auswirkt (137). Dafür nutzten sie humane Vollhaut- und Spalthauttransplantate, welche auf den Rücken der ATMs aufgebracht wurden. Bei beiden Transplantattypen begannen sich nach 2 Monaten gerötete, feste und das umliegende Hautniveau überragende Narben zu bilden. Nach 4 Monaten wurden diese Narben immer flacher, waren aber auch nach 7 Monaten noch sichtbar. Diese Narben wiesen bei den Spalthauttransplantaten (SHT) im Vergleich zu den Vollhauttransplantaten (VHT) eine signifikant höhere Anzahl an Macrophagen, Mastzellen und Fibrozyten auf. Ebenfalls zeigte sich bei den Narben der SHT eine dichtere Vaskularisierung und eine prozentuell auf die ursprüngliche Transplantatdicke bezogene höhere Narbendicke. Weiters ließen sich bei beiden Transplantattypen erhöhte Level an TGF- $\beta$ 1, CTGF und Kollagen 1 mRNA nachweisen (137). Außerdem wiesen die Narben der SHT eine deutlich höhere Anzahl an Zellen mit  $\alpha$ -SMA Expression auf, was typisch für Myofibroblasten ist und auch in menschlichen HTS zu beobachten ist (137). Neben der den menschlichen HTS ähnlichen makroskopischen Erscheinung und der Erhöhung von Myofibroblasten, Mastzellen, CTGF und TGF- $\beta$ 1, sowie den typisch für HTS horizontal zur Hautoberfläche angeordneten Kollagenfasern, wurden in Narben des NMMs auch erhöhte Werte von Biglycan und erniedrigte Werte von Decorin, wie sie auch bei menschlichen HTS vorkommen, nachgewiesen (138,139). Da HTS beim Menschen mit einer kritischen Verletzungstiefe assoziiert sind, untersuchten Saad et al. 2016 wie sich die im NMM ohne zusätzliche Verwundung hergestellten HTS von Narben unterscheiden, welche durch eine zusätzliche Verletzung des Hauttransplantates verursacht wurden (22). Dafür wurden menschlichen

Vollhauttransplantaten entweder vor oder nach Transplantation auf den Rücken von ATMs mittels Skalpell 2cm lange und mindestens 0,6mm tiefe Schnittwunden zugefügt. Es bildeten sich sowohl auf unverwundeten als auch auf den zusätzlich verwundeten Transplantaten Narben welche nach 2 Monaten klinische Kriterien von HTS, wie Rötung, Festigkeit und Erhabenheit im Bezug auf das umliegende Hautniveau aufwiesen. Histologisch zeigten alle Narben eine erhöhte Anzahl an Kollagenfasern, welche horizontal zur Hautoberfläche verliefen. Nach 2 Monaten waren die Narben der zusätzlich verwundeten Transplantate deutlich dicker als die der Unverwundeten und wiesen eine höhere Anzahl an Myofibroblasten, Macrophagen und Mastzellen auf, wobei sich diese erhöhten Werte mit der Zeit immer weiter an jene der unverwundeten Transplantate annäherten (22). Zwischen den vor und nach der Transplantation verwundeten Hauttransplantaten konnte hinsichtlich Morphologie und Histologie kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, jedoch wurde die Verwundung vor Transplantation auf den Mäuserücken als einfacher durchzuführen und für die Tiere weniger belastend beschrieben (22). Obwohl man für die Herstellung von HTS an Mäusen meist athymische Mäuse und zusätzlich menschliche Hauttransplantate verwendet, gibt es auch einige Versuchsmodelle, in welchen man auch an gewöhnlichen Mäusen ohne das Erfordernis von menschlichem Gewebe, durch spezielle Methoden HTS erzeugen konnte (140,141). So zeigten Arabi et al. in einem Experiment, dass man bei Mäusen nach Schnittwunden HTS erzeugen kann, indem man in der Proliferationsphase, 3-6 Wochen post incisionem, die Wundspannung mindestens 7 Tage lang erhöht (140). Die auf diese Weise erzeugten Narben wurden makroskopisch als über das umliegende Hautniveau hinausragend beschrieben und zeigten histologische Kriterien von HTS wie horizontal und parallel zur Hautoberfläche verlaufende Kollagenfasern, Kollagenfaserknoten, erhöhte Zahl von Mastzellen, Verlust der Reteleisten, Hypervaskularität und erhöhte Anzahl von Fibroblasten. Diese Veränderungen persistierten bis zu 6 Monate lang, wobei anzumerken ist, dass es nur zu HTS-Bildung kam, wenn die Wundspannung in der Proliferationsphase erhöht wurde. Veränderung der Wundspannung in der Inflammationsphase und Remodellierungsphase führten zu keiner hypertrophen Narbenbildung (140). Ein weiteres Model zur Herstellung von HTS an immunkompetenten Mäusen bietet das Bleomycinmodell. 2014 veröffentlichten Alexander M. Cameron et al. die Ergebnisse eines Experimentes, bei welchem sie

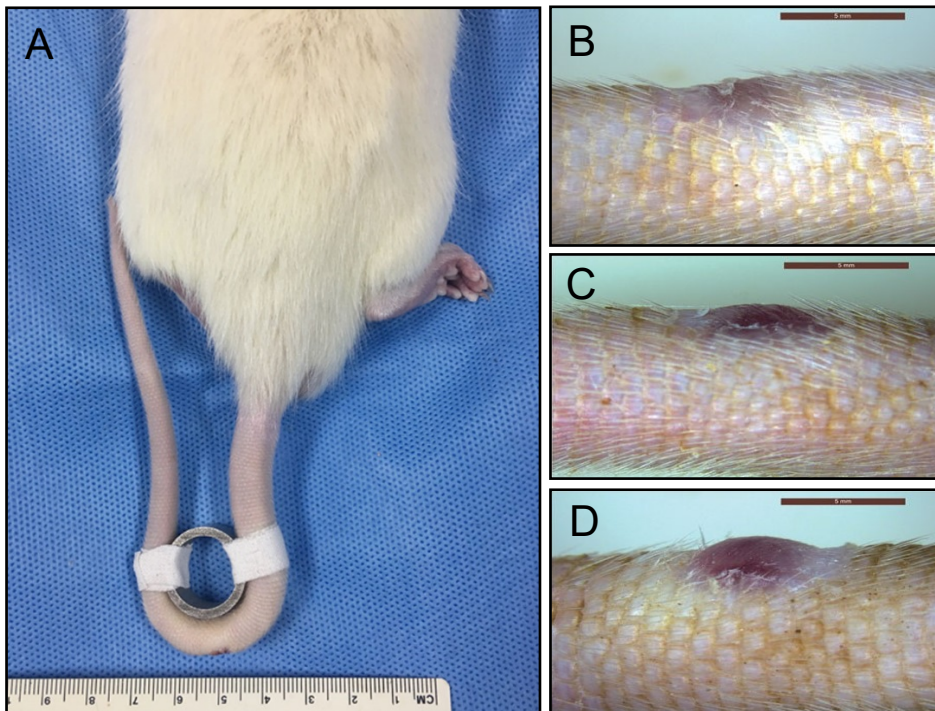
an Mäusen die Einflüsse von Bleomycin auf die Entstehung von HTS untersuchten (141). Dafür implantierten sie den Tieren jeweils eine osmotische Pumpe welche entweder mit Bleomycin oder phosphatgepufferter Salzlösung (PDS) gefüllt war und über einen Zeitraum von 28 Tagen kontinuierlich, in einer konstanten Rate die jeweils gefüllte Substanz abgab. Während man in der Haut von den mit PDS behandelten Mäusen keinen histologischen Unterschied zu normaler Haut feststellen konnte, zeigten die mit Bleomycin behandelten Tiere typische Charakteristika von HTS, wie eine verdickte Dermis, ein abnormales Verhältnis von Kollagen I zu Kollagen III, vermehrte Zahl von Myofibroblasten und erhöhte Werte von TGF- $\beta$ 1. Nach 56 Tagen zeigte sich im Vergleich zu den nach 28 Tagen untersuchten Proben eine signifikante Abnahme von TGF- $\beta$ 1 und der Myofibroblastenzahl und eine deutlich verdicktere Dermis. Im Vergleich zu histologischen Proben von menschlichen HTS zeigte sich, dass die murinen Narben nach 28 Tagen Ähnlichkeiten mit menschlichen unreifen HTS aufwiesen und nach 56 Tagen eher reifen humanen HTS ähnelten (141).



**Abbildung 9:** Das NMM. Abbildung einer athymischen Maus kurz nach der Transplantation von menschlicher Haut (links), sowie die nach 3 Monaten deutlich sichtbaren HTS (Mitte und rechts) (136).

### 3.2 Das Rattenmodell

Neben Mäusen spielen auch Ratten in verschiedenen medizinischen Forschungsbereichen eine große Rolle. Da Ratten im Vergleich zu Mäusen eine größere Körperoberfläche besitzen, ist es möglich größere beziehungsweise mehrere Wunden auf einem Tier zu setzen, um HTS zu erzeugen. Nichtsdestotrotz findet man auch bei Ratten unter einem Großteil der Hautoberfläche den bereits genannten Panniculus carnosus, welcher sich nach Verwundung kontrahiert und die Wundheilung beschleunigt (142). Diese Kontraktion führt zu einer Heilung per primam intentionem mit nur geringer Narbenbildung und unterscheidet sich somit von der menschlichen Wundheilung, welche stark von der Bildung von Granulationsgewebe abhängig ist. 2019 beobachteten Zhou et al. bei ihrem Versuch ein neues Rattenmodell für die Wundheilungsforschung zu entwickeln, dass es bei Wunden am Rattenschwanz, durch die dortigen anatomischen Begebenheiten, im Vergleich zu dorsalen Wunden, zu einer deutlich geringeren Kontraktion und folglich verzögerten Heilung mit vermehrter Bildung von Granulationsgewebe kam (142). Auf diese Weise entwickelten sich am Rattenschwanz Narben welche auch 6 Monate post incisionem eine sichtbare Rötung aufwiesen. Im Wissen, dass eine Erhöhung der auf der Wunde liegenden Spannung das Auftreten von HTS begünstigt, wurden die Verletzungen bei einigen Tieren mithilfe eines auf der von der Verwundung gegenüberliegenden Schwanzseite befestigten Stahlrings unter Zugspannung gesetzt (*siehe Abbildung 10: Das Rattenmodell*). Aufgrund dieser mechanischen Belastung kam es nach 2 Wochen zur Bildung von geröteten Narben, welche deutlich über das umliegende Hautniveau hinausragten. Neben diesen für HTS typischen makroskopischen Kriterien wies man auch histologisch und immunhistochemisch Ähnlichkeiten zu humanen HTS nach. So zeigte sich bei den Narben am Rattenschwanz ein für HTS typisches Verlaufsmuster der Kollagenfasern, eine erhöhte Gefäßdichte, sowie eine Erhöhung der Expression von Kollagen I, TGF- $\beta$ 1, IGF-1,  $\alpha$ -SMA und Versican (142).



**Abbildung 10:** Das Rattenmodell. A.) Spannungsvorrichtungen am Rattenschwanz. B.) Narbe am Rattenschwanz ohne applizierte Spannung. C.) Narbe nach Applikation von geringer Spannung. D.) Narbe nach Applikation von hoher Spannung (142).

### 3.3 Das Hasenohrenmodell

Wie auch bei Mäusen, Ratten und vielen anderen Säugetieren findet man bei Hasen in der Subcutis der meisten Körperregionen den sogenannten Panniculus carnosus. 1966 entwickelten J. Joseph und Mary Dyson, nachdem sie bei Wunden an Hasenohren eine für Nagetiere ungewöhnlich starke Bildung von Granulationsgewebe beobachtet hatten, das erste Hasenohrenmodell zur Bildung von HTS (143). Als Grund für diese interessante Entdeckung nannten sie die unterschiedlichen anatomischen Verhältnisse der Haut von Ohr und restlicher Körperoberfläche. Da die Haut aurikulär im Vergleich zu anderen Regionen, durch ihre Fixierung am Knorpelgewebe des Ohrs, deutlich weniger beweglich ist, kommt es bei der Wundheilung nur zu einer geringen Beteiligung von Kontraktion und folglich zu einer ausgeprägteren Narbenbildung. Im Experiment von Joseph und

Dyson wurden an den Hasenohren keine oberflächlichen Wunden, sondern die gesamte Dicke des Hasenohres durchschreitende Wunden gesetzt, so dass Löcher in den Ohren entstanden. Histologisch gelang es ihnen Granulationsgewebe mit zahlreichen Fibroblasten, Mesenchymzellen, Lymphoiden Zellen und neugebildeten Gefäßen nachzuweisen. Ebenfalls entdeckten sie im Laufe ihrer Beobachtung eine mit der Zeit zunehmende Zahl von Kollagenfasern, welche einerseits als dicke, in Wachstumsrichtung des Granulationsgewebes verlaufende Bündel und andererseits als dünne ungeordnet verlaufende Bündel angeordnet waren (143). Neben diesen Entdeckungen wurden im neuen Gewebe das durch die Wundheilung entstanden war auch eine gesteigerte Zahl von neuen Nervenfasern, welche zu Beginn eher dünn und mit der Zeit immer dicker und zahlreicher wurden, entdeckt. Durch die Verletzung des Ohrknorpels kam es jedoch auch zur Proliferation von Knorpelgewebe, welches teilweise ins Granulationsgewebe einwuchs und eventuell auch die gesamte Wundheilung beeinflusst haben könnte. 1996 beschrieben D.E. Morris et al ein neues Hasenohrenmodell bei welchem die Wunden auf der ventralen Seite des Hasenohres gesetzt wurden, wobei die Tiefe nur bis zur Knorpeloberfläche reichte (144). Um herauszufinden wie lange HTS am Hasenohr maximal bestehen bleiben, setzten sie an 16 Hasenohren jeweils eine Wunde mit einer Breite von 1.5 cm und einer Länge von 4.5 bis 7.0 cm, wobei ein Teil der verursachten Verletzung zusätzlich mit einer bipolaren Pinzette am Wundrand kauterisiert wurde. Auf diese Weise kam es nach durchschnittlich 20 Tagen bei 69% der Wunden zur Bildung einer HTS, welche sichtbar über das umliegende Hautniveau hinauswuchs und eine deutliche Rötung aufwies, welche ab dem fünfzigsten Tag nach Wundsetzung allmählich abnahm. Histologisch beobachtete man, wie auch bei Joseph und Dyson (143), eine Proliferation von Knorpelgewebe und eine Narbe mit vermehrter Anzahl von neugebildeten Gefäßen, Entzündungszellen und Kollagenfasern (144). Diese Fasern waren in den tieferen Anteilen der Narbe horizontal ausgerichtet, während der über das umliegende Hautniveau ragende Anteil der Narbe irregulär, teils in Knäulen angeordnete Kollagenfasern aufwies. Die so erzeugten HTS waren teilweise bis zu 288 Tage nach Wundsetzung, mit bloßem Auge nachweisbar, wobei alle kauterisierten Wunden zur Bildung von solch langandauernden Narben führten (144). Grund dafür könnte eine Schädigung des Perichondriums durch das Kauterisieren gewesen sein. So erkannten Kloeters et al, dass die Reepithelialisierung von Wunden durch

Entfernung des Perichondriums um 8 bis 14 Tage verzögert werden kann (145). Diese Verzögerung der Wundheilung ist wiederum mit einer verstärkten Narbenbildung und einer länger bestehend bleibenden Narbe assoziiert, was für die Untersuchung von neuen Therapiemöglichkeiten zur Behandlung von HTS sehr nützlich ist (144). Meist nutzt man weibliche Kaninchen, da gezeigt werden konnte, dass es bei Männchen zu einer schnelleren Wundheilung kommt und dies der Erzeugung von HTS eventuell entgegenwirkt (143). Wählt man jüngere Tiere ist die Auswahl des Geschlechts vernachlässigbar, da bei jungen Kaninchen kein Unterschied im Bezug auf die Wundheilung festgestellt werden konnte (144). Ein weiterer Grund warum man eher junge Tiere mit einem Alter von bis zu 6 Monaten verwendet, ist die mit dem Alter abnehmende Ausprägung der Narbenbildung aufgrund einer sinkenden Proliferationsrate von Fibroblasten (146,147). So konnte nachgewiesen werden, dass es bei 3 bis 6 Monate alten Kaninchen im Vergleich zu 44 bis 62 Monate alten Kaninchen nach gleichwertiger Verletzung zu einer deutlich stärkeren Narbenbildung kommt (148). Pro Kaninchen können zwei bis zwölf HTS erzeugt werden, wobei darauf zu achten ist, dass die verursachten Wunden einen Mindestdurchmesser von 7mm haben, da kleinere Verletzungen meist keine HTS hinterlassen (64,145,149–152). Nach Wundsetzung am ventralen Ohr mit aufwendiger Entfernung des Perichondriums reepithelialisieren die Wunden nach 14 bis 23 Tagen und man erhält nach etwa 28 Tagen menschlichen HTS ähnliche Narben, welche für Therapieversuche genutzt werden können, wobei die Narbenbildung am 35 Tag nach Wundsetzung ihren Höhepunkt erreicht (56,148,150,153,154) (*siehe Abbildung 11: Das Hasenohrenmodell*). Die Entfernung des Perichondriums vom Knorpel erfordert hohes Geschick und Erfahrung, da man eine Schädigung des Knorpels, welche eventuell die folgende Wundheilung und den geprüften Therapieeffekt beeinflusst, möglichst verhindern möchte. Um Knorpelschäden zu minimieren und die Durchführung des Modells zu vereinfachen, untersuchten Tunca et al. die Anwendung von Kryochirurgie zur Entfernung des Perichondriums (155). Im Vergleich zur herkömmlichen chirurgischen Entfernung mittels Skalpells, wurde das Perichondrium mit flüssigem Stickstoffspray behandelt und konnte nach 16 Tagen ohne Probleme vom Knorpel gelöst werden. Obwohl zwischen beiden Methoden kein signifikanter Unterschied bezüglich der Knorpelschädigung festgestellt werden konnte, lieferte die Anwendung von Kryotherapie Narben, welche sich morphologisch nicht von den

herkömmlich erzeugten HTS unterschieden. Obwohl die Wunden beim Hasenohrenmodell üblicherweise mechanisch mittels Stanzbiopsie verursacht werden, gibt es auch Studien in welchen man versuchte HTS durch Verbrennungen zu verursachen. So gelang es mit auf 90°C erhitzten Messingstäben Wunden zu erzeugen, welche im Vergleich zu mechanisch verursachten Verletzungen um 22% größere HTS nach sich zogen (156). Histologisch wurde in einigen Fällen aber eine Proliferation des Perichondriums nachgewiesen, welche aus makroskopischer Sicht zu Fehlinterpretation einer HTS führen könnte.



**Abbildung 11:** Das Hasenohrenmodell. Diese Abbildung zeigt Wunden am Hasenohr nach Entfernung der Haut und des Perichondriums (oben), sowie die dadurch gebildeten HTS (unten) (154).

### 3.4 Das Meerschweinchenmodell

Wie auch Mäuse und Ratten, sind auch Meerschweinchen aufgrund ihrer leichten Verfügbarkeit und geringen Kosten ein sehr beliebtes Versuchstier in der medizinischen Forschung. Die ersten wissenschaftlichen Experimente mit Meerschweinchen wurden bereits im 17. Jahrhundert durchgeführt und viele bahnbrechende medizinische Erkenntnisse, wie die Entdeckung der Ursache von Tuberkulose oder das Phänomen der erworbenen Immunität, wären ohne die Verwendung dieses Versuchstieres vielleicht erst viel später oder gar nicht gemacht worden (157,158). Da sie im Vergleich zu anderen kleinen Nagetieren, welche in der Forschung verwendet werden, eine relativ große Körperoberfläche besitzen, die für die Erzeugung von HTS genutzt werden kann, wurde versucht ein Meerschweinchenmodell zu diesem Zweck zu etablieren. 1996 beobachtete man, dass Meerschweinchen nach Verbrennungen und Behandlung mit Steinkohleteer in der Lage waren HTS zu bilden (159). 2002 entschieden sich H. Mete Aksoy et al. diese Beobachtung zu überprüfen und so führten sie eine Studie durch in welcher sie die Narbenbildung nach thermischer, mechanischer und zusätzlicher Anwendung von Steinkohlenteer beobachteten (160). So teilten sie 35 Meerschweinchen in drei Gruppen ein, wobei die Wunden in Gruppe 1 per Exzision und in Gruppe 2 per erhitztem Aluminium (75°) abdominal verursacht wurden. In Gruppe 3 wurden dorsal Exzisionen durchgeführt, welche anschließend mit Steinkohleteer behandelt wurden. Zusätzlich wurde in Gruppe 1 und 3 der Panniculus carnosus entfernt. In Gruppe 1 und 2 waren die Wunden nach spätestens 5 Wochen vollständig reepithelialisiert und wiesen keine sichtbare hypertrophe Narbenbildung auf. In Gruppe 3 starben 20% (3 Tiere) der Versuchstiere aufgrund der toxischen Wirkung von Teer. Von den überlebenden 12 Tieren zeigten 83% (10 Tiere) nach der dritten Woche klinische Zeichen von hypertropher Narbenbildung, wobei diese Zeichen nur bei 50% (6 Tiere) ausreichend ausgeprägt waren, um wirklich von HTS zu sprechen. Histologisch konnte man in Bündeln und Knoten angeordnete Kollagenfasern, vaskuläre Proliferation, Myofibroblasten und eine endotheliale Hyperplasie nachweisen. Obwohl man ohne Teer keine HTS erzeugen konnte, gibt es doch Studien, welche Meerschweinchen verwenden um neue Therapiemöglichkeiten zur

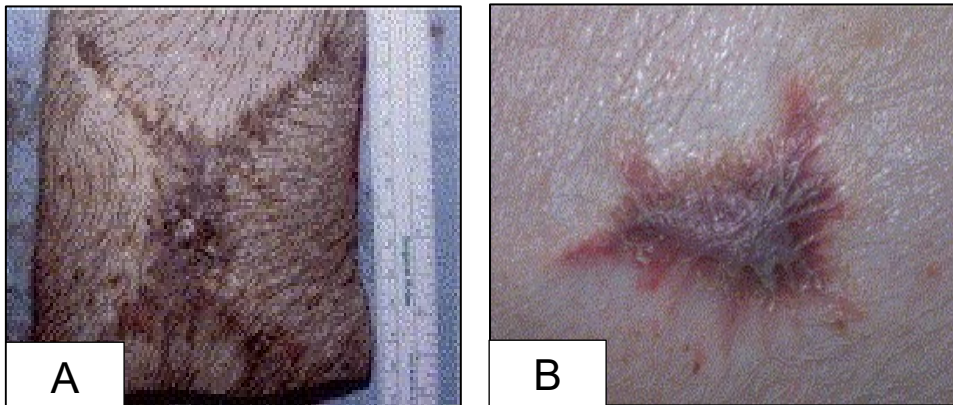
Narbenbehandlung zu testen (161,162). In diesen Versuchen werden die Wunden jedoch ausschließlich am Rücken gesetzt, was möglicherweise durch geringere Beweglichkeit der Haut am Rücken zu HTS führt (160).

### **3.5 Schweinemodelle**

Die Haut von Schweinen besitzt hinsichtlich Makroskopie und Histologie einige Ähnlichkeit zu menschlicher Haut (163). So besitzen Mensch und Schwein eine ähnliche Behaarungsdichte und in beiden Spezies findet man in der Epidermis Reteleisten, welche mit den Papillen einer elastinfaserreichen Dermis verzahnt sind. Bereits 1976 beobachteten Silverstein und seine Kollegen in ihren Experimenten mit weiblichen Duroc- Schweinen, dass diese Schweinerasse in der Lage ist hypertrophe Narben zu bilden (164). Diese Beobachtungen konnten in anderen Studien jedoch nicht nachgewiesen werden und so ging man schließlich davon aus, dass sich dieses Schweinemodel nicht für die Erzeugung von HTS eignet (165). Nichtsdestotrotz wird dieses Model heute in vielen Studien zur Herstellung von HTS verwendet, da die Beobachtungen Silversteins letztendlich doch reproduziert werden konnten (32,166). So konnte man nachweisen, dass Duroc- Schweine eine dem Menschen sehr ähnliche Wundheilung besitzen (167,168). Weiters konnte man feststellen, dass die Narben von Duroc- Schweinen histologische und biomolekulare Ähnlichkeiten zu menschlichen HTS aufweisen (32,169–172). Pro Tier können zwei bis 8 HTS erzeugt werden (173,174). Meist werden die Wunden am Rücken oder auf der Flanke gesetzt, da dies Bereiche sind welche unter geringer mechanischer Belastung stehen (32,173,174). Außerdem erleichtert dies die spätere Beurteilung der Narben. Für die Wundsetzung verwendet man ein Dermatom oder erhitztes Metall, je nachdem ob man HTS durch Brandwunden oder HTS nach Schnittverletzungen untersuchen möchte (173,174). Je nachdem wie tief die Wunden gesetzt werden, kommt es zu unterschiedlichen Ergebnissen bezüglich Makroskopie und Histologie. Oberflächliche Wunden mit einer am Dermatom eingestellten Tiefe von bis zu 0,508 mm reepithelialisieren bereits nach einer Woche und sind klinisch kaum von der umgebenden und unverletzten Haut abzugrenzen (166,174). Auch histologisch findet man bei oberflächlichen Wunden keinen

Unterschied zu gesunder Haut (166,174). Wunden mit einer am Dermatom eingestellten Tiefe von 1,524 mm heilen nach 2 bis 8 Wochen, wobei die Narbendicke sich nur geringfügig von der Dicke der normalen Dermis unterscheidet, sodass die Narben das umliegende Hautniveau kaum überragen (166,175,176). Bei einer Tiefe von 2,3mm heilen die Wunden nach 30 bis 70 Tage (175,177,178). Im Gegenzug zu den genannten oberflächlichen Verletzungen, bilden sich nach tiefen Verletzungen hyperpigmentierte, harte und das umgebende Hautniveau überschreitende Narben (166,170,174,175). Diese Narben sind den humanen HTS zwar in gewissen Aspekten ähnlich, jedoch gibt es dennoch Eigenschaften durch welche sich die hypertrophen Narben von Duroc- Schweinen von menschlichen HTS unterscheiden. Im Gegensatz zu menschlichen HTS sind die im Duroc-Schweinemodell erzeugten Narben nicht gerötet und überragen das umliegende Hautniveau nur um wenige Millimeter (170,176) (*siehe Abbildung 12: Narben in Schweinmodellen*). Die auf Duroc- Schweinen erzeugten HTS überschreiten das umliegende Hautgewebe bis zu 2 mm und weisen so wie HTS bei Menschen eine verdickte Dermis mit überschüssigen, teils in Knoten angeordneten Kollagenfasern auf (166,170,174,176). Zusätzlich findet man vermehrt Myofibroblasten und Mastzellen, von denen man eine Beteiligung an der Entstehung von HTS annimmt (166,174). Neben den oben genannten makroskopischen und histologischen Ähnlichkeiten zu menschlichen HTS, wurde das Duroc- Schweinemodell auch auf zahlreiche Proteine und Biomoleküle getestet, welche bei menschlichen HTS in abnormaler Menge vorhanden sind. Wie auch bei humanen HTS findet man vermehrt TGF- $\beta$ 1 mRNA und TGF- $\beta$ 1, wobei deren Menge mit der Zeit abnimmt und nach etwa 5 Monaten kein Unterschied zu gesunder, nicht verletzter Haut besteht (170,171). In zu oberflächlichen Wunden findet man bei Duroc- Schweinen keine erhöhten TGF- $\beta$ 1 Werte (174). Decorin ist bis zu 5 Monate nach Wundsetzung vermindert, wobei dies nur für HTS durch tiefere Wunden zutrifft (170,176). Weiters findet man vermehrt IGF-1 und Versican (170,176). Es konnte festgestellt werden, dass HTS von Duroc- Schweinen, wie auch menschliche HTS, eine erhöhte Nervenfaserdichte aufweisen (179,180). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Menge von Stickstoffmonoxid und VEGF zu Beginn der Wundheilung signifikant erhöht und nach 21 Wochen signifikant vermindert ist (176). Obwohl im Schweinemodell meist Duroc- Schweine verwendet werden, gibt es auch Studien in welchen HTS-ähnliche Narben auch an anderen Rassen erzeugt werden konnten.

So zeigten Cuttle et al. dass Large White Schweine nach Verbrennungen Narben bilden welche makroskopische Kriterien von HTS aufweisen (*siehe Abbildung 12: Narben in Schweinmodellen*). Histologisch konnte man in diesen Narben aber keine für HTS typische Kollagenknotenbildung nachweisen (181).



**Abbildung 12:** Narben in Schweinmodellen. A.) 5 Monate alte Narbe im Duroc-Schweinmodell nach 2,3 mm tiefen und 64 cm<sup>2</sup> großen Verletzungen mittels Dermatome (170). B.) 56 Tage alte Narbe nach Verbrennung im Large White-Schweinmodell (181).

### 3.6 Das Hundemodell

Wie bei Duroc- Schweinen beobachtet, wiesen auch Hunde die Fähigkeit auf nach Verletzungen Narben zu bilden, welche histologisch eine starke Ähnlichkeit mit menschlichen HTS haben (182). Besonders hervorzuheben ist die Rasse des Xoloitzcuintle, besser bekannt als mexikanischer Nackthund, weil dieser im Vergleich zu behaarten Rassen eine langsamere und somit dem Menschen ähnelndere Wundheilung aufweist (183). Bereits 1997 wurde diese Hunderasse für die Untersuchung von Brandwunden verwendet und man konnte feststellen, dass es bei der Wundheilung nur zu geringfügiger Kontraktion kommt und die Reepithelialisierung, wie beim Menschen, von den Hautanhangsgebilden ausgeht (184). 2011 untersuchte Tohru Kimura ob sich der Mexikanische Nackthund als neues Model für die Herstellung von Hypertrophen Narben eignet und es gelang ihm 21 bis 30 Tage nach der Setzung von tiefen Hautwunden in dorsolumbaler Region vollständig reepithelialisierte HTS zu erzeugen (185). Weiters beobachtete er, dass die Bildung von Hypertrophen Narben in seiner Studie mit der Anzahl an DOPA-positiven Melanozyten in der Epidermis assoziiert war (185).

### **3.7 Das Affenmodell**

Obwohl Primaten schon seit längerem in vielen verschiedenen medizinischen Forschungsgebieten wie zum Beispiel der Neurowissenschaft, Multipleskleroseforschung, Altersforschung, Verhaltensforschung und Toxikologie verwendet werden, gibt es nur sehr wenige Studien, in denen Primaten verwendet werden um Hypertrophe Narben zu untersuchen (186–190). Besonders häufig werden in der medizinischen Forschung Büschelaffen (*Callithrix jacchus*) verwendet, da sie im Vergleich zu anderen Affenarten sehr klein sind und eine geringe Lebenserwartung haben (191). 2015 verwendeten Jun Igarashi et al. ein Büschelaffenmodell um die Wirkung von Pyrrol-Imidazol Polyamiden, welche die Transkription von TGF- $\beta$ 1 verhindern, auf die Entstehung von HTS zu untersuchen (192). In jener Studie wurden 9 Büschelaffen abdominale Schnittwunden zugeführt, wobei das Wundgebiet vor Inzision entweder mit Wasser oder mit einem speziellen Pyrrol-Imidazol Polyamid unterspritzt wurde. Bei den Tieren, welche kein wirksames Pyrrol-Imidazol Polyamid erhielten, bildeten sich Narben, welche eine makroskopische Ähnlichkeit mit menschlichen HTS aufwiesen. Es wurde jedoch nicht darauf eingegangen, inwiefern die von Büschelaffen gebildeten Narben histologische Kriterien von menschlichen HTS erfüllen.

### **3.8 Die verschiedenen Modelle im Vergleich**

Kleintiermodelle (Maus, Ratte, Hase, Meerschweinchen) bieten vor allem den Vorteil von leichter Verfügbarkeit und geringer Kosten, während Schweinemodelle als äußerst kostspielig gelten. Dafür weist die Haut von Schweinen im Vergleich zu anderen Tieren eine größere anatomische Ähnlichkeit zu menschlicher Haut auf, was dazu führt, dass Studienergebnisse aus Schweinemodellen häufiger auf den Menschen übertragen werden können als Ergebnisse aus anderen Tiermodellen (167). Ein Nachteil von Modellen mit Mäusen und Ratten ist deren relativ geringe Körperoberfläche wodurch pro Tier nur eine HTS erzeugt werden kann. In Modellen mit Hasen, Meerschweinchen und Schweinen lassen sich pro Tier deutlich mehrere Narben erzeugen, wodurch für die Durchführung von Studien auch weniger Tiere

erforderlich sind (160,170,193). Neben diesen speziesabhängigen Vor- und Nachteilen, gibt es aber auch modellspezifische Vor- und Nachteile (*siehe Tabelle 2: Tiermodelle in der HTS- Forschung*).

In Bezug auf das TSM- Modell ist anzumerken, dass nur wenige Studien gefunden werden konnten, in welchen man näher auf die Wundheilung und HTS- Bildung dieses Mäusestamm eingeht. In jenen Studien wies man im TSM- Modell sowohl makroskopische, als auch histologische Kriterien von HTS nach (130). Im Vergleich zu anderen Mausmodellen waren für die Bildung dieser Narben keine humanen Hauttransplantate oder spezielle Vorrichtungen (Spannungsvorrichtung, Bleomycinpumpe) erforderlich, was einen weiteren Vorteil dieses Modells darstellt. Nichtsdestotrotz konnten keine Studien gefunden werden in welchen man dieses Modell für das Testen von neuen Therapieansätzen zur Behandlung von HTS verwendet hat.

Das NMM bietet vor allem den Vorteil, dass man in diesem Modell direkt an menschlicher Haut forschen kann (131,135,136). Es ist jedoch anzumerken, dass nicht klar ist wie lange es dauert bis die humanen Zellen des Transplantates durch murine Zellen ersetzt werden. Ein weiterer Nachteil dieses Modells ist, dass man auf das Vorhandensein von ausreichend menschlicher Spenderhaut angewiesen ist, wodurch dieses Modell eher speziellen Zentren vorbehalten ist. Zusätzlich hat das NMM den Nachteil dass die in diesem Modell verwendeten immunsupprimierten Tiere keine T-Zellen bilden und deren Einfluss auf die HTS- Bildung somit nicht weiter untersucht werden kann.

Im Spannungsmodell Maus lassen sich an immunkompetenten Mäusen Narben erzeugen welche durchaus makroskopische und histologische Kriterien von humanen HTS aufweisen, jedoch wurden in diesem Modell keine Kollagenknoten nachgewiesen (140). Ein weiterer Nachteil ist, dass man für die Durchführung spezielle Spannungsvorrichtungen braucht und den optimalen Sitz dieser Vorrichtungen kontinuierlich überwachen muss.

Das Bleomycinmodell hat den Nachteil, dass man für die Durchführung spezielle Bleomycinpumpen braucht, welche kontinuierlich Wirkstoff abgeben (141,194,195). Ebenso lassen sich in diesem Modell keine makroskopisch ausgeprägten Narben produzieren (141). Außerdem wird die HTS- Bildung in diesem Modell nicht durch

eine Verletzung sondern durch die Applikation eines Medikamentes verursacht, was bei menschlichen HTS typischerweise nicht der Fall ist. Im Vergleich zu den anderen Mausmodellen hat dieses Modell also keinen klaren Vorteil.

Das Hasenohrenmodell hat vor allem den Vorteil, dass man in diesem Kleintiermodell mehrere Narben pro Tier erzeugen kann (143–145,149–152,154–156). Für die richtige Durchführung dieses Modells bedarf es aber chirurgischen Geschicks, da das Perichondrium an den Hasenohren sorgfältig entfernt werden muss, um ausreichende Narbenbildung zu garantieren.

Im Meerschweinchenmodell ist für die HTS- Bildung die Anwendung von Steinkohleenteer erforderlich, was einen erheblichen Nachteil darstellt, da diese toxische Substanz in diesem Modell zu einer hohen Mortalität der Tiere führt (160). Dies führt dazu, dass viele Tiere nicht zu einem Wissensgewinn beitragen. Weiters kann dieses Modell nicht genutzt werden um neue Präventionsmöglichkeiten zu testen, da die Wunden eine Zeit lang mit Steinkohleenteer behandelt werden müssen.

Im Duroc- Schweinmodell lassen sich zwar Narben erzeugen, welche histologische Kriterien von HTS aufweisen, jedoch weicht das klinische Erscheinungsbild dieser Narben deutlich von dem der menschlichen HTS ab. So sind die erzeugten Narben weder gerötet noch sonderlich erhaben (32,163,166,170–173). Im Large White-Schweinmodell lassen sich Narben erzeugen welche durchaus makroskopische Kriterien von HTS aufweisen, jedoch fehlen die für HTS typischen Kollagenfaserknoten (181).

**Table 2: Tiermodelle in der HTS- Forschung**

Modell (Tier)	Makroskopie der Narben	Histologie der Narben	Wundart	Vorteile	Nachteile	Quellen
TSM-Modell (Maus)	Erhaben	Vermeht Fibroblasten; Kollagenfaserwirbel	Schnittwunde	Ausgeprägte Bildung von Granulationsgewebe ohne Einsatz von zusätzlichen Vorrichtungen/Transplantaten	Geringe Evidenz; nur eine Narbe pro Tier	(130)
NMM (Maus)	Gerötet; fest; erhaben	Kollagenfaserknoten und Kollagenfaserwirbel; parallel zur Oberfläche verlaufende Kollagenfasern; erhöhte Zahl von Myofibroblasten und Mastzellen	Schnitt- oder Brandwunde	Leicht verfügbar; relativ billig; Forschung an humanem Gewebe	Eingeschränktes Immunsystem; benötigt humane Hauttransplantate	(131, 135, 136)
Spannungsmodell (Maus)	Erhaben	Kollagenfaserwirbel; parallel zur Oberfläche orientierte Kollagenfasern; erhöhte Zahl von Fibroblasten, Mastzellen und Myofibroblasten; Hypervaskularität	Schnittwunde	Leicht verfügbar; billig; intaktes Immunsystem	Benötigt spezielle Spannungsvorrichtungen und häufige Kontrollen ob diese adäquat sitzen	(140)
Bleomycinmodell (Maus)	Makroskopie aufgrund der implantierten Pumpe nicht beurteilbar	Verdickte Dermis; Kollagenknoten und Kollagenfaserwirbel; vermehrt Myofibroblasten; parallel zur Oberfläche verlaufende Kollagenfasern	Schnittwunde	Leicht verfügbar; billig	Benötigt Applikation von Bleomycin; Bildung von HTS durch ein Medikament und nicht durch eine Verletzung	(141, 194, 195)
Spannungsmodell (Ratte)	Erhaben; gerötet	Verdickte Dermis; Kollagenfaserwirbel; Hypervaskularität	Schnittwunde	Billig; leicht verfügbar	Nur eine Narbe pro Tier; benötigt spezielle Spannungsvorrichtungen	(142)
Hasenohrenmodell (Hase)	Gerötet; erhaben	Verdickte Dermis; Kollagenfaserknoten	Schnitt- oder Brandwunde	Billig; leicht verfügbar; mehrere Narben pro Tier	Chirurgisches Geschick erforderlich; Knorpel beeinflusst eventuell HTS-Bildung	(143–145, 149–152, 154–156)
Steinkohlenteermodell (Meerschweinchen)	Gerötet; erhaben	Kollagenfaserknoten; vermehrt Myofibroblasten	Schnittwunden	Leicht verfügbar; billig; mehrere Narben pro Tier	Hohe Sterblichkeit der Tiere; Präventionsmöglichkeiten können nicht getestet werden	(159, 160)
Duroc-Schweinmodell (Schwein)	Flach; nicht gerötet	Kollagenfaserwirbel und Kollagenfaserknoten; erhöhte Zahl von Mastzellen und Myofibroblasten	Schnitt- oder Brandwunde	Mehre Narben pro Tier; Ähnlichkeit zu menschlicher Haut; hohe Übertragbarkeit von Studienergebnissen	Fehlende Rötung; Narben sehr flach; teuer; tiefe Wunden notwendig	(32, 163, 166, 170–173)
Large White-Schweinmodell (Schwein)	Erhaben; gerötet	Parallel zur Oberfläche verlaufende Kollagenfasern; verdickte Dermis; erhöhte Zahl an Fibroblasten; keine Kollagenfaserknoten	Brandwunde	Makroskopische Kriterien von HTS; Ähnlichkeit zu menschlicher Haut; mehrere Narben pro Tier; hohe Übertragbarkeit von Studienergebnissen	Keine nachgewiesene Bildung von Kollagenfaserknoten; weitere Studien hinsichtlich Histologie nötig; geringe Evidenz	(163, 181)

## **4 Diskussion**

### **4.1 Durch HTS verursachte Probleme**

Obwohl man schon Jahrzehnte lang versucht, die genauen physiologischen und pathophysiologischen Vorgänge der Wundheilung und pathologischen Narbenbildung zu verstehen, ist unser Verständnis diesbezüglich noch immer lückenhaft (22). Aufgrund unseres lückenhaften Verständnisses kommt es bei Patientinnen und Patienten nach operativen Eingriffen oder tieferen Verbrennungen teilweise noch immer zu einer pathologischen Narbenbildung und zum Entstehen von HTS (27,30). Diese Narben führen nicht nur zu Schmerzen, Juckreiz und einem ästhetischen Problem mit psychologischer Belastung, sondern können bei Auftreten im Bereich von Gelenken zu Gelenkskontrakturen führen und das Bewegungsausmaß der Patientinnen und Patienten stark einschränken (22,131). All diese Symptome von HTS führen zu einer Abnahme der Lebensqualität der Patienten und sollten somit schnellstmöglich behandelt werden. Trotz zahlreicher Präventions- und Therapiemaßnahmen gibt es bis jetzt kein Behandlungsschema, welches eindeutig empfohlen werden kann und zu einer Besserung aller Symptome führt (73). Um die Wirkung von neuen Therapieoptionen zu testen und die Pathophysiologie zu beleuchten sind in vivo Modelle unverzichtbar, da sich die Komplexität der HTS- Bildung in in vitro Modellen bisher nicht darstellen lässt.

### **4.2 Schwierigkeiten ein auf den Menschen übertragbares Tiermodell zu finden**

Es gibt eine Vielzahl von Tiermodellen, um hypertrophe Narbenbildung zu erforschen, jedoch konnte sich bis jetzt noch kein Modell als Standardversuchsmodell durchsetzen. Grund dafür ist, dass die Anatomie der Haut sowie der Wundheilungsprozess der verwendeten Tiere nicht eindeutig auf den Menschen übertragen werden können (34,126,143,144). So ist der Heilungsprozess der Haut von vielen Faktoren wie zum Beispiel Tiefe und Fläche der Verletzung, inflammatorischen Prozessen im Wundbereich, sowie anatomischer

Beschaffenheit der Haut und Spannungsverhältnissen am Wundrand abhängig (10,140). All diese Unterschiede machen die Übertragung von in Tiermodellen erhaltenen Forschungsergebnissen auf den Menschen äußerst schwierig und daher ist es nötig, bereits bei der Studienplanung jenes Tiermodell zu wählen, welches für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfrage die besten Voraussetzungen liefert. Um das für die jeweilige Studie vielversprechendste Modell zu wählen, ist es nötig sich mit den bestehenden in vivo Modellen auseinanderzusetzen und modellspezifische Vor- und Nachteile zu erkennen. Dies verhindert, dass man ein für die Beantwortung der Forschungsfrage ungeeignetes Tiermodell wählt und ermöglicht weiters effiziente und ethisch vertretbare Forschung. Nichtsdestotrotz ist es häufig sehr schwierig zu entscheiden, welches Modell am besten gewählt werden sollte. Viele Tiermodelle wirken auf den ersten Blick hin zwar äußerst vielversprechend und werden von den Autoren teilweise als die „Zukunftsmodelle“ der Wundheilungsforschung in Szene gesetzt, bei detaillierter Betrachtung erkennt man jedoch, dass auch jene so vollkommen erscheinenden Modelle Grenzen und Nachteile aufweisen.

### **4.3 Analyse der Mausmodelle in der HTS- Forschung**

Die Verwendung von Mausmodellen in der medizinischen Forschung ist nicht verwunderlich, da diese Tiere relativ billig und leicht verfügbar sind (196). Weiters ist die Haltung von Mäusen im Vergleich zu größeren Versuchstieren wie zum Beispiel Schweinen viel einfacher und kostengünstiger, da man weniger Platz und Futter braucht. Außerdem stehen verschiedene Mäusestämme mit diversen Mutationen zur Verfügung um den Einfluss gewisser Gene und Rezeptoren auf die Wundheilung zu untersuchen (197). Ein Nachteil der Mausmodelle ist, dass sich die Anatomie der Mäusehaut von menschlicher Haut durch das Vorhandensein des Panniculus carnosus und einer geringeren Hautdicke, sowie einer deutlich ausgeprägteren Behaarung unterscheidet (198). Typischerweise kommt es bei Mäusen ohne Manipulation nicht zur Bildung von HTS, da deren Wundheilung hauptsächlich von der Kontraktion durch den Panniculus carnosus abhängig ist und es nur in geringem Maße zur Bildung von Granulationsgewebe und Narbengewebe kommt (34,126). Aus diesem Grund wurden spezielle Durchführungsmöglichkeiten

entwickelt, welche es ermöglichen HTS an Mäusen zu erzeugen. Ein weiteres Problem das bei der Verwendung von Mäusen als Versuchstieren keineswegs außer Acht gelassen werden darf, ist die Tatsache, dass pro Maus nur eine einzelne HTS erzeugt werden kann und für die Durchführung von Studien mit statistischer Signifikanz somit eine große Anzahl an Versuchstieren nötig ist. In Anbetracht dieser Begebenheit empfiehlt es sich mit Berücksichtigung auf die 3R eher Tiere zu verwenden an welchen pro Tier mehrere HTS erzeugt werden können, da so die Anzahl der für die Durchführung der jeweiligen Studie benötigten Tiere reduziert werden kann (Reduction) (121).

#### **4.3.1 TSM- Modell**

Das wohl erste Mausmodell in welchen eine HTS- Bildung beschrieben wurde war das TSM- Modell (130). So konnte nachgewiesen werden, dass TSM nach Verwundung aufgrund der im Vergleich zu anderen Mäusestämmen deutlich länger andauernden Wundheilung mehr Granulationsgewebe bilden und Narben entwickeln, welchen eine histologische Ähnlichkeiten zu humanen HTS nachgesagt wurde (130). So zeigten die in diesem Modell untersuchten Narben eine verdickte, reichlich vaskularisierte Dermis mit zahlreichen Fibroblasten und wellig angeordneten Kollagenfasern, jedoch wurden in diesem Modell keine Kollagenknoten nachgewiesen, wie sie bei HTS typischerweise vorkommen (43,72,130). Weiters wurde nicht auf das Vorhandensein von Mastzellen und die Expression von TGF- $\beta$ 1 geachtet, was eventuell darauf zurückzuführen ist, dass man damals noch nichts von deren Einfluss auf die HTS- Bildung wusste (38,44,130). Außerdem wurde nicht auf das makroskopische Erscheinungsbild der an TSM erzeugten Narben eingegangen, was wohl auch daran liegen könnte, dass dieses Modell nicht explizit für die HTS- Forschung entwickelt wurde (130). Es konnten auch keine Studien gefunden werden, in welchen man das TSM- Modell verwendete um neue Therapieansätze zu testen. Das TSM- Modell hat also eine geringe Evidenz und es ist fraglich ob man in diesem Modell wirklich Narben erzeugen kann welche makroskopische und histologische Kriterien von HTS erfüllen.

### 4.3.2 NMM

Ein Modell welches extra für die HTS- Forschung entwickelt wurde, ist das NMM. Dieses Modell ermöglicht es, dass man menschliche HTS auf den Rücken von Mäusen transplantieren kann und neue Therapiemöglichkeiten somit direkt an menschlicher Haut testen kann (199). Ein Nachteil des NMMs ist, dass man für die Anwendung dieses Modells spezielle Mäuse mit eingeschränktem Immunsystem braucht, da es ohne diese Einschränkung zu einer Abstoßung des Transplantats kommen würde (131). Da inflammatorische Prozesse jedoch einen Teil zur Entstehung und Aufrechterhaltung von HTS beitragen, könnte genau diese eingeschränkte Immunantwort zur fehlerhaften Interpretation von neuen Therapiemöglichkeiten führen. Therapieansätze, welche daraufhin zielen entzündliche Prozesse zu hemmen, sollten daher eher in Tiermodellen mit kompetenten Immunsystem durchgeführt werden. Ein weiteres Problem des NMMs ist, dass man für dessen Durchführung menschliches Haut- bzw. HTS- Gewebe braucht und somit auf das Vorhandensein von genügend menschlichen Spendern angewiesen ist (61). Dies bedeutet, dass HTS- Forschung mittels NMM eher Zentren mit ausreichend HTS- Patienten, beziehungsweise ausreichender Anzahl an Abdominoplastiken, bei welcher die überschüssig entfernte Haut als Transplantat verwendet werden kann, vorbehalten ist (200,201). Weiters ist anzumerken, dass das transplantierte humane Gewebe nach einer gewissen Zeit durch murine Zellen ersetzt wird. Es stellt sich also die Frage, wie lange es dauert bis das gesamte transplantierte humane Gewebe ersetzt wird. So konnte in einer Studie beobachtet werden, dass die humane Epidermis und Teile der Dermis bereits nach etwa einem Monat verloren gehen (136). Es ist also fraglich ob in diesem Modell neue Therapieansätze nach einer gewissen Zeit wirklich an menschlichem Gewebe getestet werden können. Ein weiterer Kritikpunkt des NMMs ist, dass es auch ohne Verletzung der Hauttransplantate zur Bildung von HTS kommt, was vermuten lässt, dass der pathophysiologische Prozess dieser Narbenbildung vom Bildungsprozess menschlicher HTS abweicht. Immerhin braucht es für die Entstehung von humanen HTS eine tiefer als die Epidermis reichende Verletzung der Haut (49).

### **4.3.3 Bleomycinmodell**

Im Bleomycin- Mausmodell ist es zwar möglich durch Implantation einer mit Bleomycin gefüllten Pumpe, welche kontinuierlich Wirkstoff freigibt, Narben zu erzeugen welche histologisch durchaus Zeichen von HTS aufwiesen, jedoch fehlen ausgeprägte makroskopische Kriterien (141). Die Testung von neuen Therapiemöglichkeiten in diesem Modell kann erst nach 28 Tagen begonnen werden, da das verabreichte Bleomycin vorher zu einer Beeinflussung der Wirkung von neuen Therapieansätzen führen würde. Außerdem könnte auch die implantierte Pumpe an sich die Wundheilung beeinflussen. Da die eingebrachten Bleomycinpumpen für eine relativ lange Zeit unter der Haut der Tiere bleiben müssen, ist dieses Modell auch ethisch durchaus kritisch zu bewerten. Immerhin ist nicht auszuschließen, dass das zusätzliche Gewicht der Pumpen die Tiere stark belastet und deren Lebensqualität beeinflusst, was in Tierversuchen unbedingt vermieden werden sollte (Refinement).

### **4.3.4 Spannungsmodell-Maus**

Eine weitere Möglichkeit zur HTS- Herstellung an Mäusen mit durchaus positiven Ergebnissen bietet das mechanische Spannungsmodell. Durch das Anpassen der Wundspannung an menschliche Verhältnisse, können Narben erzeugt werden, welche makroskopische und histologische Ähnlichkeiten zu menschlichen HTS zeigen (140). Damit es in diesem Model jedoch zur gewünschten Narbenbildung kommt, ist es notwendig, dass die aufgebrachte Spannungsvorrichtung in der Proliferationsphase optimal sitzt. Um dies zu gewährleisten ist es erforderlich in jener Phase besonders häufig zu kontrollieren ob die angebrachte Vorrichtung adäquat sitzt oder vom Tier entfernt wurde. Dementsprechend muss bei der Anwendung dieses Modells mit einem hohen zeitlichen Aufwand gerechnet werden. Wie im Bleomycinmodell muss auch im Spannungsmodell darauf hingewiesen werden, dass die Verwendung von besonderen Vorrichtungen (Bleomycinpumpe, Spannungsvorrichtung) die Tiere zusätzlich stresst, was in Tiermodellen im Sinne der 3R prinzipiell vermieden werden sollte (Refinement) (121).

#### 4.4 Analyse des Rattenmodells

Ein der Maus sehr ähnliches Tier, welches in der HTS- Forschung verwendet werden kann ist die Ratte. Wie auch bei Mäusen ist die Wundheilung von Ratten aufgrund des vorhandenen Panniculus carnosus stark von Kontraktionen abhängig, wodurch es im Normalfall zu keiner ausgeprägten Narbenbildung kommt. Bei Ratten wurde jedoch festgestellt, dass die Wundheilung von Verletzungen am Rattenschwanz aufgrund der geringen Wundkontraktion mit einer vermehrten Bildung von Granulationsgewebe assoziiert ist. Bei Anwendung von zusätzlichen Spannungsvorrichtungen bilden sich zwei Wochen nach Verletzung somit Narben, welche sechs Monate lang makroskopische Ähnlichkeiten mit menschlichen HTS aufweisen (142). Nichtsdestotrotz muss erwähnt werden, dass der Haut am Rattenschwanz kein Fettgewebe unterliegt wie es bei menschlicher Haut der Fall ist. Diese unterschiedliche Anatomie könnte auch die Übertragbarkeit von in diesem Modell erworbenen Studienergebnissen auf den Menschen negativ beeinflussen. Wie auch Mäuse sind Ratten leicht verfügbar und im Vergleich zu größeren Versuchstieren deutlich billiger. Ein Vorteil des Rattenmodells gegenüber dem NMM ist, dass es möglich ist HTS an immunkompetenten Tieren zu erzeugen. Man muss jedoch beachten, dass im beschriebenen Rattenmodell pro Tier nur eine HTS erzeugt wurde und man für die Durchführung von Studien mit diesem Modell, wie auch bei den Mausmodellen, deutlich mehr Tiere braucht als in anderen Modellen mit Hasen, Meerschweinchen oder Schweinen, wo an einem Tier mehrere HTS erzeugt werden können. In Bezug auf die 3R sollte jedoch darauf geachtet werden, dass in Tierversuchen so wenig Tiere wie möglich verwendet werden (Reduction). Die Verwendung von Spannungsvorrichtungen ist auch ethisch zu hinterfragen, da die Tiere dadurch zusätzlichem Stress ausgesetzt werden, was in Tiermodellen jedenfalls vermieden werden muss (Refinement). Somit ist eine Vereinbarkeit mit den 3R zumindest fraglich und das Rattenmodell kann aufgrund der genannten Kritikpunkte keinesfalls als Standardmodell empfohlen werden.

## 4.5 Analyse des Hasenohrenmodells

Während man für die Erzeugung von HTS in Maus oder Rattenmodellen immer auf spezielle Durchführungsmethoden beziehungsweise spezielle Mäusestämme zurückgreifen muss, gibt es auch Modelle mit anderen kleinen Nagetieren, in welchen auch auf natürliche Weise hypertrophe Narbenbildung zu beobachten ist. So sind Hasen wie auch Mäuse relativ billig und leicht verfügbar und besitzen das Potenzial an ihren Ohren HTS zu entwickeln. Wie auch bei Mäusen findet man bei Hasen unter dem Großteil der Hautoberfläche einen Panniculus carnosus, welcher durch Kontraktion die Wundheilung beeinflusst. Im Bereich der Hasenohren ist diese Muskelschicht jedoch nicht vorhanden, was dazu führt, dass die dortige Haut fest mit dem darunterliegenden Knorpel verwachsen ist. Aufgrund dieser anatomischen Verhältnisse ist die Heilung von Wunden an Hasenohren, wie auch die menschliche Wundheilung, stark von der Bildung von Granulationsgewebe abhängig (143,144). Durch die relativ große Oberfläche von Hasenohren, ist es möglich mehrere HTS an einem Tier zu erzeugen und bei Therapieversuchen ein Ohr für Kontrollversuche ohne Wirkstoff zu nutzen (57,145,202). Somit braucht man für HTS- Studien mittels Hasenohrenmodell im Vergleich zu Versuchen mittels Mausmodellen deutlich weniger Tiere, was im Bezug auf die Berücksichtigung der 3R einen großen Vorteil darstellt (Reduction). Obwohl die im Hasenohrenmodell erzeugten Narben makroskopische und histologische Ähnlichkeiten mit menschlichen HTS aufweisen und nach Verwundung lange Zeit bestehen bleiben, ist dieses Modell nicht frei von Kritik. So begünstigt die Anatomie der Hasenohren zwar die Narbenbildung, jedoch macht das Vorhandensein des unter der Haut liegenden Knorpels eine Übertragung von Studienergebnissen auf den Menschen schwierig, da menschlichen HTS, solange sie nicht ebenfalls am Ohr auftreten, kein Knorpelgewebe unterliegt. Um im Hasenohrenmodell eine ausreichend starke Narbenbildung auszulösen, ist es notwendig, das Perichondrium unter der gesetzten Wunde zu entfernen, da sich sonst keine HTS bilden (145). Die Entfernung dieser Knorpelhaut erfordert großes Geschick und Erfahrung, da man bei Fehlern die tieferliegenden Knorpelschichten verletzen kann (145,148). Sollte es zu solchen Verletzungen kommen, führt dies zu einer Proliferation von Knorpelgewebe, was makroskopisch die Beurteilung der Narbendicke erschwert

sowie möglicherweise die pathophysiologischen Prozesse der HTS- Bildung beeinflusst (143,144). Um einer Verletzung des Knorpels so gut wie möglich vorzubeugen, ist es möglich das Perichondrium durch Kryochirurgie zu entfernen. Diese Methode der Entfernung scheint im Vergleich zu herkömmlicher Entfernung mittels Skalpells oder Schere deutlich einfacher durchzuführen zu sein, da man das Perichondrium nur mit einem Stickstoffspray ansprühen muss und anschließend wartet bis sich jene Knorpelhaut vom unterliegenden Knorpel löst (155). Zwar konnte in Studien hinsichtlich Knorpelschädigung kein signifikanter Unterschied zu herkömmlicher Entfernung des Perichondriums festgestellt werden, jedoch erfordert die Kryotherapie weniger chirurgisches Geschick und könnte deswegen in zukünftigen Studien im Hasenohrenmodell häufiger angewendet werden. Neben der Entfernung des Perichondriums sollte darauf geachtet werden, dass die gesetzten Wunden einen Mindestdurchmesser von 7 mm besitzen, da es sonst zu keiner HTS- Bildung kommt (145). Im Idealfall sollten jüngere Kaninchen (3-6 Monate) verwendet werden, da diese im Vergleich zu älteren Artgenossen eine stärkere Narbenbildung aufweisen (148). Um besonders große HTS zu erhalten besteht die Möglichkeit die Wunden mittels Verbrennungen zu verursachen. Typischerweise bilden sich die HTS im Hasenohrenmodell nach 20– 28 Tagen und sind bis zu 288 Tage post incisionem makroskopisch nachweisbar. Wie auch Mäuse sind Hasen leicht verfügbar, kostengünstig sowie pflegeleicht. Zusätzlich bietet die Verwendung von Hasen in der HTS- Forschung die Möglichkeit mehrere HTS an einem einzelnen Tier zu erzeugen, wodurch die für eine Studie benötigte Anzahl der Tiere vermindert werden kann, was im Bezug auf die 3R in jedem Falle angestrebt werden sollte (40,121,149,153,203,204). Aufgrund dessen und der Tatsache, dass in beiden Tiermodellen Narben mit histologischen und makroskopischen Zeichen von humanen HTS erzeugt werden können, ist das Hasenohrenmodell den beschriebenen Mausmodellen eindeutig überlegen und zu bevorzugen. Wie die verschiedenen Mausmodelle hat aber auch das Hasenohrenmodell Nachteile welche nicht außer Acht gelassen werden dürfen. So ist es möglich, dass der unter der HTS liegende Knorpel im Hasenohrenmodell den pathophysiologischen Prozess der HTS- Bildung beeinflusst. Es ist also nicht klar, ob der für die HTS- Bildung verantwortliche pathophysiologische Prozess im Hasenohrenmodell ein anderer ist als bei menschlichen HTS, welchen typischerweise kein Knorpelgewebe unterliegt.

## 4.6 Analyse des Meerschweinchenmodells

Meerschweinchen sind in der Lage HTS ähnliche Narben zu bilden, insofern man die Wunden mit Steinkohleteer behandelt (159,160). Da Meerschweinchen im Vergleich zu anderen kleinen Nagetieren, wie zum Beispiel Ratten oder Mäusen, eine größere Hautoberfläche besitzen, können an einem Tier mehrere Narben erzeugt werden, wodurch man annahm die Anzahl der für die Durchführung von Studien erforderlichen Tiere reduzieren zu können. Zusätzlich sind Meerschweinchen billiger als ATM und Schweine (160). Da die Mortalität der Tiere im Meerschweinchenmodell aufgrund der toxischen Eigenschaften des Steinkohleteers sehr hoch ist, braucht es, obwohl an einem Tier mehrere Narben erzeugt werden können, dennoch viele Versuchstiere um statistisch signifikante Studienergebnisse zu erhalten (160). Das Meerschweinchenmodell ist wie auch das Hasenohrenmodell leicht verfügbar und kostengünstig. Aufgrund der in diesem Modell beobachteten hohen Mortalität, ist für die Durchführung weiterer HTS-Studien im Sinne der 3R eher das Hasenohrenmodell zu empfehlen, da in diesem Modell weniger Tiere benötigt werden und die verursachten Wunden nicht mit zusätzlichen Substanzen (Steinkohleteer), welche bei den Tieren eventuell zu zusätzlichen Schmerzen führen, behandelt werden müssen. Obwohl Aksoy et al. ohne Behandlung mit Steinkohleteer weder nach Schnittwunden noch nach Brandwunden HTS erzeugen konnten, gibt es trotzdem Studien in welchen man auch ohne Teer HTS an Meerschweinchen beobachtete (160,161). In diesen Studien wird jedoch nicht näher auf die makroskopische und histologische Beschaffenheit der beobachteten Narben eingegangen, was die Frage aufwirft ob es sich um HTS handelt (161). Um diese Frage zu klären bräuchte es weitere Studien, in welchen genauer auf die Narbenbildung bei Meerschweinchen eingegangen wird. Sollte sich in Zukunft zeigen, dass Meerschweinchen auch ohne Behandlung mit Steinkohleteer HTS bilden, könnte das Meerschweinchenmodell das Hasenohrenmodell ablösen, da beide Modelle hinsichtlich Kosten und Verfügbarkeit keine Unterschiede aufweisen, den Narben im Meerschweinchenmodell aber kein Knorpelgewebe unterliegt, welches die HTS-Bildung eventuell beeinflusst.

## 4.7 Analyse der Schweinemodelle

Obwohl man in der medizinischen Forschung, aufgrund der geringen Kosten und leichten Haltungsbedingungen, eher dazu tendiert kleine Versuchstiere zu verwenden, gibt es auch größere Tiere, welche, wegen ihrer dem Menschen ähnlichen Anatomie, gerne für Versuche genutzt werden (170,171,174). Speziell in der HTS-Forschung erschwert der bei Kleintieren deutlich vom Menschen abweichende Wundheilungsprozess, eine Übertragung von Studienergebnissen auf den Menschen (126,142). Wie bereits erwähnt, sind viele Tiere, aufgrund ihrer stark von Kontraktion abhängigen Wundheilung nicht in der Lage HTS zu bilden. Es ist daher sehr nützlich, dass man ein Tier gefunden hat, welches nach Verletzungen auch ohne zusätzliche Manipulation in der Lage ist sichtbare Narben zu bilden. Der größte Vorteil des Schweinemodells besteht in der Ähnlichkeit von Schweinehaut zu menschlicher Haut, wobei zu beachten ist, dass es auch einige Punkte gibt, durch welche sich diese Tierhaut von humaner Haut unterscheidet (170,171,174). So ist die Dermis der Schweinehaut schlechter durchblutet als die menschliche Dermis und die Epidermis sowie die Talgdrüsen von Schweinen enthalten anders als beim Menschen große Mengen von alkaliner Phosphatase (163). Weiters findet man in Schweinehaut hauptsächlich apokrine Schweißdrüsen, während ekkrine Schweißdrüsen nur an der Schnauze, den Lippen und dem Karpalorgan (subkutane Drüsen in Karpalgegend) vorkommen (163,168,205). Im Duroc- Schweinmodell lassen sich Narben erzeugen, welche histologische und immunhistochemische Kennzeichen von HTS aufweisen. So ist die Dermis durch eine überschüssige Menge an Kollagenfasern, welche teils in Knoten angeordnet sind, deutlich verdickt und weist erhöhte Anzahl von Mastzellen und Myofibroblasten auf (166,170,174). Weiters findet man in den Narben des Duroc- Schweinemodell eine im Vergleich zu gesundem Gewebe gesteigerte Expression von TGF- $\beta$ 1, IGF-1 und Versican sowie eine verminderte Expression von Decorin (170,171,176). Obwohl alle diese genannten Beobachtungen typische Kriterien von HTS sind, gibt es doch einen Punkt in welchem sich die im Schweinmodell erzeugten Narben von menschlichen HTS unterscheiden. Zwar beschränken sich die im Duroc- Schweinemodell entstehenden Narben auf das ursprüngliche Wundgebiet, jedoch sind sie im Bezug auf die umliegende gesunde Haut nur wenige Millimeter erhaben und weisen keine

sichtbare Rötung auf (170,174). Aus diesem Grund ist es fraglich ob jene Narben überhaupt als HTS bezeichnet werden sollten. Es ist also zu entscheiden ob die in Tiermodellen erzeugten Narben für das Testen von neuen Therapiemöglichkeiten wirklich alle Kriterien von menschlichen HTS aufweisen müssen oder ob man sich mit HTS ähnlichen Narben zufrieden gibt. Neben jenem Kritikpunkt des von menschlichen HTS abweichenden makroskopischen Erscheinungsbildes, muss man auch beachten, dass es äußerst schwierig ist an Duroc- Schweine heranzukommen, da es hier zu Lande nur wenige Züchter dieser Rasse gibt. Neben der geringen Verfügbarkeit ist das Duroc- Schweinemodell im Vergleich zu den anderen genannten Versuchsmodellen auch sehr teuer, da man für die Haltung der Tiere viel Platz braucht (156). Wie auch das Hasenohrenmodell hat das Duroc- Schweinemodell im Vergleich zu den Mäusemodellen den Vorteil, dass auf einem Tier mehrere HTS ähnlichen Narben erzeugt werden können und somit für Studien mit Durocs vergleichsweise wenig Tiere gebraucht werden, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten (Reduction). Jedoch ist zu beachten, dass man im Hasenohrenmodell ebenfalls bis zu 8 HTS pro Tier erzeugen kann und Hasen leichter verfügbar sowie günstiger in der Haltung sind. Entscheidet man sich, aufgrund der im Vergleich zu den anderen Tieren deutlich ähnlicheren Anatomie zu menschlicher Haut, dafür das Duroc- Schweinemodell zu verwenden, ist darauf zu achten, dass die Wunde mindestens 1.524 mm tief sein muss um HTS- ähnliche Narben zu bilden (166,174). Neben der Verwendung des Duroc- Schweinemodells gibt es auch Hinweise dafür, dass spezielle immunsupprimierte Schweine in Zukunft in der HTS- Forschung eine Rolle spielen könnten, da wie auch im NMM direkt an humaner Haut geforscht werden könnte, wobei pro Schwein mehrere und größere Narben als an Mäusen erzeugt werden könnten (206). Jedoch wären wie auch im NMM inflammatorische Faktoren, welche zur Entstehung von HTS beitragen, in diesem Modell nicht untersuchbar, was einen erheblichen Kritikpunkt darstellt. Außerdem ist die Verwendung solcher Großtiere ethisch bedenklich, da durch die Immunsuppression zusätzliches Leid der Tiere ermöglicht wird. Interessant wären auch weitere Studien zum Large White- Modell, da in diesem durchaus Narben nachgewiesen wurden, welche eindeutige makroskopische Kriterien von HTS aufwiesen (181). Zwar konnte man nach 99 Tagen keine Kollagenknoten nachweisen, jedoch ist nicht auszuschließen, dass diese erst im weiteren Verlauf auftauchen. Um Schweinemodelle als eindeutigen Goldstandard in der HTS-

Forschung zu etablieren, braucht es also weitere Studien. Es wäre jedoch umso wichtiger ein Schweinmodell zu entwickeln, welches in der Lage ist Narben mit makroskopischen und histologischen Kriterien von HTS zu bilden, da die Übertragbarkeit von Studienergebnissen zu Therapieansätzen in Schweinmodellen eine bessere Übertragbarkeit auf den Menschen besitzt als andere Kleintiermodelle und in vitro Modelle (167). Dementsprechend sollte man, auch wenn es noch kein optimales Schweinmodell gibt, bei Studien zu neuen Therapieansätzen, jedenfalls auf Schweinmodelle zurückgreifen.

#### **4.8 Die Verwendung von Hunden und Affen**

Neben Mäusen, Ratten, Hasen, Meerschweinchen und Schweinen gibt es auch wenige Studien, in welchen man Hunde oder Affen für die HTS- Forschung verwendet (177,180,187). So wurden im Zuge der Literaturrecherche Studien gefunden, in welchen eine HTS- Bildung bei mexikanischen Nackthunden und Büschelaffen beschrieben wurde. Es muss jedoch klargelegt werden, warum sich diese Modelle wohl kaum als neuer internationaler Goldstandard in der HTS- Forschung durchsetzen werden. Obwohl beide Tiere bereits in einigen anderen medizinischen Forschungsgebieten verwendet werden, gibt es nur vereinzelt Studien in welchen deren Fähigkeit zur HTS- Bildung beschrieben wurde (182,185,192). Um zu beurteilen ob Hunde und Affen wirklich in der Lage sind Narben zu bilden welche Kriterien von menschlichen HTS aufweisen, sind weitere Studien nötig, in welchen näher auf die Makroskopie und Histologie dieser Narben eingegangen wird. Da die Verwendung von Hunden und Primaten ethisch zu hinterfragen und zumindest in Österreich nicht gestattet ist, werden diese beiden Tiermodelle in zukünftigen HTS- Studien hier zu Lande wohl kaum eine Rolle spielen.

## 4.9 Ersatz von Tiermodellen durch in vitro und in silico Modelle

Die Sinnhaftigkeit der Verwendung von Tiermodellen in der medizinischen Forschung wird häufig in Frage gestellt, da gewisse pathophysiologische Prozesse in Tieren anders ablaufen als im Menschen und dem zu Folge Ergebnisse von Studien aus Tiermodellen nicht eindeutig auf den Menschen übertragbar sind (207). Im Bezug auf die 3R sollte es von jedem Forscher angestrebt werden, wenn möglich auf Tierversuche zu verzichten und andere Modelle ohne Schmerzempfinden zu wählen (121). Dementsprechend ist es wichtig die derzeitig verfügbaren Alternativen zu diskutieren sowie deren Limitationen aufzuzeigen, um zu verstehen, dass Tiermodelle nicht komplett durch in vitro Modelle ersetzt werden können. Wie bereits erwähnt, gibt es in vitro Modelle, in welchen man versucht, die Komplexität der menschlichen Haut nachzustellen. Diese Modelle bestehen aus einer künstlich hergestellten EZM bzw. einer dezellularisierten Dermis auf welche humane Fibroblasten sowie Keratinozyten aufgetragen werden (208). Das Problem dieser Modelle ist, dass es nicht möglich ist, den an der HTS- Bildung beteiligten Entzündungsprozess zu erforschen, da Entzündungszellen in diesen Modellen nicht vorhanden sind. Selbst wenn man in diese Modelle zusätzlich Entzündungszellen einbringen würde, muss klargestellt werden, dass die Wundheilung und die HTS- Bildung nicht nur von lokal vorhandenen Entzündungszellen, sondern auch von im Blut zirkulierenden Entzündungszellen, welche ins Hautgewebe einwandern, abhängig sind. Der Einfluss von systemischen Faktoren auf die HTS- Bildung kann in diesen Modellen somit nicht untersucht werden, da die Wundheilung und Narbenentstehung dynamische Prozesse sind. Eine weitere Alternative zu Tiermodellen, welche in Zukunft auch in der HTS- Forschung eine Rolle spielen könnte, sind Organ-on-a-Chip Modelle. Im Vergleich zu den zuvor genannten in vitro Modellen, bieten Organ-on-a-Chip Modelle neben der Möglichkeit direkt an humanem Gewebe zu forschen, den Vorteil einer permanenten Perfusion mit einer Nährstofflösung, was in gewisser Weise mit der Blutversorgung in lebenden Geweben vergleichbar ist. In einigen dieser Modelle konnte man durch Beimengen von Entzündungszellen in die Nährstofflösung auch das Einwandern von Entzündungszellen in Lungen- und Lebergewebe nachstellen (209,210). Dementsprechend könnten Organ-on-a-Chip Modelle zukünftig eine bedeutende

Rolle in der HTS- Forschung spielen und irgendwann vielleicht sogar Tiermodelle komplett ersetzen. Bis jetzt gibt es jedoch kein Organ-on-a-Chip Modell welches gezielt für die HTS- Forschung entwickelt wurde, wobei es bereits Ansätze gibt in denen man versucht Hautgewebe künstlich nachzustellen. Neben in vitro Modellen könnten in Zukunft auch in silico Modelle in der medizinischen Forschung eine immer größere Rolle spielen. In diesen Modellen versucht man physiologische Zustände und Prozesse virtuell mit Hilfe von Algorithmen nachzustellen. So konnten Koppenol et al. in ihrem Modell bereits einige Besonderheiten von HTS simulieren (211). Um in silico Modelle neue Therapieansätze zur Behandlung von HTS zu testen, bräuchte es aber deutlich komplexere Modelle. Dementsprechend ist es aufgrund der derzeitig noch bestehenden Limitationen der in vitro und in silico Modelle nicht möglich in der medizinischen Forschung vollkommen auf Tierversuche zu verzichten. Um unnötiges Leid der Tiere zu verhindern, ist es nötig aus der Vielzahl der vorhanden Tiermodelle jenes auszuwählen, welches die besten Voraussetzungen liefert, um die jeweilige Forschungsfrage zu beantworten.

#### **4.10 Reduktion und Verbesserung von Tiermodellen**

Wie bereits besprochen ist es derzeit nicht möglich in der medizinischen Forschung vollständig auf Tiermodelle zu verzichten. Daher ist es umso wichtiger die Zahl der Tierversuche verringern und mit einer möglichst geringen Anzahl von Tieren ein Maximum an neuen Informationen zu gewinnen. In der HTS- Forschung ist es daher erstrebenswert eher Tiere wie Hasen und Schweine zu verwenden, da an diesen mehrere Narben pro Tier erzeugt werden können. Wenn die jeweilige Forschungsfrage auch mit einem der derzeitigen in vitro Modell beantwortet werden kann, darf in keinem Fall auf einen Tierversuch zurückgegriffen werden (212). Weiters muss auch darauf geachtet werden, dass Fehler aus vorherigen Studien nicht wiederholt werden. So ist es notwendig bei der Wundsetzung auf die Tiefe und die Fläche der verursachten Verletzung zu achten, damit das entsprechende Tier auch wirklich HTS bildet und nicht nutzlos verletzt wurde. Um das Leid der Tiere so gering wie möglich zu halten ist es unbedingt nötig die Wunden unter Anästhesie zu setzen und postoperativ ausreichend Schmerzmittel zu verabreichen. Zusätzlich muss für eine artgerechte Haltung gesorgt werden. Um Tiermodelle ständig weiter

zu entwickeln und das Leid der Tiere so gering wie möglich zu halten, gibt es Organisationen welche es sich zum Ziel gesetzt haben diesbezüglich Forschung zu betreiben, um Tiermodelle zu verbessern, beziehungsweise diese wenn möglich zu ersetzen (213). Grundsätzlich sollte sich jedoch jeder Forscher daran beteiligen und eine Optimierung, und wenn möglich Vermeidung der Versuche anstreben.

#### **4.11 Die Qual der Wahl**

HTS-Forschung bedingt derzeit den Einsatz von Tiermodellen. Daher ist es umso wichtiger in zukünftigen Studien zu HTS jenes Tiermodell zu wählen welches die besten Voraussetzungen für einen Wissensgewinn liefert, da sich so die benötigte Anzahl und das Leid der Tiere minimieren lässt. Um dies zu erreichen muss also ein möglichst optimales Tiermodell gewählt werden, wobei auch definiert werden muss, was man unter einem optimalen Modell versteht. So sollte ein optimales Tiermodell Narben aufweisen, welche menschlichen HTS hinsichtlich Histologie (Kollagenfaserknoten, Mastzellen, Myofibroblasten) und makroskopischen Erscheinungsbildes (Rötung, Erhabenheit) ähneln. Es wäre auch wünschenswert, dass an einem Tier mehrere HTS erzeugt werden können, damit man in Studien zu neuen Therapiemöglichkeiten keine eigene interindividuelle Kontrollgruppe braucht und so die Anzahl der erforderlichen Tiere geringer ist, was im Sinne der 3R angestrebt werden sollte. Zusätzlich sollten die erzeugten HTS möglichst lange erhalten bleiben und sich nicht sofort wieder zurückbilden, da so die Wirksamkeit von neuen Therapieansätzen optimal getestet werden kann. Weiters sollte ein optimales Modell leicht verfügbar und kostengünstig sein. Im Folgenden werden die verschiedenen Tiermodelle noch einmal im Bezug auf die Kriterien eines optimalen Tiermodells zusammengefasst.

Mäuse gelten als leicht verfügbar und billig, wobei man in den beschriebenen Mausmodellen entweder menschliche Hauttransplantate oder spezielle Vorrichtungen (Bleomycinpumpe, Spannungsvorrichtung) braucht, womit der oft angegebene Vorteil der leichten Verfügbarkeit und geringen Kosten in Frage zu stellen ist (122,131,135,140,141). In allen beschriebenen Mausmodellen können Narben erzeugt werden, welche histologische und makroskopische Kriterien von

menschlichen HTS aufweisen und je nach Modell bis zu 6 Monate lang nachweisbar sind (136). Nachteil der beschriebenen Mausmodelle ist, dass man pro Tier nur eine Narbe erzeugen kann und somit eine große Anzahl von Versuchstieren benötigt um in Versuchen statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten. Jedoch bietet die Verwendung von Mäusen den Vorteil, dass verschiedene gentechnisch veränderte Mäusestämme zur Verfügung stehen, was es erlaubt den Einfluss diverser Gene auf die HTS- Bildung zu untersuchen (197).

Wie auch Mäuse sind auch Ratten leicht verfügbar und billig. Hinsichtlich Histologie und Makroskopie weisen auch die im Rattenmodell beschriebenen Narben durchaus Ähnlichkeiten zu menschlichen HTS auf. Da Ratten aber nur in der Lage sind bei Verwundung des Rattenschwanzes HTS zu bilden, kann wie auch bei Mäusen, nur eine HTS pro Tier erzeugt werden, wobei diese Narben bis zu 6 Monate lang bestehen bleiben (142).

Das Hasenohrenmodell ist nicht nur leicht verfügbar und billig, sondern bietet auch den Vorteil, dass an einem Tier mehrere Narben erzeugt werden können (64,145,149). Diese Narben weisen histologische und makroskopische Kriterien von HTS auf und bleiben bis zu 6 Monate lang bestehen (144). Der Nachteil dieses Modells ist, dass man nicht ausschließen kann, dass der Knorpel des Hasenohres den pathophysiologischen Prozess der HTS- Bildung in einer Art und Weise beeinflusst, wie es bei menschlichen HTS nicht der Fall ist.

In Schweinemodellen lassen sich wie auch im Hasenohrenmodell multiple Narben an einem Tier erzeugen, wobei den Narben in Schweinemodellen kein Knorpelgewebe unterliegt (166). Ein weiterer Vorteil ist, dass die Haut von Schweinen, im Vergleich zur Haut von anderen in der HTS- Forschung verwendeten Tieren (Mäusen, Hasen, Meerschweinchen) eine gewisse Ähnlichkeit zu menschlicher Haut aufweist (32,169). Trotz ähnlicher anatomischer Verhältnisse und der Möglichkeit mehrere Narben pro Tier erzeugen zu können, sind auch Schweinemodelle keine optimalen Tiermodelle für die HTS- Forschung. So weisen die in diesen Modellen gebildeten Narben je nach verwendeter Schweinerasse entweder histologische Kriterien oder makroskopische Kriterien von menschlichen HTS auf, wobei ein optimales Tiermodell beides aufweisen sollte (170,176). Nichtsdestotrotz bieten Schweinemodelle den Vorteil, dass Studienergebnisse aus

diesen Modellen besser auf den Menschen übertragbar sind, als Ergebnisse aus anderen Tiermodellen mit Mäusen, Ratten oder Hasen (167). Hierbei muss jedoch erwähnt werden, dass die Kosten für die Durchführung von Studien mit Schweinmodellen im Vergleich zu anderen Tiermodellen deutlich höher sind und nicht jede Forschungseinrichtung die Voraussetzungen für die adäquate Haltung der Tiere erfüllt (122).

Meerschweinchen sind leicht verfügbar, billig und in der Lage nach Entfernung des Panniculus carnosus und Behandlung der Wunden mit Steinkohleteer Narben zu bilden, welche histologische und makroskopische Kriterien von HTS aufweisen (159). Pro Tier können bis zu 4 HTS gewonnen werden, wobei die Mortalität der Tiere in diesem Modell sehr hoch ist und dementsprechend trotz mehrerer HTS pro Tier in diesem Modell viele Versuchstiere erforderlich sind (160).

Aus den genannten Gründen entspricht keines der derzeit zur Verfügung stehenden Tiermodelle allen Kriterien eines optimalen HTS- Modells. Daher ist es nötig sich mit den Vor- und Nachteilen der diversen Modelle vertraut zu machen, um effiziente Forschung betreiben zu können. Interessant wären auch weitere Studien zum Large White- Schweinmodell unter Einhaltung der 3R, da die in diesem Modell durch Brandwunden erzeugten Narben starke Ähnlichkeit zu humanen HTS aufweisen (181). Es wäre auch wichtig zu untersuchen ob es in diesem Modell im späteren Verlauf auch zu der für HTS typischen Kollagenfaserknotenbildung kommt. Sollte es möglich sein diese Begebenheit nachzuweisen, könnte das Large White-Schweinmodell in Zukunft eine große Rolle in der HTS- Forschung spielen.

## 4.12 Limitationen

Mit dem Ziel eine Übersicht über den aktuellen Stand von in vivo Tiermodellen für Hypertrophe Narben zu liefern, bringt diese Arbeit auch Limitationen mit sich. Zum einen ist es möglich, dass durch die Wahl der Ausschlusskriterien Quellen ausgeschlossen wurden, welche eventuell wichtige Informationen zu den in der HTS- Forschung verwendeten Tiermodellen liefern. Zum anderen ist es möglich, dass manche Arbeiten, welche sich mit Tiermodellen in der HTS- Forschung beschäftigen, nicht von den MeSH- Terms erfasst wurden und dementsprechend in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden. Weiters wurden in dieser Arbeit für die Literatursuche ausschließlich Pubmed und CINAHL verwendet. Dadurch wurden eventuell wichtige Studien, welche nur über andere Datenbanken abrufbar sind, bei der Erstellung dieser Arbeit nicht berücksichtigt. Es ist auch nicht möglich an Hand dieser Arbeit eine absolute Bewertung zu treffen und eines der untersuchten Modelle eindeutig als neuen Goldstandard in der HTS- Forschung zu empfehlen, da jedes der untersuchten Modelle individuelle Vor- aber auch Nachteile aufweist und je nach Forschungsfrage unterschiedliche Modelle nötig sind. So müssen sich Forscher auch weiterhin mit den vorhanden Tiermodellen auseinandersetzen, um das für ihre Arbeit passendste Modell zu wählen.

## 4.13 Konklusion

Diese Arbeit zeigt die Vor- und Nachteile der diversen Tiermodelle in der HTS-Forschung auf. Dies dient als Grundlage für die Wahl eines möglichen Modells, um in Zukunft ethisch korrekte und effiziente Forschung betreiben zu können. Je nach Forschungsfrage ist die Wahl eines anderen Modells erforderlich, wobei die Wahl unterschiedlicher Modelle zur Beantwortung der diversen Forschungsfragen weiterhin erforderlich ist und nicht eines zur Beantwortung aller Forschungsfragen ausreichend ist. In jedem Fall ist eine Berücksichtigung der 3R von größter Wichtigkeit. Dementsprechend sollten Alternativen wie bspw. in vitro Versuche (3D-Zellkultur) oder künftig auch in silico Versuche gewählt werden, wenn sich die Forschungsfrage auch hiermit beantworten lässt. Da keines der untersuchten Tiermodelle als Standardmodell in der Narbenforschung empfohlen werden kann, ist es wichtig bestehende Tiermodelle zu verbessern und neue zu kreieren, um effiziente und ethisch korrekte Forschung betreiben zu können. Interessant wären auch zukünftige Studien zum Large White- Schweinmodell, da die in diesem Modell durch Brandwunden erzeugten Narben starke Ähnlichkeit zu humanen HTS aufweisen. Hier zeigen sich jedoch auch noch ungeklärte Fragen, welche beantwortet werden sollten. Es wäre zum Beispiel wichtig zu untersuchen, ob es in diesem Modell zu der für HTS typischen Kollagenfaserknotenbildung kommt. Sollte es möglich sein diese Begebenheit nachzuweisen und dieses Modell weiter zu optimieren, könnte das Large White- Schweinmodell in Zukunft eine große Rolle in der HTS- Forschung spielen.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Lüllmann-Rauch R, Asan E. Haut und Hautanhangsgebilde. In: Lüllmann-Rauch R, Asan E, Hrsg. Taschenlehrbuch Histologie. 5.Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015:580–604.
2. Hazarika P, Russell DA. Advances in fingerprint analysis. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012 Apr 10;51(15):3524-31.
3. Hegyi I, Zelger B. Haut. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU, Höfler G, Kreipe H, Moch H, Hrsg. Pathologie. 5.Aufl. München: Elsevier; 2012:827–49.
4. Lüllmann-Rauch R, Asan E. Binde- und Stützgewebe. In: Lüllmann-Rauch R, Asan E, Hrsg. Taschenlehrbuch Histologie. 5.Aufl. Stuttgart: Thieme. 2015:123–76.
5. Carmichael SW. The tangled web of Langer's lines. *Clin Anat.* 2014 Mar;27(2):162–8.
6. Burke M. Scars. Can they be minimised? *Aust Fam Physician.* 1998 Apr;27(4):275–8.
7. Silbernagel S, Despopoulos A. Wärmehaushalt und Thermoregulation. In: Silbernagel S, Despopoulos A, Hrsg. Taschenatlas Physiologie. 8.Aufl. Stuttgart: Thieme. 2012:234–6.
8. Holick MF. The cutaneous photosynthesis of previtamin D3: A unique photoendocrine system. *J Invest Dermatol.* 1981;77(1):51–8.
9. Ud-Din S, Volk SW, Bayat A. Regenerative healing, scar-free healing and scar formation across the species: Current concepts and future perspectives. *Exp Dermatol.* 2014;23(9):615–9.
10. Dunkin CSJ, Pleat JM, Gillespie PH, Tyler MPH, Roberts AHN, McGrouther DA. Scarring occurs at a critical depth of skin injury: Precise measurement in a graduated dermal scratch in human volunteers. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(6):1722–32.
11. Müller C, Höfler G, Imhof BA, Holländer GA. Entzündung. In: Böcker W,

- Denk H, Heitz P, Höfler G, Kreipe H, Moch H, Hrsg. Pathologie. 5.Aufl. München: Elsevier; 2012:43–71.
12. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(7 SUPPL.).
  13. Bai XZ, Liu JQ, Yang LL, Fan L, He T, Su LL, et al. Identification of sirtuin 1 as a promising therapeutic target for hypertrophic scars. *Br J Pharmacol*. 2016;173(10):1589–601.
  14. Zhang J, Li YY, Bai X, Li YY, Shi J, Hu D. Recent advances in hypertrophic scar. *Histol Histopathol*. 2018;33(1):27–39.
  15. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care*. 2015;4(3):119–36.
  16. McGregor IA. Teil1. Grundtechnik. In: McGregor IA, *Plastische Chirurgie Grundlagen und klinische Anwendungen*. 2.Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer. 2014:1-161.
  17. Song B, Zhang W, Guo S, Han Y, Zhang Y, Ma F, et al. Adenovirus-mediated METH1 gene expression inhibits hypertrophic scarring in a rabbit ear model. *Wound Repair Regen*. 2009;17(4):559–68.
  18. Butzelaar L, Ulrich MMW, Mink Van Der Molen AB, Niessen FB, Beelen RHJ. Currently known risk factors for hypertrophic skin scarring: A review. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2016;69(2):163–9.
  19. Zhu Z, Ding J, Tredget EE. The molecular basis of hypertrophic scars. *Burn Trauma*. 2016;4(1):1–12.
  20. Mustoe TA. Scars and keloids. *Br Med J*. 2004;328(7452):1329–30.
  21. Chiang RS, Borovikova AA, King K, Banyard DA, Lalezari S, Toronto JD, et al. Current concepts related to hypertrophic scarring in burn injuries. *Wound Repair Regen*. 2016;24(3):466–77.
  22. Alrobaiea SM, Ding J, Ma Z, Tredget EE. A novel nude mouse model of hypertrophic scarring using scratched full thickness human skin grafts. *Adv*

- Wound Care. 2016;5(7):299–313.
23. Nedelec B, Ghahary A, Scott PG, Tredget EE. Control of wound contraction: Basic and clinical features. *Hand Clin.* 2000;16(2):289–302.
  24. Guo L, Xu K, Yan H, Feng H, Wang T, Chai L, et al. MicroRNA expression signature and the therapeutic effect of the microRNA-21 antagomir in hypertrophic scarring. *Mol Med Rep.* 2017;15(3):1211–21.
  25. Goddard L, Chesnut C. Simultaneous Lateral Tarsal Strip and Medial Spindle Procedures for Cicatricial Ectropion. *Dermatologic Surg.* 2019;45(7):898–905.
  26. McKelvie J, Papchenko T, Carroll S, Ng SGJ. Cicatricial ectropion surgery: a prospective study of long-term symptom control, patient satisfaction and anatomical success. *Clin Exp Ophthalmol.* 2018;46(9):1002–7.
  27. Li-Tsang CWP, Lau JCM, Chan CCH. Prevalence of hypertrophic scar formation and its characteristics among the Chinese population. *Burns.* 2005;31(5):610–6.
  28. Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG. Hypertrophic scarring and keloids: Pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med.* 2011;17(1–2):113–25.
  29. Lewis WHP, Sun KKY. Hypertrophic scar: a genetic hypothesis. *Burns.* 1990;16(3):176–8.
  30. Bombaro KM, Engrav LH, Carrougner GJ, Wiechman SA, Faucher L, Costa BA, et al. What is the prevalence of hypertrophic scarring following burns? *Burns.* 2003;29(4):299–302.
  31. Lorden ER, Miller KJ, Ibrahim MM, Bashirov L, Hammett E, Chakraborty S, et al. Biostable electrospun microfibrinous scaffolds mitigate hypertrophic scar contraction in an immune-competent murine model. *Acta Biomater.* 2016;32:100–9.
  32. Blackstone BN, Kim JY, McFarland KL, Sen CK, Supp DM, Bailey JK, et al. Scar formation following excisional and burn injuries in a red Duroc pig model. *Wound Repair Regen.* 2017;25(4):618–31.

33. Bayat A, Bock O, Mrowietz U, Ollier WER, Ferguson MWJ. Genetic susceptibility to keloid disease and hypertrophic scarring: Transforming growth factor  $\beta$ 1 common polymorphisms and plasma levels. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111(2):535–43.
34. Aarabi S, Longaker MT, Gurtner GC. Hypertrophic scar formation following burns and trauma: New approaches to treatment. *PLoS Med.* 2007;4(9):1464–70.
35. Sommer F. Operative Ektropiumkorrektur. *Ophthalmologe.* 2010;107(10):898–904.
36. Tredget EE, Levi B, Donelan MB. Biology and principles of scar management and burn reconstruction. *Surg Clin North Am.* 2014;94(4):793–815.
37. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol.* 2015;173(2):370–8.
38. Ghahary A, Shen YJ, Scott PG, Gong Y, Tredget EE. Enhanced expression of mRNA for transforming growth factor- $\beta$ , type I and type III procollagen in human post-burn hypertrophic scar tissues. *J Lab Clin Med.* 1993;122(4):465–73.
39. Ghahary A, Shen YJ, Nedelec B, Wang R, Scott PG, Tredget EE. Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts than in normal fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1. *J Invest Dermatol.* 1996;106(3):476–81.
40. Poormasjedi-Meibod MS, Hartwell R, Kilani RT, Ghahary A. Anti-scarring properties of different tryptophan derivatives. *PLoS One.* 2014;9(3).
41. Butler PD, Longaker MT, Yang GP. Current Progress in Keloid Research and Treatment. *J Am Coll Surg.* 2008;206(4):731–41.
42. Kischer CW, Bunce H, Shetlar MR. Mast cell analyses in hypertrophic scars, hypertrophic scars treated with pressure and mature scars. *J Invest Dermatol.* 1978;70(6):355–7.
43. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN. Keloid or hypertrophic scar: The

- controversy: Review of the literature. *Ann Plast Surg.* 2005;54(6):676–80.
44. Wilgus TA, Wulff BC. The Importance of Mast Cells in Dermal Scarring. *Adv Wound Care.* 2014;3(4):356–65.
  45. Paterno J, Vial IN, Wong VW, Rustad KC, Sorkin M, Shi Y, et al. Akt-mediated mechanotransduction in murine fibroblasts during hypertrophic scar formation. *Wound Repair Regen.* 2011;19(1):49–58.
  46. Cheon SS, Cheah AYL, Turley S, Nadesan P, Poon R, Clevers H, et al.  $\beta$ -Catenin stabilization dysregulates mesenchymal cell proliferation, motility, and invasiveness and causes aggressive fibromatosis and hyperplastic cutaneous wounds. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(10):6973–8.
  47. Hong KM, Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, Strieter RM. Differentiation of human circulating fibrocytes as mediated by transforming growth factor- $\beta$  and peroxisome proliferator-activated receptor. *J Biol Chem.* 2007;282(31):22910–20.
  48. Weng W, He S, Song H, Li X, Cao L, Hu Y, et al. Aligned carbon nanotubes reduce hypertrophic scar via regulating cell behavior. *ACS Nano.* 2018;12(8):7601–10.
  49. Ogawa R. Keloid and hypertrophic scars are the result of chronic inflammation in the reticular dermis. Vol. 18, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2017.
  50. Satish L, Gallo PH, Johnson S, Yates CC, Kathju S. Local probiotic therapy with *Lactobacillus plantarum* mitigates scar formation in rabbits after burn injury and infection. *Surg Infect (Larchmt).* 2017;18(2):119–27.
  51. Ogawa R. Mechanobiology of scarring. *Wound Repair Regen.* 2011 Sep;19(SUPPL. 1):s2–9.
  52. Liu S, Jiang L, Li H, Shi H, Luo H, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cells prevent hypertrophic scar formation via inflammatory regulation when undergoing apoptosis. *J Invest Dermatol.* 2014;134(10):2648–57.
  53. Smith CJ, Smith JC, Finn MC. The possible role of mast cells (allergy) in the production of keloid and hypertrophic scarring. *J Burn Care Rehabil.*

- 1987;8(2):126–30.
54. Li Y, Zhang J, Zhang W, Liu Y, Li Y, Wang K, et al. MicroRNA-192 regulates hypertrophic scar fibrosis by targeting SIP1. *J Mol Histol.* 2017;48(5–6):357–66.
  55. Guo J, Lin Q, Shao Y, Rong L, Zhang D. MiR-29b promotes skin wound healing and reduces excessive scar formation by inhibition of the TGF- $\beta$ 1/Smad/CTGF signaling pathway. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017;95(4):437–42.
  56. Chen B, Li H, Xia W. The role of Th1/Th2 cell chemokine expression in hypertrophic scar. *Int Wound J.* 2020;17(1):197–205.
  57. Chen B, Li H, Xia W. Imiquimod regulating Th1 and Th2 cell-related chemokines to inhibit scar hyperplasia. *Int Wound J.* 2019;16(6):1281–8.
  58. Zhu Z, Ding J, Ma Z, Iwashina T, Tredget EE. Systemic depletion of macrophages in the subacute phase of wound healing reduces hypertrophic scar formation. *Wound Repair Regen.* 2016;24(4):644–56.
  59. Yagmur C, Guneren E, Kefeli M, Ogawa R. The effect of surgical denervation on prevention of excessive dermal scarring: A study on rabbit ear hypertrophic scar model. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2011;64(10):1359–65.
  60. Henry SL, Concannon MJ, Kaplan PA, Diaz-Arias AA. The inhibitory effect of minocycline on hypertrophic scarring. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(1):80–8.
  61. Zhu Z, Ding J, Ma Z, Iwashina T, Tredget EE. The natural behavior of mononuclear phagocytes in HTS formation. *Wound Repair Regen.* 2016 Jan 1;24(1):14–25.
  62. Henderson J, Ferguson MWJ, Terenghi G. The reinnervation and revascularization of wounds is temporarily altered after treatment with interleukin 10. *Wound Repair Regen.* 2011;19(2):268–73.
  63. Salgado RM, Alcántara L, Mendoza-Rodríguez CA, Cerbón M, Hidalgo-González C, Mercadillo P, et al. Post-burn hypertrophic scars are

- characterized by high levels of IL-1 $\beta$  mRNA and protein and TNF- $\alpha$  type I receptors. *Burns*. 2012;38(5):668–76.
64. Wang P, Jiang LZ, Xue B. Recombinant human endostatin reduces hypertrophic scar formation in rabbit ear model through down-regulation of VEGF and TIMP-1. *Afr Health Sci*. 2016;16(2):542–53.
  65. Chang Z, Kishimoto Y, Hasan A, Welham N V. TGF- $\beta$ 3 modulates the inflammatory environment and reduces scar formation following vocal fold mucosal injury in rats. *DMM Dis Model Mech*. 2014;7(1):83–91.
  66. Nangole FW, Agak GW. Keloid pathophysiology: fibroblast or inflammatory disorders?: Pathophysiology of Keloids. *JPRAS Open*. 2019;22:44–54.
  67. Yosipovitch G, Sugeng MW, Goon A, Chan YH, Goh CL. A comparison of the combined effect of cryotherapy and corticosteroid injections versus corticosteroids and cryotherapy alone on keloids: A controlled study. *J Dermatolog Treat*. 2001;12(2):87–90.
  68. Mandal A, Imran D, Rao GS. Spontaneous keloids in siblings. *Ir Med J*. 2004;97(8):250–1.
  69. Shilpashree P, Jaiswal AK, Kharge PM. Keloids: An unwanted spontaneity in Rubinstein-Taybi Syndrome. *Indian J Dermatol*. 2015;60(2):214.
  70. Oliveira G V., Hawkins HK, Chinkes D, Burke A, Tavares ALP, Ramos-E-Silva M, et al. Hypertrophic versus non hypertrophic scars compared by immunohistochemistry and laser confocal microscopy: Type I and III collagens. *Int Wound J*. 2009;6(6):445–52.
  71. Friedman DW, Boyd CD, Mackenzie JW, Norton P, Olson RM, Deak SB. Regulation of collagen gene expression in keloids and hypertrophic scars. *J Surg Res*. 1993;55(2):214–22.
  72. Niessen FB, Spauwen PHM, Schalkwijk J, Kon M. On the nature of hypertrophic scars and keloids: A review. *Plast Reconstr Surg*. 1999;104(5):1435–58.
  73. Nischwitz SP, Rauch K, Luze H, Hofmann E, Draschl A, Kotzbeck P, et al. Evidence-based therapy in hypertrophic scars: An update of a systematic

- review. *Wound Repair Regen.* 2020;28(5):656–65.
74. Ogawa R. Keloid and hypertrophic scars are the result of chronic inflammation in the reticular dermis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3).
  75. Bloemen MCT, van der Veer WM, Ulrich MMW, van Zuijlen PPM, Niessen FB, Middelkoop E. Prevention and curative management of hypertrophic scar formation. *Burns.* 2009;35(4):463–75.
  76. Ogawa R, Akaishi S, Huang C, Dohi T, Aoki M, Omori Y, et al. Clinical applications of basic research that shows reducing skin tension could prevent and treat abnormal scarring: The importance of fascial/subcutaneous tensile reduction sutures and flap surgery for keloid and hypertrophic scar reconstruction. *J Nippon Med Sch.* 2011;78(2):68–76.
  77. Muir IFK. On the nature of keloid and hypertrophic scars. *Br J Plast Surg.* 1990;43(1):61–9.
  78. Shen J, Lian X, Sun Y, Wang X, Hu K, Hou X, et al. Hypofractionated electron-beam radiation therapy for keloids: Retrospective study of 568 cases with 834 lesions. *J Radiat Res.* 2015;56(5):811–7.
  79. Leventhal D, Furr M, Reiter D. Treatment of keloids and hypertrophic scars: A meta-analysis and review of the literature. *Arch Facial Plast Surg.* 2006;8(6):362–8.
  80. Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, Hobbs FDR, Ramelet AA, Shakespeare PG, et al. International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110(2):560–71.
  81. Ji J, Tian Y, Zhu YQ, Zhang LY, Ji SJ, Huan J, et al. Ionizing irradiation inhibits keloid fibroblast cell proliferation and induces premature cellular senescence. *J Dermatol.* 2015;42(1):56–63.
  82. McKeown SR, Hatfield P, Prestwich RJD, Shaffer RE, Taylor RE. Radiotherapy for benign disease; Assessing the risk of radiation-induced cancer following exposure to intermediate dose radiation. *Br J Radiol.* 2015;88(1056).
  83. Fitzpatrick RE. Treatment of inflamed hypertrophic scars using intralesional

- 5-FU. *Dermatologic Surg.* 1999;25(3):224–32.
84. Naeini FF, Najafian J, Ahmadpour K. Bleomycin tattooing as a promising therapeutic modality in large keloids and hypertrophic scars. *Dermatologic Surg.* 2006;32(8):1023–30.
85. Aggarwal H, Saxena A, Lubana PS, Mathur RK, Jain DK. Treatment of keloids and hypertrophic scars using bleom. *J Cosmet Dermatol.* 2008;7(1):43–9.
86. Larrabee WF, East CA, Jaffe HS, Stephenson C, Peterson KE. Intralesional Interferon Gamma Treatment for Keloids and Hypertrophic Scars. *Arch Otolaryngol Neck Surg.* 1990;116(10):1159–62.
87. Xiao Z, Zhang F, Cui Z. Treatment of hypertrophic scars with intralesional botulinum toxin type a injections: A preliminary report. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33(3):409–12.
88. Muneuchi G, Suzuki S, Onodera M, Ito O, Hata Y, Igawa HH. Long-term outcome of intralesional injection of triamcinolone acetonide for the treatment of keloid scars in Asian patients. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2006;40(2):111–6.
89. Hochman B, Locali RF, Matsuoka PK, Ferreira LM. Intralesional triamcinolone acetonide for keloid treatment: A systematic review. *Aesthetic Plast Surg.* 2008;32(4):705–9.
90. Prince GT, Cameron MC, Fathi R, Alkousakis T. Topical 5-fluorouracil in dermatologic disease. *Int J Dermatol.* 2018;57(10):1259–64.
91. Nanda S, Reddy BSN, Fitzpatrick RE. Intralesional 5-Fluorouracil as a Treatment Modality of Keloids. *Dermatologic Surg.* 2004;30(1):54–7.
92. Gupta S, Kalra A. Efficacy and safety of intralesional 5-fluorouracil in the treatment of keloids. *Dermatology.* 2002;204(2):130–2.
93. Elhefnawy A. Assessment of intralesional injection of botulinum toxin type A injection for hypertrophic scars. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2016;82(3):279–83.

94. Gassner HG, Brissett AE, Otley CC, Boahene DK, Boggust AJ, Weaver AL, et al. Botulinum toxin to improve facial wound healing: A prospective, blinded, placebo-controlled study. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(8):1023–8.
95. Sellin LC. The action of botulinum toxin at the neuromuscular junction. *Med Biol.* 1981;59(1):11–20.
96. Uyesugi B, Lippincott B, Dave S. Treatment of a painful keloid with botulinum toxin type a. *Am J Phys Med Rehabil.* 2010;89(2):153–5.
97. Zhibo X, Miaobo Z. Intralesional botulinum toxin type a injection as a new treatment measure for keloids. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(5).
98. Zhibo X, Miaobo Z. Botulinum toxin type A affects cell cycle distribution of fibroblasts derived from hypertrophic scar. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2008;61(9):1128–9.
99. Xiao Z, Zhang M, Liu Y, Ren L. Botulinum toxin type A inhibits connective tissue growth factor expression in fibroblasts derived from hypertrophic scar. *Aesthetic Plast Surg.* 2011;35(5):802–7.
100. Xiao Z, Zhang F, Lin W, Zhang M, Liu Y. Effect of botulinum toxin type a on transforming growth factor  $\beta$ 1 in fibroblasts derived from hypertrophic scar: A preliminary report. *Aesthetic Plast Surg.* 2010;34(4):424–7.
101. Lee JH, Kim SE, Lee AY. Effects of interferon- $\alpha$ 2b on keloid treatment with triamcinolone acetonide intralesional injection. *Int J Dermatol.* 2008;47(2):183–6.
102. Tredget EE, Shen YJ, Liu G, Forsyth N, Smith C, Robertson Harrop A, et al. Regulation of collagen synthesis and messenger RNA levels in normal and hypertrophic scar fibroblasts in vitro by interferon alfa-2b. *Wound Repair Regen.* 1993;1(3):156–65.
103. Harrop AR, Ghahary A, Scott PG, Forsyth N, Uji-Friedland A, Tredget EE. Regulation of collagen synthesis and mrna expression in normal and hypertrophic scar fibroblasts in vitro by interferon- $\gamma$ . *J Surg Res.* 1995;58(5):471–7.
104. Saray Y, Güleç T. Treatment of keloids and hypertrophic scars with dermojet

- injections of bleomycin: A preliminary study. *Int J Dermatol.* 2005;44(9):777–84.
105. Jones CD, Guiot L, Samy M, Gorman M, Tehrani H. The use of chemotherapeutics for the treatment of keloid scars. *Dermatology Reports.* 2015;7(2):15–9.
  106. Pittet B, Rubbia-Brandt L, Desmoulière A, Sappino AP, Roggero P, Guerret S, et al. Effect of  $\gamma$ -interferon on the clinical and biologic evolution of hypertrophic scars and dupuytren's disease: An open pilot study. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93(6):1224–35.
  107. Tredget EE, Shankowsky HA, Pannu R, Nedelec B, Iwashina T, Ghahary A, et al. Transforming growth factor- $\beta$  in thermally injured patients with hypertrophic scars: Effects of interferon  $\alpha$ -2b. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(5):1317–28.
  108. Har-Shai Y, Amar M, Sabo E. Intralesional cryotherapy for enhancing the involution of hypertrophic scars and keloids. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111(6):1841–52.
  109. Alster TS. Laser treatment of hypertrophic scars, keloids, and striae. *Semin Cutan Med Surg.* 2000;19(4):287–92.
  110. Rusciani L, Paradisi A, Alfano C, Chiummariello S, Rusciani A. Cryotherapy in the treatment of keloids. *J Drugs Dermatol.* 2006;5(7):591–5.
  111. Rodriguez-Menocal L, Davis SS, Becerra S, Salgado M, Gill J, Valdes J, et al. Assessment of Ablative Fractional CO<sub>2</sub> Laser and Er:YAG Laser to Treat Hypertrophic Scars in a Red Duroc Pig Model. *J Burn Care Res.* 2018;39(6):954–62.
  112. Reiken SR, Wolfort SF, Berthiaume F, Compton C, Tompkins RG, Yarmush ML. Control of hypertrophic scar growth using selective photothermolysis. *Lasers Surg Med.* 1997;21(1):7–12.
  113. Kuo YR, Jeng SF, Wang FS, Chen TH, Huang HC, Chang PR, et al. Flashlamp Pulsed Dye Laser (PDL) Suppression of Keloid Proliferation Through Down-Regulation of TGF- $\beta$ 1 Expression and Extracellular Matrix

- Expression. *Lasers Surg Med.* 2004;34(2):104–8.
114. Chan HHL, Wong DSY, Ho WS, Lam LK, Wei W. The use of pulsed dye laser for the prevention and treatment of hypertrophic scars in Chinese persons. *Dermatologic Surg.* 2004;30(7):987–94.
  115. Nouri K, Elsaie ML, Vejjabhinanta V, Stevens M, Patel SS, Caperton C, et al. Comparison of the effects of short- and long-pulse durations when using a 585-nm pulsed dye laser in the treatment of new surgical scars. *Lasers Med Sci.* 2010;25(1):121–6.
  116. Scott Hultman C, Friedstat JS, Edkins RE, Cairns BA, Meyer AA. Laser resurfacing and remodeling of hypertrophic burn scars: The results of a large, prospective, before-After cohort study, with long-term follow-up. *Ann Surg.* 2014;260(3):519–32.
  117. Zadkowski T, Nachulewicz P, Mazgaj M, Woźniak M, Cielecki C, Wiecek AP, et al. A new CO<sub>2</sub> laser technique for the treatment of pediatric hypertrophic burn scars: An observational study. *Med (United States).* 2016;95(42).
  118. Madni TD, Lu K, Nakonezny PA, Imran JB, Cunningham HB, Clark AT, et al. Treating Hypertrophic Burn Scar with 2940 nm Erbium: YAG Laser Fractional Ablation Improves Scar Characteristics as Measured by Noninvasive Technology. *J Burn Care Res.* 2019;40(4):416–21.
  119. Khan MA, Bashir MM, Khan FA. Intralesional triamcinolone alone and in combination with 5-fluorouracil for the treatment of keloid and hypertrophic scars. *J Pak Med Assoc.* 2014;64(9):1003–7.
  120. Yang SY, Yang JY, Hsiao YC. Comparison of combination therapy (steroid, calcium channel blocker, and interferon) with steroid monotherapy for treating human hypertrophic scars in an animal model. *Ann Plast Surg.* 2015;74:S162–7.
  121. Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. *ALTEX Altern zu Tierexperimenten.* 2002;19(2):73–8.
  122. Boyko T V., Longaker MT, Yang GP. Laboratory Models for the Study of

- Normal and Pathologic Wound Healing. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(3):654–62.
123. McGuire L, Heffner K, Glaser R, Needleman B, Malarkey W, Dickinson S, et al. Pain and wound healing in surgical patients. *Ann Behav Med.* 2006;31(2):165–72.
124. Funayama E, Chodon T, Oyama A, Sugihara T. Keratinocytes Promote Proliferation and Inhibit Apoptosis of the Underlying Fibroblasts: An Important Role in the Pathogenesis of Keloid. *J Invest Dermatol.* 2003;121(6):1326–31.
125. Garner WL. Epidermal regulation of dermal fibroblast activity. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(1):135–9.
126. Padmanabhan J, Maan ZN, Kwon SH, Kosaraju R, Bonham CA, Gurtner GC. In Vivo Models for the Study of Fibrosis. *Adv Wound Care.* 2019 Mar 28;8(12):645–54.
127. Green MC, Sweet HO, Bunker LE. Tight skin, a new mutation of the mouse causing excessive growth of connective tissue and skeleton. *Am J Pathol.* 1976;82(3):493–512.
128. Menton DN, Hess RA, Lichtenstein JR, Eisen AZ. The structure and tensile properties of the skin of tight skin (Tsk) mutant mice. *J Invest Dermatol.* 1978;70(1):4–10.
129. Menton DN, Hess RA. The ultrastructure of collagen in the dermis of tight-skin (Tsk) mutant mice. *J Invest Dermatol.* 1980;74(3):139–47.
130. Ehrlich HP, Needle AL. Wound healing in tight-skin mice: Delayed closure of excised wounds. *Plast Reconstr Surg.* 1983;72(2):190–6.
131. Robb EC, Waymack JP, Warden GD, Nathan P, Alexander JW. A new model for studying the development of human hypertrophic burn scar formation. *J Burn Care Rehabil.* 1987;8(5):371–5.
132. Flanagan SP. ‘Nude’, a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet Res.* 1966;8(3):295–309.

133. Mecklenburg L, Nakamura M, Paus R, Mecklenburg L, Sundberg JP. The nude mouse skin phenotype: The role of Foxn1 in hair follicle development and cycling. *Exp Mol Pathol*. 2001;71(2):171–8.
134. Mecklenburg L, Tychsens B, Paus R. Learning from nudity: Lessons from the nude phenotype. *Exp Dermatol*. 2005;14(11):797–810.
135. Yang DY, Li SR, Li G, Liu JY, Wang ZX, Wu JL, et al. Establishment of an animal model of human hyperplastic scar in nude mice. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2004;20(2):82–4.
136. Yang DY, Li SR, Wu JL, Chen YQ, Li G, Bi S, et al. Establishment of a hypertrophic scar model by transplanting full-thickness human skin grafts onto the backs of nude mice. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(1):104–9.
137. Wang J, Ding J, Jiao H, Honardoust D, Momtazi M, Shankowsky HA, et al. Human hypertrophic scar-like nude mouse model: Characterization of the molecular and cellular biology of the scar process. *Wound Repair Regen*. 2011 Mar;19(2):274–85.
138. Momtazi M, Kwan P, Ding J, Anderson CC, Honardoust D, Goekjian S, et al. A nude mouse model of hypertrophic scar shows morphologic and histologic characteristics of human hypertrophic scar. *Wound Repair Regen*. 2013;21(1):77–87.
139. Honardoust D, Varkey M, Hori K, Ding J, Shankowsky HA, Tredget EE. Small leucine-rich proteoglycans, decorin and fibromodulin, are reduced in postburn hypertrophic scar. *Wound Repair Regen*. 2011;19(3):368–78.
140. Aarabi S, Bhatt KA, Shi Y, Paterno J, Chang EI, Loh SA, et al. Mechanical load initiates hypertrophic scar formation through decreased cellular apoptosis. *FASEB J*. 2007;21(12):3250–61.
141. Cameron AM, Adams DH, Greenwood JE, Anderson PJ, Cowin AJ, Xiao Z, et al. A novel murine model of hypertrophic scarring using subcutaneous infusion of bleomycin. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133(1):69–78.
142. Zhou SSSS, Wang W, Zhou SSSS, Zhang G, He J, Li Q. A Novel Model for Cutaneous Wound Healing and Scarring in the Rat. *Plast Reconstr Surg*.

- 2019;143(2):468–77.
143. Joseph J, Dyson M. Tissue replacement in the rabbit's ear. *Br J Surg.* 1966;53(4):372–80.
  144. Morris DE, Wu L, Zhao LL, Bolton L, Roth SI, Ladin DA, et al. Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: Quantitative studies. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(3):674–81.
  145. Kloeters O, Tandara A, Mustoe TA. Hypertrophic scar model in the rabbit ear: A reproducible model for studying scar tissue behavior with new observations on silicone gel sheeting for scar reduction. *Wound Repair Regen.* 2007;15 Suppl 1:40-5.
  146. Bruce SA, Deamond SF. Longitudinal study of in vivo wound repair and in vitro cellular senescence of dermal fibroblasts. *Exp Gerontol.* 1991;26(1):17–27.
  147. Kondo H, Yonezawa Y, Nomaguchi TA. Effects of serum collected from rats of different ages on in vitro cell proliferation. *Mech Ageing Dev.* 1988;42(2):159–72.
  148. Marcus JR, Tyrone JW, Bonomo S, Xia Y, Mustoe TA. Cellular mechanisms for diminished scarring with aging. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(5):1591–9.
  149. Reid RR, Mogford JE, Butt R, DeGiorgio-Miller A, Mustoe TA. Inhibition of procollagen C-proteinase reduces scar hypertrophy in a rabbit model of cutaneous scarring. *Wound Repair Regen.* 2006;14(2):138–41.
  150. Al-Qattan MM, Abd-Elwahed MM, Hawary K, Arafah MM, Shier MK. Myofibroblast expression in skin wounds is enhanced by collagen III suppression. *Biomed Res Int.* 2015;2015:958695.
  151. Gallant-Behm CL, Mustoe TA. Occlusion regulates epidermal cytokine production and inhibits scar formation. *Wound Repair Regen.* 2010;18(2):235–44.
  152. Qian LW, Fourcaudot AB, Leung KP. Silver Sulfadiazine Retards Wound Healing and Increases Hypertrophic Scarring in a Rabbit Ear Excisional

- Wound Model. *J Burn Care Res.* 2017;38(1):e418–22.
153. Lee JP, Jalili RB, Tredget EE, Demare JR, Ghahary A. Antifibrogenic effects of liposome-encapsulated IFN- $\alpha$ 2b cream on skin wounds in a fibrotic rabbit ear model. *J Interf Cytokine Res.* 2005;25(10):627–31.
  154. O’Shaughnessy KD, De La Garza M, Roy NK, Mustoe TA. Homeostasis of the epidermal barrier layer: A theory of how occlusion reduces hypertrophic scarring. *Wound Repair Regen.* 2009;17(5):700–8.
  155. Tunca M, Gamsızkan M, Yürekli A, Göksel BA, Çiçek AF, Çalışkan E. Cryosurgery to remove perichondrium for the rabbit ear hypertrophic scar model: A simplified method. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica Adriat.* 2019;28(2):57–9.
  156. Friedrich EE, Niknam-Bienia S, Xie P, Jia SX, Hong SJ, Mustoe TA, et al. Thermal injury model in the rabbit ear with quantifiable burn progression and hypertrophic scar. *Wound Repair Regen.* 2017;25(2):327–37.
  157. Noguchi H. Etiology of Yellow Fever : Iv. the Acquired Immunity of Guinea Pigs Against *Leptospira Icteroides* After the Inoculation of Blood of Yellow Fever Patients. *J Exp Med.* 1919;30(1):1–8.
  158. Cambau E, Drancourt M. Steps towards the discovery of *Mycobacterium tuberculosis* by Robert Koch, 1882. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(3):196–201.
  159. Zhu J, Mo W, Zhu J. Influence of bitumen on burn wounds and their surrounding skin in guinea-pigs. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi.* 1996;12(6):440–3.
  160. Aksoy MH, Vargel I, Canter IH, Erk Y, Sargon M, Pinar A, et al. A new experimental hypertrophic scar model in guinea pigs. *Aesthetic Plast Surg.* 2002;26(5):388–96.
  161. Loladze M, Alibegashvili M, Turmanidze T, Iashvili B, Kutivadze D, Chanishvili T. Use of bilidase for the treatment of experimental hypertrophic postburn cicatrices. *Bull Exp Biol Med.* 2005;139(1):98–100.
  162. Ghahary A, Tredget EE, Shen Q, Kilani RT, Scott PG, Takeuchi M.

- Liposome associated interferon-alpha-2b functions as an anti-fibrogenic factor in dermal wounds in the guinea pig. *Mol Cell Biochem.* 2000;208(1–2):129–37.
163. Montagna W, Yun JS. the Skin of the Domestic Pig. *J Invest Dermatol.* 1964;42:11–21.
164. Silverstein P, Goodwin M, Raulston G, Pruitt B. Hypertrophic scar in the experimental animal. In: Longacre, JJ, editor. *The ultrastructure of collagen; its relation to the healing of wounds and to the management of hypertrophic scar.* Springfield, IL:Thomas;1967:213–36.
165. Erk Y, Rose F, Spira M. The development of an animal model for the study of hypertrophic scar. Paper presented at the Plastic Surgery Research Council; Springfield, IL.1981.
166. Harunari N, Zhu KQ, Armendariz RT, Deubner H, Muangman P, Carrougher GJ, et al. Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: Final similarities to human hypertrophic scar. *Burns.* 2006;32(6):669–77.
167. Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P. The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen.* 2001;9(2):66–76.
168. Seaton M, Hocking A, Gibran NS. Porcine models of cutaneous wound healing. *ILAR J.* 2015;56(1):127–38.
169. Gallant-Behm CL, Hart DA. Genetic analysis of skin wound healing and scarring in a porcine model. *Wound Repair Regen.* 2006;14(1):46–54.
170. Zhu KQ, Engrav LH, Gibran NS, Cole JK, Matsumura H, Piepkorn M, et al. The female, red Duroc pig as an animal model of hypertrophic scarring and the potential role of the cones of skin. *Burns.* 2003;29(7):649–64.
171. Zhu KQ, Engrav LH, Tamura RN, Cole JA, Muangman P, Carrougher GJ, et al. Further similarities between cutaneous scarring in the female, red Duroc pig and human hypertrophic scarring. *Burns.* 2004;30(6):518–30.
172. Gallant CL, Olson ME, Hart DA. Molecular, histologic, and gross phenotype of skin wound healing in red Duroc pigs reveals an abnormal healing phenotype of hypercontracted, hyperpigmented scarring. *Wound Repair*

- Regen. 2004;12(3):305–19.
173. Alkhalil A, Carney BC, Travis TE, Muhie S, Miller SA, Ramella-Roman JC, et al. Key Cell Functions are Modulated by Compression in an Animal Model of Hypertrophic Scar. *Wounds a Compend Clin Res Pract.* 2018;30(12):353–62.
  174. Zhu KQ, Carrougher GJ, Gibran NS, Isik FF, Engrav LH. Review of the female Duroc/Yorkshire pig model of human fibroproliferative scarring. *Wound Repair Regen.* 2007;15 Suppl 1:32-9.
  175. Travis TE, Mino MJ, Moffatt LT, Mauskar NA, Prindeze NJ, Ghassemi P, et al. Biphasic Presence of Fibrocytes in a Porcine Hypertrophic Scar Model. *J Burn Care Res.* 2015;36(3):e125–35.
  176. Zhu KQ, Engrav LH, Armendariz R, Muangman P, Klein MB, Carrougher GJ, et al. Changes in VEGF and nitric oxide after deep dermal injury in the female, red Duroc pig - Further similarities between female, Duroc scar and human hypertrophic scar. *Burns.* 2005;31(1):5–10.
  177. Ghassemi P, Shupp JW, Travis TE, Gravunder AJ, Moffatt LT, Ramella-Roman JC. A portable automatic pressure delivery system for scar compression therapy in large animals. *Rev Sci Instrum.* 2015;86(1):015101.
  178. Travis TE, Ghassemi P, Ramella-Roman JC, Prindeze NJ, Paul DW, Moffatt LT, et al. A multimodal assessment of melanin and melanocyte activity in abnormally pigmented hypertrophic scar. *J Burn Care Res.* 2015;36(1):77–86.
  179. Liang Z, Engrav LH, Muangman P, Muffley LA, Zhu KQ, Carrougher GJ, et al. Nerve quantification in female red Duroc pig (FRDP) scar compared to human hypertrophic scar. *Burns.* 2004;30(1):57–64.
  180. Crowe R, Parkhouse N, McGrouther D, Burnstock G. Neuropeptide-containing nerves in painful hypertrophic human scar tissue. *Br J Dermatol.* 1994;130(4):444–52.
  181. Cuttle L, Kempf M, Phillips GE, Mill J, Hayes MT, Fraser JF, et al. A porcine deep dermal partial thickness burn model with hypertrophic scarring. *Burns.*

- 2006;32(7):806–20.
182. Avallone G, Bonaldi M, Caniatti M, Lombardo R. Hypertrophic scar in a dog: Histological and clinical features. *Vet Dermatol*. 2011;22(4):367–72.
  183. Kimura T, Doi K. Experimental skin graft in hairless descendants of Mexican hairless dogs. *Indian J Dermatol*. 2004;49:55–61.
  184. Matsumura H, Yoshizawa N, Kimura T, Watanabe K, Gibran NS, Engrav LH. A burn wound healing model in the hairless descendant of the Mexican hairless dog. *J Burn Care Rehabil*. 1997;18(4):306–12.
  185. Kimura T. Hairless descendants of Mexican hairless dogs: An experimental model for studying hypertrophic scars. *J Cutan Med Surg*. 2011;15(6):329–39.
  186. Burkart JM, Finkenwirth C. Marmosets as model species in neuroscience and evolutionary anthropology. *Neurosci Res*. 2015;93:8–19.
  187. Lefevre JA, Guy JR, Luciano NJ, Ha SK, Leibovitch E, Santin MD, et al. The spectrum of spinal cord lesions in a primate model of multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2020;26(3):284–93.
  188. Reveles KR, Patel S, Forney L, Ross CN. Age-related changes in the marmoset gut microbiome. *Am J Primatol*. 2019;81(2):e22960.
  189. Pomberger T, Risueno-Segovia C, Gultekin YB, Dohmen D, Hage SR. Cognitive control of complex motor behavior in marmoset monkeys. *Nat Commun*. 2019;10(1):3796
  190. Zühlke U, Weinbauer G. The common marmoset (*Callithrix jacchus*) as a model in toxicology. *Toxicol Pathol*. 2003;31 Suppl:123–7.
  191. Preuss TM. Critique of pure marmoset. *Brain Behav Evol*. 2019;93(2–3):92–107.
  192. Igarashi J, Fukuda N, Inoue T, Nakai S, Saito K, Fujiwara K, et al. Preclinical study of novel gene silencer pyrrole-imidazole polyamide targeting human TGF- $\beta$ 1 promoter for hypertrophic scars in a common marmoset primate model. *PLoS One*. 2015;10(5):1–15.

193. Cheng L, Sun X, Hu C, Jin R, Sun B, Shi Y, et al. In vivo early intervention and the therapeutic effects of 20(S)-ginsenoside Rg3 on hypertrophic scar formation. *PLoS One*. 2014;9(12):e113640.
194. Yang F, Chen E, Yang Y, Han F, Han S, Wu G, et al. The Akt/FoxO/p27Kip1 axis contributes to the anti-proliferation of pentoxifylline in hypertrophic scars. *J Cell Mol Med*. 2019;23(9):6164–72.
195. Cameron AM, Turner CT, Adams DH, Jackson JE, Melville E, Arkeel RM, et al. Flightless i is a key regulator of the fibroproliferative process in hypertrophic scarring and a target for a novel antiscarring therapy. *Br J Dermatol*. 2016;174(4):786–94.
196. Ding J, Tredget EE. Transplanting human skin grafts onto nude mice to model skin scars. *Methods Mol Biol*. 2017;1627:65–80.
197. Hu X, Ran H, Dechang W, Yibing W, Yongqiang F, Qiang L. Absence of the adenosine A2A receptor attenuates hypertrophic scarring in mice. *J Burn Care Res*. 2013;34(3):e161-7.
198. Gurtner GC, Wong VW, Sorkin M, Glotzbach JP, Longaker MT. Surgical approaches to create murine models of human wound healing. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:969618.
199. Yang SY, Yang JY, Hsiao YC, Chuang SS. A comparison of gene expression of decorin and MMP13 in hypertrophic scars treated with calcium channel blocker, steroid, and interferon: A human-scar-carrying animal model study. *Dermatologic Surg*. 2017;43 Suppl 1:37–46.
200. Holzer JCJ, Tiffner K, Kainz S, Reisenegger P, Bernardelli de Mattos I, Funk M, et al. A novel human ex-vivo burn model and the local cooling effect of a bacterial nanocellulose-based wound dressing. *Burns*. 2020 Dec;46(8):1924-1932.
201. Luze H, Nischwitz SP, Kamolz LP. The use of human ex vivo models in burn research – developments and perspectives. *Burns*. :In Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.burns.2020.11.019>.
202. Jia S, Zhao Y, Law M, Galiano R, Mustoe TA. The effects of collagenase

- ointment on the prevention of hypertrophic scarring in a rabbit ear scarring model: A pilot study. *Wounds*. 2011;23(6):160–5.
203. Gisquet H, Liu H, Blondel WCPM, Leroux A, Latache C, Merlin JL, et al. Intradermal tacrolimus prevent scar hypertrophy in a rabbit ear model: A clinical, histological and spectroscopical analysis. *Ski Res Technol*. 2011;17(2):160–6.
204. Hartwell R, Poormasjedi-Meibod MS, Chavez-Munoz C, Jalili RB, Hossenini-Tabatabaei A, Ghahary A. An in-situ forming skin substitute improves healing outcome in a hypertrophic scar model. *Tissue Eng - Part A*. 2015;21(5–6):1085–94.
205. Kitamura T. Histologische und cytologische untersuchungen über das karpalorgan vom schwein. *Arch Histol Jpn*. 1957;13(2):299–330.
206. Singer AJ, Tuggle C, Ahrens A, Sauer M, McClain SA, Tredget EE, et al. 366 Humanized Skin Model in Severe Combined Immune Deficient Pigs. *J Burn Care Res*. 2019;40 Suppl 1:159–60.
207. Junhee Seok, H. Shaw Warren, Alex GC, Michael NM, Henry VB, Xu W, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(9):3507–12.
208. Sriram G, Bigliardi PL, Bigliardi-Qi M. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. *Eur J Cell Biol*. 2015;94(11):483–512.
209. Huh D, Leslie DC, Matthews BD, Fraser JP, Jurek S, Hamilton GA, et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. *Sci Transl Med*. 2012;4(159):159ra147.
210. Gröger M, Rennert K, Gizzas B, Weiß E, Dinger J, Funke H, et al. Monocyte-induced recovery of inflammation-associated hepatocellular dysfunction in a biochip-based human liver model. *Sci Rep*. 2016;6:21868.
211. Koppenol DC, Vermolen FJ, Niessen FB, van Zuijlen PPM, Vuk K. A mathematical model for the simulation of the formation and the subsequent regression of hypertrophic scar tissue after dermal wounding. *Biomech*

- Model *Mechanobiol.* 2017;16(1):15–32.
212. Reduce, refine, replace. *Nat Immunol.* 2010;11(11):971.
213. Percie du Sert N, Robinson V. The NC3Rs gateway: Accelerating scientific discoveries with new 3Rs models and technologies. *F1000Res.* 2018;7:591.