

Aus dem Bereich

Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

Direktor: Prof. Dr. med. Tim Pohlemann

Ganganalyse im Mausmodell:
Einfluss des Alters und der Frakturheilung auf den
Bewegungsablauf der Maus

Vorgelegt von: Maximilian Hahn

Geboren am: 09.05.1991 in Braunschweig

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung/Abstract.....	6
2	Einleitung	8
2.1	Knochen.....	8
2.1.1	Morphologie	8
2.1.2	Histologie	8
2.1.3	Funktion	9
2.2	Fraktur.....	10
2.2.1	Frakturheilung	10
2.3	Mausmodell.....	13
2.3.1	Osteosynthesetechniken	14
2.4	CatWalk XT 10	15
2.5	Zielsetzung.....	16
2.6	Fragestellung	16
3	Material und Methoden.....	17
3.1	Tiermodell	17
3.2	Studiendesign	18
3.3	Operationsverfahren.....	18
3.4	CatWalk	23
3.4.1	Parameter des CatWalk Systems.....	25
3.5	Tötung der Tiere.....	27
3.6	Statistik	27
4	Ergebnisse	28
4.1	1. Abschnitt der Studie (Altersvergleich).....	28
4.1.1	Laufdauer (Run Duration).....	28
4.1.2	Stand (Stand).....	29
4.1.3	Schwung (Swing)	30
4.1.4	Schrittzyklus (Step Cycle)	31
4.1.5	Auslastungsgrad (Duty Cycle).....	32
4.1.6	Schrittlänge (Stride Length).....	33
4.1.7	Pfotenabstand (Base of Support (BOS)).....	34
4.1.8	Maximale Kontaktfläche (Max Contact Area).....	35
4.1.9	Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt (Max Contact Mean Intensity)	36
4.2	2. Abschnitt der Studie (Analyse während der Frakturheilung)	37
4.2.1	Laufdauer (Run Duration).....	37
4.2.2	Stand (Stand).....	38
4.2.3	Schwung (Swing)	40
4.2.4	Schrittzyklus (Step Cycle)	41

4.2.5	Auslastungsgrad (Duty Cycle)	43
4.2.6	Schrittlänge (Stride Length).....	45
4.2.7	Pfotenabstand (Base of Support (BOS)).....	46
4.2.8	Maximale Kontaktfläche (Max Contact Area).....	47
4.2.9	Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt (Max Contact Mean Intensity)	49
4.2.10	Gangart (Support)	51
5	Diskussion.....	53
5.1	Diskussion der Methoden	53
5.2	Diskussion der Ergebnisse	56
6	Literaturverzeichnis	62
7	Abbildungsverzeichnis.....	68
8	Tabellenverzeichnis.....	69
9	Danksagung	70

Abkürzungsverzeichnis

®	Eingetragenes Warenzeichen (engl. Registered Trademark)
°	Grad
°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
AO	Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen
BMU	Basic multicellular unit
BOS	Base of Support
ca.	Circa
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
g	Gramm
G	Gauge
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LF	Linke Vorderpfote
LH	Linke Hinterpfote
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
RF	Rechte Vorderpfote
RH	Rechte Hinterpfote
s	Sekunden
SEM	Standardfehler (engl. Standard Error of the Mean)
SNI	spared nerve injury
Tab.	Tabelle
™	Warenzeichen (engl. Trademark)

vs.

Versus

z.B.

Zum Beispiel

1 Zusammenfassung/Abstract

Obwohl die Maus als Versuchstier in zahlreichen Studien zur Untersuchung der Frakturheilung verwendet wird, wurden Studien zur Ganganalyse, insbesondere während der Frakturheilung, bis dato nicht durchgeführt. Ziel dieser Arbeit war es daher, den Einfluss des Alters sowie der Frakturheilung auf das Gangbild der Maus zu analysieren.

In dem ersten Abschnitt der Studie erfolgte die Ganganalyse in gesunden jungen (3 Monate), mittelalten (10 Monate) und alten Mäusen (16 Monate) zu einem definierten Zeitpunkt. In dem zweiten Abschnitt der Studie wurde das Gangbild nach Fakturierung des Femurs und geschlossener Stabilisierung mit einer intramedullären Zugschraube in jungen (3 Monate) und alten Mäusen (16 Monate) verglichen. Das Gangbild wurde präoperativ und zu verschiedenen Zeitpunkten während der Frakturheilung (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35 Tage) untersucht. Zur Analyse wurde das CatWalk-System, ein videobasiertes Echtzeitganganalyse-System, verwendet.

Beim Vergleich der unterschiedlichen Altersgruppen der gesunden Mäuse zeigte sich, dass die alten Mäuse die längste Standzeit, einen signifikant längeren Schwung der einzelnen Pfoten, einen längeren Schrittzklus und eine längere Laufdauer im Vergleich zu den jungen Versuchstieren aufwiesen.

Nach Fakturierung und Stabilisierung des Femurs war die Laufdauer in der frühen Phase der Frakturheilung in alten Mäusen signifikant länger als in den jungen Mäusen. Die Laufdauer wurde von Tag 1 bis zum Tag 14 kontinuierlich kürzer. Es zeigten sich eine kürzere Stand- und Schwungphase sowie ein kürzerer Schrittzklus bei den jungen Tieren. Der Abstand der Hinterpfoten zeigte sich nach Osteosynthese in beiden Gruppen bis Tag 35 verbreitert. Die jungen Versuchstiere zeigten eine größere Kontaktfläche und eine höhere Intensität der nichtoperierten sowie der operierten Pfoten im Vergleich zur älteren Versuchsgruppe. Wir konnten zeigen, dass jüngere Tiere im Vergleich zu den älteren Tieren schneller ein physiologisches Gangbild aufweisen.

Unsere Studie konnte erstmals zeigen, dass das Gangbild der Maus durch das Alter sowie durch die Frakturheilung signifikant beeinflusst wird. Somit könnte die Ganganalyse als zusätzliches Tool zur Analyse der Frakturheilung angewandt werden.

Although the mouse has become a preferred model to study fracture healing, studies analyzing gait patterns of different aged mice or during bone healing does not exist. Therefore, the aim of this study was to report the change of motion pattern in different aged mice and during fracture healing in young and old mice.

In the first part of the study we analyzed gait patterns in young (3 month), middle aged (10 month) and aged mice (16 month) at one time point. In the second part of the study we analyzed gait patterns after femur fracture and stabilization with an intramedullary screw in young mice (3 month) and aged mice (16 month). Dynamic gait analysis was performed before fracture and at day 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35 after surgery. We used an established video-based system method for dynamic gait analyses in rodents, the CatWalk XT.

Comparing the different aged mice swing time, stand time, step cycle and run duration in old mice were significantly longer compared to that in young mice.

After fracture, the run duration in the early phase of fracture healing was longer in old mice compared to young mice. During fracture healing, the run duration was shorten from day 1 to 14. Stand time, swing time and step cycle were shorter in young mice compared to old mice. After fracture, both groups showed a higher hind paw distance. Young mice showed a greater contact area and higher intensity of the hind paws when compared to old mice. In addition, young mice reached earlier a physiological gait than old mice.

Our study demonstrates distinct alterations of the gait in different aged mice and after femur fracture and stabilization. Our results support that gait analysis can be used as an additional tool to study fracture healing.

2 Einleitung

2.1 Knochen

2.1.1 Morphologie

Anhand der Morphologie der Knochen lassen sich diese in unterschiedliche Gruppen unterteilen:

- Ossa longa: Die langen Röhrenknochen, zu denen z.B. das Femur gehört.
- Ossa brevia: Die kurzen Knochen. Zu ihnen zählen die Hand und Fußwurzelknochen.
- Ossa plana: Die flächenhaften Knochen. Ein Beispiel für diese Gruppe ist das Schulterblatt.
- Ossa irregularia: Die irregulär auftretenden Knochen. Unter diese Gruppe fallen z.B. die Wirbelkörper.
- Ossa pneumatica: Die luftgefüllten Knochen. Zu dieser Gruppe werden die Knochen des Gesichts gezählt.
- Ossa sasamoidea: Die Sesambeine. Das bekannteste Beispiel für diese Gruppe ist die Kniescheibe.

Für die Frakturstudie wurde die Diaphyse des Femurs der Maus untersucht. Das Femur ist der längste Röhrenknochen im Körper.

Proximal befindet sich der Femurkopf, welche die Epiphyse beinhaltet und über den Gelenkknorpel mit dem Acetabulum des Beckens artikuliert. Der Epiphyse folgt die Metaphyse und geht in die Diaphyse über. Der Oberschenkelhals bildet zum Oberschenkelschaft (Corpus femoris) einen Winkel von 126° . Das Corpus femoris endet distal in der, mit Gelenkknorpel überzogenen, Epiphyse, welche den Condylus medialis und lateralis bildet und artikuliert nach distal mit der Kniescheibe und dem Tibiaplateau [1].

2.1.2 Histologie

Der Knochen besteht aus ca. 35 % organischem Material und zu 65% aus anorganischem Material. 90 % des organischen Bestandteils macht Kollagen Typ I aus. Der Rest wird durch andere Knochenproteine wie z.B Osteocalcin, Osteopontin, Osteonectin und die alkalische

Phosphatase gebildet. Zu den anorganischen Bestandteilen zählt das Hydroxylapatit, das Calciumphosphat sowie Magnesium, Natrium und das Fluorid [2,3].

Die Zellen des Knochens lassen sich in Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten unterteilen. Für die Knochenbildung sind die Osteoblasten verantwortlich, jedoch können diese auch den Knochenabbau einleiten, da sie die einzigen Knochenzellen mit einem Rezeptor für Parathormon sind. Bei einer Stimulation durch Parathormon bilden diese Zytokine sowie andere Faktoren und aktivieren so die Osteoklasten. Bei den Osteozyten handelt es sich um ausdifferenzierte, in die Knochenmatrix eingemauerte, Osteoblasten. Sie sind für die Funktionsfähigkeit der verkalkten Matrix zuständig. Die Osteoklasten bilden die knochenabbauenden Zellen des Knochens [2,3].

Im unreifen Knochen sind die Kollagenfasern noch ungeordnet und bilden eine Art „Geflecht“. Der Geflechtknochen wird dort gebildet, wo schnell neues Knochengewebe entsteht. Dies ist z.B. in der embryonalen Entwicklung und später bei der Frakturheilung der Fall. Bei dieser Knochenform zeigen die Osteoblasten und Osteoklasten eine rege Aktivität, da es hier zu einem Umbau des Geflechtknochens zum höherwertigen Lamellenknochen kommt [2,3].

Der ausgereifte Lamellenknochen gliedert sich in Spongiosa und Kompakta. In der Spongiosa verlaufen die 3 -7 µm dicken Knochenlamellen nahezu parallel und bilden so Lakunen, in denen sich Osteozyten befinden. In der Kompakta sind die Knochenlamellen konzentrisch angeordnet und bilden ein Osteon. Unter dem Osteon versteht man das Havers-System mit einem Durchmesser von 100-400 µm, welches aus dem zentralen Havers-Kanal und 5- 20 Knochenlamellen besteht und konzentrisch um diesen angeordnet sind. Der Havers-Kanal hat ein Durchmesser von 20- 30 µm und beinhaltet in Bindegewebe gelagerte Blutgefäße und marklose Nervenfasern. Die Gefäße der verschiedenen Havers-Kanäle stehen über die sogenannten Volkmann-Kanäle in Verbindung. Das Osteon grenzt sich über die Zementlinie (Kittlinie) scharf zu den Schaltlamellen ab, welche den Raum zwischen den Osteonen bilden und aus alten abgebauten Osteonen bestehen [2,3].

2.1.3 Funktion

Zu den Funktionen des Knochens gehört neben der Stützfunktion, die Fortbewegung und Haltung des Körpers. Der Knochen bildet gemeinsam mit den Gelenken, der Muskulatur sowie den Sehnen einen essenziellen Bestandteil des Bewegungsapparats. Zudem leistet er eine protektive Funktion für die Organe im Schädel, Thorax und Becken. Außerdem nimmt der Knochen durch die Speicherung von Mineralsalzen, wie Kalzium und Phosphat, welche bei Bedarf mobilisiert werden können, am Elektrolythaushalt teil [31].

Die Knochen befinden sich in einem ständigen Umbau, was als Modeling bezeichnet wird. Dieser Vorgang findet zum einen in den Wachstumsphasen und zum anderen bei der Anpassung auf sich ständig ändernde Belastungen statt. Dies kann sowohl bei einer Mehrbelastung als auch bei einer Schonung der Fall sein [2,41]. Hieraus lässt sich ableiten, dass es zwar bei einer 1% Dehnung des Knochens zu einer Fraktur kommt, jedoch eine Dehnung von nur 0,1% die Zunahme der Knochenmasse zur Folge hat. Umgekehrt führt die Schonung (Dehnung unterhalb 0,5‰) zur Abnahme der Knochendichte [31]. Dieser ständige Prozess des Auf- und Abbaus des Knochens, durch die Osteoblasten und Osteoklasten, wird als Remodeling bezeichnet [2,41].

2.2 Fraktur

Per definitionem handelt es sich bei einer Fraktur um eine Kontinuitätsunterbrechung des Knochens, einhergehend mit einem Funktionsverlust und Schmerzen. Für die Entstehung einer Fraktur gibt es mehrere Ursachen. Bei der direkten Fraktur bricht der gesunde Knochen durch äußerliche Gewalteinwirkung. Eine weitere Form ist die pathologische Fraktur, der eine krankhafte Veränderung des Knochens zugrunde liegt. Mögliche Ursachen dafür können z.B. Osteoporose, Knochenmetastasen oder Tumore sein. Hierbei ist die Knochensubstanz vermindert und es kann bereits bei geringerer Krafteinwirkung zu Frakturen kommen. Darüber hinaus ist die Ermüdungsfraktur zu nennen, als Folge einer langandauernden Überbeanspruchung. Ein Beispiel hierfür ist die Marschfraktur [4].

2.2.1 Frakturheilung

Frakturen gehören zu den häufigsten Verletzungen des Menschen, von denen ca. 10- 20% nicht adäquat ausheilen [5]. Die Grundlage einer suffizienten Knochenheilung besteht in einer ausreichenden Durchblutung des Knochens, einem ausreichenden interfragmentären Kontakt und einer Ruhigstellung der Frakturzone [6], diese kann zum einem äußerlich durch eine Ruhigstellung in einem Gipsverband oder zum anderen operativ durch eine osteosynthetische Versorgung wie z.B. die Plattenosteosynthese oder den Marknagel geschehen. Die Frakturheilung ist abhängig von den biomechanischen Einflüssen im Frakturspalt [5]. Es lässt sich zwischen einer primären und einer sekundären Frakturheilung differenzieren.

2.2.1.1 Primäre Frakturheilung

Bei der primären Knochenheilung, auch direkte Knochenheilung genannt, kommt es ohne Kallusbildung zu einer Heilung. Hierfür ist sowohl die korrekte anatomische Lage zueinander als auch die ausreichende Vaskularisation der Knochenfragmente von besonderer Bedeutung. Es bildet sich kein Bindegewebe oder Knorpelgewebe im Frakturspalt. Man unterscheidet die Spaltheilung (Spaltgröße zwischen 800µm – 1mm) und die Kontaktheilung (Spaltgröße weniger 0,01mm) voneinander [7,8,31].

Bei der Kontaktheilung entstehen keine Resorptionssäume, da Osteoklasten und Osteoblasten gleichzeitig aktiv sind. Es wachsen neugebildete Osteome über den Frakturspalt in die Kortikalis des angrenzenden Fragments. Um eine ideale Kontaktheilung zu gewährleisten ist es in der Praxis notwendig auf eine chirurgische Versorgung der Fraktur zurückzugreifen. Hierbei gilt es, bei der Osteosynthese darauf zu achten, den Frakturspalt zu komprimieren. Hierfür werden verschiedene Osteosyntheseverfahren verwendet, wie beispielsweise die Plattenosteosynthese oder das Einbringen einer Zugschraube [7,8].

Bei der Spaltheilung wird der Frakturspalt mit Geflechtknochen, welcher vom Endost und Periost ausgeht, aufgefüllt und im Verlauf zum stabilen Lamellenknochen umgewandelt. Es zeigt sich in diesem Fall ebenfalls keine Kallusbildung [7,8].

Bis zum vollständigen Umbau nach primärer Knochenheilung dauert es zwischen 1,5 bis 2 Jahren [30].

2.2.1.2 Sekundäre Frakturheilung

Bei der sekundären Frakturheilung, auch indirekte Frakturheilung genannt, kommt es hingegen zu einer Kallusbildung. Man findet sie bei der konservativen Therapie, wie auch bei der Marknagelosteosynthese und dem Fixateur externe [37].

Die sekundäre Frakturheilung verläuft in mehreren Schritten:

- Bildung eines Frakturhämatoms
- Entzündungsphase
- Granulationsphase
- Phase der Kallushärtung
- Remodeling

Kommt es zur Gewalteinwirkung auf den Knochen so frakturiert dieser. Dabei wird sowohl die Kortikalis, das Periost, das Knochenmark und das umliegende Weichteilgewebe mitverletzt. Die Verletzungen haben Blutungen zur Folge, welche das Frakturhämatom bilden [36].

In der Entzündungsphase kommt es zu einer vermehrten Kapillaraussprossung und Zellproliferation. Durch die Kapillaren kommt es zu einer verbesserten Versorgung des Areals und den schon vorhandenen Zellen. Außerdem wandern eine Vielzahl von neuen Zellen sowohl aus dem Blut als auch aus dem Gefäßendothel ein. Diese verbesserte Durchblutung der Kortikalis erfolgt anders als beim gesunden, unfrakturierten Knochen, bei dem sie zu 2/3 aus Markraumgefäßen versorgt wird, nur aus Gefäßen des Periosts. Die Zellproliferation liefert polymorphkernige neutrophile Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen. Es wird vermutet, dass Mastzellen durch ihre heparinähnlichen Substanzen einen Einfluss auf die Zellwanderung und die Vaskularisation haben [9]. Des Weiteren wird vermutet, dass sich Osteoklasten aus den Mastzellen differenzieren. Das bereits angesprochene Periost hat noch eine weitere Funktion und zwar gehen aus der Kambiumschicht Osteoblasten hervor [36].

Bei der sich anschließenden Granulationsphase wird das Frakturhämatom durch die lokal wirksamen Wachstumsfaktoren TGF- β , IGF-1, IGF-2, FGF, PDGF und BMP sowie unter Einbeziehung von Kalzium, Parathormon und Vitamin D durch Granulationsgewebe ersetzt. Das Granulationsgewebe enthält Kapillaren, Fibroblasten und Kollagen Typ I. Bereits in dieser frühen Phase findet man Mineraldepots in den Kollagenfibrillen. Dabei kommt es zu ersten Überbrückungen der Fragmente und es bildet sich ein weicher Kallus. Diese Phase wird primäre Kallusreaktion genannt und führt weiter zum Abbau toter Fragmente durch Osteoklasten. Es treten nun erste Chondroblasten auf und es kommt subperiostal durch Osteoblasten zu einer ersten Knochenneubildung. Zeitgleich bildet sich der medulläre Kallus indem aus dem Knochenmark ein Blastem in das Hämatom einwandert. Nach circa 3-8 Wochen sind die Fragmente weich durch Bindegewebe und Knorpel miteinander verbunden [10, 36].

Durch die zunehmende Mineralisierung härtet der Kallus in den anschließenden sechs Wochen bis vier Monaten aus. Das dafür erforderliche Kalzium geht aus den Mitochondrien der hypertrophierten Chondrozyten hervor. Die im gesamten osteogenen Blastem gleichzeitig ablaufende Ossifikation breitet sich entlang der Kapillaren aus und bildet durch enchondrale Ossifikation den Geflechtknochen [10,36].

Die aus Zellen, Interzellulärsubstanz und Kapillaren bestehende basic multicellular unit (BMU) besitzt zeitabhängig unterschiedliche Fähigkeiten und Aufgaben. So beseitigt sie mit Osteoklasten erst das nekrotische Gewebe und baut danach mit Osteoblasten den Knochen auf. Bei diesem Vorgang wird mineralisierter Knorpel in Geflechtknochen, und dieser mit Hilfe der basic multicellular unit (BMU) gebildete Geflechtknochen, in Lamellenknochen

umgewandelt, um den mechanischen Belastungen wieder standhalten zu können. Der Abschluss der Frakturheilung bildet das Remodelling mit der teilweisen Rekonstruktion der Knochenkontur und des Markraums. Diese Phase umfasst einen Zeitraum von ein bis zwei Jahren [10, 36].

2.3 Mausmodell

Kleintiermodelle wie das Mausmodell haben geringe Anschaffungs- und Haltungskosten, daher eignen sie sich ideal für Versuche mit größeren Versuchsgruppen. Der größte Vorteil des Mausmodells ist jedoch, dass das komplette Genom der Maus entschlüsselt ist. Daher können zahlreiche Studien mit transgenen Mäusen und verschiedenen Antikörpern durchgeführt werden.

Es wurden in den letzten Jahren verschiedene Osteosynthesetechniken für die Frakturmodelle entwickelt. Diesen Techniken liegt allesamt die Auffassung zu Grunde, dass biomechanische Faktoren den Heilungsprozess beeinflussen können [11,12]. Zur Stabilisierung von Frakturen gibt es mehrere Möglichkeiten. Entwickelt wurden ein Pin, der Pin-Clip, die Kompressionsschraube, die Verriegelungsplatte, der Verriegelungsnagel und der Fixateur externe [11].

Grundsätzlich gilt es zwei Möglichkeiten der Frakturheilung zu unterscheiden. Die geschlossene Frakturierung oder die offene Osteotomie. Bei der geschlossenen Frakturierung wird der Knochen durch eine stumpfe Guillotine gebrochen. Im Falle der offenen Osteotomie, wird das Femur lateral eröffnet und die Muskulatur stumpf zur Seite präpariert, sodass das Femur dann mit einer Gigli-Säge osteotomiert werden kann. Der Vorteil der offenen Osteotomie gegenüber der geschlossenen Frakturierung zeigt sich dahingehend, dass sie sehr gut standardisiert untersucht werden kann und auch Defekte analysiert werden können. Jedoch zeigt sich bei der Osteotomie eine verlängerte Heilungsdauer, sowie eine geringere biomechanische Steifigkeit im Vergleich zur geschlossenen Frakturierung [13].

Im Jahr 1993 publizierten Hiltunen et al. eine Studie, in der erstmals das Tibia-Frakturmodell erläutert wurde [15]. Aufgrund der interindividuell unterschiedlichen Anatomie der Tibia und ihrer Lage zur Fibula ist dieses jedoch nur schlecht standardisiert einsetzbar. Des Weiteren ist bei der geschlossenen Frakturierung eine Verletzung der Fibula möglich. Zudem führt die Abnahme des Durchmesser nach distal zu unterschiedlichen Kallusgrößen. Aufgrund seiner geraden Längsachse ist das Femur, als Röhrenknochen, besser geeignet. Durch die homogene Form des Femurs ist es besser möglich, die verschiedenen Osteosyntheseverfahren anzuwenden [11].

2.3.1 Osteosynthesetechniken

2.3.1.1 Kompressionsschraube (MouseScrew)

In dieser Studie erfolgte die osteosynthetische Versorgung der Fraktur mit einer Kompressionsschraube (MouseScrew). Durch das proximale Gewinde und einem distalen Konus, der sich zwischen den Femurkondylen verankert, erfolgt eine Kompression des Frakturspaltes. Die Schraube ist sowohl rotationsstabil als auch axial stabil [19]. Nach Einbringen eines Führungsdrahtes erfolgte die Frakturierung mit einer 3-Punktbiegevorrichtung. Nach der Frakturierung wird die Schraube über den Draht eingebracht.

2.3.1.2 Pin

Bei der Pin-Technik handelt es sich um ein geschlossenes Verfahren. Dazu wird eine 24-G Kanüle über einen Führungsdraht eingebracht. Diese ist an ihrem proximalen und distalen Ende abgeflacht, was eine gewisse Rotationsstabilität gewährleistet [22].

2.3.1.3 Pin-Clip-Fixierung

Beim Pin-Clip handelt es sich um ein Kombinationsverfahren mit einem Pin und einer Klammer. Anders als beim Pin-Verfahren wird eine Osteotomie mit der Gigli-Säge durchgeführt, was zum Vorteil hat, dass ein reproduzierbarer Osteotomiespalt geschaffen wird. Im Folgenden wird dieser mit einer Metallklammer überbrückt. Der Pin-Clip ist kostengünstig, eine leicht verfügbare Methode und gewährleistet eine rotationsstabile Versorgung [16].

2.3.1.4 Verriegelungsplatte

Über einen lateralen Zugang wird das Femur freigelegt und die Titan-Platte mit vier winkelstabilen Schrauben am Femur fixiert. Die Platte hat auf ihrer Unterseite Aussparungen, wodurch sie nicht komplett auf dem Periost aufliegt und so dessen Durchblutung schont. Des Weiteren führt die Verriegelungsplatte zu einer hohen Rotationssteifigkeit. Die Osteotomie erfolgt mit einer Gigli-Säge [15, 17, 18].

2.3.1.5 Verriegelungsnagel

Bei dieser Technik wird zuerst der Nagel intramedullär in das Femur eingeführt. Anschließend wird das Femur über einen lateralen Schnitt freigelegt. Durch ein Gewinde proximal, erfolgt eine Kompression. Anschließend wird der Nagel über einen Zielbügel durch zwei senkrecht zur Kortikalis eingebrachte Locking-Pins rotationsstabil verriegelt. Die offene Osteotomie erfolgt über die Gigli-Säge.

2.3.1.6 Fixateur externe

Beim Fixateur externe handelt es sich um ein weiteres offenes Verfahren. Anfängliche Modelle basierten auf zwei Aluminiumblöcken, die untereinander über zwei Stifte verbunden waren. Neuere Modelle bestehen aus einem Block, der über vier Mini-Schanzschrauben verankert wird. Durch die externe Lage und dessen Eigengewicht, kann das Laufen der Maus beeinträchtigt werden. Vergleichbar mit der Platte bietet der Fixateur eine sehr hohe Rotationsstabilität [20, 21].

2.4 CatWalk XT 10

Schon sehr früh wurden Methoden zur Untersuchung des Gangbildes bei Kleintieren angewendet. Früher wurden Ratten in einem zuvor eingefetteten Käfig laufen gelassen und in einen Plexiglasgang, welcher mit einem Grass-polygraph-chart-paper ausgelegt ist, gesetzt. Die Fußabdrücke wurden anschließend mit Fingerabdruckpulver sichtbar gemacht. Um den Gang der Ratte in der Bewegung analysieren zu können, wurde dieser mittels einer unter der Glasplatte montierten Kamera aufgezeichnet. Durch die Kombination mit einer Zeitaufnahme konnte so anschließend der dynamische Gang analysiert werden [39].

In anderen Arbeiten wurden die Hinterläufe der Ratte vor der Ganganalyse in eine Schale mit Entwickler (Kodak R.P. X-OMAT) gehalten. Anschließend wurde das Versuchstier in den Gang, auf dem ein Stück Röntgenfilm lag, laufen gelassen. Nachdem die Ratte das Papier überquert hatte, wurden die Abdrücke sofort sichtbar und konnten für die Auswertung mit Kodak Rapid Fix fixiert und gelagert werden [40].

Der CatWalk ist ein seit Jahren genutztes und etabliertes System zur Echtzeitganganalyse. Zu einer Analyse des Gangbildes nach einem Knochenbruch wurde das System bisher nicht verwendet.

Es existieren eine Vielzahl von Studien bei neurologischen Verletzungen wie z.B. Rückenmarksverletzungen [25,26]. Der CatWalk wird auch für pharmakologische Studien eingesetzt [27,28]. Des Weiteren findet der CatWalk Anwendung bei der Beurteilung von Verhaltensveränderungen bei Tieren mit Morbus Parkinson bzw. Chorea Huntington [29,32,33] sowie bei der Analyse von Tieren mit Schmerzreizen, wie z.B. bei Arthrose oder Arthritis [34,35,38]. Mit dem Cat-Walk ist es ferner möglich, Gangbilder in Echtzeit aufzuzeichnen und zu analysieren. Dadurch ermöglicht ein einziger Lauf, welcher nur wenige Sekunden dauert, zahlreiche Parameter zu bestimmen, was die Versuchszeit deutlich reduziert. Außerdem können so große Versuchsgruppen schnell analysiert werden. Dabei laufen die Versuchstiere frei und ungezwungen, was Störfaktoren wie Stress minimiert [23].

2.5 Zielsetzung

Die Arbeit untergliedert sich in 2 Abschnitte. Im ersten Abschnitt wurde der Einfluss des Alters auf das Gangbild im Mausmodell untersucht.

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit wurde der Einfluss der Frakturheilung auf das Gangbild der Maus untersucht. Verglichen wurden junge und alte Mäuse.

2.6 Fragestellung

Die Nullhypothesen für den ersten Teil der Studie lautet:

„Die Ganganalyse unterscheidet sich in den untersuchten Altersgruppen (3, 10 und 16 Monate) nicht.“

Die Nullhypothese für die Frakturstudie lautet:

„Das Gangbild nach Frakturierung und Stabilisierung des Femurs unterscheidet sich zwischen den jungen und alten Mäusen nicht.“

3 Material und Methoden

3.1 Tiermodell

Für den ersten Teil der Studie wurden 3 Monate alte Mäuse ($40,13 \pm 3,75\text{g}$), 10 Monate alte Mäuse ($37,63 \pm 3,1\text{g}$) und 16 Monate Mäuse ($42,73 \pm 6,7\text{g}$) bezüglich ihres Gangbildes untersucht.

Für den zweiten Abschnitt der Studie zur Untersuchung des Gangbildes nach Frakturierung und Stabilisierung wurden für die Gruppe der jungen Versuchstiere (3 Monate alte) und für die Gruppe der alten Versuchstiere (16 Monate alte) CD-1 Mäuse verwendet. Das Gewicht der jungen Tiere betrug $40,14 \pm 2,67\text{g}$. Das Gewicht der alten Tiere betrug $44,65 \pm 6,29\text{g}$. Die Tiere wurden in der Tierhaltung im Institut für Experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes in Einzelkäfigen bis maximal 3 Tiere pro Käfig, bei klimatisierten Raumtemperaturen von 22 bis 24°C und einer Luftfeuchtigkeit von 60%, sowie einem strikten 12 Stunden Tag-/Nachtrhythmus gehalten. Das Standarddiätfutter sowie Wasser waren den Tieren jederzeit zugänglich.

Zur Frakturversorgung wurde die sogenannte MouseScrew™ (RISystem AG, Davos, Schweiz), eine intramedulläre Zugschraube aus medizinischem Stahl verwendet. Die 17,2mm lange Schraube ist in drei Teile unterteilt, dem proximalen Gewinde (3) mit einer Länge von 4mm und einem Durchmesser von 0,5mm. Darin ist eine Bohrung enthalten, die das Auffädeln des Führungsdrahts ermöglicht. Die weiteren Teile der Zugschraube bestehen aus dem Schaft (2) und dem Schraubenkonus (1). Der Schaft hat dabei einen Durchmesser von 0,8mm. Bei Erreichen des Drehmoments bricht die Schraube im Bereich des Konus ab

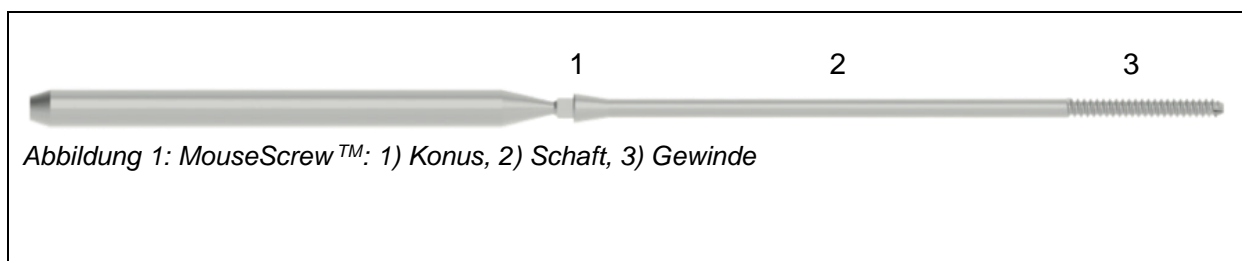


Abbildung 1: MouseScrew™: 1) Konus, 2) Schaft, 3) Gewinde

Quelle: In Anlehnung Wissing S, Klein M, Holstein J, Matthys R. MousScrew. RISystem MousScrew Surgical technique guide, RISytem AG, Switzerland

3.2 Studiendesign

Die Studie mit der Versuch-Nr. 28/2016 wurde vom Landesamt für Verbraucherschutz (Geschäftsbereich 3: Amtsärztlicher Dienst, Lebensmittelüberwachung Zentralstelle) genehmigt und wurde am Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes durchgeführt.

Für die Studie wurden insgesamt 44 Mäuse (Tab. 1) untersucht. 28 Versuchstiere wurden für den ersten Studienabschnitt und 16 Versuchstiere für den zweiten Studienabschnitt untersucht. Im ersten Studienabschnitt wurden drei Altersgruppen unterteilt. Im zweiten Studienabschnitt wurde der Einfluss einer Fraktur in jungen Mäusen (n= 7) und in alten Mäusen (n= 9) untersucht. Die Untersuchung der Ganganalyse erfolgte prä-OP und post-OP (1 Tag, 3 Tag 7 Tag, 10 Tag, 14 Tag, 21 Tag, 28 Tag und 35 Tag) mit dem CatWalk™ XT.

1. Studienabschnitt (Altersgruppen)			2. Studienabschnitt (Fraktur Studie)	
3 Monate	10 Monate	16 Monate	Schraube jung	Schraube alt
n = 9	n = 8	n = 11	n = 7	n = 9

Tabella 1: Studiendesign

3.3 Operationsverfahren

Die Operation erfolgte standardisiert im Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes.

Zuerst erfolgte eine intraperitoneale Injektion des Narkosemittels (15mg/kg KG Xylazin und 75mg/kg KG Ketamin). Es folgte sodann die Testung auf Schmerzfreiheit durch einen Schmerzreiz. Die Versuchstiere wurden im Anschluss, um eine Unterkühlung zu vermeiden, auf eine Wärmeplatte gelegt. Die Augen wurden mit Dexpanthenolsalbe (Bepanthen© Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH) vor dem Austrocknen geschützt und der rechte Hinterlauf elektrisch rasiert, sowie mit Enthaarungscreme (eleca-med© - ASID BONZ, Herrenberg, Deutschland) enthaart.

Anschließend wurde das Bein nach Abwaschen des Hinterlaufs mit Softasept® N (B, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zwischen Daumen, Zeigefinger und Mittelfinger eingespannt (Abb. 2) und mit einem 15er Skalpell (Carbon Steel Skalpellklinge #15, Braun Aesculap AG&Co KG, Tuttlingen, Deutschland) die Haut entlang der Patellasehne ca. 5 mm inzidiert. Es folgte die Eröffnung der Kniegelenkscapsel (Abb. 3). Mit einem Holzspatel wurde die Patella nach lateral luxiert (Abb.4). Mittels einer 24 G Spritzenkanüle (BD Microlance 3™

-24G 1" – Nr. 1, Ø 0,55 x 25 mm- BD Drogheda, Ireland) wurde das Femur distal zwischen den Condylen eröffnet (Eintrittspunkt) (Abb. 5). Die Kanüle wurde im Markraum des Knochens retrograd vorgeschoben und durch leichtes Drehen der Kanüle das Femur am Trochanter major durchbohrt. Im Anschluss wurde durch die Kanüle ein 0,2mm Wolfram-Draht (Goodfellow 28 Cambridge Limited, Huntington, England) durch den Knochen geführt und durch die Haut proximal ausgeleitet.

Durch ein Röntgenbild wurde die richtige Lage des Drahtes überprüft und eine bereits bestehende Fraktur ausgeschlossen (Abb. 6). Dann wurde das Bein in einer 3-Punkt-Biege-Apparatur gelegt und das Femur mit einer Guillotine mit einem definierten Gewicht frakturiert (Abb.7). Anschließend wurde die Fraktur röntgenkontrolliert (Abb 8).

Anschließend wurde die MouseScrew™ auf den Führungsdraht gefädelt und mit Hilfe eines Handdrehers unter moderatem Druck eingedreht, bis das Gewinde fest im proximalen Femur verankert war. Bei Erreichen des Drehmoments brach diese an der Sollbruchstelle ab. Zur Kontrolle wurde ein Abschlussröntgen angefertigt, um die richtige Lage der Schraube zu bestätigen (Abb. 9).

Nach der Einbringung der MouseScrew™ wurde die Patella mittels eines Wattestäbchens reponiert und refixiert. Die Gelenkkapsel wurde mittels eines 6-0 Ethibond Vicryl Fadens verschlossen (Abb. 10).

Die Hautnaht wurde in Einzelknopf-Nahttechnik mit einem 6-0 Prolene Faden verschlossen (Abb.11).



Abbildung 2: Fixierung der Hinterpfote während der Operation

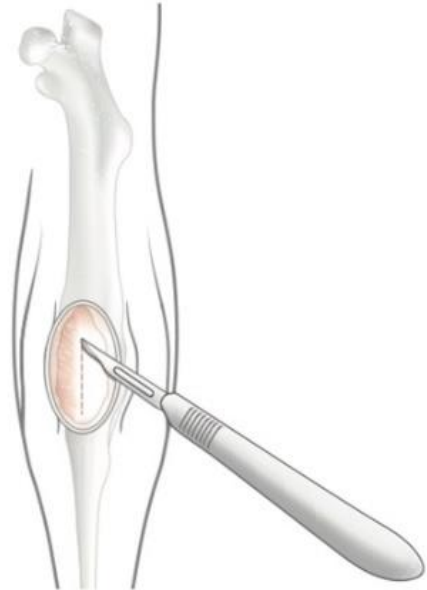


Abbildung 3: Hautinzision zur Eröffnung der Gelenkkapsel



Abbildung 4: Laterale Luxation der Patella



Abbildung 5: Freie Sicht auf die Condylen, Markierung für die distale Eröffnung des Femurs

Quelle: *Wissing S, Klein M, Holstein J, Matthys R. RISystem MousScrew Surgical technique guide, RISytem AG, Switzerland*

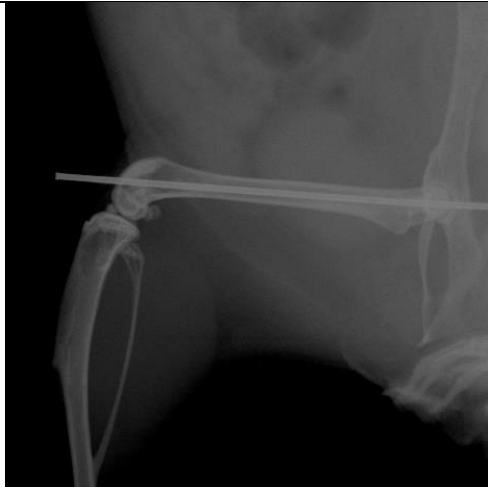


Abbildung 6: Röntgenkontrolle des Femurs nach Einbringung des Drahtes

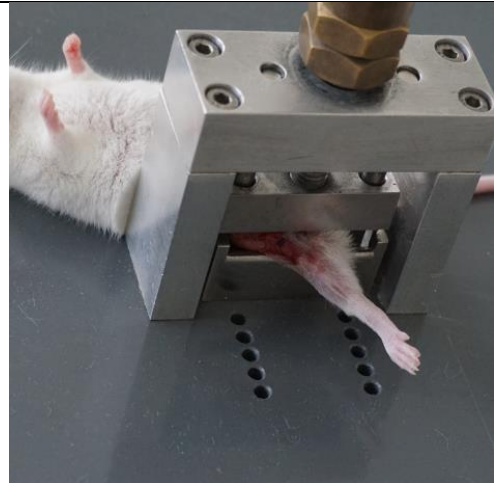


Abbildung 7: Positionierung des Hinterlaufs der Maus in der 3-Punkt-Biege-Apparatur



Abbildung 8: Röntgenkontrolle zur Kontrolle der Fraktur



Abbildung 9: Abschlussröntgen zur Kontrolle der richtigen Lage der MouseScrewTM

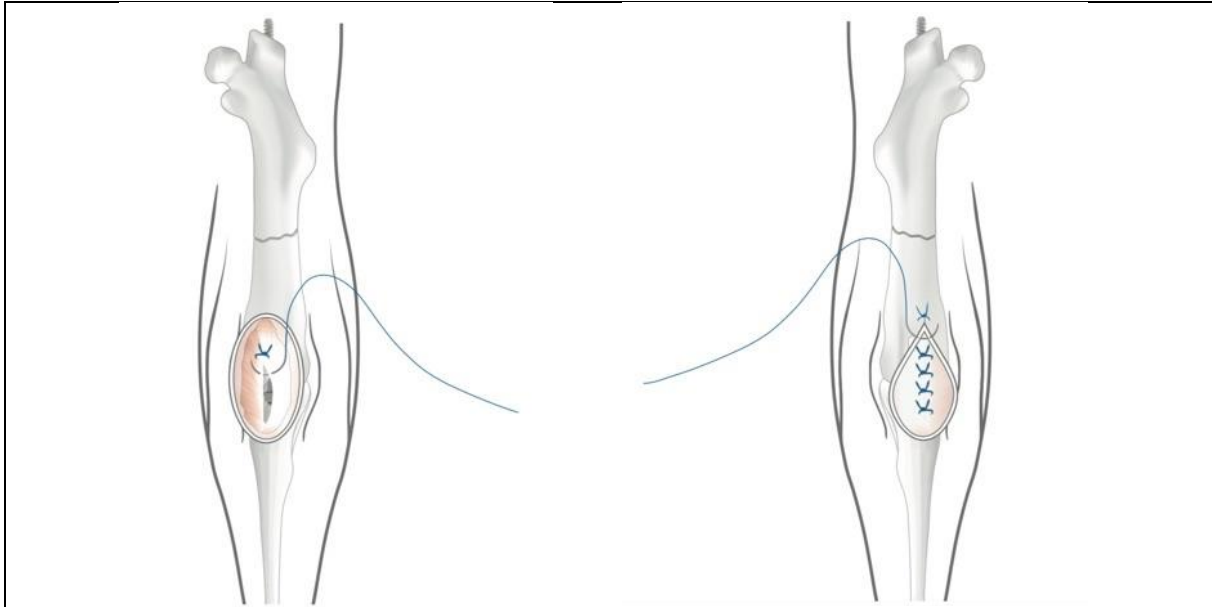


Abbildung 10: Naht der Patellasehne und Gelenkkapsel

Abbildung 11: Hautnaht in Einzelknopf-Nahttechnik

Quelle: Wissing S, Klein M, Holstein J, Matthys R. RISystem MousScrew Surgical technique guide, RISytem AG, Switzerland

3.4 CatWalk

Der CatWalk (Noldus Information Technology, Wageningen, Niederlande) (Abb. 12) wurde zu Beginn hauptsächlich bei Rückenmarksverletzungen verwendet und wird zur objektiven Auswertung des Gangbildes von Kleintieren genutzt. Das System wird vorrangig zur Untersuchung der Ganganalyse bei Schmerz, Ischämie, Schlaganfall, amyotropher Lateralsklerose, Parkinson, Arthritis und Huntington eingesetzt.

Er besteht aus der Top Unit (1), mit rotem Licht, welches dafür genutzt wird, die Körperkonturen des Versuchstiers zu zeigen und einem Gang (3) auf einer Glasplatte (5), der den Laufweg der Maus limitiert. Die Glasplatte wird über die Längsseite mit grünem Licht (Wellenlänge 535 nm) beleuchtet, welches innerhalb der Scheibe gespiegelt wird. Durch den Fußabdruck der Maus wird das Licht aus der Scheibe herausgebrochen, ist so sichtbar und kann von einer Highspeed-Farbkamera (2), welche unterhalb des Catwalks montiert ist, registriert und aufgenommen werden. Die Reflektion ist abhängig vom Gewicht, welches auf die Pfote ausgeübt wird, da bei stärkerem Gewicht mehr Haut auf der Glasfläche aufliegt und so mehr Licht reflektiert wird. Die Kamera wandelt das Signal in ein digitales Bild um, welches dann an das Computerprogramm (Software CatWalk XT) gesendet wird.



Abbildung 12: Catwalk XT: 1) Top Unit 2) Highspeed-Farbkamera 3) Gefederter Korridor 4) verschlossene Goal Box 5) Glasplatte

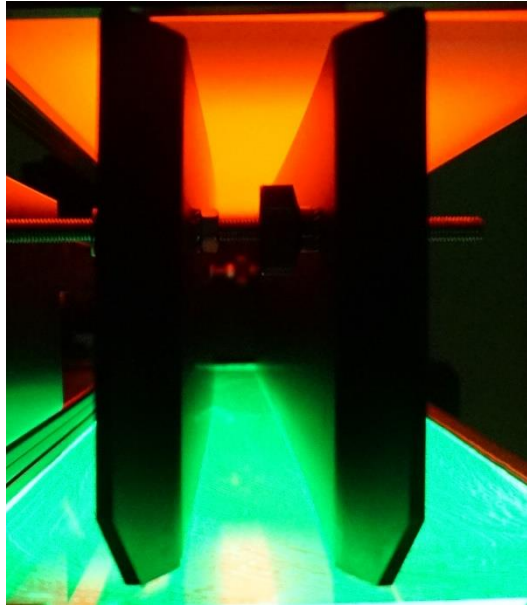


Abbildung 13: Blick in den Gang des eingeschalteten CatWalks im abgedunkelten Raum

Die Auswertung erfolgte aufgrund des Fluoreszenzlichtes im abgedunkelten Raum. Die Maus wurde in den Gang gesetzt (Abb. 13) und die Goal Box auf der gegenüberliegenden Seite verschlossen (4 in Abb. 12). Im Computerprogramm wurde der Lauf gestartet. Insgesamt wurden pro Versuchstier fünf Läufe registriert. Für einen adäquaten Lauf durfte das Gangbild eine Variation von 60% nicht überschreiten. Die Dauer eines Laufes durfte sich in einem Intervall von 0,5 bis 5s befinden. Zusätzlich kam es zu einem Ausschluss des Laufes, sofern eine Maus während der Aufzeichnung die Richtung wechselte oder den Lauf unterbrach.

Während eines aktiven Laufes war es durch die bereits erwähnte Software möglich, den Lauf als live Video auf dem Computer zu sehen (Abb. 14). Die Pfoten waren farblich gekennzeichnet (RF = rechte Vorderpfote, LF = linke Vorderpfote, RH = rechte Hinterpfote, LH = linke Hinterpfote).

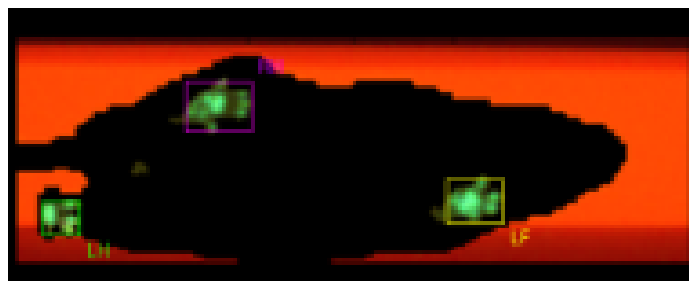


Abbildung 14: Screenshot eines live Videos während eines aktiven Laufes. Es stehen hier die linke Vorderpfote (gelb, LF), die rechte Hinterpfote (lila, RH) und die linke Hinterpfote (grün, LH) in Kontakt mit der Glasplatte

Während der Aufzeichnung fertigte die Software ein Diagramm des Laufes an, welches als Timing View zu sehen war. Dieses Diagramm zeigte korrespondierend zu den oben genannten Farbcodierungen der Pfoten die Standzeiten der Pfoten an. Das Intervall zwischen den Standzeiten zeigt die Schwungphase der jeweiligen Pfote an.



Abbildung 15: Gangdiagramm (Timing View) eines aufgezeichneten Laufes

Nach Beendigung der fünf Läufe wurde die Maus zurück in ihren Homecage gesetzt und das Gateway gründlich gesäubert. Falls die Maus während des Runs die Glasplatte durch Kot oder Urin verunreinigte, wurde der Lauf gestoppt, das Tier in einen Käfig gesetzt und die Glasplatte gereinigt, um Verfälschungen der Ergebnisse auszuschließen. Der CatWalk wurde anschließend wieder verschlossen und dieselbe Maus wieder in den Gang gesetzt und das Programm für die Läufe gestartet.

3.4.1 Parameter des CatWalk Systems

Das CatWalk System erfasst ein breites Spektrum an Gangparametern. Für diese Studie wurde aus der Gesamtheit dieser Parameter folgende ausgewertet.

BOS Front Paws	Durchschnittlicher Abstand beim Laufen zwischen den beiden Vorderpfoten	cm
BOS Hind Paws	Durchschnittlicher Abstand beim Laufen zwischen den beiden Hinterpfoten	cm
Duty Cycle	Prozentualer Anteil der Standphase am Schrittzyklus	%

Max Contact Area	Maximale Kontaktfläche der Pfote	cm ²
Max Contact Mean Intensity	Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt der Pfote	Keine Einheit
Print Area	Kompletter Fußabdruck	cm ²
Run Duration	Dauer eines aufgenommenen Laufes	s
Stand	Dauer des Pfotenkontakts mit der Glasoberfläche	s
Step Cycle	Zeit eines Schrittzklus = Standzeit + Schwungphase	s
Stride Length	Schrittweite derselben Pfote	cm
Support Diagonal	Relative Dauer des gleichzeitigen Kontaktes der diagonalen Pfoten zum Boden	%
Support Others	Relative Dauer des gleichzeitigen Kontaktes aller anderen Kombinationen der Pfoten (außer Diagonal und Three) zum Boden	%
Support Three	Relative Dauer des gleichzeitigen Kontaktes dreier Pfoten zum Boden	%
Swing	Schwungphase der Pfote	s

Tabelle 2: Parameter der Laufanalyse (Reference Manual CatWalk XT Version 10.6)

3.5 Tötung der Tiere

Die Tiere wurden nach dem letzten Lauf am Tag 35 in Narkose geröntgt und mittels Genickbruch getötet.

3.6 Statistik

Die Ergebnisse sind als Mittelwert (MW) und Standardfehler (SEM) angegeben. Nach der Testung der Normalverteilung und Varianzgleichheit wurden die Gruppen für den jeweiligen Tag mit dem Student-t-Test und die Gruppe, über den gesamten Versuchszeitraum mit One Way ANOVA analysiert. Für den Fall, dass keine Normalverteilung bestand, wurde für den t-Test der Mann-Whitneys-U Test und für die Testung der Gruppe über den Zeitraum, der Dunnett Test angewandt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von SigmaPlot 13.0 (Systat Software Inc., San Jose California, USA). Es wurde für das Signifikanzniveau ein p-Wert unter 0,05 festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 1. Abschnitt der Studie (Altersvergleich)

4.1.1 Laufdauer (Run Duration)

Die Laufdauer beschreibt die durchschnittliche Zeit (in Sekunden), welche die Versuchstiere benötigten, um den Messbereich komplett zu überqueren.

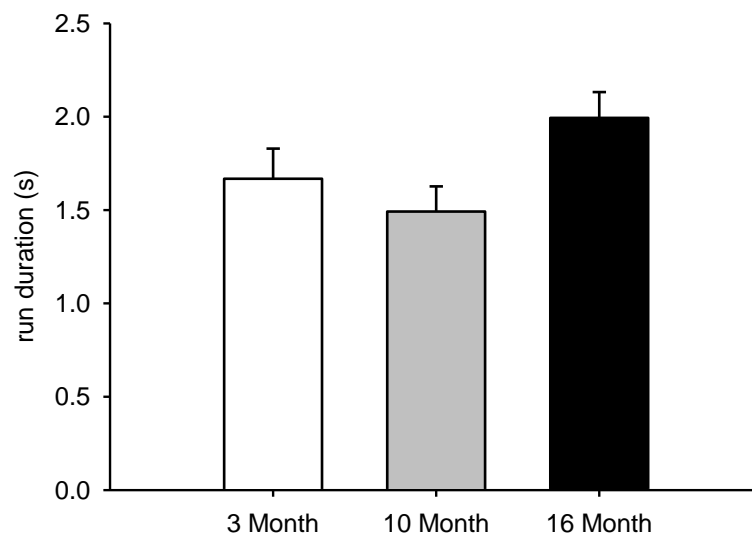


Abbildung 16: Run Duration [s]. Die Laufdauer wurde jeweils bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen

Beim Vergleich der Laufdauer zwischen den Altersgruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Die Laufdauer war bei den ältesten Tieren (16 Monate) am längsten.

4.1.2 Stand (Stand)

Der Stand beschreibt den Kontakt der Pfote zu der Glasscheibe in Sekunden.

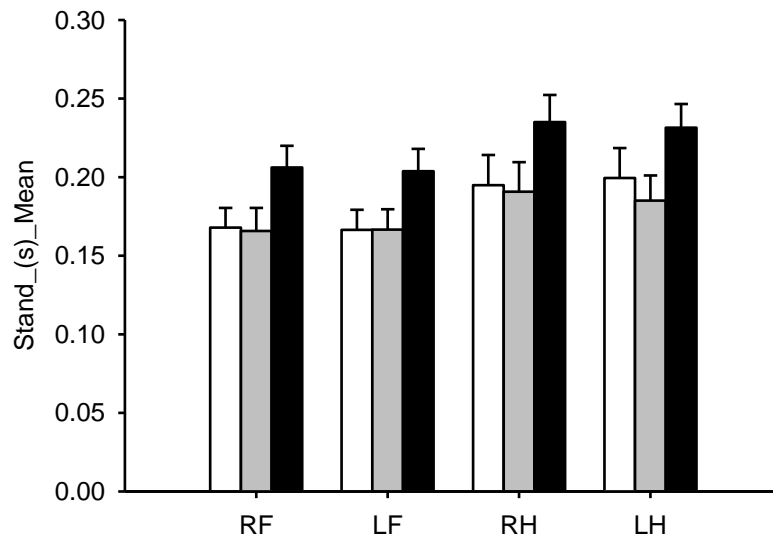


Abbildung 17: Stand (s). Die Standzeit wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen

Die Standzeit der unterschiedlichen Pfoten war in allen Altersgruppen vergleichbar. Die älteren Tiere hatten die längste Standzeit.

4.1.3 Schwung (Swing)

Der Schwung beschreibt die Schwungphase (s) der einzelnen Pfoten vom Zeitpunkt des Absetzens der jeweiligen Pfote bis zum erneuten Aufsetzen der Pfote.

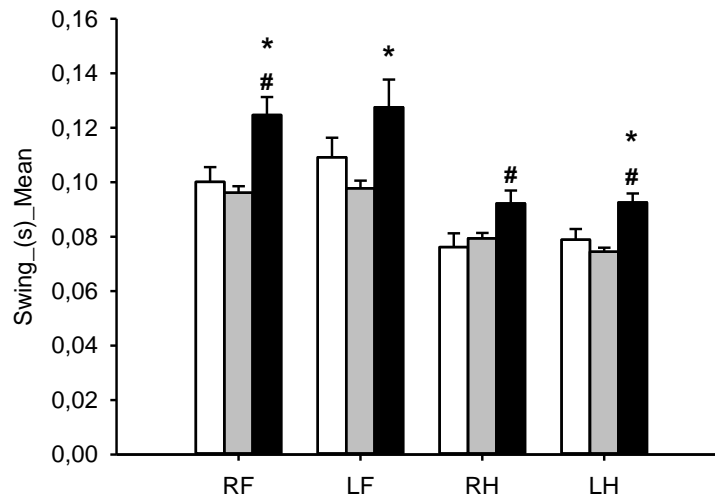


Abbildung 18: Swing (s). Die Schwungphase wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen. Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0,05$ vs. 3 Monate alte Versuchstiere, * $p < 0,05$ vs. 10 Monate alte Versuchstiere

Die Dauer der Schwungphase unterscheidet sich signifikant im Altersvergleich. Bei den 16 Monate alten Tieren ist die Schwungphase länger im Vergleich zu den jungen Tieren. An der rechten Vorderpfote, rechten Hinterpfote und der linken Hinterpfote ist der Schwung signifikant länger als bei den beiden jüngeren Versuchsgruppen.

4.1.4 Schrittzzyklus (Step Cycle)

Der Schrittzzyklus setzt sich aus der Standzeit (Stand) und der Schwungphase (Swing) zusammen und beschreibt so die Dauer (s) eines gesamten Schritts, vom Zeitpunkt des Aufsetzens der Pfote mit der folgenden Standphase, über den Schwung bis zum Zeitpunkt des erneuten Aufsetzens der jeweiligen Pfote.

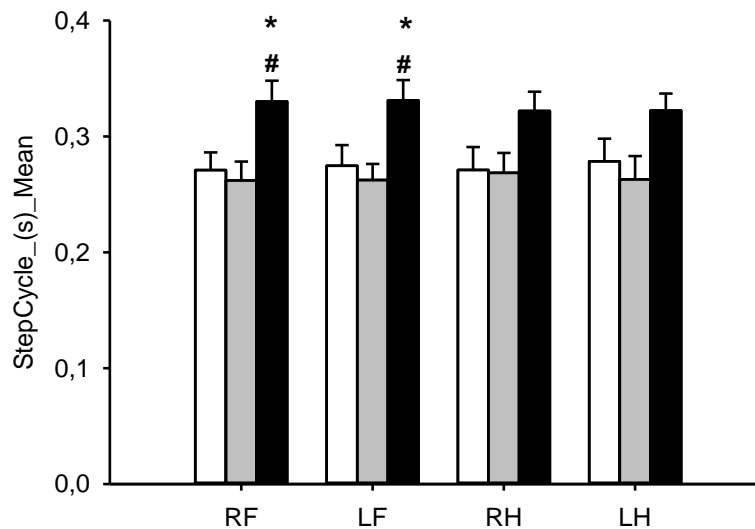


Abbildung 19: Step Cycle (s). Der Schrittzzyklus wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen. Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0,05$ vs. 3 Monate alte Versuchstiere, * $p < 0,05$ vs. 10 Monate alte Versuchstiere

Der Schrittzzyklus der 16 Monate alten Versuchstieren zeigte sich an beiden Vorderpfoten signifikant länger als bei den 3 Monate und 10 Monate alten Mäusen.

4.1.5 Auslastungsgrad (Duty Cycle)

Der Auslastungsgrad der jeweiligen Pfote beschreibt den prozentualen Anteil der Standphase an einem Schrittzzyklus.

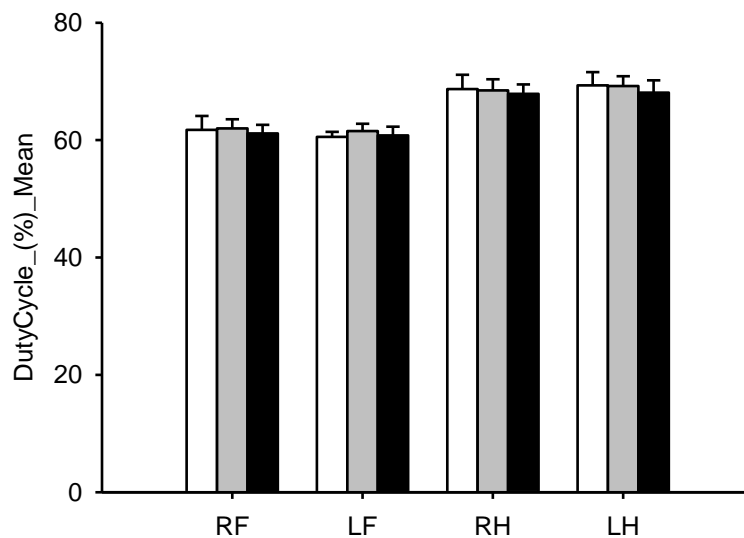


Abbildung 20: Duty Cycle (%). Der Auslastungsgrad wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monaten alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen

In der Abbildung ist der Auslastungsgrad der drei Versuchsgruppen an allen Pfoten dargestellt. Es zeigte sich an den jeweiligen Pfoten ein nahezu identischer Anteil der Standphase am Schrittzzyklus unter den Altersgruppen.

4.1.6 Schrittlänge (Stride Length)

Die Schrittlänge (cm) beschreibt die Distanz, welche eine Pfote vom Absetzen bis zum erneuten Aufsetzen zurücklegt.

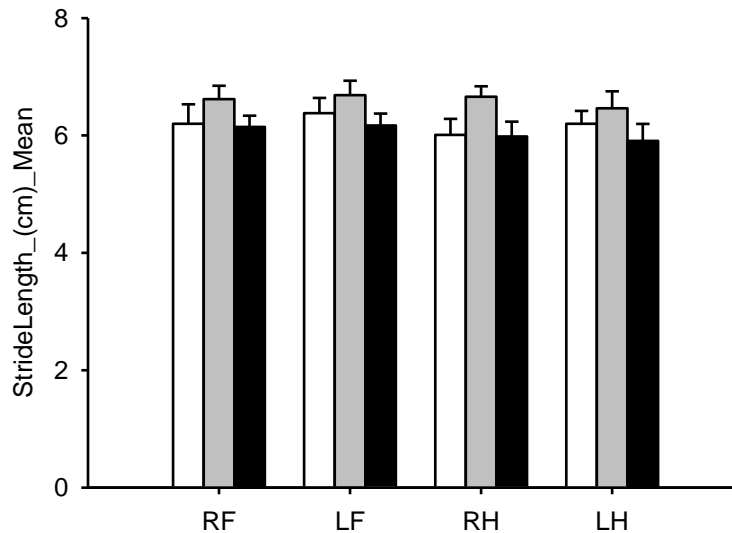


Abbildung 21: Stride Length (cm). Die Schrittlänge wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen

Die Schrittlänge zeigte an allen Pfoten der Versuchstiere keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen.

4.1.7 Pfotenabstand (Base of Support (BOS))

Der Pfotenabstand beschreibt den durchschnittlichen Abstand der beiden Vorder- (BOS Front Paws) bzw. Hinterpfoten (BOS Hind Paws) während eines Laufes, zueinander.

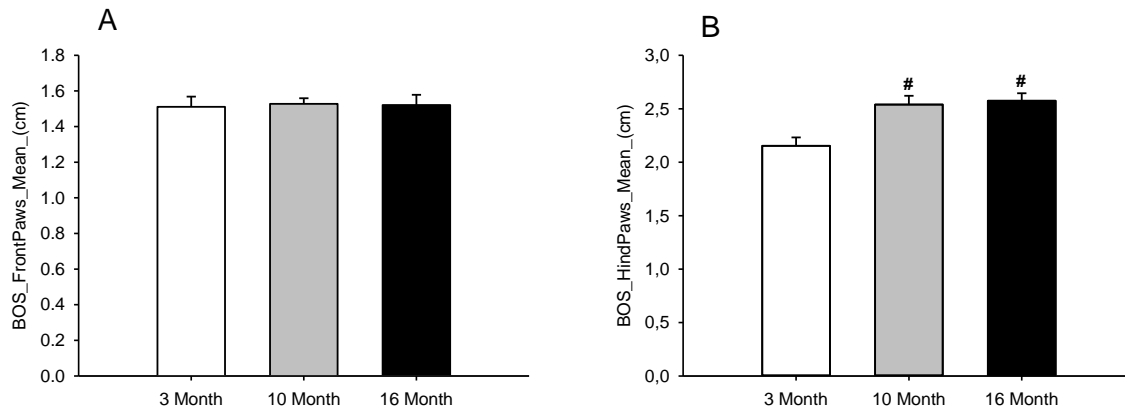


Abbildung 22: Base of Support (cm) der Vorderpfoten (A) und der Hinterpfoten (B). Die Laufdauer wurde jeweils bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen. Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0,05$ vs. 3 Monate alte Versuchstiere

Der Abstand zwischen den beiden Vorderpfoten (BOS Front Paws) zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen. Bei Betrachtung der Hinterpfoten war der Abstand zwischen den Pfoten (BOS Hind Paws) bei den 10 und 16 Monate alten Tiere signifikant weiter als bei den 3 Monate alten Mäusen.

4.1.8 Maximale Kontaktfläche (Max Contact Area)

Die maximale Kontaktfläche (cm²) beschreibt die maximale Auftrittsfläche, die eine Pfote während des Laufes zum Untergrund hat.

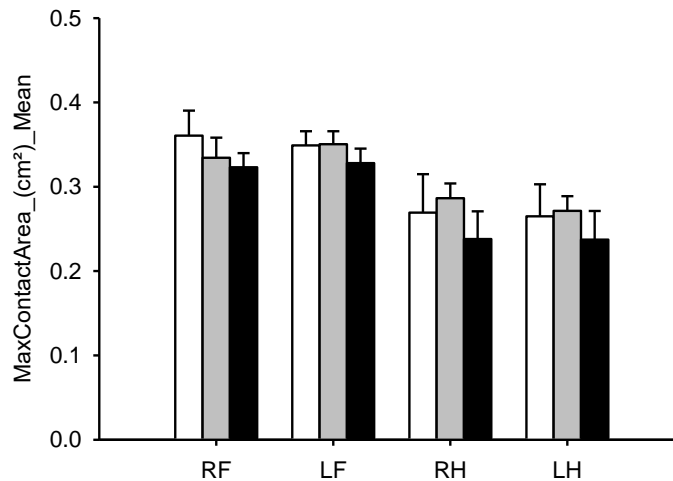


Abbildung 23: Max Contact Area (cm²). Die Maximale Kontaktfläche wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monaten alten Versuchstiere (schwarzer Balken) gemessen

Die maximale Kontaktfläche unterschied sich an den einzelnen Pfoten zwischen den Altersgruppen nicht. Auffällig war, dass die Hinterpfoten im Vergleich zu den Vorderpfoten eine geringere Kontaktfläche aufwiesen.

4.1.9 Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt (Max Contact Mean Intensity)

Die mittlere Intensität bei maximalem Kontakt beschreibt den mittleren Druck, mit dem die Pfote bei maximalem Kontakt belastet wird.

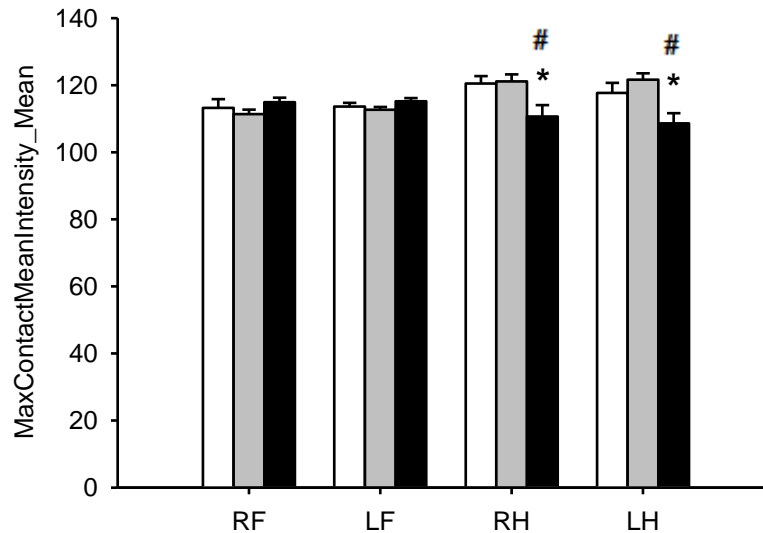


Abbildung 24: Max Contact Mean Intensity. Die Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt wurde an den einzelnen Pfoten (RF= rechte Vorderpfote, LF= linke Vorderpfote, RH= rechte Hinterpfote, LH= linke Hinterpfote) bei den 3 Monate alten Versuchstieren (weißer Balken), 10 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) gemessen. Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0,05$ vs. 3 Monate alte Versuchstiere, * $p < 0,05$ vs. 10 Monate alte Versuchstiere

Die mittlere Intensität bei maximalem Kontakt unterscheidet sich bei dem Vergleich der Vorderpfoten nicht signifikant. Die Intensität an den Hinterpfoten war bei den 16 Monate alten Versuchstieren signifikant geringer als bei den 3 und 10 Monate alten Versuchstieren.

4.2 2. Abschnitt der Studie (Analyse während der Frakturheilung)

Im 2. Studienabschnitt wurden alle Versuchstiere nach geschlossener Fakturierung des Femurs und Stabilisierung zu verschiedenen Zeitpunkten während der Frakturheilung analysiert.

4.2.1 Laufdauer (Run Duration)

Die Laufdauer beschreibt die durchschnittliche Zeit (in Sekunden), welche die Versuchstiere benötigten, um den Messbereich komplett zu überqueren.

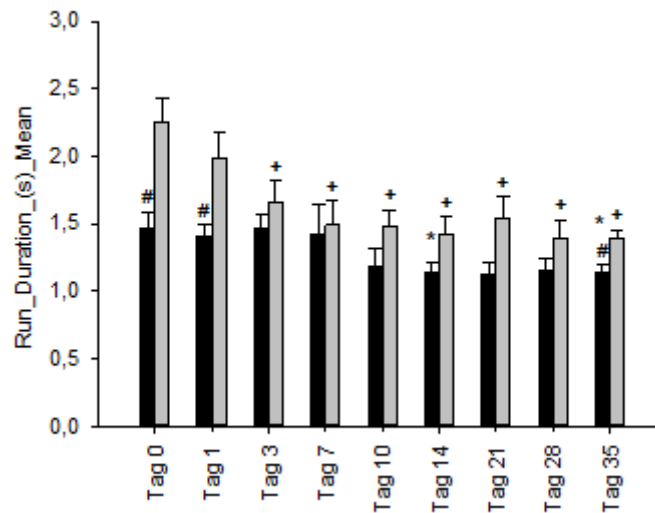


Abbildung 25: Run Duration (s). Die Laufdauer wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Zwischen den Gruppen wiesen die jungen Tiere eine signifikant kürzere Laufdauer an den Tagen 0, 1 und 35 auf. Es zeigte sich bei den jungen Tieren an Tag 14 und 35 eine signifikant kürzere Laufdauer im Vergleich zu dem präoperativen Lauf. Die Laufdauer bei den 16 Monate alten Tieren ist ab dem 3. postoperativen Tag dauerhaft signifikant kürzer als an Tag 0.

4.2.2 Stand (Stand)

Der Stand beschreibt die Dauer in Sekunden, die eine Pfote Kontakt mit der Glasoberfläche des Messbereichs hat.

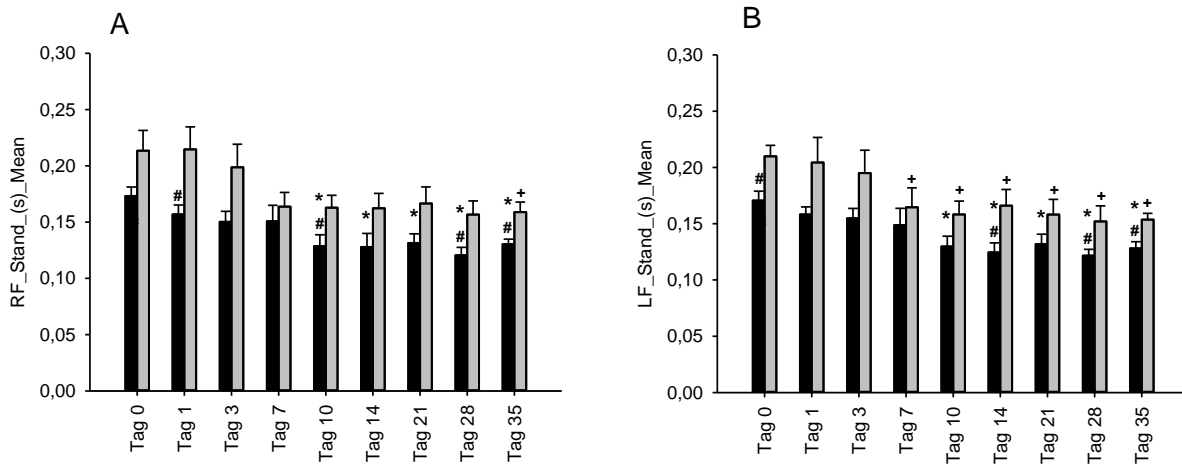


Abbildung 26: Stand (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Die Standzeit wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die Standzeit des rechten Vorderlaufs zeigte sich bei den 16 Monate alten Mäuse an Tag 35 signifikant verkürzt im Vergleich zu den der jungen Tiere. Die Standdauer der Vorderpfoten zeigte sich bei den jungen Tieren ab Tag 10 signifikant kürzer im Vergleich zu Tag 0. Bei den alten Tieren zeigte sich an der linken Vorderpfote ab dem 7 postoperativen Tag eine dauerhaft signifikant kürzere Standzeit als an Tag 0.

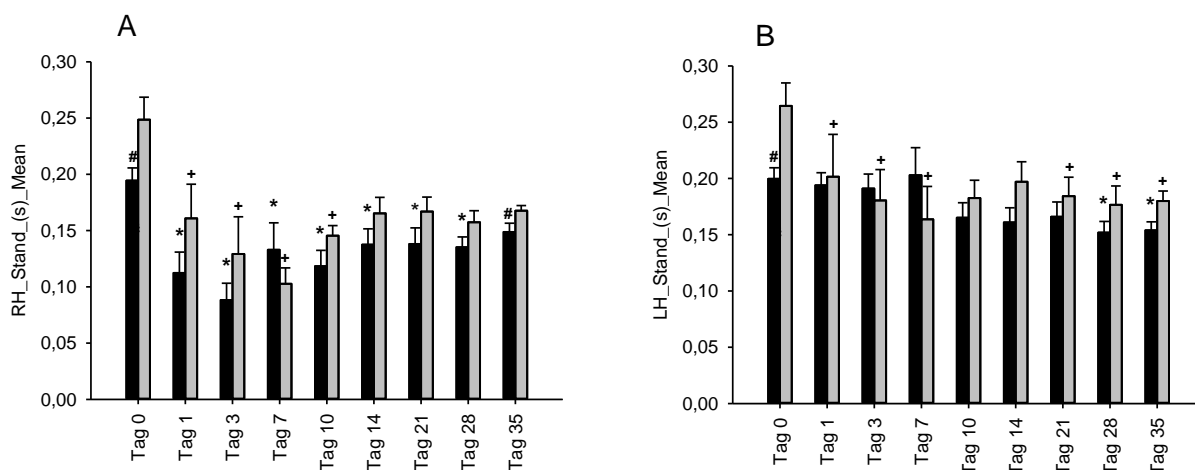


Abbildung 27: Stand (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Die Standzeit wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die jungen Tiere zeigten beidseits präoperativ eine signifikant kürzere Standzeit an den Hinterpfoten, zudem auch an der rechten Hinterpfote an Tag 35. Die Standzeit der jungen Tiere an der rechten hinteren Pfote zeigte sich im Vergleich zum präoperativen Tag signifikant kürzer, am 1. bis zum 28. Tag. An der linken Hinterpfote am Tag 28 und 35. Die 16 Monate alten Mäuse zeigten diese signifikant kürzere Standphase an der rechten Hinterpfote am 1. bis zum 10. postoperativen Tag und an der linken Hinterpfote an den Tagen 1 bis 7 und 21 bis 35 auf.

4.2.3 Schwung (Swing)

Der Schwung beschreibt die Schwungphase (s) der einzelnen Pfote, welche dem Zeitraum vom Absetzen der jeweiligen Pfote bis zum erneuten Aufsetzen ebendieser.

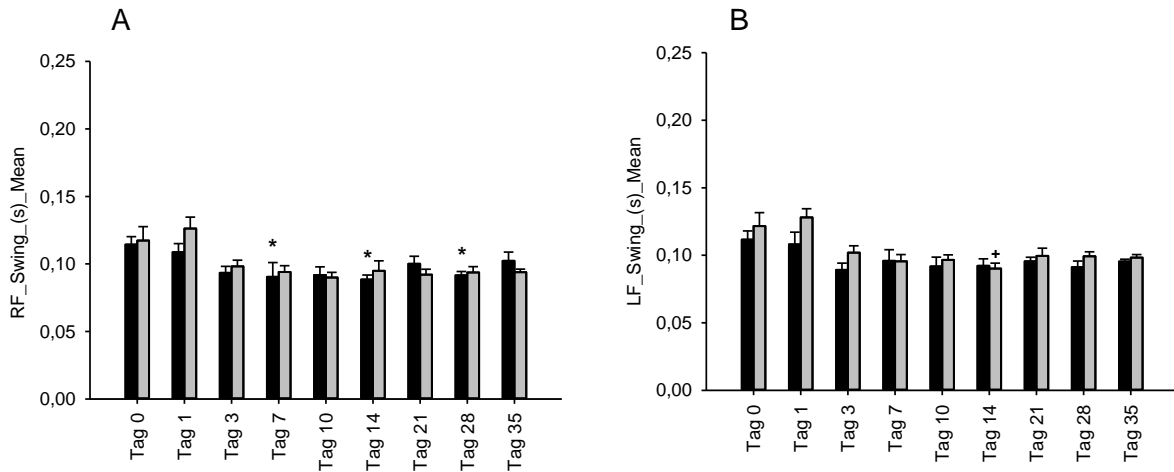


Abbildung 28: Swing (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Die Schwungphase wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler $+p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, $*p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0 $0^*p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die Schwungphase im Bereich der Vorderpfoten zeigte bei den 3 Monate alten Mäusen an der rechten Vorderpfote an den Tagen 7, 14 und 28 eine signifikant kürzere Schwungphase. Bei den alten Tieren zeigte sich an Tag 14 eine signifikant kürzere Schwungphase im Vergleich zum präoperativen Lauf.

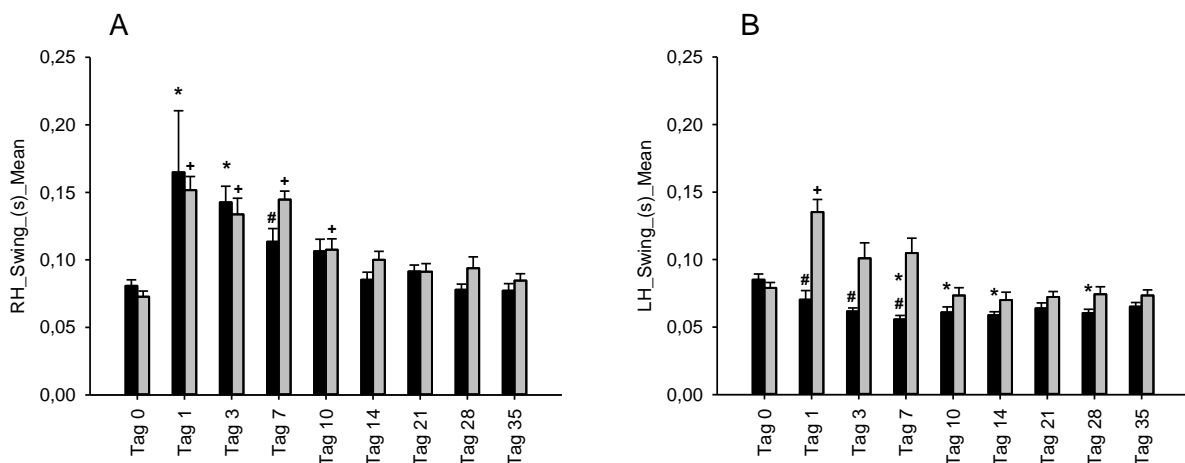


Abbildung 29: Swing (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Die Schwungphase wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler $\#p < 0.05$ vs. Schraube alt, $+p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, $*p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die 3 Monate alten Tiere wiesen an den Hinterpfoten rechts an Tag 7 und links an den Tagen 1, 3 und 7 eine signifikant kürzere Dauer der Schwungphase im Vergleich zu den alten Mäusen auf. An den Hinterpfoten der jungen Tiere zeigte sich eine signifikant verlängerte Schwungphase an der rechten Hinterpfote an den Tagen 1 und 3, während die Dauer an der linken Hinterpfote an den Tagen 7, 10, 14 und 28 signifikant kürzer war als an Tag 0. Bei den alten Tieren zeigte sich die Schwungphase an den Tagen 1, 3, 7 und 10 an der rechten Hinterpfote, sowie an der linken Hinterpfote am ersten postoperativen Tag signifikant verlängert im Vergleich zum präoperativen Lauf.

4.2.4 Schrittzzyklus (Step Cycle)

Der Schrittzzyklus setzt sich aus der Standzeit (Stand) und der Schwungphase (Swing) zusammen und beschreibt so die Dauer (s) eines gesamten Schritts, vom Zeitpunkt des Aufsetzens der Pfote mit der folgenden Standphase, über den Schwung bis zum Zeitpunkt des erneuten Aufsetzens der jeweiligen Pfote.

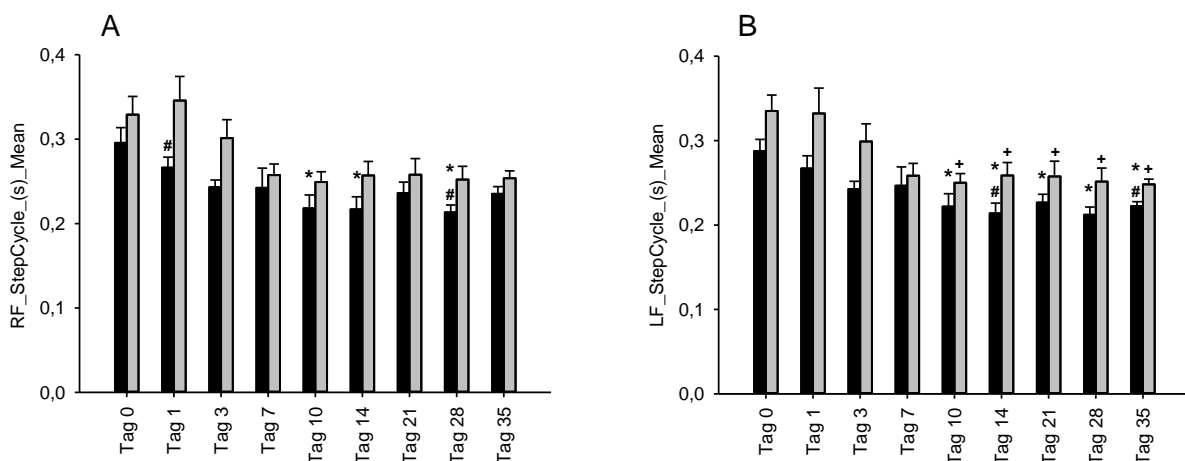


Abbildung 30: Step Cycle (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Der Schrittzzyklus wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Bezüglich des Schrittzzyklus zeigten die jungen Tiere eine signifikant kürzere Dauer im Vergleich zu den alten Tieren rechts an den Tagen 1 und 28 und links an den Tagen 14 und 35. Die 3 Monate alten Mäuse zeigten eine signifikant kürzere Dauer im Vergleich zu dem präoperativen Lauf an der rechten Vorderpfote an den Tagen 10, 14 und 28 und an der linken Vorderpfote an den Tagen 10 bis 35. Die Dauer eines Zyklus war bei den 16 Monate alten Tieren an der linken Vorderpfote an den Tagen 10 bis 35 signifikant kürzer als an Tag 0.

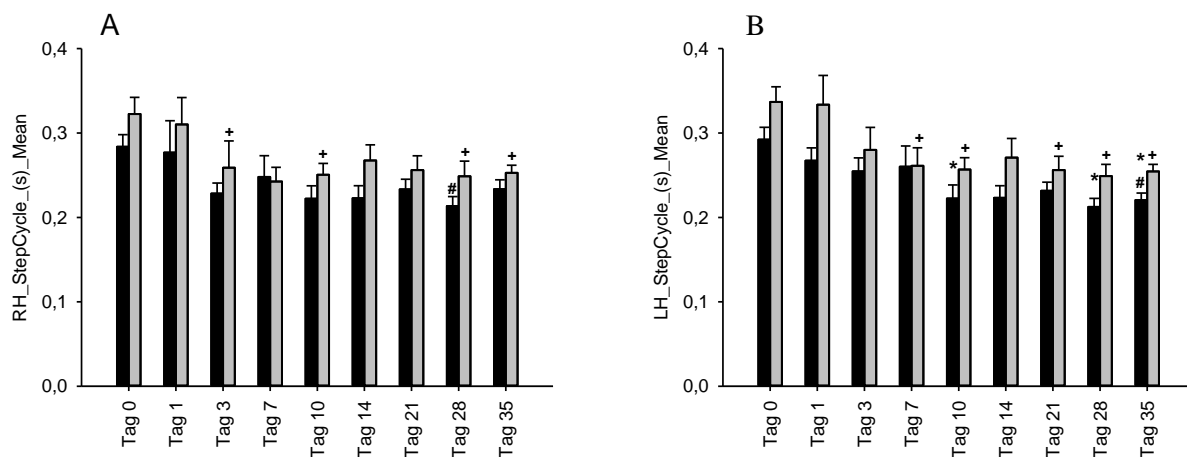


Abbildung 31: Step Cycle (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Der Schrittzklus wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Bei Betrachtung der Hinterläufe zeigten die jungen Tiere an der rechten Hinterpfote an Tag 28 und links hinten an Tag 35 einen signifikant kürzeren Schrittzklus als die alten Versuchstiere. Bei den jungen Versuchstieren war der Schrittzklus an der linken Hinterpfote an den Tagen 10, 28 und 35 signifikant verkürzt im Vergleich zu Tag 0. Die 16 Monate alten Mäuse zeigten an der rechten Hinterpfote an den Tagen 3, 10, 28, 35 und an der linken Hinterpfote an den Tagen 7, 10, 21, 28, 35 einen signifikant kürzeren Schrittzklus als an Tag 0.

4.2.5 Auslastungsgrad (Duty Cycle)

Der Auslastungsgrad der jeweiligen Pfote beschreibt den prozentualen Anteil der Standphase an einem Schrittzklus.

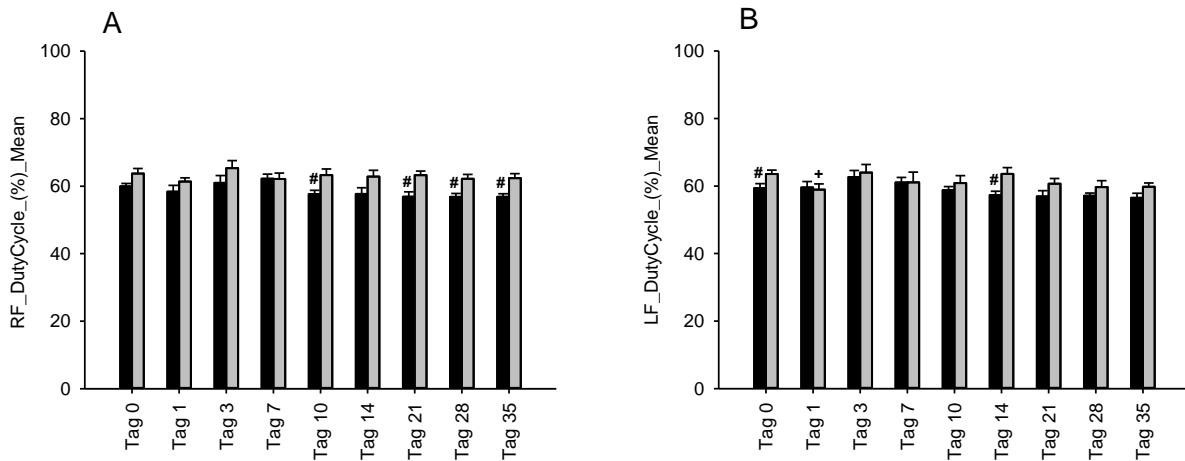


Abbildung 32: Duty Cycle (%) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Der Auslastungsgrad wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0

Beim Vergleich der Standphase zwischen den Altersgruppen zeigten die jungen Tiere einen signifikant geringeren prozentualen Anteil der Standphase an der rechten Vorderpfote an den postoperativen Tagen 10, 21, 28 und 35. An der linken Vorderpfote unterschieden sich die Gruppen präoperativ wie auch am 14. postoperativen Tag. Weiter zeigten die 16 Monate alten Versuchstiere am ersten postoperativen Tag einen signifikant kleineren Anteil zum präoperativen Lauf.

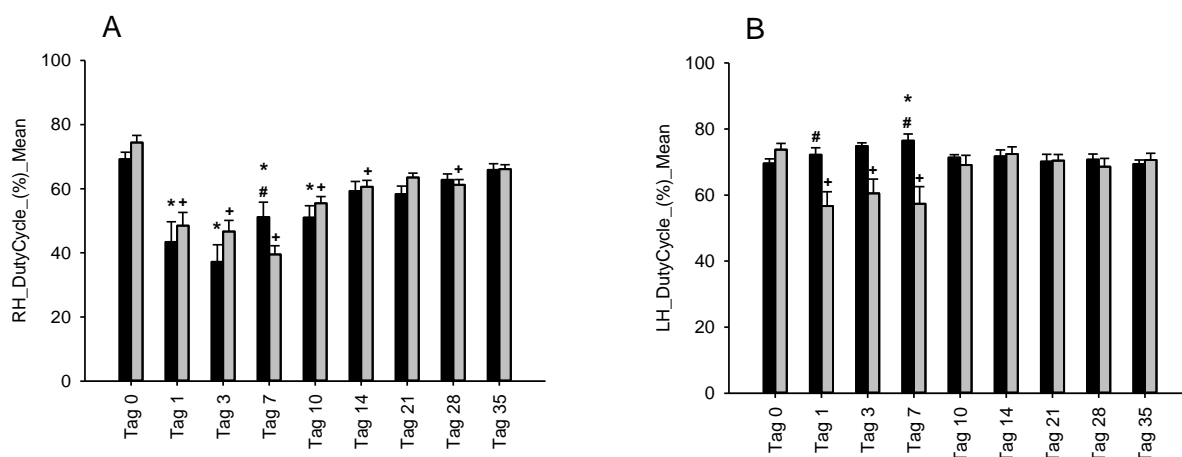


Abbildung 33: Duty Cycle (%) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Der Auslastungsgrad wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Zwischen den Altersgruppen zeigte sich ein signifikant größerer Anteil der Standphase bei den jungen Tieren am ersten postoperativen Tag an der linken Hinterpfote, wie auch beidseits am 7. postoperativen Tag. Der Auslastungsgrad beim Vergleich der rechten Hinterpfote zeigte bei den jungen Tieren ein signifikant geringerer Anteil an den Tagen 1 bis 10 und links ein signifikant größerer Anteil am 10. postoperativen Tag als an Tag 0. Bei den älteren Mäusen zeigte sich der Anteil an den Tagen 1 bis 7 der linken Pfote und an den Tagen 1 bis 14 und an Tag 28 signifikant kleiner im Vergleich zum präoperativen Lauf.

4.2.6 Schrittlänge (Stride Length)

Die Schrittlänge (cm) beschreibt die Distanz, welche eine Pfote vom Absetzen bis zum erneuten Aufsetzen zurücklegt.

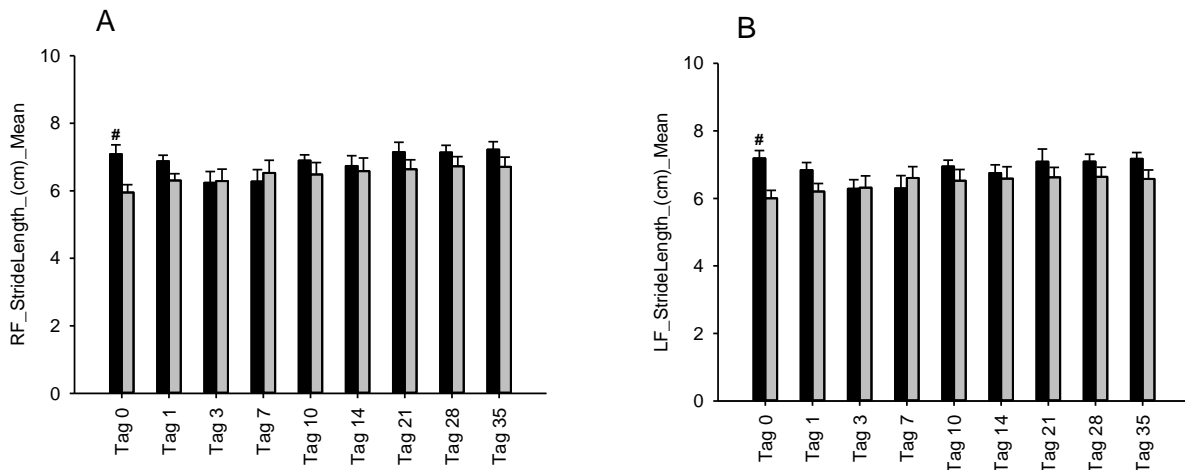


Abbildung 34: Stride length (cm) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Die Schrittlänge wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt

Die Schrittlänge unterscheidet sich sowohl rechts als auch links im Bereich der Vorderpfoten nur an Tag 0. Die Schrittlänge war bei den jungen Tieren signifikant länger.

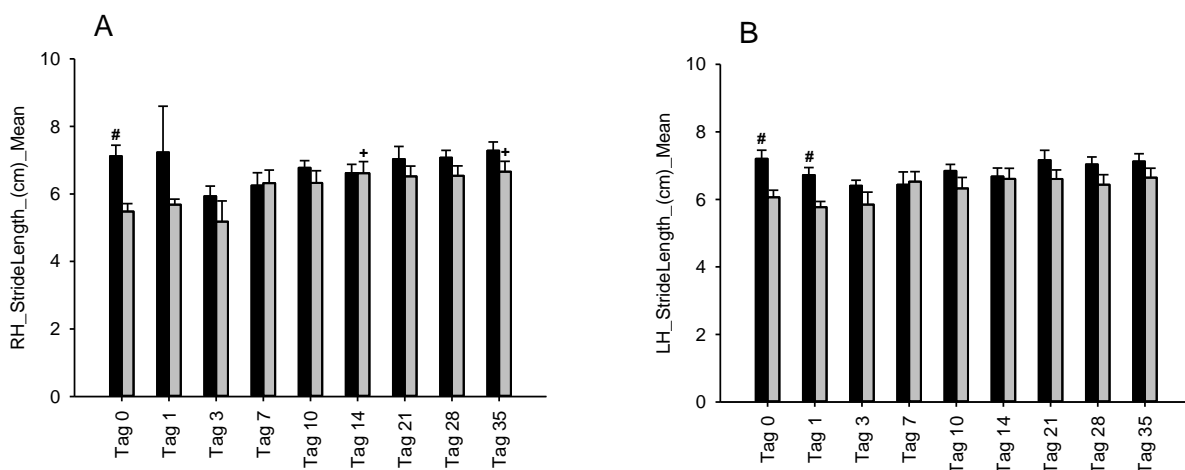


Abbildung 35: Stride length (cm) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Die Schrittlänge wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0

Bei der Schrittlänge an den Hinterpfoten zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen. Die jungen Mäuse zeigten an der rechten Pfote an Tag 0 und an der linken

Hinterpfote an Tag 0 und 1 eine signifikant größere Schrittlänge als die alten Tiere. Die 16 Monate alten Versuchstiere zeigten an der rechten, operierten Hinterpfote an den Tagen 14 und 35 eine signifikant größere Schrittlänge als am präoperativen Tag.

4.2.7 Pfotenabstand (Base of Support (BOS))

Der Pfotenabstand beschreibt den durchschnittlichen Abstand, während eines Laufes, der beiden Vorder- (BOS Front Paws) bzw. Hinterpfoten (BOS Hind Paws) zueinander.

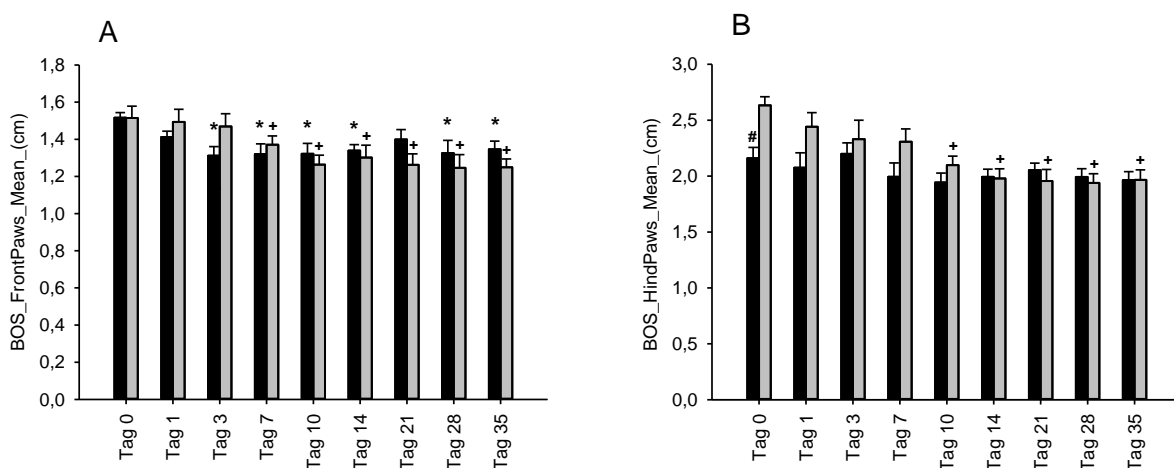


Abbildung 36: Base of Support (cm) der Vorderpfoten (A) und der Hinterpfoten (B). Der Pfotenabstand wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die 3 Monate alten Versuchstiere zeigen an den Hinterpfoten an Tag 0 einen signifikant geringeren Abstand als die 16 Monate alten Versuchstiere. Einen signifikant größeren Abstand zu Tag 0 zeigten die jungen Tiere an den Vorderpfoten an Tag 3 bis 14 und an Tag 28 bis 55. Bei den 16 Monate alten Mäusen zeigte sich dieser Unterschied an den Vorderpfoten an Tag 7 bis 35 und an den Hinterpfoten an Tag 10 bis 35.

4.2.8 Maximale Kontaktfläche (Max Contact Area)

Die maximale Kontaktfläche (cm²) beschreibt die maximale Aufttrittsfläche, die eine Pfote während des Laufes zum Untergrund hat.

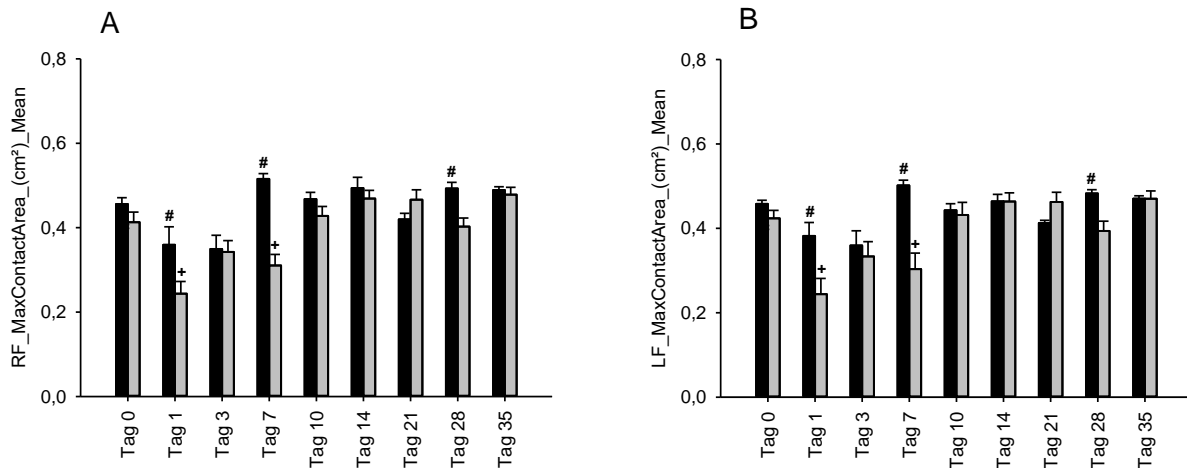


Abbildung 37: Max Contact Area (cm²) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Die Maximale Kontaktfläche wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0

Die jungen Mäuse wiesen beidseits eine signifikant größere maximale Kontaktfläche der Vorderpfoten zu den alten Mäusen an den Tagen 1, 7 und 28 auf. Bei der maximalen Kontaktfläche der Vorderpfoten zeigten sich bei den 16 Monate alten Tieren beidseits an den Tagen 1 und 7 signifikant kleinere maximale Kontaktflächen der Pfoten als am präoperativen Tag.

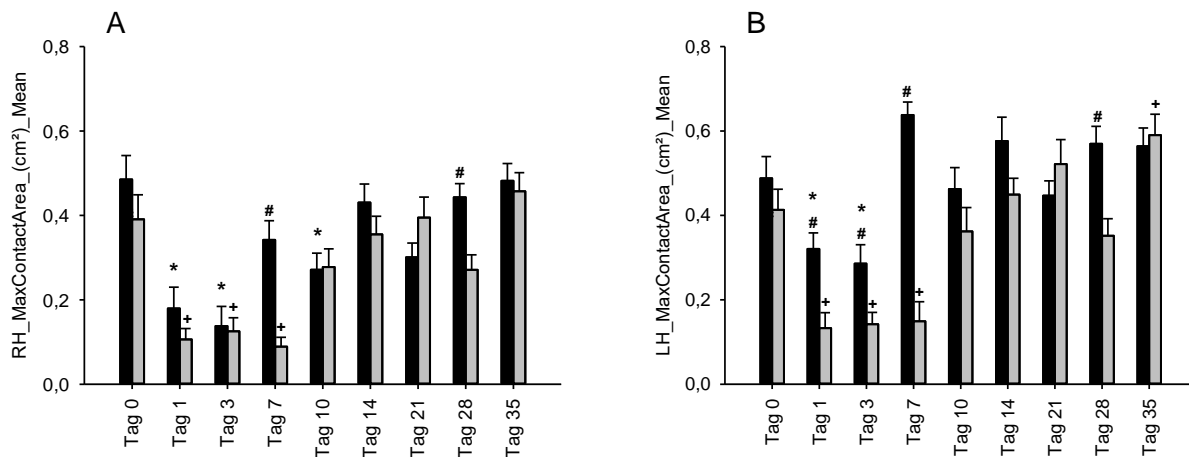


Abbildung 38: Max Contact Area (cm²) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Die Maximale Kontaktfläche wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0.

Unter den Versuchsgruppen wiesen die jungen Tiere an den Tagen 7 und 28 eine signifikant größere Kontaktfläche als die alten Tiere auf. Die 3 Monate alten Mäuse zeigten an beiden Hinterpfoten im Verhältnis zum präoperativen Lauf eine signifikant geringere Kontaktfläche an den Tagen 1 und 3. Zudem zeigte sich die Kontaktfläche an der rechten operierten Hinterpfote an Tag 10 verkleinert. Bei den 16 Monate alten Versuchstieren ist die Kontaktfläche beider Hinterpfoten an den Tagen 1 bis 7 signifikant kleiner. Des Weiteren zeigten sie an der linken hinteren Pfote an Tag 35 eine signifikant größere Kontaktfläche als an Tag 0.

4.2.9 Mittlere Intensität bei maximalem Kontakt (Max Contact Mean Intensity)

Die mittlere Intensität bei maximalem Kontakt beschreibt den mittleren Druck mit dem die Pfote bei maximalem Kontakt belastet wird.

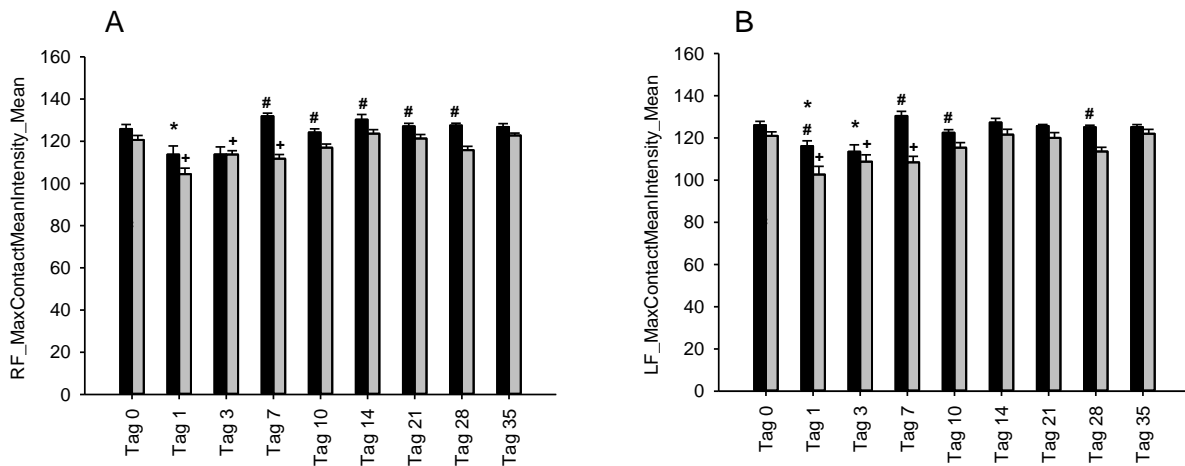


Abbildung 39: Max Contact Mean Intensity der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B). Die Mittlere Intensität bei maximaler Kontaktfläche wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die jungen Tiere wiesen an der linken Vorderpfote an den Tagen 1, 7, 10 und 28 und an der rechten Vorderpfote an den Tagen 7 bis 28 eine signifikant höhere Intensität als die alten Tiere auf. Bei den jungen Tieren zeigte sich bei Betrachtung der rechten Vorderpfote an Tag 1 und bei Betrachtung der linken Vorderpfote an den Tagen 1 und 3 eine geringere Intensität als an Tag 0. Die alten Tiere zeigten an beiden Vorderpfoten eine signifikant geringere Intensität an den 1, 3 und 7 Tagen.

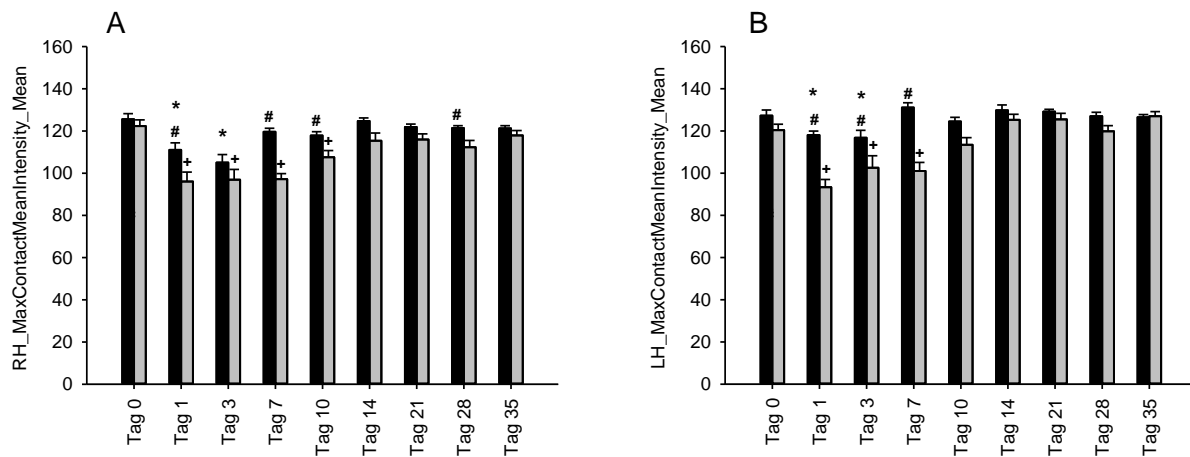


Abbildung 40: Max Contact Mean Intensity der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B). Die Mittlere Intensität bei maximaler Kontaktfläche wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

Die mittlere Intensität bei maximalem Kontakt war bei den jungen Tieren an der rechten Hinterpfote an den Tagen 1, 7, 10 und 28 und an der linken Hinterpfote an den Tagen 1 bis 7 signifikant größer als die der 16 Monate alten CD-1 Mäuse. Die 3 Monate alten Versuchstiere zeigten an beiden Hinterpfoten an den Tagen 1 und 3 signifikant geringere Intensitäten bei maximaler Kontaktfläche als an Tag 0. Die alten Tiere zeigten an der rechten Hinterpfote an den Tagen 1 bis 10 und an der linken Hinterpfote an den Tagen 1 bis 7 signifikant geringere Intensitäten als beim präoperativen Lauf.

4.2.10 Gangart (Support)

Die Gangart beschreibt den relativen Anteil der Pfoten beim Gang/Lauf mit dem Boden. „Diagonal“ beschreibt den gleichzeitigen Kontakt der diagonalen Pfoten (linke Vorderpfote-rechte Hinterpfote; rechte Vorderpfote- linke Hinterpfote). Diese Gangart ist auch als „Trab“ bekannt. „Three“, auch als „Schritt“ bekannt, beschreibt den gleichzeitigen Kontakt von drei Pfoten zum Boden

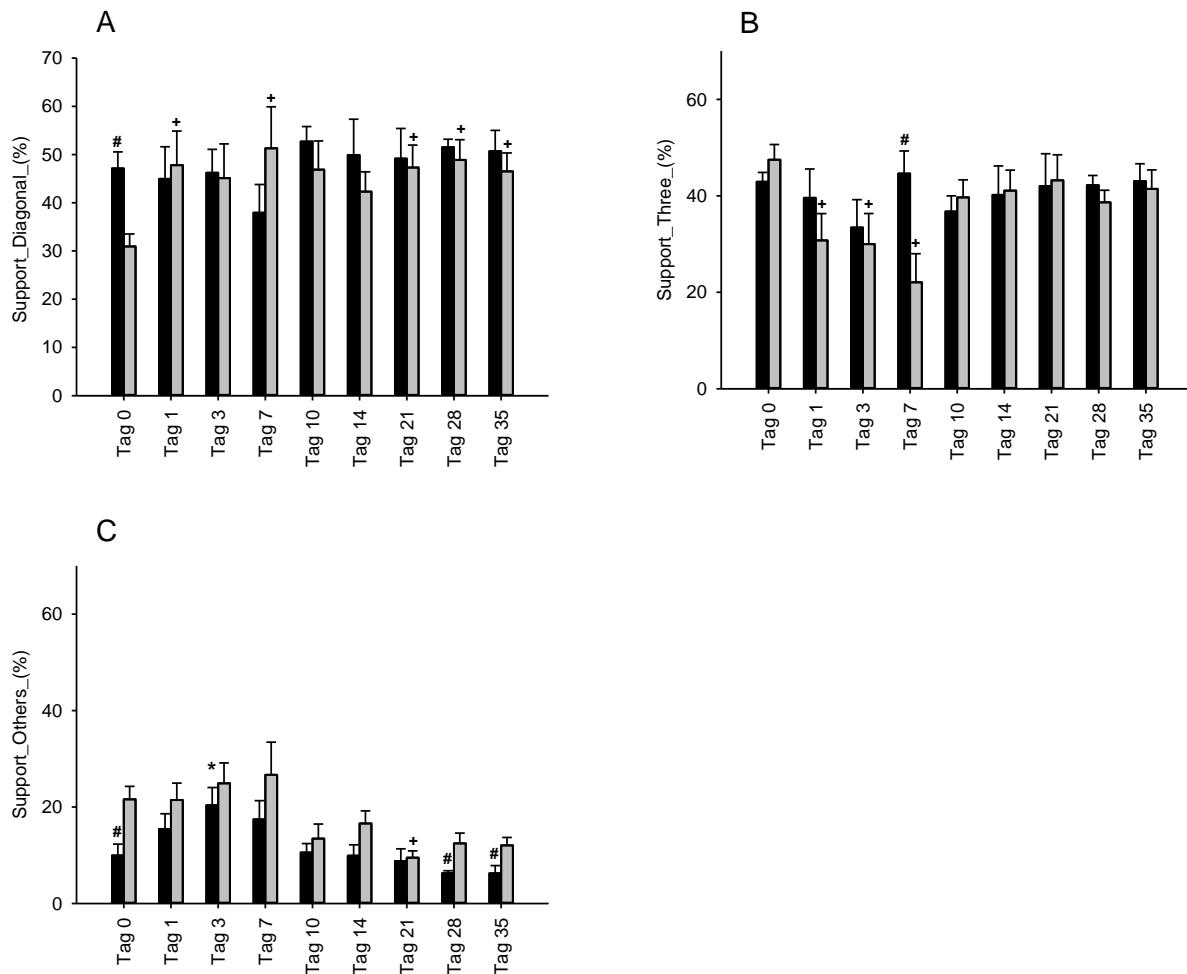


Abbildung 41: Support (%) Diagonal (A), Three (B) und Others (C). Die Gangart wurde an den 3 Monate alten Versuchstieren (schwarzer Balken) und 16 Monate alten Versuchstieren (grauer Balken) an den Tagen 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35 gemessen. Dargestellt ist der Mittelwert \pm Standardfehler # $p < 0.05$ vs. Schraube alt, + $p < 0.05$ vs. Schraube alt Tag 0, * $p < 0.05$ vs. Schraube jung Tag 0

An den Tagen 0, 28 und 35 wurde die „anderen“ Gangarten (Others) von den 3 Monate alten Mäusen signifikant seltener genutzt als von den 16 Monate alten Mäusen. Die jungen Tiere verwendeten an Tag 0 die Gangart „Trab“ und an Tag 7 die Gangart „Schritt“ signifikant häufiger als die alten Tiere. Die jungen Tiere wiesen an Tag 3 einen signifikant größeren Anteil der anderen Gangarten (Support Others) als an Tag 0 auf. Die alten Tiere zeigten an den

ersten 7 postoperativen Tagen einen signifikant kürzeren Anteil der Gangart „Three“, an den Tagen 1, 7, 21, 28 und 35 signifikant häufiger die Gangart „Trab“ (Support Diagonal) und an Tag 21 signifikant seltener die anderen Gangarten (Support Others) als an Tag 0.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methoden

Bis heute sind die Prozesse während der Knochenheilung und Regeneration nicht vollständig untersucht. Vor allem die hochkomplexen bzw. molekularen Mechanismen sind von besonderem Interesse.

Untersuchungen im Tiermodell eignen sich aufgrund des entschlüsselten Genoms hervorragend, um diese Prozesse und Zusammenhänge zu untersuchen.

Das CatWalk- System wurde bisher noch nicht im Rahmen der Frakturheilung verwendet. Ganganalysen wurden vor allem bei neurologischen Erkrankungen oder bei Schmerzstudien verwendet. In dieser Studie wurde analysiert, ob sich das Laufbild von Mäusen in Abhängigkeit des Alters und nach osteosynthetischer Versorgung einer Femurfraktur bei jungen und alten Mäusen signifikant verändert.

Prinzipiell unterscheidet man Großtiermodelle und Kleintiermodelle. Zu den Großtiermodellen gehören Katzen, Schafe, Schweine und Hunde. Zu den Kleintieren gehören Kaninchen, Ratten oder Mäuse. Bei der Wahl des Tiermodells müssen verschiedene Vor- und Nachteile berücksichtigt werden. Im Gegensatz zu den Kleintieren haben die Großtiere anatomisch mehr Ähnlichkeit zum Menschen, wodurch eine operative Versorgung durch das vorhandene Implantatportfolio einfacher zu realisieren ist.

Die Anschaffungskosten für Kleintiere sind kostengünstiger. Des Weiteren sind die Unterbringung sowie die Versorgung und Betreuung einfacher. Dies ermöglicht das Untersuchen größerer Studiengruppen. Außerdem ist das Genom vollständig entschlüsselt, was molekulargenetische Untersuchungen der Versuchstiere möglich macht [50,51].

Für die Analyse des Ganges verwendeten wir in dieser Studie das Mausmodell. Der Stoffwechsel bei Mäusen ist durchaus mit dem des Menschen vergleichbar [50]. Eine direkte Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen muss jedoch kritisch diskutiert werden, da die Maus, anstelle des Haverssystem, sogenannte Resorptionshöhlen besitzt, welche sich fraktur nah bilden und während des Remodellings mit Osteoblasten aufgefüllt werden [49].

Zur Untersuchung der Frakturheilung bei Mäusen existieren verschiedene Frakturmodelle, welche sich in der Art und Weise der Frakturierung, der Lokalisation und der Versorgung, unterscheiden. Für die Untersuchung des Gangbildes eignet sich das Femur der Maus [53]. Es gibt auch Studien, die die Tibia verwenden [52]. Die Fibula kann jedoch zusätzlich frakturieren und die Heilung beeinflussen [71]. Außerdem spricht für die Nutzung des Femurknochens die Muskel- und Weichteildeckung, was das Risiko eines Infektes vermindert.

Zur osteosynthetischen Stabilisierung wurde eine intramedulläre Zugschraube (Mouse Screw) verwendet, die von Holstein et al. 2009 [54] erstmals als geschlossenes Frakturmodell des Femurs etabliert wurde. [55, 56, 57, 58, 59]. Durch das proximale Gewinde und den distalen Konus übt die Mousescrew eine Kompression auf den Frakturspalt aus, was eine axiale Stabilität, wie auch eine Rotationsstabilität gewährleistet [54, 60].

Früher wurden einfache Pin-Osteosynthesen verwendet. Diese bieten jedoch keine ausreichende Stabilität [53, 61, 62, 63].

Bei der Mousescrew handelt es sich um ein minimalinvasives Verfahren. Nach Einbringen eines Führungsdrahtes wurde mittels einer stumpfen Guillotine (Dreipunkt- Biegevorrichtung) eine standardisierte, geschlossene Fraktur erzeugt. Im Anschluss wurde die Fraktur über den Führungsdraht mit der intramedullären Zugschraube versorgt.

Offene Frakturmodelle sind invasiver. Aufgrund des lateralen Zuganges wird ein größerer Weichteilschaden erzeugt, welcher sich negativ auf die Frakturheilung auswirken kann. Hierbei erfolgt die Osteotomie des Femurs unter Sicht am lateralen Femur [64,65,66].

Zu den offenen Frakturmodellen gehören der Fixateur externe und die Plattenosteosynthese. Beide Implantate weisen eine gute Rotationsstabilität auf. Jedoch kann sich bei dem Fixateur das hohe Gewicht und die externe Anlage des Fixateurs negativ auf das physiologische Laufbild der Maus auswirken.

Die Analyse des Laufbildes während der Knochenheilung erfolgte bis zur fünften postoperativen Woche. Untersucht wurden die Tage 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 und 35. Die Auswahl dieses Zeitraumes begründet sich zum einen dadurch, dass die Frakturheilung in der Maus deutlich schneller abläuft als beim Menschen [67]. Zum anderen unterteilt sich die Frakturheilung in eine frühe und eine späte Phase. Manigrasso und O'Connor beschrieben, dass bereits nach 14 Tagen die maximale Kallusbildung im Mausmodell erreicht wird. Nach vier Wochen zeigt sich eine knöcherne Durchbauung des Kallus und nach sechs Wochen bereits ein Remodeling [53]. Der Zeitraum über fünf Wochen ermöglicht so die Beurteilung des Laufbildes in der frühen wie auch späten Phase der Frakturheilung.

Alle Versuchstiere wurden nach intraperitonealer Narkose mit einer Operationsdauer von ca. 30 Minuten operiert. Postoperativ erhielten die Tiere für 7 Tage Tramadol zur postoperativen Analgesie über das Trinkwasser. Im postoperativen Verlauf zeigten sich bei den Versuchstieren keine Wundheilungsstörungen oder Infektionen.

Zur Analyse des Gangbilds verwendeten wir in dieser Studie das CatWalk-System. Dieses System erlaubt eine digitale Aufzeichnung der Läufe. Durch die Möglichkeit der direkten Auswertung mit dem Software-System eignet sich dieses System optimal für die von uns

durchgeführten Läufe über eine Zeitspanne von mehreren Tagen. Weiterhin kann über das CatWalk-System ein breites Spektrum an Parametern bestimmt werden. Darüber hinaus ermöglicht der CatWalk XT ein freies, ungezwungenes Laufen der Tiere und somit die Möglichkeit das natürliche Gangbild zu untersuchen. Dies minimiert das Stresslevel der Versuchstiere [23]. Das CatWalk System kann zur Untersuchung verschiedenster Erkrankungen herangezogen werden. So wird es beispielsweise zur Untersuchung von Parkinson und anderen neurologischen Erkrankungen genutzt.

Mittlerweile existieren verschiedene Techniken zur digitalen Analyse des Gangbildes. So z.B. das DigiGait (Mouse Specifics, Inc). Bei diesem Modell wird keine Glasplatte, sondern ein Laufband verwendet. Zur Aufzeichnung der Läufe ist eine Kamera unter dem Laufband positioniert. Mit diesem System können ebenfalls zahlreiche Parameter bestimmt werden. Vincelette et al., 2007 untersuchten z.B. mit diesem Modell das Gangbild von Mäusen mit Arthritis [68].

Im Vergleich zum CatWalk existieren auch Verfahren, welche eine vorgegebene Geschwindigkeit zur Untersuchung des Ganges nutzen. In der Studie von Herbin et. al. erfolgte die Analyse des Gangbildes mittels Laufrads, bei dem die Geschwindigkeit des Rads, über ein Tachometer, in 10 cm/s Schritten von 10cm/s bis auf 100cm/s erhöht wurde. Hier wurden ähnliche Parameter zur Untersuchung herangezogen, jedoch kann die individuelle Schrittgeschwindigkeit nicht gemessen werden [45].

Ein weiteres Modell ist das GaitScan, dieses Modell ist vergleichbar mit dem CatWalk, welcher in unserer Studie verwendet wurde. Zu berücksichtigen ist, dass trotz des vergleichbaren Aufbaus unterschiedliche Ergebnisse gemessen werden. Deshalb können die Studien nicht direkt miteinander verglichen werden [48].

Eine weitere Messung des Gangbildes kann mit der Digital Video Radiography – Methode (Axiom Artis, Siemens, Erlangen, Germany) durchgeführt werden. Hierbei wird das Gangbild anhand sequenzieller Bildanalysen durchgeführt und mit der Osirix Imaging Software (Osirix Foundation, Geneva, Switzerland) ausgewertet [43]. Die Nachteile dieser Methode im Vergleich zu der CatWalk Methode sind, dass das Femur mit Pins markiert werden muss, da die Videoradiography das Femur ansonsten nicht darstellen kann. Die operative Intervention kann jedoch das Gangbild selbst beeinflussen.

Unsere Arbeitsgruppe (Histing et al., 2010) untersuchte das Gangbild ebenfalls nach Einbringung von Pins im Bereich der Tibia und des Femurs. Zur Analyse wurde ein Laufrad verwendet. Die Mäuse wurden beim Laufen gefilmt und die Filmsequenzen wurden mit einem Softwareprogramm ausgewertet [43]. Nachteil dieses Modells gegenüber dem CatWalk-Modell ist, dass deutlich weniger Parameter bestimmt werden können. Zudem ist das Laufen

in einem Rad nicht mit einer geraden Ebene vergleichbar. Wie in dem bereits aufgeführten Modell ist der Gang ebenfalls durch die operative Intervention zumindest zu Anfang durch die postoperativen Schmerzen beeinträchtigt. Vorteil dieser Analysemethode ist, dass die Beweglichkeit des Kniegelenkes durch den tibiofemorale Winkel beurteilt werden kann.

Im Rahmen unserer Versuchsreihe mit der CatWalk Methode zeigte sich, dass das freie und ungeführte Laufen nicht nur Vorteile bietet, sondern auch Nachteile. Der Gang des Versuchstieres wird damit vom eigenen Verhalten beeinflusst. In unserer Studie zeigten sich die Tiere teilweise durch externe Faktoren abgelenkt. Dies äußerte sich dadurch, dass die Tiere beim Betreten des Gangs an der Eintrittsstelle für mehrere Minuten verharren. Andere zeigten stressbedingt eine Miktions- und Defäkation im CatWalk-Gang, wodurch es zu Verunreinigungen kam. Weiter kam es bei einigen Versuchstieren zu einem suchenden Verhalten, in dem sie die Wände des Gangs beschnupperten und sich mehrfach auf die Hinterpfoten stellten oder die Laufrichtung änderten und zum Eingang des CatWalks zurückliefen. Diese „Runs“ wurden entsprechend bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Dieses Verhalten zeigten die Tiere aber nicht nur zu Beginn, sondern es kam im Verlauf der Studie immer wieder zu einem solchen Verhalten. Somit kann ein vorheriges Training diese Fehlerquelle nicht komplett vermeiden. Anhand des Laufverhaltens bzw. Aktivitätslevel können so ggf. Tiere erkannt werden, die sich nicht für eine solche Laufstudie eignen [24]. Weiter ist zu berücksichtigen, dass das Durchführen der Versuche eher in den Abendstunden vorgenommen werden sollte, da dies den zirkadianen Rhythmus berücksichtigt.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Im ersten Teil der Studie wurde die Ganganalyse bei Mäusen unterschiedlichen Alters untersucht. Es wurden junge Mäuse im Alter von 3 Monaten mit Mäusen mittleren Alters (10 Monate) und alten Mäusen (16 Monate) verglichen.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigte, dass die Laufdauer, bei den Mäusen mittleren Alters am niedrigsten war; diese also die Strecke am schnellsten zurücklegten. Die alten Mäuse brauchten am längsten. Ebenso zeigten alte Mäuse die längste Standzeit, einen signifikant längeren Schwung der einzelnen Pfoten und einen längeren Schrittzklus im Vergleich zu den jungen Versuchstieren. Der Auslastungsgrad und die Schrittlänge zeigten sich in allen Gruppen identisch. Der Pfotenabstand der Versuchstiere zeigte beim Vergleich der Vorderpfoten keine Unterschiede, jedoch zeigte sich bei den Hinterpfoten ein signifikanter Unterschied, da der Abstand bei den älteren Tieren größer war.

In dem zweiten Teil der Studie wurden Mäuse untersucht, bei denen das rechte Bein frakturiert und mit einer intramedullären Schraubenosteosynthese versorgt wurde. Die Messung mittels CatWalk wurde jeweils präoperativ sowie an den Tagen 1,3,7,10,14,21,28 und 35 durchgeführt. Verglichen wurden Versuchstiere im Alter von 3 Monaten (junge Tiere) und 16 Monaten (alte Tiere).

Es zeigte sich eine kürzere Laufdauer sowie Stand- und Schwungphase der jungen Tiere. Der Schrittzklus zeigte sich damit auch bei den jungen Versuchstieren signifikant kürzer. Die Schrittlänge zeigte sich bei den jungen Tieren im Vergleich zu den älteren Tieren deutlich länger. In der Gruppe der älteren Versuchstiere konnte gezeigt werden, dass die Schrittlänge über die Versuchsdauer im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert deutlich abgenommen hat und im Gegenteil zu den jungen Tieren der Ausgangswert nicht wieder erreicht werden konnte.

Der Abstand der Hinterpfoten zeigte sich nach Osteosynthese in beiden Gruppen bis Tag 35 verbreitert. Die jungen Versuchstiere zeigten eine größere Kontaktfläche und eine höhere Intensität der nichtoperierten sowie der operierten Pfoten im Vergleich zur älteren Versuchsgruppe. Wir konnten zeigen, dass jüngere Tiere im Vergleich zu den älteren Tieren schneller ein physiologisches Gangbild aufweisen.

Andere Studien analysierten das Gangbild von Mäusen mit dem CatWalk in verschiedenen Altersklassen mit vergleichbaren Ergebnissen. So konnte in der Studie von Mock et. al. bei Mäusen der Altersgruppen 4, 10 und 17 Monaten gezeigt werden, dass die Ganggeschwindigkeit mit zunehmendem Alter abnimmt. Identisch war auch, dass der Schrittzklus und der Schwung im Alter abgenommen haben. Zusätzlich zeigten auch die älteren Tiere hier einen breiteren Pfotenabstand der Hinterbeine [44].

Da das Alter somit einen deutlichen Einfluss auf das Gangbild hat, sollte das Alter der Studientiere bei der Beurteilung von Ganganalysen vergleichbar sein.

In einer Studie von Pitzer et. al. wurde bereits beschrieben, dass erwachsene Mäuse für Ganganalysestudien besser geeignet seien, da diese eine größere intrinsische Motivation für die Durchführung der Untersuchung aufweisen [69]. Dies spiegelt sich ebenfalls in den Ergebnissen unserer Analysen zwischen den verschiedenen Altersgruppen wider.

In der Studie von Pitzer et al. wurden verschiedene Mäusestämme unterschiedlichen Alters und Geschlechts mit dem CatWalk untersucht. Insgesamt wurden drei komplette Runs ausgewertet. Die Ergebnisse konnten zeigen, dass sich die Mausstämme in zahlreichen Parametern deutlich unterscheiden. Zudem konnte gezeigt werden, dass die meisten Parameter von der Laufgeschwindigkeit abhängen.

Die meisten Ganganalysestudien werden bei neurologischen Erkrankungen, bei Gelenkentzündungen oder Studien zur Untersuchung von Schmerzen durchgeführt. Walter et al. (2020) ermittelten die Auswirkungen eines Schädelhirntraumas auf das Gangbild bei Mäusen. Untersucht wurden junge, 6-8 Wochen alte C57BL/6 Mäuse. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass durch das CatWalk System minimale Veränderungen detektiert werden konnten, die klinisch nicht nachweisbar waren. Das Gangbild war vor allem in den ersten Tagen beeinflusst [42]. In unserer Studie konnten wir ebenfalls feststellen, dass z.B. die Laufdauer vor allem bei den alten Mäusen während der Frakturheilung bis zum Tag 35 signifikant abnahm.

Das CatWalk-System wird auch oftmals zur Analyse des Gangbildes bei Arthritis angewendet. So untersuchten Parvathy et al. in ihrer Studie die statischen und dynamischen Gangparameter bei C57BL/6- Mäusen, mit einer induzierter Monoarthritis. Den Versuchstieren wurde eine Lösung „Freund´s-Adjuvans“ durch die Achillessehne intraartikulär in das Sprunggelenk der rechten Hinterpfote injiziert um somit die Monoarthritis induziert. Anschließend kontrollierten sie das Gangbild der Mäuse über einen Zeitraum von 7 Tagen. Sie beobachteten eine Abnahme, des auf die Pfote ausgeübten Drucks an den Tagen 1 bis 3, sowie eine Abnahme des Pfoten-Druck-Verhältnisses RH/LH in den ersten 6 postoperativen Tagen verglichen mit dem Ausgangswert. Weiter beobachteten sie eine Abnahme des Pfotenabdrucks (Print Area) und der Standdauer (Stand) in den ersten 4 postoperativen Tagen an der operierten Pfote, sowie bei beiden Parametern eine Abnahme des Verhältnisses der RH zur LH in den ersten 5 postoperativen Tagen. Eine verlängerte Schwungphase war an den Tagen 1 und 3 zu beobachten. Ebenso zeigte sich eine Verhältnisverlängerung der rechten Hinterpfote zur linken Hinterpfote an Tag 3. Der Arbeitszyklus (Duty Cycle) nahm sowohl an der operierten Pfote als auch im Verhältnis der RH zur LH in den ersten 5 postoperativen Tagen signifikant zum Ausgangswerte ab. Eine Veränderung der Schrittlänge beobachteten sie nicht. Die Studiengruppe von Paravathy et al. zeigte, dass sich die Arthritis sowohl auf die Belastung der Pfoten als auch auf das zeitliche Gangbild auswirkt [14]. Die von ihnen gemachten Beobachtungen sind mit unseren Ergebnissen vergleichbar, jedoch ist hierbei zu beachten, dass Paravathy et al. das Laufbild über einen kürzeren Zeitraum (7 Tage) als unserer Arbeitsgruppe (35 Tage) analysierte. Des Weiteren handelte es sich bei ihnen um ein Arthritismodell, wohingegen sich unsere Studie dem Frakturmodell widmete. Dies lässt vermuten, dass sich die Arthritis und die osteosynthetisch versorgte Femurfraktur ähnlich auf das Laufbild auswirken. Als mögliche Ursache wäre hier der Schmerz zu nennen.

So zeigte die Arbeitsgruppe von Paravathy et al. im zweiten Teil ihrer Studie, dass sich das Gangbild bei monoarthritischen Mäusen, welche 48 Stunden nach der Operation mit Indomethacin behandelt wurden, signifikant verbessert. Hierfür untersuchten sie das Gangbild

3 Stunden nach Verabreichung von Indomethacin. Sie konnten zeigen, dass 2 Stunden nach Verabreichung des Medikaments die Wirkung ihren Höhepunkt erreichte. So kam es zu einer Verbesserung des ausgeübten Drucks auf die Pfote, des Pfotenabdrucks, der Standphase, der Schwungphase, mit Annäherung der Parameter an den Ausgangswert [14]. Dies legt ebenfalls die Vermutung nahe, dass eine mögliche Ursache für die von uns beobachteten Gangveränderungen, auch durch die postoperativen Schmerzen bedingt sind.

Schmerzen können äußerst strapazierend für Patienten sein. Dies kann zur Folge haben, dass es zu einem Vermeidungsverhalten kommt, welches den Alltag des Patienten maßgeblich einschränkt. Pitzer et al. untersuchten in ihrer Studie das Gangbild männlicher C57BL/6N-Mäusen mit dem CatWalk XT bei chronischem, neuropathischem Schmerz über einen Zeitraum von 84 Tagen. Zur Generierung des neuropathischen Schmerzes wurden den Versuchstieren im Alter von 10 Wochen die beiden Nerven, N. tibialis und N. peroneus communis des N. ischiadicus unter Schonung des N. suralis durchtrennt (SNI-Modell). Die Arbeitsgruppe zeigte, dass es postoperativ unmittelbar zu einer dauerhaften, signifikanten Abnahme der Standphase, des Auslastungsgrades, des Pfotenabdrucks und der maximalen Kontaktintensität der operierten Pfote kam. Weiter beobachteten sie in den ersten zwei postoperativen Wochen eine signifikante Zunahme der Schwungphase. Ab der zweiten postoperativen Woche kam es zu einer kontinuierlichen Abnahme der Schrittlänge [46]. Die von Pitzer et al. beschriebenen Ergebnisse spiegeln sich auch in unserer Studie wider. So beobachteten wir ebenfalls die beschriebenen Veränderungen von Standdauer, des Auslastungsgrades, der Intensität und der Schwungphase. Zu erwähnen ist allerdings, dass sich die Ergebnisse in unserer Studie in den ersten 14 Tagen zeigten. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass die von Pitzer et al. gemachten Veränderungen im Gangbild, einem chronischen Schmerz zugrunde liegen.

Ähnliche Beobachtungen machten Shepherd et al. in ihrer Studie. Sie untersuchten an 8-14 Wochen alten C57BL/6J-Mäusen entzündliche und neuropathische Schmerzen anhand des freien Ganges mit dem CatWalk-XT-System. Um den neuropathischen Schmerz zu induzieren, durchtrennten sie, nach vorheriger Ligatur, die gemeinsamen peronealen und tibialen Äste. Dies geschah unter Erhalt des N. suralis. Der anderen Versuchsgruppe wurde intraplantar „Complete Freund's Adjuvant“ injiziert, um einen entzündlichen Schmerz zu induzieren. Zur Analyse der pharmakologischen Wirksamkeit des Analgetikums wurde das Gangbild der o.g. Versuchsgruppen vorerst ohne Analgetika untersucht, um anschließend mögliche Veränderungen durch die Gabe des Analgetikums zu detektieren. Hierfür erhielt die Versuchsgruppe eine Stunde vor der Ganganalyse an den Tagen 8 und 10 Buprenorphinhydrochlorid und an den Tagen 11 und 20 Gabapentin (intraperitoneal injiziert).

Der Gruppe der intraplantar injizierten Complete Freund's Adjuvants wurde hierfür eine Stunde vor der Analyse an den Tagen 2, 4 und 5 Carprofen intraperitoneal injiziert [47].

Shepherd et al. zeigten somit, dass die Nervenverletzung keinen Einfluss auf die Schrittlänge, die Laufdauer oder den Schrittzklus haben. Jedoch waren ab dem 5. postoperativen Tag, unabhängig von der Analgesie, permanente Veränderung mehrerer Gangparameter erkennbar. Es entwickelte sich eine Abnahme der Standdauer, der maximalen Kontaktfläche, des Pfotenabdrucks, der maximalen und mittleren Pfotenintensität sowie eine Zunahme der Schwungdauer. Bei der Analyse des Gangbildes bei entzündlichem Schmerz konnten temporäre Veränderungen aufgezeigt werden. So zeigte sich auch hier eine Abnahme der Standphase, der maximalen Kontaktfläche, der maximalen und mittleren Intensität sowie eine Zunahme der Dauer der Schwungphase. Die meisten dieser Veränderungen waren in den ersten drei postoperativen Tagen zu beobachten. Interessant war hierbei, dass sich die Verabreichung von Carprofen nicht nennenswert auf die bereits genannten Veränderungen auswirkte. Shepherd et al. kamen zu dem Entschluss, dass die zu beobachten Gangveränderungen nicht auf eine schmerzbedingte Anpassung hinweisen müssen [47].

Die von Shepherd et al. beobachteten Gangveränderungen spiegelten sich in unserer Studie ebenfalls wider. So zeigten die Versuchstiere nach osteosynthetisch versorgter Fraktur ebenfalls keine Veränderungen im Schrittzklus oder der Schrittlänge, jedoch eine Abnahme der Standphase, der maximalen Kontaktfläche, der mittleren Intensität bei maximalem Kontakt der Pfote sowie eine verlängerte Schwungphase.

Kähkönen et al. untersuchten in ihrer Studie, inwiefern sich Knochenmetastasen auf das Gangbild auswirken. Es stellte sich dabei heraus, dass die Gabe von Dovitinib-Dimilchsäure das Tumorwachstum und die tumorinduzierten Knochenveränderungen bei Brustkrebsmetastasen reduzieren. Hierfür injizierten sie fünf bis sechs Wochen alten, immungeschwächten Balb/c-Mäusen eine Suspension mit menschlichen MFM223-Brustkrebszellen intratibial in das Knochenmark. Die Versuchstiere wurden nach vier Wochen in zwei Gruppen aufgeteilt, während die eine Versuchsgruppe über 5 Wochen Dovitinib (ein Fribroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor-Inhibitor) über eine Schlundsonde erhielten, bekam die Kontrollgruppe äquivalent steriles Wasser. Brustkrebszellen, welche in Knochen metastasieren, induzieren über den aktivierten Fribroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor den Knochenumbau und das Tumorwachstum, wodurch es zu osteolytischen oder gemischten Läsionen des Knochens kommt. Die Studiengruppe beobachtete radiologisch, dass bei den mit Dovitinib behandelten Versuchstieren die tumorinduzierten Knochenläsionen kleiner waren und der Knochenmineralgehalt sowie die kortikale Knochenmineraldichte höher war als bei der Kontrollgruppe. Dies lässt darauf schließen, dass die Knochenmasse bei der mit Dovitinib behandelten Versuchsgruppe besser erhalten blieb. In der von ihnen durchgeführten

Gangbildanalyse mit dem CatWalk-System zur Quantifizierung des tumorinduzierten Knochenschmerzes, spiegelte sich diese Annahme klar wider [70].

In der Studie von Kähkönen et al. konnte gezeigt werden, dass sich die krebsinduzierten Knochenänderungen und der Knochenschmerz auf das Gangbild auswirken. Sie beobachteten bei den mit Dovitinib behandelten Mäusen im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine schnellere Geschwindigkeit, kürzere Standphasen, sowie einen verkürzten Schrittzklus, bei verlängerter Schrittlänge und Schwunggeschwindigkeit. Weiter zeigte die Versuchsgruppe sowohl einen größeren Pfotenabdruck als auch eine größere maximale Kontaktfläche an der Hinterpfote des tumortragenden Beines [70]. Diese Ergebnisse lassen sich hingegen jedoch nur bedingt auf unsere Arbeit übertragen. Es ist zu berücksichtigen, dass die von Kähkönen et al. beobachteten Veränderungen im Gangbild, anders als in unserer Studie, nicht auf eine osteosynthetisch versorgte Femurfraktur, sondern auf krebsinduzierten Knochenveränderungen und den damit verbundenen Knochenschmerz in der tumortragenden Tibia zurückzuführen sind. Die von Kähkönen auf den Knochenschmerz zurückzuführenden Veränderungen, im ausgeübten Druck und dem Schwung der Pfote, ließen sich bei uns ebenfalls beobachten.

Die Durchführung der Studie mit dem Catwalk Modell lieferte reproduzierbare Ergebnisse zur Untersuchung des Gangbildes bei Mäusen unterschiedlicher Altersgruppen, sowie bei Mäusen nach iatrogenen Femurfraktur und Versorgung mittels Schraubenosteosynthese. Somit könnte die Ganganalyse als zusätzliches Tool zur Analyse der Frakturheilung angewandt werden.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Schulte E, Schünke USM (2011). Schuenke, Michael Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem: 182 Tabellen Prometheus. - Stuttgart: Thieme. Auflage: 3., überarbeitete und erweiterte Auflage. Thieme, Stuttgart.
- [2] Lüllmann-Rauch R, Asan E (2019). Taschenlehrbuch Histologie, 6., vollständig überarbeitete Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- [3] Deller T, Welsch U (2010). Lehrbuch Histologie, 3. Auflage. Elsevier, Urban et Fischer, München. Pp 108-120.
- [4] Raschke M, Haas N, Stöckle U (2010). Unfallchirurgie. In: Siewert JR, Brauer RB (eds) Basiswissen Chirurgie. Springer Medizin Verlag, Berlin, Heidelberg. Pp356-419.
- [5] Konrads, Christian & Giebel, Gerfried (2012). Grundlagen der Frakturheilung und Bedeutung für die Osteosynthese. Chirurgische Allgemeine Zeitung. 13. 468-470.
- [6] Rössler H, Pitzen P, Rüter W, Steinhagen J, Rüter W, Lohmann CH (2014). Orthopädie und Unfallchirurgie, 20., überarbeitete und aktualisierte Auflage. Elsevier, Urban & Fischer, München. Kapitel 13.1.4.
- [7] Niethard FU, Pfeil J, Biberthaler P (2017). Duale Reihe Orthopädie und Unfallchirurgie, 8., unveränderte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- [8] Grifka J, Krämer J (2013). Orthopädie Unfallchirurgie, 9. überarbeitete Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- [9] Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL (2003). Osteoclast differentiation and activation. Nature, 423:337–342.
- [10] Siewert JR 1940-, Allgöwer M 1917-, Brauer RB, Stein HJ (2012). Chirurgie mit integriertem Fallquiz mit 159 Tabellen. Springer-Medizin.
- [11] Holstein JH, Garcia P, Histing T, Kristen A, Scheuer C, Menger MD, Pohlemann T (2009). Advances in the Establishment of Defined Mouse Models for the Study of Fracture Healing and Bone Regeneration. Journal of Orthopaedic Trauma, 23:31–38.
- [12] Histing, T., Heerschop, K., Klein, M., Scheuer, C., Stenger, D., Holstein, J. H., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2016). Characterization of the healing process in non-stabilized and stabilized femur fractures in mice. Archives of orthopaedic and trauma surgery, 136:203–211.
- [13] Klein, M., Stieger, A., Stenger, D., Scheuer, C., Holstein, J. H., Pohlemann, T., Menger, M. D., & Histing, T. (2015). Comparison of healing process in open osteotomy model and open

fracture model: Delayed healing of osteotomies after intramedullary screw fixation. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 33, 971–978.

[14] Parvathy, S. S., & Masocha, W. (2013). Gait analysis of C57BL/6 mice with complete Freund's adjuvant-induced arthritis using the CatWalk system. *BMC musculoskeletal disorders*, 14, 14.

[15] Hiltunen, A., Vuorio, E., & Aro, H. T. (1993). A standardized experimental fracture in the mouse tibia. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 11, 305–312.

[16] Garcia, P., Holstein, J. H., Histing, T., Burkhardt, M., Culemann, U., Pizanis, A., Wirbel, R. J., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2008). A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice: impact of stability on fracture healing. *Journal of biomechanics*, 41, 1689–1696.

[17] Histing, T., Garcia, P., Matthys, R., Leidinger, M., Holstein, J. H., Kristen, A., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2010). An internal locking plate to study intramembranous bone healing in a mouse femur fracture model. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, 28, 397–402.

[18] Matthys, R., & Perren, S. M. (2009). Internal fixator for use in the mouse. *Injury*, 40 Suppl 4, 103–S109.

[19] Holstein, J. H., Matthys, R., Histing, T., Becker, S. C., Fiedler, M., Garcia, P., Meier, C., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2009). Development of a stable closed femoral fracture model in mice. *The Journal of surgical research*, 153, 71–75.

[20] Cheung, K. M., Kaluarachi, K., Andrew, G., Lu, W., Chan, D., & Cheah, K. S. (2003). An externally fixed femoral fracture model for mice. *Journal of orthopaedic research*, 21, 685–690.

[21] Histing, T., Holstein, J. H., Garcia, P., Matthys, R., Kristen, A., Claes, L., Menger, M. D., & Pohlemann, T. (2009). Ex vivo analysis of rotational stiffness of different osteosynthesis techniques in mouse femur fracture. *Journal of orthopaedic research*, 27, 1152–1156.

[22] Holstein, J. H., Menger, M. D., Culemann, U., Meier, C., & Pohlemann, T. (2007). Development of a locking femur nail for mice. *Journal of biomechanics*, 40, 215–219.

[23] Holstein, J. H., Menger, M. D., Culemann, U., Meier, C., & Pohlemann, T. (2007). Development of a locking femur nail for mice. *Journal of biomechanics*, 40, 215–219.

[24] Achterkamp D, Zimmerman P (2015). *CatWalk XT Version 10.6 Reference Manual*. Noldus Information Tchnology b.v., Wageningen.

- [25] Van Meeteren, N. L., Eggers, R., Lankhorst, A. J., Gispen, W. H., & Hamers, F. P. (2003). Locomotor recovery after spinal cord contusion injury in rats is improved by spontaneous exercise. *Journal of neurotrauma*, 20, 1029–1037.
- [26] Gensel, J. C., Tovar, C. A., Hamers, F. P., Deibert, R. J., Beattie, M. S., & Bresnahan, J. C. (2006). Behavioral and histological characterization of unilateral cervical spinal cord contusion injury in rats. *Journal of neurotrauma*, 23, 36–54.
- [27] Liu, L., Tian, D., Liu, C., Yu, K., & Bai, J. (2019). Metformin Enhances Functional Recovery of Peripheral Nerve in Rats with Sciatic Nerve Crush Injury. *Medical science monitor*, 25, 10067–10076.
- [28] Ferreira-Gomes, J., Adães, S., Mendonça, M., & Castro-Lopes, J. M. (2012). Analgesic effects of lidocaine, morphine and diclofenac on movement-induced nociception, as assessed by the Knee-Bend and CatWalk tests in a rat model of osteoarthritis. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 101, 617–624.
- [29] Wang, X. H., Lu, G., Hu, X., Tsang, K. S., Kwong, W. H., Wu, F. X., Meng, H. W., Jiang, S., Liu, S. W., Ng, H. K., & Poon, W. S. (2012). Quantitative assessment of gait and neurochemical correlation in a classical murine model of Parkinson's disease. *BMC neuroscience*, 13, 142.
- [30] Oestern HJ (2008). Traumatologie. In: Henne-Bruns D, Dürig M, Kremer B (eds) *Duale Reihe Chirurgie*. Thieme, Stuttgart. pp 731–905.
- [31] Speckmann, E.-J., Hescheler, J. & Köhling, R. (2019). *Physiologie. Das Lehrbuch* (7. Auflage). Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München.
- [32] Abada, Y. S., Nguyen, H. P., Schreiber, R., & Ellenbroek, B. (2013). Assessment of motor function, sensory motor gating and recognition memory in a novel BACHD transgenic rat model for huntington disease. *PloS one*, 8(7), e68584.
- [33] Zhou, M., Zhang, W., Chang, J., Wang, J., Zheng, W., Yang, Y., Wen, P., Li, M., & Xiao, H. (2015). Gait analysis in three different 6-hydroxydopamine rat models of Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 584, 184–189.
- [34] Ferreira-Gomes, J., Adães, S., & Castro-Lopes, J. M. (2008). Assessment of movement-evoked pain in osteoarthritis by the knee-bend and CatWalk tests: a clinically relevant study. *The journal of pain*, 9, 945–954.
- [35] Angeby-Möller, K., Berge, O. G., & Hamers, F. P. (2008). Using the CatWalk method to assess weight-bearing and pain behaviour in walking rats with ankle joint monoarthritis induced

by carrageenan: effects of morphine and rofecoxib. *Journal of neuroscience methods*, 174, 1–9.

[36] Rüter A, Trentz O, Wagner M (2003). *Unfallchirurgie*. Elsevier, Urban & Fischer, München.

[37] Raschke M, Haas N, Stöckle U (2010). *Unfallchirurgie*. In: Siewert JR, Brauer RB (eds) *Basiswissen Chirurgie*. Springer Medizin Verlag, Berlin, Heidelberg. Pp356-419.

[38] Ferland, C. E., Laverty, S., Beaudry, F., & Vachon, P. (2011). Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 97, 603–610.

[39] Hruska, R. E., Kennedy, S., & Silbergeld, E. K. (1979). Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life sciences*, 25, 171–179.

[40] de Medinaceli, L., Freed, W. J., & Wyatt, R. J. (1982). An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Experimental neurology*, 77, 634–643.

[41] Parfitt A. M. (1988). Bone remodeling. *Henry Ford Hospital medical journal*, 36, 143–144.

[42] Walter, J., Kovalenko, O., Younsi, A., Grutza, M., Unterberg, A., & Zweckberger, K. (2020). The CatWalk XT® is a valid tool for objective assessment of motor function in the acute phase after controlled cortical impact in mice. *Behavioural brain research*, 392, 112680.

[43] Histing, T., Kristen, A., Roth, C., Holstein, J. H., Garcia, P., Matthys, R., Menger, M. D., & Pohlemann, T. (2010). In vivo gait analysis in a mouse femur fracture model. *Journal of biomechanics*, 43, 3240–3243.

[44] Mock, J. T., Knight, S. G., Vann, P. H., Wong, J. M., Davis, D. L., Forster, M. J., & Sumien, N. (2018). Gait Analyses in Mice: Effects of Age and Glutathione Deficiency. *Aging and disease*, 9, 634–646.

[45] Herbin, M., Hackert, R., Gasc, J. P., & Renous, S. (2007). Gait parameters of treadmill versus overground locomotion in mouse. *Behavioural brain research*, 181, 173–179.

[46] Pitzer, C., Kuner, R., & Tappe-Theodor, A. (2016). EXPRESS: Voluntary and evoked behavioral correlates in neuropathic pain states under different housing conditions. *Molecular pain*, 12, 1744806916656635.

[47] Shepherd, A. J., & Mohapatra, D. P. (2018). Pharmacological validation of voluntary gait and mechanical sensitivity assays associated with inflammatory and neuropathic pain in mice. *Neuropharmacology*, 130, 18–29.

- [48] Lakes, E. H., & Allen, K. D. (2016). Gait analysis methods for rodent models of arthritic disorders: reviews and recommendations. *Osteoarthritis and cartilage*, 24, 1837–1849.
- [49] Nunamaker D. M. (1998). Experimental models of fracture repair. *Clinical orthopaedics and related research*, (355 Suppl), 56–S65.
- [50] Histing, T., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Matthys, R., Nuetzi, R., Steck, R., Laschke, M. W., Wehner, T., Bindl, R., Recknagel, S., Stuermer, E. K., Vollmar, B., Wildemann, B., Lienau, J., Willie, B., Peters, A., Ignatius, A., Pohlemann, T., Claes, L., Menger, M. D. (2011). Small animal bone healing models: standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting. *Bone*, 49, 591–599.
- [51] Rossant, J., & Nagy, A. (1995). Genome engineering: the new mouse genetics. *Nature medicine*, 1, 592–594.
- [52] Hiltunen, A., Vuorio, E., & Aro, H. T. (1993). A standardized experimental fracture in the mouse tibia. *Journal of orthopaedic research*, 11, 305–312.
- [53] Manigrasso, M. B., & O'Connor, J. P. (2004). Characterization of a closed femur fracture model in mice. *Journal of orthopaedic trauma*, 18, 687–695.
- [54] Holstein, J. H., Matthys, R., Histing, T., Becker, S. C., Fiedler, M., Garcia, P., Meier, C., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2009). Development of a stable closed femoral fracture model in mice. *The Journal of surgical research*, 153, 71–75.
- [55] Histing, T., Anton, C., Scheuer, C., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Matthys, R., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2012). Melatonin impairs fracture healing by suppressing RANKL-mediated bone remodeling. *The Journal of surgical research*, 173, 83–90.
- [56] Histing, T., Marciniak, K., Scheuer, C., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Matthys, R., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2011). Sildenafil accelerates fracture healing in mice. *Journal of orthopaedic research*, 29, 867–873.
- [57] Histing, T., Stenger, D., Kuntz, S., Scheuer, C., Tami, A., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2012). Increased osteoblast and osteoclast activity in female senescence-accelerated, osteoporotic SAMP6 mice during fracture healing. *The Journal of surgical research*, 175, 271–277.
- [58] Histing, T., Kuntz, S., Stenger, D., Scheuer, C., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2013). Delayed fracture healing in aged senescence-accelerated P6 mice. *Journal of investigative surgery*, 26, 30–35.

- [59] Orth, M., Baudach, J., Scheuer, C., Osche, D., Veith, N. T., Braun, B. J., Rollmann, M. F., Herath, S. C., Pohlemann, T., Menger, M. D., & Histing, T. (2019). Erythropoietin does not improve fracture healing in aged mice. *Experimental gerontology*, 122, 1–9.
- [60] Carter, D. R., Beaupré, G. S., Giori, N. J., & Helms, J. A. (1998). Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clinical orthopaedics and related research*, (355 Suppl), 41–55.
- [61] Holstein, J. H., Menger, M. D., Culemann, U., Meier, C., & Pohlemann, T. (2007). Development of a locking femur nail for mice. *Journal of biomechanics*, 40, 215–219.
- [62] Claes, L. E., Heigele, C. A., Neidlinger-Wilke, C., Kaspar, D., Seidl, W., Margevicius, K. J., & Augat, P. (1998). Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clinical orthopaedics and related research*, 132–147.
- [63] Histing, T., Holstein, J. H., Garcia, P., Matthys, R., Kristen, A., Claes, L., Menger, M. D., & Pohlemann, T. (2009). Ex vivo analysis of rotational stiffness of different osteosynthesis techniques in mouse femur fracture. *Journal of orthopaedic research*, 27, 1152–1156.
- [64] Cheung, K. M., Kaluarachi, K., Andrew, G., Lu, W., Chan, D., & Cheah, K. S. (2003). An externally fixed femoral fracture model for mice. *Journal of orthopaedic research*, 2, 685–690.
- [65] Garcia, P., Holstein, J. H., Histing, T., Burkhardt, M., Culemann, U., Pizanis, A., Wirbel, R. J., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2008). A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice: impact of stability on fracture healing. *Journal of biomechanics*, 41, 1689–1696.
- [66] Histing, T., Klein, M., Stieger, A., Stenger, D., Steck, R., Matthys, R., Holstein, J. H., Garcia, P., Pohlemann, T., & Menger, M. D. (2012). A new model to analyze metaphyseal bone healing in mice. *The Journal of surgical research*, 17, 715–721.
- [67] Bourque, W. T., Gross, M., & Hall, B. K. (1992). A reproducible method for producing and quantifying the stages of fracture repair. *Laboratory animal science*, 42, 369–374.
- [68] Vincelette, J., Xu, Y., Zhang, L. N., Schaefer, C. J., Vergona, R., Sullivan, M. E., Hampton, T. G., & Wang, Y. X. (2007). Gait analysis in a murine model of collagen-induced arthritis. *Arthritis research & therapy*, 9, R123.
- [69] Pitzer, C., Kurpiers, B., & Eltokhi, A. (2021). Gait performance of adolescent mice assessed by the CatWalk XT depends on age, strain and sex and correlates with speed and body weight. *Scientific reports*, 11, 21372.
- [70] Kähkönen, T. E., Tuomela, J. M., Grönroos, T. J., Halleen, J. M., Ivaska, K. K., & Härkönen, P. L. (2019). Dovitinib dilactic acid reduces tumor growth and tumor-induced bone

changes in an experimental breast cancer bone growth model. Journal of bone oncology, 16, 100232.

[71] Shefelbine, S. J., Augat, P., Claes, L., & Beck, A. (2005). Intact fibula improves fracture healing in a rat tibia osteotomy model. Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society, 23, 489–493.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: MouseScrew™	17
Abbildung 2: Fixierung der Hinterpfote während der Operation	20
Abbildung 3: Hautinzision zur Eröffnung der Gelenkkapsel	20
Abbildung 4: Laterale Luxation der Patella	20
Abbildung 5: Freie Sicht auf die Condylen	20
Abbildung 6: Röntgenkontrolle des Femurs nach Einbringung des Drahtes.....	21
Abbildung 7: Positionierung des Hinterlaufs der Maus in der 3-Punkt-Biege-Apparatur	21
Abbildung 8: Röntgenkontrolle zur Kontrolle der Fraktur.....	21
Abbildung 9: Abschlussröntgen zur Kontrolle der Richtigen Lage der MouseScrew™	21
Abbildung 10: Naht der Patellasehne und Gelenkkapsel	22
Abbildung 11: Hautnaht in Einzelknopf-Nahttechnik	22
Abbildung 12: Catwalk XT	23
Abbildung 13: Blick in den Gang des eingeschalteten CatWalks im abgedunkelten Raum ...	24
Abbildung 14: Screenshot eines live Videos während eines aktiven Laufes.	24
Abbildung 15: Gangdiagramm (Timing View) eines aufgezeichneten Laufes.....	25
Abbildung 16: Run Duration [s].....	28
Abbildung 17: Stand (s)	29
Abbildung 18: Swing (s).....	30
Abbildung 19: Step Cycle (s)	31
Abbildung 20: Duty Cycle (%).....	32
Abbildung 21: Stride Length (cm)	33
Abbildung 22: Base of Support (cm)	34
Abbildung 23: Max Contact Area (cm ²).....	35
Abbildung 24: Max Contact Mean Intensity.....	36
Abbildung 25: Run Duration (s)	37
Abbildung 26: Stand (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B).....	38

Abbildung 27: Stand (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	38
Abbildung 28: Swing (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	40
Abbildung 29: Swing (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	40
Abbildung 30: Step Cycle (s) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	41
Abbildung 31: Step Cycle (s) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	42
Abbildung 32: Duty Cycle (%) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	43
Abbildung 33: Duty Cycle (%) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	44
Abbildung 34: Stride length (cm) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	45
Abbildung 35: Stride length (cm) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	45
Abbildung 36: Base of Support (cm) der Vorderpfoten (A) und der Hinterpfoten (B)	46
Abbildung 37: Max Contact Area (cm ²) der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	47
Abbildung 38: Max Contact Area (cm ²) der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	48
Abbildung 39: Max Contact Mean Intensity der rechten Vorderpfote (RF) (A) und der linken Vorderpfote (LF) (B)	49
Abbildung 40: Max Contact Mean Intensity der rechten Hinterpfote (RH) (A) und der linken Hinterpfote (LH) (B)	50
Abbildung 41: Support (%) Diagonal (A), Three (B) und Others (C)	51

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Studiendesign	18
Tabelle 2: Parameter der Laufanalyse (Reference Manual CatWalk XT Version 10.6)	26

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die mich bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit unterstützt haben, bedanken.

Ich möchte mich ganz herzlich bei meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. med. Tina Histing, bedanken, die mir stets mit wertvollen Ratschlägen sowohl in der Planung als auch in der Auswertung und Umsetzung meiner Arbeit eine sehr große Hilfe war und mir immer mit konstruktiven Ratschlägen zu jeder Zeit zur Seite stand.

Herrn Prof. Dr. med. Michael D. Menger möchte ich für seine Hilfe bei der Durchführung meiner Arbeit und die bereichernden Diskussionen danken.

Ein besonderer Dank geht an Jakob Drawitsch, für die jahrelange Freundschaft und die Unterstützung in diesen Jahren.

Vor allem geht ein großer Dank an meine wichtigsten Mitarbeiter, die Mäuse, welche ihr Leben für diese Forschungsarbeit gelassen haben.

Herrn Guido Greschke danke ich dafür, dass er immer an mich geglaubt hat.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie und besonders meiner Mutter, die mir diesen Lebensweg ermöglicht hat, von ganzem Herzen für ihre unermüdliche und liebevolle Unterstützung in all den Jahren danken.

Tag der Promotion: 28. Februar 2023

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Tina Histing

Prof. Dr. med. Stefan Landgraeber