

Aus dem Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Etablierung eines Rattenmodells zur posttraumatischen  
Gelenkkontraktur

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Ludwig Schlemmer  
aus Oelsnitz i.V.

Mainz, 2022

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. U. Förstermann

1. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. A. Baranowski

2. Gutachter: Prof. Dr. W. Brenner

Tag der Promotion: 17.07.2023

*In Liebe und großer Dankbarkeit  
für meine Frau.*

*Soli Deo Gloria*

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Literaturdiskussion</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1 Knochen-Knochen-Verbindungen: Das echte Gelenk</b> .....	<b>6</b>
2.1.1 Aufbau des echten Gelenks.....	7
2.1.2 Aufbau der Gelenkkapsel .....	7
<b>2.2 Posttraumatische Gelenkkontraktur</b> .....	<b>8</b>
2.2.1 Ätiologie der Ellenbogensteife .....	10
2.2.2 Klassifikation der Ellenbogensteifen .....	12
2.2.3 Therapie der Ellenbogensteife.....	13
<b>2.3 Die Rolle der Myofibroblasten bei der Entwicklung der posttraumatischen Gelenkkontraktur</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4 Notwendigkeit eines neuen Modells</b> .....	<b>17</b>
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1 Studiendesign</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Hygiene</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3 Narkose und Analgesie</b> .....	<b>23</b>
3.3.1 Material für Narkose .....	23
3.3.2 Herstellung der Stammlösungen .....	24
3.3.3 Narkoseeinleitung.....	24
3.3.4 Injektionsnarkose.....	25
3.3.5 Augenschutz.....	25
3.3.6 Narkoseausleitung.....	26
3.3.7 Postoperative Schmerztherapie.....	26
<b>3.4 Präoperative Messung der Gelenkwinkel</b> .....	<b>26</b>
3.4.1 Material zur Vermessung der Tiere .....	26
3.4.2 Vermessung der Tiere .....	27
<b>3.5 Operationen</b> .....	<b>29</b>
3.5.1 Material und Instrumente zur Operation .....	29
3.5.2 Spezielle Instrumente .....	31
<b>3.6 Einzelne Operationsschritte</b> .....	<b>31</b>
3.6.1 Hyperextensionstrauma.....	31
3.6.2 Arthrodesen-Operation und Kortikalisbohrung.....	32
3.6.3 Entfernung der temporären Arthrodesese .....	37
3.6.4 Entnahme der Extremität.....	38
3.6.5 Konservieren der Präparate.....	39
<b>3.7 Gelenkwinkelbestimmung am Röntgenbild</b> .....	<b>39</b>
3.7.1 Definition der Achsen und des Gelenkwinkels.....	39

3.7.2	Definition der Extensionsdefizite und der Kontraktur .....	40
3.7.3	Vermessung der Röntgenbilder .....	41
<b>3.8</b>	<b>Statistische Analyse .....</b>	<b>42</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Gruppenaufteilung .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2</b>	<b>Ergebnisse der Extensionsdefizite .....</b>	<b>43</b>
<b>4.3</b>	<b>Statistische Vergleiche zwischen den einzelnen Extensionsdefiziten..</b>	<b>45</b>
4.3.1	Vergleich zwischen ipsi- und kontralateraler Extremität eines Tieres ....	45
4.3.2	Vergleich der Interventionsgruppe mit der zugehörigen Kontrollgruppe	47
4.3.3	Vergleich zwischen den Interventionsgruppen .....	48
<b>4.4</b>	<b>Zusammensetzung des physiologischen und pathologischen Extensionsdefizites .....</b>	<b>49</b>
4.4.1	Unterscheidung der myogenen Anteile .....	51
4.4.2	Ermittlung der Kontraktur – Vergleich zwischen Interventions- und Kontrollgruppe .....	53
<b>4.5</b>	<b>MRT nach Hyperextensionstrauma .....</b>	<b>54</b>
<b>4.6</b>	<b>Komplikationen .....</b>	<b>55</b>
4.6.1	Entwicklung des Körpergewichts .....	56
4.6.2	Wundheilungsstörungen .....	58
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1</b>	<b>Die Notwendigkeit eines neuen Rattenmodells .....</b>	<b>59</b>
5.1.1	Das Gelenktrauma und die Kontrakturpermanenz nach Remobilisation	59
5.1.2	Die verschiedenen Anteile am Extensionsdefizit .....	60
5.1.3	Ellenbogen-Kontraktur-Modell .....	61
5.1.4	Notwendige Immobilisationsdauer .....	62
5.1.5	Geeignete Remobilisationsdauer .....	63
<b>5.2</b>	<b>Permanenz der Kontraktur bei Remobilisation .....</b>	<b>64</b>
<b>5.3</b>	<b>Die Zusammensetzung der Kontraktur .....</b>	<b>65</b>
<b>5.4</b>	<b>Komplikationen und Einschränkungen .....</b>	<b>66</b>
5.4.1	Einschränkungen des Versuchsaufbaus .....	66
5.4.2	Komplikationen des Körpergewichts .....	67
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>68</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>74</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>78</b>
<b>10</b>	<b>Tabellarischer Lebenslauf .....</b>	<b>79</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AED	arthrogenes Extensionsdefizit
$\alpha$ -SMA	alpha smooth muscle actin
cm	Zentimeter
CTGF	connective tissue growth factor
Cx	Kontrollgruppen, alle
ECM	extrazellulärer Matrix
ED	Extensionsdefizit
EGF	Epidermal growth factor
ERK2	extrazelluläre signalregulierte Kinase 2
FGF	Fibroblast growth factor
FOV	field of view = Sichtfeld
GW	Gelenkwinkel
IMBEI	Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik
K-Draht	Kirschner-Draht
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kontr	kontralaterale Extremität
M.	Musculus
MCP	Macrophage chemoattractant protein 3
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
$\emptyset$	Durchmesser
OP	Operation
PDGF	Platelet derived growth factor
PTGK	posttraumatische Gelenkkontraktur
RNA	Ribonucleic acid
ROM	range of motion = Bewegungsbereich des Gelenks
SD	Standardabweichung $\sigma$
SDF-1	Stromal cell-derived factor-1
siRNA	small interfering RNA
SOD	Superoxiddismutase
TARC	Translational Animal Research Center
Tab.	Tabelle
TGF- $\beta$ 1	Transforming growth factor beta 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Wx	Interventionsgruppen, alle

## 1 Einleitung

Posttraumatische Gelenkkontrakturen und deren funktionelle Folgen sind schon seit der Zeit der Antike durch Hippokrates bekannt. Dieser erkannte bereits, dass bei der Versorgung von Gelenkverletzungen und periartikulären Frakturen durch frühzeitige Bewegung dem Problem einer posttraumatischen Gelenkkontraktur vorgebeugt werden kann [1 nach 2, 3]. Auch wenn seit dieser Zeit sehr viel über posttraumatische Gelenkkontrakturen (PTGK) geforscht und viele neue Erkenntnisse dazugewonnen wurden, ist die Pathogenese der Gelenkkontrakturen noch immer nicht zufriedenstellend geklärt.

*Abbildung wegen  
Bildrechte  
entfernt*

Abbildung 1: Der maximale Bewegungsumfang beschreibt dabei das Volumen einer Kugel, Bewegung der Hand im Raum. Dies wird durch ein hohes Maß an Beweglichkeit im Schulter- und Ellenbogengelenk ermöglicht (Zeichnung von Janssen in [5]).

Posttraumatische Bewegungseinschränkungen treten häufig am Ellenbogengelenk auf und sind meist die Folge von schweren knöchernen oder Weichteilverletzungen. Ebenso können degenerative oder entzündliche Erkrankungen, aber auch triviale Verletzungen zu Einschränkungen führen. Störende Einschränkungen des funktionellen Bewegungsausmaßes blieben bei bis zu 12% der Patienten mit Kontrakturen nach Ellenbogenverletzungen bestehen [4]. Bei knöchernen Ellenbogenverletzungen sind nach Sjøbjerg 5% der Patienten von posttraumatischen Kontrakturen betroffen, hauptsächlich jüngere und aktive unter 40 Jahren [4]. Diese Einschränkungen können zu einer erheblichen Behinderung und damit zum Verlust

der Fähigkeit führen, die Hand im Raum zu bewegen [5]. Der maximale Bewegungsumfang des Armes beschreibt dabei das Volumen einer Kugel (siehe Abb. 1). Der „funktionelle Bogen“, mit dem die meisten Tätigkeiten im täglichen Leben erledigt werden können, umfasst 100°: 130° - 30° Flexion-Extension und 50° - 50° Supination-Pronation, siehe Abb. 4 [4, 5]. Ähnliche Untersuchungen gibt es ebenso zum Kniegelenk und dessen benötigten Bewegungsumfang für die meisten Aktivitäten des täglichen Lebens (ADL). Für den westlichen Lebensstil reicht eine aktive und passive Beugung von 130°, wobei als minimale Kniebeugung für die ADL 95° festgestellt wurden [6]. Ab 15° Flexionskontraktur definieren Lotke et al. eine Kniesteife und nehmen damit auch eine Streckhemmung in ihre Untersuchung auf [6].

Es gibt zahlreiche pathologische Prozesse, die nach posttraumatischen Ereignissen die Funktion des Ellenbogengelenks beziehungsweise das Kniegelenks einschränken können. Kontrakturen können auf Basis von Knochen- und Knorpelschäden (Gelenkinkongruenz) oder Weichteildefekten entstehen. Am häufigsten kommen Mischformen als Entstehungsursachen vor [4], die von klinischen Erfahrungen bestätigt werden (siehe Kapitel 2.2.2.). Auch wenn die initiale Knochenverletzung anatomisch abgeheilt ist, können als posttraumatische Folge Weichteilkontrakturen bestehen bleiben [4]. Unser Fokus im Rahmen dieser Arbeit ist auf weichteilige Kontrakturen gerichtet.

Die Verletzung durch das Trauma ist Initiator der Entwicklung einer Kontraktur. Eine gelegentlich notwendige Immobilisation zur Heilung kann einen weiteren Faktor darstellen. Nach Abschluss der Heilung ist der Verlust der Mobilität eine häufige Folgeerscheinung [5]. Das Besondere an der oberen Extremität, im Speziellen das Ellenbogengelenk, ist das integrierte Zusammenspiel aus mehreren Gelenken. Der kombinierte Verlust von Ellenbogenextension und Supination des Unterarms wirkt sich addierend auf die Ausführung von Tätigkeiten und die erforderliche Gesamtkraft aus [5]. Damit konstituieren Mader und Pennig zu Recht:

„Unabhängig von der zugrundeliegenden Ätiologie stellt die Ellenbogensteifigkeit eine Bedrohung für die integrierte Funktion der gesamten Extremität dar, so dass die Wiederherstellung der Bewegung ein grundlegendes Ziel der meisten rekonstruktiven Bemühungen nach einer traumatischen Verletzung des Ellenbogens ist.“ [5, Übersetzung d. Verfassers<sup>1</sup>]

Eine ungenügende Wiederherstellung des Bewegungsumfanges (siehe Kapitel 2.2) schränkt die betroffenen Patienten bei alltäglichen Aktivitäten ein und kann bis zum Verlust der Berufstätigkeit führen. Schon vorher kann es zu psychischen und sozialen Beeinträchtigungen kommen, woraus ein großer volkswirtschaftlicher Schaden entstehen könnte.

Die etablierte Therapie der Ellenbogensteifigkeit als Goldstandard setzt sich aus einem konservativen und einem operativen Ansatz zusammen (siehe Abb. 5). Dieser ist mit der Behandlung der Kniearthrofibrose vergleichbar. Allerdings bilden infizierte Kniegelenksprothesen einen gesonderten Therapieschwerpunkt, auf den hier nicht weiter eingegangen wird [6].

---

<sup>1</sup> „Irrespective of the underlying aetiologies, elbow stiffness is a threat to the integrated function of the entire limb, thus making the restoration of motion a basic goal of most reconstructive efforts following traumatic injury to the elbow.“



Bei leichtgradiger Steifigkeit des Ellenbogengelenks hilft oft eine Behandlung aus Physiotherapie und statischer oder dynamischer Schienung [4]. Zur Sicherstellung des bereits erreichten Bewegungsumfanges kann eine Narkoseuntersuchung und -mobilisation notwendig sein [4]. Nach Ausschöpfung der konservativen Therapie haben sich in den vergangenen 30 Jahren drei operative Behandlungsprotokolle für die Behandlung der posttraumatischen Steifigkeit des Ellenbogens herausgebildet [4, 5]: Den größten Anteil nehmen die offenen Arthrolysen ein, bei denen durch chirurgische Lösung der Blockaden möglichst ein vollständiger Bewegungsumfang wiederhergestellt werden soll. Bei leichter bis mittelschwerer Steifigkeit oder unklaren Ellenbogenschmerzen hat sich die arthroskopische Arthrolyse als wirksame Behandlungsoption erwiesen [4, 5]. Als dritte Behandlungsmethode wird die Distraktionsarthrolyse des Ellenbogens als alleiniges oder kombiniertes Verfahren mithilfe von Bewegungs- und Distraktionsfixateuren eingesetzt [4, 5]. Sie zielt auf die Vernarbungen der periartikulären Weichteile ab, vor allem auf die der Kapsel und deren verstärkende Bänder, die bei jeder Kontraktur auftreten können [4].

Von den oben genannten Behandlungsoptionen wird bei leichter Steifigkeit (Bewegungsumfang größer  $90^\circ$ ) eher die konservative Therapie angewendet. Liegen schwere ( $31-60^\circ$ ) und sehr schwere (kleiner  $30^\circ$ ) Ellenbogensteifen vor, profitieren die Betroffenen meisten von einer operativen Arthrolyse [4].

Chirurgische Arthrolysen sind häufig mit Komplikationen verbunden. In der Literatur wird daher betont, „dass die Ellenbogenversteifung eine der größten Herausforderungen für den Spezialisten der oberen Extremitäten ist und dass diese Patienten in Kompetenzzentren konzentriert werden sollten“ [5, Übersetzung d. Verfassers<sup>2</sup>]. Die häufigste Komplikation bei bis zu 43% der Patienten ist die Verletzung des Nervus ulnaris (Neurapraxie, Neuritis). Allerdings sind laut Mader und Pennig 7% auf die initiale Verletzung zurückzuführen [5]. Daher ist es wichtig, nervenspezifische Symptome prä- und auch postoperativ schnell zu erkennen und zu behandeln [4]. In 36% der Fälle tritt ein sekundärer Bewegungsverlust nach chirurgischer Arthrolyse auf. Der intraoperativ erreichte Bewegungsumfang liegt mindestens 10% über dem späteren postoperativen Bewegungsumfang, auch mit Fortführung der konservativen Maßnahmen [4]. Dabei ist das Ziel einer Arthrolyse immer der volle Bewegungsumfang [4]. Offene Arthrolysen erreichen eine durchschnittliche Verbesserung von  $51^\circ$ , der Bewegungsumfang verbesserte sich bei

---

<sup>2</sup> „It cannot be underlined more that elbow stiffness is one of most challenging tasks the upper extremity specialist is facing and that these patients should be concentrated in centres of excellence.“

Charalambous und Morrey von präoperativ 26° - 82° auf 85° - 129° postoperativ [4]. Breborowicz et al. geben die postoperative Beweglichkeit mit ca. 86 % des erreichten intraoperativen Bewegungsumfangs an [4].

Weitere Komplikationen können eine Reoperation notwendig machen aufgrund eines sekundären Bewegungsverlustes, wegen Infektionen oder selten auch wegen einer Instabilität des operierten Gelenkes trotz intakter Bänder [4].

Um Kontrakturen effektiver verhindern zu können ist es wichtig, mit neuen Ansätzen die posttraumatische Gelenkkontraktur zu erforschen und besser verstehen zu lernen. Mit Untersuchungen zu den histopathologischen Veränderungen wurden wichtige Erkenntnisse zur Gewebeveränderung [7], Signalproteinen [8] und die Verbindung zu den Myofibroblasten [2, 9] gewonnen. Daraus konnten vielversprechende Behandlungsoptionen zur Verbesserung der Gelenksteife durch antifibrotische Wirkstoffe [10, 11] und durch gezielte medikamentöse Hemmung von Signalwegen [11, 12] entwickelt werden.

In aktuellen Studien zur Gelenkkontraktur wurden verschiedene Tiermodelle verwendet. Die häufigsten sind das Ratten- und das Kaninchenmodell [2, 13-15]. In diesen Modellen wurde eine Gelenkkontraktur durch Immobilisation verursacht und anschließend untersucht. Hildebrand et al. konnten zeigen, wie wichtig die Remobilisationszeit für die Kontrakturbeurteilung ist [2]. Daher sind bei der Behandlung der posttraumatischen Gelenkkontraktur beim Menschen die konservativen Maßnahmen ein wesentlicher Bestandteil der Therapie. Allerdings wurde bei vielen Untersuchungen zur Kontrakturentstehung im Tiermodell kein Trauma gesetzt, welches dem Krankheitsbild der posttraumatischen Gelenkkontraktur jedoch ursächlich zugrunde liegt [7, 8, 15-23]. Diese Studien eignen sich eher dafür, die nicht-traumatische Genese von immobilitätsinduzierten Kontrakturformen besser zu verstehen. Daher sahen wir es als notwendig an, ein neues Rattenkontrakturmodell zu etablieren, welches alle Kriterien zur Untersuchung der posttraumatischen Gelenkkontraktur enthält. Diese sind zum einen ein Trauma, welches den Unfall geeignet nachahmt, die Immobilisation zur Ausbildung der Kontraktur und eine anschließende Remobilisation, in der sich die Kontraktur durch Bewegung verringern kann. Zum anderen sollte ein einfach strukturiertes Gelenk wie das Kniegelenk für eine gute Reproduzierbarkeit verwendet werden. Das Rattenmodell zeichnet sich dabei durch seine anatomische Größe, eine gute Handhabbarkeit für Untersuchungen und Logistik sowie durch eine kosteneffektive Planung aus.

Das Rattenkontrakturmodell konnten wir mit einer Kombination aus Hämarthros, Verletzung der posterioren Kniegelenkkapsel und temporärer Gelenkimmobilisation erzeugen. Nach Beendigung der Immobilisationsphase wurden die Ratten freimobilisiert. Die Kniegelenkbeweglichkeit wurde in regelmäßigen Zeitabständen gemessen, um den Grad der dauerhaften Kontraktur trotz Remobilisation des verletzten Gelenks zu bestimmen.

Da die Kontraktur eine Bedrohung für die integrierte Funktion der gesamten Extremität darstellt, ist die Wiederherstellung der Bewegung ein grundlegendes Ziel der meisten rekonstruktiven Bemühungen nach einer traumatischen Verletzung [5, 6]. Mit unserem Kleintiermodell können weitere Präventions- und Behandlungsmöglichkeiten der PTGK, zum Beispiel eine medikamentöse Unterstützung der Heilung, untersucht werden.

## 2 Literaturdiskussion

### 2.1 Knochen-Knochen-Verbindungen: Das echte Gelenk

#### Definition Gelenk:

„Bewegliche Verbindung zwischen zwei oder mehr Knochen, die sich nach unterschiedlichen Aspekten, zum Beispiel den Gelenkformen, untergliedern lassen. Echte Gelenke (Diarthrosen) unterscheiden sich in ihrem Aufbau von unechten Gelenken (Synarthrosen). Degenerative Veränderungen der Gelenke (Arthrosen) führen zu erheblichen klinischen Beschwerden.“ [24]

#### Definition Diarthrose:

„Diarthrosen sind echte Gelenke, in denen knorpelüberzogene Gelenkenden der Knochen durch Zwischenschaltung eines Gelenkspaltes meist ausgiebig gegeneinander bewegt werden können.“ [25]

Üblicherweise werden Gelenke in echte und unechte Gelenke unterteilt. Beim unechten Gelenk (Synarthrose) gibt es eine kontinuierliche Verbindung zwischen den beiden Knochen. Diese kann aus Bindegewebe sein (Syndesmose), etwa bei der Schädelfontanelle, sie kann aus Knorpel bestehen (Synchondrosen), zum Beispiel bei den Bandscheiben, oder sie kann aus Knochen sein (Synostose), etwa beim Kreuzbein. Beim Kreuzbein handelt es sich im engeren Sinne nicht mehr um Gelenke zwischen den einzelnen Sakralwirbeln, da die verknöcherten Verbindungen unbeweglich sind. Bei den anderen Verbindungen ist immer noch ein begrenztes Maß an Beweglichkeit vorhanden.

Das echte Gelenk zeichnet sich durch einzelne separate Knochen aus, die durch einen Gelenkspalt voneinander getrennt sind. Zusammengehalten werden die Knochen von einem Bandapparat, der eine unterschiedlich gute Beweglichkeit ermöglicht; eine sogenannte diskontinuierliche Verbindung. Bei der Amphiarthrose spricht man von einem straffen Gelenk, welches nur kleine Bewegungen zulässt, zum Beispiel das Iliosakralgelenk. Einen deutlich größeren Bewegungsumfang haben Gelenke der Diarthrosen. Sie können nach drei Schwerpunkten unterschieden werden [26]:

- a) Gestalt und Form des Gelenkkörpers: Kugelgelenk, Eigelenk, Sattelgelenk
- b) Anzahl der Bewegungsachsen
- c) Anzahl der Freiheitsgrade: Bewegungsvermögen entlang der drei Raumachsen

### 2.1.1 Aufbau des echten Gelenks

Echte Gelenke, weisen meist folgende charakteristische Bauelemente auf (siehe Abb. 2): Die artikulierenden Gelenkflächen sind durch den Gelenkspalt voneinander getrennt und sind, mit Ausnahme von Kiefer- und Sternoklavikulargelenk, von hyalinem Knorpel überzogen. Die Gelenkkapsel umschließt das Gelenk und formt eine Gelenkhöhle mit Ausbuchtungen (Recessus articularis) und Oberflächenvergrößerungen (Plicae- und Villi synoviales). Die Innenseite der Kapsel produziert die Gelenkflüssigkeit (Synovia). Intraartikuläre Hilfseinrichtungen, wie der Meniscus, der Discus articularis und die Gelenkklippe (Labrum articulare), verbessern die Gelenkkongruenz und verteilen die einwirkenden Kräfte. Ein intra- und extrakapsulärer Bandapparat stabilisiert das Gelenk primär, und durch über das Gelenk ziehende Muskeln (Agonisten / Antagonisten) kann es in entgegengesetzte Richtungen bewegt werden. In Gelenksnähe liegt oft noch ein Schleimbeutel (Bursa synovialis) als Gleitlager für umspannende Strukturen, der an die Gelenkhöhle angrenzt beziehungsweise selten eine Verbindung aufweist [26].

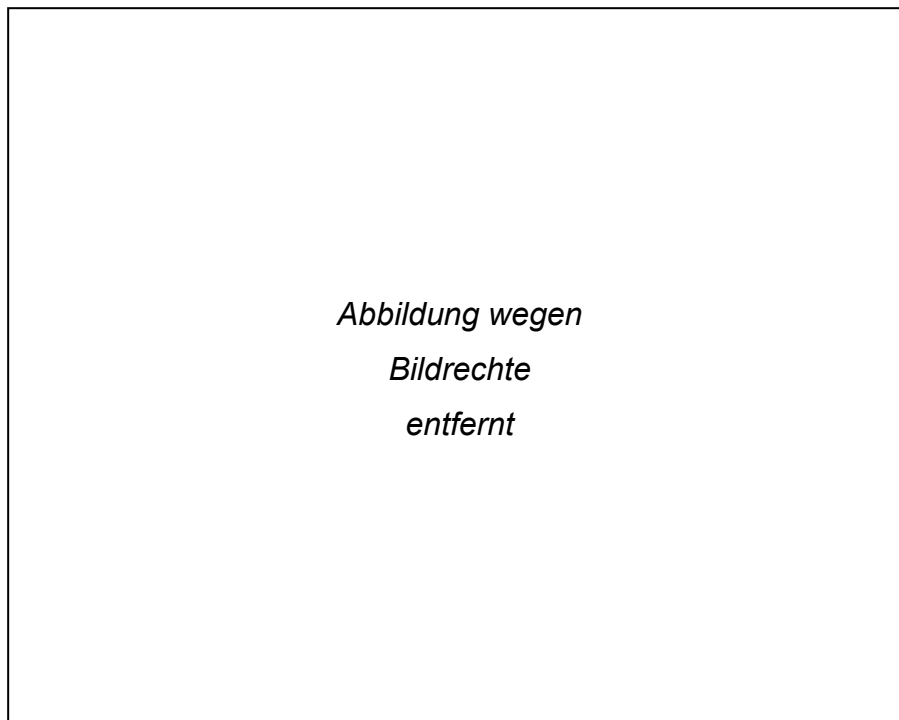


Abbildung 2: Aufbau eines echten Gelenkes [26]

### 2.1.2 Aufbau der Gelenkkapsel

Die Gelenkkapsel (Capsula articularis) umschließt die Gelenkhöhle des echten Gelenks vollständig. Sie besteht aus zwei morphologisch und funktionell verschiedenen Schichten: Einerseits die Membrana synovialis, in der die

B-Synovialozyten die Synovialflüssigkeit produzieren und diese wiederum über die A-Synovialozyten resorbiert wird. Letztere können weiterhin Bakterien und Zelltrümmer phagozytieren (siehe Abb. 3 und 6). Andererseits besteht sie aus der Membrana fibrosa, welche aus straffem kollagenem Bindegewebe die Stabilität herstellt und teilweise durch Kapselbänder weiter verstärkt wird [26].

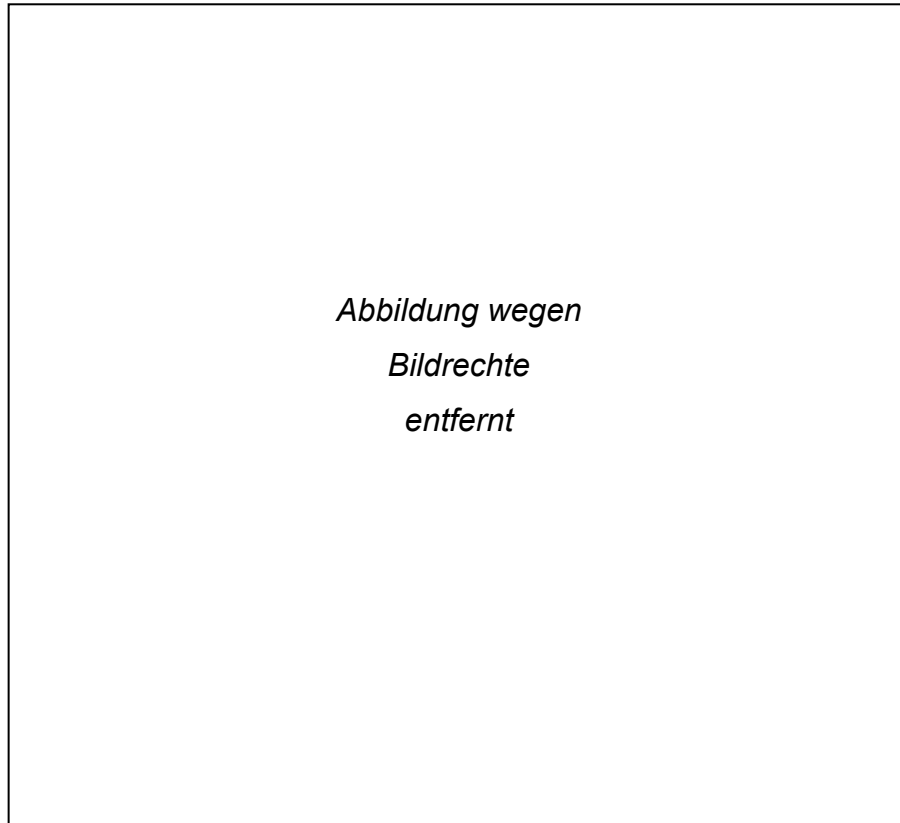


Abbildung 3: Aufbau der Gelenkkapsel [26]

## **2.2 Posttraumatische Gelenkkontraktur**

Zur Behandlung von Knochen- und Gelenkverletzungen nach einem Unfall dient die Ruhigstellung von Gelenken als gängiges Mittel zur Schmerzlinderung und bei der konservativen Therapie zur Heilung. Eine zu lange Gelenkimmobilisation kann dabei zu Gelenkkontrakturen führen. Dies sind Einschränkungen des aktiven und passiven Bewegungsumfangs (engl.: range of motion = ROM), die dauerhafte Beeinträchtigungen und Behinderungen der betroffenen Gelenke verursachen können [8]. Tritt diese Kontraktur infolge eines Traumas auf, wird von einer posttraumatischen Gelenkkontraktur (PTGK) oder posttraumatischen Gelenksteife (engl.: post-traumatic joint stiffness) gesprochen [4, 5].

Eine posttraumatische Gelenkkontraktur für alle Gelenke ist schwierig allgemeingültig zu definieren. Eine konkrete Definition der Ellenbogensteife etablierten Brunner et al. basierend auf Untersuchungen von Morrey und Søjbjerg über den Bewegungsumfangs bei Aktivitäten des täglichen Lebens:

„Von einer Ellenbogensteife kann daher ab einem Streckdefizit von  $> 30^\circ$  und einer Beugung  $< 120^\circ$  [...] gesprochen werden, dies sollte heute jedoch individuell beurteilt werden.“ [4]

*Abbildung wegen  
Bildrechte  
entfernt*

Abbildung 4: Darstellung des funktionell notwendigen Bewegungsbogens für Aufgaben im täglichen Leben, nach Sardelli et al. [4].

- a) Supination und Pronation
- b) Flexion und Extension

Die posttraumatische Gelenkkontraktur wurde beim Menschen zumeist am Ellenbogen untersucht und kann sich verheerend auf die Gelenkfunktion und die Aktivitäten des täglichen Lebens auswirken [5, 27] (Abb. 4). So wird das Ellenbogengelenk im Alltag sowie in der Freizeit und im Sport stark beansprucht [4]: Um eine Gabel zu benutzen, sind nach Sardelli et al.  $103^\circ$  Flexion mit Unterarmdrehung nötig. Für die Arbeit am PC ist  $65^\circ$  Pronation erforderlich, zum Öffnen einer Tür wiederum  $77^\circ$  Supination [4]. „Haare waschen, Kämmen, Gesicht waschen oder Telefonieren erfordern über  $140^\circ$  Flexion [...], Fahrrad fahren oder Tennis spielen weitgehend volle Extension. [...] Die fehlende Pronation und Supination kann in gewissem Maß durch Abduktion und Rotation des Arms bzw. Ausweichen des Oberkörpers ausgeglichen werden, die fehlende Flexion des Ellenbogens dagegen nicht“ [4]. Daraus kann man ersehen, dass Defizite der Ellenbogenextension in der Regel besser toleriert werden als vergleichbare Defizite der Flexion [4].

Im Kniegelenk werden Kontrakturen unterschiedlich definiert. Besteht ein Jahr nach Trauma oder einer chirurgischen Intervention eine Flexionshemmung von weniger als 90°, wird dies als Kontraktur definiert. Wobei nach Untersuchungen für die meisten Aktivitäten des täglichen Lebens nach westlichem Lebensstil eine aktive und passive Beugung von 130° erforderlich ist. Als minimale Kniebeugung wurde jedoch 95° festgestellt. Für den Bereich von 95° bis 130° Kniebeugung sind dann zur Kompensation Ausweichmanöver notwendig, um die Beugung von 130° zu umgehen, zum Beispiel beim Anziehen von Socken oder Hose. Sind diese Bewegungen überdies mit starken Schmerzen verbunden, leidet die Lebensqualität darunter deutlich [6]. Im Unterschied zum Ellenbogen kommt es bei der Extension im Kniegelenk schon früher zur Beeinträchtigung. Ab 15° Flexionskontraktur oder bei einer Beugung von weniger als 75° sprechen Lotke et al. von einer Kniesteiife und nehmen damit auch eine Streckhemmung in den Fokus [6].

Viele Untersuchungen zur posttraumatischen Gelenkkontraktur beim Menschen wurden am Ellenbogen durchgeführt. Für die Etablierung eines zuverlässigen und reproduzierbaren neuen Modells wählten wir allerdings das Kniegelenk. Denn es ist anatomisch einfacher strukturiert und damit weniger fehleranfällig. Die erzeugte Flexionskontraktur (Streckhemmung) lässt sich mithilfe einer Einspannvorrichtung gut messen. Aus diesen Gründen verwendeten wir bei unserem Kontrakturmodell die Flexionskontraktur im Kniegelenk.

### 2.2.1 Ätiologie der Ellenbogensteife

Die posttraumatische Ellenbogensteife (engl.: post-traumatic elbow stiffness) ist meistens Folge von schweren knöchernen Verletzungen oder Weichteilverletzungen [4]. Dabei sind Luxationen oder Luxationsfrakturen des Ellenbogens die Hauptursache [4]. Als mechanisches Hindernis sind intra- oder extraartikuläre knöcherne Strukturen zu benennen. Aber auch die extraartikulären Weichteile können durch eine Verringerung ihrer Elastizität eine Ursache sein [4].

Die Ursachen der Weichteilkontrakturen sind multifaktoriell. Bei der Haut kommt es meist durch Narbenzüge aufgrund von Verletzungen oder Verbrennung zu Einschränkungen. Im Muskel können Einheiten verkleben oder an Elastizität verlieren. Kommt es zur Verletzung der Muskulatur, kann es bei Defektheilung durch Narbenbildung, Verkalkungen oder intramuskuläre Ossifikationen zur Kontraktur kommen. Ebenfalls können wiederholte Mikrotraumata oder eine fortbestehende Instabilität eine Einsteifung bedingen. Auch durch degenerativ entzündliche



Erkrankungen im Alter, wie rheumatische Arthritis, Arthrose oder Gelenkinfektionen, können Kontrakturen entstehen [4].

Wenn allerdings die Integrität und Kongruenz der Gelenkoberfläche erhalten bleiben, scheint die Gelenkkapsel den Hauptanteil an der Kontraktur zu haben [8, 15, 22, 23, 28, 29]. Daher ist die Gelenkkapsel eine weitere wichtige Weichteilkomponente, auf welche sich unsere Arbeit hauptsächlich bezieht. Bei kapselbedingten Kontrakturen wurde eine Veränderung der Struktur und der Zusammensetzung des Kapselgewebes festgestellt. Die kontrakte Kapsel ist nach Immobilisation durch vermehrtes Kollagen I, III und IV mit desorganisierter Struktur und Cross-Linking dicker als gesundes Kapselgewebe. Weiterhin sind der Proteoglykan- und Wassergehalt sowie die Fettzellen vermindert, aber die Metalloproteinasen und Myofibroblasten vermehrt [3, 5, 7]. Durch eine anschließende Mobilisation kommt es wieder zur Zunahme von Fettzellen in der Subintima und die Dichte der Kollagenfaserbündel in der hinteren Kapsel nimmt ab [7]. Als mögliche auslösende Faktoren für eine Gelenkkontraktur werden die durch eine Immobilisation entstehenden hypoxischen und entzündlichen Bedingungen genannt [8].

Eine weitere wichtige Rolle bei der Kontrakturentstehung in der Kapsel spielen die Myofibroblasten, welche aus Fibroblasten entstehen. Drei Arbeiten berichten von einer umgekehrt proportionalen Anzahl an Myofibroblasten zum Ausmaß der Ellenbogensteife beim Menschen und lokalisieren sie vorwiegend in der ventralen Kapsel, was zu ihrem festgestelltem Streckdefizit passt [4]. Demgegenüber konnte mehrheitlich nach einem Trauma ein starker Anstieg der Anzahl als auch der Aktivität der Myofibroblasten nachgewiesen werden [2, 5, 6, 9, 12, 18]. Hofmann et al. konnten auch zeigen, dass transformierenden Wachstumsfaktor Beta-1 (TGF- $\beta$ 1) und Platelet-derived growth Factor (PDGF) die Zellproliferation von Myofibroblasten in kontrahierten Kapseln induzieren und eine Kontraktion der extrazellulären Matrizen auslösen [9].

Eine Reihe von Faktoren wurde als Erklärung für die stärkere Neigung des Ellenbogens zur Steifigkeit herangezogen. Die posttraumatische Gelenkkontraktur ist auch im Ellenbogen meist die Folge eines Traumas und stellt ein sowohl häufiges als auch schwieriges klinisches Problem dar [30]. Das Ellenbogengelenk ist dabei anatomisch und biomechanisch eines der komplexesten Gelenke im menschlichen Körper. Die drei artikulierenden Knochen greifen präzise kongruent ineinander und werden durch verschiedene periartikuläre Weichteile (Kapsel, Bänder, Sehnen, Muskeln) stabilisiert [5, 13, 30]. Kommt es in diesem System zu einem Trauma,

verändert sich das Zusammenspiel der einzelnen Komponenten und kann zur Kontraktur führen [30]. Damit ist das Gelenk für eine Versteifung besonders anfällig [13]. Selbst kleine Verletzungen können zu relevanten Einschränkungen führen und werden somit nur schlecht von Patienten toleriert [30]. Als Besonderheit merken dabei Dunham et al. an, dass das Ausmaß der Einschränkung nicht mit der Schwere einer Verletzung im Ellenbogen zusammenhängt. Das erschwert zum einen die Risikoabschätzung für die Entwicklung einer Kontraktur, aber auch deren Behandlung [30].

### 2.2.2 Klassifikation der Ellenbogensteifen

Für die Einteilung der Ellenbogensteifen existieren verschiedene Klassifikationen. Nach Kay wird die Beteiligung der knöchernen Strukturen und Weichteile unterschieden sowie ob zusätzlich eine Verknöcherung vorliegt. Stehle & Gohlke teilen in degenerative, traumatische oder eigenständige Ursachen ein [4]. Mansat et al. beziehen in ihre Klassifikation die Einschränkungen der ROM ein und unterteilen danach in Schwere, mit Differenzierung in Extensions-, Flexions- oder kombinierte Kontraktur: minimale Steife  $> 90^\circ$ , mäßige  $61^\circ - 90^\circ$ , schwere  $31^\circ - 60^\circ$  und sehr schwere Steife  $\leq 30^\circ$  [31].

Die zwei folgenden Klassifikationen können mit ihrer Aufteilung die Entscheidung über die Therapieoptionen unterstützen. Die häufigere von beiden ist die anatomische Einteilung nach Morrey, welche die pathomorphologische Ursache in extrinsische (extraartikuläre) und intrinsische (intraartikuläre) Ellenbogensteife unterscheidet, wobei häufig eine gemischte Pathologie für die Einschränkung verantwortlich ist. Zu extrinsischen Ursachen der Kontraktur zählen: Haut inklusive Narben, Muskulatur, Kapsel, Bänder, heterotope Ossifikationen, extraartikuläre knöcherne Fehlstellungen und Instabilität. Dem gegenüber stehen intrinsische Ursachen: Briden oder Adhäsionen inklusive Synovitiden, intraartikuläre Osteophyten, Arthrosen, Chondromatosen, Osteochondrosis dissecans und freie Gelenkkörper [4].

Für die therapeutische Relevanz kann weiterhin die Klassifikation nach Jupiter herangezogen werden, um zwischen einem arthroskopischen oder offenen Verfahren zu entscheiden. Zur Gruppe der einfachen Steifen gehören: ein funktioneller Bogen über  $80^\circ$ , keine Nerven-Voroperation, keine neurologischen Symptome, keine Osteosynthese, nur minimale heterotope Ossifikationen und eine gut erhaltene Anatomie. Im Gegensatz dazu werden zu komplexen Steifen gezählt: häufige Voroperationen, Nervus-ulnaris-Eingriffe, neurologische Symptomatik, vorherige Osteosynthese, heterotope Ossifikationen und eine gestörte Anatomie [4, 5].

### 2.2.3 Therapie der Ellenbogensteife

Aktuelle Therapien jeglicher Ellenbogensteifen konzentrieren sich auf ihre Vorbeugung und Behandlung. Eine leichtgradige Steifigkeit, zum Beispiel nach Mansat, kann durch konservative Therapie mit Physiotherapie und statische oder dynamische Schienung behandelt werden [4, 5]. Ein arthroskopisches Vorgehen hat sich bei leichter bis mittelschwerer Ellenbogensteife als gute Behandlungsoption erwiesen [5, 27]. Schwere und sehr schwere Versteifungen profitieren hingegen von einer operativen Therapie (arthroskopischer Arthrolyse oder offener Arthrolyse), bei der in sehr schweren Fällen ein bilateraler Zugang und auch eine externe Fixation zur Anwendung kommen können [4]. Bei diesen beiden chirurgischen Verfahren werden über einen lateralen, medialen oder kombinierten Zugang die Gelenkweichteile mobilisiert. Weiterhin kann die Kapsel eingeschnitten oder Teile reseziert werden [4]. Zum Erweitern des Bewegungsumfangs können die Ansätze von Muskeln, Sehnen und Bänder vom Knochen gelöst und an neuer Stelle mit Ankern oder transossär refixiert werden. Der Vorteil eines offenen Vorgehens ist, dass eine Radiuskopfresektion möglich ist, wenn diese Maßnahmen nicht für eine ausreichende Bewegungssteigerung ausreichen [4]. Hat der Patient vor der Operation eine neurologische Symptomatik oder ist bei der Operation ein Streckungsgewinn von  $> 30^\circ$  zu erwarten, stellt das die Indikation zur Neurolyse des Nervus ulnaris, die meist über den medialen Zugang vorgenommen wird [4]. Ist das Gelenk von einer Bandinstabilität betroffen, kann dies durch Fixateur externe stabilisiert werden [4].

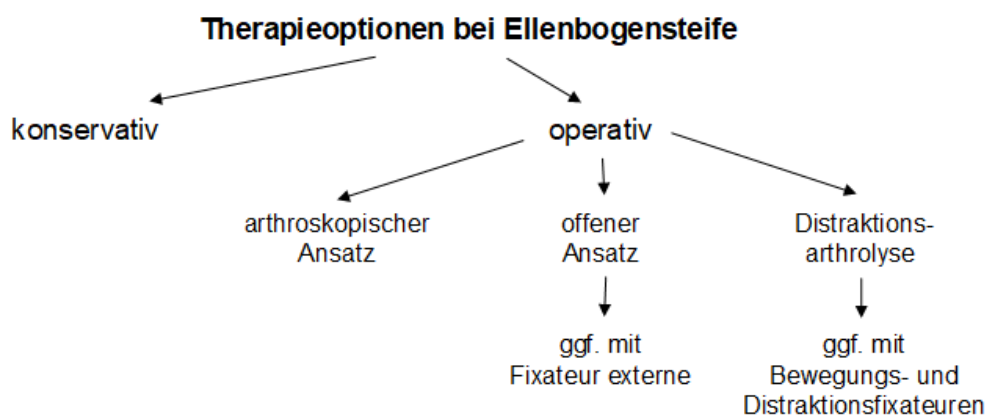


Abbildung 5: Die drei Behandlungsmöglichkeiten einer Ellenbogenkontraktur (nach [4])

Das dritte operative Therapieverfahren (siehe Abb. 5) bei posttraumatischer Ellenbogenkontraktur ist die Distraktionsarthrolyse, auch engl. als „arthrodiatasis“

bezeichnet [4, 5]. Neben der arthroskopischen und offenen Arthrolyse kann die Distraction auch als ergänzendes Verfahren angesehen werden, denn dabei wird das periartikuläre kollagene Narbengewebe indirekt gedehnt. Da diese pathologische Vernarbung bei jeder Einsteifung der Kapsel und ihren verstärkenden Bändern vorkommen kann, ist die Distraction für posttraumatische Kapselverletzungen besonders geeignet [4].

Sind die Gelenkflächen betroffen, gibt es als Ultima Ratio die Möglichkeiten der Interpositionsplastik, evtl. mit Resektionsarthroplastik oder der Ellenbogenprothese [4, 5].

Die postoperative Behandlung des steifen Ellenbogens richtet sich nach dem Ausmaß des Traumas. Bei intakten Gelenkflächen und Weichteilverletzungen ist das Ziel eine frühzeitige Bewegung unter Beibehaltung der Gelenkkongruenz bei adäquater Analgesie [4, 27]. Zum Schutz der Weichteilrekonstruktion kann anfänglich sogar mit Fixateur externe das Gelenk mit einer CPM-Bewegungsmaschine (Continuous Passive Motion) kontinuierlich beübt werden. Nach Entfernung des Fixateur externe werden die gesamte Extension und Flexion erneut beurteilt und zum Erhalt des Bewegungsumfang eine Orthese und/oder CPM-Schiene für mindestens 3 Monate, bzw. nur nachts für 6 Monate verordnet [4, 27]. Bei Anwendung von Physiotherapie ist ein überaggressives Vorgehen dringend zu vermeiden, da sonst Inflammationen und daraus mögliche Bewegungseinschränkungen ausgelöst werden können [4, 27]. Morrey et al. sehen die Physiotherapie daher als fraglich oder sogar als umstritten an [27].

Die PTGK kann trotz dieser Möglichkeiten sehr schwierig zu behandeln sein und eine problematische Bewegungseinschränkung weiter bestehen bleiben. Die häufigste Komplikation ist dabei eine Schädigung des N. ulnaris (Neuropraxie oder Neuritis). Überdies bestehen bei den chirurgischen Verfahren auch die allgemeinen Komplikationsrisiken wie sekundärer Bewegungsverlust, Infektion oder eine notwendige Reoperation [5]. Eine grundlegende Schwierigkeit bleibt aber der Erhalt des intraoperativ erreichten Bewegungsumfangs. Dieser kann in der Regel auch mit anschließenden konservativen Maßnahmen nicht vollständig erhalten werden und beträgt postoperativ ca. 86 % der intraoperativ erreichten Beweglichkeit [4].

### 2.3 Die Rolle der Myofibroblasten bei der Entwicklung der posttraumatischen Gelenkkontraktur

Nachdem herausgefunden wurde, dass die Gelenkkapsel bei intakter Gelenkoberfläche scheinbar einen Hauptbeitrag zur PTGK leistet [15, 22, 28, 29, 32], konnten diese Veränderungen auch histologisch nachgewiesen werden. Am Rattenmodell stellten Watanabe et al. fest, dass die Kapsel nach Immobilisation ohne Trauma ein dichtes hyperplastisches Gewebe zwischen den kollagenen Faserbündeln aufweist. Durch Mobilisation wurden die Zwischenräume zwischen den Kollagenfaserbündeln wieder vergrößert, blieben aber kleiner als bei der Kontrollgruppe. Die gesamte Dicke der hinteren Kapsel blieb unverändert. Jedoch erhöhte sich die Dichte der Kollagenfasern durch 8 Wochen Immobilisation, die durch anschließende Mobilisationsübungen wieder verringert werden konnte. Sie erreichte aber nicht die Normaldichte der Kontrollgruppe [7]. Dies entspricht auch untersuchtem posttraumatischem Kapselgewebe beim Menschen [9].

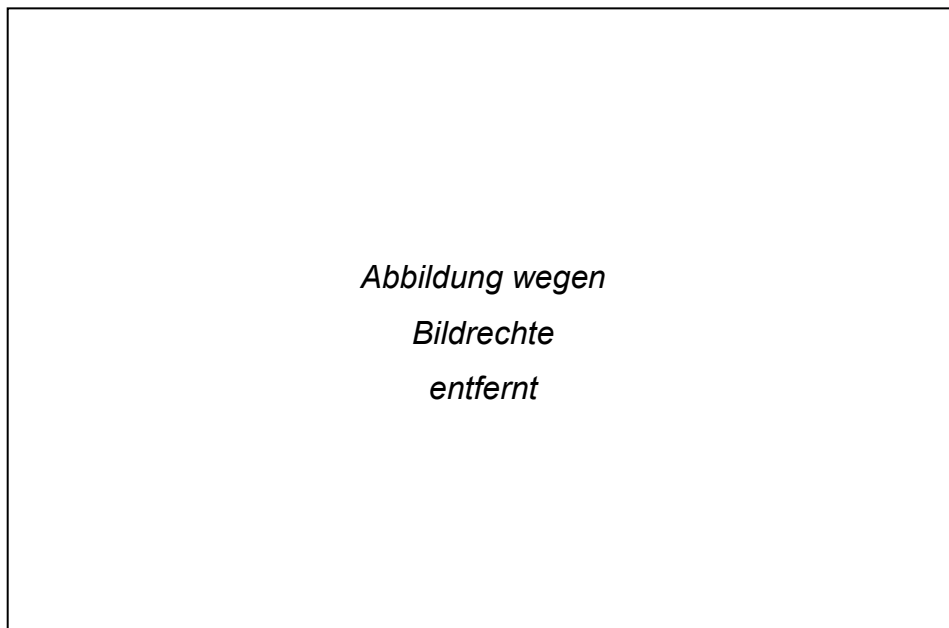


Abbildung 6: Vergrößerter Ausschnitt der Membrana synovialis einer gesunden Gelenkkapsel [26]. Am linken Bildrand schließt sich die Membrana fibrosa aus straffem kollagenem Bindegewebe an (siehe Abbildung 3). Am rechten Bildrand ist die Gelenkhöhle mit Gelenkflüssigkeit.

In gesundem Kapselgewebe kommen Fibroblasten ubiquitär vor, siehe Abb. 6. Bei einem Trauma konnten unterschiedliche pathogenetische Mechanismen identifiziert werden, aufgrund derer sich Fibroblasten in Myofibroblasten umwandeln. Die Heilung von verletztem Weichteilgewebe ist ein vielseitiger Prozess, der sich aus Zellrekrutierung, Migration, Proliferation, Differenzierung, Synthese von extrazellulärer

Matrix (ECM) und Gewebeumbau zusammensetzt [12]. Nach einem Trauma wandern mit Beginn der Wundheilung undifferenzierte Fibroblasten in die sich entwickelnde Fibrinschicht der Verletzung ein [12]. Sie tragen dabei durch Synthese von Proteoglykanen und ECM-Proteinen zur Stabilisierung des traumatisierten Gewebes bei [12]. Zusammen mit anderen Mediatoren und Zytokinen, wie TGF- $\beta$ 1, PDGF, Fibroblast growth factor (FGF), Epidermal growth factor (EGF), Vascular endothelial growth factor (VEGF), Macrophage chemoattractant protein 3 (MCP), Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1), connective tissue growth factor (CTGF) und Interleukinen, wird ein aktivierendes, die Wundheilung förderndes Milieu geschaffen [12].

Die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten wird dabei durch mechanischen Stress, den transformierenden Wachstumsfaktor Beta-1 (TGF- $\beta$ 1) und Fibronectin (ED-A-Spleißvariante) aus der ECM gesteuert [4, 12]. Für die Entwicklung von Gelenkkontrakturen sind neben der Fibrosierung durch Kollagen Typ I [18] auch die charakteristischen Eigenschaften des myofibroblastischen Phänotyps verantwortlich [12]. Myofibroblasten sind in der Lage, alpha-smooth Muskelaktin ( $\alpha$ -SMA) zu exprimieren und damit ihre umliegende extrazelluläre Matrix (ECM) zu kontrahieren [9, 12]. TGF- $\beta$ 1 aus der extrazellulären Matrix und PDGF aus den Thrombozyten steigern die  $\alpha$ -SMA- und Kollagen I-Expression [9, 12]. Dabei scheint vor allem  $\alpha$ -SMA für die kontraktile Aktivität der Myofibroblasten essenziell zu sein [9]. Überdies können sie über die Myofibroblasten-Mastzell-Neuropeptid-Achse beeinflusst werden. So konnten Hildebrand et al. im In-vitro-Versuch zeigen, dass die kontraktile Eigenschaften von Myofibroblasten durch die Anwesenheit von Mastzellen verstärkt und die Kontraktion zusätzlich durch Substanz P weiter maximiert wird [33]. Das Neuropeptid Substanz P verursacht dabei eine erhöhte Freisetzung der Mediatoren aus Mastzellen [33].

Der steigernde Effekt von TGF- $\beta$ 1 unterliegt einer Autoregulation. Mit zunehmender Konzentration von TGF- $\beta$ 1 kommt es zu dessen Down-Regulation der Genexpression. Weiterhin erfolgt eine Autoregulation des TGF- $\beta$ -Rezeptors, indem durch TGF- $\beta$ 1 und PDGF dessen Genexpression down-reguliert und damit gebremst wird [12].

Die Erkenntnisse zur Funktionsweise der Myofibroblasten wurden zuvor durch Untersuchungen fibrokonnektiver Erkrankungen gewonnen, bei denen Myofibroblasten neben der normalen physiologischen Wundheilung ebenfalls entscheidend sind [12].

Im Kaninchenknie-Modell konnten Hildebrand et al. beweisen, dass bei einer PTGK die Myofibroblastenzahl absolut und relativ vermehrt ist [2]. Dies bestätigte andere Untersuchungen beim Menschen, bei denen die Anzahl der Myofibroblasten bei posttraumatischer Kontraktur des Ellenbogens kennzeichnend erhöht ist [5, 12]. Hofmann et al. untersuchten humanes Gewebe aus Ellenbogen und Schulter nach einer Verletzung und konnten im Gelenkkapselgewebe eine Zunahme der Myofibroblastenzahl feststellen, die ein wesentliches histologisches Merkmal der Gelenkkapselkontraktur darstellt. Sie konnten nachweisen, dass die Wachstumsfaktoren PDGF und TGF- $\beta$ 1 die Zellproliferation und Kontraktionsfähigkeit der Gelenkkapsel-Myofibroblasten steigern [5, 9]. Ebenso verursachte die Hemmung der endogenen Prostaglandinsynthese durch Diclofenac eine Steigerung der ECM-Kontraktion. Im Gegenzug führte Suramin als TGF- $\beta$ 1- und PDGF-Rezeptorblocker zu einer Reduktion der ECM-Kontraktion. Die Applikation von Dexamethason konnte die ECM-Kontraktion inhibieren und weiterhin die Zellproliferation reduzieren [9]. Aufbauend darauf konnten im 3D-Zellkulturmodell die antifibrotischen Wirkstoffe Suramin und Superoxiddismutase (SOD) als Inhibitoren der Myofibroblasten-Funktion ermittelt werden. Sie wirkten blockierend auf die ECM-Kontraktilität, auf die  $\alpha$ -SMA- und Kollagen-I-Genexpression. Es wird von Mattyasovszky et al. geschlossen, dass weitere Untersuchungen an potenziellen Antioxidantien als Therapeutika bei posttraumatischen Kontrakturen notwendig sind. Dafür wären in Zukunft auch weitere Untersuchungen an In-vivo-Modellen gerechtfertigt [12].

Die Gesamtheit der Regulationsmechanismen bei der Entstehung der Gelenkkapselkontraktur ist noch nicht hinreichend untersucht [9, 12]. Mattyasovszky et al. merken an, dass die bisherigen Erkenntnisse aus fibrokonnektiven Störungen (wie Lungen- und Nierenfibrose, Leberzirrhose, M. Dupuytren) möglicherweise nicht auf die Gelenkkontraktur übertragbar sein könnten [12].

## **2.4 Notwendigkeit eines neuen Modells**

Um die zugrunde liegenden Pathomechanismen der posttraumatischen Gelenkkontraktur (PTGK) zu untersuchen, wurden schon in den 1970/1980er Jahren erste Tiermodelle im Kaninchen entwickelt [34]. Die meisten Untersuchungen wurden jedoch in der Ratte weitergeführt und konzentrierten sich hauptsächlich auf die Folgen einer längeren Immobilisation. Damit konnte nach einer bestimmten Ruhigstellung eine Kontraktur erzeugt werden [7, 8, 16-21, 23]. Dabei konnten auch histologische

Veränderungen nachgewiesen werden wie eine Fettzellatrophie der synovialen Subtima und eine Zunahme von hyperplastischem Gewebe in der hinteren Kapsel [7], hypoxische und entzündliche Bedingungen, Abnahme der Blutgefäße sowie eine erhöhte Zellenanzahl in der Gelenkkapsel [8] oder eine durch Remobilisation induzierte Entzündung gefolgt von Fibrose, die zu einer Synovialisverkürzung führt [32]. Im Rattenmodell wurde jedoch nicht untersucht, welchen Einfluss eine Remobilisationszeit auf die erzeugte Kontraktur im Kniegelenk nach einem Trauma mit nachfolgender Immobilisation hat. Ein grundlegender Teil der Behandlung der PTGK ist allerdings die konservative Therapie [4]. Die möglichen Folgen einer Remobilisation auf die durch alleinige Immobilisation induzierte Kontraktur untersuchten Trudel et al. und stellten fest, dass sich die auf diese Weise erzeugte Kontraktur durch anschließende Remobilisation verringert. Dabei war die Kontraktur nach kurzzeitiger Immobilisation (eine bis zwei Wochen) hauptsächlich myogenen Ursprungs und durch Remobilisation vollständig reversibel [23]. Ab vier Wochen Immobilisation war die Kontraktur durch Remobilisation nicht mehr komplett zu beheben und es verblieb eine Streckhemmung. Für die Wahl der geeigneten Remobilisationsdauer zeigt sich bei Trudel et al., dass eine gleichlange bis halbe Zeit der Immobilisationsdauer für die Remobilisation ausreicht (bei 4 bis 32 Wochen Immobilisation) [23].

Allerdings reproduzieren diese Modelle den Entstehungsmechanismus der posttraumatischen Gelenkkontraktur beim Menschen nicht vollständig. Dem Krankheitsbild der PTGK liegt ein traumatisches Ereignis zugrunde [4, 5]. Um aber PTGK beim Menschen besser zu simulieren, wurde von anderen Arbeitsgruppen neben der Gelenkimmobilisation auch das Trauma mit Verletzung am osteochondralen Anteil des Femurkondylus und der umliegenden Weichteile einbezogen [11, 35]. Jedoch fehlte bei diesen Modellen die Einbeziehung einer Remobilisationszeit. Lake et al. imitierten im Ratten-Ellenbogen-Modell das Trauma mit dem Einschneiden der Kapsel und des Seitenbandes sowie einer Subluxation, allerdings zunächst ohne Untersuchung der Remobilisationsauswirkungen und mit pflegeintensiver Immobilisation durch Fixierbindung [13]. In der Fortführung der Arbeit mit 6 Wochen Remobilisation konnten Dunham et al. eine maximale Kontraktur im Ellenbogen von 21,6° erzeugen [30].

Mit einer guten Imitation der PTGK im Kaninchenmodell mit Trauma und Remobilisationszeit konnten teilweise dauerhafte Kontrakturen erzeugt werden [2, 14]. Bei Hildebrand et al. waren die erzeugten Kontrakturen allerdings unter Remobilisation rückläufig. Nach einer Remobilisation von 16 oder 32 Wochen blieben von der



Kontraktur keine signifikanten Einschränkungen bestehen [2]. Als mögliche Ursache für den Rückgang des Extensionsdefizites wird eine natürliche inhärente Variabilität bei Kaninchen genannt, da diese genetisch nicht so identisch gezüchtet werden können wie Ratten [2, 36].

Einen Behandlungserfolg der posttraumatischen Gelenkkontraktur am Kniegelenk konnten Li et al. in ihrem Kaninchenmodell nachweisen. Sie erzeugten mit einer 30-tägigen Immobilisationsphase eine Kontraktur bei der Kontrollgruppe von  $120,0^\circ \pm 11,2^\circ$ , welche sich signifikant bei den beiden Behandlungsgruppen, Ibuprofen auf  $44,2^\circ \pm 4,4^\circ$  und Celecoxib auf  $26,4^\circ \pm 3,4^\circ$ , verringerte [11]. Das von Li et al. gesetzte initiale Trauma zur Erzeugung der Kontraktur beinhaltete jedoch eine Verletzung der Gelenkflächen, woraus eine Inkongruenz des Kniegelenkes mit möglichen mechanischen Blockaden resultierte. Weiterhin schlossen sie an die Immobilisation keine Remobilisationsphase an, was eine mögliche Verringerung der Kontraktur unter freier Bewegung des Gelenks außer Acht lässt [11]. Daher ist dieses Modell nur begrenzt geeignet, die kapsulär bedingte posttraumatische Gelenkkontraktur beim Menschen zu simulieren, auf die wir uns in dieser Arbeit fokussieren und die als die kritische bewegungslimitierende Struktur gesehen wird [8, 15, 22, 29, 32].

Ein weiterer vielversprechender medikamentöser Therapieansatz zur Behandlung der posttraumatischen Gelenkkontraktur verwendet die intraartikuläre Injektion von Lentivirus-vermittelter extrazellulärer signalregulierter Kinase 2 small interfering RNA (ERK2 siRNA). Li et al. konnten mit einem Trauma aus kortikaler Fensterung, Inzision der Kreuzbänder und Ruptur der hinteren Kapsel, was mit unserer Arbeit vergleichbar ist, eine Gelenkkontraktur von  $124,0^\circ \pm 12,3^\circ$  erreichen. Durch die oben genannte intraartikuläre Injektion verbesserte sich die Kontraktur auf  $41,2^\circ \pm 5,6^\circ$  und erreichte damit das Niveau der Kontrollgruppe von  $28,1^\circ \pm 3,3^\circ$  und zeigt damit keinen signifikanten Unterschied mehr,  $p > 0,05$ . Jedoch benötigten sie für ihre Kontraktur eine 8-wöchige Immobilisationszeit, berücksichtigten keine Remobilisation und zeigten damit auch nicht, dass ihr aus dem Kaninchenmodell übernommenes Trauma unter Remobilisation dauerhafte Kontrakturen erzeugt [35]. Daher bleibt es speziell im Rattenmodell weiter eine Herausforderung, eine dauerhafte und reproduzierbare Kontraktur zu erzeugen. Die Remobilisation des verletzten Gelenkes kann bei Ratten zu einer schnellen und fast vollständigen Wiederherstellung des Bewegungsumfangs führen [32, 35].

Das Ziel dieser Pilotstudie war die Etablierung eines neuen Rattenkontrakturmodells, welches dauerhafte und reproduzierbare Gelenkkontrakturen erzeugt. Dabei

orientierten wir uns an dem Kaninchenmodell von Nesterenko et al., welches ähnliche Kriterien aus Kapseltrauma, Hämarthros und Immobilisation verwendete [14]. Unsere Kriterien zur Erzeugung und Erforschung der posttraumatischen Gelenkkontraktur waren zum einen das Trauma, welches sich aus der imitierten juxtaartikulären Fraktur mittels Bohrung und aus der Ruptur der posterioren Gelenkkapsel mittels Hyperextension von  $-45^\circ$  zusammensetzt. Zum anderen bedarf es einer geeigneten Immobilisationszeit für die Heilung bzw. Ausbildung der Kontraktur. In der anschließenden Remobilisationszeit darf das Gelenk wieder bewegt werden und innerhalb unseres Untersuchungszeitraums bildet sich eine dauerhafte Kontraktur aus. Bevorzugt sollte dabei ein Gelenk mit einfacherem Aufbau, wie zum Beispiel das Kniegelenk, verwendet werden, um eine bessere Reproduzierbarkeit sicherzustellen. Aus diesem Grund verwendeten wir nicht das Ellenbogengelenk wie bei Lake et al. [13]. Ratten haben weiterhin eine anatomisch günstigere Handhabbarkeit als Mäuse und sind leichter zu untersuchen. Gegenüber dem Kaninchen ist es ein logistisch vorteilhafteres, zeit- und kosteneffizienteres Kleintiermodell. Ebenso kann die ausgeprägtere inhärente (genetische) Variabilität bei Kaninchen vermieden werden, wodurch mit Sprague-Dawley-Ratten weniger Versuchstiere notwendig sind [2, 36].

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Studiendesign

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir 45 männliche Sprague-Dawley-Ratten von der Firma Janvier Labs (CS 4105 Le Genest-Saint-Isle, F-53941 Saint-Berthevin Cedex, Frankreich). Die Tiere hatten zu Beginn des Experiments ein durchschnittliches Gewicht von  $424,3 \text{ g} \pm 39,5 \text{ g}$  und ein Alter von 10 Wochen. Sie wurden bei Raumtemperatur mit einem 12-stündigen Tag/Nacht-Rhythmus (Hell/Dunkel) und in einem abgeschlossenen Laborkomplex der Biosicherheitsstufe 1 gehalten. Jedes Tier bekam einen eigenen Makrolon Typ IV-Käfig (Zoonlab GmbH, Castrop-Rauxel, Deutschland) mit den Maßen (LxBxH) 590x380x200 mm und einer Laufbodenfläche von 1815 cm<sup>2</sup>. Die Ratten konnten sich im Käfig frei bewegen, hatten Versteck- und Spielmöglichkeiten und erhielten nach Anlieferung vom Züchter eine Akklimatisierungszeit von mindestens 5 Tagen. Nahrung und Wasser waren ad libitum erlaubt. Die tägliche routinemäßige Versorgung der Tiere wurde durch das Translational Animal Research Center (TARC – Leitung Dr. med. vet. Jan Baumgart) sichergestellt. Die Studie wurde durch das Landesuntersuchungsamt genehmigt (ID 23 177-07 / G 13-1-043 E1).

27 Tiere verteilten sich auf drei Interventionsgruppen (je n=9), mit welchen wir den zeitlichen Verlauf der Kniegelenkkontraktur nach 4 Wochen Immobilisation (W4) mittels Kirschner-Draht (K-Draht) sowie nach 4 und 8 Wochen Remobilisation (W8 bzw. W12) untersuchten. Alle Ratten erhielten den gleichen chirurgischen Eingriff mit Immobilisation des Kniegelenkes und unterschieden sich lediglich in der Dauer der sich anschließenden Remobilisation mit freier Bewegung im Käfig. Bei der W4-Gruppe folgte direkt nach der K-Draht-Entfernung die Gelenkwinkelmessung ohne Remobilisationszeit. Dem gegenüber als Vergleich verteilten wir 18 Tiere auf drei entsprechende Kontrollgruppen C4, C8 und C12 (je n=6). Sie erhielten keine sham-Operation. Bei ihnen wurde lediglich das ROM entsprechend der zugehörigen Interventionsgruppen sowie der Gewichtsverlauf gemessen. Die Zuordnung der Tiere zur Behandlungs- oder Kontrollgruppe sowie die Auswertung wurden nicht verblindet oder randomisiert (Abb. 7).

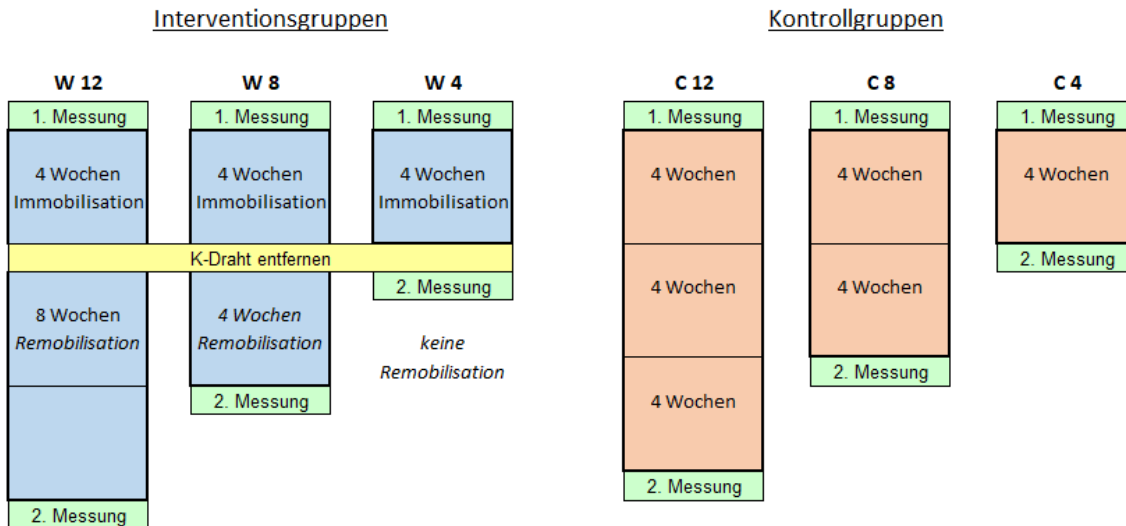


Abbildung 7: grafische Darstellung der Gruppenaufteilung. Vor jeder OP und nach den entsprechenden Wochen wurden der Gelenkwinkel gemessen.

Die Seite des zu operierenden Beines (ipsilaterale Extremität) wurde fortlaufend gewechselt. Damit erhielten die Hälfte der Tiere die Intervention auf der linken Seite und die andere Hälfte auf der rechten Seite. Bei den Kontrolltieren wurde eine Seite als ipsilaterale Seite und die andere als kontralaterale Seite benannt, ohne dass die Tiere eine Operation erhielten. Auch bei dieser Gruppe wurde der Hälfte der Tiere die ipsilaterale Extremität auf der linken Seite und der anderen Hälfte auf der rechten Seite zugewiesen.

### 3.2 Hygiene

Der Laborkomplex wurde nur nach Anwesenheitsdokumentation, Händedesinfektion und Anlegen von OP-Kittel, OP-Haube, Einmal-Galoschen, Mundschutz und Handschuhen betreten. Die Eingriffe wurden in einem Nachbarraum unter sterilen Bedingungen vorgenommen. Bei den Arbeitsflächen wurde eine strenge Trennung zwischen unrein, rein und Operationsbereich eingehalten (Abb. 8). Vor Beginn und nach Abschluss jeder Maßnahme wurden eine Händedesinfektion und eine Desinfektion der Arbeitsflächen durchgeführt. Alle Materialien und Instrumente, die während der Operationen direkten Kontakt zu den Versuchstieren hatten, wurden vor erneuter Verwendung ordnungsgemäß gereinigt und sterilisiert. Alternativ wurden sterile Einmalartikel wie zum Beispiel Abdecktücher, Handschuhe und Skalpelle verwendet.

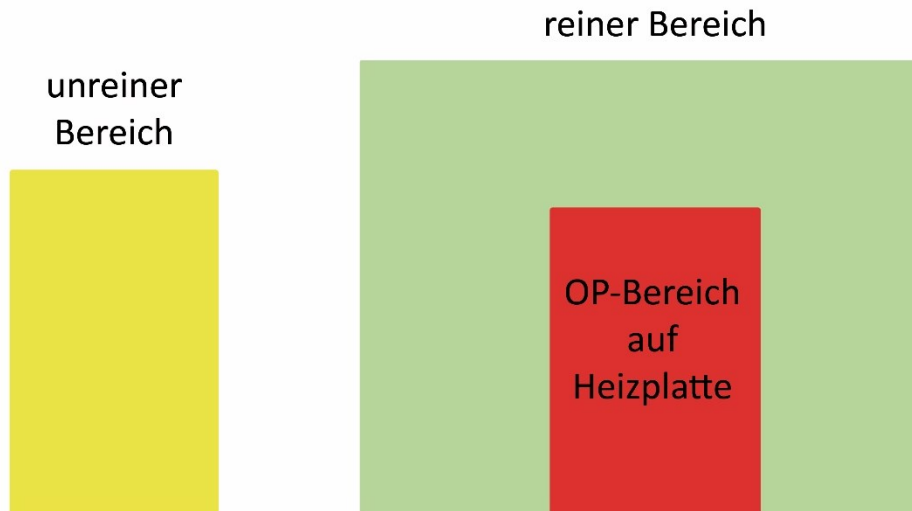


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Arbeitsbereiche

Unrein: die OP-Vorbereitungen wurden auf einem Nebentisch vorgenommen (Rasur, Wiegen, Gabe Narkose und Antagonisierung)

Rein: der OP-Bereich war auf der Wärmeplatte (OP-Durchführung, Warmhalten der narkotisierten Tiere), im reinen Bereich um die Wärmeplatte wurden alle sterilen und gereinigten Materialien und Instrumente bereitgelegt.

### 3.3 Narkose und Analgesie

Die Narkose der Tiere wurde in Übereinstimmung mit dem Tierschutzgesetz und den Vorgaben des Landesuntersuchungsamtes vorgenommen. Die Narkose kontrollierten wir fortlaufend während der Untersuchungen und Eingriffe durch eine Schmerzreflexprüfung. Bei Bedarf wurde die Betäubung in suffizienten Dosen nachgespritzt, so dass bei den Tieren keine Schmerzreaktion zu beobachten war.

#### 3.3.1 Material für Narkose

- Zerstäuber mit Isofluran 1%
- Kunststoffbox für Einleitung, Volumen 4,5 l
- Narkosestammlösung in 15ml-Röhrchen
- 1 ml Spritze für Narkose
- Aufziehkanüle gelb, Größe 1 ( $\varnothing$  0,90 x 40 mm)
- Injektionskanüle grau, Größe 20 ( $\varnothing$  0,40 x 20 mm)
- Waage
- Antidot-Stammlösung in 15ml-Röhrchen
- 2 ml Spritze für Antagonisierung

### 3.3.2 Herstellung der Stammlösungen

Für die Aufrechterhaltung der Anästhesie wurde ein Vorrat an Narkosestammlösung zur subkutanen Injektion aus Fentanyl (0,005 mg/kg KG), Midazolam (4,0 mg/kg KG) und Medetomidin (0,375 mg/kg KG) hergestellt (siehe Tab. 1). Der Vorteil der Stammlösung bestand darin, dass eine einmalige Injektion für die Hypnose und Analgesie für 1-2 Stunden ausreichte.

Die Antagonisierung wurde ebenfalls in einer Stammlösung vorbereitet (siehe Tab. 1). Sie bestand aus Flumazenil (0,2 mg/kg KG) gegen Midazolam und aus Atipamezol (1,0 mg/kg KG), um Medetomidin zu antagonisieren. Die gewünschte analgetische Wirkung von Fentanyl wurde als Schmerztherapie nicht vorzeitig beendet. Nach abgeschlossener Operation und dem Kontrollröntgen konnte das Antidot subkutan verabreicht werden und ließ die Ratte innerhalb von 2-4 Minuten erwachen.

Tabelle 1: Narkoselösung<sup>1-3</sup> & Antagonisierung<sup>4-5</sup> mit Beispiel

Narkoselösung & Antagonisierung für eine 400 g schwere Ratte				
Medikament	Dosierung	Konzentration	benötigte Medikamentenmenge	benötigte Menge Stammlösung
Fentanyl <sup>1</sup>	0,005 mg/kg GK	0,05 mg/ml	0,040 ml/Ratte	
Midazolam <sup>2</sup>	4 mg/kg GK	5 mg/ml	0,320 ml/Ratte	<b>0,510 ml/Ratte</b>
Medetomidin <sup>3</sup>	0,375 mg/kg GK	1 mg/ml	0,150 ml/Ratte	
Flumazenil <sup>4</sup>	0,2 mg/kg GK	0,1 mg/ml	0,8 ml/Ratte	
Atipamezol <sup>5</sup>	1 mg/kg GK	5 mg/ml	0,08 ml/Ratte	<b>0,88 ml/Ratte</b>

<sup>1</sup> Fentanyl, (Fentanyl-Janssen 0,05mg/ml, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Germany)

<sup>2</sup> Midazolam, (Midazolam-hameln 5mg/ml, hameln pharma plus gmbh, Hameln, Germany)

<sup>3</sup> Medetomidin, (Dorbene vet 1mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Germany)

<sup>4</sup> Flumazenil, (Flumazenil Hikma 0,5mg/5ml, Hikma Pharma GmbH, Gräfelfing, Germany)

<sup>5</sup> Atipamezol, (Alzane 5mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Germany)

### 3.3.3 Narkoseeinleitung

Zur Einleitung der Narkose wurde ein Zerstäuber an die Kunststoffbox mit der Ratte angeschlossen und das Gemisch aus Sauerstoff und 1% Isofluran (Forene) zugeleitet (Abb. 9). Nach einer Inhalationszeit von drei Minuten konnte das betäubte Tier entnommen und für die Injektionsnarkose gewogen werden.

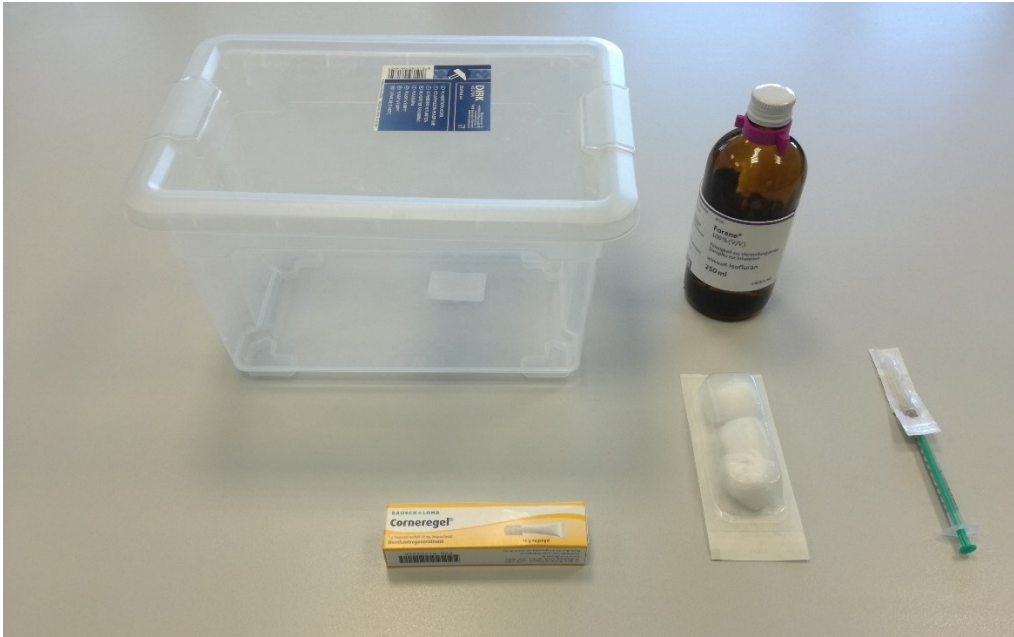


Abbildung 9: Material für die Inhalations- und Injektionsnarkose

### 3.3.4 Injektionsnarkose

Nach der Narkoseeinleitung mittels Isofluran erfolgte die gewichtsadaptierte subkutane Injektion mit der Stammlösung aus Fentanyl, Midazolam und Medetomidin zur Aufrechterhaltung der Anästhesie (siehe Kapitel 3.3.2, Tab. 1 und Abb. 10).



Abbildung 10: Applikation der subkutanen Injektionsnarkose

### 3.3.5 Augenschutz

Um die Kornea vor Austrocknung zu schützen, wurde nach Eintreten der Narkose Corneregel® (Augenschutzsalbe, siehe Anhang) auf die Augen der Ratten aufgebracht. Je nach Dauer des gesamten Prozederes wurde dies wiederholt.

### 3.3.6 Narkoseausleitung

Nach abgeschlossener Operation erfolgte die gewichtsadaptierte subkutane Injektion der Antagonisierungs-Stammlösung aus Flumazenil und Atipamezol, die die Tiere innerhalb von 2-4 Minuten aus der Narkose erwachen ließ (siehe Kapitel 3.3.2).

### 3.3.7 Postoperative Schmerztherapie

Die postoperative Schmerztherapie wurde mittels Tramadol (100 mg/ml) durchgeführt und in der Dosierung 1 mg/ml-Trinkwasser der Trinkflasche zugegeben. Mit der prophylaktischen Gabe zwei Tage vor der Operation sollten sich die Versuchstiere an den veränderten Geschmack adaptieren. Nach der Operation erhielten die Ratten für 7 Tage Tramadol im Trinkwasser zugesetzt.

## **3.4 Präoperative Messung der Gelenkwinkel**

### 3.4.1 Material zur Vermessung der Tiere

- Einspannvorrichtung aus Kunststoffplatten
- Federwaage 1 N
- Halteklemmen / Federzwinge
- Schraubzwinde klein
- Eichmarkierung  $\varnothing$  18,75 mm für Röntgen

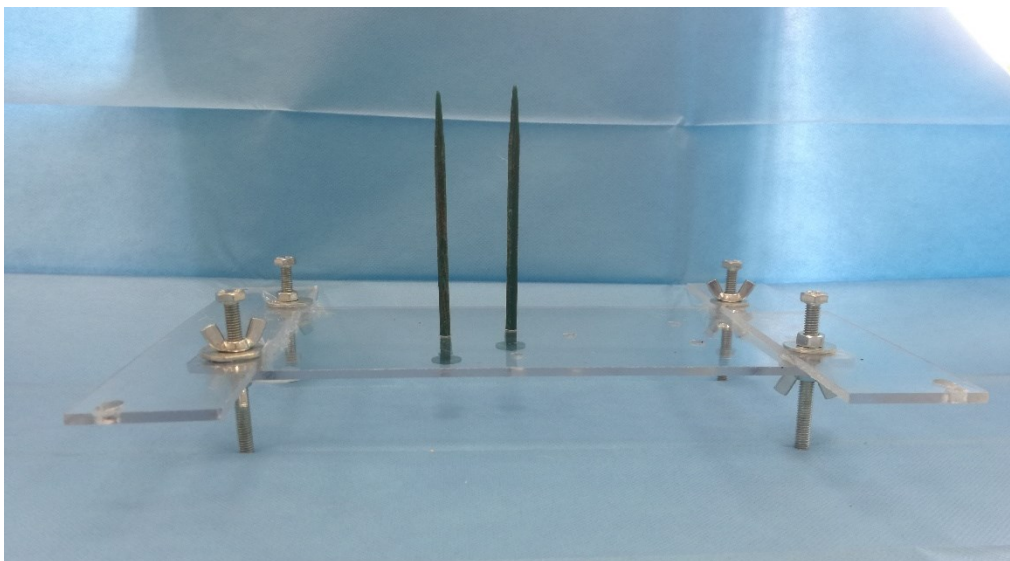


Abbildung 11: Einspannvorrichtung, seitlich ohne Versuchstier



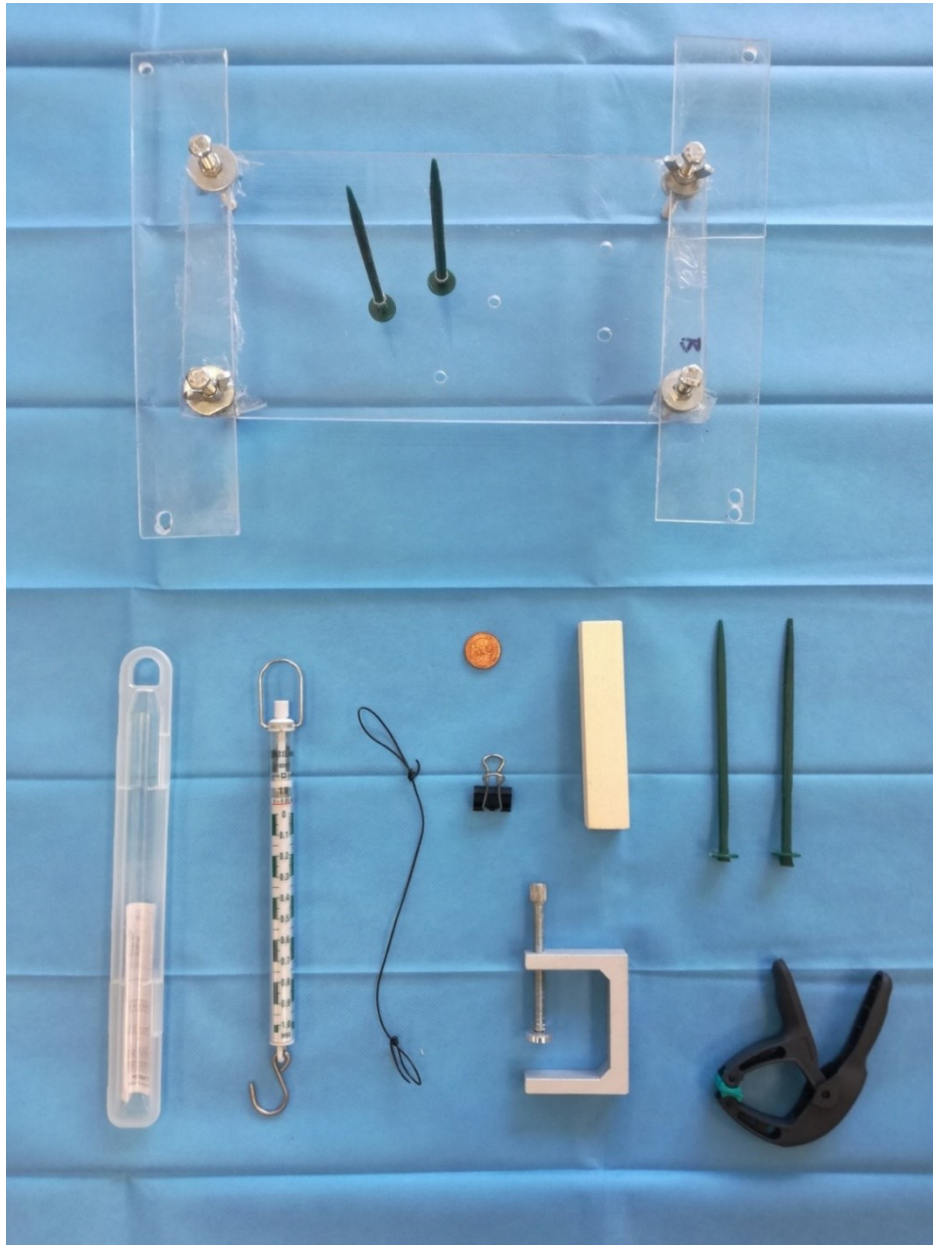


Abbildung 12: Material für die Gelenkwinkelvermessung der Tiere

### 3.4.2 Vermessung der Tiere

Das narkotisierte Tier wurde mit der zu vermessenden Seite nach unten auf ein Gestell aus Acrylglas gelegt (siehe Abb. 11-13).



Abbildung 13: Eingespanntes Versuchstier vor der seitlichen Röntgenbildaufnahme

Der Kunststoffstift vor dem Femur diente als Widerlager, der weitere Kunststoffstift und das Kantholz zur Stabilisierung der Hüfte und des Rumpfes (Abb. 12). Durch diese Maßnahmen konnten wir ein planes Aufliegen des zu vermessenden Beines und eine anatomisch achsengerechte Position erreichen (Abb. 13). Um das Sprunggelenk wurde im Abstand von 35 mm zum Drehzentrum eine flexible Drahtschnur gelegt und mit einer Federwaage von 1 N Zugkraft rechtwinklig zur Unterschenkelachse angezogen. Diese Position wurde mit einer Klemme/Zwinge an der Einspannvorrichtung fixiert. Aus der Zugkraft und dem Abstand zum Drehzentrum ergab sich ein Drehmoment von 35 Nmm, um die maximale physiologische Extension zu erreichen. Damit blieben wir unter dem ermittelten Niveau von größer 130 Nmm, welches zur Zerstörung von Knochen- und Gewebestrukturen führt [19, 22, 29, 37]. Das eingespannte Tier konnte nun mit der gesamten Vorrichtung in den Röntgenschränk gelegt werden (Abb. 13). Mit Hilfe des Kleintierröntgengerätes MX-20 (Faxitron Bioptics, Tucson USA) wurde vom Kniegelenk ein seitliches Röntgenbild aufgenommen. Das angezeigte Röntgenbild wurde auf korrekte Lage des Beines überprüft, bei der sich die Femurkondylen deckungsgleich überlagern sollen. Ebenso wurde die Gegenseite (kontralaterale Extremität) eingespannt und der Extensionswinkel mit einem Röntgenbild dokumentiert. Als Eichmarkierung verwendeten wir eine Zwei-Cent-Münze mit  $\varnothing$  18,75 mm.

### 3.5 Operationen

Zur Vorbereitung auf die Maßnahmen wurde das zu operierende Bein des Tieres am unreinen Arbeitsbereich mit einem Haarschneider (Aesculap Favorita CL) rasiert. Danach erfolgte die erneute Applikation von Augenschutzsalbe, um die Kornea vor Austrocknung zu schützen. Der reine Bereich wurde steril abgedeckt, die Wärmeplatte auf 37,0°C vorgeheizt und alle sterilisierten Geräte und Materialien bereitgelegt. Um das Versuchstier vor Auskühlung zu schützen, lagerten wir es umgehend in Seitenlage auf der Wärmeplatte. Auf ihr wurden auch alle operativen Maßnahmen vorgenommen. Vor Beginn aller operativen Eingriffe prüften wir erneut die ausreichende Narkosetiefe anhand eines caudalen und interdigitalen Schmerzreizes. Erst bei Ausbleiben der Abwehrreaktionen auf Schmerzreize wurde mit der Operation begonnen.

Zum Zweck der Risikoreduktion desinfizierten wir vorher die Haut des zu operierenden Beines dreimal mit Braunol 7,5%. Nach der Einwirkzeit von 10 Minuten bei talgdrüsenreicher Haut konnte mit den einzelnen Operationsschritten begonnen werden (siehe Kapitel 3.6). Nach Fertigstellung der Operation durch den Wundverschluss erfolgte eine erneute Desinfektion mit Braunol 7,5% und nach Trocknung anschließend der Sprühverband.

Postoperativ visitierten wir die Tiere während ihrer Tramadol-Schmerztherapie alle ein bis zwei Tage. Wir kontrollierten den Heilungsverlauf, das allgemeine Verhalten und die Entwicklung des Gewichts. Auffälligkeiten wurden notiert und bei Bedarf den Tierpflegern und dem zuständigen Tierarzt weitergegeben.

Alle verwendeten Geräte, Instrumente, Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind detailliert mit Handelsnamen und Hersteller im Anhang aufgelistet, siehe Abb. 14 und Kapitel 8.

#### 3.5.1 Material und Instrumente zur Operation

##### **Allgemeines Material &**

##### **Verbrauchsmaterial**

- Unterlage / Abdecktuch
- K-Draht  $\varnothing$  0,6mm x 70mm
- OP-Handschuhe M
- Tupfer
- Kompressen 10x10 cm

##### **OP-Instrumente**

- Pinzette, anatomisch
- Pinzette, chirurgisch
- feine Pinzette, anatomisch
- Einmalskalpelle #15 und #23
- Nadelhalter

- Nahtmaterial: Vicryl® 4-0, resorbierbar/ geflochten
- Haut Nahtmaterial: Ethilon® 4-0, nicht-resorbierbar/ monofil
- Sprühverband: Opsite
- Spritze 20 ml
- Mini-Spike
- NaCl-Lösung 0,9%, 100 ml
- Augenschutzsalbe: Corneregel
- Hautdesinfektion: Braunol 7,5 %
- Flächendesinfektion: Terralin liquid
- Wundspreizer
- feine Präparierschere
- Muskelhaken, 3-Zinker
- Dissektor
- Nierenschale
- Bohrmaschine mit flexibler Welle
- Bohrer 1,2 mm Durchmesser
- Bohrer 2 mm Durchmesser
- Drahtschneider
- Wärmeplatte
- Lichtquelle
- Haarschneider
- Kleintier-Röntgengerät



Abbildung 14: Übersicht Material und OP-Instrumente

### 3.5.2 Spezielle Instrumente

#### **Für die K-Draht Entfernung**

- Drahtschneider
- Stellbrink-Zange
- Schere

#### **Für die Myotomie**

- Muskelhaken, 3-Zinker

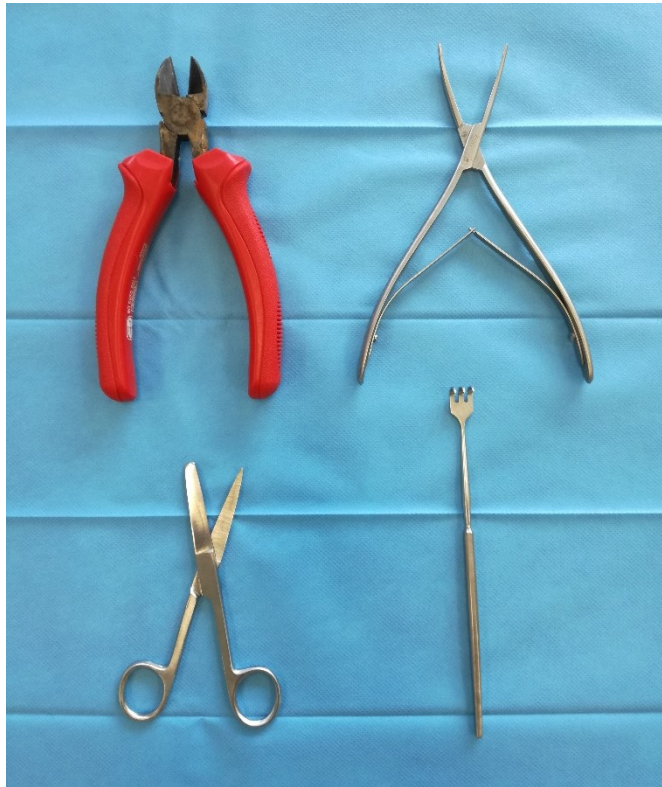


Abbildung 15: Instrumente für die K-Draht Entfernung und Myotomie (von rechts nach links)

#### **Für die Auswertung**

- Röhrchen 50ml für die histologischen Proben der Kniegelenke
- Eppendorf-Röhrchen 1,5 ml für die Kapselbestandteile zur RNA-Analyse
- Formaldehydlösung 4,5% (Histofix)
- RNA-Later (RNA<sup>later</sup>®)

## **3.6 Einzelne Operationsschritte**

### 3.6.1 Hyperextensionstrauma

Im Anschluss an die Anzeichnung des Hautschnittes und die Desinfektion prüften wir erneut die ausreichende Narkosetiefe. Das Kniegelenk wurde zur Induktion einer Ruptur der posterioren Gelenkkapsel bis zu einem spürbaren Widerstandsverlust bis - 45° überstreckt (Abb. 16).



Abbildung 16: Setzen des Hyperextensionstraumas

### 3.6.2 Arthrodesen-Operation und Kortikalisbohrung

Nach der Narkoseeinleitung, der präoperativen Gelenkwinkelmessung, der Desinfektion und dem Setzen des Hyperextensionstraumas erfolgte der längsgestellte Hautschnitt über dem mittleren Drittel der Tibiavorderkante auf einer Länge von 1,5 cm (Abb. 17 a).

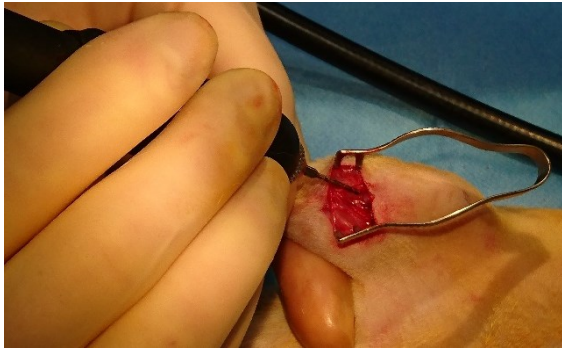
Um den Knochen freizulegen, wurden nun Teile der Muskelansätze an der anteromedialen Tibiavorderkante (Musculi tibialis) gelöst (Abb. 17 b) und nach medial retrahiert [38]. Es folgte eine aufsteigende Bohrung an der Tibiavorderkante mit dem Durchmesser 1,2 mm von Richtung anterior nach posterior und nach kranial ansteigend (Abb. 17 c, d und 18 a). Die Wunde wurde gespült, um Knochenspäne und Koagel zu entfernen.



a: Schnittführung



b: gelöste Muskelansätze (Spitze des Skalpells)



c: Bohrung Tibia



d: Bohrloch Tibia anteromedial

Abbildung 17: Übersicht Tibia (a-d)



Abbildung 18: schematische Übersicht der einzelnen operativen Schritte (Abbildung aus [28])

Der zweite Hautschnitt erfolgte über dem lateralen Oberschenkel, beginnend nahe des Knies nach proximal. Es wurde die Fascia lata im mittleren Drittel des Femurs inzidiert und entlang des Septums intermusculare femoris laterale (Abb. 20 a) stumpf bis zum Femur präpariert (Abb. 20 b). Durch die Separierung des M. biceps femoris, Caput vertebralis und des M. vastus lateralis [38] konnten der laterale Femurkondylus und die Grenzen des Kniegelenks dargestellt werden (Abb. 19). Bei einer 10 Wochen alten männlichen Sprague-Dawley-Ratte misst der Femurkondylus an der größten Stelle sagittal 8,0 mm und frontal 6,0 mm (Abb. 18 a).

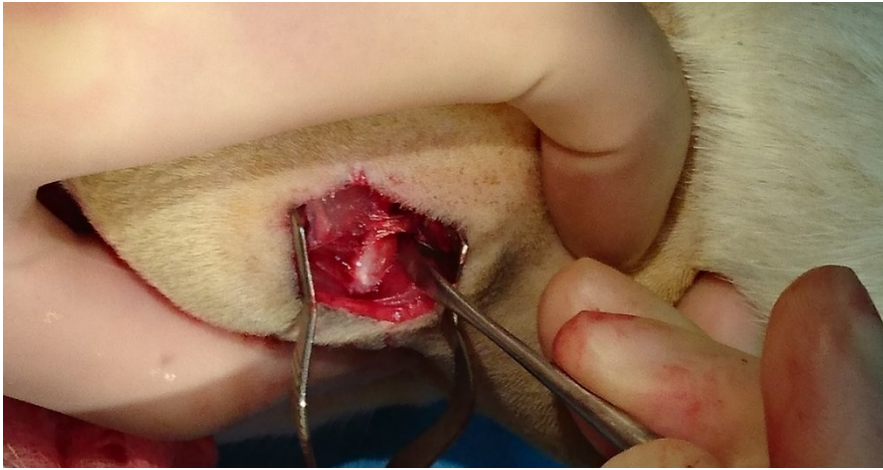


Abbildung 19: Sicht auf den freigelegten Condylus lateralis femoris

Es wurde nun von Hand mit einem 2 mm Bohrer ein Loch von 4 mm Tiefe in die äußere Kortikalis des nicht-knorpeligen Teils des Condylus lateralis femoris gebohrt, um eine standardisierte intraartikuläre Knochenläsion zu erzeugen (Abb. 20 c, d und 18 b). Diese führt zu Blutungen im Gelenk und ahmt eine juxtaartikuläre Fraktur nach [2, 14, 39]. Wir achteten darauf, dass laterale Seitenband nicht zu beschädigen und die Patella nicht zu luxieren. Nach Setzung der intraartikulären Knochenläsion wurde die Wunde gespült.



a: Schnittführung, zwischen den Wundwinkeln ist das Septum intermusculare erkennbar

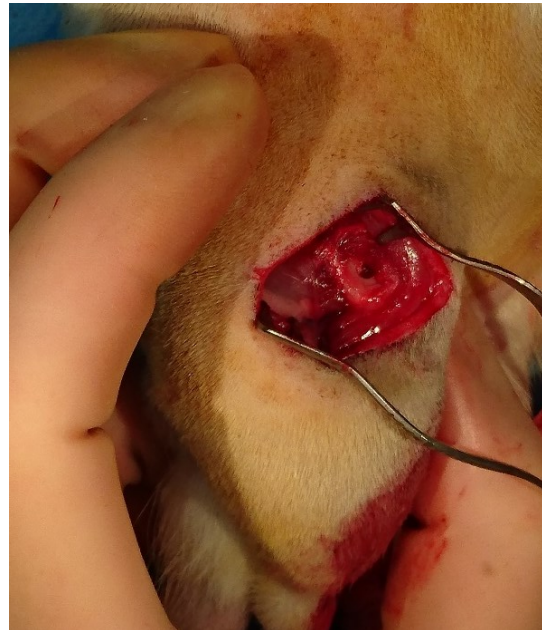


b: stumpfe Präparation zum Femur





c: Bohrung Condylus lateralis



d: Bohrloch Condylus lateralis femoris,  
Erzeugen der intraartikuläre Knochenläsion

Abbildung 20: Übersicht Femur (a-d)

Zum Bohren des zweiten Loches für den K-Draht von 0,6 mm Durchmesser wurde dieser stumpf durch das tibiale Bohrloch und die Weichteile des flektierten Beines geführt, so dass er am Femur detektiert werden konnte. Nach Anzeichnen einer geeigneten Stelle wurde ein weiteres Bohrloch mit 1,2 mm Durchmesser in antero-posteriorer Richtung, leicht absteigend durch die Femurdiaphyse gebohrt (Abb. 21 und 18 c). Danach wurde die Wunde erneut gespült.

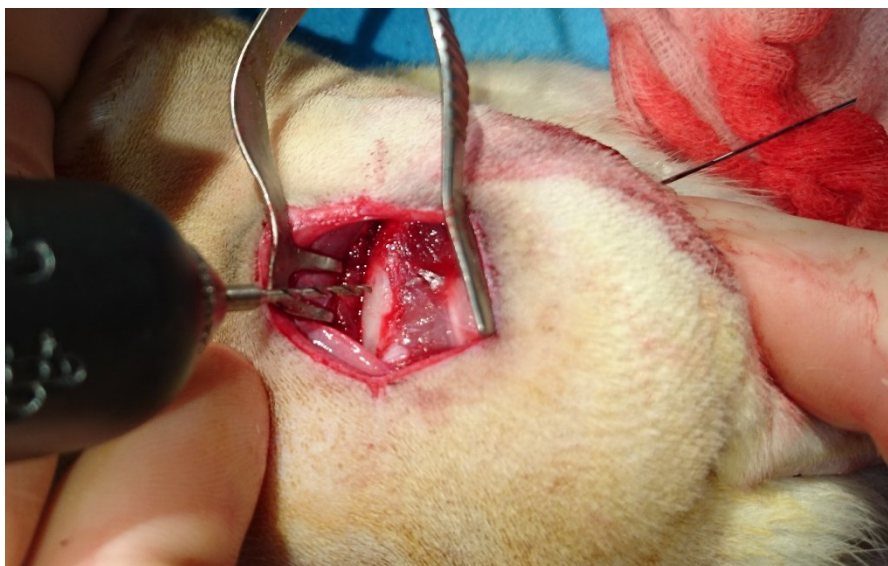


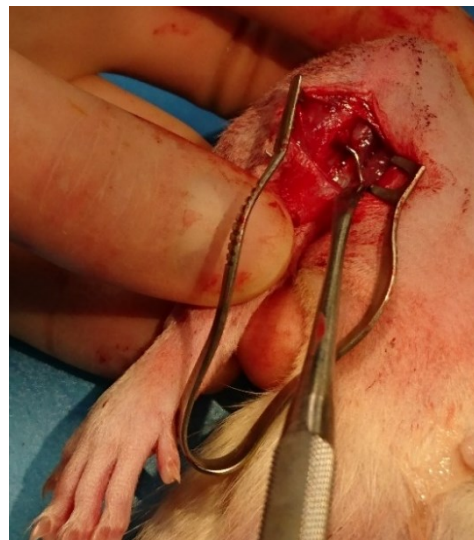
Abbildung 21: Bohrung Femur nach Drahtdetektion

Der K-Draht konnte anschließend durch beide Femurkortizes gefädelt werden (Abb. 22 a und 18 d). Dabei konnte es hilfreich sein, am lateralen und dorsalen Femurschaft die Muskelansätze um das Bohrloch punktuell zu lösen, sodass ein Einsehen bzw. Ertasten des dorsalen Bohrloches leichter möglich wurde.

Der Draht wurde nach Passage des Femurs femurseitig zu einem Haken gebogen, über die Tibia zurückgezogen (Abb. 18 e) und in endgradiger Flexion des Kniegelenkes (ca. 30°) durch Umbiegen um die Tibia fixiert. Nun konnte das tibiale Drahtende gekürzt und ebenfalls zu einem Haken gebogen werden (Abb. 22 b und 18 f).



a: Verlauf K-Draht



b: tibiaseitiger K-Draht-Haken



c: Faszienverschluss, Einzelknopfnah



d: Einzelknopf-Hautnaht

Abbildung 22: Übersicht temporäre Arthrodese und Naht (a-d)

Abschließend wurden beide Wundhöhlen erneut mit Natriumchloridlösung (NaCl) gespült und eine anatomisch korrekte Artikulation des Kniegelenkes einschließlich der Patella überprüft. Die freigelegten Knochenstellen mit den Drahtenden wurden durch eine Faziennaht mit 4-0 Vicryl®-Nähten gedeckt (Abb. 22 c) und die Haut mit 4-0 Ethilon®-Nähten in Einzelknopftechnik verschlossen (Abb. 22 d).

Nach jeder temporären Arthrodese wurde der Fixierungswinkel und die stabile Position des Drahtes durch eine seitliche Röntgenaufnahme des operierten Beines kontrolliert und eine mögliche Fraktur ausgeschlossen (Abb. 23).

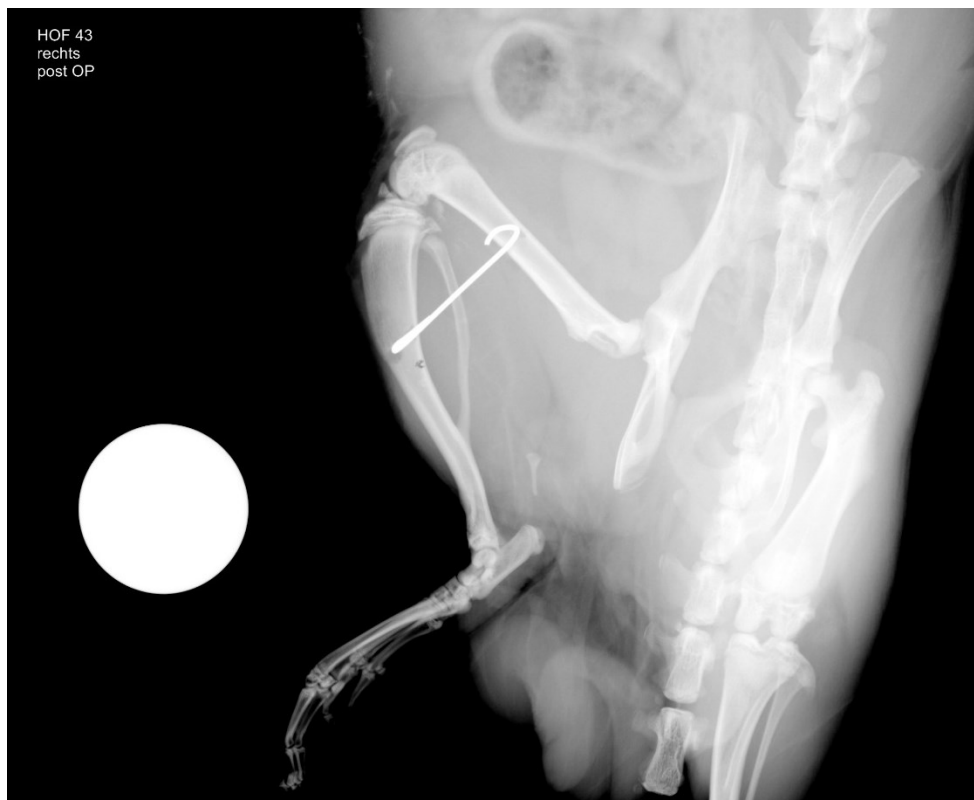


Abbildung 23: Postoperative Röntgenkontrolle nach Einbringen der temporären Arthrodese

### 3.6.3 Entfernung der temporären Arthrodese

Bei allen Tieren wurde nach 4 Wochen temporärer Arthrodese der K-Draht durch eine erneute Operation entfernt. Dafür wurden die gleichen oben beschriebenen Zugangswege erneut genutzt.

Nach schonender und blutungsarmer Präparation bis zum Draht befreiten wir die K-Drahtenden mit einer Stellbrink-Zange (Abb. 15) von unterschiedlich stark ausgeprägter Kallusbildung. Dies war meist an der Tibiavorderkante der Fall. Nun wurde das umgebogene Drahtende an der Tibiaseite mit der Drahtschere abgeschnitten und der Draht über den femoralen Zugang herausgezogen. Die

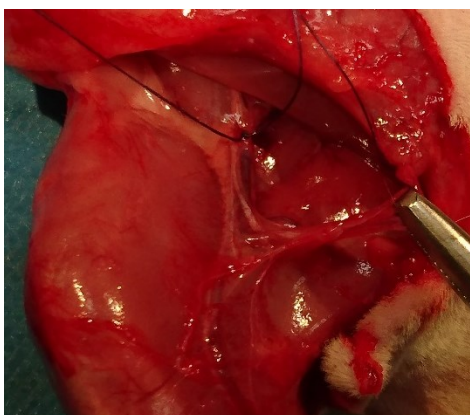
Wundhöhlen wurden anschließend mit NaCl gespült. Bei Blutungen durch die Kallusentfernung warteten wir deren spontane Sistierung ab. Beide Operationszugänge wurden wie bereits bei dem Einbringen des Drahtes verschlossen. Die subcutane Fasziennaht erfolgte mit 4-0 Vicryl®-Nähten und die Hautnaht mit 4-0 Ethilon®-Nähten.

Das Vorgehen bei der Narkose und der postoperativen Schmerztherapie war identisch wie beim Einbringen der Arthrodesis und wurde ebenfalls separat dokumentiert. Nach der K-Draht-Entfernung schloss sich je nach Gruppenzugehörigkeit (siehe Kapitel 3.1 Studiendesign) erst eine Remobilisationszeit oder umgehend die abschließende Gelenkwinkelmessung mit Extremitätenentnahme an (siehe Kapitel 3.6.4).

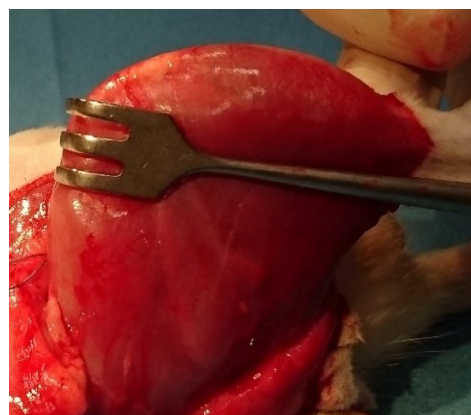
#### 3.6.4 Entnahme der Extremität

Nach Abschluss der Remobilisationszeiten je nach Interventionsgruppe wurde die maximale Extension im Kniegelenk der Tiere erneut gemessen (Messmethode siehe Kapitel 3.4). Um den myogenen Einfluss des Streckdefizites zu messen, erfolgte nach der Myotomie eine erneute Gelenkwinkelmessung der Extension (Abb. 24 d).

Zunächst wurde das Fell an der betreffenden Extremität abpräpariert. Danach wurden die Leistengefäße zwischen den Faszien freigelegt und ligiert (Abb. 24 a). Für eine standardisierte Myotomie wurden jeweils zehn Millimeter oberhalb und unterhalb des Kniegelenks zirkuläre Schnitte mit dem Skalpell um Femur und Tibia/Fibula gezogen (Abb. 15, 24 b und c). Auch die Muskelansätze zwischen Tibia und Fibula wurden gelöst.



a: ligierte A./V. femoralis (angezügelt)



b: Abmessung zur standardisierten Myotomie nach Entfernung des Fells



c: zirkuläre Myotomie mit dem Skalpell



d: Vermessung nach Myotomie

Abbildung 24: Übersicht Myotomie und Entnahme der Extremität (a-d)

Nun konnte die Extremität mit Zuhilfenahme der Schere und des Skalpells im Hüftgelenk exartikuliert werden. Für das anschließende Vermessen der maximalen Extension wurde der Trochanter minor mit dem Drahtschneider entfernt. So war eine plane Auflage der Extremität auf der Messvorrichtung möglich (Abb. 24 d).

Die Ratte war bis zu diesem Zeitpunkt weiterhin narkotisiert und wurde nach Entnahme der Extremität mit CO<sub>2</sub> euthanasiert.

### 3.6.5 Konservieren der Präparate

Für die Histologiepräparate wurden das Femur und die Tibia / Fibula gekürzt und das Kniegelenk in einem 50 ml Röhrchen mit Formalin fixiert. Für die Analyse der RNA wurde die dorsale Kapsel abpräpariert und in einem 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen mit 1 ml RNA-Later versetzt.

## **3.7 Gelenkwinkelbestimmung am Röntgenbild**

### 3.7.1 Definition der Achsen und des Gelenkwinkels

Wir definierten für die Gelenkwinkelmessung im Röntgenbild in seitlicher Ansicht einen Winkel zwischen der Längsachse des Femurschaftes und der Längsachse des Unterschenkels (Linie zwischen Tibiaplateau und der Mitte des oberen Sprunggelenkes), siehe Abb. 25.

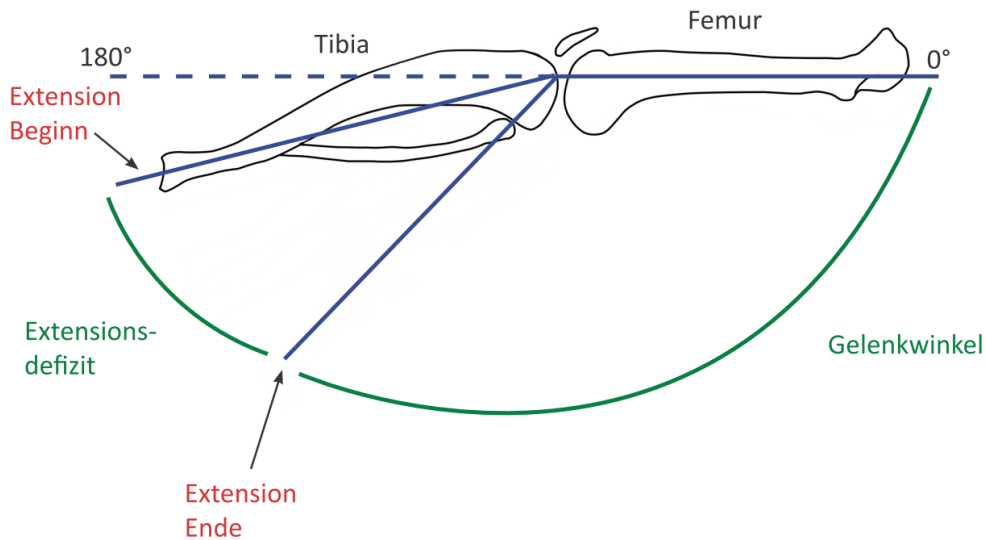


Abbildung 25: Extensionsdefizit einer Rattenextremität zu Beginn und am Ende des Untersuchungsintervalls. Messung des Gelenkwinkels am Röntgenbild. Grafische Darstellung der Extremität in seitlicher Ansicht.

Ein Gelenkwinkel (GW) von  $180^\circ$  entspricht dabei einer vollen Streckung im Kniegelenk (Neutral-Null-Methode:  $0^\circ$ ), die bei Ratten nicht physiologisch ist. Daher wurde der GW (maximale Extension) bei voller Streckung mit 35 Nmm Zugkraft für jedes Tier individuell als Ausgangswert bestimmt (Abb. 25).

### 3.7.2 Definition der Extensionsdefizite und der Kontraktur

Für die Ermittlung des gesamten Extensionsdefizites (ED) führten wir zu Beginn der Untersuchungen bei allen Tieren eine Extensionsmessung mit 35 Nmm Drehmoment durch. Je nach Gruppe wurde nach 4, 8 oder 12 Wochen die Extensionsmessung wiederholt. Die Differenz aus beiden Messungen (Endmessung minus Startmessung) ergab das gesamte Extensionsdefizit. Dieses ED ist bei den Kontrolltieren das physiologische Extensionsdefizit und bei den Tieren der Interventionsgruppen das pathologische Extensionsdefizit.

Um die verschiedenen Anteile am gesamten Extensionsdefizit herauszufinden, führten wir nach der Extensionsmessung eine vollständige gelenknahe Myotomie einen Zentimeter superior und inferior der Gelenklinie durch (siehe Abb. 24 c). Eine erneute Messung der Extension ergab als Extensionsverbesserung den myogenen Anteil einschließlich der Dermis. Durch Subtraktion des myogenen Anteils vom gesamten ED errechneten wir den arthrogenen Anteil des ED, siehe Abb. 26.

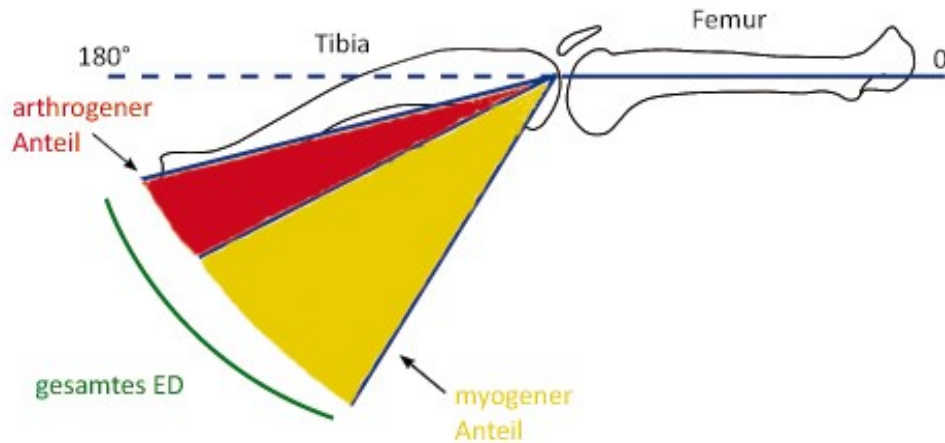


Abbildung 26: Die verschiedenen Anteile am gesamten Extensionsdefizit, arthrogener Anteil rot, myogener Anteil gelb. Grafische Darstellung der Extremität in seitlicher Ansicht.

Die posttraumatische Gelenkkontraktur (PTGK) errechneten wir anschließend durch Subtraktion des physiologischen Extensionsdefizites der Kontrollgruppen (Cx) von dem pathologischen Extensionsdefizit der zugehörigen Interventionsgruppen (Wx).

### 3.7.3 Vermessung der Röntgenbilder

Die Gelenkwinkel wurden mit dem Programm ImageJ Version 1.50e gemessen (<https://imagej.net>). Mit der Funktion „Winkelberechnung“ wurden die Achsen von Femur und Tibia eingezeichnet und deren Winkel zueinander berechnet. Der Winkel wurde über „Analyse“ und „Measure“ in einer separaten Tabelle angezeigt (Abb. 27).

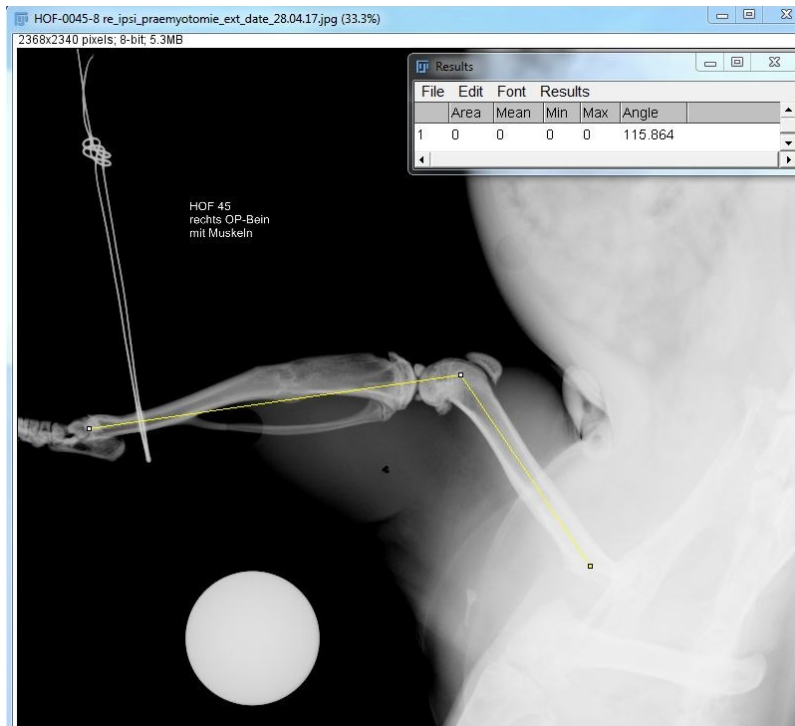


Abbildung 27: Röntgenbild mit den eingezeichneten Achsen zur Winkelberechnung nach der Definition von Kapitel 3.7.1 und der Ausgabetabelle

### 3.8 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit dem Programm „SPSS 23“ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Die benötigte Lizenz wurde über die Universitätsmedizin Mainz bereitgestellt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Unterstützung durch das Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI). Alle Ergebnisse werden als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt. Als statistische Tests wurden mit einem 95%-Konfidenzintervall je nach untersuchtem Zusammenhang der verbundene oder der unverbundene t-Test (2-Stichproben t-Test) verwendet. Die Varianzhomogenität wurde bei  $p < 0,05$  mit dem Levene-Test geprüft. In den Abbildungen im Boxplot (siehe Kapitel 4) werden milde Ausreißer mit O (mehr als 1,5-facher Interquartilsabstand) und extreme Ausreißer mit \* (mehr als 3-facher Interquartilsabstand) gekennzeichnet. Die Ausreißer wurden als echte Ausreißer gesehen und im Datensatz für die Analysen belassen.



## 4 Ergebnisse

### 4.1 Gruppenaufteilung

Nach Analyse der Literatur planten wir die Studie mit drei Interventionsgruppen W4, W8 und W12 (je n=9) und drei entsprechenden Kontrollgruppen C4, C8 und C12 (je n=6). Wegen eines Zuordnungsfehlers wurde ein zusätzliches Tier in der Gruppe W8 operiert. Drei Tiere wurden in der Gruppe W12 zusätzlich operiert, da die Isolation der Kapsel-RNA fehlschlug, die Gruppengröße betrug daher n=12. Als Gesamtzahl ergibt sich n-Gesamt: 49 Versuchstiere.

### 4.2 Ergebnisse der Extensionsdefizite

Nach Durchführung des Hyperextensionstraumas bei der ipsilateralen Extremität – wie unter Kapitel 3.6.1 beschrieben – folgte die vierwöchige K-Draht-Arthrodesebehandlung des Kniegelenks. Bei der 4-Wochen-Gruppe (W4) wurde die postoperative maximale Extension im operierten Kniegelenk direkt nach Entfernung des K-Drahtes bestimmt. Das zugehörige gesamte Extensionsdefizit (ED) errechneten wir aus der Differenz von maximaler prä- und postoperativer Streckung (Tab. 2). Als Differenz auf der ipsilateralen Interventionsseite ermittelten wir für die W4 (ipsilaterale Interventionsseite) ein pathologisches Extensionsdefizit von  $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  bei einem Median von  $59,6^\circ$ . Durch die Myotomie ergab sich bei der W4 ein myogener Anteil am gesamten ED von  $20,9^\circ \pm 12,4^\circ$ , Median  $15,8^\circ$ .

Bei dem ED der kontralateralen Extremität (Seite ohne Arthrodesese) errechneten wir ein Defizit von  $8,5^\circ \pm 7,6^\circ$  mit einem Median von  $8,5^\circ$ . Der myogene Anteil war kontralateral  $20,1^\circ \pm 8,3^\circ$ , Median von  $20,3^\circ$ .

Bei der 8-Wochen-Gruppe (W8) schloss sich nach der vierwöchigen Ruhigstellung mittels K-Draht-Arthrodesese und deren operativer Entfernung eine vierwöchige Remobilisationszeit mit freier Bewegung im Käfig an. Nach der Gesamtzeit von acht Wochen nach der ersten Operation folgte in Narkose die Messung der Extension vor und nach Myotomie. Wir stellten für die ipsilaterale Extremität (mit Intervention) ein ED von  $40,3^\circ \pm 8,8^\circ$  fest, der Median betrug  $40,9^\circ$ . Nach der Myotomie war ein Streckungsgewinn (myogener Anteil) von  $20,6^\circ \pm 14,8^\circ$ , im Median  $20,5^\circ$ , möglich.

Für die kontralaterale Extremität maßen wir ein ED von  $4,2^\circ \pm 12,1^\circ$ , Median von  $2,1^\circ$ . Der myogene Anteil war hierbei mit  $17,7^\circ \pm 9,6^\circ$ , im Median  $21,4^\circ$  an der Streckung beteiligt.

Die 12-Wochen-Gruppe (W12) wurde nach der vierwöchigen Ruhigstellung mittels K-Draht-Arthrodesen und deren operativer Entfernung acht Wochen lang mit freier Bewegung im Käfig remobilisiert. Nach der Gesamtzeit von zwölf Wochen folgte in Narkose die Messung der Extension vor und nach Myotomie. Bei der ipsilateralen Extremität (Interventionsseite) betrug das ED  $38,5^\circ \pm 14,1^\circ$  bei einem Median von  $39,5^\circ$ . Die myogene Komponente am ED war nach Myotomie  $14,2^\circ \pm 7,6^\circ$  bei einem Median von  $16,4^\circ$ .

Für die kontralaterale Extremität konnten wir ein ED von  $12,7^\circ \pm 9,5^\circ$  feststellen, Median von  $13,8^\circ$ . Durch die Myotomie ermittelten wir einen myogenen Anteil von  $17,0^\circ \pm 7,8^\circ$  mit dem Median von  $18,6^\circ$  am gesamten ED.

Zu jeder der drei Interventionsgruppen führten wir eine Kontrollgruppe mit je 6 Tieren (Tab. 2). Auch wenn die Tiere keine Intervention erhielten, definierten wir eine Seite als ipsilaterale und die andere als kontralaterale Extremität. Wie bei den Versuchstieren mit Intervention wurden auch in der Kontrollgruppe beide Hinterläufe vermessen. Daraus errechneten wir wie oben das gesamte ED, welches bei der Kontrollgruppe auch als physiologisches Extensionsdefizit bezeichnet wird.

Für die 4-Wochen-Kontrollgruppe (C4) erhoben wir für die ipsilaterale Seite ein ED von  $12,1^\circ \pm 8,8^\circ$  mit Median von  $10,8^\circ$ . Durch die Myotomie konnten wir einen Anteil von  $23,6^\circ \pm 8,8^\circ$ , Median  $24,1^\circ$  als myogen identifizieren. Für die Gegenseite maßen wir ein ED von  $3,6^\circ \pm 9,8^\circ$ , Median  $0,6^\circ$ . Der myogene Anteil am Gesamt-ED betrug  $23,6^\circ \pm 5,5^\circ$ , der Median ergab  $22,7^\circ$ . Bei den leichten physiologischen EDs der Kontrolltiere beziehungsweise bei der kontralateralen Seite der Interventionstiere war das gesamte ED kleiner als der myogene Anteil. Das ED war somit vollständig myogenen Ursprungs und wurde durch die Myotomie ausgeglichen. Die Myotomie erreichte eine über das physiologische Maß hinausgehende Überbeweglichkeit, durch die sich ein größerer myogener Anteil als das gesamte Extensionsdefizit erklären lässt.

Nach 8 Wochen erhoben wir bei der Kontrollgruppe C8 auf der ipsilateralen Seite ein natürliches ED von  $11,9^\circ \pm 12,6^\circ$  mit dem Median von  $12,4^\circ$ . Hiervon betrug die myogene Komponente am ED  $21,2^\circ \pm 5,3^\circ$  und einen Median von  $21,1^\circ$ . Die kontralaterale Extremität maß  $16,3^\circ \pm 8,1^\circ$  mit im Median  $16,0^\circ$ . Der Extensionsgewinn durch Myotomie war  $25,2^\circ \pm 5,3^\circ$  im Median von  $24,3^\circ$ .

Für die 12-Wochen-Kontrollgruppe (C12) ermittelten wir für die ipsilaterale Extremität eine Differenz von  $9,3^\circ \pm 6,2^\circ$  mit einem Median von  $10,1^\circ$ . Nach der Myotomie war

eine ED-Verbesserung von  $20,1^\circ \pm 8,6^\circ$  bei Median von  $21,0^\circ$  möglich. Für die kontralaterale Extremität maßen wir ein ED von  $14,7^\circ \pm 17,4^\circ$ , Median von  $16,7^\circ$ . Der myogene Anteil betrug nach der Myotomie  $18,7^\circ \pm 12,2^\circ$  mit einem Median von  $17,6^\circ$ .

Tabelle 2: Zusammensetzung des gesamten Extensionsdefizites (ED) aus myogenem Anteil und arthrogenem Anteil. Weiterhin sind die ED der nichtoperierten, kontralateralen Extremität (kontr) je nach Interventionsgruppen und beide Extremitäten der Kontrollgruppen (C und C kontr) aufgelistet. Alle Werte werden als Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardabweichung  $\sigma$  (SD) dargestellt. Negative Werte bei den arthrogenen Anteilen werden als  $0^\circ$  beschrieben.

#### Extensionsdefizite:

	gesamtes Extensionsdefizit	Myogener Anteil	Arthrogen Anteil
W 4	$67,0^\circ \pm 15,5^\circ$	$20,9^\circ \pm 12,4^\circ$	$46,1^\circ \pm 19,7^\circ$
W 8	$40,4^\circ \pm 8,8^\circ$	$20,6^\circ \pm 14,8^\circ$	$19,8^\circ \pm 13,2^\circ$
W 12	$38,5^\circ \pm 14,1^\circ$	$14,2^\circ \pm 7,6^\circ$	$24,3^\circ \pm 18,1^\circ$
W 4 kontr	$8,5^\circ \pm 7,6^\circ$	$20,1^\circ \pm 8,3^\circ$	$0^\circ$
W 8 kontr	$4,2^\circ \pm 12,1^\circ$	$17,7^\circ \pm 9,6^\circ$	$0^\circ$
W 12 kontr	$12,7^\circ \pm 9,5^\circ$	$17,0^\circ \pm 7,8^\circ$	$0^\circ$
C 4	$12,1^\circ \pm 8,8^\circ$	$23,6^\circ \pm 8,8^\circ$	$0^\circ$
C 8	$11,9^\circ \pm 12,6^\circ$	$21,2^\circ \pm 5,3^\circ$	$0^\circ$
C 12	$9,3^\circ \pm 6,2^\circ$	$20,1^\circ \pm 8,6^\circ$	$0^\circ$
C 4 kontr	$3,6^\circ \pm 9,8^\circ$	$23,6^\circ \pm 5,5^\circ$	$0^\circ$
C 8 kontr	$16,3^\circ \pm 8,1^\circ$	$25,2^\circ \pm 5,3^\circ$	$0^\circ$
C 12 kontr	$14,7^\circ \pm 17,4^\circ$	$18,7^\circ \pm 12,2^\circ$	$0^\circ$

### 4.3 Statistische Vergleiche zwischen den einzelnen Extensionsdefiziten

Um die Auswirkungen einer Kniegelenkverletzung mit konsekutiver Arthrodese zu untersuchen, wurde die Extension beider Kniegelenke (kontra- und ipsilaterale Extremität) der Tiere gemessen. Damit konnten einerseits Vergleiche zwischen den ipsilateralen, operierten Extremitäten der Interventions- gegen die Kontrollgruppe vorgenommen werden, und andererseits konnten auch die EDs zwischen den Extremitäten des einzelnen Tieres (ipsi- und kontralateral) miteinander verglichen werden. Zum Schluss wurde ein Vergleich zwischen allen Interventionsgruppen gezogen.

#### 4.3.1 Vergleich zwischen ipsi- und kontralateraler Extremität eines Tieres

Mit dem Vergleich beider Kniegelenke eines Tieres wurden die Auswirkungen einer Kniegelenkverletzung mit konsekutiver Arthrodese auf das kontralaterale, nicht

operierte Bein untersucht. Somit konnten die Extensionen beider Kniegelenke, unterteilt nach den jeweiligen Interventionsgruppen, verglichen werden.

Wenn alle Interventionstiere (W4, W8, W12, n=31) zusammengenommen werden, ermittelten wir für die Extensionsdefizite zwischen dem ipsilateralen und dem kontralateralen Kniegelenk einen hoch signifikanten Unterschied von  $40,1^\circ$  ( $48,3^\circ \pm 19,1^\circ$  versus  $8,1^\circ \pm 10,3^\circ$ ,  $p < 0,001$ ).

Betrachtet man alle Interventionsgruppen separat (W4, W8, W12), ergab sich für alle ED-Vergleiche zwischen ipsilateraler und kontralateraler Extremität ein signifikantes Ergebnis (Abb. 28). Für die W4 ergab sich eine Differenz zwischen beiden Kniegelenken von  $58,5^\circ$ , ipsilateral  $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  versus kontralateral  $8,5 \pm 7,6^\circ$  ( $p < 0,001$ ). Einen deutlich geringeren Unterschied maßen wir bei der W8 von  $36,2^\circ$ , wo die EDs bei der ipsilateralen Seite  $40,4^\circ \pm 8,8^\circ$  und für die kontralaterale Seite  $4,2^\circ \pm 12,1^\circ$  betragen ( $p < 0,001$ ). Die W12 hatte mit  $24,5^\circ$  die kleinste Differenz zwischen der Arthrodeseseite (ipsilateral) von  $37,2^\circ \pm 17,5^\circ$  und der unoperierten kontralateralen Seite von  $12,7^\circ \pm 9,5^\circ$  ( $p < 0,021$ ).

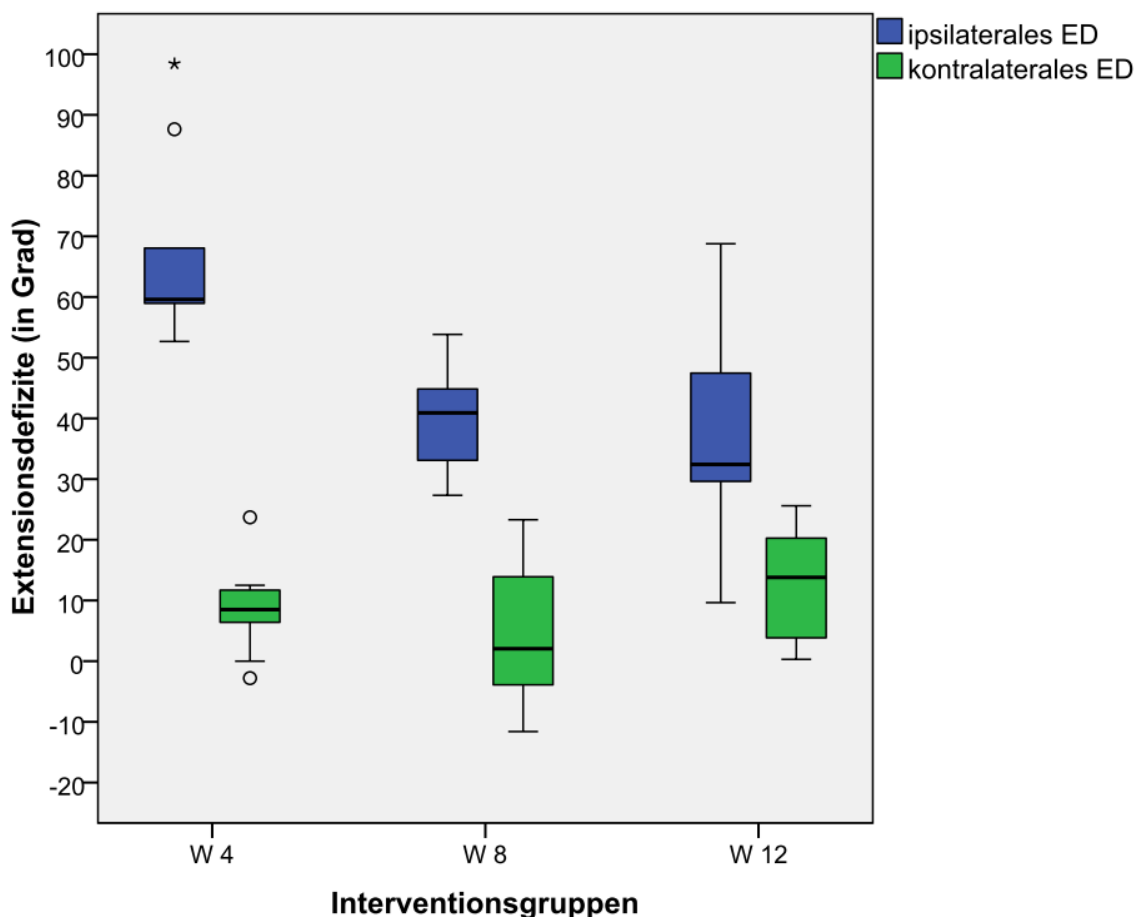


Abbildung 28: Boxplot mit Darstellung der SD: Extensionsdefizite (ED) der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) in Grad mit Gegenüberstellung der ipsilateralen gegen die kontralaterale Extremität. Mit O sind milde und mit \* extreme Ausreißer gekennzeichnet.

#### 4.3.2 Vergleich der Interventionsgruppe mit der zugehörigen Kontrollgruppe

Mit dem Vergleich der ED des Kniegelenkes der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) mit K-Draht-Arthrodesese gegen die zugehörige Kontrollgruppe sollte untersucht werden, ob sich nach der Remobilisation ein Unterschied im Kontrakturgrad feststellen lässt.

Wenn alle Interventionstiere (W4, W8, W12, n=31) zusammengenommen und gegen alle Kontrollgruppen (C4, C8, C12, n=18) verglichen werden, ergibt sich ein hoch signifikanter Unterschied,  $p < 0,001$ . Dabei beträgt das ED  $47,4^\circ \pm 18,0^\circ$  für die Interventionextremität versus  $11,1^\circ \pm 9,1^\circ$  für die Extremität des Kontrolltieres.

Werden anschließend die Interventionsgruppen einzeln ihren Kontrollgruppen gegenübergestellt, ergeben sich folgende Werte (Abb. 29): Zwischen den Extensionsdefiziten der W4- und der C4-Kniegelenke bestand ein signifikanter Unterschied von  $54,9^\circ$  ( $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  versus  $12,1^\circ \pm 8,8^\circ$ ,  $p < 0,001$ ). Wird die W8 mit

der C8 verglichen, beträgt die Differenz zwischen den EDs  $28,5^\circ$ , bei einem ED für die W8 von  $40,4^\circ \pm 8,8^\circ$  und für die C8 von  $11,9^\circ \pm 12,6^\circ$  ( $p < 0,001$ ). Bei der Gruppe mit der längsten Remobilisation von 8 Wochen lässt sich eine ED-Differenz von  $28,7^\circ$  errechnen, die sich aus einem signifikanten Unterschied aus  $38,0^\circ \pm 14,1^\circ$  für die W12 versus  $9,3^\circ \pm 6,2^\circ$  für die C12 zusammensetzt ( $p < 0,001$ ).

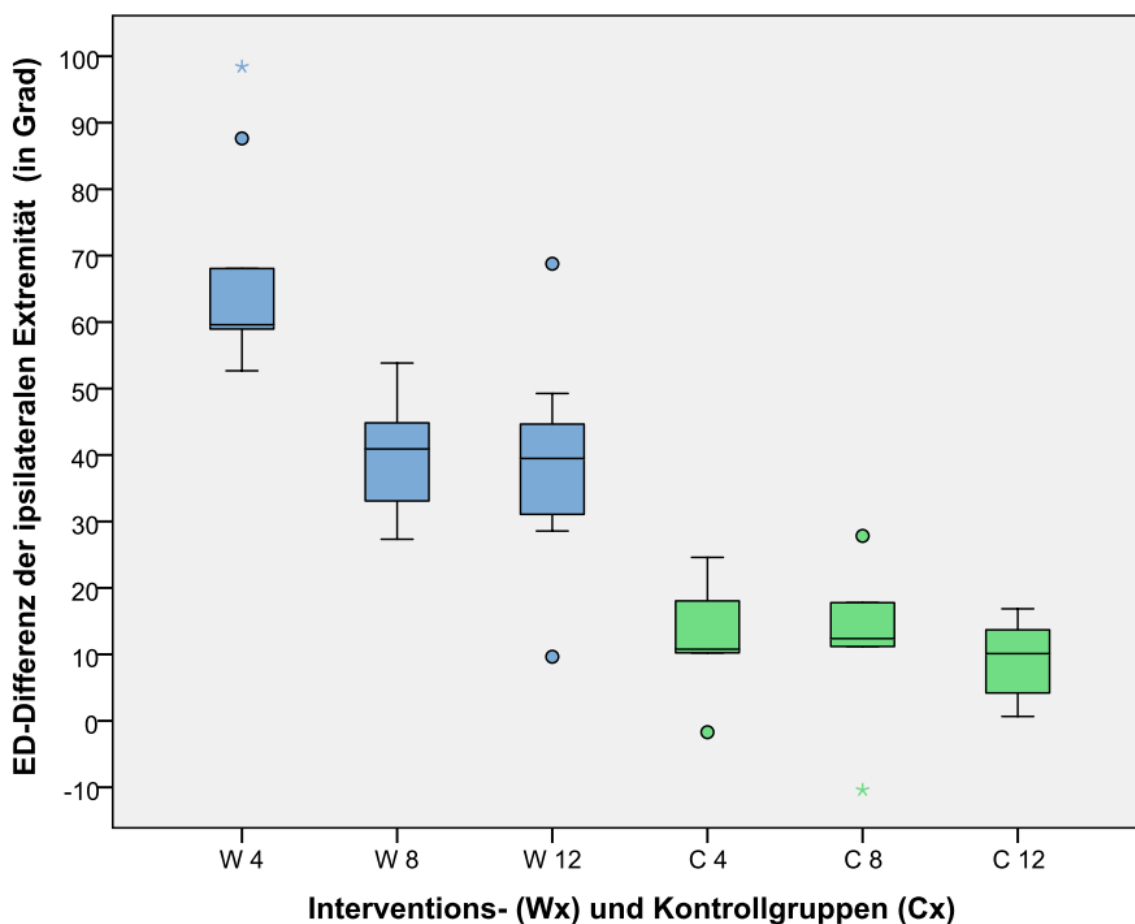


Abbildung 29: Boxplot mit Darstellung der SD: Extensionsdefizite (ED) der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) gegen die Kontrollgruppen (C4, C8, C12). Dargestellt ist die ipsilaterale, operierte Seite der Interventionstiere, bzw. bei der Kontrollgruppe als ipsilaterale Seite definierte Extremität. Mit O sind milde und mit \* extreme Ausreißer gekennzeichnet.

#### 4.3.3 Vergleich zwischen den Interventionsgruppen

Um den zeitlichen Verlauf der Kniegelenkkontraktur nach 4 Wochen Immobilisation sowie nach 4 und 8 Wochen Remobilisation zu untersuchen, verglichen wir die Extensionsdefizite der operierten Kniegelenke der drei Interventionsgruppen (W4, W8, W12) untereinander.

Das nach 4 Wochen Immobilisation beobachtete ED der W4 von  $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  besserte sich durch 4 Wochen Remobilisation bei der W8 auf  $40,4 \pm 8,8^\circ$  ( $p < 0,001$ ).

Nach weiteren 4 Wochen freier Bewegung im Käfig verbesserte sich das ED der W12 auf  $38,5^\circ \pm 14,1^\circ$  und unterschied sich damit ebenso deutlich von der W4 ( $p < 0,001$ ). Beim Vergleich der Remobilisationsdauer unterschied sich die W8 mit  $40,4 \pm 8,8^\circ$  nicht von der Gruppe W12 mit  $38,5^\circ \pm 14,1^\circ$  ( $p = 0,72$ ). Die Interventionsgruppen mit Remobilisation (W8 & W12) unterschieden sich damit klar von der W4, welche keine Remobilisation erhielt.

#### **4.4 Zusammensetzung des physiologischen und pathologischen**

##### **Extensionsdefizites**

An der maximalen Extension eines Gelenks haben die einzelnen anatomischen Komponenten unterschiedlich Anteil und unterliegen dynamischen Umbauprozessen [7, 8, 23, 29, 39]. Je nach Forschungsschwerpunkt wird bei der Kontrakturätiologie zwischen arthrogenem (Bänder, Kapseln, Menisken, Synovialmembran, Knorpel und Knochen) und myogenem (Muskeln und Dermis) Anteil unterschieden [8, 15, 20, 23, 29].

Für die Ermittlung des physiologischen Extensionsdefizites führten wir zu Beginn der Untersuchungen bei allen Kontrolltieren eine Extensionsmessung durch. Genau wie bei den Interventionstieren wurde diese nach 4, 8 oder 12 Wochen wiederholt. Die Differenz aus beiden Messungen (Endmessung minus Startmessung) ergab das physiologische Extensionsdefizit für alle Rattenkontrolltiere über alle drei Zeiträume von  $11,1^\circ \pm 9,1^\circ$  für die als ipsilateral zugewiesene Extremität. Um die verschiedenen Anteile am gesamten Extensionsdefizit herauszufinden, führten wir nach der Gesamtextensionsmessung eine vollständige, gelenknahe Myotomie (superior und inferior) und eine erneute Messung der Extension durch. Diese Extensionsverbesserung ergab den myogenen Anteil.

Das physiologische Extensionsdefizit betrug bei der Gruppe C4  $12,1^\circ \pm 8,8^\circ$ . Durch die Myotomie konnte der Gelenkwinkel um  $23,6^\circ \pm 8,8^\circ$  vergrößert werden. Das physiologische Extensionsdefizit nach 4 Wochen ist also myogenen Ursprungs, ein arthrogener Anteil lag nicht vor.

Nach doppelter, 8-wöchiger Überwachungszeit kam die C8 auf ein Gesamt-ED von  $11,9^\circ \pm 12,6^\circ$ , welches sich durch die Myotomie um  $21,2^\circ \pm 5,3^\circ$  verbesserte und damit für das Gesamt-ED verantwortlich war. Bei der 12-Wochen Gruppe (C12) verringerte sich das Gesamt-ED weiter leicht auf  $9,3^\circ \pm 6,2^\circ$ . Die Myotomie erreichte  $20,1^\circ \pm 8,6^\circ$  Extensionsverbesserung und war damit Ursprung des gesamten ED, ein arthrogener Anteil konnte bei der C12 ebenfalls nicht festgestellt werden.

Nach unserem rechnerischen Verfahren (siehe Kapitel 3.7.2) würde sich ein negativer arthrogener Anteil ergeben. Weil dieser jedoch nicht möglich ist, wiesen wir ihm den kleinstmöglichen Wert von Null zu. Andernfalls wäre die arthrogene Kontraktur größer als die gesamt gemessene Kontraktur (siehe Tab. 3 und Kapitel 4.4.2). Eine mögliche Ursache für den negativ errechneten arthrogenen Anteil könnte das Längenwachstum der Knochen sein. Zu Studienbeginn waren die Ratten noch keine adulten Tiere. Für die Berechnung der Kontraktur bildeten wir die Differenz aus Versuchsgruppe und Kontrollgruppe. Damit wurde diese Winkeländerung durch den Alterungsprozess der Ratte herausgefiltert.

Das gleiche Vorgehen wie bei der Kontrollgruppe wandten wir auch zur Ermittlung des pathologischen Extensionsdefizites bei den operierten Interventionstieren an. Bei der W4 beobachteten wir ein Gesamt-ED von  $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  nach 4-wöchiger Immobilisation mit einem myogenen Anteil von  $20,9^\circ \pm 12,4^\circ$  und einem errechneten arthrogenen Anteil von  $46,1^\circ \pm 19,7^\circ$ . Bei der 8-Wochen-Gruppe (W8) mit vierwöchiger K-Draht-Arthrodese und vierwöchiger Remobilisationszeit ergab sich ein ED von  $40,3^\circ \pm 8,8^\circ$  mit einem myogenen Anteil von  $20,6^\circ \pm 14,8^\circ$  und einem arthrogenen Anteil von  $19,8^\circ \pm 13,2^\circ$ . Das W12-ED war mit  $38,5^\circ \pm 14,1^\circ$  das Geringste der drei Interventionsgruppen. Die Myotomie erreichte hierbei eine Verbesserung von  $14,2^\circ \pm 7,6^\circ$ , woraus sich ein arthrogener Anteil von  $25,1^\circ \pm 16,7^\circ$  ergab (Tab. 3).

Tabelle 3: Aufteilung des gesamten Extensionsdefizites (ED) in myogenen Anteil und arthrogenen Anteil der ipsilateralen Extremität. Die Differenz aus Interventionsgruppe (Wx) und zugehöriger Kontrollgruppe (Cx) ergibt die Kontraktur. Negative arthrogene Werte nehmen den kleinsten Wert 0 an. Alle Werte werden als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung  $\sigma$  dargestellt.

Extensionsdefizite:

	gesamtes Extensionsdefizit	Myogener Anteil	Arthrogener Anteil
W 4	$67,0^\circ \pm 15,5^\circ$	$20,9^\circ \pm 12,4^\circ$	$46,1^\circ \pm 19,7^\circ$
C 4	$12,1^\circ \pm 8,8^\circ$	$23,6^\circ \pm 8,8^\circ$	$0,0^\circ \pm 0,0^\circ$
Differenz = Kontraktur	$54,9^\circ, p < 0,001$	$-2,7^\circ, p = 0,652$	$46,1^\circ, p < 0,001$
W 8	$40,4^\circ \pm 8,8^\circ$	$20,6^\circ \pm 14,8^\circ$	$19,8^\circ \pm 13,2^\circ$
C 8	$11,9^\circ \pm 12,6^\circ$	$21,2^\circ \pm 5,3^\circ$	$0,0^\circ \pm 0,0^\circ$
Differenz = Kontraktur	$28,5^\circ, p < 0,001$	$-0,6^\circ, p = 0,929$	$19,8^\circ, p < 0,01$
W 12	$38,5^\circ \pm 14,1^\circ$	$14,2^\circ \pm 7,6^\circ$	$25,1^\circ \pm 16,7^\circ$
C 12	$9,3^\circ \pm 6,2^\circ$	$20,1^\circ \pm 8,6^\circ$	$0,0^\circ \pm 0,0^\circ$
Differenz = Kontraktur	$29,2^\circ, p < 0,001$	$-5,9^\circ, p = 0,148$	$25,1^\circ, p < 0,001$



#### 4.4.1 Unterscheidung der myogenen Anteile

Vom gesamten Extensionsdefizit der ipsilateralen Extremität war die Muskulatur mit C4:  $23,6^\circ \pm 8,8^\circ$ , C8:  $21,2^\circ \pm 5,3^\circ$ , C12:  $20,1^\circ \pm 8,6^\circ$  am physiologischen Extensionsdefizit der Kontrollgruppen beteiligt und unterschied sich nicht signifikant von dem der Interventionsgruppen mit W4:  $20,9^\circ \pm 12,4^\circ$  ( $p = 0,652$ ), W8:  $20,6^\circ \pm 14,8^\circ$  ( $p = 0,929$ ), W12:  $14,2^\circ \pm 7,6^\circ$  ( $p = 0,148$ ). Wird der myogene Anteil der ipsilateralen Extremitäten aller Interventionstiere ( $18,2^\circ \pm 11,8^\circ$ ,  $n=31$ ) gegen die gleiche Seite bei allen Kontrolltieren ( $21,6^\circ \pm 7,4^\circ$ ,  $n=18$ ) verglichen (Abb. 31 oben), so lässt sich kein Unterschied nachweisen ( $p = 0,268$ ).

Vergleicht man weiterhin den myogenen Anteil der ipsilateralen Extremitäten aller Interventions- und Kontrollgruppen mit jenem aller kontralateralen Extremitäten über alle Zeitpunkte, so unterscheiden sich diese mit  $19,4^\circ \pm 10,5^\circ$  ( $n=49$ ) versus  $19,7^\circ \pm 8,5^\circ$  ( $n=49$ ) nicht voneinander ( $p = 0,848$ ). Somit konnten wir bei der Muskulatur keinen Unterschied sowohl zwischen Interventions- und Kontrollgruppen als auch zwischen den Extremitätenseiten (ipsi- und kontralateral) feststellen (Abb. 30 und 31).

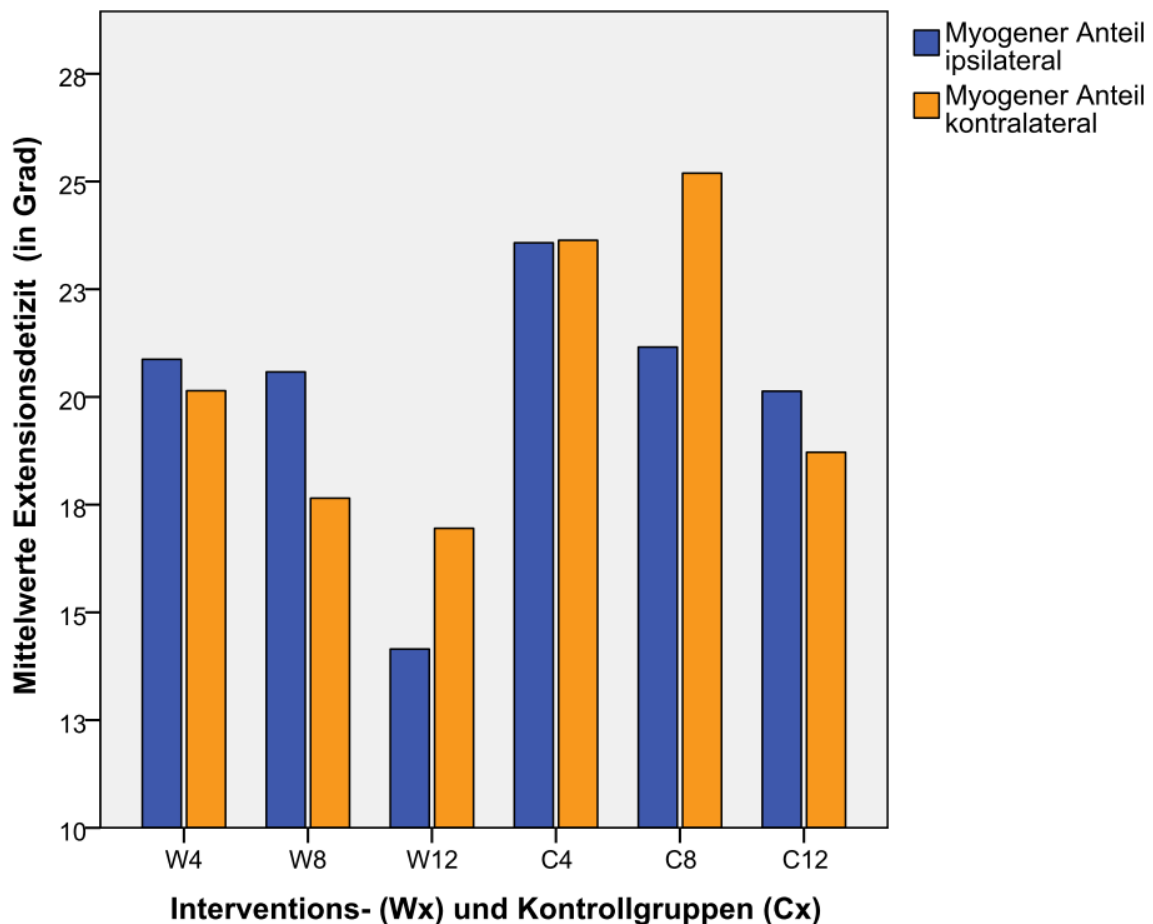


Abbildung 30: Balkendiagramm mit MW: Myogener Anteil des Extensionsdefizites der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) und der Kontrollgruppen (C4, C8, C12).

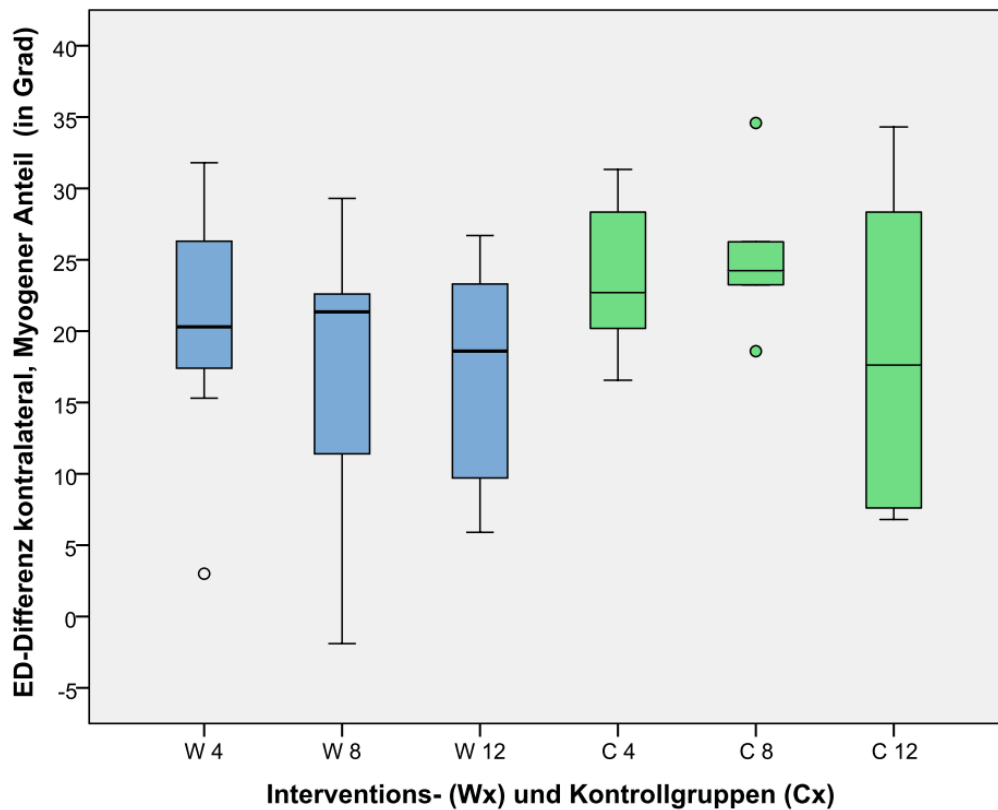
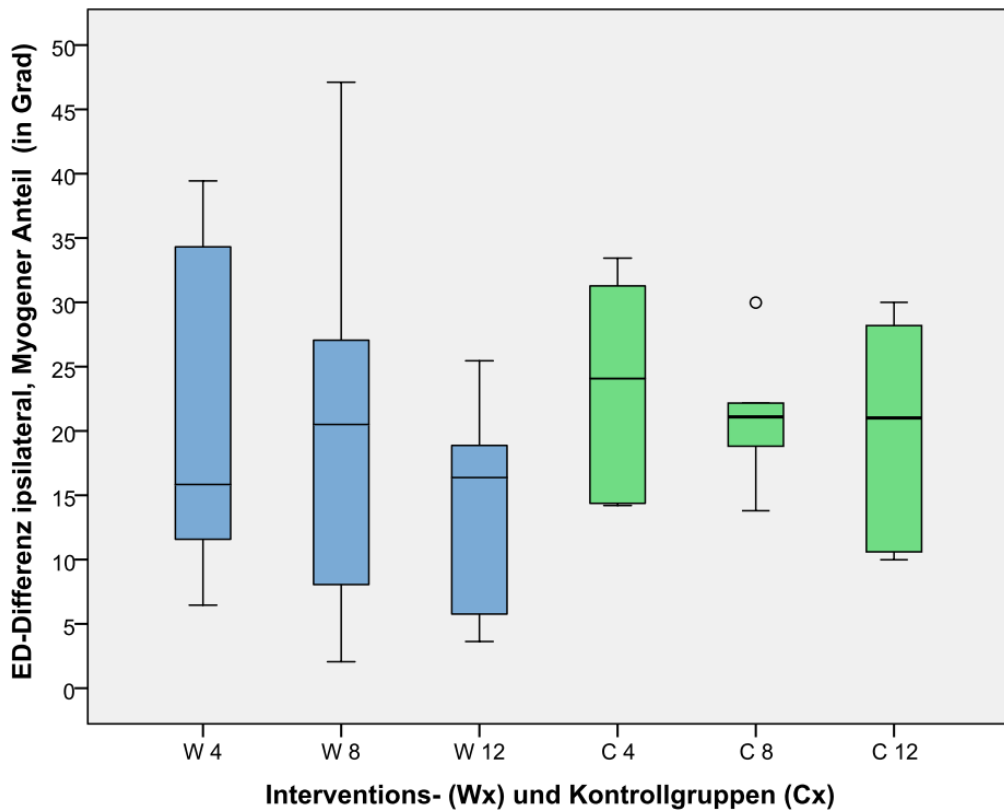


Abbildung 31: Boxplot mit Darstellung der SD: Myogener Anteil des Extensionsdefizites (ED) der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) und der Kontrollgruppen (C4, C8, C12). Im oberen Diagramm ist die ipsilaterale, operierte Seite der Interventionstiere, bzw. bei der Kontrollgruppe als ipsilaterale Seite definierte Extremität gezeigt. Im unteren Diagramm ist die kontralaterale, nicht operierte Extremität abgebildet. Mit O sind milde Ausreißer gekennzeichnet.

#### 4.4.2 Ermittlung der Kontraktur – Vergleich zwischen Interventions- und Kontrollgruppe

Die posttraumatische Gelenkkontraktur (PTGK) errechneten wir durch Subtraktion des physiologischen arthrogenen ED der Kontrollgruppen (Cx) von dem pathologischen arthrogenen ED der zugehörigen Interventionsgruppen (Wx). Weil ein negativer arthrogen Anteil nicht möglich ist, wiesen wir dem physiologischen arthrogenen ED den kleinstmöglichen Wert von Null zu (siehe Kapitel 4.4). Daraus errechnete sich für die Operationsgruppen eine arthrogene Kontraktur von 46,1° bei Gruppe W4, sowie nach 4 bzw. 8 Wochen Remobilisation von 19,8° bei Gruppe W8 und 25,1° bei Gruppe W12. Bei allen drei Gruppenvergleichen unterschied sich das physiologische arthrogene ED signifikant vom pathologischen arthrogenen ED (W4/C4 und W12/C12  $p < 0,001$ ; W8/C8  $p < 0,01$ ).

Wird das gleiche Prinzip zur Kontrakturbestimmung auch bei dem gesamten Extensionsdefizit angewendet, ergibt sich eine Kontraktur von 54,9° bei der W4, die sich bei der W8 auf 28,5° und bei der W12 auf 29,2° verringert. Zwischen allen Extensionsdefiziten der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) und ihren zugehörigen Kontrollgruppen gibt es einen hoch signifikanten Unterschied ( $p < 0,001$ ), siehe Abb. 32 und Tab. 3.

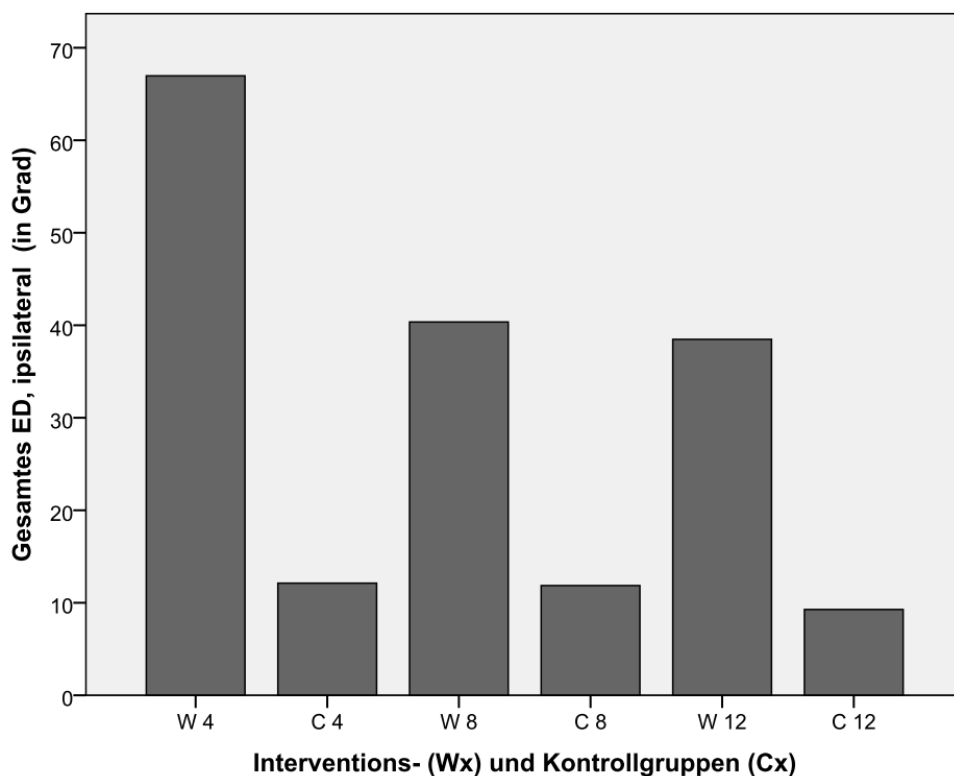


Abbildung 32: Balkendiagramm mit MW: Gesamtes Extensionsdefizit (ED) der Interventionsgruppen (W4, W8, W12) und der Kontrollgruppen (C4, C8, C12) in Grad. Dargestellt ist die ipsilaterale, operierte Seite der Interventionstiere, bzw. bei der Kontrollgruppe als ipsilaterale Seite definierte Extremität.

#### 4.5 MRT nach Hyperextensionstrauma

Um bildmorphologische Korrelate der Kniegelenkverletzung nach einer Hyperextension im Kniegelenk von  $-45^\circ$  darzustellen, wurde exemplarisch an zwei Rattenknien eine MRT-Aufnahme (Magnetom Prisma, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Germany) unter Verwendung einer Fingerspule (Siemens) mit einem Durchmesser von 4 cm durchgeführt. Parameter für die Protonendichtebilder waren die Wiederholungszeit TR 2910 ms, die Echozeit TE 120 ms, das Sichtfeld (FOV)  $36,0 \times 36,0 \text{ mm}^2$ , die Scheibendicke 0,8 mm und die Auflösung  $384 \times 384$ .

Dabei zeigten sich eine Ruptur und ödematöse Schwellung der posterioren Kniegelenkkapsel sowie eine partielle Epiphysiolyse mit posteriorer Erweiterung der femoralen Wachstumsfuge (Abb. 33). Im postoperativen Kontrollröntgen in Flexion nach Anlage der temporären K-Draht-Arthrodesese zeigte sich während der Studie bei keinem Tier eine erweiterte Wachstumsfuge (Abb. 34).

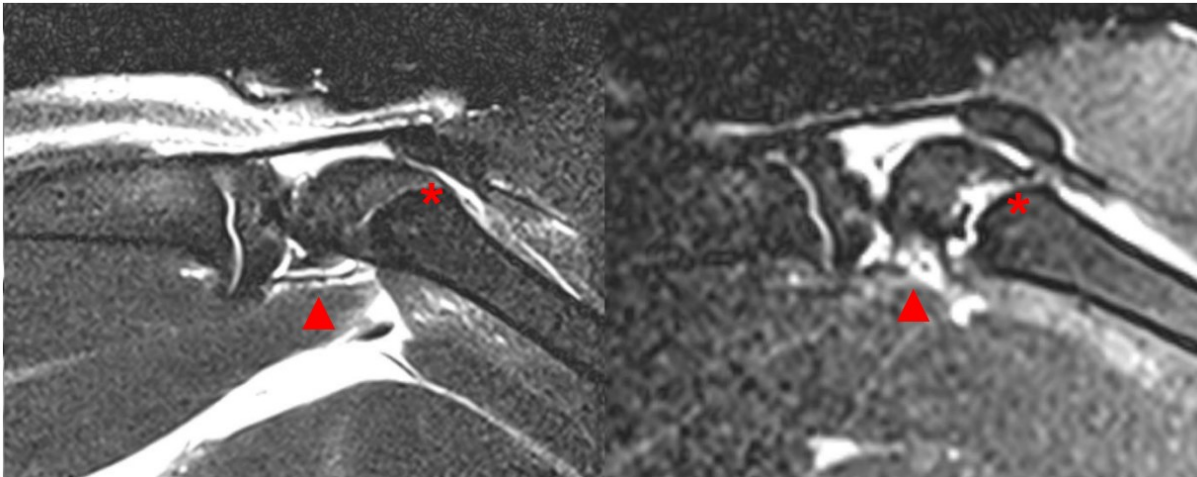


Abbildung 33: MRT-Aufnahmen des Rattenkniegelenks in Protonendichte-Gewichtung und T2-gewichteter Turbo-Spin-Echo-Sequenz. Gegenübergestellt ist ein MRT Bild vor (links) und nach (rechts) der passiven Hyperextension von  $-45^\circ$ . Nach dem Manöver zeigen sich eine Läsion der hinteren Kapsel (markiert mit Pfeil) und eine Verbreiterung der hinteren femoralen Wachstumsfuge (der vordere Teil der Wachstumsfuge ist mit einem Sternchen markiert).

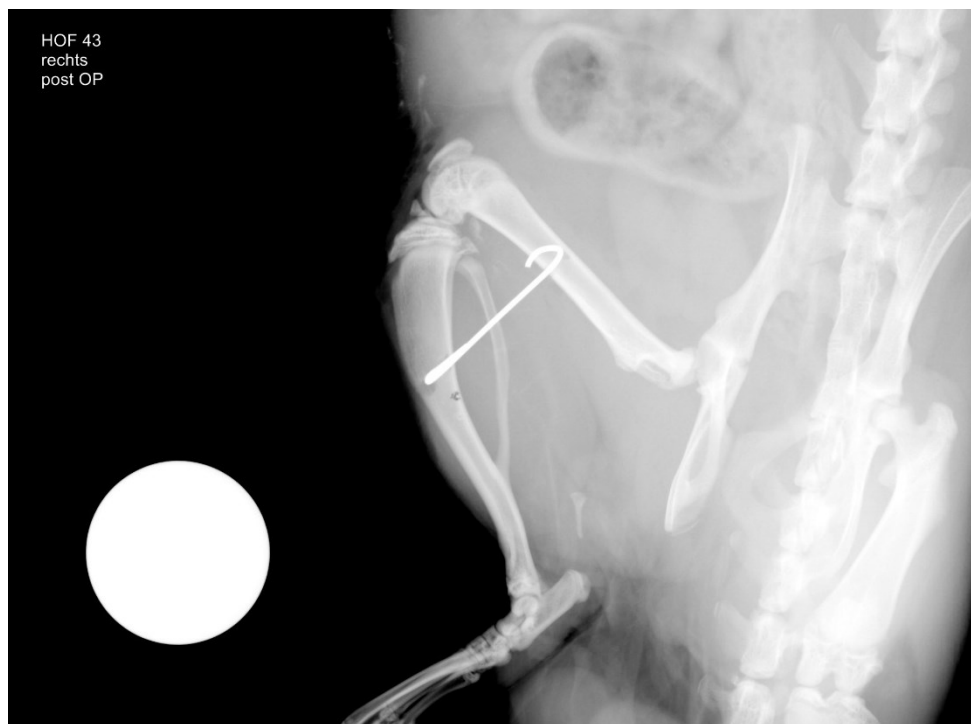


Abbildung 34: postoperatives Röntgenbild nach K-Drahteinbringung. Bei der Tibia ist eine gleichmäßige schmale Wachstumsfuge zu sehen, die keine Anzeichen für eine Epiphysiolyse zeigen.

#### 4.6 Komplikationen

Bei der Einleitung der Anästhesie starben zwei Tiere (W12 und W8) und wurden durch andere Tiere ersetzt. Ein Tier (Kontrollgruppe C8) erlitt bei der Anästhesieeinleitung einen kurzzeitigen Kreislaufstillstand mit sofortiger restitutio ad integrum, weshalb es in der Studie belassen werden konnte. Bei einem Tier (W12) wurde nach 4 Wochen

radiologisch eine Dislokation der tibialen Drahtfixierung festgestellt. Daher war keine zuverlässige Aussage über die Dauer der Arthrodese und den korrekten Fixationswinkel möglich und das Tier wurde aus der Studie ausgeschlossen, ordnungsgemäß euthanasiert und durch ein anderes Tier ersetzt. Drei Tiere wurden in der W12-Gruppe zusätzlich operiert, da die Isolation der zugehörigen Kapsel-RNA fehlschlug. Mit dem Ersetzen beträgt die Gesamtzahl an operierten Tieren  $n=52$  (2x Narkose, 1x Drahtluxation) bei einer Gesamtzahl der in die Studie eingeschlossenen Tieren von  $n=49$ .

#### 4.6.1 Entwicklung des Körpergewichts

Die 31 Ratten mit Intervention hatten ein mittleres präoperatives Gewicht von  $427,90\text{g} \pm 42,77\text{g}$ . In den ersten beiden Wochen nach der K-Draht-Einbringung konnten 10 Tiere ihr Ausgangsgewicht nicht halten oder steigern, 6 Tiere aus der W4-Gruppe und 4 Tiere aus der W12-Gruppe. Ein Tier aus der W4 erreichte erst in der vierten Woche ihr voroperatives Gewicht. Der postoperative Gewichtsverlust der W4-Gruppe nach einer Woche von  $33,4\text{g}$  bzw.  $0,7\text{g}$  nach zwei Wochen unterschied sich statistisch nicht signifikant vom präoperativen Gewicht von  $429,2 \pm 26,2\text{g}$  ( $p = 0,053$  bzw.  $p = 0,978$ ). In der dritten Woche erreichte der Gewichtszuwachs von  $45,5\text{g}$  keine Signifikanz ( $p = 0,085$ ). In den beiden anderen Interventionsgruppen betrug eine Woche postoperativ der Gewichtsgewinn bei der W8  $19,3\text{g}$  und bei der W12  $6,7\text{g}$  ( $p = 0,102$  bzw.  $p = 0,202$ ). Im Vergleich dazu konnten die gesamten Kontrolltiere ihr präoperatives Gewicht von anfangs  $418,0 \pm 19,1\text{g}$  (MW) kontinuierlich steigern. Das im Mittel gemessene Gewicht unterschied sich dabei immer signifikant von der präoperativen Messung (siehe Tab. 4).

Nach der vierwöchigen K-Draht-Arthrodese erfolgte dessen operative Entfernung. Das Gewicht aus der vierten postoperativen Woche diente als Ausgangsgewicht für die weitere Gewichtsbeurteilung. Für die W4 war entsprechend des Protokolls der Untersuchungszeitraum beendet. Ausgehend von  $536,3 \pm 25,3\text{g}$  verloren sieben Tiere der W8 in der ersten postoperativen Woche nach der K-Draht-Entfernung  $34,1\text{g}$  an Gewicht ( $p < 0,05$ ). Jedoch konnten diese Tiere in den Folgewochen signifikant an Gewicht zunehmen ( $p < 0,05$  bis  $p < 0,001$ , siehe Tab. 5). In der W12 war die Gewichtsreduzierung bei einem präoperativen Start von  $551,5 \pm 41,6\text{g}$  nicht stark ausgeprägt und wurde mit  $4,6\text{g}$  nicht signifikant ( $p = 0,445$ ). Sieben Tiere der W12 verloren in den ersten beiden Wochen nach der K-Draht-Entfernung an Gewicht. In der dritten postoperativen Woche überschritten alle Tiere aus der W12 ihr

Ausgangsgewicht und erreichten mit 33,8g einen signifikanten Zugewinn ( $p < 0,001$ ), der sich auch in der Folgewoche mit 59,3g ( $p < 0,001$ ) fortsetzte. Die Kontrollgruppen erhielten keine Operation und konnten wie zuvor signifikant an Körpergewicht zunehmen ( $p < 0,001$ , siehe Tab. 5). In der vierten Woche betrug der Zuwachs durchschnittlich 76,3g, bei einem Ausgangsgewicht von  $555,2 \pm 40,7$ g. In der dritten Woche wurden keine Gewichte bei den Kontrolltieren erhoben.

Tabelle 4: Verlauf der Gewichte nach Wochen, Werte als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt. Änderung nach K-Draht-Einbringung bezogen auf präoperativen Stand. Gewichtsänderung als Mittelwertdifferenz (M.Diff.) angegeben. Die Stärke der Signifikanz (Signif.) zur Gewichtsveränderung ist mit einem Stern markiert (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ).

		Wochen nach K-Draht Einbringung				
		prä-OP	1. Woche post-OP	2. Woche post-OP	3. Woche post-OP	4. Woche post-OP
W4 Intervention	M	429,2 g	402,9 g	428,6 g	473,8 g	528,3 g
	SD	$\pm 26,3$ g	$\pm 36,8$ g	$\pm 66,2$ g	$\pm 51,5$ g	$\pm 47,4$ g
	M.Diff		-33,4 g	-0,7 g	45,3 g	99,1 g
	Signif.		$p = 0,053$	$p = 0,978$	$p = 0,085$	$p < 0,01^{**}$
W8 Intervention	M	406,9 g	378,3 g	446,3 g	497,4 g	536,3 g
	SD	$\pm 39,5$ g	$\pm 7,6$ g	$\pm 19,9$ g	$\pm 28,9$ g	$\pm 25,3$ g
	M.Diff		19,3 g	18,9 g	90,5 g	129,4 g
	Signif.		$p = 0,102$	$p < 0,05^*$	$p < 0,001^{***}$	$p < 0,001^{***}$
W12 Intervention	M	444,4 g	432,3 g	493,2 g	510,4 g	551,5 g
	SD	$\pm 50,1$ g	$\pm 31,0$ g	$\pm 30,7$ g	$\pm 42,5$ g	$\pm 41,6$ g
	M.Diff		6,7 g	34,0 g	54,4 g	107,1 g
	Signif.		$p = 0,202$	$p < 0,05^*$	$p < 0,01^{**}$	$p < 0,001^{***}$
gesamten Kontroll- tiere (Cx)	M	418,0 g	501,5 g	508,3 g	524,2 g	555,2 g
	SD	$\pm 33,4$ g	$\pm 19,1$ g	$\pm 31,7$ g	$\pm 46,2$ g	$\pm 40,7$ g
	M.Diff		47,5 g	79,3 g	100,8 g	137,2 g
	Signif.		$p < 0,01^{**}$	$p < 0,001^{***}$	$p < 0,001^{***}$	$p < 0,001^{***}$

Tabelle 5: Verlauf der Gewichte nach Wochen, Werte als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt. Änderung nach K-Draht-Entfernung bezogen auf 4. Woche postoperativ der K-Draht-Einbringung. Gewichtsänderung als Mittelwertdifferenz (M.Diff.) angegeben. Die Stärke der Signifikanz (Signif.) zur Gewichtsveränderung ist mit einem Stern markiert (\*  $p < 0,050$ \*; \*\*  $p < 0,010$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Für die Kontrollgruppe (Cx) gibt es 3 Wochen nach K-Draht-Entfernung keine Daten.

		Wochen nach K-Draht Entfernung				
		prä-OP	1. Woche post-OP	2. Woche post-OP	3. Woche post-OP	4. Woche post-OP
W4 Intervention	M	429,2 g	--	--	--	--
	SD	$\pm 26,3$ g	--	--	--	--
	M.Diff					
	Signif.					
W8 Intervention	M	406,9 g	508,4 g	538,7 g	591,6 g	614,1 g
	SD	$\pm 39,5$ g	$\pm 45,1$ g	$\pm 22,0$ g	$\pm 25,3$ g	$\pm 24,3$ g
	M.Diff		-34,1 g	17,0 g	55,3 g	77,8 g
	Signif.		$p < 0,05$ *	$p < 0,05$ *	$p < 0,001$ ***	$p < 0,001$ ***
W12 Intervention	M	444,4 g	536,4 g	575,6 g	585,3 g	610,8 g
	SD	$\pm 50,1$ g	$\pm 37,3$ g	$\pm 34,4$ g	$\pm 38,5$ g	$\pm 46,4$ g
	M.Diff		-4,6 g	1,1 g	33,8 g	59,3 g
	Signif.		$p = 0,445$	$p = 0,838$	$p < 0,001$ ***	$p < 0,001$ ***
gesamten Kontroll- tiere (Cx)	M	418,0 g	614,9 g	639,8 g	--	654,4 g
	SD	$\pm 33,4$ g	$\pm 39,3$ g	$\pm 25,3$ g	--	$\pm 27,5$ g
	M.Diff		50,8 g	64,8 g	--	76,3 g
	Signif.		$p < 0,01$ **	$p < 0,001$ ***	--	$p < 0,001$ ***

#### 4.6.2 Wundheilungsstörungen

Neun Tiere entfernten sich in der 1. postoperativen Woche selbst die Cutannähte, zwei aus der W12, fünf aus der W4 und zwei aus der W8. In vier Fällen (W12, 3x W4) war keine Intervention notwendig, die Wundränder blieben adaptiert und reizlos. In vier Fällen (2x W4, 2x W8) gab es oberflächliche Defekte von 2x3 mm, die von selbst abheilten. In einem Fall (W12 aus April 2017) wurde am 1. postoperativen Tag die Wunde revidiert und vernäht. Über Nacht entfernte sich das Tier die Fäden erneut. Wir verzichteten auf einen weiteren Versuch des Hautverschlusses. Die Wunde heilte in der Folge reizlos und trocken ab.



## 5 Diskussion

Die Gelenksteifigkeit ist eine einschränkende Funktionsminderung und tritt meist nach einem Trauma oder einer Operation auf [4-6, 27]. Dabei kann auch eine zu aggressive Krankengymnastik im Rahmen der konservativen Behandlung die Kontraktur durch Mikrotraumatisierung weiter verschlechtern [4]. Obwohl die chirurgische Behandlung bei schweren Gelenkkontrakturen gute Verbesserungen bringt [4], besteht ein dringender Bedarf an einer nicht-invasiven, die konservative Therapie unterstützenden medikamentösen Therapieoption, die vielleicht sogar prophylaktisch verabreicht werden kann [27, 40]. In den vergangenen Jahren wurden dazu mehrere neue Tiermodelle für immobilitätsinduzierte Kontrakturen- und PTGK-Studien etabliert [2, 13, 15, 17, 20, 22, 23, 39]. Viele Forschungsgruppen arbeiten daran, die Prozesse zu verstehen, die der Kontraktorentstehung zugrunde liegen [7-9, 27, 29]. Auf deren Grundlage können medikamentöse Ansätze entwickelt werden, die diese Entstehungsprozesse verlangsamen oder sogar stoppen können [10-12, 18, 32, 35, 37].

Für die Untersuchung dieser Behandlungsansätze ist ein Tiermodell, welches zuverlässige und dauerhafte Kontrakturen analog der menschlichen PTGK erzeugt, unersetzlich.

### 5.1 Die Notwendigkeit eines neuen Rattenmodells

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung eines neuen Rattenmodells der posttraumatischen Gelenksteife.

#### 5.1.1 Das Gelenktrauma und die Kontrakturpermanenz nach Remobilisation

Hildebrand et al. führten 2004 ein neues Kaninchen-Modell der PTGK ein, bei dem eine stabile intraartikuläre Fraktur durch Kortikalisfensterung mit Hämarthros erzeugt wurde (kortikale Fensterung der medialen und lateralen Femurkondylen des extrakartilaginären Gelenkanteils) [2]. Dem zugrunde lag ein Frakturheilungsmodell in der Maus [39]. Nesterenko et al. modifizierten das Modell von Hildebrand et al. und fügten durch Hyperextension von  $-45^\circ$  die Zerstörung der hinteren Kapsel hinzu. Es resultierte eine stärkere Kontraktur beim Kaninchen als bei alleiniger Knochenläsion und Immobilisation [14]. Er merkte dabei kritisch an, dass bei Kaninchen zur Vorbeugung einer Fraktur durch die Hyperextension das notwendige Inzidieren der Kreuzbänder bei der Wundheilung zu einer zusätzlichen starken Arthrofibrose führen

kann. Wir konnten an exemplarischen Versuchen an Ratten mit anschließender MRT-Darstellung nachweisen, dass durch Hyperextension von  $-45^\circ$  eine sichere Läsion der hinteren Kapsel mit Ödem erzeugt wird (Abb. 33, Kapitel 4.5). Die beobachtete partielle Epiphysiolyse mit posteriorer Erweiterung der femoralen Wachstumsfuge war bei Beugung postoperativ anatomisch reponiert (Abb. 34). Die partielle Epiphysiolyse könnte damit als unbeabsichtigtes Trauma Raum für Diskussionen eröffnen. Allerdings erhielten alle Ratten der Interventionsgruppen die gleiche Behandlung und die mögliche partielle Epiphysiolyse kann somit als Teil des lokalen Traumas gesehen werden. Nach der kürzesten Immobilisationszeit von 4 Wochen war eine korrekte anatomische Position zu erkennen. Bei einzelnen Tieren war lediglich eine stärkere Verknöcherung der Epiphysenfuge zu sehen. Wir kamen somit zu dem Schluss, dass auf das Inzidieren der Kreuzbänder verzichtet werden kann.

Bis dato gibt es nur wenige Rattenmodelle der PTGK im Kniegelenk. Von diesen hatte keines gezeigt, dass die nach einem Trauma erzeugte Kontraktur auch nach einer Remobilisationszeit weiter bestehen bleibt, bzw. wie diese sich darunter verhält. So zeigten 2013 Li et al. im Rattenmodell, dass mit einem Trauma, wie von Nesterenko et al. am Kaninchen modifiziert (zwei Knochenfenster, Inzidierung der Kreuzbänder, Hyperextension  $-45^\circ$ ), und 8-wöchiger Immobilisation des Kniegelenks mit Polyesternähten ein Flexionskontrakturwinkel von  $124,0^\circ \pm 12,3^\circ$  und eine Kontraktur von  $95,9^\circ$  erzeugt werden können. Jedoch zeigten sie nicht, dass diese nach einer Remobilisation weiterbesteht [14, 35].

Jüngere Untersuchungen in der Ratte beschäftigten sich mit der Permanenz von erzeugten Kontrakturen nach alleiniger längerer Immobilisation. Anhand dessen liegt es nahe, dass eine Immobilisation allein zum Erzeugen einer dauerhaften Gelenkkontraktur ausreichen könnte [17, 23]. Allerdings reproduzieren diese Modelle nicht den Entstehungsmechanismus der PTGK beim Menschen. Diesem Krankheitsbild liegt ursächlich ein traumatisches Ereignis zugrunde [4-6]. Daher ist ein zu Beginn gesetztes Trauma fester Bestandteil unseres neuen Modelles. Die Permanenz unserer erzeugten Kontraktur wird unter Kapitel 5.2 diskutiert.

### 5.1.2 Die verschiedenen Anteile am Extensionsdefizit

Bei unseren Untersuchungen stellten wir nach vierwöchiger Immobilisation (W4 ohne Remobilisation) für das gesamte Gelenk ein ED von  $67,0^\circ \pm 15,5^\circ$  fest. Durch die Myotomie wurde ein Extensionsgewinn von  $20,9^\circ \pm 12,4^\circ$  erreicht. Daraus konnte ein

arthrogener Anteil am Extensionsdefizit (AED) von  $46,1^\circ \pm 19,7^\circ$  errechnet werden. Vergleichend mit der Kontrollgruppe C4 ergab sich daraus eine Kontraktur von  $54,9^\circ$ , mit  $46,1^\circ$  arthrogener Verursachung.

Nur wenige Arbeitsgruppen nahmen diese Unterteilung mit in ihre Untersuchungen auf. Im Rattenmodell stellten Trudel et al. 2014 fest, dass nach kurzer Immobilisationszeit von 1 - 2 Wochen die Kontraktur hauptsächlich myogen verursacht wird und nach Myotomie das Niveau der Kontrollgruppen erreicht. Nach längerer Immobilisation von 4 - 32 Wochen steigt der arthrogene Anteil auch nach Remobilisation auf bis zu 100% an [20, 23]. Bei der mit unserer Untersuchung vergleichbaren Arbeit von Li et al., mit einer Gesamtkontraktur von  $95,9^\circ$  nach 8 Wochen Immobilisation, wurden weder die Remobilisation noch die Myotomie durchgeführt. Somit kann die arthrogene Komponente nicht isoliert beurteilt werden [35]. Lediglich bei Efid et al. wurde im Rahmen einer PTGK-Medikamenten-Untersuchung eine arthrogene Kontraktur von  $32^\circ \pm 5^\circ$  beobachtet. Die Kontraktur wurde allerdings durch ein massives Trauma (Abschaben des Trochlea-Knorpels des Kniegelenks) und über eine 14-tägige Immobilisation mit nicht-resorbierbaren Ethibond®-Faden erzeugt [37].

### 5.1.3 Ellenbogen-Kontraktur-Modell

Zwei Arbeiten aus einer Forschungsgruppe beschäftigten sich mit der traumatischen Ellenbogen-Kontraktur im Rattenmodell und maßen die arthrogene Komponente [13, 30]. Nach 6-wöchiger Immobilisation in einem schlauchförmigen elastischen Netzverband wurde nach geringem Kapselschaden ein AED von  $80,2^\circ \pm 16,1^\circ$  streckseitig zu einer Horizontalen gemessen ( $\hat{=}$  nach unserem Messverfahren beugeseitig:  $180^\circ - 80,2^\circ = 99,8^\circ \pm 16,1^\circ$ ). Nach Subtraktion der Kontrollgruppe ergibt sich daraus eine arthrogene Kontraktur nach unserer Definition von  $46,6^\circ$  (Interventions-AED minus Kontroll-AED, siehe Kapitel 4.4.2). Mit dem schwereren Trauma erzeugten Lake et al. ein AED von  $100,3^\circ \pm 10,8^\circ$  ( $\hat{=}$   $79,7^\circ \pm 10,8^\circ$  nach unserem Messverfahren), welches nach Korrektur mit der Kontrollgruppe eine arthrogene Kontraktur von  $66,7^\circ$  ergab [13].

Dunham et al. und Lake et al. schreiben in ihren Arbeiten, dass das aus drei getrennten Knochen gebildete Ellenbogengelenk nach traumatischer Verletzung besonders anfällig für Steifigkeit [13] und anatomisch sowie biomechanisch eines der komplexesten Gelenke des Körpers ist [30]. Auch wenn nach Immobilisation dauerhafte Kontrakturen erzeugt werden konnten [13], sehen wir das in unserer Arbeit

verwendete Rattenknie-Modell als vorteilhafter an: Es besteht nur aus zwei miteinander artikulierenden Knochen, hat eine klarere Abgrenzung von Extensions- und Flexionsbereichen und ist damit weniger fehleranfällig als ein Ellenbogenmodell. Für eine bessere Standardisierbarkeit mit anschließenden Therapieuntersuchungen der PTGK ist unser eingeführtes Modell daher besonders geeignet [13, 28, 30].

#### 5.1.4 Notwendige Immobilisationsdauer

Eine der wichtigsten Untersuchungen zur Kontrakturstehung stellte nach 2 bis 32 Wochen reiner Immobilisation arthrogene Kontraktionen von 13° bis 52° fest [22]. Diese Kontrakturen entstehen anscheinend in Schüben in der ersten bis zweiten Woche und noch einmal in der vierten bis sechsten Woche der Immobilisation [29]. Daraus können wir ableiten, dass eine Immobilisationszeit von mindestens 4 Wochen ratsam ist, um eine Kontraktur im Tiermodell zu erzeugen. Nach der Literaturanalyse von Schomacher et al. ist nach 4 Wochen Immobilisation gut zu erkennen, dass sich der myogene Anteil auf ein Plateau reduzierte, der arthrogene Anteil stark zunahm und damit den Hauptteil der Gesamtkontraktion ab der 4. Woche bildete, siehe Abb. 35 [3].



Abbildung 35: Kontrakturveränderung in Grad bei immobilisierten Rattenknien aus 40 Arbeiten in 135° submaximaler Flexion (nach [22]) [3].

Die Gesamtkontraktion setzt sich aus arthrogenem und myogenem Anteil zusammen. Der Hauptteil der Kontraktur ist arthrogener Ursache, er nimmt in den ersten 4 Wochen steil zu und erreicht nach 16 Wochen sein Maximum. Der myogene Anteil reduziert sich in den ersten 4 Wochen stark und verbleibt bis zur 14. Woche unter Immobilisation auf einem Plateau um 10°. Bei längerer Immobilisation nimmt er dann kontinuierlich auf 0,8° nach 32 Wochen ab.

Trudel et al. maßen danach eine arthrogene Kontraktur nach 4 Wochen von  $34,3^\circ \pm 6,2^\circ$  [22]. Ähnliche Ergebnisse zeigen auch andere Untersuchungen [18, 20] und auch die 3-Wochen-Immobilisation von Kaneguchi et al. lässt sich darin einordnen [19]. Allerdings wurde bei allen diesen Modellen zur Erzeugung der Kontraktur vorher kein Trauma einbezogen.

Im traumatischen Kaninchenmodell mit Kapselverletzung, zwei kortikalen Fenstern und 8-wöchiger Immobilisation konnte eine arthrogene Kontraktur von  $76,3^\circ \pm 24,1^\circ$  erreicht werden [14]. Im Rattenmodell konnte mit massivem Trauma und über eine 14-tägige Immobilisation eine arthrogene Kontraktur von  $32^\circ \pm 5^\circ$  erzeugt werden [37]. Diese ist 2,5-fach so schwer wie bei einer reinen Immobilisationskontraktur, die Trudel et al. nach 2 Wochen mit  $12,6^\circ \pm 6,7^\circ$  erreichten [22].

Mit nur vier Wochen Immobilisation erzeugten wir im Rattenmodell eine arthrogene Gelenkkontraktur von  $46,1^\circ$ , die deutlich schwerwiegender als bei allen nicht-traumatischen Rattenmodellen ist. Wir wählten für unser Modell eine möglichst kurze Immobilisationszeit bei optimaler Kontrakturerzeugung und sehen daher die 4-wöchige posttraumatische Immobilisation durch unsere Ergebnisse und die Analyse von Schomacher et al. (siehe Abb. 35) als optimales Intervall an.

#### 5.1.5 Geeignete Remobilisationsdauer

Erste PTGK-Modelletablierungen im Kaninchen führten eine Remobilisationszeit vom Vierfachen der Immobilisationszeit zur Erprobung des maximalen wiederherstellbaren Bewegungsbereichs (range of motion = ROM) ein [2]. Untersuchungen der ROM bei Ratten nach reiner Immobilisation zeigten ein Kontrakturplateau nach 8 Wochen [3, 15, 22]. Trudel et al. zeigten, dass eine der Immobilisation gleich lange Remobilisation ausreicht und auch bei Verdopplung oder Vervierfachung der Erholungsdauer kein signifikanter Gewinn an Kniestreckung erreicht wird [15]. Dementsprechend haben wir unsere Remobilisationszeit auf das maximal zweifache der Immobilisationsdauer begrenzt. Die geringe, nicht signifikante Änderung des Extensionsdefizits von  $1,9^\circ$  zwischen der W8 und der W12 bestätigt, dass bei unserem Modell ebenso keine weitere Remobilisationszeitverlängerung notwendig ist. Für die Erzeugung dauerhafter Kontrakturen ist die gleich lange Immobilisation- wie Remobilisationszeit der W8 ausreichend und bestätigt die Erkenntnisse von Trudel et al. [15]. Weiterhin ist zur Länge der Bewegungszeit nach Ruhigstellung die Lebenserwartung der Ratten zu berücksichtigen. Wenn die Remobilisation das Doppelte oder Vierfache der Immobilisationszeit von 16 oder 32 Wochen beträgt, ist dies nicht mit der 2-jährigen

Lebenserwartung der Sprague-Dawley-Ratten zu vereinbaren und müsste auch deswegen verkürzt werden [15].

## **5.2 Permanenz der Kontraktur bei Remobilisation**

Die ermittelte Kontraktur aus den Extensionsdefiziten direkt am Ende der Immobilisationsphase betrachtet diese nur zu einem Zeitpunkt. Um eine Veränderung oder Tendenz zu erkennen, ist die Betrachtung im Verlauf notwendig. Wie sich die entstandene Kontraktur nach dem Ende der Immobilisationszeit verhält, ist ein weiterer wichtiger Aspekt unserer Untersuchungen.

Wie oben bereits erwähnt, hatten sich andere Arbeiten mit der Permanenz von Kontrakturen beschäftigt [2, 17, 23]. So konnten Trudel et al. zeigen, dass sich die arthrogene Kontraktur nach 4 Wochen Immobilisation und anschließender 4-wöchiger Remobilisation von 50° auf 13° verringert. Bei je 8-wöchiger Immobilisation und Remobilisation verringerte sie sich von 59° auf 31°. Bei diesem nicht-traumatischen Rattenmodell ist das eine Reduktion von 37° oder 74%, bzw. 28° oder 47,5% nach 8 Wochen [23].

Das von Lake et al. neu eingeführte traumatische Modell der PTGK erzeugte im Ratten-Ellenbogen nach 6-wöchiger Immobilisation eine ähnlich starke arthrogene Kontraktur von 46,6° bei leichter Kapselschädigung (anteriore Kapsulotomie), die sich nach 6-wöchiger Remobilisation auf 18,9° verringerte. Das ist eine Reduktion um 27,7° und entspricht 59,4% der Ausgangskontraktur. Mit stärkerem Trauma (anteriore Kapsulotomie mit Durchtrennung des lateralen Kollateralbandes) und gleicher Immobilisation sowie Remobilisation verringert sich die Ellenbogenkontraktur von 66,7° auf 21,6°, das ist eine Reduktion um 45,1° und entspricht 67,6% [13, 30].

Wir konnten mit einer Immobilisation von nur 4 Wochen und gleichlanger Remobilisation eine arthrogene Kontraktur erzeugen, die sich von 46,1° auf 19,8° verringerte, was einer absoluten Reduktion um 26,3° und einer relativen Reduktion von 57,1% entspricht. Auch nach 8 Wochen Remobilisation bleibt die Kontraktur permanent bestehen. Der arthrogene Anteil erhöht sich auf 25,1°, die Gesamtkontraktur verändert sich von 28,5° bei der W8 auf 29,2° bei der W12. Dieser Unterschied zwischen den beiden Gruppen am gesamten ED ist nicht signifikant ( $p = 0,719$ ). Somit erwiesen sich die erzeugten Kontrakturen aus unserem Kniemodell im Zeitverlauf als konstant unter Remobilisation. Bei der Verwendung unseres neuen Rattenmodells ist eine Remobilisation von 4 Wochen ausreichend. Dies ist die

Grundlage für Folgearbeiten, die für die Erforschung der PTGK eine dauerhafte arthrogene Kontraktur als Voraussetzung benötigen.

Der Unterschied der Kontraktur wird im Vergleich zu dem nicht-traumatischen Rattenmodell noch deutlicher. Nach je 4 Wochen Immobilisation und Remobilisation verringerte sich die Kontraktur um 37° auf nur noch 13° und erreicht damit fast das Niveau der Kontrollgruppe [23]. Die Verdopplung der Remobilisationszeit von 4 auf 8 Wochen bei unserer Arbeit zeigte keinen weiteren Kontrakturverlust, sondern deren Permanenz. Dies unterstreicht, wie wichtig die Einbeziehung eines Traumas in ein PTGK-Modell ist.

### **5.3 Die Zusammensetzung der Kontraktur**

Nur wenige Untersuchungen nahmen die Unterscheidung zwischen arthrogenem und myogenem Anteil am Extensionsdefizit des Gelenkes vor. Manche untersuchten das gesamte Gelenk [15, 35] oder durchtrennten für die Kontraktionsbestimmung direkt alle umliegenden Muskelstrukturen – dies entspricht einer rein arthrogenen Messungen [2, 13, 14, 18, 21, 29, 30, 34]. Gleichwohl ist aber eine Unterscheidung zwischen arthrogenem und myogenem Anteil für die Etablierung eines neuen Tiermodells ratsam, da Trudel et al. nach 1-2 Wochen Immobilisation einen myogenen Anteil von 85-86% ermittelten. Beide Anteile bilden sich nach Remobilisation zurück und sie schlussfolgern, dass keine signifikante Gelenkbeschränkung bei kurzer Immobilisation bestehen bleibt [23]. Bei längerer Immobilisation nimmt der myogene Anteil immer weiter ab, nach 4 Wochen beträgt er 44% und sinkt auf 0% nach 32 Wochen Immobilisation. Ab einer Immobilisationszeit von mindestens 4 Wochen bleiben auch nach gleichlanger Remobilisation ( $\geq 4$  Wochen) signifikante Kontrakturen zurück, die zu 100% arthrogenen Ursprungs sind [23]. Dies wird ebenso von nachfolgenden Arbeiten nachgewiesen [3, 19, 20]. Der myogene Kontrakturanteil ist variabel und durch mobilisierende Maßnahmen komplett reversibel [22, 23]. Eine Voraussetzung für die Erforschung der PTGK ist daher eine gut ausgeprägte und dauerhafte arthrogene Kontraktur. Aus diesem Grund war es für unser neues Rattenmodell eminent, dass sich der myogene Anteil zügig reduziert und/oder auf einem konstanten Niveau gehalten wird.

Bei unserem Modell gab es keinen Unterschied zwischen dem myogenen Anteil am ED der Interventionsgruppen zu ihrer kontralateralen Extremität (ipsilaterale vs. kontralaterale Extremität,  $p = 0,848$ ) und im Vergleich zu ihren jeweiligen

Kontrollgruppen (ipsilaterale Extremität,  $p = 0,268$ ), siehe Kapitel 4.4.1 und Abb. 29 Kapitel 4.4.1. Damit konnten wir nachweisen, dass die posttraumatische Kontraktur allein vom Gelenk und ihrer Kapsel ausgeht. Die posttraumatische Muskulatur verursacht damit keinen zusätzlichen Beitrag. Im Vergleich zu dem nicht-traumatischen Modell von Trudel et al., das nach 4 Wochen einen arthrogenen Anteil von 56% erreichte, konnten wir nach 4 Wochen Immobilisation einen arthrogenen Beitrag zur Kontraktur von 100% erzeugen. Dies trat bei Trudel et al. konstant nach 32 Wochen alleiniger Immobilisation oder nach 16 Wochen, die sich aus je acht Wochen Immobilisation und Remobilisation zusammensetzten, ein [23].

Wenn der myogene Anteil keinen Beitrag mehr zur Kontraktur leistet und sie zu 100% arthrogen verursacht ist, kann der myogene Anteil am ED damit vernachlässigt werden. Die errechnete Kontraktur ist rein arthrogen, weil die myogene Komponente herausgekürzt wurde. Daraus lässt sich schließen, dass unser traumatisches Rattenmodell mit Remobilisation für die Erzeugung einer frühen arthrogenen Kontraktur gut geeignet ist.

## **5.4 Komplikationen und Einschränkungen**

Einzelne Komplikationen wurden bereits bei den Ergebnissen berichtet. Im Folgenden werden wichtige Punkte herausgegriffen und diskutiert.

### 5.4.1 Einschränkungen des Versuchsaufbaus

Als eine Einschränkung könnte gesehen werden, dass wir bei den Kontrollgruppen keine Scheinoperation vornahmen. Damit könnte der Einfluss der Kapselverletzung und des kortikalen Fensters auf die Gelenkkontraktur überschätzt werden. Viele Arbeiten verzichteten auf eine Schein-OP-Gruppe [2, 7, 10, 11, 14, 39]. Dies liegt vermutlich an den zusätzlich notwendigen Tieren neben der Kontrollgruppe und dem größeren Operationsaufwand. Wie bei vorangegangenen Modellversuchen wäre ein einmaliges Einbeziehen einer Scheinoperation bei Folgearbeiten ratsam, um eine eventuelle Überschätzung auszuschließen [8, 13, 16, 20, 22, 29, 30].

Die Zuordnung der Versuchstiere zur Interventionsgruppe oder Kontrollgruppe erfolgte nicht randomisiert. Ebenso wurden die Winkelmessungen, Operationen und die Bewertung der Versuchstiergruppe nicht verblindet durchgeführt. Das könnte zu subjektiven Verzerrungen führen. Auch wenn dies die organisatorische Durchführung der Modelletablierung wesentlich erleichterte, sollten die oben aufgeführten Punkte bei Folgestudien berücksichtigt werden.



#### 5.4.2 Komplikationen des Körpergewichts

Die Arbeit von Chimoto et al. am nichttraumatischen Rattenmodell konnte mit interner Fixierung keinen postoperativen Gewichtsverlust feststellen. Bei seinen wöchentlichen Kontrollen nahmen die Versuchstiere kontinuierlich zu und er kam zu dem Schluss, dass sein operatives Verfahren wenig Einfluss auf das Körpergewicht und das Knochenwachstum hat [29]. Bei den Untersuchungen im traumatischen Kaninchenmodell verloren die Tiere bis zu 10% vom Ausgangsgewicht und benötigten bis zu 8 Wochen, um dieses postoperativ wieder zu erreichen [2, 14]. Im Gegensatz dazu konnten Eford et al. bei seiner PTGK-Medikamentenstudie im traumatischen Rattenmodell 2 Wochen nach der operativen Ruhigstellung nicht-signifikante leichte Gewichtsverluste von 2,4% bis 9,4% feststellen. Der signifikante Gewichtsverlust von 18,4% wurde lediglich bei der intraartikulären Injektion des Steroids Triamcinolonacetonid beobachtet [37].

Eine gesicherte Ursache für den Gewichtsverlust bei unserer Arbeit konnten wir trotz aller Vorsichtsmaßnahmen entsprechend des Tierschutzes nicht ermitteln. Einerseits liegt es wohl im individuellen Umgang des Tieres mit der Operation als Stresssituation, andererseits könnten weitere Beobachtungskriterien zur besseren Überwachung der Tiere entwickelt werden. Als Kriterium könnte dafür herangezogen werden, wie viel die Tiere an Nahrung und Wasser zu sich nehmen, sodass ein Flüssigkeitsmangel erkennbar wird. Bei unserem Studiendesign war beides ad libitum erlaubt. Dabei könnte ebenso kontrolliert werden, welche Menge an Tramadolwasser postoperativ angenommen wird. So werden ein absolutes Ablehnen und ein damit einhergehender Flüssigkeitsmangel frühzeitig erkannt. Ein weiteres Kriterium könnte die Abschätzung des Blutverlustes bei den Operationen sein. Bei einem Tier aus der W8-Gruppe kam es bei der Drahtentfernung zur vermehrten Blutung aufgrund stärkerer Kallusbildung, der für die Drahtentnahme entfernt werden musste. Zur Abschätzung des Blutverlustes könnten die Tiere postoperativ erneut gewogen werden.

Für eine bessere Analyse der Körpergewichtsverläufe wäre ein konsequenteres Wiegen an festgelegten Tagen postoperativ ratsam. Die Gewichtserhebungen sind bei unserer Arbeit nicht exakt nach den gleichen Tagen postoperativ erfolgt, da dies für die Überwachung im Rahmen des Tierschutzes ausreichte. Die daraus resultierenden Unterschiede zwischen den Tieren erschwerten jedoch eine detailliert statistische Auswertung.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Kommt es zu einem Trauma eines Gelenkes, kann während des Heilungsprozesses eine posttraumatische Gelenkkontraktur entstehen, die zu Funktionseinschränkungen bis hin zum Funktionsverlust des entsprechenden Gelenkes führen kann. Deren Behandlung hat sich in den vergangenen Jahrhunderten deutlich verbessert und es haben sich wirksame Therapieansätze aus konservativer und operativer Behandlung etabliert. Trotzdem bedarf es weiterhin der Forschung, um die Pathogenese der posttraumatischen Gelenkkontraktur detaillierter zu verstehen. Dabei ist im Speziellen die Gelenkkapsel und die Veränderung der Fibroblasten zu Myofibroblasten einer der aktuellen Forschungsschwerpunkte. Für die Erforschung neuer medikamentöser Therapieansätze bedarf es Untersuchungen am Tiermodell. Hierfür etablierten wir ein neues Rattenkontrakturmodell am Kniegelenk. Das Ziel dieser Pilotstudie war es, dauerhafte und reproduzierbare posttraumatische Gelenkkontrakturen zu erzeugen. Als wichtige Kriterien der posttraumatischen Gelenkkontraktur nahmen wir ein Trauma mit Hämarthros und Ruptur der hinteren Kapsel, eine anschließende Gelenkimmobilisation sowie eine Remobilisation mit in das Modell auf.

Nachdem am Kniegelenk das Trauma durch Hyperextension und Kortikalisbohrung (Nachahmung einer juxtaartikulären Fraktur) gesetzt wurde, erfolgte eine Immobilisation des Kniegelenks mittels K-Draht-Arthodese für 4 Wochen. Dieser wurde anschließend explantiert und es schloss sich die Remobilisationszeit je nach Interventionsgruppe an. Dafür teilten wir unsere Sprague-Dawley-Ratten in drei Interventionsgruppen mit unterschiedlicher Remobilisationszeit von 0, 4 oder 8 Wochen auf. Vor dem Setzen des Traumas und nach Ende des Untersuchungszeitraums wurde bei jedem Tier die maximale Extension des Kniegelenks in einer Einspannvorrichtung mittels Röntgen dokumentiert. Mit dem Bildbearbeitungsprogramm ImageJ konnte daraus der Extensionswinkel gemessen werden. Für die Ermittlung des myogenen Anteils am Extensionsdefizit führten wir nach dem Röntgen eine Myotomie und eine erneute Extensionsmessung durch. Damit konnte aus der zuvor gemessenen gesamten Extension der arthrogene Anteil errechnet werden. Zu jeder Interventionsgruppe führten wir eine gleich lange Kontrollgruppe von insgesamt 4, 8 oder 12 Wochen. Sie erhielten lediglich die Extensionsmessung am Anfang und am Ende des Untersuchungszeitraums und keine Schein-OP.

Wir fanden heraus, dass sich bei den Interventionstieren die gesamte Gelenkkontraktur von 54,9° nach 4 Wochen Immobilisation (W4) auf 28,5° nach

zusätzlichen 4 Wochen Remobilisation (W8) verringert. Nach weiteren 4 Wochen Remobilisation (W12) verringerte sich die Kontraktur nicht weiter, sondern blieb bei  $29,2^\circ$  ( $p = 0,72$  zu W8) konstant. Wir hatten somit eine permanent bestehende Kontraktur erzeugt, die sich auch durch prolongierte Remobilisation nicht als weiter regredient erwies (siehe Tab. 3). Mit der durchgeführten Myotomie konnten wir einen konstanten myogenen Anteil am ED zwischen  $14,2^\circ$  bis  $23,6^\circ$  nachweisen. Es konnte kein signifikanter Unterschied sowohl im Gruppenvergleich (Interventions- und Kontrollgruppen,  $p = 0,268$ ) als auch im Seitenvergleich der Extremitäten ( $p = 0,848$ ) festgestellt werden. Die Kontraktur zeigte sich damit als rein arthrogenen Ursprungs. Durch Subtraktion des myogenen Anteils vom Gesamt-ED konnte der arthrogene Anteil errechnet werden. Zur Ermittlung der Kontraktur zogen wir das physiologische ED der Kontrollgruppe vom pathologischen ED der zugehörigen Interventionsgruppe ab. Wir stellten fest, dass das physiologische ED komplett myogenen Ursprungs ist und der Gelenkwinkel durch die Myotomie über das ursprüngliche Maß hinaus wiederhergestellt wird, ein arthrogener Anteil lag nicht vor (siehe Tab. 2). Der arthrogene Anteil der Interventionsgruppen ergab damit die zugehörige arthrogene Kontraktur. Sie verhielt sich parallel zur gesamten Gelenkkontraktur (siehe Tab. 3).

Wir konnten zeigen, dass sich mit unserem Modell eine posttraumatische Gelenkkontraktur schaffen lässt, die auch durch Remobilisation nicht vollständig regredient ist. Für zukünftige Forschungen mit medikamentösen Therapieansätzen zur Verbesserung der posttraumatischen Gelenkkontraktur ist die Kombination aus 4 Wochen Immobilisation und 4 Wochen Remobilisation für dauerhafte Kontrakturen am besten geeignet. Weiterhin zeichnet sich unser neues Rattenkniemodell durch seine günstige anatomische Größe, eine gute Handhabbarkeit für Untersuchungen und Logistik sowie durch eine kosteneffektive Planung aus. Außerdem enthält es mit dem Knie ein einfach strukturiertes Gelenk, welches die sichere Handhabbarkeit unterstützt und für eine gute Reproduzierbarkeit sorgt.

Weitere Ergebnisse, die im Rahmen dieser Modelletablierung durch gewonnenes Material ausgewertet werden könnten, sind die histologischen Veränderungen des Kniegelenks einschließlich der hinteren Gelenkkapsel. Nach der Etablierung unseres Rattenkontrakturmodells wurden damit bereits medikamentöse Folgestudien durchgeführt: Zur Verbesserung der posttraumatischen Gelenkkontraktur untersuchten Baranowski et al. die Auswirkungen von Losartan und Atorvastatin auf die frühe posttraumatische Gelenksteifigkeit [40]. Auch Wegner et al. nutzten das

Rattenkontrakturmodell für ihre Untersuchung über die Langzeitwirkung von Atorvastatin auf die posttraumatische Gelenkkontraktur [41].

## 7 Literaturverzeichnis

1. Perry J. Contractures. A historical perspective. Clin Orthop Relat Res. 1987(219):p. 8-14. Zitiert nach Hildebrand KA, Sutherland C, Zhang M. Rabbit knee model of post-traumatic joint contractures: the long-term natural history of motion loss and myofibroblasts. J Orthop Res. 2004;22(2): 1.
2. Hildebrand KA, Sutherland C, Zhang M. Rabbit knee model of post-traumatic joint contractures: the long-term natural history of motion loss and myofibroblasts. J Orthop Res. 2004;22(2):313-20.
3. Schomacher J. Manuelle Therapie. Stuttgart: Thieme; 2005. 14, 82 p.
4. Brunner U, Lichtenberg S, Gausepohl T, Mader K. Ellenbogensteife. In: Müller LP, Hollinger B, Burkhart K, editors. Expertise Orthopädie und Unfallchirurgie - Ellenbogen. Stuttgart: Thieme; 2016. p. 289-318.
5. Mader K, Pennig D. Post-Traumatic Elbow Stiffness - Arthrolysis and Mechanical Distraction. In: Bentley G, editor. European Surgical Orthopaedics and Traumatology - The EFORT Textbook. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014. p. 1479-508
6. Drobny TK. The Stiff Knee in Adults. In: Bentley G, editor. European Surgical Orthopaedics and Traumatology - The EFORT Textbook. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014. p. 3295-317
7. Watanabe M, Hosono M, Kojima S, Matsuzaki T, Hibino I. Histopathological Changes in Joint Components in a Rat Knee Joint Contracture Model Following Mobilization. Journal of Physical Therapy Science. 2012;24:1199-203.
8. Yabe Y, Hagiwara Y, Suda H, Ando A, Onoda Y, Tsuchiya M, et al. Joint immobilization induced hypoxic and inflammatory conditions in rat knee joints. Connect Tissue Res. 2013;54(3):210-7.
9. Hofmann A, Mattyasovszky S, Müller LP, Martin A, Wollstädter J, Ritz U, et al. Die ätiologische Rolle der Myofibroblasten in der Gelenkkapselkontraktur. Obere Extremität. 2007;2(4):187-96.
10. Barlow JD, Morrey ME, Hartzler RU, Arsoy D, Riester S, van Wijnen AJ, et al. Effectiveness of rosiglitazone in reducing flexion contracture in a rabbit model of arthrofibrosis with surgical capsular release: A biomechanical, histological, and genetic analysis. Bone Joint Res. 2016;5(1):11-7.
11. Li F, He B, Liu S, Fan C. Celecoxib effectively inhibits the formation of joint adhesions. Exp Ther Med. 2013;6(6):1507-11.
12. Mattyasovszky SG, Wollstadter J, Martin A, Ritz U, Baranowski A, Ossendorf C, et al. Inhibition of Contractile Function in Human Joint Capsule Myofibroblasts by Targeting the TGF-beta1 and PDGF Pathways. PLoS One. 2016;11(1):e0145948.
13. Lake SP, Castile RM, Borinsky S, Dunham CL, Havlioglu N, Galatz LM. Development and use of an animal model to study post-traumatic stiffness and contracture of the elbow. J Orthop Res. 2016;34(2):354-64.

14. Nesterenko S, Morrey ME, Abdel MP, An KN, Steinmann SP, Morrey BF, et al. New rabbit knee model of posttraumatic joint contracture: indirect capsular damage induces a severe contracture. *J Orthop Res*. 2009;27(8):1028-32.
15. Trudel G, Laneuville O, Coletta E, Goudreau L, Uhthoff HK. Quantitative and temporal differential recovery of articular and muscular limitations of knee joint contractures; results in a rat model. *J Appl Physiol* (1985). 2014;117(7):730-7.
16. Akai M, Shirasaki Y, Tateishi T. Electrical stimulation on joint contracture: an experiment in rat model with direct current. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78(4):405-9.
17. Ando A, Suda H, Hagiwara Y, Onoda Y, Chimoto E, Itoi E. Remobilization does not restore immobilization-induced adhesion of capsule and restricted joint motion in rat knee joints. *Tohoku J Exp Med*. 2012;227(1):13-22.
18. He R, Wang Z, Lu Y, Huang J, Ren J, Wang K. Chaperonin containing T-complex polypeptide subunit eta is a potential marker of joint contracture: an experimental study in the rat. *Cell Stress Chaperones*. 2015;20(6):959-66.
19. Kaneguchi A, Ozawa J, Kawamata S, Yamaoka K. Development of arthrogenic joint contracture as a result of pathological changes in remobilized rat knees. *J Orthop Res*. 2016;35(7):1414-23.
20. Nagai M, Aoyama T, Ito A, Iijima H, Yamaguchi S, Tajino J, et al. Contributions of biarticular myogenic components to the limitation of the range of motion after immobilization of rat knee joint. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:224.
21. Reynolds CA, Cummings GS, Andrew PD, Tillman LJ. The effect of nontraumatic immobilization on ankle dorsiflexion stiffness in rats. *J Orthop Sports Phys Ther*. 1996;23(1):27-33.
22. Trudel G, Uhthoff HK. Contractures secondary to immobility: is the restriction articular or muscular? An experimental longitudinal study in the rat knee. *Arch Phys Med Rehabil*. 2000;81(1):6-13.
23. Trudel G, Uhthoff HK, Goudreau L, Laneuville O. Quantitative analysis of the reversibility of knee flexion contractures with time: an experimental study using the rat model. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:338.
24. Pschyrembel Online, Hentsch S, medizinische Fachredaktion Pschyrembel. Gelenk [Internet]. 2021, Letzte Aktualisierung: 06.2019 [Zitiert am: 10.05.2021]. URL: <https://www.pschyrembel.de/Gelenk/K08KL/doc/>. Walter de Gruyter GmbH.
25. Schiebler TH. Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie; unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs. 9., vollst. überarb. und aktualisierte Auflage ed. Springer-Lehrbuch, editor. Heidelberg: Springer; 2005. 173 p.
26. Schünke M, Schulte E, Schumacher U. Prometheus LernAtlas der Anatomie - Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem. 5., vollständig überarbeitete Auflage ed. Stuttgart: Thieme; 2018. 40-55 p.
27. Morrey BF. The posttraumatic stiff elbow. *Clin Orthop Relat Res*. 2005(431):26-35.

28. Baranowski A, Schlemmer L, Forster K, Mattyasovszky SG, Ritz U, Wagner D, et al. A novel rat model of stable posttraumatic joint stiffness of the knee. *J Orthop Surg Res.* 2018;13(1):185.
29. Chimoto E, Hagiwara Y, Ando A, Itoi E. Progression of an arthrogenic motion restriction after immobilization in a rat experimental knee model. *Ups J Med Sci.* 2007;112(3):347-55.
30. Dunham CL, Castile RM, Havlioglu N, Chamberlain AM, Galatz LM, Lake SP. Persistent motion loss after free joint mobilization in a rat model of post-traumatic elbow contracture. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017;26(4):611-8.
31. Mansat P, Morrey BF. The column procedure: a limited lateral approach for extrinsic contracture of the elbow. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80(11):1603-15.
32. Sun Y, Li F, Fan C. Effect of pERK2 on extracellular matrix turnover of the fibrotic joint capsule in a post-traumatic joint contracture model. *Exp Ther Med.* 2016;11(2):547-52.
33. Hildebrand KA, Zhang M, Befus AD, Salo PT, Hart DA. A myofibroblast-mast cell-neuropeptide axis of fibrosis in post-traumatic joint contractures: an in vitro analysis of mechanistic components. *J Orthop Res.* 2014;32(10):1290-6.
34. Akeson WH, Woo SL, Amiel D, Matthews JV. Biomechanical and biochemical changes in the periarticular connective tissue during contracture development in the immobilized rabbit knee. *Connect Tissue Res.* 1974;2(4):315-23.
35. Li F, Liu S, Fan C. Lentivirus-mediated ERK2 siRNA reduces joint capsule fibrosis in a rat model of post-traumatic joint contracture. *Int J Mol Sci.* 2013;14(10):20833-44.
36. Berndtson WE, Neefus C, Foote RH, Amann RP. Optimal replication for histometric analyses of testicular function in rats or rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology.* 1989;12(2):291-302.
37. Eford W, Kellam P, Yeazell S, Weinhold P, Dahners LE. An evaluation of prophylactic treatments to prevent post traumatic joint stiffness. *J Orthop Res.* 2014;32(11):1520-4.
38. Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy of the Laboratory Rat.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1976. 2, 20-2, 38-41, 105-8 p.
39. Uusitalo H, Rantakokko J, Ahonen M, Jamsa T, Tuukkanen J, KaHari V, et al. A metaphyseal defect model of the femur for studies of murine bone healing. *Bone.* 2001;28(4):423-9.
40. Baranowski A, Schlemmer L, Forster K, Slotina E, Mickan T, Truffel S, et al. Effects of losartan and atorvastatin on the development of early posttraumatic joint stiffness in a rat model. *Drug Des Devel Ther.* 2019;13:2603-18.
41. Wegner E, Slotina E, Mickan T, Truffel S, Arand C, Wagner D, et al. Pleiotropic Long-Term Effects of Atorvastatin on Posttraumatic Joint Contracture in a Rat Model. *Pharmaceutics.* 2022;14(3).

## 8 Anhang

### Eingesetzte Materialien

#### Gerätschaften

<b>Gerät</b>	<b>Handelsname Hersteller, Land (Adresse)</b>
Bohrer 1,2 mm	HSS-MICRO-Spiralbohrer NO 28 856, ø 1,2 x 8 / 44 mm PROXXON S.A., Wecker, Germany
Bohrer 2 mm	HSS-Spiralbohrersatz mit Zentrierspitze NO 28 876, 6-teilig, ø 2,0 x 28 / 50 mm PROXXON S.A., Wecker, Germany
Federwaage	Federwaage LightLine 1N, d=0.01N, Nr.: 18001 Pesola Präzisionswaagen AG, Schindellegi, Schweiz
Federzwinge	Ergo-Federzwinge FZH, 45-30 mm wolfcraft GmbH, Kempenich, Germany
Feinbohrmaschine mit flexibler Welle	TCM Multi-Funktions-Werkzeug TOPO Handelsgesellschaft mbH, Hamburg, Germany
Haarschneider	Aesculap ® Favorita CL Akku Schermaschine Aesculap Suhl GmbH, Suhl, Germany
Kleintier-Röntgengerät	Faxitron MX-20 Faxitron Bioptics, Tucson, Arizona, USA
Kunststoffbox mit Deckel, 4,5 l	DIRK XXS (27x18x15 cm) HORNBAACH Baumarkt AG, Bornheim, Germany
Kunststoffplatte / Acrylglas	Gutttagliss hobbyglas, Polystyrolglas, 4x500x1500 mm, glatt klar Gutta Werke GmbH, Schutterwald, Germany
Lichtquelle	KL 2500 LCD Schott AG, Mainz, Germany
MRT	Magnetom Prisma, 3T-MRT-Scanner Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Germany
Schraube / Mutter	Sechskantschrauben M6 ø 6,4 mm / Unterlegscheiben / Muttern aus Stahl Joseph Dresselhaus GmbH & Co. KG, Herford, Germany
Schraubzwinge, klein	Alu-Mini-Zwinge AM, 34-47 mm BESSEY Tool GmbH & Co. KG, Bietigheim-Bissingen, Germany
Statistiksoftware	IBM SPSS Statistics 23 IBM Corporation, Armonk, USA



Waage	Digitale Backwaage mit Glasteller (Dr. Oetker) Zenker Backformen GmbH & Co. KG, Aichach, Germany
Wärmeplatte, 37°C	bw03 Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Germany
Winkelsoftware	ImageJ Version 1.50e W. Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, USA
Zerstäuber	O <sub>2</sub> -Air Mixer 960 SERVO Ventilator, SIEMENS ELEMA Siemens AG, Erlangen, Germany

Instrumente

<b>Instrumente</b>	<b>Handelsname Hersteller, Land (Adresse)</b>
Dissektor / Freer	Ochsner Double-Ended Dissector Scanlan International, Inc., Saint Paul, USA
Drahtschneider	Seitenschneider, 160mm BAHAG AG (Bauhaus), Mannheim, Germany
feine Pinzette, anatomisch	feine anatomische Pinzette Abmessungen 150mm, Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
feine Präparierschere	feine Präparierschere, stumpf, gebogen Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Klemme	Arterienklemme (BH109), gebogen, feingliedrig Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Muskelhaken, 3-Zinker	Wundhaken, 3 Zinken, spitz, Breite: 11mm Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Nadelhalter	Nadelhalter Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Pinzette, anatomisch	anatomische Pinzette mittelbreit Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Pinzette, chirurgisch	chirurgische Pinzette mittelbreit Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Schere	Chirurgische Schere, gerade, standard, spitz/stumpf Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany
Skalpell	Feather Disposable Scalpel, Einwegskalpell #15 und #23 Feather Safety Razor Co. LTD, Osaka, Japan
Stellbrink-Zange	Stellbrink-Zange, gebogen, 150mm Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany

Wundspreizer Wundspreizer, klein, scharf, 70mm, 2 ¾  
Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Germany

Reagenzien

**Reagenzien**

**Handelsname  
Hersteller, Land (Adresse)**

Atipamezol	Alzane 5mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Germany
Fentanyl	Fentanyl-Janssen 0,05mg/ml Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Germany
Flumazenil	Flumazenil Hikma 0,5mg/5ml Hikma Pharma GmbH, Gräfelfing, Germany
Formaldehydlösung 4,5%	Roti ®-Histofix, Formaldehydlösung 4,5% Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany
Isofluran	Forene ® AbbVie Deutschland GmbH & Co.KG, Wiesbaden, Germany
Medetomidin	Dorbene vet 1mg/ml Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Germany
Midazolam	Midazolam-hameln 5mg/ml, hameln pharma plus gmbh, Hameln, Germany
RNA-Later	RNA/ater® Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany
Tramadol	Tramadol-ratiopharm ® 100mg/ml ratiopharm GmbH, Ulm, Germany

Verbrauchsmaterialien

**Verbrauchsmaterial**

**Handelsname  
Hersteller, Land (Adresse)**

Abdecktuch	OPS™ Essential Abdecktuch Medline International Germany GmbH, Kleve, Germany
Aufziehkanüle, gelb	Sterican ® Einmalkanüle Gr. 1, gelb, G 20 x 1 1/2““ B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany
Augenschutzsalbe	Corneregel® Hornhautregenerativum Bausch & Lomb GmbH, Berlin, Germany
Entnahme-/ Zuspritzkanüle	Mini-Spike ® B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany

Eppendorf-Röhrchen	Eppendorf Safe-Lock Tubes, 1,5 ml Eppendorf SE, Hamburg, Germany
Flächendesinfektionsmittel	terralin ® liquid, Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany
Handdesinfektionsmittel	Desderman ® pure Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany
Hautdesinfektionsmittel	Braunol ®, 7,5% Povidon-Jod B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany
Injektionskanüle, grau	Sterican ® Einmalkanüle Gr. 20, grau, G 27 x 3/4"" B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany
K-Draht	Kirschnerdraht ø 0,6 mm m/Dreikantspitze, L 70 mm DePuySynthes, Synthese GmbH, Oberdorf, Switzerland
Mullkompressen	Mullkompressen 10x10 cm, 5 Stück, steril Fuhrmann GmbH, Much, Germany
Nahtmaterial	VICRYL® 4-0 (1.5 Ph. Eur), Polyglactin 910, geflochten Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany
Nahtmaterial, Haut	ETHILON ® 4-0 (1.5 Ph. Eur), Polyamid 6, monofil Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany
OP-Handschuhe	Biogel M, Latex, steril Mölnlycke Health Care GmbH, Düsseldorf, Germany
Reinigung & Desinfektion für chir. Instrumentarium	Gigasept ® Instru AF Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany
Röhrchen, 15ml / 50ml	Cellstar® Teströhrchen, Polypropylen, 15 oder 50 ml Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany
Spritze, 1ml / 2ml	Injekt®-F 1ml oder Injekt® 2ml B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany
Spritze, 20ml	BD Discardit™ II Spritze BD, Heidelberg, Germany
Sprühverband	OPSITE ® Spray 100ml Smith & Nephew GmbH, Hamburg, Germany
Spülung NaCl 0,9%	NaCl 0,9%, Isotone Natriumchlorid-Lösung 0,9%, 100ml B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany
Tupfer	Schlinggazetupfer 15x15, 10Stück, steril Fuhrmann GmbH, Much, Germany

## 9 Danksagung

Mein Dank gilt Prof. Dr. med. \_\_\_\_\_ für die Möglichkeit, meine Dissertation im Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie (ZOU) durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer und späteren Doktorvater PD Dr. med. Andreas Baranowski für seine umfangreiche wissenschaftliche Betreuung sowie seine freundschaftlichen und geduldigen Ratschläge, mit denen er mir zur Verfügung stand. Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht realisierbar gewesen.

Weiterhin möchte ich den Mitarbeitern des ZOU-Labors für die Unterstützung danken, besonders Prof. Dr. rer. nat. Ulrike Ritz und \_\_\_\_\_ für die freundliche Hilfe bei allen labortechnischen und organisatorischen Fragen sowie die zahlreichen persönlichen Gespräche. Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. med. vet.

\_\_\_\_\_, der mir bei Fragen zu den Tieren weiterhalf. In diesem Zusammenhang möchte ich dem Team des Translational Animal Research Center (TARC) für die Versorgung unserer Ratten danken.

Dr. rer. physiol. Irene Schmidtman vom Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) danke ich für die statistische Beratung.

Danken möchte ich auch der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie um PD Dr. med. Dr. med. dent. \_\_\_\_\_ und Dr. rer. nat. \_\_\_\_\_ für die Nutzung ihrer Räumlichkeiten.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Prof. Dr. rer. nat. et med. habil. Walburgis Brenner, die freundlicherweise das Zweitgutachten übernommen hat.

Danken möchte ich außerdem meinem Bruder \_\_\_\_\_ und meiner Kommilitonin Katharina, mit der ich gemeinsam das Studium meisterte. Katharina unterstützte mich im Rahmen einer parallelen Dissertation am ZOU tatkräftig bei den Tieroperationen.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine liebe Frau \_\_\_\_\_, der ich einerseits für das professionelle Lektorat danke und die mir andererseits während der Anfertigung der Doktorarbeit unterstützend und liebevoll zur Seite stand und es fortwährend schaffte, die Motivation für die Fertigstellung dieser Arbeit neu zu erwecken.

## **10 Tabellarischer Lebenslauf**