

Aus der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik
Klinik für Hand-, Plastische, Rekonstruktive und
Verbrennungschirurgie an der Universität Tübingen

**Computerunterstützte Ganganalyse als neue
Evaluationsmethode nach Rekonstruktion des Nervus
medianus im Rattenmodell**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Heinzel, Johannes Christoph**

2022

Dekan:

Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. J. Kolbenschlag

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. A. Kirschniak

3. Berichterstatter:

Privatdozentin Dr. N. Dengler

Tag der Disputation:

16.03.2022

Meiner Familie und meinen Freunden gewidmet

„ ... there are men (and women) ... who by the careful ordering of their lives and undoubted sacrifice are adding to knowledge; amateurs in the strict and best sense of the word, doing the job for the love of the thing.”

Sir Herbert Seddon

“The Scientific Surgeon”

1961

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	X
Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung.....	1
1.1 Anatomische und physiologische Grundlagen der peripheren Nerven ...	1
1.2 Klassifikation peripherer Nervenverletzungen.....	4
1.3 Epidemiologie peripherer Nervenverletzungen	7
1.4 Tierexperimentelle Studien peripherer Nervenläsionen	7
1.4.1 Das Nervus ischiadicus Modell der Ratte	8
1.4.1.1 Evaluationsmöglichkeiten der funktionellen Regeneration im Nervus ischiadicus Modell der Ratte	9
1.4.1.2 CatWalk Ganganalyse.....	10
1.4.1.2.1 Technische Details.....	11
1.4.1.2.2 Training der Tiere.....	13
1.4.1.2.3 Mittels CatWalk evaluierbare Parameter.....	13
1.4.1.2.4 CatWalk Ganganalyse im Nervus ischiadicus der Ratte	17
1.4.1.3 Stellenwert des Nervus ischiadicus Modells.....	17
1.4.2 Das Nervus medianus Modell der Ratte	20
1.4.2.1 Evaluationsmöglichkeiten der funktionellen Regeneration	23
1.4.2.1.1 CatWalk Ganganalyse im Nervus medianus Modell der Ratte... ..	27
1.5 Zielsetzung dieser Arbeit	28
2 Material und Methoden	29
2.1 Tierversuchsantrag und ethische Bestimmungen	29
2.2 Versuchstiere und Tierhaltung	29

2.3	Experimentelle Eingriffe	29
2.4	Funktionelle Evaluation	31
2.4.1	CatWalk Ganganalyse	31
2.4.1.1	Ulnarabduktion der Pfote	32
2.4.2	Griffkraft-Test	32
2.4.3	Elektrophysiologische Messungen	34
2.4.4	Euthanasie der Versuchstiere und Bestimmung des Gewichts des Musculus flexor digitorum superficialis	35
2.5	Statistische Analyse	35
3	Ergebnisse	37
3.1	Postoperativer Verlauf und Tierwohl	37
3.2	CatWalk XT Ganganalyse	37
3.2.1	Allgemeine Parameter	38
3.2.1.1	Fläche des Pfotenabdrucks (FPA)	38
3.2.1.2	Länge des Pfotenabdrucks (LPA)	40
3.2.1.3	Breite des Pfotenabdrucks (BPA)	42
3.2.1.4	Schrittbreite	44
3.2.1.5	Schrittlänge	44
3.2.1.6	Schwunggeschwindigkeit	46
3.2.2	Schmerzbezogene Parameter	48
3.2.2.1	Durchschnittliche Intensität des Pfotenabdrucks (IPA)	48
3.2.2.2	Dauer der Schwungphase (DSP)	50
3.2.2.3	Belastungsdauer	52
3.2.3	Entlastungsindex	54
3.2.4	Koordinationsbezogene Parameter	56
3.2.5	Ulnarabduktion der Pfoten	57

3.3	Griffkraft-Test.....	58
3.3.1	Motivation und Partizipation der Tiere	58
3.3.2	Griffkraft der Tiere	60
3.4	Elektrophysiologische Messungen.....	61
3.5	Gewicht des Musculus flexor digitorum superficialis rechts und links	62
3.6	Intraoperativer Situs zum Zeitpunkt der Euthanasie der Tiere	62
3.7	Lineare Regressionsanalyse.....	63
3.8	Korrelation der CatWalk Parameter und Griffkraft	63
4	Diskussion.....	66
4.1	CatWalk Ganganalyse	66
4.1.1	Allgemeine Parameter	66
4.1.2	Schmerzbezogene Parameter	72
4.1.3	Koordinationsbezogene Parameter	75
4.2	Methoden zur Evaluierung der motorischen Reinnervation	78
4.2.1	Griffkraft-Test.....	78
4.2.2	Ulnarabduktion der Pfoten	80
4.3	Korrelationsanalyse	82
4.4	Limitationen dieser Arbeit	84
4.5	Konklusion	86
5	Zusammenfassung	87
6	Literaturverzeichnis	89
7	Erklärung zum Eigenanteil	99
8	Veröffentlichungen	101
	Danksagung.....	102
	Lebenslauf	103

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – Mikroskopischer Aufbau eines Neurons. Adaptiert übernommen aus (Eilers, 2019).	2
Abbildung 2 – Mikroskopische Übersicht über den Aufbau eines Nervs. Übernommen aus (Brook et al., 2014)..	3
Abbildung 3 – Einteilung der Schweregrade einer Nervenverletzung entsprechend der Sunderland-Klassifikation. Übernommen aus (König et al., 2014).	5
Abbildung 4 – Technisches Prinzip des ursprünglichen CW. Adaptiert übernommen aus (Vrinten and Hamers, 2003)..	11
Abbildung 5 – Schema des experimentellen Aufbaus bei Verwendung des CatWalk Systems. Übernommen aus (Kappos et al., 2017).....	12
Abbildung 6 – Veranschaulichung der Parameter Schrittlänge und Schrittbreite. Adaptiert übernommen aus (Lakes and Allen, 2016).	14
Abbildung 7 – Schematische Übersicht über die sechs von Ratten verwendeten Schrittfolgemuster. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2020a).	16
Abbildung 8 – Übersicht über den Verlauf der zweier CatWalk Parameter in verschiedenen Studien zur Verletzungen des Nervus ischiadicus im Rattenmodell. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2020a)	19
Abbildung 9 – Schematische Darstellung der Anatomie des Nervus medianus der Ratte. Adaptiert übernommen aus (Casal et al., 2020)	21
Abbildung 10 – Verlauf des Nervus medianus am Oberarm. Adaptiert übernommen aus (Casal et al., 2020).	22
Abbildung 11 – Ursprünglicher Versuchsaufbau des Griffkraft-Tests. Übernommen aus (Bertelli et al., 2006).)	24
Abbildung 12 – Modifizierter Versuchsaufbau des Griffkraft-Tests. Übernommen aus (Stöbel et al., 2017).	24
Abbildung 13 – Darstellung der Bewegung der vorderen Extremität einer Ratte mittels zweidimensionaler Bildanalyse. Übernommen aus (Wang et al., 2008).	25

Abbildung 14 – Pfotenabdruckanalyse durch Färbung der Pfoten mittels Methylenblau. Übernommen aus (Casal et al., 2018)	26
Abbildung 15 – Operativer Situs rechts nach Abschluss der Nervenrekonstruktion auf der rechten Seite.	30
Abbildung 16 – Bestimmung der Ulnarabduktion der Pfoten am Beispiel der rechten Vorderpfote unter Zuhilfenahme zweier Orientierungslinien. Übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	32
Abbildung 17 – Repräsentative Bilder der Durchführung des Griffkraft-Tests in der sechsten postoperativen Woche nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Rekonstruktion rechts.	34
Abbildung 18 – Repräsentative Abbildung der mittels CW aufgezeichneten Pfotenabdrücke vor und nach bilateraler Resektion und unilateraler Rekonstruktion des Nervus medianus. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	38
Abbildung 19 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Fläche des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	39
Abbildung 20 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Länge des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	41
Abbildung 21 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Breite des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	43
Abbildung 22 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Schrittbreiten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021). .	45
Abbildung 23 – Zeitlicher Verlauf der ermittelten Schwunggeschwindigkeit der Extremitäten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler	

Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	47
Abbildung 24 – Zeitlicher Verlauf der durchschnittlichen Intensität des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	49
Abbildung 25 – Zeitlicher Verlauf der ermittelten Dauer der Schwungphase nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	51
Abbildung 26 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Belastungsdauer der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021)	53
Abbildung 27 – Zeitlicher Verlauf des Entlastungsindex der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021)	55
Abbildung 28 – Nutzung der Schrittfolgemuster vor und nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Rekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021). .	56
Abbildung 29 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Ulnarabduktion der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	58
Abbildung 30 – Bewertungsskala der Greiffähigkeit vor und nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021). .	59
Abbildung 31 – Entwicklung der durchschnittlichen (A) und maximalen Griffkraft (B) nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	61

Abbildung 32 – Intraoperativer Situs zum Zeitpunkt der Euthanasie der Versuchstiere nach 12 Wochen. Teil B der Abbildung adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	62
--	----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – Prognose und Wahrscheinlichkeit der Indikation einer chirurgischen Therapie in Abhängigkeit der Nervenverletzung. Adaptiert übernommen aus (Chhabra et al., 2014).	6
Tabelle 2 – Untersuchung der Beziehung zwischen den CatWalk Parametern, der gemessenen Griffkraft der Tiere, sowie den Ergebnissen der elektrophysiologischen Evaluationen mittels linearer Regressionsanalyse. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	64
Tabelle 3 – Korrelationsanalyse der erhobenen CatWalk Parameter and Griffkraftmessungen. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).	65

Abkürzungsverzeichnis

BPA	Breite des Pfotenabdrucks
CW	CatWalk
cm	Zentimeter
DSP	Dauer der Schwungphase
EI	Entlastungsindex
FPA	Fläche des Pfotenabdrucks
HP	Hinterpfoten/n
IPA	Durchschnittliche Intensität des Pfotenabdrucks
LPA	Länge des Pfotenabdrucks
LH	Linke Hinterpfote
LV	Linke Vorderpfote
mm	Millimeter
MSAP	Muskelsummenaktionspotential
POW(X)	X-te/n postoperative Woche
s	Sekunden
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
RH	Rechte Hinterpfote
RI	Regelmäßigkeitsindex
RV	Rechte Vorderpfote
Vgl.	Vergleiche
VP	Vorderpfote/n

1 Einleitung

1.1 Anatomische und physiologische Grundlagen der peripheren Nerven

Die peripheren Nerven werden durch die ventralen Äste der Spinalnerven der entsprechenden Segmente des Rückenmarks gebildet, wobei drei Geflechte von Nervenwurzeln sowie die aus ihnen entspringenden peripheren Nerven eine übergeordnete Rolle einnehmen. Dies sind der Plexus cervicalis, der aus den Spinalnerven C₁ bis C₄ gebildet wird, der Plexus brachialis, der Anteile der Spinalwurzeln C₅ bis Th₁ enthält sowie der Plexus lumbosacralis, an dessen Bildung die Spinalsegmente L₁ bis maximal S₅, teilweise auch Anteile von Th₁₂, beteiligt sind (Filler et al., 2012).

Die Neuronen (Abbildung 1), welche mit ihren Fortsätzen, den Axonen, einen peripheren Nerv formen, bestehen neben diesen außerdem aus einem Zellkörper, dem so genannten Soma, und einem oder mehreren anderen Fortsätzen, den Dendriten. Während die Axone, die am Axonhügel aus dem Soma hervorgehen, Impulse von diesem zur Peripherie des Nervs weiterleiten, fungieren die Dendriten als Rezipient solcher Reize, welche sie ans Soma weiterleiten. Das Axon eines Nervs kann entweder myelinisiert oder unmyelinisiert sein, wird aber in jedem Fall von einer Schwann-Zelle, den Gliazellen des peripheren Nervensystems umhüllt. Unmyelinisierte Axone werden stets in Gruppen von einer einzelnen Schwann-Zelle umhüllt, diese Anordnung wird dann als Remak-Bündel bezeichnet (Remak, 1838). Im Fall myelinisierter Axone ist jede Schwann-Zelle genau einem Axon zugeordnet, wobei hier mehrere Schwann-Zellen unterschiedliche Segmente des Axons unabhängig voneinander umhüllen können. Das Myelin, welches von den Schwann-Zellen produziert wird, sorgt für eine deutliche Beschleunigung der Reizweiterleitung innerhalb des Axone, was auch als saltatorische Erregungsleitung bezeichnet wird (Radtke, 2011). Dem liegt zugrunde, dass die Myelinscheiden in regelmäßigen Abständen durch Einschnürungen unterbrochen werden, den so genannten Ranvier-Schnürringen. Hierdurch kommt die saltatorische Erregungsleitung zustande, bei der die Aktionspotentiale

der fortgeleiteten Impulse von einem Schnürring zum anderen „springen“ (Ranvier, 1878).

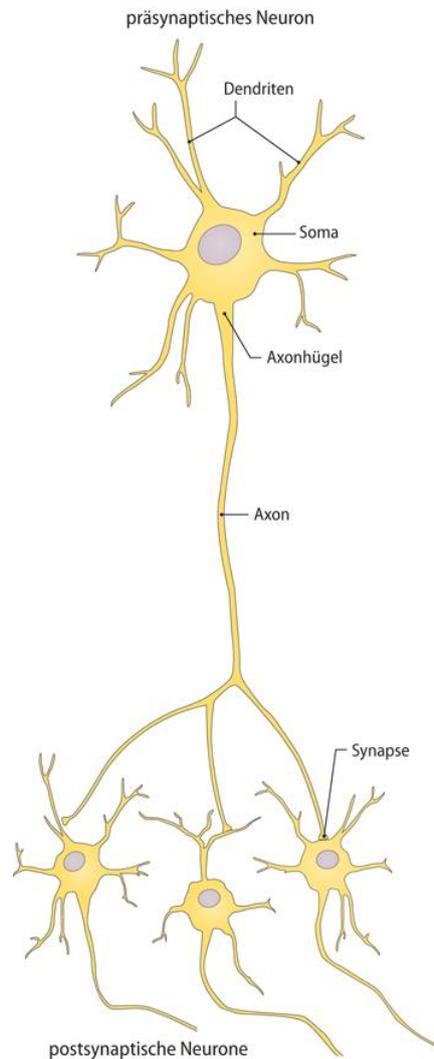


Abbildung 1 - Mikroskopischer Aufbau eines Neurons. Adaptiert übernommen aus (Eilers, 2019). Eine detaillierte Aufzählung und Beschreibung aller Zelltypen und Strukturen, die an der Bildung eines peripheren Nervs beteiligt sind, würde den Umfang sowie die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit deutlich übersteigen, weshalb sich die folgende Beschreibung der Anatomie der peripheren Nerven auf die Anteile beschränkt, die für das Verständnis peripherer Nervenverletzungen eine entscheidende Rolle spielen. Betrachtet man einen peripheren Nerv im Querschnitt (Abbildung 2) so besteht dieser, von außen nach innen, aus den folgenden Strukturen und Schichten (Lang, 1962, Sunderland, 1965, Krstic, 1988, Millesi et al., 2007, Brook et al., 2014):

- I. **Paraneurium**
 - Spezialisiertes Bindegewebe, das es dem Nerv erlaubt, frei gegen das umliegende Gewebe zu gleiten.
- II. **Extrafaszikuläres Epineurium**
 - Umgibt den Nerv auf seiner gesamten Zirkumferenz und besteht hauptsächlich aus Kollagen I, Kollagen III und Elastin.
- III. **Intrafaszikuläres Epineurium**
 - Strukturell dem Epineurium zugehörig erstreckt sich dieses Bindegewebe in den interfaszikulären Raum.
- IV. **Perineurium**
 - Umfasst konzentrisch die einzelnen Nervenfaszikel und besteht aus Kollagen III sowie einem Netzwerk perineurialer Zellen.
- V. **Nervenfaszikel**
 - Jeweils durch das Perineurium zusammengefasste Gruppen von Axonen
- VI. **Endoneurium**
 - Innerste Hüllschicht des Nervs, umfasst die einzelnen Axone. Besteht aus Kollagen I, III, IV und V.
- VII. **Axon und Schwann-Zelle**
 - Fortsatz eines einzelnen Neurons, der jeweils von einer Basallamina umgeben ist, die von den Schwann-Zellen produziert wird.

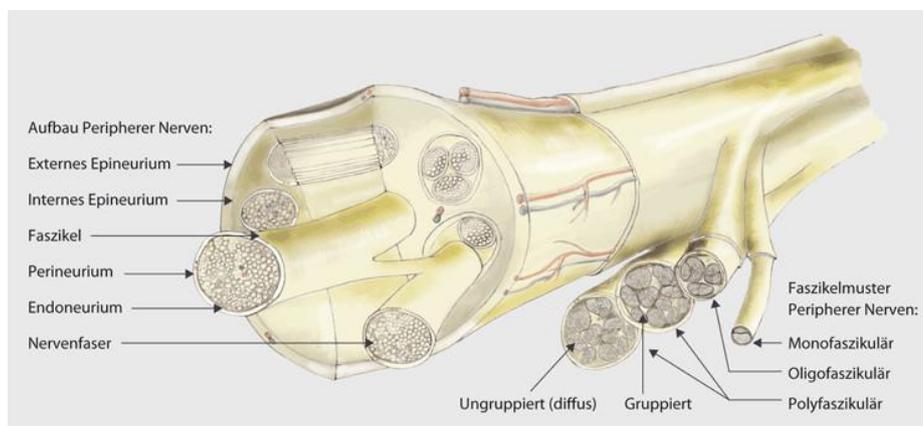


Abbildung 2 - Mikroskopische Übersicht über den Aufbau eines Nervs. Übernommen aus (Brook et al., 2014).

1.2 Klassifikation peripherer Nervenverletzungen

Die Einteilung des Schweregrads einer Nervenverletzung erfolgt jeweils abhängig davon, welche anatomischen Strukturen geschädigt sind. Im klinischen Alltag haben sich vier Klassifikationssysteme durchgesetzt.

1. Klassifikation nach Seddon (Seddon, 1943)
 - I. **Neurapraxie:** Demyelinisierung mit daraus resultierendem Leitungsblock ohne strukturelle Schädigung des Axons oder einer anderen Komponente des Nervs.
 - II. **Axonotmesis:** Zerstörung des Axons ohne Schädigung einer der Hüllschichten.
 - III. **Neurotmesis:** Komplette Durchtrennung des gesamten Nervs mit Schädigung des Axons und aller Hüllschichten
2. Klassifikation nach Sunderland (Sunderland, 1951) (Abbildung 3)
 - I. **Neurapraxie:** Entspricht Seddons Definition der Neurapraxie
 - II. **Axonotmesis Grad I:** Entspricht Seddons Axonotmesis
 - III. **Axonotmesis Grad II:** Axonotmesis mit zusätzlicher Schädigung des Endoneuriums
 - IV. **Axonotmesis Grad III:** Axonotmesis mit zusätzlicher Schädigung des Endo- und Perineuriums
 - V. **Neurotmesis:** Entspricht Seddons Neurotmesis
3. Klassifikation nach Dellon und Mackinnon (Mackinnon and Dellon, 1988)

Dieses Klassifikationssystem basiert auf der von Sunderland definierten Skala, jedoch erweiterten Dellon und Mackinnon diese um ein sechstes Schädigungsmuster:

 - VI. **Verletzung vom Mischtyp:** Vorliegen der jeweils anderen Schädigungsgrade in Kombination
4. Klassifikation nach Millesi (Millesi, 1992)
 - Typ A:** Fibrose des extrafaszikulären Epineuriums
 - Typ B:** Fibrose des intrafaszikulären Epineuriums
 - Typ C:** Fibrose des Endoneuriums
 - Typ N:** Neurom
 - Typ S:** Stumpf

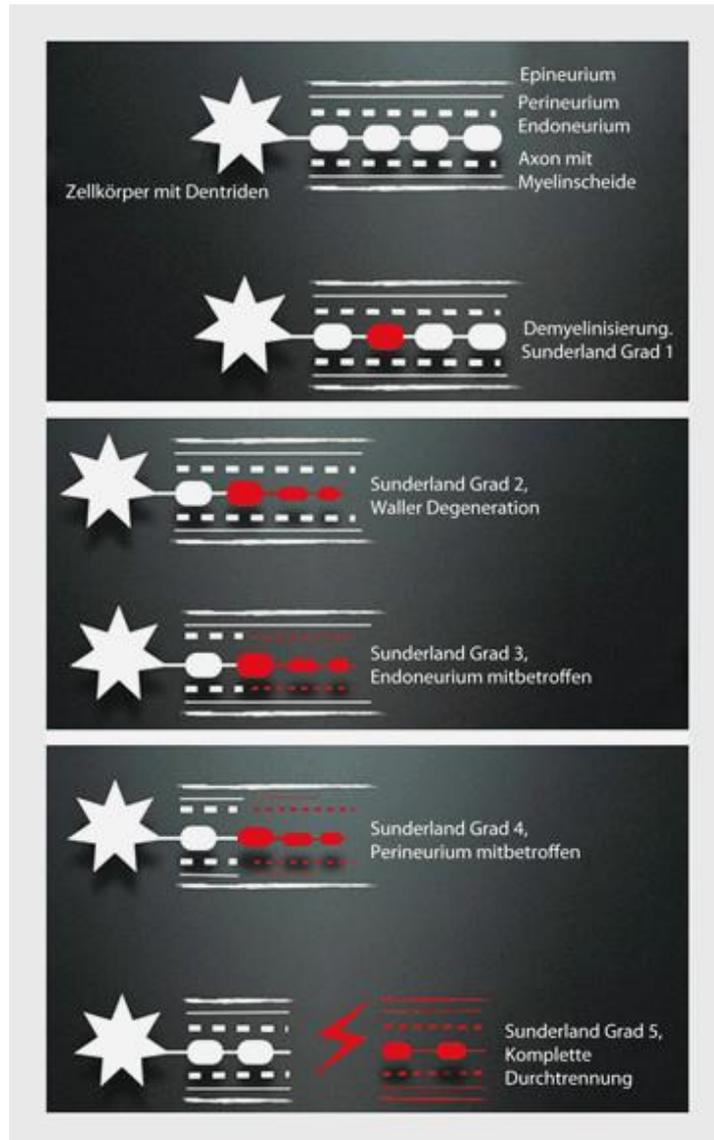


Abbildung 3 – Einteilung der Schweregrade einer Nervenverletzung entsprechend der Sunderland-Klassifikation. Übernommen aus (König et al., 2014)

Im klinischen Gebrauch hat sich insbesondere das Klassifikationssystem nach Sunderland durchgesetzt. Die Prognose und Wahrscheinlichkeit der Indikation einer chirurgischen Intervention (Tabelle 1) kann vom Schweregrad der Nervenverletzung abgeleitet werden. Im Fall einer Neurapraxie oder einer Axonotmesis Grad I kommt es auch ohne chirurgische Intervention zur vollständigen Regeneration. Bei Läsionen vom Typ Axonotmesis III kommt es ohne chirurgische Intervention nur zu einer sehr geringen Regeneration. Läsionen vom Typ Neurotmesis müssen definitiv chirurgisch versorgt werden (Wilcox et al., 2020).

Tabelle 1 – Prognose und Wahrscheinlichkeit der Indikation einer chirurgischen Therapie in Abhängigkeit der Nervenverletzung. Adaptiert übernommen aus (Chhabra et al., 2014)

Sunderland-Klassifikation	Prognose	Chirurgische Intervention?
Neurapraxie	Vollständige Erholung	Nur bei persistenter Pathologie
Axonotmesis Grad I	Im Regelfall vollständige Erholung	Unwahrscheinlich
Axonotmesis Grad II	Erholung ohne chirurgische Intervention oftmals unvollständig	Wahrscheinlich
Axonotmesis Grad III	Geringe Erholung ohne chirurgische Intervention	Ja
Neurotmesis	Keine Erholung ohne chirurgische Intervention	Ja
Mischtyp	Keine Erholung ohne chirurgische Intervention	Ja

1.3 Epidemiologie peripherer Nervenverletzungen

Verletzungen des peripheren Nervensystems stellen häufige Krankheitsbilder dar, deren Folgen oftmals langwierig und schwerwiegend sind. In den USA erleiden jährlich etwa 13,3 von 1.000.000 Einwohnern Verletzungen der peripheren Nerven der unteren Extremität, was durchschnittlich 64.000 Dollar Behandlungskosten pro Fall mit sich bringt (Foster et al., 2019). Periphere Nervenverletzungen der oberen Extremität betreffen etwa 43,8 von 1.000.000 Einwohnern der USA pro Jahr und bedingen Kosten von im Durchschnitt 47.000 Dollar pro Fall (Karsy et al., 2019). Solche Verletzungen betreffen vorrangig männliche Erwachsene mit einem Durchschnittsalter von 40 Jahren, die im Mittel etwa sieben Tage stationär behandelt werden müssen. Nervenverletzungen, die proximal des Handgelenks lokalisiert sind, ziehen eine durchschnittliche Arbeitsunfähigkeit von 230 Tagen nach sich und bedingen in 70% der Fälle eine Erwerbsminderungsrente für die betroffenen Patientinnen und Patienten (Bergmeister et al., 2020). In Konsequenz ergibt sich ein eindeutiger Bedarf für die intensive wissenschaftliche Auseinandersetzung mit den Fragestellungen wie die chirurgische Rekonstruktion von Nervenverletzungen verbessert, der Prozess der Nervenregeneration beschleunigt und die Rehabilitation der betroffenen Patientinnen und Patienten optimiert werden können.

1.4 Tierexperimentelle Studien peripherer Nervenläsionen

Bei wissenschaftlichen Untersuchungen zu Verletzungen des peripheren Nervensystems und deren Behandlung, bzw. Rekonstruktion im Tiermodell können die Ergebnisse mittels verschiedenster Evaluationsinstrumente erfasst werden (Vleggeert-Lankamp, 2007). Neben Histologie, Elektrophysiologie und bildgebenden Verfahren, stellt aber insbesondere die funktionelle Regeneration der Zielorgane das entscheidende Kriterium dar, um den Erfolg eines experimentellen Rekonstruktionsverfahrens oder einer medikamentösen Therapie zu beurteilen (de Medinaceli et al., 1982). Die spezifische Methodik der Evaluation der funktionellen Regeneration richtet sich hier nach dem jeweiligen Modell, auf dem die tierexperimentellen Untersuchungen basieren (Navarro, 2016).

1.4.1 Das Nervus ischiadicus Modell der Ratte

In tierexperimentellen Studien peripherer Nervenläsionen stellt der Nervus ischiadicus das am häufigsten verwendete Rattenmodell dar (Tos et al., 2009, Vela et al., 2020). Der größte Vorteil des murinen Nervus ischiadicus Modells liegt in der Größe des Nervs, die eine verhältnismäßige einfache mikrochirurgische Rekonstruktion ermöglicht. Somit kann die chirurgische Technik auch an in der Mikrochirurgie noch unerfahrenen Forscherinnen und Forschern vermittelt werden. Zusätzlich liegen aufgrund der zahlreichen publizierten Arbeiten eine große Menge von Referenzwerten und -erfahrungen vor, die die Planung und Durchführung eines beabsichtigten Versuchsvorhabens erleichtern können (Heinzel et al., 2020c, Heinzel et al., 2020a).

Jedoch beinhaltet das Modell auch einige, teils schwerwiegende Nachteile (Irintchev, 2011). So ist der Nervus ischiadicus zwar aufgrund seines großen Querdurchmessers besonders geeignet für die Durchführung mikrochirurgischer Rekonstruktionen, andererseits führt er als größter Nerv des Körpers auch gemischte Faserqualitäten. Das heißt er versorgt über seine Endäste, den Nervus tibialis und Nervus peroneus, den größten Anteil der hinteren Extremität der Ratte motorisch und sensibel. Dies ist insbesondere deshalb relevant, weil somit auch antagonistisch wirkenden Muskeln von Endästen des Nervus ischiadicus innerviert werden, beispielsweise der Musculus gastrocnemius, der als Beuger im Sprunggelenk fungiert vom Nervus tibialis, und der Musculus tibialis anterior, der eine Dorsalextension im Sprunggelenk bewirkt, vom Nervus peroneus superficialis (Jackson, 1936, Stromberg and Hebel, 1976). Kommt es somit infolge einer Nervenläsion zum Verlust der faszikulären Struktur des Nervs, also einer Läsion Grad IV nach Sunderland, besteht das Risiko des fehlgeleiteten Aussprossens der regenerierenden Axone. Daraus kann einerseits das Einsprossen motorischer Axone des Nervus ischiadicus in die ursprünglichen Zielorgane sensibler Axone resultieren, andererseits kann es durch fehlerhaftes Aussprossen motorischer Axone zur gleichzeitigen Reinnervation antagonistisch wirkender Muskeln kommen, was deutliche Auswirkungen auf die Regeneration der Motorik haben kann (Haastert-Talini, 2017, Haastert-Talini, 2020). Dies wirkt sich äußerst negativ auf das Ausmaß der funktionellen Regeneration infolge

einer Grad IV oder V Läsion nach Sunderland aus (Irintchev, 2011). Ein zusätzliches großes Problem des Nervus ischiadicus Modells stellen die so genannten Automutilationen dar, das heißt das Benagen oder Amputieren von Zehen oder ganzer Teile der Pfote infolge neuropathischer Schmerzen durch die Nervenverletzung (Irintchev, 2011). Ebenfalls entwickeln sich häufig Kontrakturen der betroffenen Extremität, insbesondere der Zehen infolge der Nervenverletzung (Dellon and Mackinnon, 1989). Da die Evaluation der funktionellen Regeneration nach einer Läsion des Nervus ischiadicus im Rattenmodell fast immer die Analyse der Pfotenabdrücke der Tiere umfasst, schränkt das oben erwähnte Phänomen der Automutilation diese Auswertung erheblich ein oder macht sie gar unmöglich (Weber et al., 1993, Irintchev, 2011, Haastert-Talini, 2020).

1.4.1.1 Evaluationsmöglichkeiten der funktionellen Regeneration im Nervus ischiadicus Modell der Ratte

Die Evaluationsmöglichkeiten der funktionellen Regeneration nach Verletzungen des Nervus ischiadicus im Rattenmodell sind vielfältig (Navarro, 2016) und beinhalten unter anderem die Beurteilung der sensiblen Eigenschaften der betroffenen Pfote mittels Algesimeter (Zou et al., 2016) oder Semmes-Weinstein Monofilamenten (Vrinten and Hamers, 2003, Cobianchi et al., 2014). Die Regeneration der motorischen Fähigkeiten kann beispielsweise über eine Analyse der Kinematik der Gelenke der betroffenen Pfote als auch mittels der Beurteilung der Zehenspreizfähigkeit evaluiert werden (Varejao et al., 2004b, Varejao et al., 2004a, Varejao et al., 2001, Bozkurt et al., 2011). Am längsten etabliert und am häufigsten angewendet wird jedoch der so genannte „Sciatic Functional Index“ (SFI), der Anfang der 1980er Jahre von de Medinaceli und Kollegen entwickelt wurde (de Medinaceli et al., 1982). Zur Berechnung des SFI wurden die Pfoten der Tiere ursprünglich mit Tinte eingefärbt, bevor die Ratten ein entsprechend präpariertes Messpapier überquerten. Somit konnten mittels der so aufgezeichneten Pfotenabdrücke die Länge des Pfotenabdrucks (LPA), sowie der Abstand zwischen den ersten und fünften („Toe Spread“) sowie der zweiten und vierten Zehen („Intermediate Toe Spread“) bestimmt werden. Mittels

dieser Parameter lässt sich anschließend der SFI berechnen, wobei ein Wert von „0“ volle Funktion anzeigt, ein Wert von „-100“ mit völligem Funktionsverlust gleichzusetzen ist. Die Vorteile dieser Methode liegen in dem geringen benötigten Aufwand und der Möglichkeit eines direkten Rückschlusses auf die motorischen Funktionen des untersuchten Tieres. Als klare Nachteile zu benennen sind die fragliche Reproduzierbarkeit, die Anfälligkeit für Verfälschungen, beispielsweise durch das Verwischen der Pfotenabdrücke durch die jeweils anderen Pfoten, sowie die eingeschränkte Aussagekraft im Fall von Kontrakturen oder Verletzungen der Pfote, welche sich in diesem Modell häufig entwickeln (Dellon and Mackinnon, 1989, Weber et al., 1993, Monte-Raso et al., 2008).

1.4.1.2 CatWalk Ganganalyse

Eine weitere Methode zur Bestimmung der motorischen und sensiblen Funktionen infolge einer Verletzung des murinen Nervus ischiadicus stellt die so genannten CatWalk (CW) Ganganalyse dar. Diese Methode hat ihren Ursprung ebenfalls in der Überlegung, das Ausmaß der funktionellen Regeneration anhand der Pfotenabdrücke der Tiere bestimmen zu können. Ursprünglich entwickelt wurde der CW Anfang der 2000er Jahre von Dr. F. Hamers im Rahmen eines Aufenthalts an einem Forschungslabor, das sich auf die Erforschung von Rückenmarksverletzungen im Nagerrmodell fokussierte (Hamers et al., 2001). Ursprünglich gedacht, das Schädigungsausmaß sowie die funktionelle Regeneration infolge einer Rückenmarksverletzung zu quantifizieren, wurde schnell erkannt, dass sich der CW ebenso eignete die Folgen peripherer Nervenverletzungen im Nagerrmodell zu untersuchen. Erstmals erprobt wurde dieses Anwendungsgebiet nach Resektion des Nervus ischiadicus im Rattenmodell, bevor sie in den vergangenen zwei Dekaden in diversen anderen Modellen peripherer Nervenverletzungen Verwendung fand (Kappos et al., 2017, Heinzl et al., 2020a).

1.4.1.2.1 Technische Details

Das Prinzip des CW (Abbildung 4, Abbildung 5) beruht darauf, dass die zu untersuchenden Tiere eine etwa 0.6 cm dicke Glasplatte überqueren, die von einer grünen und roten Lichtquelle illuminiert wird. Befindet sich kein Tier auf der Glasplatte wird das Licht vollständig reflektiert. Wenn jedoch eine Ratte oder Maus die Glasplatte überquert, wird durch den Kontakt der Pfoten oder anderer Körperteile das Brechungsverhalten des Lichts verändert, wodurch die Abdrücke grün aufleuchten. Die so generierten Abdrücke werden dann von einer unterhalb der Glasplatte angebrachten Kamera aufgezeichnet. Mittels des aufgezeichneten Videos des „Runs“ können für jedes Tier zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine Reihe statischer und dynamischer Parameter bestimmt werden, anhand derer eine Aussage bezüglich des Gangs der untersuchten Tiere getroffen werden kann.

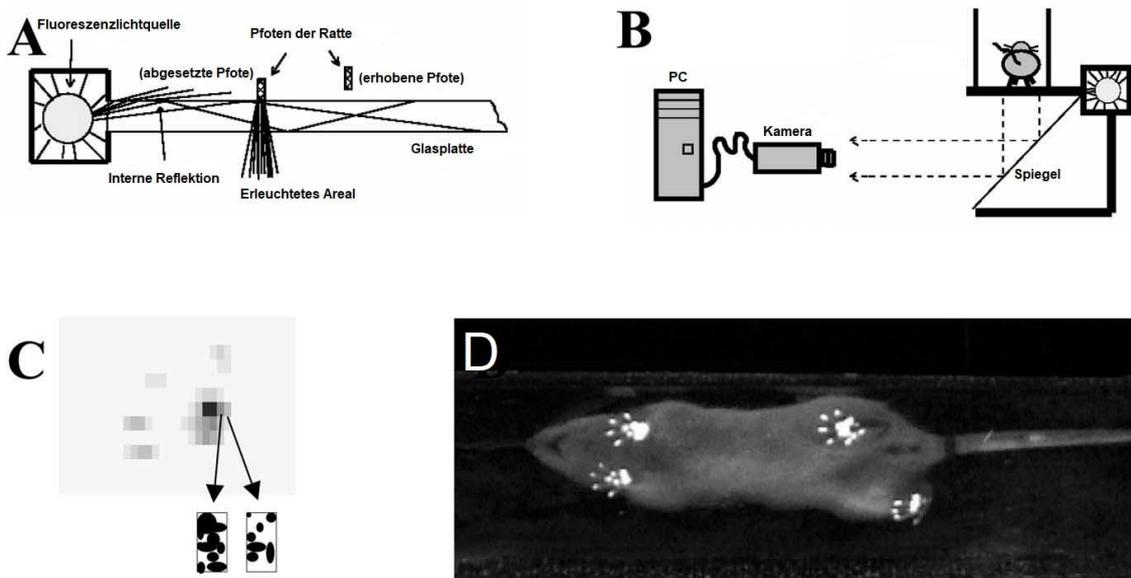


Abbildung 4 – Technisches Prinzip des ursprünglichen CW. **A:** Eine Fluoreszenzlichtquelle beleuchtet eine Glasplatte, die Lichtstrahlen werden ohne Kontakt eines Gegenstandes oder Tieres zur Glasplatte zur Gänze intern reflektiert. Nur im Fall, dass die Pfote eines Tieres auf die Glasplatte aufgesetzt wird, ändert sich das Brechungsverhalten des Lichts, wodurch ein scharfes Bild der entsprechenden Pfote erzeugt wird. **B:** Dieses Bild wird durch einen Spiegel reflektiert, der im 45° zur Glasplatte angebracht ist und anschließend von einer mit einem PC verbundenen Kamera aufgezeichnet. **C:** Somit werden sowohl die Zehen als auch die einzelnen Fußballen deutlich sichtbar. **D:** Zur Verbesserung der Visualisierung wird die Intensität invertiert, das heißt je dunkler der Pfotenabdruck erscheint, umso heller war das erleuchtete Areal auf der Glasplatte. Gleichzeitig wird der Körper der Ratte während der Aufzeichnung der Pfotenabdrücke nur einigermaßen unscharf sichtbar, was die Identifizierung der Pfoten erleichtert. Adaptiert übernommen aus (Vrinten and Hamers, 2003).

Die frühen Versionen der CW-Software, wie beispielsweise Version 7.1., verfügten nur über die Möglichkeit, die Aufzeichnung eines „Runs“ jeweils vorwärts und rückwärts abzuspielen und die Abdrücke mussten noch von Hand den entsprechenden Pfoten zugeordnet werden. Durch stetige Weiterentwicklung ist in der aktuellen Version 10.6 nun eine automatische Klassifikation der Pfotenabdrücke durch die Software möglich. Zudem lässt sich eine 3D-Visualisierung der Pfotenabdrücke aufrufen und diese können nochmals individuell durch die Experimentatorin oder den Experimentator vermessen werden.



Abbildung 5 – Schema des experimentellen Aufbaus bei Verwendung des CatWalk Systems. Der Catwalk besteht neben dem tragenden Gestänge und einer Videokamera, die die generierten Pfotenabdrücke der Tiere aufzeichnet (linker Bildanteil), aus einem Gangkorridor (oberer, rechter Bildanteil), dessen Boden eine Glasplatte bildet. Für die Datenakquirierung überquert die zu untersuchende Ratte die Glasplatte, welche von einer grünen und roten Lichtquelle ausgeleuchtet wird. Durch den Druck der Pfoten der Tiere wird das Licht entsprechend gebrochen und von der Videokamera aufgezeichnet. Nach dem Ende der Aufzeichnung kann das zu untersuchende Tier entweder in den ihm vertrauten Käfig oder eine so genannte „Goal Box“ (unterer, rechter Bildanteil) geführt werden. Übernommen aus (Kappos et al., 2017).

1.4.1.2.2 Training der Tiere

Hochrelevant im Kontext der Datenakquirierung ist insbesondere das Training der Tiere, welches mindestens über einen Zeitraum von einer Woche täglich erfolgen sollte. Dabei müssen die Tiere darauf trainiert werden, den Laufkorridor ohne Unterbrechungen und mit möglichst gleichbleibender Geschwindigkeit zu überqueren (Koopmans et al., 2007, Batka et al., 2014, Deumens et al., 2014). Da die Datenakquirierung mit einer Lernkurve für die Tiere einhergeht, wird üblicherweise eine mindestens 5-tägige Phase empfohlen, in der die Tiere sich an das Gerät und den Untersuchungsablauf gewöhnen sollen. Hierzu wird unter realistischen Bedingungen (abgedunkelter Raum, keine zusätzliche Geräuschbelastung) das Durchlaufen des CW geübt, wobei die Tiere jeden Tag etwa 10-15 Minuten trainiert werden sollten. An diese 5-tägige Phase schließt sich eine 2-tägige Konsolidierungsphase an, in welcher die erlernten Abläufe nochmals gefestigt werden. Bei Bedarf kann die so insgesamt 7 Tage dauernde Phase um weitere 7 Tage ergänzt werden, falls ein oder mehrere Tiere den Untersuchungsablauf noch nicht ausreichend erlernt haben (Heinzel et al., 2020b).

1.4.1.2.3 Mittels CatWalk evaluierbare Parameter

Mittels CW lassen sich eine Reihe statischer und dynamischer Gangparameter evaluieren, die in vier große Kategorien einteilbar sind. Im Folgenden werden die im Kontext der vorliegenden Arbeit relevanten Parameter aufgelistet. Die Liste erhebt jedoch keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Eine Übersicht aller Parameter kann der Literatur entnommen werden (Kappos et al., 2017, Heinzel et al., 2020a).

Allgemeine Parameter

Hierzu zählen Parameter, anhand derer eine Aussage bezüglich des allgemeinen Gangverhaltens getroffen werden kann. Diese Parameter werden sowohl durch Änderungen motorischer als auch sensibler Eigenschaften maßgeblich beeinflusst, sie hängen somit nicht ausschließlich mit nur einer der beiden Qualitäten zusammen (Deumens et al., 2007, Heinzel et al., 2020a).

- **Fläche des Pfotenabdrucks (FPA)** (mm²)
- **Breite des Pfotenabdrucks (BPA)** (mm)
- **Länge des Pfotenabdrucks (LPA)** (mm)
- **Schrittbreite** (mm) (Abbildung 6), definiert als Abstand zwischen jeweils den beiden Vorderpfoten (VP) oder Hinterpfoten (HP)
- **Schrittlänge** (mm) (Abbildung 6), definiert als der Abstand zwischen zwei Platzierungen der gleichen Pfote
- **Schwunggeschwindigkeit** der Pfote (cm/s)

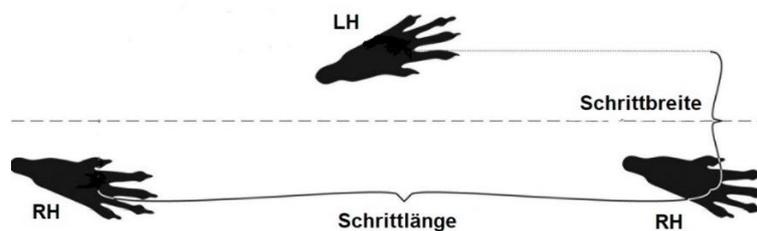


Abbildung 6 – Veranschaulichung der Parameter Schrittlänge und Schrittbreite. LH: Linke Hinterpfote, RH: Rechte Hinterpfote. Adaptiert übernommen aus (Lakes and Allen, 2016).

Schmerzbezogene Parameter

Hierunter fallen solche Parameter, die in besonders engem Bezug zur nachgewiesenen oder vermuteten Wahrnehmung von Schmerzen stehen (Vrinten and Hamers, 2003, Heinzl et al., 2020a):

- **Intensität des Pfotenabdrucks (IPA)** (willkürlichen Einheiten)
- **Dauer der Schwungphase (DSP)** (s)
- **Dauer der Standphase** (s)
- **Belastungsdauer** (%), entspricht der Dauer der Standphase der jeweiligen Pfote geteilt durch die Dauer der Standphase und Schwungphase

Koordinationsbezogene Parameter

Diese Kategorie beinhaltet Parameter, die in einem direkten Zusammenhang mit der Koordinationsfähigkeit des Tiers gebracht werden können (Heinzel et al., 2020a, Heinzel et al., 2020c):

- **Schrittfolgemuster** (Abbildung 7), dabei handelt es sich um sechs, von Chen et al. in den 1990er Jahren definierte, Sequenzen von Pfotenplatzierungen, die von Ratten bei der Fortbewegung verwendet werden. Die Rattenstämme unterscheiden sich hier teils sehr stark sowohl in Bezug auf den generellen Gebrauch einiger Schrittfolgemuster als auch deren Häufigkeit im Rahmen der Fortbewegung (Cheng et al., 1997, Koopmans et al., 2007). Unterschieden werden zwei alternierende Muster, Aa und Ab, zwei kreuzförmige Muster, Ka und Kb, sowie zwei rotierende Muster, Ra und Rb.
- **Regularitätsindex** (RI), ein Maß für den fehlerfreien Gebrauch der zuvor erwähnten sechs Schrittfolgemuster. Der Regularitätsindex wird wie folgt berechnet: $(\text{Eindeutig identifizierte Schrittfolgemuster} \times 4 / \text{Gesamtzahl der Pfotenplatzierung}) \times 100 \%$. Während bei unverletzten Ratten durch gelegentliche Fehler auch Werte bis 96% als physiologisch anzusehen sind (Koopmans et al., 2005), zeigte sich eine Reduktion des RI auf unter 80% nach Verletzungen des zentralen Nervensystems, wie beispielsweise Rückenmarkskontusionen (Hamers et al., 2001, Klapka et al., 2005, Hamers et al., 2006).
- **Kopplungen** (%), eine Maßeinheit für den zeitlichen Zusammenhang zwischen der Platzierung zweier unterschiedlicher Pfoten. Hierbei dient jeweils eine Pfote als „Referenz-Pfote“ eine andere als „Ziel-Pfote“. Per definitionem kann die Ziel-Pfote niemals vor der Referenz-Pfote aufgesetzt werden. Somit ergeben sich 12 Paare von Kopplungen, die jeweils Werte zwischen 0% und 100% annehmen können (Leblond et al., 2003). Erstmalige Verwendung fanden die Kopplungen in einem Rattenmodell einer Rückenmarkskontusion, wobei sie unter anderem

Aufschluss über den Schweregrad und die Prognose der Kontusion geben konnten (Kloos et al., 2005). Deumens Gruppe konnte zudem nachweisen, dass nach Resektion des rechten Nervus ischiadicus sowohl die Kopplung der RH mit der LH als auch der RV mit der RH signifikant verändert war (Deumens et al., 2007).

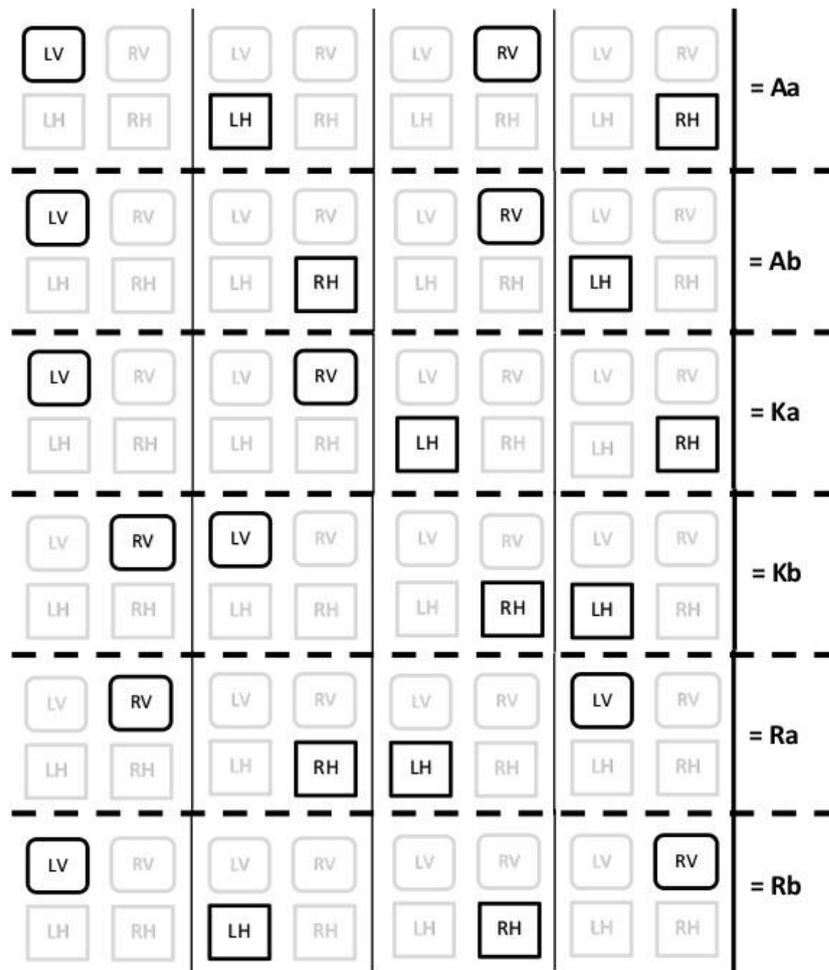


Abbildung 7 – Schematische Übersicht über die sechs von Ratten verwendeten Schrittfolgemuster. **LV:** Linke Vorderpfote, **RV:** Rechte Vorderpfote, **LH:** Linke Hinterpfote, **RH:** Rechte Hinterpfote, **Aa:** Alternierendes Muster A, **Ab:** Alternierendes Muster B, **Ka:** Kreuzförmiges Muster A, **Kb:** Kreuzförmiges Muster B, **Ra:** Rotationsmuster A, **Rb:** Rotationsmuster B. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2020a)

Andere Parameter

Hierunter fallen Parameter, die nicht anders zugeordnet werden können:

- Entlastungsindex (%), ein Maß für die Geschwindigkeit mit der die Pfote vom Boden abgehoben wird. Dieser Parameter zeigte sich bei Ratten mit neuropathischen Schmerzen erhöht (Kameda et al., 2017).

$$\text{Entlastungsindex} = \frac{a}{F} \times \text{Framerate}$$

a: Die Funktion $y = ax + b$ entspricht dem Verlauf einer Linie durch die Datenpunkte der maximalen Kontaktfläche der Pfote, bzw. deren 90% Perzentile. **F**: maximale Fläche des Pfotenabdrucks.

- Schwunggeschwindigkeit (cm/s) der betreffenden Pfote

1.4.1.2.4 CatWalk Ganganalyse im Nervus ischiadicus der Ratte

Es existiert eine Vielzahl publizierter Arbeiten, in denen der CatWalk zur Evaluierung der funktionellen Regeneration nach Verletzungen des Nervus ischiadicus im Rattenmodell verwendet wurde. Eine systematische Übersichtsarbeit zu dieser Thematik zeigte zuletzt, dass nur nach Axonotmesis des Nervus ischiadicus mit einer vollen funktionellen Regeneration *ad integrum* gerechnet werden kann (Heinzel et al., 2020a). Andererseits werden nach Neurotmesis des Nervus ischiadicus und Evaluation mittels CW maximal 50% der präoperativen Messwerte, beispielhaft der FPA (Abbildung 8A) oder der Dauer der Standphase (Abbildung 8B) erreicht.

1.4.1.3 Stellenwert des Nervus ischiadicus Modells

Wie zuvor aufgeführt zeigte sich für den Fall einer Neurotmesis des Nervus ischiadicus in Studien, in denen die funktionelle Regeneration mittels SFI bestimmt wurde, als auch in Untersuchungen mittels CatWalk, eine maximale Regeneration von ca. 40% - 50% der präoperativen Funktion (Irintchev, 2011, Hare et al., 1993, Hare et al., 1992, Heinzel et al., 2020b). Jedoch stellen segmentale Nervenschäden ein erhebliches klinisches Problem dar und es besteht ein hoher Bedarf bezüglich der Entwicklung von Therapiemöglichkeiten

und rekonstruktiver Verfahren, um Patientinnen und Patienten mit solchen Verletzungen ideal behandeln zu können (Bassilios Habre et al., 2018, Pan et al., 2019). Die Erprobung dieser Ansätze in vivo erfordert jedoch ein Tiermodell, anhand dessen eine valide Aussage bezüglich des Effekts des neuen Behandlungsansatzes oder des neuen chirurgischen Verfahrens getroffen werden kann. In Anbetracht der generellen Limitationen des Nervus ischiadicus Modells und speziell im Kontext der deutlich eingeschränkten funktionellen Regeneration nach Neurotmesis, scheint dieses als Modell nach Meinung mehrerer Wissenschaftler nicht ideal geeignet zu sein (Irintchev, 2011, Haastert-Talini, 2017, Haastert-Talini, 2020). Basierend auf diesen geschilderten Einschränkungen, gewinnen mittlerweile Modelle wie der murine Nervus femoralis, in denen die zuvor beschriebenen Nachteile des Nervus ischiadicus Modells deutlich seltener auftreten, in denen gleichzeitig jedoch nach Neurotmesis eine volle funktionelle Regeneration zu beobachten ist, zunehmend an Popularität (Irintchev et al., 2005, Irintchev, 2011, Hercher et al., 2019, Heinzl et al., 2020c). Insbesondere das Nervus medianus Modell der Ratte steht daher zunehmend im Fokus der wissenschaftlichen Gemeinschaft.

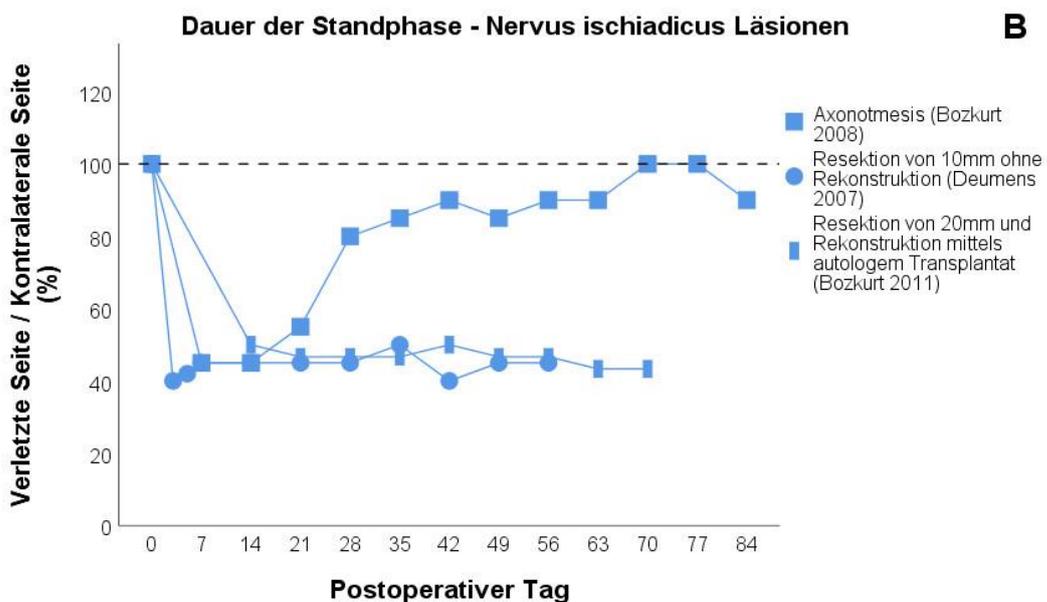
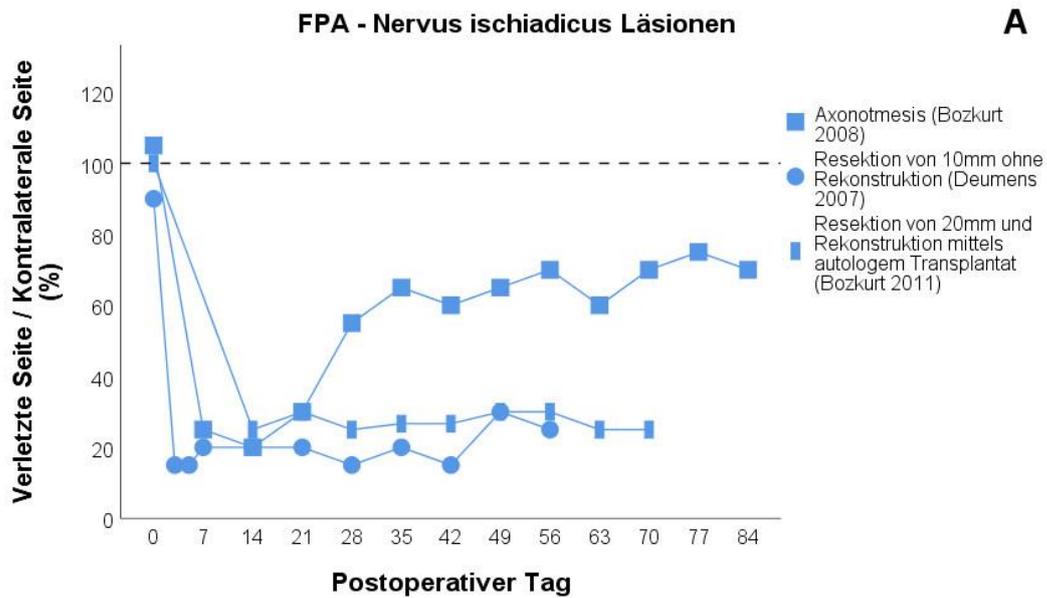


Abbildung 8 – Übersicht über den Verlauf zweier CatWalk Parameter in verschiedenen Studien zu Verletzungen des Nervus ischiadicus im Rattenmodell. Dargestellt sind A: Die Fläche des Pfotenabdrucks und B: Die Dauer der Standphase. **FPA**: Fläche des Pfotenabdrucks. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2020a)

1.4.2 Das Nervus medianus Modell der Ratte

Erstmalig beschrieben wurde das Nervus medianus Modell Anfang der 1990er Jahre von Bertelli (Bertelli et al., 1994). In den vergangenen Jahren und Jahrzehnten wurden etliche Publikationen veröffentlicht, die sich mit dem Modell und den Evaluationsmöglichkeiten der Nervenregeneration in diesem Kontext befassen haben (Bertelli and Mira, 1995, Bertelli et al., 1996, Sinis et al., 2005, Sinis et al., 2006, Sinis et al., 2007b, Sinis et al., 2007a, Manoli et al., 2014, Stöbel et al., 2017, Ronchi et al., 2019, Casal et al., 2020). Ein großer Vorteil des Nervus medianus Modells besteht in seinem im Vergleich zum murinen Nervus ischiadicus höheren translationalen Potential, bedingt dadurch, dass klinisch Nervenverletzungen der oberen Extremität gegenüber solchen der unteren Extremität überwiegen (Foster et al., 2019, Karsy et al., 2019). Zusätzlich treten Automutilationen nur äußerst selten auf, obwohl es nachweislich auch nach einer Durchtrennung des Nervus medianus zur Entwicklung neuropathischer Schmerzen kommt (Lue et al., 2002, Papalia et al., 2003).

Der murine Nervus medianus (Abbildung 9) entspringt, wie auch beim Menschen, dem Plexus brachialis, wobei er Anteile der Nervensegmente C₅ bis Th₁ enthält. Der Nerv entsendet muskuläre Fasern zu den Flexoren der Pfote und der Zehen sowie sensible Axone für den medialen Bereich der Pfote sowie die medialen Zehen (Jackson, 1936, Bertelli et al., 1995). Am Oberarm (Abbildung 10) verläuft der Nervus medianus parallel mit der Arteria und Vena brachialis und dem Nervus radialis, und gibt bis zur Fossa cubitalis keine Äste ab. Im Bereich des Ellenbogens entsendet der Nervus medianus zwei Äste; ein muskulärer Ast tritt zwischen den Köpfen des Musculus flexor digitorum superficialis und Musculus flexor digitorum profundus hindurch und versorgt beide Muskeln sowie den Musculus palmaris longus. Der zweite Ast, der Nervus interosseus anterior, versorgt ebenfalls den Musculus flexor digitorum profundus sowie den Musculus pronator quadratus. Der Nervus medianus verläuft dann weiter durch den Unterarm, bis er sich auf Höhe des Ligamentum carpi transversum in drei Nervi digitales palmares communes aufteilt. Jeweils einer der Nerven den ersten, zweiten und dritten Zwischenzehenraum mittels seiner beiden Endäste, den Nervi digitales palmares proprii, sensibel versorgt (Jackson, 1936)

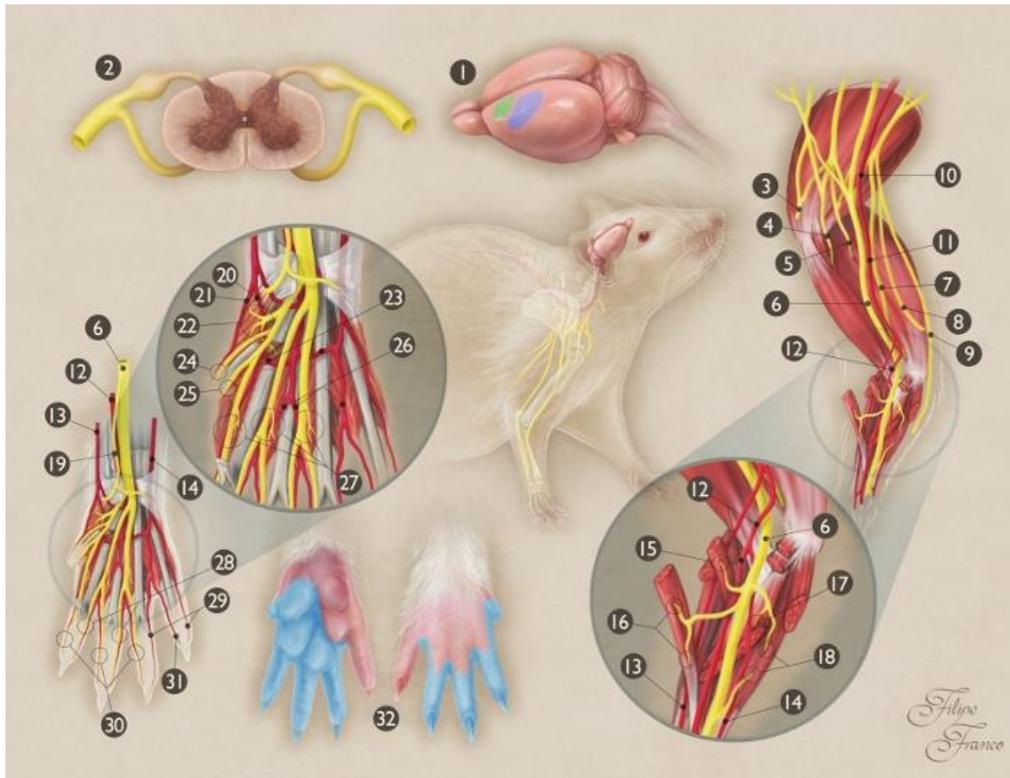


Abbildung 9 - Schematische Darstellung der Anatomie des Nervus medianus der Ratte. **1:** Kortexareal des Nervus medianus im Gehirn der Ratte, wobei das primäre Motorareal grün sowie das primäre sensible Areal blau eingefärbt sind, **2:** Querschnitt durch das Rückenmark auf Höhe des Segments C7, **3:** Nervus axillaris, **4:** Nervus musculocutaneus, **5:** Nervus radialis, **6:** Nervus medianus, **7:** Nervus ulnaris, **8:** Nervus cutaneus brachii medialis, **9:** Nervus cutaneus antebrachii medialis, **10:** Arteria axillaris, **11:** Arteria brachialis, **12:** Nervus medianus, **13:** Arteria radialis superficialis, **14:** Arteria ulnaris, **15:** Ast des Nervus medianus zum Musculus pronator teres, **16:** Ast des Nervus medianus zum Musculus flexor carpi radialis, **17:** Ast des Nervus medianus zum Musculus flexor digitorum superficialis, **18:** Ast des Nervus medianus zum Musculus flexor digitorum profundus, **19:** Sensibler Ast des Nervus medianus zum Thenar, **20:** Arteria palmaris communis zum ersten Zwischenzehenraum, **21:** Radialseitige Arteria digitalis palmaris des Daumens, **22:** Motorischer Ast des Nervus medianus zum Thenar, **23:** Arcus palmaris superficialis, **24:** Radialseitiger Nervus digitalis proprius des Daumens, **25:** Ulnarseitiger Nervus digitalis palmaris des Daumens, **26:** Arteria palmaris communis des dritten Zwischenzehenraums, **27:** Muskuläre Äste des Nervus medianus zu den Musculi lumbricales I-III, **28:** Ulnarseitige Nervi digitalis proprii zur zweiten, dritten und vierten Zehe, **29:** Ulnarseitige Arteriae digitales proprii zur zweiten, dritten und vierten Zehe, **30:** Radialseitige Nervi digitalis proprii zur zweiten, dritten und vierten Zehe, **31:** Radialseitige Arteriae digitales proprii zur zweiten, dritten und vierten Zehe, **32:** Vom Nervus medianus innerviertes Areal im Bereich der Vorderpfote (blau eingefärbt). Adaptiert übernommen aus (Casal et al., 2020).

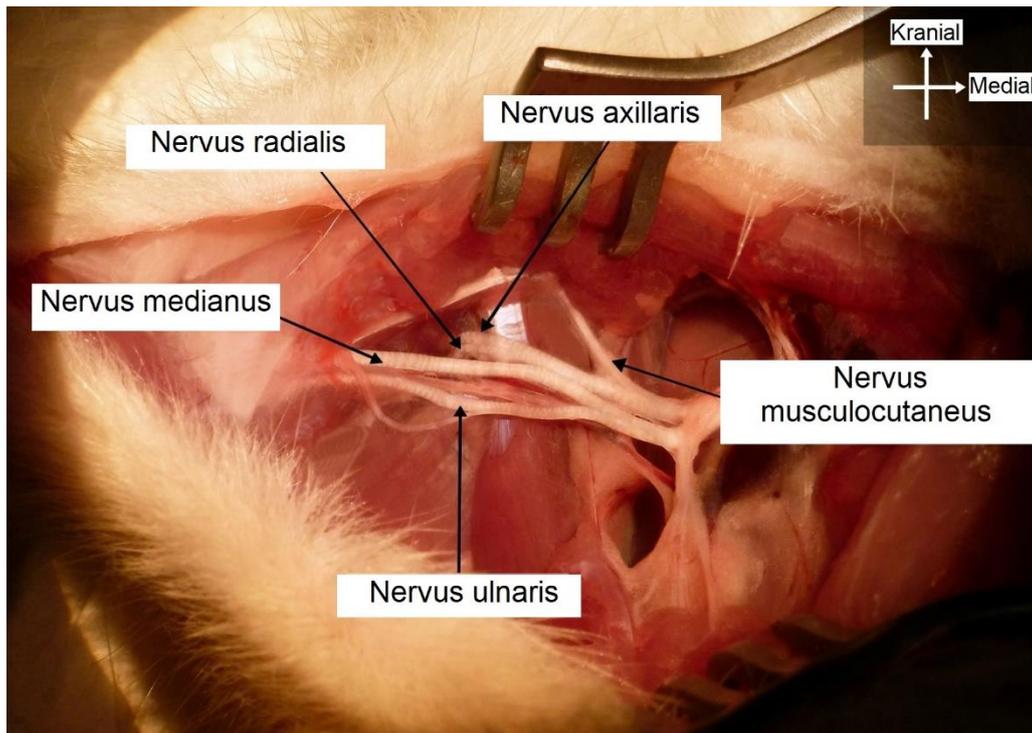


Abbildung 10 – Verlauf des Nervus medianus am Oberarm. Dargestellt sind insbesondere die topographischen Beziehungen zum Nervus musculocutaneus, Nervus ulnaris, Nervus radialis Nervus axillaris sowie der Arteria und Vena brachialis. Adaptiert übernommen aus (Casal et al., 2020).

1.4.2.1 Evaluationsmöglichkeiten der funktionellen Regeneration

Seit der Erstbeschreibung des Nervus medianus Modells Anfang der 1990er Jahre wurde eine Vielzahl von Methoden zur Evaluation der funktionellen Regeneration nach Verletzungen und Rekonstruktion des Nervus medianus beschrieben, wobei der Griffkraft-Test im Sinne eines Goldstandard-Tests die am häufigsten verwendete Methode darstellt (Bertelli and Mira, 1995, Stößel et al., 2017, Hanwright et al., 2019). Da die langen Finger- beziehungsweise, im Fall der Ratte, Zehenflexoren, das heißt der Musculus flexor digitorum superficialis und Musculus flexor digitorum profundus, bei der Ratte, anders als beim Menschen, nahezu ausschließlich vom Nervus medianus versorgt werden, verlieren die Tiere nach einer Läsion der Nervus medianus somit im Umkehrschluss die Fähigkeit die Interphalangealgelenke der Zehen zu beugen (Tos et al., 2009). Dies kann mittels des Griffkraft-Tests (Abbildung 11) evaluiert werden, dessen Aufbau und Durchführung, analog zur Erstbeschreibung des Nervus medianus Modells, ebenfalls Anfang der 1990er Jahre von Bertelli publiziert wurde (Bertelli and Mira, 1995). Zur Durchführung des Griffkraft-Tests wurde das Tier an seinem Schwanz gehalten und in der Vertikalen vorsichtig in Richtung eines mit einer Waage verbundenen Gittergestells geführt. Durch Zug am Schwanz der Tiere wurde nun der Greifreflex ausgelöst und mittels einem auf der Waage platzieren Gewicht konnte die maximale Griffkraft der Tiere bestimmt werden. Bei der Publikation der Methode betonten die Autoren die Wichtigkeit solche Versuche zu exkludieren, bei dem das Tier zum Greifen des Gitters die Handgelenksflexoren zu Hilfe nahm oder das Ellenbogengelenk mittels des Musculus biceps brachii beugte (Bertelli et al., 2006). Infolge kam es zu einer stetigen Weiterentwicklung des ursprünglichen Versuchsaufbaus (Abbildung 12). So wurde zum einen das Gittergestell in eine dreieckige Konstruktion mit lediglich einer Querstrebe umgewandelt, da die Tiere initial dazu neigten, auf dem Gittergestell laufen zu wollen. Zur Verhinderung der Zuhilfenahme der Handgelenksflexoren wurde außerdem direkt unterhalb der Querstrebe eine Barriere aus Klebeband oder ähnlichem angebracht (Tos et al., 2009).

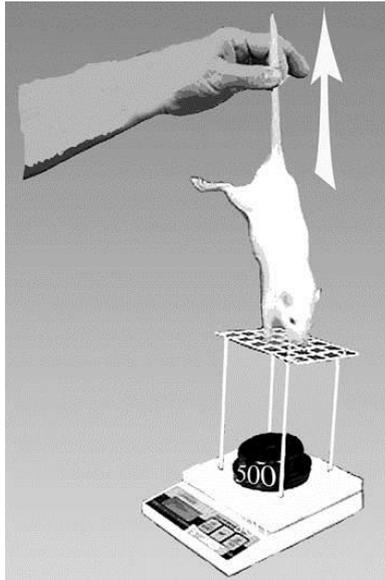


Abbildung 11 – Ursprünglicher Versuchsaufbau des Griffkraft-Tests. Die Ratte wird am Schwanz gehalten und in Richtung eines mit einer Waage verbundenen Gittergestells geführt. Mittels Zug am Schwanz wird der Greifreflex ausgelöst und die maximale Griffkraft kann mittels einem auf der Waage platzierten Gewicht eruiert werden. Übernommen aus (Bertelli et al., 2006).

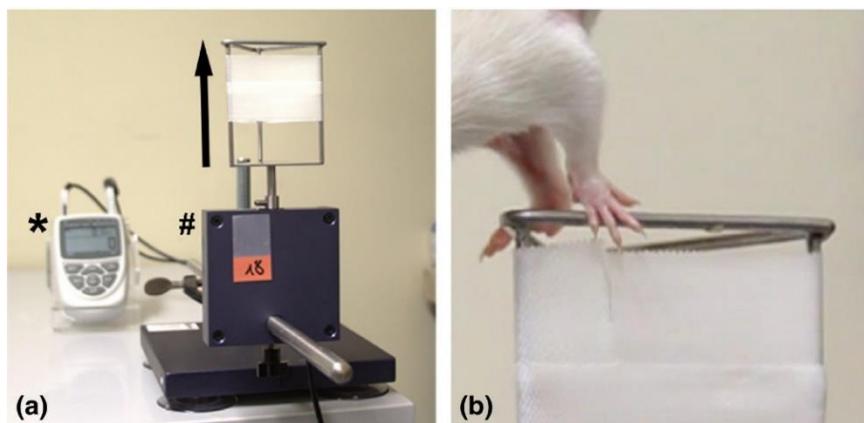


Abbildung 12 – Modifizierter Versuchsaufbau des Griffkraft-Tests. **a:** Die ursprünglich verwendete analoge Waage wurde durch ein digitales Messgerät ersetzt. **b:** Zur Verhinderung der initialen Tendenz der Ratten auf dem Gittergestell zu laufen, wurde dies durch eine einzelne Querstrebe ersetzt. Diese wurde zusätzlich mit einem Klebebandstreifen umwickelt, um eine Zuhilfenahme der Handgelenksflexoren zu unterbinden. Übernommen aus (Stöbel et al., 2017).

Im Gegensatz zum Nervus ischiadicus Modell wurde die Analyse des Gangverhaltens im Kontext des Nervus medianus Modells bisher nur selten verwendet. So wurden bis dato insgesamt nur vier Studien veröffentlicht, die eine entsprechende Methodik nach Verletzungen des Nervus medianus im

Rattenmodell anwandten. Wang et al. evaluierten das Gangverhalten nach entweder isolierter oder kombinierter Verletzung des Nervus medianus, Nervus ulnaris und Nervus radialis und unmittelbar anschließender Rekonstruktion, mithilfe zwei-dimensionaler Videoanalyse (Abbildung 13). Den Autoren gelang hier der Nachweis, dass es infolge einer Verletzung des Nervus medianus zu einer Einschränkung der Flexion sowohl des Handgelenks als auch der Metacarpophalangealgelenke kam. Zusätzlich ergab eine durchgeführte lineare Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation zwischen dem Bewegungsumfang der Gelenke und der erhobenen Griffkraft (Wang et al., 2008). Casal et al. färbten die Vorderpfoten der von ihnen untersuchten Ratten mit Methyleneblau und ließen die Tiere durch einen hölzernen Korridor laufen, dessen Boden mit Millimeterpapier ausgelegt war (Abbildung 14). Neben den Dimensionen des Pfotenabdrucks, beispielsweise der FPA und der BPA, bestimmten die Autoren und Autorinnen ebenso die Schrittweite und Schrittweite der Tiere vor und nach Resektion eines 10 Millimeter langen Segments des Nervus medianus und unmittelbar anschließender Rekonstruktion mittels autologem Nervenstransplantat (Casal et al., 2018).

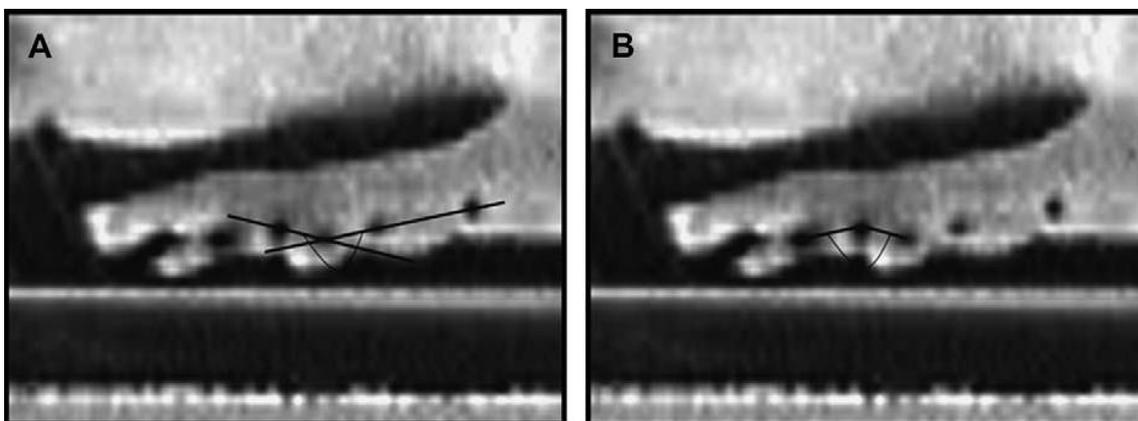


Abbildung 13 – Darstellung der Bewegung der vorderen Extremität einer Ratte mittels zweidimensionaler Bildanalyse. **A:** Mittels einer durch den Kopf der Ulna und das distale Drittel der Ulna gezogenen Linie wird die Achse der vorderen Extremität dargestellt. Mittels einer Linie, welche die Metacarpophalangealgelenke mit der Basis des fünften Metacarpalknochens verbindet, wird die Achse der Pfote repräsentiert. Somit kann mittels dieser beiden Achsen die Handgelenksflexion und – extension bestimmt werden. **B:** Für die Visualisierung der Ebene der Metacarpophalangealgelenke, bzw. der Ermittlung des Bewegungsumfangs der Metacarpophalangealgelenke wird zum einen die Linie durch die Basis des fünften Metacarpalknochens und dem Metacarpophalangealgelenk verwendet, andererseits eine Linie durch das Metacarpophalangealgelenk und das proximale Interphalangealgelenk. Übernommen aus (Wang et al., 2008)

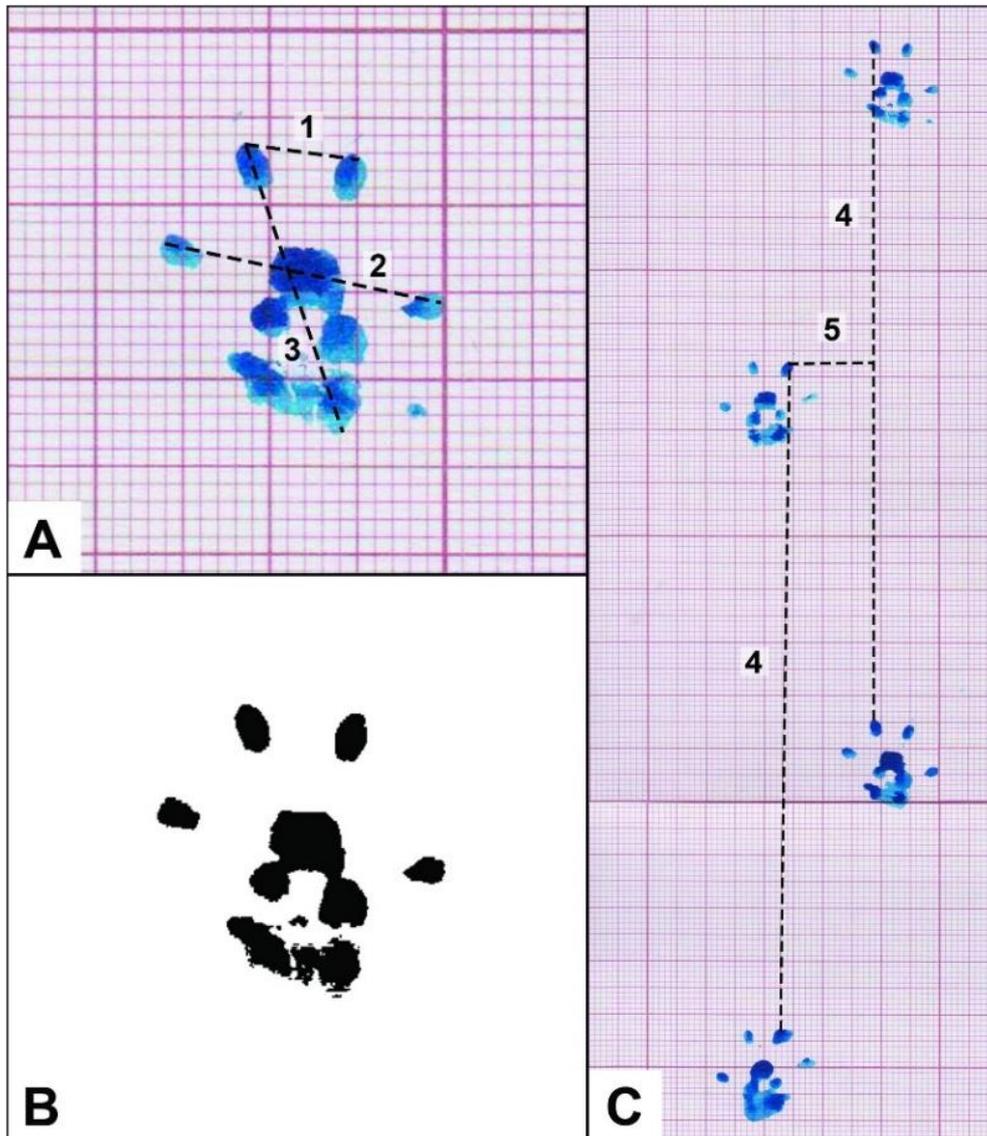


Abbildung 14- Pfotenabdruckanalyse durch Färbung der Pfoten mittels Methylenblau. **A:** Abdruck einer unverletzten, linken Vorderpfote. **B:** Kontrast-verstärktes Bild der unter (A) abgebildeten Pfote zu Vereinfachung der nachfolgenden digitalen Messungen. **C:** Typische Pfotenabdrücke einer Ratte nach Resektion des rechten Nervus medianus und unmittelbarer Rekonstruktion mittels autologem Nerventransplantat. **1:** Abstand zwischen der dritten und vierten Zehe („Intermediate Toe Spread Factor“) **2:** Abstand zwischen der zweiten und fünften Zehe („Toe Spread Factor“). **3:** Länge des Pfotenabdrucks, gemessen von der Ferse bis zur Spitze der dritten Zehe. **4:** Schrittlänge **5:** Schrittweite. Übernommen aus (Casal et al., 2018).

1.4.2.1.1 CatWalk Ganganalyse im Nervus medianus Modell der Ratte

Der CW wurde nur in zwei Studien zur Evaluation des Gangverhaltens verwendet, welche beide im Jahr 2012 von Chens Arbeitsgruppe publiziert wurden. Im Rahmen ihrer Untersuchungen kombinierten die Autoren die Resektion eines 2 Millimeter langen Segments des Nervus medianus mit einer Ligatur des Nervs und analysierten daraufhin mittels CW und immunhistochemischer Methoden Hinweise für das Auftreten neuropathischer Schmerzen (Chen et al., 2012a, Chen et al., 2012b). Chen et al. gelang es im Rahmen ihrer Studien nachzuweisen, dass sich Änderungen des Gangverhaltens infolge der beschriebenen Schädigung des Nervus medianus mittels CW evaluieren ließen. Ausgewertet wurden hier unter anderem die FPA, BPA, LPA und IPA der jeweils betroffenen Vorderpfoten. So zeigte sich infolge der kombinierten Läsion des Nervus medianus in der POW2 ein Rückgang der IPA um etwa 20%, die LPA, BPA und FPA nahmen um mehr als 40% ab. Während sich die IPA und LPA ohne weitere therapeutische Intervention nach 28 Tagen wieder etwa 90% des jeweiligen Ausgangswertes erreicht hatten, erreichten die anderen erhobenen Parameter zu diesem Zeitpunkt Werte von weniger als 60% des Ausgangswertes. Interessanterweise zeigten sich ein unmittelbarer und deutlicher Anstieg der BPA und FPA infolge der Gabe von Baclofen am 28ten postoperativen Tag. Obwohl die Tiere im Rahmen der genannten Studien postoperativ nur für einen Zeitraum von insgesamt 28 Tagen nachuntersucht wurden und der segmentale Schaden des Nervus medianus nicht chirurgisch rekonstruiert wurde, zeigten die genannten Studien bereits das Potential des CW als Evaluationsmethode nach Neurotmesis des Nervus medianus auf.

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Zur Evaluierung innovativer medikamentöser Ansätze oder neuer chirurgischer Verfahren zur Behandlung segmentaler peripherer Nervenverletzungen wird ein reliables und valides präklinisches Modell benötigt. Ebenso wichtig sind valide Evaluierungsmethoden zur Bestimmung der funktionellen Regeneration, um den Erfolg der experimentellen Behandlung oder des Rekonstruktionsverfahren beurteilen zu können. Der Nervus medianus der Ratte ist ein bereits gut etabliertes Modell zur translationalen Erforschung peripherer Nervenverletzungen der oberen Extremität (Ronchi et al., 2019). Jedoch gibt es bis dato keine publizierte Arbeit, in welcher die funktionelle Regeneration nach segmentaler Neurotmesis und nachfolgender Rekonstruktion des Nervus medianus mittels CW evaluiert worden ist. Das Ziel dieser Arbeit bestand daher darin, zu untersuchen ob der CW eine valide Möglichkeit darstellt, um die funktionelle Regeneration nach Resektion und Rekonstruktion des Nervus medianus im Rattenmodell zu evaluieren. Zusätzlich sollte untersucht werden, ob sich die durch die kontralaterale Resektion des Nervus medianus ohne anschließende Rekonstruktion verursachten funktionellen Defizite ebenfalls mittels CW darstellen lassen. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

2 Material und Methoden

2.1 Tierversuchsantrag und ethische Bestimmungen

Alle tierexperimentellen Untersuchungen erfolgten in Übereinstimmung mit den national und international geltenden rechtlichen und ethischen Bestimmungen sowie der Deklaration von Helsinki. Der entsprechende Tierversuchsantrag wurde durch die Magistratsabteilung 58 der Stadt Wien geprüft und unter dem Geschäftszeichen MA58-421715-2019-16 genehmigt.

2.2 Versuchstiere und Tierhaltung

Alle mikrochirurgischen Eingriffe und funktionellen Analysen wurden an zehn männlichen Lewis-Ratten (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) durchgeführt. Das Gewicht der Tiere zum Zeitpunkt der Operation betrug zwischen 280g und 350g. Alle Tiere wurden in Gruppen von zwei oder drei gehalten, um deren natürlichem Sozialverhalten zu entsprechen und eine Belastung der Tiere aufgrund sozialer Deprivation zu verhindern. Zugang zu Nahrung und Wasser hatten alle Tiere *ad libitum*. Nach der Anlieferung in die Haltungsräumlichkeiten folgte eine siebentägige Eingewöhnungsphase zur Adaptation an die neue Umgebung. Anschließend erfolgte eine ebenfalls siebtägige Trainingsperiode, in der die Tiere an das CatWalk-Ganganalyse-System und den Ablauf der Datenaufzeichnung gewöhnt wurden. Ebenso erfolgte in dieser Phase die Gewöhnung an den Griffkraft-Test. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

2.3 Experimentelle Eingriffe

Alle operativen Eingriffe erfolgten unter sterilen Bedingungen und Beachtung der gängigen Hygienebestimmungen sowie unter Inhalationsnarkose mittels Sevofluran-Sauerstoff-Gemisch. Spätestens 1h präoperativ erhielt jedes Tier eine subkutane Gabe Buprenorphin 0.05mg/kg KGW sowie eine orale Gabe Meloxicam 1mg/kg KGW zur intraoperativen Analgesie. Nach Rasur und Desinfektion des betreffenden Hautareals erfolgte eine etwa 1,5 cm lange Inzision von der rechten Axilla in Richtung des Ellenbogengelenks, dem Verlauf des Humerus entsprechend. Unter 10-facher mikroskopischer Vergrößerung

(Leica M651, Leica Mikrosysteme, Wien, Österreich) wurde anschließend der rechte Nervus medianus vom umliegenden Bindegewebe befreit und auf der Strecke von der Axilla bis zu seiner Aufzweigung in seine Endäste auf Höhe der Fossa cubitalis freilegt. Im nächsten Schritt wurde der Nervus medianus etwa 2-3 Millimeter proximal der Stelle durchtrennt, an der er von der Arteria brachialis überkreuzt wurde. Eine weitere Transektion erfolgte nun 7 Millimeter proximal zur ersten. Das resezierte Segment des Nervus medianus wurde anschließend um 180° gedreht und mittels jeweils zwei epineurialer Nähte (Ethilon 10-0) mit dem proximalen und distalen Nervenstumpf koaptiert (Abbildung 15). Auf der linken Seite wurde der Nervus medianus ebenfalls freigelegt und es wurden, analog dem Vorgehen auf der rechten Seite, 7 mm des Nervs reseziert. Jedoch wurde der Defekt linksseitig nicht überbrückt und der distale Nervenstumpf mittels zweier Nähte (Ethilon 10-0) in den distalen Anteil des Musculus biceps brachii eingenäht. Somit verblieb die LV über den gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum im Sinne einer internen Negativkontrolle chronisch denerviert. Abschließend erfolgte der zweischichtige Wundverschluss. Alle Tiere erhielten bis zum Abklingen der Schmerzsymptome, zumindest aber in den ersten 48h nach der Operation eine subkutan verabreichte analgetische Therapie mit Buprenorphin 0.05 mg/kg KGW sowie eine tägliche orale Gabe Meloxicam 1mg/kg KGW bis zum vierten postoperativen Tag. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

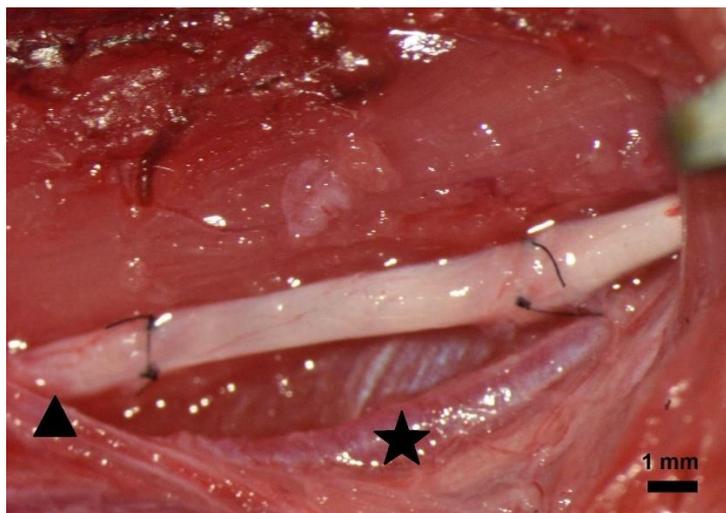


Abbildung 15 – Operativer Situs rechts nach Abschluss der Nervenrekonstruktion auf der rechten Seite. Am linken Bildrand ist die Arteria brachialis (▲) zu erkennen, die den Nervus medianus überkreuzt. Parallel zum Nervus medianus läuft die Vena brachialis (★).

2.4 Funktionelle Evaluation

2.4.1 CatWalk Ganganalyse

Zur Analyse des Gangverhaltens wurde das CW XT Ganganalyse System (Softwareversion 10.6) (Noldus Information Technology, Wageningen, Niederlande) verwendet. Die zu untersuchenden Tiere wurden in der Woche vor Durchführung der mikrochirurgischen Operationen täglich auf dem CW trainiert, um sie an die Bedingungen und den Ablauf der Datenakquirierung zu gewöhnen. Dabei wurden die Tiere entsprechend der Literaturempfehlungen (Koopmans et al., 2007) darauf trainiert, den CW mit einer Geschwindigkeit von ca. 50-100 cm/s zu überqueren. Die Datenakquirierung erfolgte in Einklang mit den in der Literatur beschriebenen Anforderungen und Standards (Deumens et al., 2014). Spätestens am Tag vor der Operation wurden entsprechende präoperative Messungen durchgeführt, wobei diese Daten als Referenzwerte für die postoperativen Messungen herangezogen wurden. Postoperativ wurden die Tiere in Intervallen von dreizehn bis fünfzehn Tagen nachuntersucht. Bis zum Ende des zwölfwöchigen Beobachtungszeitraums wurden pro Untersuchungszeitpunkt 3 Durchgänge pro Tier aufgezeichnet. Am Ende jeder abgeschlossenen Untersuchung erhielten die Tiere 1-2 Donut-förmige Getreideringe zur positiven Verstärkung der Testprozedur, auf eine Nahrungsdeprivation im Vorfeld der Untersuchungen wurde verzichtet. Die folgenden Parameter wurden im Rahmen der Datenanalyse erfasst: Schrittbreite (mm), Schrittlänge (mm), LPA (mm), BPA (mm), FPA (mm²), Schwunggeschwindigkeit (cm/s), Belastungsdauer (%), DSP (s), Entlastungsindex (%), RI (%), Schrittfolgemuster, Kopplungen (%), Ulnarabduktion der Pfote (°). Für alle Parameter mit Ausnahme der vier zuletzt aufgeführten und der Schrittbreite wurde jeweils der Quotient der RV und RH (Ratio RV/RH), der Quotient der LV und LH (Ratio LV/LH) und der Quotient beider VP (Ratio RV/LV) berechnet. Für jeden dieser Quotienten erfolgte schließlich die Bildung des Quotienten mit dem präoperativen Messwert. Alle Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit wurden in Prozent berechnet und sind ebenso in den Graphen und Abbildungen als Mittelwert \pm SEM dargestellt. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

2.4.1.1 Ulnarabduktion der Pfote

Die Ulnarabduktion der Pfoten (Abbildung 16) wurde mittels der CatWalk-Software anhand der händisch eingezeichneten Orientierung der Pfote (weiße Linie in Abbildung 16A) und der Orientierung der Körperachse (weiße Linie in Abbildung 16B) errechnet. Der von der Software automatisch bestimmte Parameter „Paw Angle Body Axis“ gibt den Winkel zwischen den zuvor genannten Orientierungslinien an. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

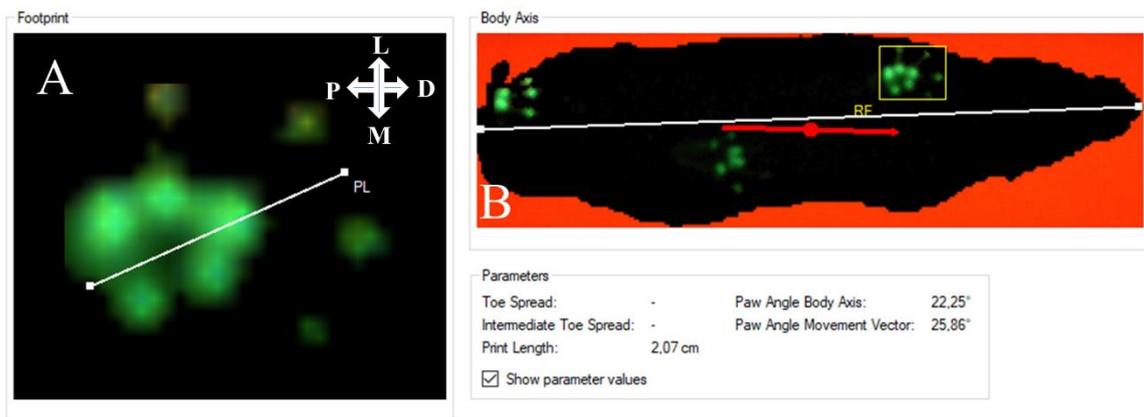


Abbildung 16 – Bestimmung der Ulnarabduktion der Pfoten am Beispiel der rechten Vorderpfote unter Zuhilfenahme zweier Orientierungslinien. **A:** Bestimmung der Orientierung der Pfote mittels einer durch die Ferse und die Verbindungslinie zwischen der dritten und vierten Zehe gezogenen Linie. **B:** Bestimmung der Orientierung der Körperachse mittels einer durch die Schwanzwurzel und die Schnauzenspitze gezogene Linie. Der automatisch vom System berechnete Parameter „Paw Angle Body Axis“ gibt somit die Ulnarabduktion der Vorderpfote in Winkelgrad an. Übernommen aus (Heinzel et al., 2021)

2.4.2 Griffkraft-Test

Für die Bestimmung der präoperativen und postoperativen Grifffähigkeit und Griffkraft der Tiere wurden diese sowohl präoperativ, spätestens am Tag vor der Operation, und anschließend postoperativ in zweiwöchigen Abständen im Verlauf des zwölfwöchigen Beobachtungszeitraums mittels Griffkraft-Test untersucht (Abbildung 17). Für diese Untersuchungen wurde ein entsprechendes Griffkraft-Messgerät (Ugo Basile S.R.L., Gemonio, V.A., Italien) in einer vertikalen Position angebracht. Die Ratten wurden anschließend, während sie sanft an der Schwanzwurzel festgehalten wurden, in der Vertikalen in Richtung der in der Querstrebe des Geräts geführt, bis sie mit der rechten Pfote danach griffen. Es

wurde ein Streifen Klebeband um den unteren Anteil der Haltestrebe des Messgerätes angebracht, in einigen Millimetern Entfernung von der von den Tieren zu umgreifenden Querstrebe. Dadurch konnte verhindert werden, dass die Ratten die Querstrebe mit ihrem Handgelenk umschließen konnten, wodurch eine Zuhilfenahme der Handgelenksflexoren beim Griffkraft-Test verhindert werden konnte. Sobald die Tiere die Querstrebe mit den Zehen der RV umschlossen, wurden sie unter gleichmäßigem, sanften Zug am Schwanz in Richtung der Decke gezogen, bis sich der Griff um die Querstrebe löste. Nur solche Durchgänge, in denen es nicht zur Beugung im Ellenbogengelenk, das heißt einer Zuhilfenahme des vom Nervus musculocutaneus innervierten Musculus biceps brachii kam, wurden als gültig gewertet. Pro Ratte und Messzeitpunkt wurden drei gültige Durchgänge aufgezeichnet und die maximale Griffkraft der Tiere notiert. Anschließend wurde die durchschnittliche Griffkraft der Tiere berechnet, in dem die maximale Griffkraft durch die Anzahl der Messdurchgänge geteilt wurde. Zusätzlich wurde die Greiffähigkeit der Tiere anhand der von Stöbel et al. entwickelten Skala bewertet (Stöbel et al., 2017). Hierbei wurde das völlige Fehlen sichtbarer Flexion in den Interphalangealgelenken als 1/3 bewertet. Eine sichtbare Flexion in den Interphalangealgelenken ohne messbare Griffkraft wurde als 2/3 bewertet, wohingegen eine sichtbare Flexion mit durch das Gerät messbarer Griffkraft als 3/3 bewertet wurde. Für die präoperativen Messungen wurde die LV jedes Tieres mit Klebeband umwickelt, um deren Gebrauch und damit Verfälschung der Testergebnisse zu unterbinden. Da der linke Nervus medianus infolge der mikrochirurgischen Eingriffe durchtrennt war, konnte darauf im Rahmen der postoperativen Messungen verzichtet werden. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

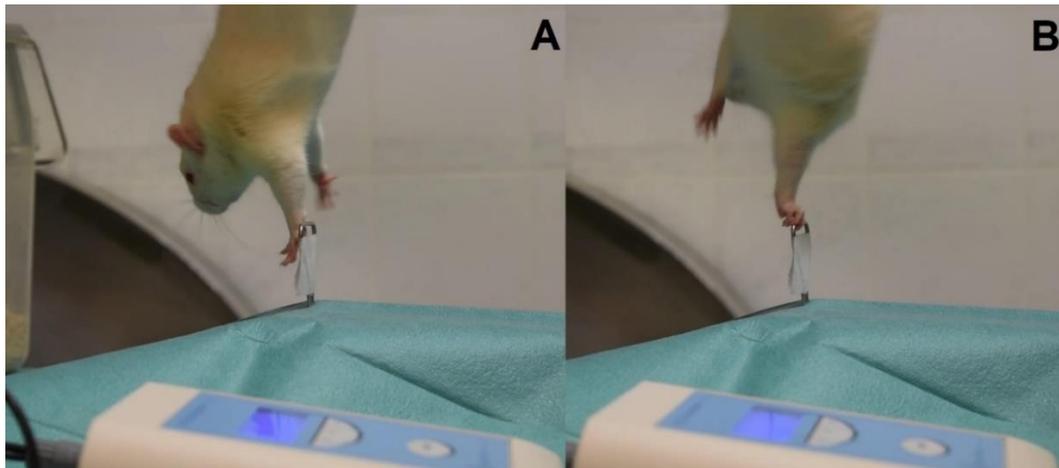


Abbildung 17 – Repräsentative Bilder der Durchführung des Griffkraft-Tests in der sechsten postoperativen Woche nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Rekonstruktion rechts. **A:** Die Zehen der linken Pfote stehen in deutlicher Hyperextension, die Querstrebe des Messgeräts kann nicht umgriffen werden. **B:** Infolge der Rekonstruktion des Nervus medianus rechts gelingt der Zehenschluss um die Querstrebe. Das unterhalb der Querstrebe angebrachte Klebeband verhindert die Zuhilfenahme der Handgelenksflexoren, ebenso kommt es zu keiner Beugung im Ellenbogengelenk.

2.4.3 Elektrophysiologische Messungen

Zur Evaluierung der Reinnervation des vom Nervus medianus innervierten Musculus flexor digitorum superficialis wurden am Ende des zwölfwöchigen Beobachtungszeitraums Messungen der Amplitude sowie der Latenz des Muskelsummenaktionspotentials (MSAP) des Musculus flexor digitorum superficialis rechts vorgenommen. Hierzu wurde ein „Neuromax“ Elektromyograph (Natus, WI, USA) verwendet. Während der elektrophysiologischen Messungen erfolgte die Bestimmung der Körpertemperatur der Tiere mittels einer rektalen Messsonde. Die ermittelte Temperatur diente infolge zur Normalisierung der Messergebnisse. Es erfolgte nach präoperativer Gabe von 0,05mg/kg KGW Butorphanol unter Inhalationsnarkose die vorsichtige Präparation des Nervus medianus rechts sowie der von ihm versorgten Muskulatur am Unterarm. Nach erfolgter Freilegung des Nervs und des Musculus flexor digitorum superficialis wurde eine Mikronadel-Elektrode 20mm proximal des Thenars in den Muskel inseriert. Die Referenz-Mikronadel-Elektrode wurde subkutan im Bereich des Thenars in die RV inseriert, sowie die Erdungs-Elektrode in die rechte hintere Extremität.

Anschließend erfolgte die Stimulation des Nervus medianus proximal des rekonstruierten Segments mittels einer bipolaren Stimulationselektrode. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

2.4.4 Euthanasie der Versuchstiere und Bestimmung des Gewichts des Musculus flexor digitorum superficialis

Nach Abschluss der elektrophysiologischen Untersuchungen erfolgte die schmerzlose Tötung der Tiere unter Inhalationsnarkose mit Sevofluran-Sauerstoffgemisch mittels einer per transthorakaler Punktion intrakardial applizierten Überdosis Pentobarbital-Natrium. Anschließend wurden den Tieren beide Musculi flexores digitorum superficiales entnommen und der Quotient der Gewichte beider Muskeln bestimmt, wobei das Körpergewicht des Tiers zur Normierung der Messwerte verwendet wurde. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

2.5 Statistische Analyse

Alle statistischen Berechnungen wurden mittels SPSS Version 26 (International Business Machines Corporation, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Sämtliche mittels CW erhobene Parameter und die Ergebnisse der Griffkraft-Tests wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse mit Messwiederholung (RMANOVA) hinsichtlich statistisch signifikanter Unterschiede der zu den einzelnen Messzeitpunkten erhobenen Werte untersucht. Zur Alphafehlerkorrektur bei multiplen Vergleichen wurde die Bonferroni-Methode angewandt. P-Werte < 0.05 wurden als signifikant betrachtet. Der statistische Vergleich der Gewichte der jeweils links und rechts entnommenen Musculi flexores digitorum superficiales erfolgte mittels t-test für verbundene Stichproben. Auch hier wurden p-Werte < 0.05 als signifikant betrachtet. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Zur Untersuchung der Korrelation der CW Daten und der Ergebnisse der elektrophysiologischen Messungen wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Die koordinations-bezogenen Parameter wurden von dieser Analyse jedoch ausgenommen, da ein Vergleich der elektrophysiologischen Eigenschaften eines Muskels einer Extremität mit den koordinations-bezogenen Parameter, die das Zusammenspiel aller vier Extremitäten abbilden, in diesem

Kontext nur wenig sinnvoll erscheint. Die Untersuchung der Korrelation der CW Daten und Ergebnisse des Griffkraft-Tests erfolgte mittels der Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson. P-Werte $< 0,05$ wurden als signifikant betrachtet. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3 Ergebnisse

3.1 Postoperativer Verlauf und Tierwohl

Keines der Tiere verstarb intraoperativ. Ebenso erholten sich alle Tiere komplikationslos von den Operationen. Es traten keine Fälle von Automutilationen oder Kontrakturen der operierten Extremitäten auf. Die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen eines der Tiere mussten von den weiterführenden statistischen Analysen ausgeschlossen werden, da es während der Messung zu technischen Problemen kam. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3.2 CatWalk XT Ganganalyse

Eine Übersicht der mittels CW aufgezeichneten Pfotenabdrücke der Tiere vor und nach den nervenchirurgischen Eingriffen sind in Abbildung 18 dargestellt. Während die Tiere die rechte und linke Vorderpfote präoperativ (Abbildung 18A) jeweils gleichmäßig belasteten, kam es postoperativ (Abbildung 18B-1F) zu einer deutlichen Veränderung der Pfotenabdrücke der Vorderpfoten. So zeigten sich die Pfotenabdrücke beidseits postoperativ deutlich verkleinert, da die Ratten zum Auftreten vornehmlich die laterale Hälfte der Pfoten, beziehungsweise die lateralen zwei Zehen verwendeten. Die medialen Zehen waren entweder gar nicht detektierbar oder zeigten eine im Vergleich zu den präoperativen Messungen deutlich geminderte Intensität. Während das beim Auftreten verwendete Areal der RV im Verlauf ab der POW4 wieder zunahm und auch die medialen Zehen dieser Vorderpfote ab der POW10 wieder deutlich sichtbar waren, blieben die aufgezeichneten Pfotenabdrücke der LV zwischen der POW2 und der POW12 (Abbildung 18B-F) weitgehend unverändert. Während sich die dritte Zehe in der POW4 (Abbildung 18B) noch deutlich sichtbar zeigte, war diese ab der POW6 bis zum Ende des Beobachtungszeitraums nicht mehr auf den Pfotenabdrücken erkennbar. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

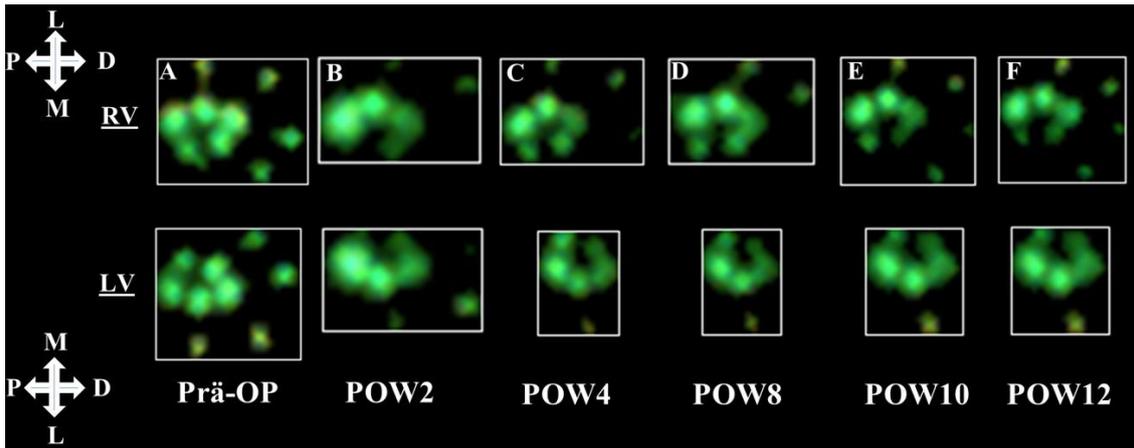


Abbildung 18 – Repräsentative Abbildung der mittels CW aufgezeichneten Pfotenabdrücke vor und nach bilateraler Resektion und unilateraler Rekonstruktion des Nervus medianus. **A:** Pfotenabdrücke zum präoperativen Zeitpunkt. **B-F:** Pfotenabdrücke zu den verschiedenen postoperativen Zeitpunkten. Die weißen Kreuze zeigen die jeweilige Orientierung der Pfoten in Bezug auf die Körperachse des Tieres an. **P:** proximal, **D:** distal, **M:** medial, **L:** lateral, **POW:** Postoperative Woche. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.1 Allgemeine Parameter

3.2.1.1 Fläche des Pfotenabdrucks (FPA)

Zum Zeitpunkt POW2 war die FPA RV/RH (Abbildung 19A) hochsignifikant ($p < 0,01$) um mehr als 35% im Vergleich zur präoperativen Messung reduziert. Im weiteren Verlauf des Beobachtungszeitraums kam es zu einem Anstieg auf 79% des präoperativen Wertes in der POW4 und 81% in der POW6. Am Ende des Beobachtungszeitraums nach 12 Wochen erreichte die FPA RV/RH 85% des präoperativen Messwertes. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die FPA LV/LH (Abbildung 19B) zeigte sich in der POW2 und POW4 signifikant ($p < 0,05$) um 28% im Vergleich zu präoperativ verringert, stieg in der POW6, POW8 und POW10 aber jeweils wieder auf 85%, 82% und 78% an. Am Ende des Beobachtungszeitraums kam es erneut zu einem signifikantem ($p < 0,05$) Abfall der FPA LV/LH auf 72% des Ausgangswertes. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Vergleich der FPA beider Vorderpfoten, FPA RV/LV, (Abbildung 19C) zeigte einen Anstieg ausgehend von der POW4 und erreichte einen Wert von 119% zum Zeitpunkt POW8. In der POW10 und POW12 kam es zu einem statistisch

signifikanten Anstieg auf jeweils 126% ($p < 0,05$) und 129% ($p < 0,01$) des Ausgangswertes. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

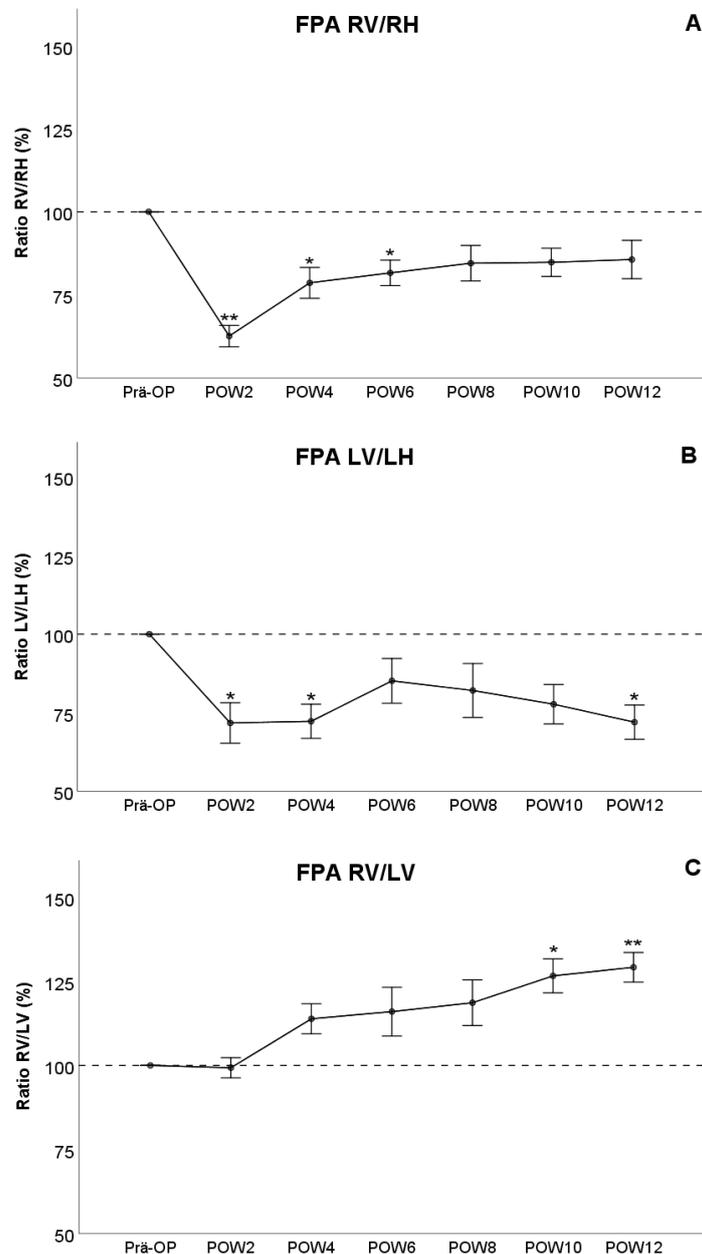


Abbildung 19 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Fläche des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist **A**: das Verhältnis der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **FPA**: Fläche des Pfotenabdrucks, **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.1.2 Länge des Pfotenabdrucks (LPA)

Die LPA RV/RH (Abbildung 20A) war durchgehend von der POW2 bis zur POW12 um etwa 10% reduziert, ohne dass dies statistische Signifikanz im Vergleich zum Ausgangswert erreichte (Heinzel et al., 2021).

In Bezug auf die LPA LV/LH (Abbildung 20B) kam es zu einer Reduktion von etwa 9% zum Zeitpunkt POW2, mit einem nochmaligem Abfall auf 80% in der POW4. Zu keinem der beiden Zeitpunkte war der Unterschied zur präoperativen Messung statistisch signifikant. Ein nochmaliger Abfall auf 72% zum Zeitpunkt POW6 erreichte hohe statistische Signifikanz ($p < 0,01$) verglichen zu den präoperativen Messungen. Diese hohe statistische Signifikanz blieb auch zu den folgenden Messzeitpunkten bestehen, wobei die LPA LV/LH Werte zwischen 69% und 67% des Ausgangswertes erreichte (Heinzel et al., 2021).

Der Vergleich beider Vorderpfoten, ausgedrückt als LPA RV/LV (Abbildung 20C) betrug bis zum Zeitpunkt POW2 100%. Vier Wochen postoperativ erfolgte ein Anstieg auf 120% des Ausgangswertes. Zum Zeitpunkt POW6 erreichte LPA RV/LV einen Wert von 135%, der sich in der POW8 nochmals auf 139% erhöhte. Zum Zeitpunkt POW10 kam es zu einem Abfall auf 136%. Jeweils zu allen drei Zeitpunkten bestand eine statistisch hochsignifikante ($p < 0,01$) Differenz des jeweiligen Messwerts zur präoperativen Messung. Am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 betrug die LPA RV/LV nach wie vor 136% und es bestand eine statistisch signifikante Differenz verglichen zum Ausgangswert ($p < 0,05$). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

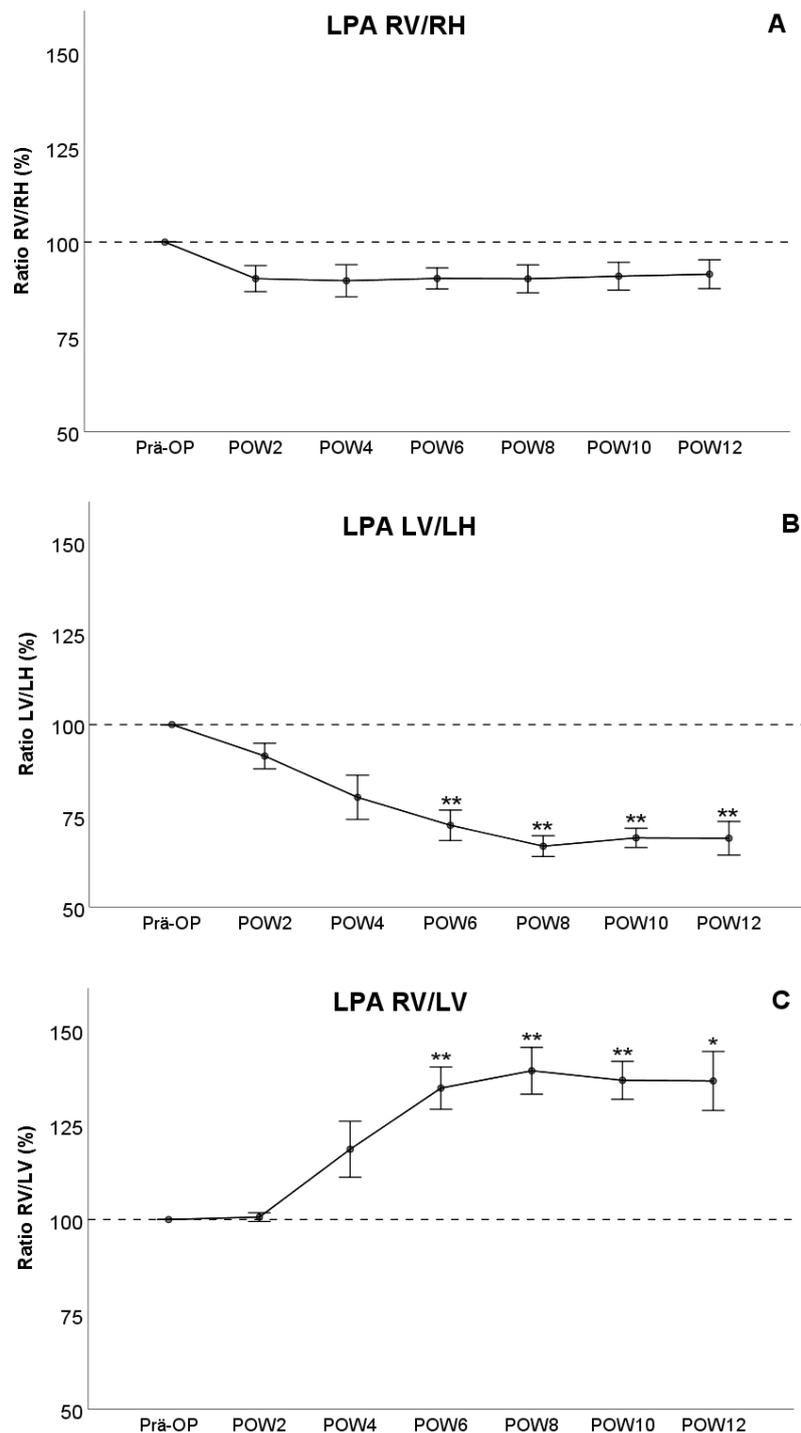


Abbildung 20 - Zeitlicher Verlauf der gemessenen Länge des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **LPA**: Länge des Pfotenabdrucks, **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.1.3 Breite des Pfotenabdrucks (BPA)

Zum Zeitpunkt POW2 kam es zu einer Reduktion der BPA RV/RH (Abbildung 21A) von 25%, was im Vergleich zum präoperativen Messwert statistisch hochsignifikant war ($p < 0,01$). Vier Wochen postoperativ zeigte sich ein Anstieg auf 82%, zwei Wochen später kam es nochmals zu einer geringen Erhöhung auf 83%, wobei hier eine statistisch hochsignifikante ($p < 0,01$) Differenz zum präoperativen Messwert bestand. Die BPA RV/RH betrug zu den Zeitpunkten POW8, POW10 und POW12 jeweils 86%, 93% und 99%, wobei in keinem Fall eine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Messzeitpunkt bestand. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die BPA LV/LH (Abbildung 21B) zeigte eine Reduktion auf 78% des Ausgangswertes in POW2 und 75% des Ausgangswertes in POW4, wobei diese Differenz jeweils im Vergleich zur präoperativen Messung statistisch hochsignifikant war ($p < 0,01$). Im weiteren Verlauf des Beobachtungszeitraums kam es zu einem Anstieg der BPA LV/LH auf 83% in POW6 und 84% in POW8, welche keine statistische Signifikanz im Vergleich zum präoperativen Messwert aufwies. 10 Wochen nach dem nervenchirurgischen Eingriff kam es zu einem erneuten Abfall des Parameters auf 78% mit einer statistisch hochsignifikante Differenz zum Ausgangsmessung ($p < 0,01$). Zum Zeitpunkt POW12 betrug die BPA LV/LH 83%. Es zeigte sich hier keine statistische signifikante Differenz zum präoperativen Wert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Vergleich der BPA der beiden Vorderpfoten ergab einen Wert der BPA RV/LV (Abbildung 21C) von 102% zum Zeitpunkt POW2, gefolgt von einem Anstieg auf 117% in der POW4. Sechs Wochen nach dem nervenchirurgischen Eingriff kam es zu einem Anstieg der BPA RV/LV auf 118%, bevor sie zum Zeitpunkt POW8 wieder auf 117% abfiel. Zu keinem dieser Zeitpunkte bestand eine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Messwert. Zehn Wochen postoperativ betrug die BPA RV/LV 135% des Ausgangswertes, was statistisch signifikant war ($p < 0,05$). Am Ende des Beobachtungszeitraums kam es zu einem Abfall auf 128%, die Differenz zum präoperativen Messwert war nun bei einem gleichzeitig

reduziertem SEM zu diesem Zeitpunkt statistisch hochsignifikant ($p < 0,01$). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

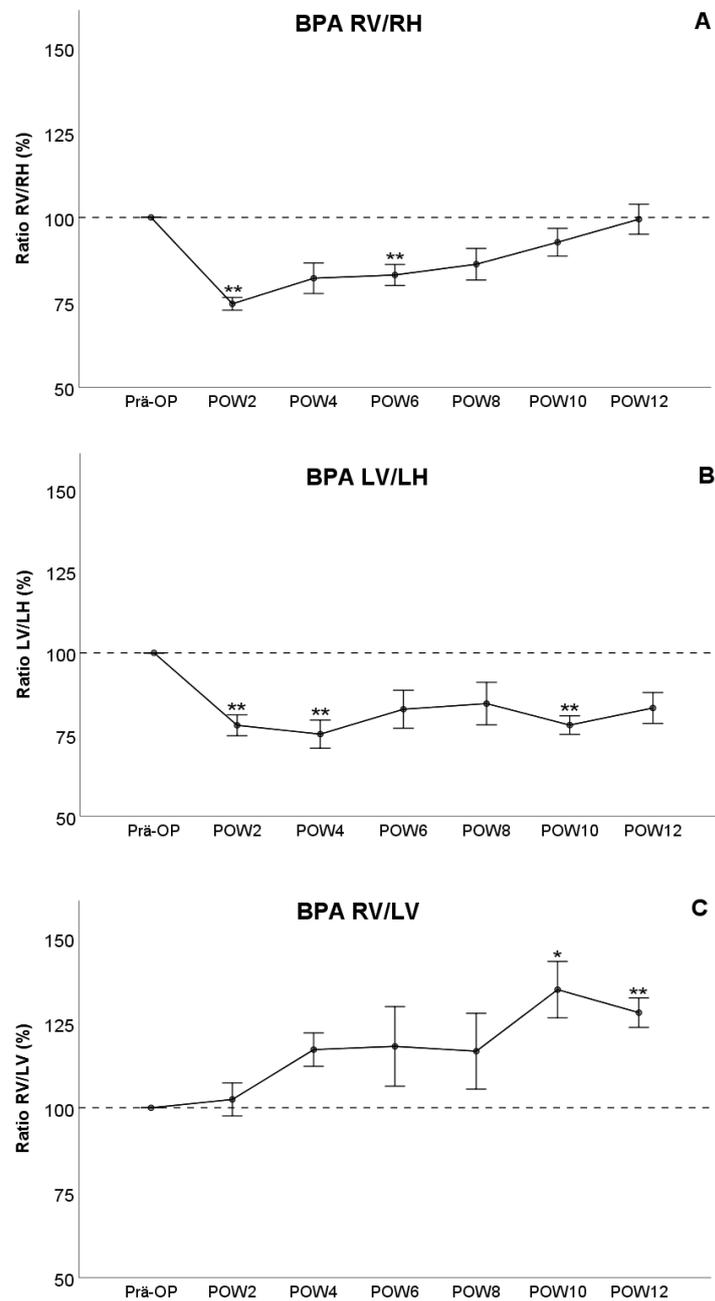


Abbildung 21 - Zeitlicher Verlauf der gemessenen Breite des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist **A**: das Verhältnis der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **BPA**: Breite des Pfotenabdrucks, **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.1.4 Schrittbreite

Die Schrittbreite VP/HP (Abbildung 22A) zeigte sich zwei Wochen postoperativ auf 99% reduziert, sank zum Zeitpunkt POW4 auf 95% ab und erreichte sechs Wochen nach der Operation einen Wert von 98%. Zum Zeitpunkt POW8 erfolgte nochmals ein Absinken auf 94%. Zu keinem der vier genannten Zeitpunkte bestand eine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Ausgangswert. Zehn Wochen postoperativ erreichte die Schrittbreite VP/HP 79% des Ausgangswertes, wobei eine hochsignifikante statistische Differenz ($p < 0,01$) zur präoperativen Messung bestand. Zum Zeitpunkt POW12 erfolgte ein Anstieg auf 87% und es bestand keine statistische Signifikanz der Differenz zum Ausgangswert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die Schrittbreite VP (Abbildung 22B) schwankte zwischen der POW2 und POW6 zwischen 90% und 94% des Ausgangswertes. Acht Wochen nach der Operation kam es zu einem Absinken auf 90%, gefolgt von einem weiteren Absinken auf 81% in der POW10. Am Ende des Beobachtungszeitraums betrug die Schrittbreite VP 88% des Ausgangswertes. Zu keinem der genannten Zeitpunkte bestand eine statistisch signifikante Differenz zur präoperativen Messung. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

In Bezug auf die Schrittbreite HP (Abbildung 22C) zeigte sich ein Abfall auf 93% des präoperativen Ausgangswertes in der zweiten postoperativen Woche, gefolgt von einem Anstieg auf 97% in der POW4. Zu den Zeitpunkten POW6 und POW8 betrug die Schrittbreite HP jeweils 97% des präoperativen Messwertes. In der POW10 und der POW12 wurden jeweils Werte von 103% erreicht. Zu keinem Zeitpunkt des Beobachtungszeitraums zeigte sich eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3.2.1.5 Schrittlänge

Die Schrittlänge (nicht dargestellt), sowohl im Sinne des Verhältnisses von RV/RH, LV/LH und RV/LV zeigte sich zu jedem Zeitpunkt des Beobachtungszeitraums unverändert bei 100% des Ausgangswertes. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

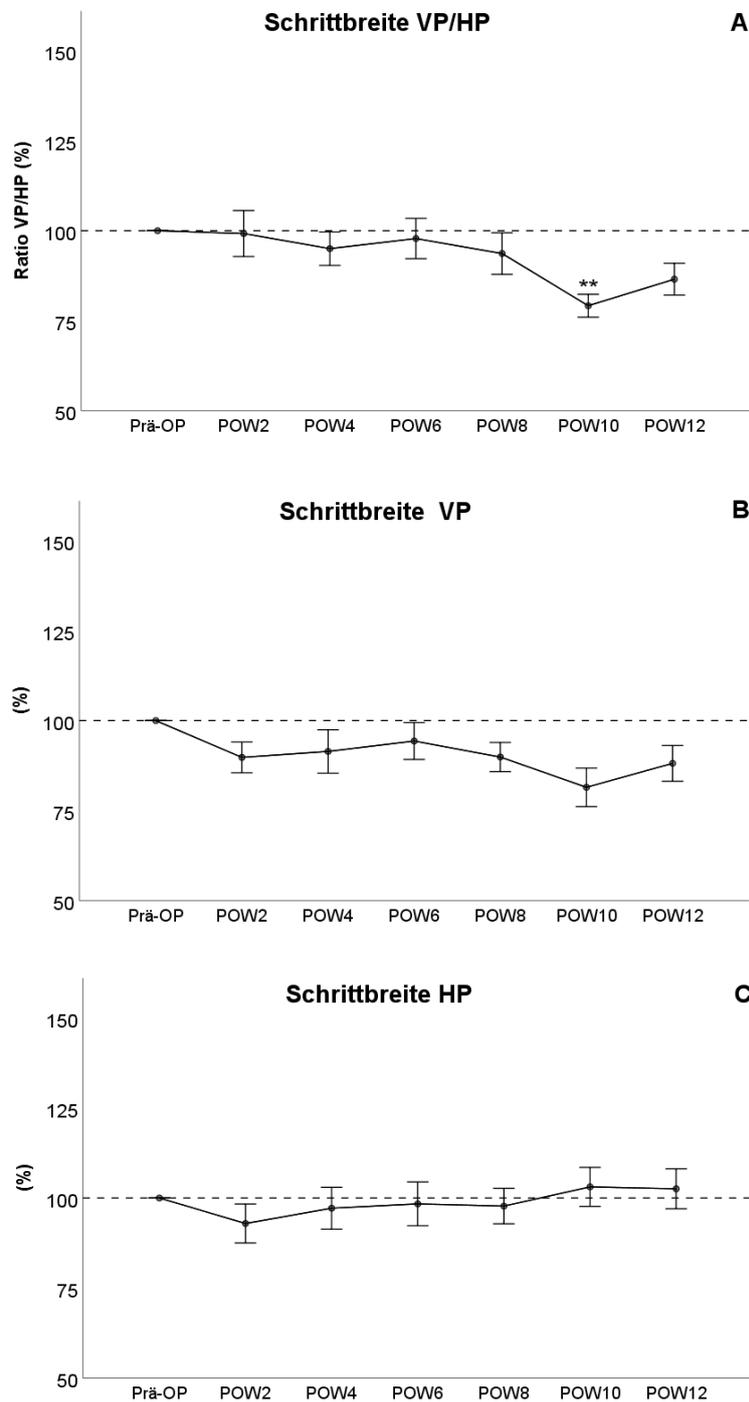


Abbildung 22 - Zeitlicher Verlauf der gemessenen Schrittbreiten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der Schrittbreite beider Vorderpfoten zur Schrittbreite beider Hinterpfoten, **B**: die Schrittbreite beider Vorderpfoten **C**: die Schrittbreite beider Hinterpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **VP**: Vorderpfoten, **HP**: Hinterpfoten, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.1.6 Schwunggeschwindigkeit

Die Schwunggeschwindigkeit RV/RH (Abbildung 23A) zeigte über den gesamten Beobachtungszeitraum keinen Abfall über 10% im Vergleich zum Ausgangswert. Die Differenz zur präoperativen Messung war zudem zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant. Zum Zeitpunkt POW2 betrug die Schwunggeschwindigkeit RV/RH 91%, bevor sie in der POW4 auf 92% anstieg. Sechs Wochen postoperativ wurde ein Wert von 96% erreicht, anschließend fiel der Parameter in der POW8 auf 92% ab. In der POW10 erreicht die Schwunggeschwindigkeit RV/RH 94% des Ausgangswertes, bevor sie am Ende des Beobachtungszeitraums zum Zeitpunkt POW12 auf 93% abfiel. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Bezüglich der Schwunggeschwindigkeit LV/LH (Abbildung 23B) kam es zum Zeitpunkt POW2 zu einem Abfall auf 94% des Ausgangswertes und in der vierten postoperativen Woche auf 91%. Dies war in beiden Fällen verglichen mit der präoperativen Messung nicht statistisch signifikant. In der POW6 kam es zu einer weiteren Reduktion auf 90%, was einer statistisch signifikanten Differenz ($p < 0,05$) zum Ausgangswert entsprach. Diese Differenz blieb auch in der POW8, in welcher die Schwunggeschwindigkeit LV/LH 89% betrug, statistisch signifikant ($p < 0,05$). Zehn Wochen postoperativ kam es zu einem weiteren Abfall des Parameters auf 87%, was nun einer statistisch hochsignifikanten Differenz entsprach ($p < 0,01$). Am Ende des Beobachtungszeitraums wurde ein Wert von 90% erreicht, was im Vergleich zum Ausgangswert statistisch signifikant ($p < 0,05$) war. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Das Verhältnis der Schwunggeschwindigkeiten beider VP (Abbildung 23C) betrug in der POW2 99% des Ausgangswertes und stieg in der POW4 auf 103% sowie in der POW6 auf 109% an. Der Parameter erreichte 105% des präoperativen Messwertes in der POW8, 108% in der POW10 und betrug 104% des Ausgangswertes am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12. Zu keinem postoperativen Messzeitpunkt bestand eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

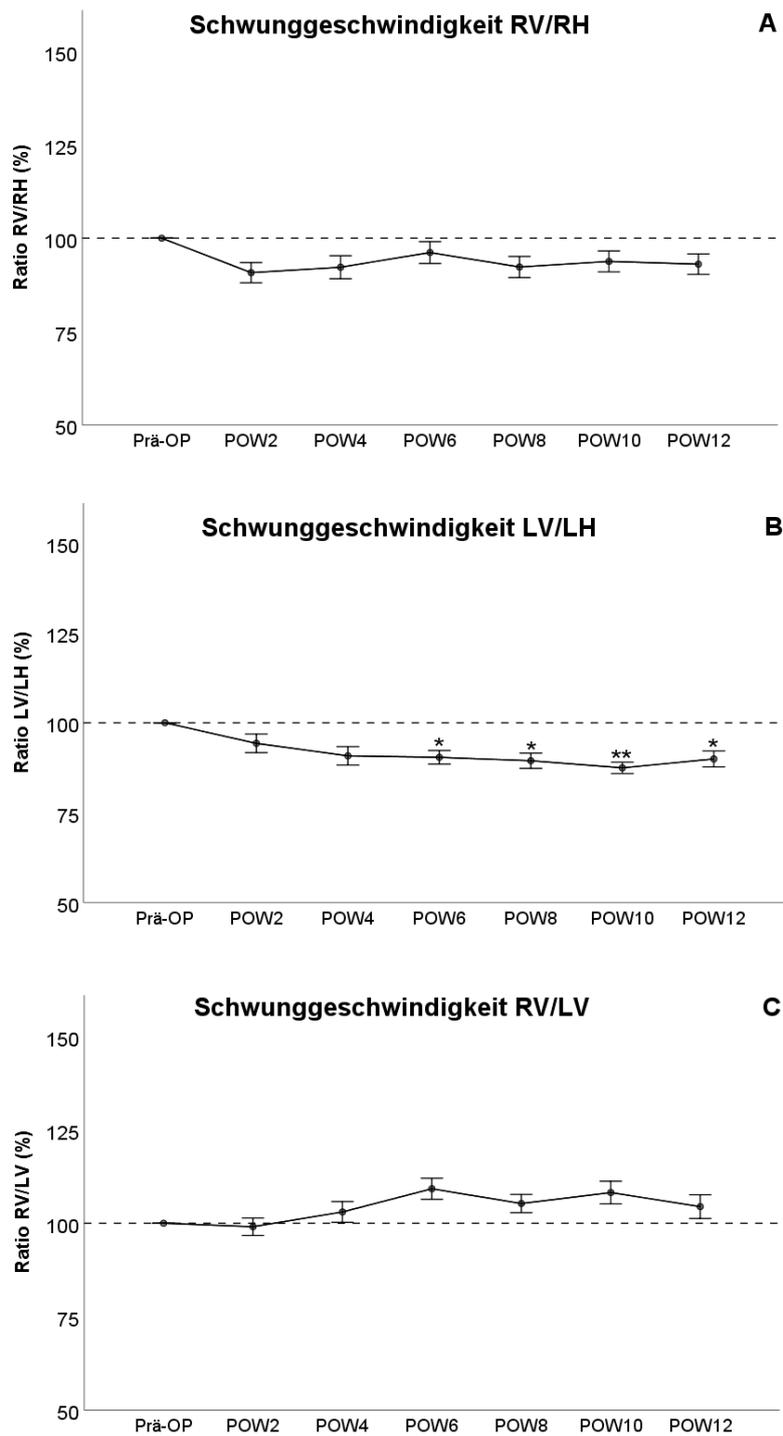


Abbildung 23 - Zeitlicher Verlauf der ermittelten Schwunggeschwindigkeit der Extremitäten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote; **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert \pm 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.2 Schmerzbezogene Parameter

3.2.2.1 Durchschnittliche Intensität des Pfotenabdrucks (IPA)

Die IPA RV/RH (Abbildung 24A) war in der POW2 auf 92% reduziert, wobei die Differenz zum präoperativen Messwert knapp keine statistische Signifikanz erreichte ($p=0,052$). In den POW4, POW6 und POW8 schwankte der Parameter zwischen 95% und 96% des Ausgangswertes. Zum Zeitpunkt POW10 ergab sich ein Wert von 97%, bevor die IPA RV/RH am Ende des Beobachtungszeitraums auf 98% anstieg. Zu keinem dieser Zeitpunkte bestand eine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Messwert. Der Vergleich der IPA der LV mit der IPA der LH (Abbildung 24B) ergab in der POW2 einen Wert von 96%, gefolgt von 97% in der POW4, 101% in der POW6 und 104 in der POW8. Zehn Wochen nach der Operation betrug der Parameter 103% des Ausgangswertes und erreichte am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 exakt 100% des präoperativen Messwertes. Auch in Bezug auf die IPA LV/LH ergab sich zu keinem Zeitpunkt eine statistisch signifikante Differenz zum vor der Operation aufgezeichneten Ausgangswert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Quotient der IPA der RV und der IPA der LV (Abbildung 24C) ergab in der POW2 einen Wert von 98%, sank in der POW4 leicht auf 97% und erreichte in der POW6 erneut 98%. Acht Wochen nach der Operation betrug die IPA RV/LV 95%, in der POW10 99%. Zum Abschluss des Beobachtungszeitraums ergab sich ein Wert von 101%. Die Differenz der IPA RV/LV zu den jeweiligen postoperativen Zeitpunkten und dem präoperativen Messwert erreichte zu keinem Messzeitpunkt statistische Signifikanz. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

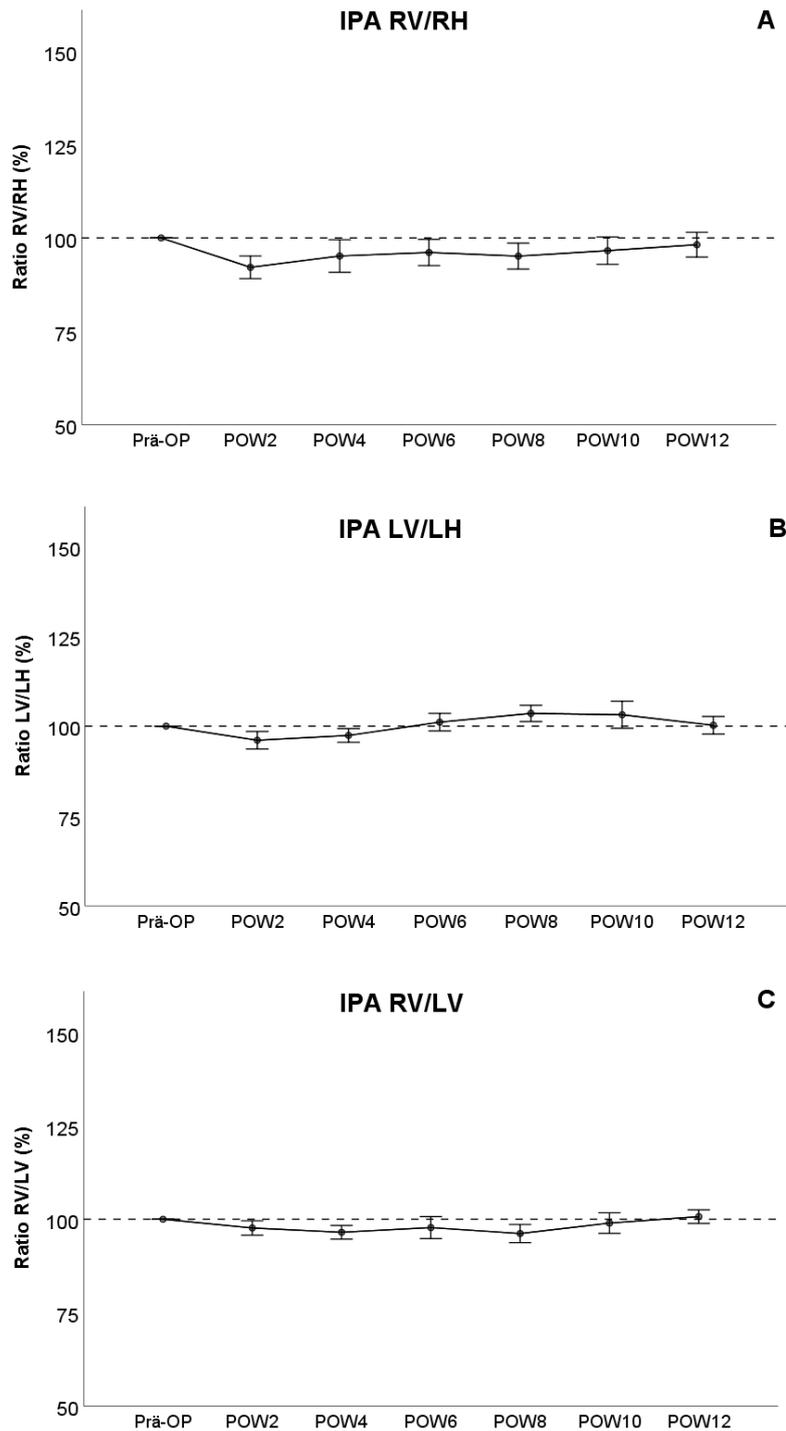


Abbildung 24 - Zeitlicher Verlauf der durchschnittlichen Intensität des Pfotenabdrucks nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **IPA**: Durchschnittliche Intensität des Pfotenabdrucks, **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.2.2 Dauer der Schwungphase (DSP)

Die DSP RV/RH (Abbildung 25A) erhöhte sich zum Zeitpunkt POW2 auf 109% des Ausgangswertes und erreichte in der POW4 108%. Sechs Wochen nach der Operation sank die DSP RV/RH auf 104% des präoperativen Messwertes ab, bevor zum Zeitpunkt POW8 erneut 108% erreicht wurden. In der POW10 betrug die DSP RV/RH 106% und stieg am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 nochmals auf 108% an. Zu keinem postoperativen Zeitpunkt bestand eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert vor der Operation. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Das Verhältnis der DSP LV zur DSP VH (Abbildung 25B) betrug zum Zeitpunkt POW2 109%, stieg zwei Wochen später auf 113% an und erreichte in der POW6 111%. In der POW8 erreichte der Parameter einen Wert von 113%, was eine statistisch signifikante Differenz ($p < 0,05$) zum Ausgangswert darstellte. Zwei Wochen später stieg die DSP LV/LH nochmals um 2% auf 115% an, was nun eine statistisch hochsignifikante Differenz ($p < 0,01$) zur präoperativen Messung bedeutete. Zum Ende des Beobachtungszeitraums wurde ein Wert von 114% erreicht, jedoch ohne dass eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert bestand. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die DSP RV/LV (Abbildung 25C) blieb in der POW2 konstant bei 100% des präoperativen Wertes, sank in der POW4 um 4% auf 96% ab und war in sechs Wochen nach der Operation um nochmals 4% auf 92% reduziert. Zum Zeitpunkt POW8 erreichte der Parameter 94%, fiel in der POW10 nochmals auf 92% ab und stieg am Ende des Beobachtungszeitraums in POW12 auf 96% an. Es bestanden zu keinem postoperativen Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich zur präoperativen Messung. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

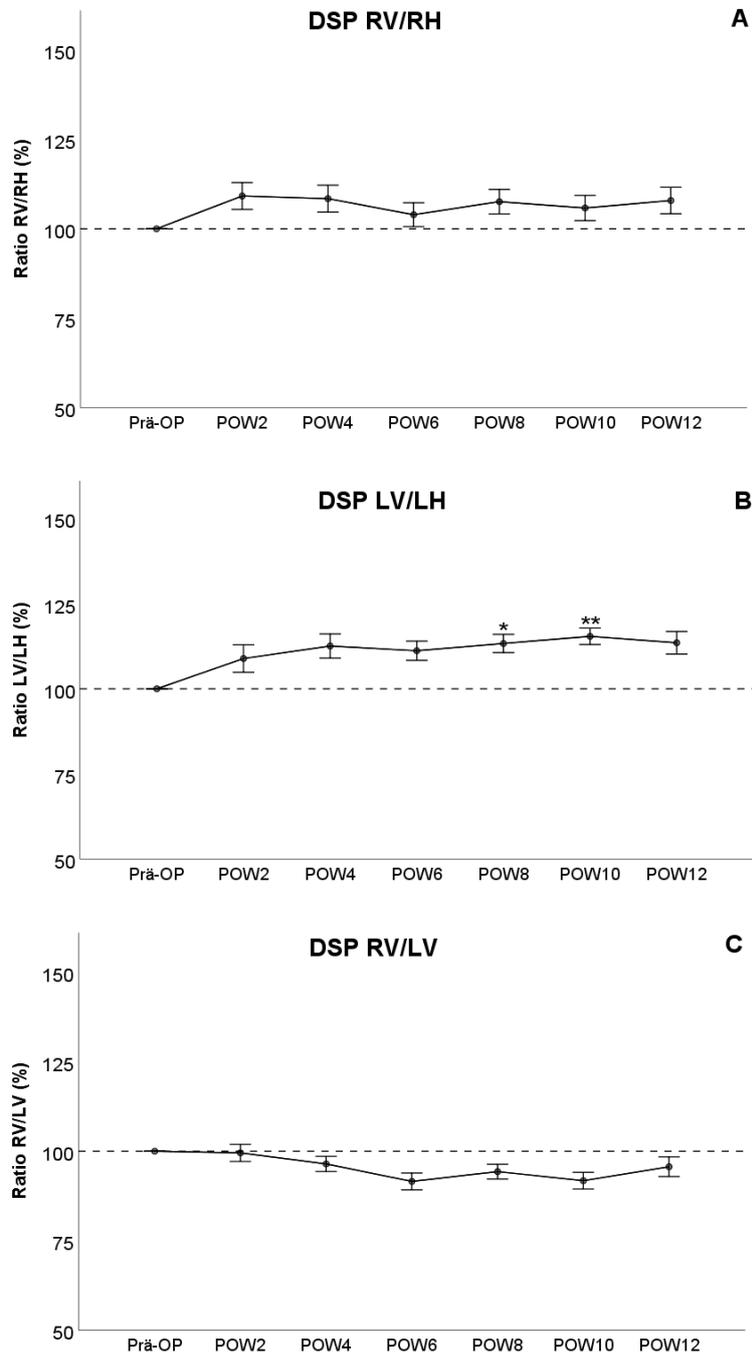


Abbildung 25 - Zeitlicher Verlauf der ermittelten Dauer der Schwungphase nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **DSP**: Dauer der Schwungphase, **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.2.3 Belastungsdauer

Die Belastungsdauer RV/RH (Abbildung 26A) wich zu keinem postoperativen Zeitpunkt statistisch signifikant vom präoperativen Messwert ab. Der Parameter zeigte sich in der POW2 auf 95% reduziert, erreichte in der POW4 96% und stieg in der POW6 auf 98% an. In der achten Woche nach der Operation fiel die Belastungsdauer RV/RH auf 97% ab, bevor sie in der POW10 wieder auf 98% anstieg. Am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 ergab sich ein Wert von 97%. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Quotient der Belastungsdauern der LV und der LH (Abbildung 26B) fiel in der POW2 um 5% des präoperativen Messwertes ab, diese Differenz war jedoch nicht statistisch signifikant. In der POW4 erreichte die Belastungsdauer LF/LV 91%, hierbei bestand eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert ($p < 0,05$). Sechs Wochen nach der Operation betrug die Belastungsdauer LF/LV 92% und erreichte zu den folgenden beiden Messzeitpunkten in der POW6 und der POW8 jeweils 90% des präoperativen Messwertes. Zu allen drei Zeitpunkten war der Unterschied zum Ausgangswertes statistisch hochsignifikant ($p < 0,01$). Am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 wurde einen Wert von 92% erreicht, die Differenz zum präoperativen Messwert war statistisch signifikant ($p < 0,05$). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die Belastungsdauer RV/LV (Abbildung 26C) erreichte in der POW 102% und in der POW4 105% des Ausgangswertes, ohne dass eine statistisch signifikante Differenz zu diesem bestand. Sechs Wochen nach der Operation wurde ein Wert von 107% erreicht, hier bestand nun ein statistisch signifikanter Unterschied zum präoperativen Ausgangswert ($p < 0,05$). Zwei Wochen später fiel die Belastungsdauer RV/LV auf 106% ab, die Differenz zum Messwert vor der Operation erreichte nun hohe statistische Signifikanz ($p < 0,01$). Es erfolgte ein Anstieg auf 108% in der POW10, wobei der Unterschied zum Ausgangswert statistisch signifikant war ($p < 0,05$). Am Ende des Beobachtungszeitraums bestand keine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Messwert mehr, die Belastungsdauer RV/LV betrug nun 104%. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

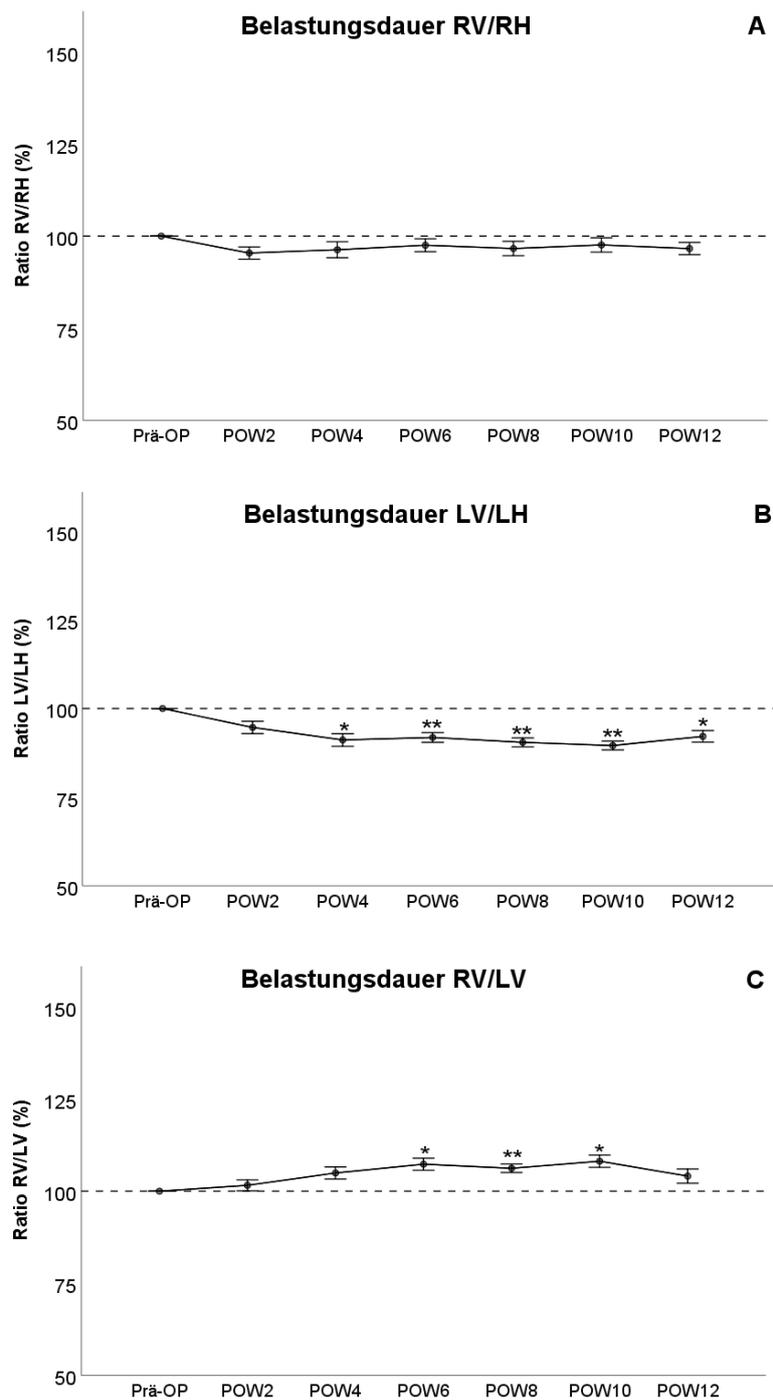


Abbildung 26 - Zeitlicher Verlauf der gemessenen Belastungsdauer der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist das Verhältnis **A**: der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.3 Entlastungsindex

Der Entlastungsindex RV/RH (Abbildung 27A) stieg in der POW2 auf 163% an, wobei dies im Vergleich zum Ausgangswert statistisch signifikant war ($p < 0,05$). Der Parameter fiel in der POW4 auf 145% ab, bevor es in der POW6 zu einem Anstieg auf 146% kam. Weder in der POW4 noch in der POW6 bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zum präoperativen Messwert. Acht Wochen nach der bilateralen Resektion und unilateralen Rekonstruktion des Nervus medianus kam es zu einem erneuten Anstieg des Entlastungsindex RV/RH auf 152%. Die Differenz zum Ausgangswert vor der Operation war zu diesem Zeitpunkt statistisch signifikant ($p < 0,01$). In der POW10 und der POW12 fiel der Parameter auf 135%, bzw. 139% ab, es bestanden jeweils keine statistisch signifikanten Differenzen zum präoperativen Messwert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Vergleich der Entlastungsindizes der LV und der LH (Abbildung 27B) ergab in der POW2 einen Wert von 168%, was im Vergleich zur vorherigen präoperativen Messung statistisch signifikant war ($p < 0,05$). In der folgenden Woche fiel der Parameter auf 147% ab, in der POW6 erfolgte ein weiteres Absinken auf 145%. In der POW8 und der POW10 erfolgte jeweils ein Anstieg auf 149%, beziehungsweise 158%. Zu keinem dieser Zeitpunkte bestand eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert. Am letzten Messzeitpunkt des Beobachtungszeitraums, der POW12, erreichte die Belastungsdauer LV/LH 184% des präoperativen Messwertes. Die Differenz der beiden Messwerte war knapp nicht statistisch signifikant ($p = 0,053$). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Das Verhältnis des Entlastungsindex RV zum Entlastungsindex LV (Abbildung 27C) betrug in der POW2 101% und erreichte in der POW4 104% des Ausgangswertes. Sechs Wochen nach der Operation sank der Parameter auf 95% ab bevor in der POW8 98% erreicht wurden. In der POW10 betrug der Entlastungsindex RV/LV 93%, in der POW12 91%. Zu keinem der postoperativen Messzeitpunkte ergab sich eine statistisch signifikante Differenz zum präoperativen Ausgangswert. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

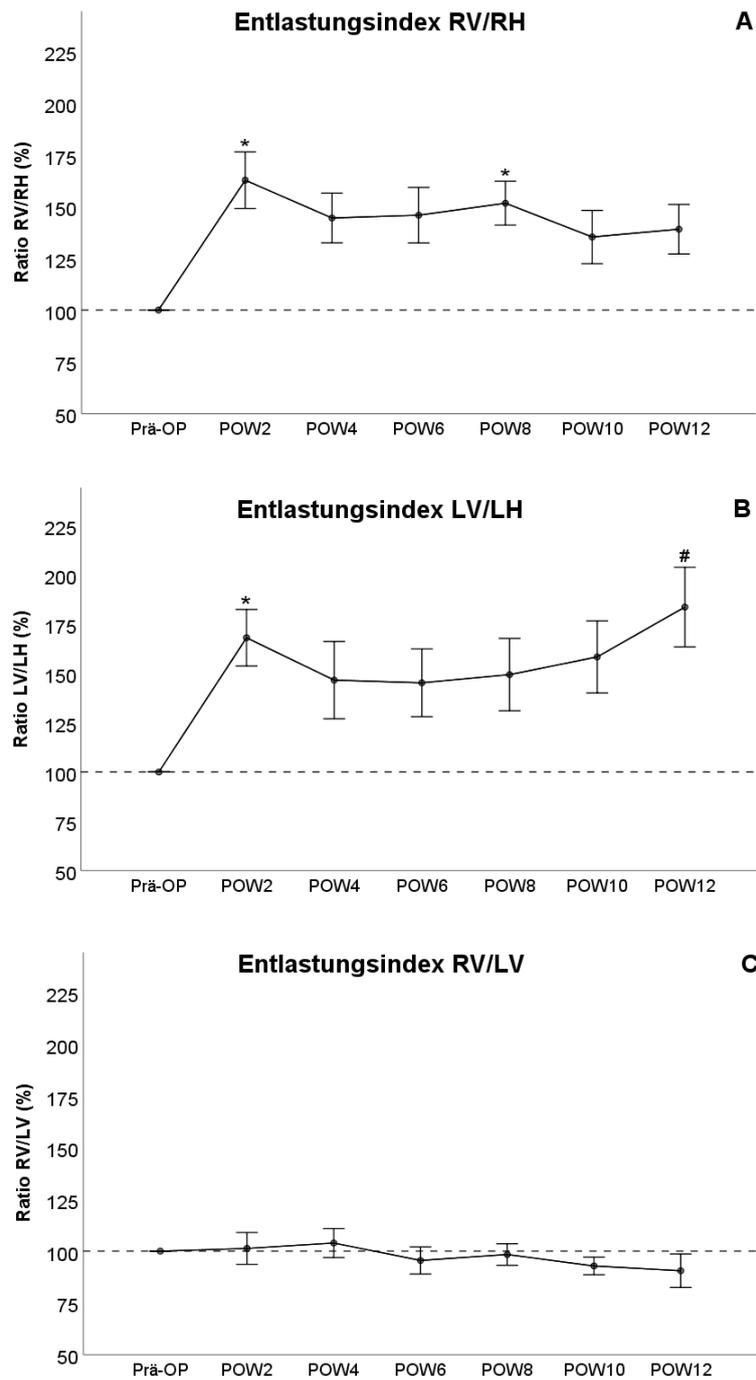


Abbildung 27 - Zeitlicher Verlauf des Entlastungsindex der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Jeweils dargestellt in Prozent ist **A**: das Verhältnis der rechten Vorderpfote zur rechten Hinterpfote, **B**: der linken Vorderpfote zur linken Hinterpfote und **C**: das Verhältnis beider Vorderpfoten. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **RH**: Rechte Hinterpfote, **LH**: Linke Hinterpfote, **POW**: Postoperative Woche. #: $p < 0,06$ im Vergleich zu Prä-OP, *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.2.4 Koordinationsbezogene Parameter

Die sechs Schrittfolgenmuster zeigten nur geringfügige Alterationen während des Beobachtungszeitraums (Abbildung 28). Die beiden Rotations-Muster Ra und Rb wurden weder prä- noch postoperativ verwendet. Präoperativ verwendeten die untersuchten Tiere in 99% der Fälle das Muster Ab, sowie das Muster Kb in 1% der Fälle. In der POW2 wurde das Muster Ab in 96% der Fälle verwendet, der Anteil des Musters Kb betrug weiterhin 1%. Das präoperativ nicht verwendete Muster Ka wurde in der POW in 3% der Fälle von den Tieren verwendet. Vier Wochen nach der Operation wurde das Muster Ab in 95% der Fälle genutzt, die jeweilige Nutzungsrate der Muster Ka und Kb blieb im Vergleich zur POW2 unverändert. In der POW6 blieb die Nutzung des Muster Ab bei 95%, der Anteil des Musters Kb stieg auf 3%, der des Musters Ka sank auf 1%. Acht Wochen postoperativ erhöhte sich die Nutzung des Musters Ab auf 98%, die beiden kreuzförmigen Muster wurden je in 1% der Fälle verwendet. In der POW10 und der POW12 wurden das Muster Kb nicht mehr verwendet, das Muster Ka in 1% (POW10), bzw. 2% (POW12). Zur Nutzung des Musters Ab kam es in der POW10 in 99% der Fälle, in der POW12 in 2%. Zu keinem der erwähnten postoperativen Zeitpunkte bestanden statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Verwendung der Schrittfolgen-Muster. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

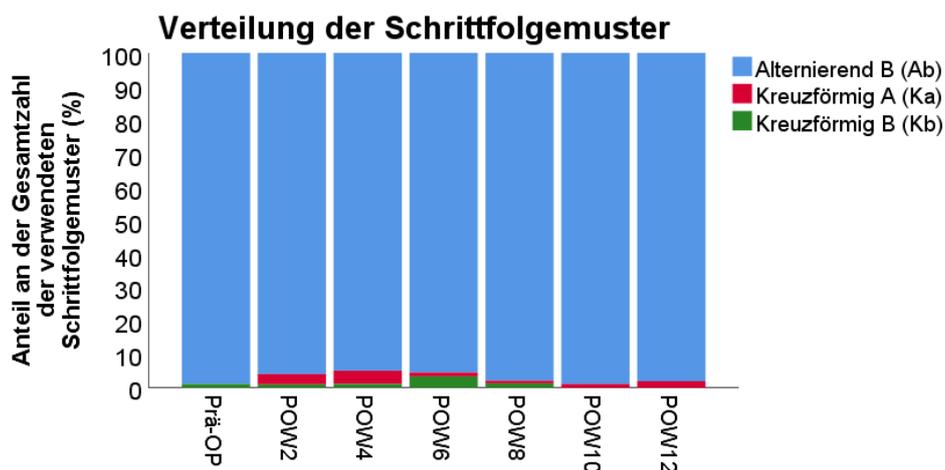


Abbildung 28 –Nutzung der Schrittfolgenmuster vor und nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Rekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Dargestellt in Prozent ist der Anteil des jeweiligen Schrittfolgenmusters an allen genutzten Schrittfolgenmustern. **POW:** Postoperative Woche. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

Hinsichtlich des Regularitätsindex (RI) (keine Abbildung) ergaben sich keine relevanten Veränderungen im Verlauf zwischen der präoperativen Messung und der POW12. Der Parameter schwankte während des zwölfwöchigen Beobachtungszeitraums zwischen 99.6% und 100%. Auch die sechs Kopplungen (keine Abbildung) zeigten keine relevanten Veränderungen zwischen dem Messzeitpunkt vor der Operation und der POW12. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3.2.5 Ulnarabduktion der Pfoten

Die Bestimmung der Ulnarabduktion der Pfote ergab deutliche Unterschiede beim Vergleich der Werte der RV (Abbildung 29A) und der LV (Abbildung 29B). Die Ulnarabduktion der rechten Vorderpfote betrug zum präoperativen Messzeitpunkt ca. 5°, die der linken Vorderpfote ca. 8°. Zwei Wochen postoperativ stieg dieser Winkel rechts auf 14°, links auf 16° an. Dieser Anstieg war in beiden Fällen statistisch signifikant ($p < 0,05$). Deutliche Unterschiede bezüglich des weiteren Verlaufes zeigten sich ab der POW6. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die Ulnarabduktion der RV erreichte vier Wochen postoperativ 15°, was verglichen mit dem präoperativen Messwert statistisch hochsignifikant war ($p < 0,01$). In der POW6 betrug die Ulnarabduktion 14°, bevor sie an den folgenden beiden Messzeitpunkten auf jeweils 12° absank. Sowohl in der POW6, der POW8 als auch der POW10 bestand eine statistisch signifikante Differenz zum Ausgangswert ($p < 0,05$). Am Ende des Beobachtungszeitraums bestand kein signifikanter Unterschied zum präoperativen Messwert mehr, die Ulnarabduktion betrug nun 11°. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die linke Vorderpfote zeigte sich in der POW4 um 22° nach außen rotiert, auch hier bestand, analog zur rechten Vorderpfote, ein statistisch hochsignifikanter Unterschied im Vergleich zur präoperativen Messung ($p < 0,01$). Die Differenz zur präoperativen Messung blieb bis zum Abschluss des Beobachtungszeitraums statistisch hochsignifikant ($p < 0,01$). Zum Messzeitpunkt in der POW6 erfolgte ein Anstieg auf 23°, gefolgt von 24° in der POW8. Zehn Wochen nach der Operation erreichte die Ulnarabduktion der Pfote 23°, bevor sie in der POW12 wieder leicht auf 22° abfiel. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

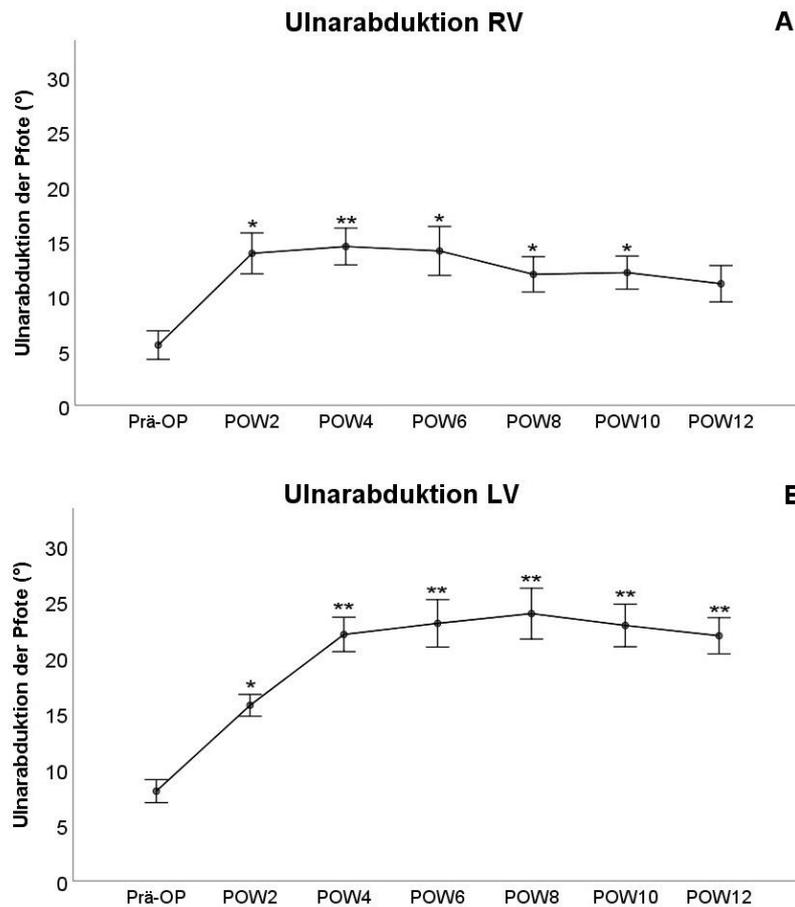


Abbildung 29 – Zeitlicher Verlauf der gemessenen Ulnarabduktion der Pfoten nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. **A**: Ulnarabduktion der rechten Pfote **B**: Ulnarabduktion der linken Vorderpfote. Die Messwerte sind jeweils als Mittelwert ± 1 Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. **RV**: Rechte Vorderpfote, **LV**: Linke Vorderpfote, **POW**: Postoperative Woche. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.3 Griffkraft-Test

3.3.1 Motivation und Partizipation der Tiere

Der zeitliche Verlauf der Greiffähigkeit der Tiere, bewertet anhand der von Stöbel et al. beschriebenen Bewertungsskala (Stöbel et al., 2017), ist in Abbildung 30 dargestellt. Sämtliche Tiere ($n=10$), die von uns zweiwöchentlich mittels des Griffkraft-Tests evaluiert wurden, hatten spätestens in der POW6 die Fähigkeit wiedererlangt, die distalen Phalangen der Zehen der RV zu beugen. Diese Fähigkeit entspricht einer Bewertung von 2/3 auf der von Stöbel definierten Skala. Die frühestens Zeichen einer beginnenden Reinnervation der

Zehenflexoren, ausgedrückt durch die Fähigkeit die Querstrebe des Messgerätes mit den Zehen zu umfassen, zeigte sich bei einem Tier bereits in der POW4. Acht Wochen nach der Operation war es allen Tieren möglich die Querstrebe des Messgerätes mit den Zehen zu umschließen und mit messbarer Zugkraft in vertikaler Auslenkung zu ziehen. Dies entspricht einer Bewertung von 3/3 auf der Skala nach Stöbel. Unabhängig von dieser zu beobachtenden Regeneration der motorischen Funktion, zeigte sich bei mehreren Tieren jedoch eine abnehmende Motivation bei der Partizipation im Testablauf. So kam es beispielsweise vor, dass ein Tier in der POW7 in der Lage war die Querstrebe des Messgerätes kraftvoll zu ziehen (3/3), jedoch in der POW8 nur mehr eine Fingerflexion ohne messbare Kraftentwicklung (2/3) zeigte. Insgesamt kam es bei 40% der Tiere zu einer solchen, motivationsbedingt abgeschwächten Leistung im Griffkraft-Test, was dazu führte, dass wir für die statistische Auswertung der Griffkraft nur sechs der ursprünglich zehn Tiere einschließen konnten. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

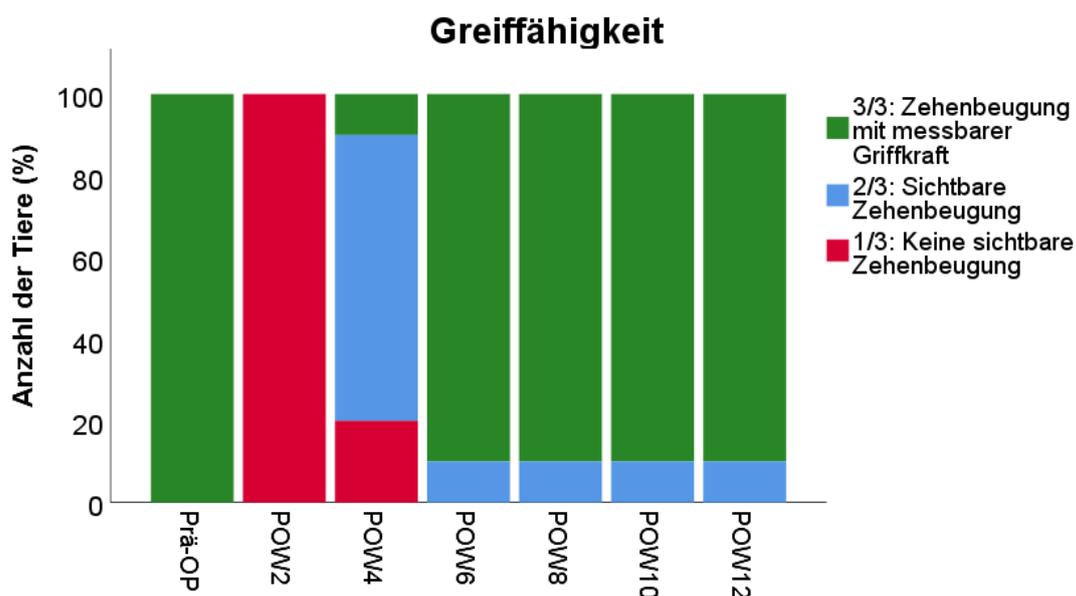


Abbildung 30 – Bewertungsskala der Greiffähigkeit vor und nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. Die Skala entspricht dem von Stöbel et al. entwickelten Bewertungsschema. **POW**: Postoperative Woche. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.3.2 Griffkraft der Tiere

Bis zur POW2 betrug die durchschnittliche Griffkraft der Tiere (Abbildung 31A) 0% des präoperativen Wertes, da noch kein Tier in der Lage war die Zehen der rechten vorderen Extremität zu beugen. In der POW4 wurde eine durchschnittliche Griffkraft von 3% des Ausgangswertes erreicht, was eine statistisch hochsignifikante ($p < 0,01$) Differenz zum präoperativen Messwert darstellte. Sechs Wochen nach der Operation wurde ein Wert von 35% erreicht, was nun keiner statistisch signifikanten Differenz zum Ausgangswert mehr entsprach. Es erfolgte ein weiterer Anstieg auf 60% in der POW8, auch hier lag kein statistisch signifikanter Unterschied zum präoperativen Messwert vor. In der POW10 kam es jedoch zu einer erneuten Reduktion der durchschnittlichen Griffkraft auf 38%, was im Vergleich zum Ausgangswert vor der Operation statistische Signifikanz ($p < 0,05$) erreichte. Eine solche Signifikanz war am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 nicht mehr nachweisbar, hier betrug die durchschnittliche Griffkraft 64% des Ausgangswertes. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die maximale Griffkraft der Tiere (Abbildung 31B) zeigte im Beobachtungszeitraum einen ähnlichen Verlauf. Während in der POW2 0% und in der POW4 3% des Ausgangswertes erreicht wurden, was in beiden Fällen einer statistisch hochsignifikanten ($p < 0,01$) Differenz zum präoperativen Messwert entsprach, kam es in der POW6 zu einem Anstieg auf 55%. Hier war nun kein statistisch signifikanter Unterschied zum Ausgangswert mehr nachweisbar, das gleiche galt für die POW8, in welcher der Parameter auf 67% anstieg. Analog zur Entwicklung der durchschnittlichen Griffkraft kam es in der POW10 zu einem Abfall auf 39%, die Differenz zum präoperativen Messwert war hier statistisch hochsignifikant ($p < 0,01$). Diese Differenz war in der POW12 nicht mehr statistisch signifikant, es wurden 86% des Ausgangswertes erreicht. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

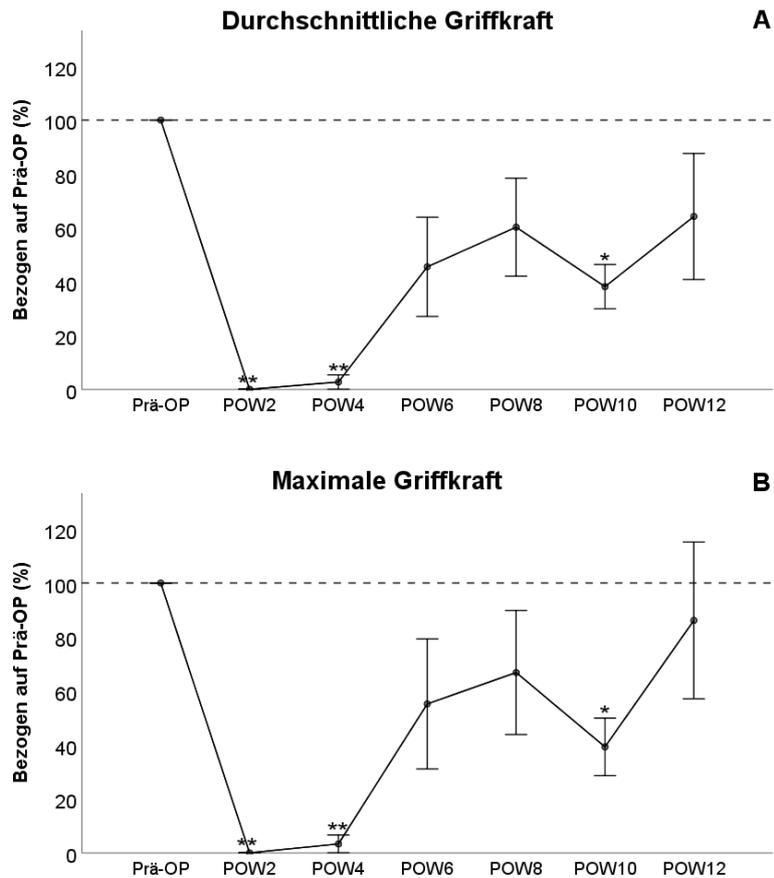


Abbildung 31 – Entwicklung der durchschnittlichen (**A**) und maximalen Griffkraft (**B**) nach bilateraler Resektion des Nervus medianus und unilateraler Nervenrekonstruktion in 10 männlichen Lewis-Ratten. **POW**: Postoperative Woche, *: $p < 0,05$ im Vergleich zu Prä-OP, **: $p < 0,01$ im Vergleich zu Prä-OP. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.4 Elektrophysiologische Messungen

Die elektrophysiologischen Messungen am Ende des Beobachtungszeitraums ($n=9$), bei denen sowohl die Amplitude als auch die Latenz des MSAP des Musculus flexor digitorum superficialis evaluiert wurden, zeigten eine durchschnittliche Amplitude von 10mV (SEM=0,21) und eine Latenz von 1.5ms (SEM=0.44). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3.5 Gewicht des Musculus flexor digitorum superficialis rechts und links

Der Anteil der Masse des Musculus flexor digitorum superficialis am Körpergewicht der Tiere betrug auf der rechten Seite 0,0206% ($\pm 0,0005\%$), auf der linken Seite 0,0080% ($\pm 0,0003\%$). Diese Differenz war statistisch hochsignifikant ($p < 0,01$). Der Quotient der beiden zum Körpergewicht normierten Muskelgewichte betrug 259,68% ($\pm 29,60\%$).

3.6 Intraoperativer Situs zum Zeitpunkt der Euthanasie der Tiere

Der intraoperative Situs, jeweils der rechten und linken Seite im Vergleich, ist in (Abbildung 32) dargestellt. Zum Zeitpunkt der Euthanasie der Versuchstiere nach 12 Wochen zeigte sich rechtsseitig (Abbildung 32A) ein vollständig regenerierter Nerv, links (Abbildung 32B) hingegen war es zu keiner Regeneration von Axonen vom proximalen Stumpf zum distalen Stumpf des Nervus medianus gekommen. Es zeigte sich lediglich eine dünne bindegewebige Struktur, die vom proximalen Stumpf des Nervus medianus links in Richtung des distalen Stumpfs ausgesprosst zu sein schien. Zusätzlich zeigten sich deutliche Hinweise für die Bildung eines Stumpfneuroms (markiert durch ★ in Abbildung 32B), der proximale Stumpf des Nervus medianus war zudem deutlich verdickt. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

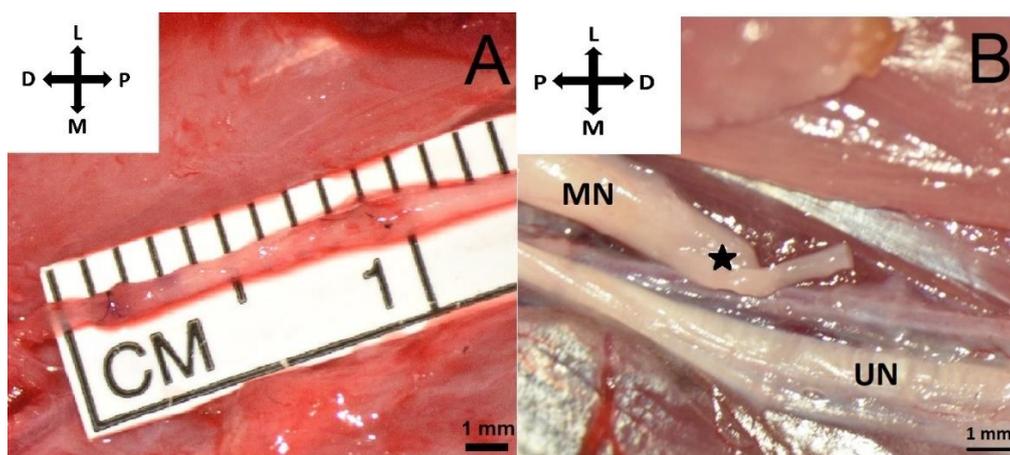


Abbildung 32 – Intraoperativer Situs zum Zeitpunkt der Euthanasie der Versuchstiere nach 12 Wochen. Dargestellt ist jeweils die Situation auf der rechten (A) und linken Seite (B). D: distal, L: lateral, M: medial, P: proximal, MN: Nervus medianus, UN: Nervus ulnaris, ★: proximaler Stumpf des Nervus medianus mit Anzeichen für die Bildung eines Stumpfneuroms. Teil B der Abbildung adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021).

3.7 Lineare Regressionsanalyse

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse der CW-Parameter, der Griffkraft sowie der elektrophysiologischen Messungen sind in Tabelle 2 dargestellt. Es zeigte sich eine statistisch signifikante ($p=0,045$) Korrelation ($R^2=0,459$) zwischen der Latenz des MSAPs und der Schrittbreite VP/HP. Zusätzlich bestand eine statistisch signifikante ($p=0,020$) Korrelation ($R^2=0,563$) zwischen der Amplitude des MSAPs und des Entlastungsindex RV/LV. Nahezu statistisch signifikante Korrelationen bestanden zwischen der Latenz des MSAPs und der FPA RV/LV ($p=0,059$, $R^2=0,420$), der Amplitude des MSAPs und der Schrittbreite VP ($p=0,054$, $R^2=0,549$), sowie der Latenz des MSAPs und der Schrittbreite HP ($p=0,054$, $R^2=0,434$). Die elektrophysiologischen Parameter und die Griffkraft ($n=6$) zeigten keine signifikanten Korrelationen. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

3.8 Korrelation der CatWalk Parameter und Griffkraft

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse der CW Parameter und Griffkraft sind in Tabelle 3 dargestellt. Es zeigte sich eine statistisch hochsignifikante ($p<0,01$) Korrelation der FPA RV/RH mit sowohl der durchschnittlichen ($r=0,572$) als auch der maximalen Griffkraft ($r=0,563$). Des Weiteren zeigte sich eine statistisch hochsignifikante ($p<0,01$) Korrelation der durchschnittlichen ($r=0,531$) und maximalen Griffkraft ($r=0,495$) mit der LPA RV/RH. Die maximale Griffkraft korrelierte zudem statistisch signifikant mit der BPA RV/RH ($r=0,314$). Eine jeweils statistisch hochsignifikante ($p<0,01$) Korrelation zeigte sich auch zwischen der durchschnittlichen ($r=0,426$) und maximalen Griffkraft ($r=0,408$) und der Schrittbreite HP. Die Belastungsdauer RV/RH korrelierte statistisch signifikant ($p<0,05$) mit der durchschnittlichen Griffkraft ($p=0,376$) eine hochsignifikante ($p<0,01$) Korrelation bestand zudem mit der maximalen Griffkraft ($p=0,396$). In Bezug auf die DSP RVRH zeigte sich eine statistisch signifikante ($p<0,05$) negative Korrelation mit der durchschnittlichen ($r=-0,362$) und maximalen Griffkraft ($r=-0,355$). Außerdem bestand eine statistisch signifikante ($p<0,05$) negative Korrelation zwischen der Ulnarabduktion der RV und der durchschnittlichen ($r=-0,391$) sowie der maximalen Griffkraft ($r=-0,310$). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Tabelle 2 – Untersuchung der Beziehung zwischen den CatWalk Parametern, der gemessenen Griffkraft der Tiere, sowie den Ergebnissen der elektrophysiologischen Evaluationen mittels linearer Regressionsanalyse. Signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) sind in Fettdruck gekennzeichnet. Nahezu signifikante Korrelationen ($0,05 > p > 0,06$) sind grau unterlegt. **R²**: Korrelationskoeffizient. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021)

CatWalk Parameter	Amplitude des MSAPs	Latenz des MSAPs
FPA RV/RH	$p=0,283$ ($R^2=0,162$)	$p=0,877$ ($R^2=0,004$)
FPA RV/LV	$p=0,425$ ($R^2=0,093$)	$p=0,059$ ($R^2=0,420$)
LPA RV/RH	$p=0,691$ ($R^2=0,024$)	$p=0,640$ ($R^2=0,033$)
LPA RV/LV	$p=0,903$ ($R^2=0,002$)	$p=0,102$ ($R^2=0,336$)
BPA RV/RH	$p=0,604$ ($R^2=0,041$)	$p=0,137$ ($R^2=0,287$)
BPA RV/LV	$p=0,119$ ($R^2=0,310$)	$p=0,517$ ($R^2=0,062$)
Schrittbreite VP	$p=0,054$ ($R^2=0,549$)	$p=0,950$ ($R^2=0,001$)
Schrittbreite HP	$p=0,220$ ($R^2=0,206$)	$p=0,054$ ($R^2=0,434$)
Schrittbreite VP/HP	$p=0,669$ ($R^2=0,028$)	$p=0,045$ ($R^2=0,459$)
Schwunggeschwindigkeit RV/RH	$p=0,575$ ($R^2=0,047$)	$p=0,860$ ($R^2=0,005$)
Schwunggeschwindigkeit RV/LV	$p=0,791$ ($R^2=0,001$)	$p=0,544$ ($R^2=0,055$)
IPA RV/RH	$p=0,921$ ($R^2=0,001$)	$p=0,454$ ($R^2=0,083$)
IPA RV/LV	$p=0,995$ ($R^2 < 0,001$)	$p=0,973$ ($R^2 < 0,001$)
Belastungsdauer RV/RH	$p=0,744$ ($R^2=0,016$)	$p=0,678$ ($R^2=0,026$)
Belastungsdauer RV/LV	$p=0,933$ ($R^2=0,001$)	$p=0,329$ ($R^2=0,136$)
DSP RV/RH	$p=0,471$ ($R^2=0,077$)	$p=0,924$ ($R^2=0,001$)
DSP RV/LV	$p=0,895$ ($R^2=0,003$)	$p=0,342$ ($R^2=0,129$)
Entlastungsindex RV/RH	$p=0,183$ ($R^2=0,237$)	$p=0,107$ ($R^2=0,328$)
Entlastungsindex RV/LV	$p=0,020$ ($R^2=0,563$)	$p=0,993$ ($R^2 < 0,001$)
Ulnarabduktion RV	$p=0,438$ ($R^2=0,088$)	$p=0,849$ ($R^2=0,006$)
Durchschnittliche Griffkraft	$p=0,694$ ($R^2=0,059$)	$p=0,530$ ($R^2=0,143$)
Maximale Griffkraft	$p=0,782$ ($R^2=0,030$)	$p=0,581$ ($R^2=0,151$)

Tabelle 3 – Korrelationsanalyse der erhobenen CatWalk Parameter and Griffkraftmessungen. Es wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson über 42 individuelle Datenpunkte ermittelt. **r**: Korrelationskoeffizient nach Pearson. Signifikante Korrelationen (<0,05) sind in Fettdruck gekennzeichnet. Adaptiert übernommen aus (Heinzel et al., 2021)

CatWalk Parameter	Durchschnittliche Griffkraft	Maximale Griffkraft
FPA RV/RH	p=0,001 (r=0,572)	p=0,001 (r=0,563)
FPA RV/LV	p=0,145 (r=-0,229)	p=0,311 (r=-0,160)
LPA RV/RH	p=0,001 (r=0,531)	p=0,001 (r=0,495)
LPA RV/LV	p=0,895 (r=0,021)	p=0,727 (r=0,056)
BPA RV/RH	p=0,060 (r=0,293)	p=0,043 (r=0,314)
BPA RV/LV	p=0,170 (r=-0,216)	p=0,339 (r=-0,151)
Schrittbreite VP	p=0,173 (r=-0,214)	p=0,140 (r=-0,232)
Schrittbreite HP	p=0,005 (r=- 0,426)	p=0,007 (r=-0,408)
Schrittbreite VP/HP	p=0,294 (r=0,166)	p=0,363 (r=0,144)
Schwunggeschwindigkeit RV/RH	p=0,002 (r=0,458)	p=0,002 (r=0,458)
Schwunggeschwindigkeit RV/LV	p=0,899 (r=0,020)	p=0,771 (r=0,046)
IPA RV/RH	p=0,410 (r=0,131)	p=0,384 (r=0,138)
IPA RV/LV	p=0,305 (r=- 0,162)	p=0,219 (r=-0,194)
Belastungsdauer RV/RH	p=0,014 (r=0,376)	p=0,001 (r=0,396)
Belastungsdauer RV/LV	p=0,214 (r=-0,196)	p=0,318 (r=-0,158)
DSP RV/RH	p=0,018 (r=-0,362)	p=0,021 (r=-0,355)
DSP RV/LV	p=0,544 (r=0,096)	p=0,691 (r=0,063)
Entlastungsindex RV/RH	p=0,071 (r=-0,282)	p=0,129 (r=-0,238)
Entlastungsindex RV/LV	p=0,184 (r=0,209)	p=0,173 (r=0,214)
Ulnarabduktion RV	p=0,010 (r=- 0,391)	p=0,046 (r=-0,310)

4 Diskussion

Anhand der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die CW Ganganalyse zur Evaluation der funktionellen Regeneration nach bilateraler Resektion und unilateraler Rekonstruktion des murinen Nervus medianus eingesetzt. Ebenso wurde erstmalig eine Korrelationsanalyse der CW-Daten und den Ergebnissen anderer, in diesem Modell häufig verwendeter Auswertungsmethoden, wie beispielsweise dem Griffkraft-Test oder elektrophysiologischen Untersuchungen, durchgeführt. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.1 CatWalk Ganganalyse

4.1.1 Allgemeine Parameter

In Bezug auf die allgemeinen Parameter konnten eindeutige Veränderungen im Vergleich des präoperativen mit den postoperativen Zeitpunkten gezeigt werden. Sowohl die FPA als auch die BPA zeigten einen starken Abfall unmittelbar nach der Operation, erreichten aber im Fall der Ratio RV/RH wieder den Ausgangswert. Im Vergleich der RV mit der LV zeigten sich signifikante Unterschiede zu Gunsten der RV, was den Effekt der Rekonstruktion des Nervendefekts auf der rechten Seite, verglichen mit dem nicht rekonstruierten linksseitigen Defekt, unterstreicht. Der starke Abfall der FPA und der BPA infolge einer Verletzung des Nervus medianus wurde bereits von anderen Autoren beschrieben, auch wenn diese ein etwas abweichendes Modell einer 2-mm langen Resektion und nachfolgender Ligatur des Nervus medianus für ihre Untersuchungen verwendeten, die Dauer des gewählten Beobachtungszeitraums nur 28 Tage betrug und der Nervendefekt nicht rekonstruiert wurde (Chen et al., 2012a, Chen et al., 2012b). Interessanterweise kam es jedoch in den beiden genannten Studien zu einer deutlichen Zunahme der FPA und BPA nachdem den Ratten Baclofen appliziert worden war, ein ursprünglich als Muskelrelaxans zugelassenes Medikament, das jedoch auch nachweislich einen analgetischen Effekt bei neuropathischen Schmerzen entfaltet (Terrence et al., 1985). Auf Grundlage dieser Beobachtung kann somit hypothetisiert werden, dass die Dimensionen des Pfotenabdrucks, also die LPA, BPA und FPA von der Wahrnehmung neuropathischer Schmerzen beeinflusst werden. Der zeitliche

Verlauf der FPA LV/LH und BPA LV/LH in der vorliegenden Arbeit offenbarten eine signifikante Reduktion des Kontaktareals der LV bis zur POW4 gefolgt von einem deutlichen Wiederanstieg innerhalb der nächsten zwei, beziehungsweise im Fall der BPA vier Wochen. Ein zweiter signifikanter Abfall der BPA und FPA der linken Pfote zeigte sich in der POW10 beziehungsweise in der POW12. Hinsichtlich einer möglichen Erklärung dieses Phänomens konnten Bao und Kollegen zeigen, dass eine Läsion der Nervus medianus in der POW2 zu einer vermehrten Aktivierung der kontralateralen, somit dem verletzten Nerv zugehörigen, motorischen und sensiblen Kortexareale führt, gefolgt von einer deutlich geminderten Aktivität zum Zeitpunkt zwei Monate postoperativ (Bao et al., 2018). Im Kontext dieser Erkenntnisse ist es denkbar, dass die gleichen Phänomene auch nach einer bilateralen Neurotmesis des Nervus medianus wie in der vorliegenden Arbeit der Fall, auftreten. Somit wären der initiale Abfall der FPA und BPA sowohl links als auch rechts in der POW2 Ausdruck eines neuropathischen Schmerzes, wobei im Mausmodell Hinweise für eine maximale Ausprägung 2 Wochen nach einer Nerven transektion vorliegen (Manassero et al., 2012). Hinzu käme in diesem Kontext die gesteigerte kortikale Repräsentation der betroffenen Pfoten. Diese Theorie wird außerdem durch die Beobachtung unterstützt, dass sowohl die FPA RF/RH als auch die BPA RF/RH in der vierten postoperativen Woche wieder anstiegen, ein Zeitpunkt in dem bereits wieder erste Axone die betreffende Pfote reinnervieren (Cobianchi et al., 2014, Stöbel et al., 2017). Der zweite Abfall der linksseitigen Parameter in der POW10 und POW12 kann anhand der Ergebnisse einer Studie erklärt werden, die den zeitlichen Verlauf der Neuromentwicklung nach Amputation eines Vorderlaufs im Rattenmodell histologisch untersuchte. Hierbei gelang es zu zeigen, dass die größte Ausprägung des Neuroms zwischen dem sechzigsten und neunzigsten postoperativen Tag erreicht wurde (Oliveira et al., 2018). Dies entspricht zum einen in etwa dem Verlauf der FPA und BPA im Beobachtungszeitraum der vorliegenden Arbeit, andererseits entspricht die Amputationshöhe in der zuvor erwähnten Studie relativ genau der Höhe, in welcher der Nervus medianus durchtrennt wurde. Da der proximale Stumpf des linken Nervus medianus in der vorliegenden Arbeit zudem nicht mit dem distalen

Stumpf oder der umgebenden Muskulatur koaptiert wurde, kann davon ausgegangen werden, dass sich dadurch die Wahrscheinlichkeit einer Neuromentwicklung nochmals deutlich erhöhte. Andere Arbeiten, welche das Gangverhalten von Ratten infolge peripherer Nervenverletzungen mittels CW untersuchten, haben zuletzt darauf hingewiesen, dass die Wahrnehmung von Schmerzen ebenfalls einen Einfluss auf die allgemeinen Parameter hat. Infolge dieser Überlegungen kann die Hypothese abgeleitet werden, dass der in der vorliegenden Arbeit beobachtete Abfall der Parameter FPA und BPA zu späteren Zeitpunkten des Beobachtungszeitraums mit der Entwicklung von Neuromschmerzen zusammenhängen könnte. Zwar wurden keine histologischen Untersuchungen durchgeführt, was eine klare Limitation der vorliegenden Arbeit darstellt, jedoch zeigte sich am Ende des Beobachtungszeitraums im Falle der linken Nervus medianus eine deutliche Auftreibung des proximalen Nervenstumpfes im Sinne eines Neuroms. Dies unterstützt die zuvor aufgestellte Hypothese. Weiterführende Untersuchungen sind hier aber unbedingt notwendig, um dies histologisch zu sichern. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Während in der vorliegenden Arbeit die FPA RV und die BPA RV infolge der Nervendurchtrennung und -rekonstruktion im zeitlichen Verlauf einen sehr deutlichen Abfall zeigten, kam es nur zu einem geringfügigen Absinken der LPA RV infolge der Nervenverletzung. Dieser Umstand kann dadurch erklärt werden, dass die LPA sich aus der Distanz zwischen der Ferse der Pfote und der am weitesten distal liegenden Zehenspitze errechnet. Wie schon beschrieben führt eine Läsion des Nervus medianus in der Ratte nicht zu Sensibilitätsstörungen an allen Zehen, sondern es sind nur die vom Nervus medianus innervierte zweite und dritte Zehe, sowie der rudimentäre Daumen betroffen. Da somit auch nach der Durchtrennung des Nervus medianus zumindest immer eine Zehe der Pfote noch detektierbar war, erklärt sich daraus der nur geringfügige Abfall der LPA RV infolge der Verletzung. Der Anstieg des Verhältnisses der LPA beider Vorderpfoten, ausgedrückt durch die LPA RV/LV, auf 135% des Ausgangswertes am Ende des Beobachtungszeitraums lässt sich somit dadurch erklären, dass es im Zuge der Reinnervation der RV zu einer wieder zunehmenden

Gewichtsverlagerung auf die dritte und vierte Zehe der betreffenden Pfote kommt. Da dies im Falle der chronisch denervierten linken Pfote ausbleibt, resultiert daraus der Anstieg der LFA RV/LV. Die LPA LV/LH fiel in der POW2 deutlich ab, im Gegensatz zum nur geringen Absinken der LPA RV/RH. Basierend auf der Überlegung, dass dies am ehesten in einer geringeren Gewichtsbelastung der betreffenden Zehen begründet liegt, könnte hier wieder eine erhöhte kortikale Repräsentation der betreffenden Pfote in Kombination mit sich entwickelnden neuropathischen Schmerzen eine mögliche Ursache darstellen. Der zu beobachtende Abfall der LPA LV/LH auf Minimalwerte, beginnend ab der POW8 könnte ebenfalls Ausdruck der nochmals besonders deutlichen Neuromentwicklung zu diesem Zeitpunkt sein, sowie der eingeschränkten Verwendung der betroffenen Pfote aufgrund der geringeren kortikalen Repräsentation. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Die Schrittlänge sowohl im Verhältnis RV/RH, LV/LH und RV/LV zeigte keine bemerkenswerte Änderung im Vergleich zum präoperativen Messwert während des gesamten Beobachtungszeitraums. Dies kann dadurch erklärt werden, dass es sich bei der Schrittlänge um das Produkt der Schwunggeschwindigkeit und Schwungdauer handelt. Beide Parameter zeigten in der POW2 eine Änderung zwischen 5% und 10% im Vergleich zum Ausgangswert, wodurch sich kompensatorisch keine Änderung der Schrittlänge ergab. Dieser Effekt, im Sinne eines Kompensationsmechanismus, wurde bereits von anderen Autorinnen und Autoren im Rahmen deren Untersuchungen bezüglich peripherer Nervenverletzungen im Rattenmodell beschrieben (Deumens et al., 2007, Bozkurt et al., 2011, Lemke et al., 2017). Angenommen wird, dass die entsprechende Anpassung der Schwunggeschwindigkeit an die Schwungdauer zum Erhalt einer identischen Schrittlänge, eine sichere Balance und Trittsicherheit gewährleistet werden soll. Dem liegt zugrunde, dass Ratten stets die nachziehende Pfote auf die Stelle am Boden setzen, auf die sie zuvor die vorziehende Pfote aufgesetzt haben (Hruska et al., 1979, Heinzel et al., 2020c). Trotz des Umstandes, dass dieser Kompensationsmechanismus bereits beschrieben wurde, bleibt im Fall der vorliegenden Arbeit jedoch zu evaluieren welcher der beiden Parameter, die Schwunggeschwindigkeit oder die

Schwungdauer, infolge der Durchtrennung des Nervus medianus ausschlaggebend beeinflusst wurde, so dass es zu einer kompensatorischen Anpassung des anderen Parameters kam. Aus anderen Arbeiten, die sich mit peripheren Nervenverletzungen der hinteren Extremität im Rattenmodell beschäftigten, so zum Beispiel Verletzungen des Nervus femoralis oder Nervus ischiadicus, geht hervor, dass die Bewegung der Extremität während der Schwungphase hauptsächlich von den Nerven mediiert wird, welche die proximale Muskulatur der jeweiligen Gliedmaße innervieren. Im Falle der hinteren Extremität der Ratte sind das der Nervus femoralis und der Nervus ischiadicus (Jackson, 1936, Irintchev, 2011). Im Falle der vorderen Extremität der Ratte wird die proximale Muskulatur jedoch nicht vom Nervus medianus, sondern von anderen, dem Plexus brachialis entstammenden Nerven, wie etwa dem Nervus suprascapularis, Nervus musculocutaneus und Nervus radialis (Bertelli et al., 1992, Bertelli and Mira, 1995) versorgt. Der Nervus medianus hingegen innerviert die Flexoren des Unterarms und der Zehen und versorgt den medialen Aspekt der Pfote sowie die medialen Zehen sensibel (Jackson, 1936). Ausgehend von diesen anatomischen Grundlagen liegt daher die Hypothese nahe, dass Veränderungen der Schwungdauer und Schwunggeschwindigkeit am ehesten auf Veränderungen der Sensibilität infolge einer Nervenverletzung als auf die Denervierung der für die Schwungbewegung verantwortlichen Muskeln zurückzuführen sind. Basierend auf der Kategorisierung der Schwungdauer als schmerzbezogener Parameter (Deumens et al., 2007, Heinzl et al., 2020a) sowie der Überlegung, dass die Schwunggeschwindigkeit am ehesten durch motorische Defizite beeinflusst wird, kann daher angenommen werden, dass eine Neurotmesis des Nervus medianus sich hauptsächlich auf die Schwungdauer auswirkt, was dann im Gegenzug wiederum durch eine Verringerung der Schwunggeschwindigkeit ausglich wird. Bemerkenswerter Weise zeigte sich eine signifikante Veränderung der Schwungdauer LV/LH und Schwungzeit LV/LH jeweils zwischen der POW6 und POW10, beziehungsweise zwischen der POW6 und POW12. Da diese Veränderungen zum Zeitpunkt der POW10 im Vergleich mit den präoperativen Messwerten statistisch hochsignifikant waren, wird dadurch zusätzlich die Hypothese unterstützt, dass die manifestierte

Neuromformation zu diesem postoperativen Zeitpunkt die hauptsächliche Ursache für die erhöhte Schwungdauer darstellte. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Verlauf der Schrittbreite sowohl der HP als auch der VP infolge der bilateralen Durchtrennung und unilateralen Rekonstruktion des Nervus medianus zeigte keine signifikanten Veränderungen mit Ausnahme der POW10. Zu diesem Zeitpunkt kam es zu einer Reduktion der Schrittbreite VP, was wiederum in einer signifikanten Reduktion der Schrittbreite VP/HP resultierte. Laut Literatur kommt es zu einer Vergrößerung der Schrittbreite als kompensatorischer Mechanismus zum Ausgleich eines instabilen Gangbildes bei Ratten infolge einer Rückenmarksverletzung (Hamers et al., 2001, Joosten et al., 2004, Datto et al., 2016). Andererseits resultierte eine Neurotmesis des Nervus ischiadicus im Rattenmodell in einer Reduktion der Schrittbreite der Hinterpfoten (Deumens et al., 2007), während eine Neurotmesis des Nervus femoralis im Rattenmodell nur geringe Fluktuationen des Parameters bedingte (Heinzel et al., 2020c). Im Fall der vorliegenden Arbeit kam es ebenso nur zu geringen Fluktuationen der Schrittbreite infolge der bilateralen Resektion und unilateralen Rekonstruktion des Nervus medianus. Eine direkte Ursache hierfür könnte in dem Algorithmus begründet sein, welcher der Kalkulation des Parameters zu Grunde liegt. Da die Schrittbreite als Distanz zwischen den jeweiligen Zentren des Abdrucks der VP beziehungsweise der HP definiert ist, kommt es allein durch eine Reduktion der BPA, wie dies bei der vorliegenden Arbeit der Fall ist, zu einer deutlichen Reduktion der Schrittbreite VP. Infolge der unilateralen Nervenrekonstruktion mittels autologem Transplantat und der resultierenden sensiblen Reinnervation der rechten VP, kommt es somit im Umkehrschluss zu einer Zunahme des FPA RV, da die medialen Zehen, aufgrund der zunehmenden Gewichtsbelastung, wieder vom CatWalk detektiert werden. Somit könnten die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Veränderungen der Schrittbreite weniger auf motorische Defizite, wie nach Neurotmesis des Nervus ischiadicus beschrieben (Deumens et al., 2007), oder generelle Sensibilitätsdefizite zurückzuführen sein, sondern vielmehr auf eine veränderte Darstellung und damit Kalkulation der Pfenabdrücke der Tiere infolge der Neurotmesis des Nervus medianus. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.1.2 Schmerzbezogene Parameter

Hinsichtlich der schmerzbezogenen Parameter zeigten sich keine signifikanten Änderungen der IPA über den gesamten Verlauf des postoperativen Beobachtungszeitraums. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Studien, die mittels immunhistochemischer (Lue et al., 2002, Tsai et al., 2004, Yeh et al., 2008, Tsai et al., 2009, Lin et al., 2012) oder funktioneller Evaluationsmethoden, unter anderem mittels CW, (Chen et al., 2012a, Chen et al., 2012b, Shaikh et al., 2016) Hinweise für die Entwicklung neuropathischer Schmerzen infolge einer Neurotmesis des murinen Nervus medianus lieferten. Chen und Kollegen beobachteten eine Reduktion der IPA um etwa 20% am dritten postoperativen Tag, verglichen mit dem präoperativen Wert, infolge einer Resektion von 2mm des Nervus medianus und gleichzeitiger Ligatur des Nervs. In der genannten Studie kam es jedoch bereits am siebten postoperativen Tag zu einer Regeneration der IPA auf 90% des Ausgangswertes (Chen et al., 2012a). Die gleichen Autoren berichteten zudem von einer signifikant erhöhten Expression der Neurotransmitter Neuropeptid Y und c-Fos infolge der Nervenverletzung, wobei beide Moleküle im Zusammenhang mit der Entwicklung neuropathischer Schmerzen stehen (Chen et al., 2012b). Die Expression sowohl von Neuropeptid Y als auch c-Fos war bereits fünf Tage nach einer Verletzung des Nervus medianus im Nucleus cuneatus nachweisbar, erreichte den jeweiligen Maximalwert in der POW4 und fiel in der POW16 wieder auf die präoperativen Messwerte ab (Lue et al., 2002, Tsai et al., 2004, Yeh et al., 2008). Interessanterweise zeigte sich in der Ganganalyse mittels CatWalk eine maximale Veränderung der Parameter nicht ebenfalls in der POW4, sondern in der POW2. Dies legt nahe, dass der Verlauf von Veränderungen des zentralen Nervensystems, die in Verbindung mit der Entwicklung neuropathischer Schmerzen stehen, vom Verlauf der direkten symptomatischen Folgen des Schmerzempfindens abweicht. Dies wird des Weiteren durch die Ergebnisse der zuvor genannten Studien von Chen et al. unterstützt, in denen eine maximale Reduktion der IPA bereits am dritten postoperativen Tag auftrat. Trotz des Umstandes, dass Chen et al. neben der Resektion noch eine Ligatur des Nervus medianus durchführten, die nachweislich deutliche neuropathische Schmerzen

im Rattenmodell induziert (Kim and Chung, 1992, Kim et al., 1997), zeigte sich in den Untersuchungen der Autoren ein Expressionsmuster von Neuropeptid Y und c-Fos, welches den Ergebnissen von Leu, Tsai und Yeh ähnelte (Lue et al., 2002, Tsai et al., 2004, Yeh et al., 2008, Tsai et al., 2009). Neben der Berücksichtigung direkter Symptome neuropathischer Schmerzen, ausgelöst durch die Verletzung des Nervus medianus, scheint jedoch auch die Beachtung der Nerven interessant, die angrenzende Hautareale sensibel innervieren, das heißt, des Nervus ulnaris und Nervus radialis. Im Fall einer Verletzung des murinen Nervus suralis kommt es durch das kollaterale Aussprossen sensibler Axone aus dem benachbarten Hautareal des Nervus saphenus erwiesenermaßen bereits am dritten Tag nach der Nervenläsion zu einer frühen Hyperalgesie und mechanischen Allodynie. Dem folgt anschließend zusätzlich noch eine Hyperalgesie in der Spätphase der Nervenverletzung, wenn die regenerierenden Axone des Nervus suralis beginnen, das ursprünglich von ihnen versorgte Hautareal zu reinnervieren (Cobianchi et al., 2013, Cobianchi et al., 2014). Da die sensible Innervation der VP sowohl durch den Nervus medianus als auch durch den Nervus ulnaris erfolgt (Jackson, 1936, Barton et al., 2017), wäre es interessant in nachfolgenden wissenschaftlichen Arbeiten zu untersuchen, ob ein ähnlicher Mechanismus auch nach Verletzungen des Nervus medianus auftritt. Interessanterweise zeigten sich in der vorliegenden Arbeit keine Symptome einer späten Hyperalgesie, wie diese von Cobianchi und Kollegen beschrieben wurden. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der in der vorliegenden Arbeit erhobene Parameter der Belastungsdauer RV/RH zeigte sich infolge der Nervenverletzung nur leicht reduziert, wohingegen die Belastungsdauer LV/LH von der POW4 bis zur POW12 signifikant vermindert war. Dies deutet auf einen starken Effekt der nicht-rekonstruierten Neurotmesis des Nervus medianus auf die Gewichtsbelastung der LV hin. Andererseits kann hypothetisiert werden, dass sich die signifikante Veränderung der Belastungsdauer RV/LV zwischen der POW6 und der POW10 auf die sensible Reinnervation der RV durch den Nervus medianus zurückführen lässt. In diesem Sinne könnte der Wiederanstieg der Belastungsdauer RV/LV in der POW8 darauf hindeuten, dass es zu diesem Zeitpunkt zu einer Verbesserung der

Schmerzsymptomatik auf der rechten Seite infolge der Reinnervation der RV kam, begleitet von einer nochmals akzentuierten Zunahme dieser Symptomatik im Falle der LV, bedingt durch die zu diesem Zeitpunkt besonders betonte Neurombildung. Zwar waren andere Anzeichen einer Hyperalgesie, zum Beispiel ein deutlicher Abfall der IPA, in der vorliegenden Arbeit nicht nachweisbar, jedoch begann die Analyse des Gangverhaltes mittels CW auch erst in der POW2, was eine Limitation dieser Arbeit darstellt. Zusätzlich beinhalteten die Untersuchungen keine weiteren Methoden zur Evaluation neuropathischer Schmerzen, wie beispielsweise die Untersuchung der Nozizeption mittels Semmes-Weinstein-Monofilamenten. Daher scheint es erstrebenswert in Folgeuntersuchungen bereits frühzeitig das Gangverhalten nach Verletzung des Nervus medianus zu evaluieren, ergänzt mit anderen Tests, wie beispielsweise den erwähnten Semmes-Weinstein-Monofilamenten, um Frühzeichen einer sich entwickelnden Hyperalgesie oder Allodynie zu erkennen (Bertelli et al., 2004, Casal et al., 2020). In Anbetracht von Berichten, dass Sensibilitätsstörungen wie Wärme- oder Kälteintoleranz oder mechanische Allodynie wohlmöglich beide Vorpfoten betreffen, auch wenn lediglich eine Schein-Operation ohne Durchtrennung oder Resektion des Nervus medianus auf der rechten Seite durchgeführt wurde, rückt zudem zentrale Regulationsmechanismen von Schmerzempfindungen in den Fokus weiterführender Untersuchungen (Shaikh et al., 2016). Zusätzlich bedingen diese Erkenntnisse eine kritische Auseinandersetzung mit der Durchführung von Schein-Operationen zu tierexperimentellen Versuchszwecken im Sinne einer Kontrollgruppe. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der Parameter Entlastungsindex, welcher die Geschwindigkeit quantifiziert, mit welcher die jeweilige Pfote am Ende der Standphase vom Boden abgehoben wird, zeigte sich bei Ratten mit neuropathischen Schmerzen deutlich erhöht (Batka et al., 2014, Kameda et al., 2017). In der vorliegenden Arbeit zeigte sich ebenfalls eine Erhöhung des Entlastungsindex RV/RH infolge des durchgeführten chirurgischen Eingriffs. Dies könnte einerseits durch die Entwicklung neuropathischer Schmerzen ausgelöst worden sein, andererseits aber auch durch die Reduktion der FPA bedingt gewesen sein, da durch die

Verminderung des Abdruckareals die Zeit reduziert wird, die nötig ist, um den entsprechenden Anteil der Pfote vom Untergrund abzuheben. Interessanterweise kam es zu einem besonders deutlichen Abfall des Entlastungsindex RV/RH in der POW10 und POW12, das heißt zu diesen Zeitpunkten erfolgte das Abheben der RV vom Untergrund langsamer als zu den jeweiligen vorhergegangenen postoperativen Zeitpunkten. Jedoch kann auch hier keine abschließende Aussage hinsichtlich der zugrunde liegenden Mechanismen für dieses Verhalten getroffen werden und es bedarf weiterer Untersuchungen, um zu evaluieren, ob diese Beobachtungen auf eine Verbesserung der Schmerzsymptome, den generellen Zuwachs der FPA oder eine Kombination aus beidem zurückzuführen sind. Der Verlauf des Entlastungsindex LV/LH erlaubt ebenfalls die Interpretation, dass die Wahrnehmung von Schmerzen einen deutlichen Einfluss auf diesen Parameter ausübt. Hierbei ist besonders der Anstieg in der POW10 und POW12 bemerkenswert, der im Falle des letzteren Zeitpunktes fast statistische Signifikanz im Vergleich zum präoperativen Messwert erreichte. Diese Beobachtung unterstützt wiederum die zuvor formulierte Hypothese betreffend der besonders akzentuierten Neuromformation in der achten postoperativen Woche, wodurch sich ein schmerzbedingter Anstieg des Entlastungsindex LV/LH erklären ließe. Im Falle der RV, in welcher in der vorliegenden Arbeit der Nervus medianus mittels eines autologen Nerventransplantats rekonstruiert wurde, blieb dieser Anstieg des Entlastungsindex aus, wodurch sich insgesamt der Abfall des Entlastungsindex RV/LV erklären lässt. Zusammenfassend bestärken die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Validität des Entlastungsindex als Parameter für Schmerzempfinden in Rattenmodellen peripherer Nervenverletzungen, weiterführende Untersuchungen, inklusive Korrelationsanalysen mit anderen Messmethoden, wie dem Semmes-Weinstein-Monofilament-Test oder einem Algesimeter, sind jedoch nötig. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.1.3 Koordinationsbezogene Parameter

Die koordinationsbezogenen Parameter RI und Kopplungen zeigten in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Änderungen im Vergleich zu den jeweils präoperativ erhobenen Werten. Bezüglich des RI entspricht diese Beobachtung

den Resultaten vorhergegangener Studien, die zeigten, dass es zwar durch Läsionen des zentralen Nervensystems (Koopmans et al., 2005, Crowley et al., 2018) zu einer Affektion des RI kommt, jedoch nicht infolge von Läsionen peripherer Nerven (Bozkurt et al., 2011, Heinzl et al., 2020c). Dies lässt sich dadurch erklären, dass das zentrale Regulationszentrum der Koordination im zentralen Nervensystem lokalisiert ist (Alford and Fadale, 2003, Kyriakou et al., 2015), welches bei peripheren Nervenläsionen strukturell unbeeinträchtigt bleibt. Vgl. (Heinzl et al., 2021).

Die Kopplungen zeigten sich sowohl in Untersuchungen zu Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Hetze et al., 2012, Boix et al., 2018) im Rattenmodell als auch in Studien betreffend Verletzungen des murinen Nervus ischiadicus (Bozkurt et al., 2011) sowie des murinen Nervus femoralis (Heinzl et al., 2020c) deutlich verändert. Affektionen sowohl der Kopplungen als auch des RI infolge von Verletzungen und Erkrankungen des peripheren Nervensystems wurden auch immer wieder mit dem Phänomen der Neuroplastizität in Verbindung gebracht, das heißt, dass sie neben direkten Verletzungs- und Krankheitsfolgen auch kortikale Umstrukturierungs- und Adaptationsprozesse widerspiegeln könnten (Navarro et al., 2007). Beispielhaft zu nennen wäre hier die veränderte kortikale Repräsentation der von der Nervenläsion betroffenen Extremität und die im Anschluss an die Verletzung einsetzenden Restrukturierungsprozesse (Heinzl et al., 2020c). Der Umstand, dass in der vorliegenden Arbeit sowohl der RI als auch insbesondere die Kopplungen keine Veränderungen infolge der Neurotmesis des Nervus medianus zeigten, könnte dadurch erklärt werden, dass die zuvor erwähnten Prozesse im Falle einer Verletzung des Nervus medianus weniger ausgeprägt sind, da dieser im Vergleich zum Nervus ischiadicus oder Nervus femoralis für die Innervation eines kleineren Anteils der gesamten Extremität verantwortlich ist und eine geringere Menge von Zielorganen versorgt (Jackson, 1936). Vgl. (Heinzl et al., 2021).

Veränderungen der Verteilung der sechs Schrittfolgemuster, spezifischen Sequenzen der Pfotenplatzierung während der Fortbewegung (Cheng et al., 1997, Deumens et al., 2014), traten im Rattenmodell sowohl nach Verletzungen

des Nervus ischiadicus als auch des Nervus femoralis auf und scheinen mit Änderungen der propriozeptiven Wahrnehmung der betreffenden Pfote zusammenzuhängen (Heinzel et al., 2020c). Um auch infolge einer peripheren Nervenverletzung eine höchstmögliche Balance bei der Fortbewegung beizubehalten, wird in diesem Fall die von der Nervenläsion betroffene Extremität stets nach der jeweils am weitesten von dieser entfernten Extremität aufgesetzt. Dies dient der Verlagerung des Körperschwerpunkts, wodurch die verletzte Extremität entlastet werden soll. Beispielhaft für eine Läsion des rechten Nervus ischiadicus bedeutet dies, dass die LV stets vor der RH aufgesetzt wird (Deumens et al., 2007). Ein ähnliches Phänomen war zwar auch in der vorliegenden Arbeit zu beobachten, jedoch zu einem deutlich geringeren Ausmaß als im Falle der zuvor erwähnten Läsion des Nervus ischiadicus. Die Ratten mit bilateraler Läsion des Nervus medianus gebrauchten nach der Operation vermehrt die beiden kreuzförmigen Muster Ka und Kb, wobei eine besondere Präferenz für das erstere bestand. Die Verwendung des Musters Ka bedingt eine Entlastung der LV, auf deren Seite im Fall der vorliegenden Arbeit keine Rekonstruktion des Nervendefekts vorgenommen wurde. An die gehäufte Verwendung des Musters Ka schloss sich in der POW6 ein zunehmender Gebrauch des Musters Kb an, welches wiederum die rechte, in diesem Fall rekonstruierte Seite, entlastet. Interessanterweise bestand zudem ein zeitlicher Zusammenhang dieser Beobachtung mit einem deutlichen Anstieg der BPA RV/LV. Dies könnte zusammenhängend so interpretiert werden, dass bis zur POW4 hauptsächlich die veränderte propriozeptive Wahrnehmung der beiden, partiell denervierten, Pfoten für die Änderungen der Schrittfolgemuster ursächlich war. Diese Hypothese weiterentwickelnd, kam es dann in Konsequenz der beginnenden Reinnervation der RV ab der POW4 zu einer erneuten Änderung der Gebrauchsfrequenz der Schrittfolgemuster, da die Tiere begannen, die nun anders wahrgenommene RV vermehrt zu entlasten. Ein gewisser Gebrauch des Schrittfolgemusters Ka blieb bis zum Ende des Beobachtungszeitraums bestehen, was dadurch erklärt werden könnte, dass es durch die chronische Denervierung der LV ebenso zu einer dauerhaft veränderten propriozeptiven Wahrnehmung dieser Pfote kam. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.2 Methoden zur Evaluierung der motorischen Reinnervation

4.2.1 Griffkraft-Test

Der CW bietet die Möglichkeit Rückschlüsse auf die sensible Reinnervation nach Neurotmesis des Nervus medianus zu ziehen, beispielsweise anhand der FPA. Die Option, mittels der Methodik auch die motorische Regeneration zu beurteilen, würde deren Anwendbarkeit noch deutlich erweitern (Kappos et al., 2017). Da das Ausmaß der funktionellen Regeneration das wichtigste Kriterium darstellt, um den Effekt einer neuroregenerativen Therapie oder eines chirurgischen Rekonstruktionsverfahrens beurteilen zu können, würde ein zusätzliches Anwendungsgebiet des CW im Nervus medianus Modell der Ratte dessen Stellenwert für die translationale Forschung noch weiter erhöhen. Um diese Fragestellung zu überprüfen, wurde in der vorliegenden Arbeit eine Korrelationsanalyse der erhobenen funktionellen Daten durchgeführt. Die Zielsetzung bestand hierbei darin, solche Parameter zu identifizieren, welche signifikant mit anderen, bereits gut etablierten Evaluationsmethoden der motorischen Regeneration im Nervus medianus Modell der Ratte korrelieren. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Zum Zweck der Evaluation der motorischen Regeneration im Nervus medianus Modell der Ratte (Galtrey and Fawcett, 2007, Ronchi et al., 2009) wird hauptsächlich der so genannte „Griffkraft-Test“ verwendet (Bertelli and Mira, 1995, Papalia et al., 2003, Nichols et al., 2005, Casal et al., 2020). Jedoch zeigten sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit deutliche Limitationen dieser Auswertungsmethode: Zum einen lässt sich beim Griffkraft-Test die Geschwindigkeit, mit welcher die Ratte Richtung Decke gezogen werden, nicht standardisieren und hängt somit individuell von der Person ab, die den Test ausführt (Tos et al., 2009). Kürzlich publizierte Arbeiten, in deren Rahmen versucht wurde, dieses Problem durch eine stimulierte Griffkraft-Testung, bei der das Tier sich in Narkose befindet, zu lösen, stellen somit ein wertvolles Unterfangen dar (Hanwright et al., 2019). Jedoch bedingt diese Modifikation der Messmethode eine weitere Komplizierung von Versuchsaufbau und -durchführung, während zusätzlich eine wöchentliche Betäubung der Tiere von

Nöten ist. Die Aussagekraft des Griffkraft-Tests wird zusätzlich dadurch eingeschränkt, dass häufig Lewis-Ratten für Untersuchungen peripherer Nervenverletzungen im Tiermodell verwendet werden, da diese, im Gegensatz zu Sprague Dawley- oder Fischer-Ratten eine geringere Neigung zu automutilierendem Verhalten aufweisen (Carr et al., 1992). Jedoch zeigen Lewis-Ratten ebenfalls die Tendenz zu verringerter Motivation an repetitiven Versuchsabläufen, wie beispielsweise dem Griffkraft-Test, zu partizipieren. Dadurch werden in Konsequenz die Reproduzierbarkeit und Validität dieser Evaluationsmethode erheblich eingeschränkt (Stöbel et al., 2017). Diese Limitation zeigte sich ebenso eindrucksvoll in der vorliegenden Arbeit, da bei insgesamt 40% der Versuchstiere aus den oben beschriebenen Gründen keine statistische Analyse der Untersuchungsergebnisse des Griffkraft-Tests erfolgen konnte. Als weitere Einschränkung des Griffkraft-Tests sollte ebenfalls die hohe inter-individuelle Schwankung der Griffkraft der Tiere erwähnt werden, was die statistische Aufbereitung der erhobenen Daten komplizieren kann (Daeschler et al., 2018, Marchesini et al., 2018, Hanwright et al., 2019). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine signifikante Reduktion der Griffkraft in der POW2 und POW4, bevor die Griffkraft zwischen der POW6 und POW8 im Vergleich zum Ausgangswert nicht signifikant verändert war. Es zeigte sich dann in der POW10 ein erneuter statistisch signifikanter Abfall der Griffkraft, bevor in der POW12 kein Unterschied zur präoperativen Messung mehr nachweisbar war. Interessanterweise wurde der erneute Abfall der Griffkraft in der POW10 von einem deutlichen Anstieg der FPA RV/LV begleitet, was so interpretiert werden könnte, dass die Reduktion der Griffkraft mit einer Veränderung der Sensibilität in der betroffenen Pfote, z.B. im Sinne von vermehrtem Schmerzempfinden zusammenhängen könnte. Es wurde bereits von anderen Autoren betont, dass beim Griffkraft-Test ein sensomotorischer Reflexbogen ausgelöst wird, in den folglich sowohl die vom Nervus medianus vermittelten sensiblen Afferenzen als auch motorischen Efferenzen involviert sind (Navarro, 2016, Stöbel et al., 2017). Abschließend gilt es zu erwähnen, dass allein das Prozedere der Durchführung des Griffkraft-Tests an sich bereits erheblichen Stress bei den Versuchstieren

auslösen kann. Dieser Stress allein stellt einen erheblichen Störfaktor für alle Evaluationsmethoden der funktionellen Nervenregeneration im Tiermodell dar (Sestakova et al., 2013, Rabl et al., 2016). In Anbetracht all dieser Limitationen und Hürden des Griffkraft-Tests erscheint es daher sinnvoll die Evaluationsmethoden der funktionellen Nervenregeneration, insbesondere der motorischen Regeneration, zu erweitern. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.2.2 Ulnarabduktion der Pfoten

Anhand der vorliegenden Arbeit wird erstmals die Ulnarabduktion der Vorderpfoten, welche mittels des CatWalk Systems bestimmbar ist, als neuer Parameter zur Evaluation der motorischen Nervenregeneration im Nervus medianus Modell der Ratte vorgeschlagen. Die Rotation der Pfoten, gemessen in Winkelgrad, wurde bereits von anderen Autoren als sensitiver Marker der funktionellen Erholung nach Läsionen des Nervus ischiadicus beschrieben (Varejão, 2003, Varejao et al., 2004a). In der vorliegenden Arbeit zeigte sich die Ulnarabduktion beider Vorderpfoten infolge der bilateralen Neurotmesis des Nervus medianus im Verlauf signifikant erhöht, erreichte jedoch nur im Fall der rekonstruierten rechten Seite Werte, die nicht signifikant vom Ausgangsmesswert abwichen. Bezogen auf die LV, welche durch die nicht erfolgte Rekonstruktion des Nervus medianus chronisch denerviert blieb, zeigte sich am Ende des Beobachtungszeitraums in der POW12 noch eine statistisch hochsignifikante Differenz zum präoperativen Messwert. Zusätzlich zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Ulnarabduktion und sowohl der durchschnittlichen als auch der maximalen Griffkraft, sowie dem Gewicht des den Tieren entnommenem rechten Musculus flexor digitorum superficialis. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt interpretieren: Die vermehrte Ulnarabduktion der Pfote beruht laut der folgenden Hypothese auf einer, aus der Neurotmesis des Nervus medianus resultierenden, muskulären Dysbalance (Millesi and Tsolakidis, 2005, Millesi, 2006) zwischen dem Musculus flexor carpi radialis, der vom Nervus medianus innerviert wird und dem Musculus flexor carpi ulnaris, welcher seine Innervation vom Nervus ulnaris erhält (Jackson, 1936, Bertelli et al., 1995). Infolge der Denervierung des Musculus flexor carpi radialis durch die Resektion des Nervus medianus wird die betreffende Vorderpfote durch den nach wie vor

kontrahierenden Musculus flexor carpi ulnaris nach ulnar abduziert. Diese muskuläre Dysbalance wurde in der vorliegenden Arbeit mit zunehmender Dauer der Denervierung des Musculus flexor carpi radialis noch weiter verstärkt, was durch die statistisch hochsignifikante Differenz des Ulnarabduktionswinkels im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert in POW4 unterstrichen wird. In Konsequenz der beginnenden Reinnervation des rechten Musculus flexor carpi radialis durch die regenerierenden Axone des Nervus medianus kam es im Fall der RV wieder zu einer Abnahme des Ulnarabduktion, wohingegen diese im Fall der chronisch denervierten LV weiter zunahm. Dies stimmt zudem mit den Ergebnissen der durchgeführten linearen Regressionsanalyse überein, die eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Gewicht des Musculus flexor digitorum superficialis und der Ulnarabduktion der entsprechenden Pfote aufzeigte. Da der Musculus flexor carpi radialis ebenso wie der Musculus flexor digitorum superficialis infolge der Reinnervation durch den Nervus medianus an Masse gewinnt, kommt es somit laut der hier formulierten Theorie in weiterer Konsequenz zur Abnahme des Ulnarabduktionswinkels. In diesen Zusammenhang sind die Resultate einer Arbeit von Casal und Kollegen bemerkenswert, die das Gangverhalten von Ratten nach unilateraler Resektion des Nervus medianus mittels einer auf Tinte und Papier basierenden Methode untersuchten. Interessanterweise zeigte sich im Rahmen der erwähnten Arbeit eine negative Korrelation zwischen dem Ausmaß der Radialabduktion der Pfote und dem Gewicht des Musculus flexor carpi radialis. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass eine zunehmende Ulnarabduktion der Pfote mit einem erhöhten Gewicht des Musculus flexor carpi radialis korrelierte (Casal et al., 2018, Casal et al., 2020). Obwohl dies auf den ersten Blick den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zu widersprechen scheint, muss in diesem Kontext unbedingt betont werden, dass die Autoren der zuvor aufgeführten Arbeit explizit erwähnen, dass die Kinematik des Handgelenks der Ratte nicht von der Aktivität eines einzelnen Muskels oder einer einzelnen Muskelgruppe ableitbar ist. So spielen nach Meinung von Casal und Kollegen neben dem Musculus flexor carpi radialis mit hoher Wahrscheinlichkeit auch die anderen vom Nervus medianus innervierten Muskeln, wie beispielsweise der Musculus pronator teres, eine Rolle. Jedoch

sind kaum Studien publiziert, die sich mit der Rolle der zuvor erwähnten Muskeln im Kontext der Fortbewegung auseinandergesetzt haben, weshalb es ratsam und interessant erscheint, hier weitere Untersuchungen vorzunehmen. Besondere Erwähnung und Beachtung müssen hier auch unbedingt die teils widersprüchlichen Angaben hinsichtlich der Innervation der Muskeln der vorderen Extremität in der Ratte finden (Barton et al., 2017). Während einige Autoren berichten, dass der *Musculus flexor digitorum superficialis* und *Musculus flexor digitorum profundus* in der Ratte ausschließlich vom *Nervus medianus* innerviert werden (Bertelli et al., 1995, Tos et al., 2009), beschreibt Eunice Greene in ihrem Anatomieatlas aus dem Jahre 1936 ein gemischtes Innervationsmuster, wobei neben dem *Nervus medianus* auch der *Nervus ulnaris* entsprechende muskuläre Äste zu den beiden Muskeln entsendet (Jackson, 1936). Ähnliche diskrepante Beobachtungen wurden hinsichtlich der Innervation des *Musculus pronator teres* publiziert, wobei hier entweder von einer gemischten Innervation durch den *Nervus medianus* und *Nervus musculocutaneus* berichtet wird (Bertelli et al., 1995) oder aber von einer exklusiven Innervation durch den *Nervus musculocutaneus* (Jackson, 1936). Laut Literatur stammen außerdem die Fasern zum *Musculus flexor carpi radialis* entweder ausschließlich vom *Nervus medianus* (Bertelli et al., 1995) oder aber vom *Nervus musculocutaneus* (Jackson, 1936). Hinsichtlich dieser teils widersprüchlichen Berichte erscheinen weitere anatomischen Untersuchungen des Innervationsmusters der oben genannten Muskeln, bzw. deren Varianten, als äußerst sinnvoll. Aufgrund der Vielzahl tierexperimenteller Studien, deren experimenteller Aufbau auf diesen anatomischen Grundlagen basiert, sollten diese daher mit größter Sorgfalt noch weiter erarbeitet und beschrieben werden. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.3 Korrelationsanalyse

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich unter anderem bemerkenswerterweise eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen dem Entlastungsindex RV/LV und dem MSAP des *Musculus flexor digitorum superficialis*. Dies kann so interpretiert werden, dass es bei Ratten mit einem besser reinnerviertem *Musculus flexor digitorum superficialis* auch zu einem schnelleren Abheben der

Pfote vom Untergrund kam. Als Erklärungsansatz könnte hier dienen, dass der Bewegungsablauf des Abhebens der Zehen vom Untergrund wesentlich durch den *Musculus flexor digitorum superficialis* vermittelt wird (Wang et al., 2008). Da der *Musculus flexor digitorum superficialis* eine Beugung der Zehen bewirkt, kommt es somit laut der Hypothese bei Reinnervation des Muskels zu einem schnelleren Abheben der Pfote vom Untergrund. Interessanterweise kontrastiert dies den generell zu beobachtenden Abwärtstrend des Entlastungsindex, d.h. eine langsamere Abhebung der Pfote vom Untergrund im Verlauf des postoperativen Beobachtungszeitraums. In Anbetracht dieser auf den ersten Blick widersprüchlichen Beobachtungen in der vorliegenden Arbeit, lassen sich diese in Form einer Hypothese so vereinen, dass der Entlastungsindex, das heißt die Geschwindigkeit des Abhebens der Pfote vom Untergrund, sowohl von sensiblen Afferenzen als auch motorischen Efferenzen beeinflusst wird. So kommt es einerseits zu einem Absinken des Entlastungsindex, beziehungsweise zu einem langsameren Abheben der Pfote über den Verlauf des Beobachtungszeitraums aufgrund einer Besserung der Schmerzsymptome. Andererseits kommt es wie erwähnt zu einem schnelleren Abheben der Pfote durch eine zunehmende Reinnervation des *Musculus flexor digitorum superficialis* im postoperativen Verlauf. Diese Hypothese wird auch dadurch unterstützt, dass der Entlastungsindex eine signifikante Korrelation sowohl mit den allgemeinen Parametern als auch den schmerzbezogenen Parametern aufwies. Beispielhaft zu nennen ist hier die positive Korrelation zwischen dem Entlastungsindex RV/RH und der Belastungsdauer RV/RH, wodurch eine schnellere Abhebung der RV bei gleichzeitig zunehmender Belastungsdauer angezeigt wird. Dies unterstützt wiederum die zuvor formulierte Hypothese, dass der Entlastungsindex nicht allein durch Schmerzempfinden beeinflusst wird, sondern auch wesentlich von anderen Faktoren, wie beispielsweise dem Ausmaß der muskulären Reinnervation abhängt. Würde der Entlastungsindex lediglich mit dem Ausmaß der Schmerzsymptomatik korrelieren, würde sich dies anhand einer signifikanten negativen Korrelation des Entlastungsindex RV/RH mit der Belastungsdauer RV/RH äußern. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Hinsichtlich der Korrelation der einzelnen erhobenen Gangparameter miteinander bestätigte sich in der vorliegenden Arbeit die in der Literatur gebräuchliche Einteilung der Gangparameter in verschiedene Untergruppen (Heinzel et al., 2020a). So zeigte sich sowohl eine signifikante Interkorrelation der allgemeinen Gangparameter als auch der schmerzbezogenen Parameter. Interessanterweise zeigte sich ebenfalls eine Korrelation der Parameter FPA, LPA und BPA mit gleich mehreren schmerzbezogenen Parametern, was nochmals unterstreicht, dass Änderungen der Dimensionen des Pfotenabdrucks sowohl durch Veränderungen der Sensibilität im Allgemeinen, beispielsweise im Sinne einer Hypästhesie, jedoch auch durch Schmerzempfindungen in der betreffenden Pfote verursacht sein können (Deumens et al., 2007, Heinzel et al., 2020c). Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Der in der vorliegenden Arbeit nachweisbare hohe Korrelationsgrad zwischen den Ergebnissen der Evaluationsmethoden der funktionellen Regeneration, das heißt dem Griffkraft-Test und der CW Ganganalyse, den Ergebnissen der elektrophysiologischen Untersuchungen, sowie dem Gewicht des Musculus flexor digitorum superficialis zum Zeitpunkt der Euthanasie, verifiziert die Validität der CatWalk Ganganalyse im Kontext des Nervus medianus Modells der Ratte. Die signifikante Korrelation der Ergebnisse des Griffkraft-Tests und dem gemessenen Grad der Ulnarabduktion der RV unterstreicht den Stellenwert dieses neuen Parameters bei der Evaluation der motorischen Reinnervation nach Neurotmesis des Nervus medianus im Rattenmodell. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

4.4 Limitationen dieser Arbeit

Trotz des gelungenen Nachweises, dass die computerstützte CW Ganganalyse eine valide Ergänzung der Evaluationsmethoden der funktionellen Erholung nach Neurotmesis des Nervus medianus im Rattenmodell darstellt, muss auf einige Limitationen der vorliegenden Arbeit hingewiesen werden. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

Zuallererst muss betont werden, dass es sich beim CatWalk um eine komplementäre Auswertungsmethode handelt. Es wurde bereits von mehreren Autoren darauf hingewiesen, dass der CatWalk die anderen

Evaluationsmethoden der funktionellen Regeneration nach Nervenverletzungen im Rattenmodell, wie beispielsweise den „Open-Field-Test“ oder komplexe Skalen zur Erfassung der motorischen Fähigkeiten der Tiere nicht gänzlich ersetzen kann (Irvine et al., 2014, Navarro, 2016, Heinzl et al., 2020a). Dies ist jedoch im Fall von Läsionen des zentralen Nervensystems relevanter als nach Läsionen peripherer Nerven, da zentralnervöse Verletzungen komplexere Schädigungsmuster und funktionelle Ausfälle und Defizite verursachen. Nichtsdestotrotz wurde in der vorliegenden Arbeit nur eine verhältnismäßig kleine Anzahl der Evaluationsmethoden der funktionellen Regeneration verwendet, welche für das Nervus medianus Modell der Ratte beschrieben worden sind (Casal et al., 2020, Ronchi et al., 2019). Es erscheint daher sinnvoll, in Folgeuntersuchungen die Ergebnisse der CW Ganganalyse auch mit den Ergebnissen anderer Evaluationsmethoden, wie beispielsweise den Semmes-Weinstein-Monofilamenten, zu vergleichen. Nur so kann eine endgültige Aussage hinsichtlich des Stellenwerts der CW Ganganalyse, insbesondere bezüglich der Validität des Systems zur Erfassung sensibler Qualitäten, getroffen werden. Vgl. (Heinzl et al., 2021).

Erwähnenswert ist weiterhin, wie aus Studien zur Erholung nach Rückenmarksverletzungen im Rattenmodell hervorgeht, dass die Ergebnisse der CW Ganganalyse nicht mit den Resultaten histologischer Untersuchungen, in diesem Fall die Menge des verbleibenden funktionellen neuronalen Gewebes, korrelieren (Irvine et al., 2014), einem weiteren wichtigen Kriterium zur Beurteilung der Nervenregeneration (Wood et al., 2011). Da in der vorliegenden Arbeit keine Ergebnisse histologischer Untersuchungen inkludiert waren, sollte dies in Folgeuntersuchungen durchgeführt werden. Auch hier gilt es die Aussagekraft der CW Ganganalyse im Kontext der Ergebnisse der zuvor genannten Untersuchungen zu beurteilen. Vgl. (Heinzl et al., 2021).

4.5 Konklusion

Anhand der vorliegenden Arbeit gelang erstmals der Nachweis, dass der CatWalk eine valide Ergänzung der bereits im Nervus medianus Modell der Ratte verwendeten Auswertungsmethoden darstellt. Zusätzlich ließen sich so deutliche Unterschiede hinsichtlich des Gangverhaltens nach bilateraler Neurotmesis des Nervus medianus aufzeigen, abhängig davon, ob die Verletzung mittels autologem Nervenransplantat versorgt oder aber nicht überbrückt wurde.

Zusätzlich gelang es in Form der Ulnarabduktion der Vorderpfoten einen Parameter zu identifizieren, der die Beurteilung der motorischen Regeneration erlaubt, nicht die Nachteile des Griffkraft-Tests beinhaltet und gleichzeitig den Vorteil bietet, dass sich das Tier bei der Messung frei und nahezu ungezwungen, beziehungsweise möglichst natürlich, bewegen kann.

Somit bietet sich auf Grundlage der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Perspektive sowohl die motorische als auch sensible Regeneration nach Neurotmesis des Nervus medianus mittels einer Auswertungsmethode evaluieren zu können, wenn beispielsweise die FPA als Marker der sensiblen Regeneration mit dem Grad der Ulnarabduktion, als Parameter für die motorische Regeneration, kombiniert wird. Vgl. (Heinzel et al., 2021).

5 Zusammenfassung

Hintergrund: Die computerunterstützte Ganganalyse stellt eine gut etablierte und häufig verwendete Evaluationsmethode in verschiedenen murinen Modellen peripherer Nervenverletzungen der hinteren Extremität dar, segmentale Nervenverletzungen der vorderen Extremität wurden jedoch bisher noch nicht damit evaluiert. Die Zielsetzung dieser Arbeit bestand darin, zu untersuchen, ob es sich bei der computerunterstützten Ganganalyse um eine valide Methode handelt, um das Ausmaß der funktionellen Regeneration nach Neurotmesis des Nervus medianus im Rattenmodell zu bestimmen.

Methoden: In zehn männlichen Lewis-Ratten erfolgte eine bilaterale Resektion von 7 mm des Nervus medianus. Auf der rechten Seite wurde der Nervus medianus anschließend mittels eines autologen Transplantats rekonstruiert. Linksseitig wurde der Defekt unüberbrückt belassen und als interne Negativkontrolle verwendet. Über einen zwölfwöchigen postoperativen Beobachtungszeitraum wurden die Ratten jeweils wöchentlich mittels Griffkraft-Test und zweiwöchentlich mittels CatWalk Ganganalyse nachuntersucht. Unmittelbar vor der Euthanasie der Tiere am Ende des Beobachtungszeitraums erfolgte außerdem die elektrophysiologische Untersuchung des rekonstruierten Nervus medianus und des vom ihm innervierten Musculus flexor digitorum superficialis. Die mittels CatWalk erhobenen Gangparameter wurden mit den Ergebnissen des Griffkraft-Tests korreliert. Zusätzlich erfolgte die Korrelationsanalyse der CatWalk Daten sowie der Ergebnisse der elektrophysiologischen Messungen mittels linearer Regression.

Ergebnisse: Eine beginnende Regeneration der motorischen Fähigkeiten, ersichtlich anhand der Ergebnisse des Griffkraft-Tests, war ab der vierten postoperativen Woche feststellbar. Jedoch blieb die Griffkraft der Tiere bis einschließlich der sechsten postoperativen Wochen signifikant ($p < 0,01$) unterhalb der präoperativ gemessenen Werte. Bezüglich der sensiblen Eigenschaften zeigte sich eine signifikante Erholung ($p < 0,05$) des schmerzbezogenen Parameters der Belastungsdauer ab der achten postoperativen Woche. Die Fläche des Pfotenabdrucks auf der rechten Seite war

ab der zehnten postoperativen Woche im Vergleich zur linken Seite signifikant ($p < 0,05$) vergrößert. Gleich mehrere Gangparameter zeigten eine signifikante Korrelation ($p < 0,05$) sowohl mit der durchschnittlichen als auch der maximalen Griffkraft. Zudem korrelierte der schmerzbezogenen Parameter Entlastungsindex signifikant ($p < 0,05$) mit der Amplitude des Muskelsummenaktionspotentials des *Musculus flexor digitorum superficialis*.

Diskussion: Anhand der vorliegenden Arbeit gelang der Nachweis, dass die computerunterstützte Ganganalyse eine valide komplementäre Evaluationsmethode der funktionellen Regeneration infolge der Rekonstruktion segmentaler Nervenverletzungen des Nervus medianus im Rattenmodell darstellt. Anhand von Parametern wie beispielsweise der Fläche des Pfotenabdrucks, der Belastungsdauer der Pfote oder des Entlastungsindex kann die funktionelle Regeneration nach Nervenrekonstruktion mittels autologem Transplantat umfassend bestimmt werden. Zusätzlich ist es möglich, funktionelle Defizite, wie sie infolge der chronischen Denervierung der linken Vorderpfote auftraten, über den gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum nachzuverfolgen. In Form der Ulnarabduktion der Vorderpfoten konnte außerdem ein Parameter identifiziert werden, anhand dessen die Regeneration motorischer Fähigkeiten allein mittels der Ganganalyse quantifiziert werden kann. Zusammengefasst handelt es sich bei der computerunterstützten Ganganalyse somit um eine valide Ergänzung der Methodiken zur Evaluation der funktionellen Regeneration im Nervus medianus Modell der Ratte. Jedoch gilt es in Folgestudien zu untersuchen ob, beziehungsweise inwieweit, die Ergebnisse der CatWalk Ganganalyse mit den Resultaten anderen Evaluationsmethoden, wie beispielsweise dem Semmes-Weinstein-Monofilament-Test korrelieren. Trotz der vielversprechenden Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollte die CatWalk Ganganalyse die anderen, bereits etablierten und bewährten Auswertungsmethoden der peripheren Nervenregeneration nicht vollständig ersetzen. Vielmehr bietet der CatWalk die Möglichkeit, eine Vielzahl von Parametern zu erfassen, die Rückschlüsse auf die Regeneration sensibler und motorischen Nervenanteile erlauben und sollte daher einen Stellenwert als ergänzende Methode zur Evaluation der Nervenregeneration erhalten.

6 Literaturverzeichnis

- ALFORD, J. W. & FADALE, P. D. 2003. Evaluation of postoperative bupivacaine infusion for pain management after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*, 19, 855-61.
- BAO, B. B., QU, D. Q., ZHU, H. Y., GAO, T. & ZHENG, X. Y. 2018. Brain remodeling after chronic median nerve compression in a rat model. *Neural Regen Res*, 13, 704-708.
- BARTON, M. J., STJOHN, J., TATIAN, A., RICHES, J. D., MOGRABY, O. & MAHNS, D. A. 2017. *Morphological and morphometric analysis of the distal branches of the rat brachial plexus*.
- BASSILIOS HABRE, S., BOND, G., JING, X. L., KOSTOPOULOS, E., WALLACE, R. D. & KONOFAS, P. 2018. The Surgical Management of Nerve Gaps: Present and Future. *Ann Plast Surg*, 80, 252-261.
- BATKA, R. J., BROWN, T. J., MCMILLAN, K. P., MEADOWS, R. M., JONES, K. J. & HAULCOMB, M. M. 2014. The need for speed in rodent locomotion analyses. *Anat Rec (Hoboken)*, 297, 1839-64.
- BERGMEISTER, K. D., GROSSE-HARTLAGE, L., DAESCHLER, S. C., RHODIUS, P., BOCKER, A., BEYERSDORFF, M., KERN, A. O., KNESER, U. & HARHAUS, L. 2020. Acute and long-term costs of 268 peripheral nerve injuries in the upper extremity. *PLoS One*, 15, e0229530.
- BERTELLI, J. A., DOS SANTOS, A. R., TALEB, M., CALIXTO, J. B., MIRA, J. C. & GHIZONI, M. F. 2004. Long interpositional nerve graft consistently induces incomplete motor and sensory recovery in the rat. An experimental model to test nerve repair. *J Neurosci Methods*, 134, 75-80.
- BERTELLI, J. A. & MIRA, J. C. 1995. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Methods*, 58, 151-5.
- BERTELLI, J. A., MIRA, J. C., GILBERT, A., MICHOT, G. A. & LEGAGNEUX, J. 1992. Anatomical basis of rat brachial plexus reconstruction. *Surg Radiol Anat*, 14, 85-6.
- BERTELLI, J. A., ORSAL, D. & MIRA, J. C. 1994. Median nerve neurotization by peripheral nerve grafts directly implanted into the spinal cord: anatomical, behavioural and electrophysiological evidences of sensorimotor recovery. *Brain Res*, 644, 150-9.
- BERTELLI, J. A., TALEB, M., MIRA, J. C. & CALIXTO, J. B. 1996. Muscle fiber type reorganization and behavioral functional recovery of rat median nerve repair with vascularized or conventional nerve grafts. *Restor Neurol Neurosci*, 10, 5-12.
- BERTELLI, J. A., TALEB, M., MIRA, J. C. & GHIZONI, M. F. 2006. Functional recovery improvement is related to aberrant reinnervation trimming. A comparative study using fresh or predegenerated nerve grafts. *Acta Neuropathol*, 111, 601-9.
- BERTELLI, J. A., TALEB, M., SAADI, A., MIRA, J. C. & PECOT-DECHAVASSINE, M. 1995. The rat brachial plexus and its terminal branches: an experimental model for the study of peripheral nerve regeneration. *Microsurgery*, 16, 77-85.

- BOIX, J., VON HIEBER, D. & CONNOR, B. 2018. Gait Analysis for Early Detection of Motor Symptoms in the 6-OHDA Rat Model of Parkinson's Disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12.
- BOZKURT, A., SCHEFFEL, J., BROOK, G. A., JOOSTEN, E. A., SUSCHEK, C. V., O'DEY, D. M., PALLUA, N. & DEUMENS, R. 2011. Aspects of static and dynamic motor function in peripheral nerve regeneration: SSI and CatWalk gait analysis. *Behav Brain Res*, 219, 55-62.
- BROOK, G. A., HODDE, D. & KRETSCHMER, T. 2014. Grundlegendes zu Degeneration und Regeneration von Nerven. In: KRETSCHMER, T., ANTONIADIS, G. & ASSMUS, H. (eds.) *Nerven Chirurgie: Trauma, Tumor, Kompression*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- CARR, M. M., BEST, T. J., MACKINNON, S. E. & EVANS, P. J. 1992. Strain differences in autotomy in rats undergoing sciatic nerve transection or repair. *Ann Plast Surg*, 28, 538-44.
- CASAL, D., MOTA-SILVA, E., IRIA, I., ALVES, S., FARINHO, A., PEN, C., LOURENCO-SILVA, N., MASCARENHAS-LEMOS, L., SILVA-FERREIRA, J., FERRAZ-OLIVEIRA, M., VASSILENKO, V., VIDEIRA, P. A., GOYRI-O'NEILL, J. & PAIS, D. 2018. Reconstruction of a 10-mm-long median nerve gap in an ischemic environment using autologous conduits with different patterns of blood supply: A comparative study in the rat. *PLoS One*, 13, e0195692.
- CASAL, D., MOTA-SILVA, E., IRIA, I., PAIS, D., FARINHO, A., ALVES, S., PEN, C., MASCARENHAS-LEMOS, L., FERREIRA-SILVA, J., FERRAZ-OLIVEIRA, M., VASSILENKO, V., VIDEIRA, P. A. & GOYRI-O'NEILL, J. 2020. Functional and Physiological Methods of Evaluating Median Nerve Regeneration in the Rat. *JoVE*, e59767.
- CHEN, S. H., TSAI, Y. J., LIN, C. T., WANG, H. Y., LI, S. F. & LUE, J. H. 2012a. Changes in GABA and GABA(B) receptor expressions are involved in neuropathy in the rat cuneate nucleus following median nerve transection. *Synapse*, 66, 561-72.
- CHEN, S. H., TSAI, Y. J., WANG, H. Y., LIN, C. T., LI, S. F. & LUE, J. H. 2012b. Decreases of glycine receptor expression induced by median nerve injury in the rat cuneate nucleus contribute to NPY release and c-Fos expression. *Life Sci*, 90, 278-88.
- CHENG, H., ALMSTROM, S., GIMENEZ-LLORT, L., CHANG, R., OVE OGREN, S., HOFFER, B. & OLSON, L. 1997. Gait analysis of adult paraplegic rats after spinal cord repair. *Exp Neurol*, 148, 544-57.
- CHHABRA, A., AHLAWAT, S., BELZBERG, A. & ANDRESEIK, G. 2014. Peripheral nerve injury grading simplified on MR neurography: As referenced to Seddon and Sunderland classifications. *Indian J Radiol Imaging*, 24, 217-24.
- COBIANCHI, S., CASALS-DIAZ, L., JARAMILLO, J. & NAVARRO, X. 2013. Differential effects of activity dependent treatments on axonal regeneration and neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Exp Neurol*, 240, 157-67.
- COBIANCHI, S., DE CRUZ, J. & NAVARRO, X. 2014. Assessment of sensory thresholds and nociceptive fiber growth after sciatic nerve injury reveals

- the differential contribution of collateral reinnervation and nerve regeneration to neuropathic pain. *Exp Neurol*, 255, 1-11.
- CROWLEY, S. T., KATAOKA, K. & ITAKA, K. 2018. Combined CatWalk Index: an improved method to measure mouse motor function using the automated gait analysis system. *BMC Res Notes*, 11, 263.
- DAESCHLER, S. C., HARHAUS, L., BERGMEISTER, K. D., BOECKER, A., HOENER, B., KNESER, U. & SCHOENLE, P. 2018. Clinically Available Low Intensity Ultrasound Devices do not Promote Axonal Regeneration After Peripheral Nerve Surgery-A Preclinical Investigation of an FDA-Approved Device. *Front Neurol*, 9, 1057.
- DATTO, J. P., SHAH, A. K., BASTIDAS, J. C., ARHEART, K. L., MARCILLO, A. E., DIETRICH, W. D. & PEARSE, D. D. 2016. Use of the CatWalk Gait Device to Assess Differences in Locomotion between Genders in Rats Inherently and following Spinal Cord Injury. *Dataset Papers in Science*, 2016, 11.
- DE MEDINACELI, L., FREED, W. J. & WYATT, R. J. 1982. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*, 77, 634-43.
- DELLON, A. L. & MACKINNON, S. E. 1989. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery*, 10, 220-5.
- DEUMENS, R., JAKEN, R. J., MARCUS, M. A. & JOOSTEN, E. A. 2007. The CatWalk gait analysis in assessment of both dynamic and static gait changes after adult rat sciatic nerve resection. *J Neurosci Methods*, 164, 120-30.
- DEUMENS, R., MARINANGELI, C., BOZKURT, A. & BROOK, G. A. 2014. Assessing motor outcome and functional recovery following nerve injury. *Methods Mol Biol*, 1162, 179-88.
- EILERS, J. 2019. Nervenzellen. In: BRANDES, R., LANG, F. & SCHMIDT, R. F. (eds.) *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- FILLER, T. J., PERA, F. & ANDERHUBER, F. 2012. Waldeyer - Anatomie des Menschen. In: ANTON, W., FRIEDRICH, A., FRANZ, P. & JOHANNES, S. (eds.) *2 Allgemeine Anatomie*. De Gruyter.
- FOSTER, C. H., KARSY, M., JENSEN, M. R., GUAN, J., ELI, I. & MAHAN, M. A. 2019. Trends and Cost-Analysis of Lower Extremity Nerve Injury Using the National Inpatient Sample. *Neurosurgery*, 85, 250-256.
- GALTREY, C. M. & FAWCETT, J. W. 2007. Characterization of tests of functional recovery after median and ulnar nerve injury and repair in the rat forelimb. *J Peripher Nerv Syst*, 12, 11-27.
- HAASTERT-TALINI, K. 2017. Peripheral Nerve Tissue Engineering: An Outlook on Experimental Concepts. In: HAASTERT-TALINI, K., ASSMUS, H. & ANTONIADIS, G. (eds.) *Modern Concepts of Peripheral Nerve Repair*. Cham: Springer International Publishing.
- HAASTERT-TALINI, K. 2020. Appropriate Animal Models for Translational Nerve Research. In: PHILLIPS, J., HERCHER, D. & HAUSNER, T. (eds.) *Peripheral Nerve Tissue Engineering and Regeneration*. Cham: Springer International Publishing.

- HAMERS, F. P., KOOPMANS, G. C. & JOOSTEN, E. A. 2006. CatWalk-assisted gait analysis in the assessment of spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 23, 537-48.
- HAMERS, F. P., LANKHORST, A. J., VAN LAAR, T. J., VELDHUIS, W. B. & GISPEN, W. H. 2001. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: its application to spinal cord contusion and transection injuries. *J Neurotrauma*, 18, 187-201.
- HANWRIGHT, P. J., RATH, J. L., VON GUIONNEAU, N., HARRIS, T. G. W., SARHANE, K. A., KEMP, S. W. P., HOKE, A., CEDERNA, P. S. & TUFFAHA, S. H. 2019. Stimulated grip strength measurement: Validation of a novel method for functional assessment. *Muscle Nerve*.
- HARE, G. M., EVANS, P. J., MACKINNON, S. E., BEST, T. J., BAIN, J. R., SZALAI, J. P. & HUNTER, D. A. 1992. Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg*, 89, 251-8.
- HARE, G. M., EVANS, P. J., MACKINNON, S. E., BEST, T. J., MIDHA, R., SZALAI, J. P. & HUNTER, D. A. 1993. Walking track analysis: utilization of individual footprint parameters. *Ann Plast Surg*, 30, 147-53.
- HEINZEL, J., LANGLE, G., OBERHAUSER, V., HAUSNER, T., KOLBENSCHLAG, J., PRAHM, C., GRILLARI, J. & HERCHER, D. 2020a. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury - a systematic review. *J Neurosci Methods*, 345, 108889.
- HEINZEL, J., SWIADEK, N., ASHMWE, M., RUHRNOSSL, A., OBERHAUSER, V., KOLBENSCHLAG, J. & HERCHER, D. 2020b. Automated Gait Analysis to Assess Functional Recovery in Rodents with Peripheral Nerve or Spinal Cord Contusion Injury. *J Vis Exp*.
- HEINZEL, J. C., HERCHER, D. & REDL, H. 2020c. The course of recovery of locomotor function over a 10-week observation period in a rat model of femoral nerve resection and autograft repair. *Brain Behav*, e01580.
- HEINZEL, J. C., OBERHAUSER, V., KEIBL, C., SWIADEK, N., LÄNGLE, G., FRICK, H., KOLBENSCHLAG, J., PRAHM, C., GRILLARI, J. & HERCHER, D. 2021. Evaluation of Functional Recovery in Rats After Median Nerve Resection and Autograft Repair Using Computerized Gait Analysis. *Frontiers in Neuroscience*, 14.
- HERCHER, D., KERBL, M., SCHUH, C., HEINZEL, J., GAL, L., STAINER, M., SCHMIDHAMMER, R., HAUSNER, T., REDL, H., NOGRADI, A. & HACOBIAN, A. 2019. Spatiotemporal Differences in Gene Expression Between Motor and Sensory Autografts and Their Effect on Femoral Nerve Regeneration in the Rat. *Front Cell Neurosci*, 13, 182.
- HETZE, S., ROMER, C., TEUFELHART, C., MEISEL, A. & ENGEL, O. 2012. Gait analysis as a method for assessing neurological outcome in a mouse model of stroke. *Journal of Neuroscience Methods*, 206, 7-14.
- HRUSKA, R. E., KENNEDY, S. & SILBERGELD, E. K. 1979. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci*, 25, 171-9.
- IRINTCHEV, A. 2011. Potentials and limitations of peripheral nerve injury models in rodents with particular reference to the femoral nerve. *Ann Anat*, 193, 276-85.

- IRINTCHEV, A., SIMOVA, O., EBERHARDT, K. A., MORELLINI, F. & SCHACHNER, M. 2005. Impacts of lesion severity and tyrosine kinase receptor B deficiency on functional outcome of femoral nerve injury assessed by a novel single-frame motion analysis in mice. *Eur J Neurosci*, 22, 802-8.
- IRVINE, K. A., FERGUSON, A. R., MITCHELL, K. D., BEATTIE, S. B., LIN, A., STUCK, E. D., HUIE, J. R., NIELSON, J. L., TALBOTT, J. F., INOUE, T., BEATTIE, M. S. & BRESNAHAN, J. C. 2014. The Irvine, Beatties, and Bresnahan (IBB) Forelimb Recovery Scale: An Assessment of Reliability and Validity. *Front Neurol*, 5, 116.
- JACKSON, C. M. 1936. Anatomy of the rat. By Eunice Chace Greene. With Foreword by Henry H. Donaldson. Transactions of the American Philosophical Society, Philadelphia, New Series, Volume XXVII, 1935, 370 pp., 339 figures. *The Anatomical Record*, 65, 127-129.
- JOOSTEN, E. A., VELDHUIS, W. B. & HAMERS, F. P. 2004. Collagen containing neonatal astrocytes stimulates regrowth of injured fibers and promotes modest locomotor recovery after spinal cord injury. *J Neurosci Res*, 77, 127-42.
- KAMEDA, T., KANEUCHI, Y., SEKIGUCHI, M. & KONNO, S. I. 2017. Measurement of mechanical withdrawal thresholds and gait analysis using the CatWalk method in a nucleus pulposus-applied rodent model. *J Exp Orthop*, 4, 31.
- KAPPOS, E. A., SIEBER, P. K., ENGELS, P. E., MARIOLO, A. V., D'ARPA, S., SCHAEFER, D. J. & KALBERMATTEN, D. F. 2017. Validity and reliability of the CatWalk system as a static and dynamic gait analysis tool for the assessment of functional nerve recovery in small animal models. *Brain Behav*, 7, e00723.
- KARSY, M., WATKINS, R., JENSEN, M. R., GUAN, J., BROCK, A. A. & MAHAN, M. A. 2019. Trends and Cost Analysis of Upper Extremity Nerve Injury Using the National (Nationwide) Inpatient Sample. *World Neurosurg*, 123, e488-e500.
- KIM, K. J., YOON, Y. W. & CHUNG, J. M. 1997. Comparison of three rodent neuropathic pain models. *Exp Brain Res*, 113, 200-6.
- KIM, S. H. & CHUNG, J. M. 1992. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50, 355-63.
- KLAPKA, N., HERMANN, S., STRATEN, G., MASANNECK, C., DUIS, S., HAMERS, F. P., MULLER, D., ZUSCHRATTER, W. & MULLER, H. W. 2005. Suppression of fibrous scarring in spinal cord injury of rat promotes long-distance regeneration of corticospinal tract axons, rescue of primary motoneurons in somatosensory cortex and significant functional recovery. *Eur J Neurosci*, 22, 3047-58.
- KLOOS, A. D., FISHER, L. C., DETLOFF, M. R., HASSENZAHL, D. L. & BASSO, D. M. 2005. Stepwise motor and all-or-none sensory recovery is associated with nonlinear sparing after incremental spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*, 191, 251-65.
- KÖNIG, R. W., KRETSCHMER, T., PEDRO, M. T., BISCHOFF, C., SCHULTE-MATTLER, W., KELE, H., BÄUMER, P., BENDSZUS, M. & PHAM, M.

2014. Diagnoseverfahren. In: KRETSCHMER, T., ANTONIADIS, G. & ASSMUS, H. (eds.) *Nerven Chirurgie: Trauma, Tumor, Kompression*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- KOOPMANS, G. C., DEUMENS, R., BROOK, G., GERVER, J., HONIG, W. M., HAMERS, F. P. & JOOSTEN, E. A. 2007. Strain and locomotor speed affect over-ground locomotion in intact rats. *Physiol Behav*, 92, 993-1001.
- KOOPMANS, G. C., DEUMENS, R., HONIG, W. M., HAMERS, F. P., STEINBUSCH, H. W. & JOOSTEN, E. A. 2005. The assessment of locomotor function in spinal cord injured rats: the importance of objective analysis of coordination. *J Neurotrauma*, 22, 214-25.
- KRSTIC, R. V. 1988. *Die Gewebe des Menschen und der Säugetiere*, Springer.
- KYRIAKOU, E. I., VAN DER KIEFT, J. G., DE HEER, R. C., SPINK, A., NGUYEN, H. P., HOMBERG, J. R. & VAN DER HARST, J. E. 2015. Automated quantitative analysis to assess motor function in different rat models of impaired coordination and ataxia. *J Neurosci Methods*.
- LAKES, E. H. & ALLEN, K. D. 2016. Gait analysis methods for rodent models of arthritic disorders: reviews and recommendations. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24, 1837-1849.
- LANG, J. 1962. [On connective tissue and blood vessels of the nerves]. *Z Anat Entwicklungsgesch*, 123, 61-79.
- LEBLOND, H., L'ESPERANCE, M., ORSAL, D. & ROSSIGNOL, S. 2003. Treadmill locomotion in the intact and spinal mouse. *J Neurosci*, 23, 11411-9.
- LEMKE, A., PENZENSTADLER, C., FERGUSON, J., LIDINSKY, D., HOPF, R., BRADL, M., REDL, H., WOLBANK, S. & HAUSNER, T. 2017. A novel experimental rat model of peripheral nerve scarring that reliably mimics post-surgical complications and recurring adhesions. *Dis Model Mech*, 10, 1015-1025.
- LIN, C. T., TSAI, Y. J., WANG, H. Y., CHEN, S. H., LIN, T. Y. & LUE, J. H. 2012. Pre-emptive treatment of lidocaine attenuates neuropathic pain and reduces pain-related biochemical markers in the rat cuneate nucleus in median nerve chronic constriction injury model. *Anesthesiol Res Pract*, 2012, 921405.
- LUE, J. H., LEONG, S. M., DAY, A. S., TSAI, Y. J., SHIEH, J. Y. & WEN, C. Y. 2002. Changes in c-Fos protein expression in the rat cuneate nucleus after electric stimulation of the transected median nerve. *J Neurotrauma*, 19, 897-907.
- MACKINNON, S. E. & DELLON, A. L. 1988. Classification of nerve injuries as the basis for treatment In: MACKINNON, S. E. & DELLON, A. L. (eds.) *Surgery of the peripheral nerve*. New York: Thieme.
- MANASSERO, G., REPETTO, I. E., COBIANCHI, S., VALSECCHI, V., BONNY, C., ROSSI, F. & VERCELLI, A. 2012. Role of JNK isoforms in the development of neuropathic pain following sciatic nerve transection in the mouse. *Mol Pain*, 8, 39.
- MANOLI, T., WERDIN, F., GRUESSINGER, H., SINIS, N., SCHIEFER, J. L., JAMINET, P., GEUNA, S. & SCHALLER, H. E. 2014. Correlation analysis of histomorphometry and motor neurography in the median nerve rat model. *Eplasty*, 14, e17.

- MARCHESINI, A., RAIMONDO, S., ZINGARETTI, N., RICCIO, V., BATTISTON, B., PROVINCIALI, M., GEUNA, S. & RICCIO, M. 2018. The amnion muscle combined graft (AMCG) conduits in nerves repair: an anatomical and experimental study on a rat model. *J Mater Sci Mater Med*, 29, 120.
- MILLES, H. 1992. *Chirurgie der peripheren Nerven*, München, Elsevier.
- MILLES, H. 2006. Factors affecting the outcome of peripheral nerve surgery. *Microsurgery*, 26, 295-302.
- MILLES, H., HAUSNER, T., SCHMIDHAMMER, R., TRATTNIG, S. & TSCHABITSCHER, M. 2007. Anatomical structures to provide passive motility of peripheral nerve trunks and fascicles. *Acta Neurochir Suppl*, 100, 133-5.
- MILLES, H. & TSOLAKIDIS, S. 2005. Muscle balance: An important factor for nerve regeneration. *European Surgery*, 37, 234-237.
- MONTE-RASO, V. V., BARBIERI, C. H., MAZZER, N., YAMASITA, A. C. & BARBIERI, G. 2008. Is the Sciatic Functional Index always reliable and reproducible? *J Neurosci Methods*, 170, 255-61.
- NAVARRO, X. 2016. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration and target reinnervation in animal models: a critical overview. *Eur J Neurosci*, 43, 271-86.
- NAVARRO, X., VIVO, M. & VALERO-CABRE, A. 2007. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. *Prog Neurobiol*, 82, 163-201.
- NICHOLS, C. M., MYCKATYN, T. M., RICKMAN, S. R., FOX, I. K., HADLOCK, T. & MACKINNON, S. E. 2005. Choosing the correct functional assay: a comprehensive assessment of functional tests in the rat. *Behav Brain Res*, 163, 143-58.
- OLIVEIRA, K. M. C., PINDUR, L., HAN, Z., BHAVSAR, M. B., BARKER, J. H. & LEPPIK, L. 2018. Time course of traumatic neuroma development. *PLoS One*, 13, e0200548.
- PAN, D., MACKINNON, S. E. & WOOD, M. D. 2019. Advances in the repair of segmental nerve injuries and trends in reconstruction. *Muscle Nerve*.
- PAPALIA, I., TOS, P., STAGNO D'ALCONTRES, F., BATTISTON, B. & GEUNA, S. 2003. On the use of the grasping test in the rat median nerve model: a re-appraisal of its efficacy for quantitative assessment of motor function recovery. *J Neurosci Methods*, 127, 43-7.
- RABL, R., HORVATH, A., BREITSCHAEDEL, C., FLUNKERT, S., ROEMER, H. & HUTTER-PAIER, B. 2016. Quantitative evaluation of orofacial motor function in mice: The pasta gnawing test, a voluntary and stress-free behavior test. *J Neurosci Methods*, 274, 125-130.
- RADTKE, C. 2011. Physiologische Grundlagen der Nervenregeneration. *Praxis der Plastischen Chirurgie: Plastisch-rekonstruktive Operationen Plastisch-ästhetische Operationen Handchirurgie Verbrennungschirurgie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- RANVIER, L.-A. 1878. *Leçons sur l'histologie du système nerveux* Paris : F. Savy.
- REMAK, R. 1838. *Observationes anatomicae et microscopicae de systematis nervosi structura*, Reimer.
- RONCHI, G., MORANO, M., FREGNAN, F., PUGLIESE, P., CROSIO, A., TOS, P., GEUNA, S., HAASTERT-TALINI, K. & GAMBAROTTA, G. 2019. The

- Median Nerve Injury Model in Pre-clinical Research – A Critical Review on Benefits and Limitations. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13.
- RONCHI, G., NICOLINO, S., RAIMONDO, S., TOS, P., BATTISTON, B., PAPALIA, I., VAREJAO, A. S., GIACOBINI-ROBECCHI, M. G., PERROTEAU, I. & GEUNA, S. 2009. Functional and morphological assessment of a standardized crush injury of the rat median nerve. *J Neurosci Methods*, 179, 51-7.
- SEDDON, H. J. 1943. THREE TYPES OF NERVE INJURY. *Brain*, 66, 237-288.
- SESTAKOVA, N., PUZSEROVA, A., KLUKNAVSKY, M. & BERNATOVA, I. 2013. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdiscip Toxicol*, 6, 126-35.
- SHAIKH, S., SHORTLAND, P., LAUTO, A., BARTON, M., MORLEY, J. W. & MAHNS, D. A. 2016. Sensory perturbations using suture and sutureless repair of transected median nerve in rats. *Somatosens Mot Res*, 33, 20-8.
- SINIS, N., HAERLE, M., BECKER, S. T., SCHULTE-EVERSUM, C., VONTHEIN, R., ROSNER, H. & SCHALLER, H. E. 2007a. Neuroma formation in a rat median nerve model: influence of distal stump and muscular coating. *Plast Reconstr Surg*, 119, 960-6.
- SINIS, N., SCHALLER, H. E., BECKER, S. T., LANARAS, T., SCHULTE-EVERSUM, C., MULLER, H. W., VONTHEIN, R., ROSNER, H. & HAERLE, M. 2006. Cross-chest median nerve transfer: a new model for the evaluation of nerve regeneration across a 40 mm gap in the rat. *J Neurosci Methods*, 156, 166-72.
- SINIS, N., SCHALLER, H. E., BECKER, S. T., SCHLOSSHAUER, B., DOSER, M., ROESNER, H., OBERHOFFNER, S., MULLER, H. W. & HAERLE, M. 2007b. Long nerve gaps limit the regenerative potential of bioartificial nerve conduits filled with Schwann cells. *Restor Neurol Neurosci*, 25, 131-41.
- SINIS, N., SCHALLER, H. E., SCHULTE-EVERSUM, C., SCHLOSSHAUER, B., DOSER, M., DIETZ, K., ROSNER, H., MULLER, H. W. & HAERLE, M. 2005. Nerve regeneration across a 2-cm gap in the rat median nerve using a resorbable nerve conduit filled with Schwann cells. *J Neurosurg*, 103, 1067-76.
- STÖBEL, M., REHRA, L. & HAASTERT-TALINI, K. 2017. Reflex-based grasping, skilled forelimb reaching, and electrodiagnostic evaluation for comprehensive analysis of functional recovery-The 7-mm rat median nerve gap repair model revisited. *Brain Behav*, 7, e00813.
- STROMBERG, M. & HEBEL, R. 1976. *Anatomy of the Laboratory Rat*, The Williams and Wilkins Company
- SUNDERLAND, S. 1951. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*, 74, 491-516.
- SUNDERLAND, S. 1965. The connective tissues of peripheral nerves. *Brain*, 88, 841-54.
- TERRENCE, C. F., FROMM, G. H. & TENICELA, R. 1985. Baclofen as an analgesic in chronic peripheral nerve disease. *Eur Neurol*, 24, 380-5.
- TOS, P., RONCHI, G., PAPALIA, I., SALLEN, V., LEGAGNEUX, J., GEUNA, S. & GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. 2009. Chapter 4: Methods and protocols

- in peripheral nerve regeneration experimental research: part I- experimental models. *Int Rev Neurobiol*, 87, 47-79.
- TSAI, Y. J., LEONG, S. M., DAY, A. S., WEN, C. Y., SHIEH, J. Y. & LUE, J. H. 2004. A time course analysis of the changes in neuropeptide Y immunoreactivity in the rat cuneate nucleus following median nerve transection. *Neurosci Res*, 48, 369-77.
- TSAI, Y. J., LIN, C. T., HUANG, C. T., WANG, H. Y., TIEN, L. T., CHEN, S. H. & LUE, J. H. 2009. Neuropeptide Y modulates c-Fos protein expression in the cuneate nucleus and contributes to mechanical hypersensitivity following rat median nerve injury. *J Neurotrauma*, 26, 1609-21.
- VAREJÃO, A. 2003. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Experimental Neurology*, 183, 695-699.
- VAREJAO, A. S., CABRITA, A. M., MEEK, M. F., BULAS-CRUZ, J., MELO-PINTO, P., RAIMONDO, S., GEUNA, S. & GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. 2004a. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma*, 21, 1652-70.
- VAREJAO, A. S., CABRITA, A. M., PATRICIO, J. A., BULAS-CRUZ, J., GABRIEL, R. C., MELO-PINTO, P., COUTO, P. A. & MEEK, M. F. 2001. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: gait kinematics. *Microsurgery*, 21, 383-8.
- VAREJAO, A. S., MELO-PINTO, P., MEEK, M. F., FILIPE, V. M. & BULAS-CRUZ, J. 2004b. Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurol Res*, 26, 186-94.
- VELA, F. J., MARTINEZ-CHACON, G., BALLESTIN, A., CAMPOS, J. L., SANCHEZ-MARGALLO, F. M. & ABELLAN, E. 2020. Animal models used to study direct peripheral nerve repair: a systematic review. *Neural Regen Res*, 15, 491-502.
- VLEGGERT-LANKAMP, C. L. 2007. The role of evaluation methods in the assessment of peripheral nerve regeneration through synthetic conduits: a systematic review. Laboratory investigation. *J Neurosurg*, 107, 1168-89.
- VRINTEN, D. H. & HAMERS, F. F. 2003. 'CatWalk' automated quantitative gait analysis as a novel method to assess mechanical allodynia in the rat; a comparison with von Frey testing. *Pain*, 102, 203-9.
- WANG, H., SPINNER, R. J., SORENSON, E. J. & WINDEBANK, A. J. 2008. Measurement of forelimb function by digital video motion analysis in rat nerve transection models. *J Peripher Nerv Syst*, 13, 92-102.
- WEBER, R. A., PROCTOR, W. H., WARNER, M. R. & VERHEYDEN, C. N. 1993. Autotomy and the sciatic functional index. *Microsurgery*, 14, 323-7.
- WILCOX, M., BROWN, H. & QUICK, T. 2020. Clinical Outcome Measures Following Peripheral Nerve Repair. In: PHILLIPS, J., HERCHER, D. & HAUSNER, T. (eds.) *Peripheral Nerve Tissue Engineering and Regeneration*. Cham: Springer International Publishing.
- WOOD, M. D., KEMP, S. W., WEBER, C., BORSCHER, G. H. & GORDON, T. 2011. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. *Ann Anat*, 193, 321-33.
- YE, H., LUE, J. H., WANG, H. Y., HUANG, C. T. & TSAI, Y. J. 2008. Synaptic relationships between induced neuropeptide Y-like immunoreactive

terminals and cuneothalamic projection neurons in the rat cuneate nucleus following median nerve transection. *J Chem Neuroanat*, 36, 27-32.

ZOU, Y., XU, F., TANG, Z., ZHONG, T., CAO, J., GUO, Q. & HUANG, C. 2016. Distinct calcitonin gene-related peptide expression pattern in primary afferents contribute to different neuropathic symptoms following chronic constriction or crush injuries to the rat sciatic nerve. *Molecular pain*, 12, 1744806916681566-1744806916681566.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde an der Klinik für Hand-, Plastische, Rekonstruktive und Verbrennungschirurgie unter Betreuung von PD. Dr. med. Jonas Kolbenschlag durchgeführt. Die Durchführung der Experimente erfolgte am Ludwig Boltzmann Institut für Experimentelle und Klinische Traumatologie (LBI Trauma) in Wien, Österreich. Als Ansprechpartner und Mentor vor Ort fungierte Herr Dr. David Hercher, Leiter der Arbeitsgruppe „Neuroregeneration“.

Die Konzeption der Studie erfolgte eigenständig durch mich in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. David Hercher, Gruppenleiter am LBI Trauma, Herrn Prof. Dr. Johannes Grillari, Direktor des LBI Trauma sowie Herrn PD. Dr. med. Jonas Kolbenschlag.

Die operativen Eingriffe wurden von mir mit Unterstützung durch Frau Dr. med. vet. Claudia Keibl eigenständig durchgeführt.

Die CatWalk Ganganalyse sowie das dafür nötige Training der Tiere wurde von mir mit Unterstützung durch Frau Viola Oberhauser durchgeführt. Die Klassifizierung der CatWalk Daten erfolgte durch Frau Viola Oberhauser, wobei ein kleinerer Teil der Daten von mir klassifiziert wurde.

Die Griffkraft Tests wurden von mir in Zusammenarbeit mit Herrn Gregor Längle oder Frau Helen Frick durchgeführt, bzw. bei einigen Gelegenheiten durch die beiden zuletzt Genannten zusammen durchgeführt.

Die Euthanasie der Tiere am Ende des Beobachtungszeitraums und Entnahme der Muskeln wurden von mir eigenständig durchgeführt. Die elektrophysiologischen Untersuchungen wurden durch Frau Nicole Swiadek, B.Sc. M.Sc. in Zusammenarbeit mit mir durchgeführt.

Die statistische Analyse der Daten erfolgte eigenständig durch mich.

Das Manuskript der beigefügten Publikation wurde durch mich eigenständig verfasst, das Korrekturlesen erfolgte durch Herrn Dr. David Hercher und Fr. Dr.

Cosima Prahm. Die endgültige Version wurde von allen beteiligten Autoren korrekturgelesen und freigegeben.

Ich versichere die vorliegende Dissertationsschrift selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Die Korrektur des Manuskripts erfolgte durch Herrn PD. Dr. med. Jonas Kolbenschlag.

Tübingen, den

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

HEINZEL, J. C., OBERHAUSER, V., KEIBL, C., SWIADEK, N., LÄNGLE, G., FRICK, H., KOLBENSCHLAG, J., PRAHM, C., GRILLARI, J. & HERCHER, D. 2021. Evaluation of Functional Recovery in Rats After Median Nerve Resection and Autograft Repair Using Computerized Gait Analysis. *Frontiers in Neuroscience*, 14

Danksagung

Mein Dank gilt Univ.-Prof. Dr. A. Daigeler, der mir ermöglicht hat in seiner Abteilung zu promovieren und mich bei diesem Vorhaben stets unterstützt hat.

Meinem Doktorvater und Mentor PD Dr. med. J. Kolbenschlag gilt mein besonderer Dank für sein enormes Vertrauen, das bedingungslose Vorschießen desselbigen, seine große Unterstützung und sein stets offenes Ohr für mich und meine Fragen.

Ein großes Dankeschön möchte ich aussprechen an alle Kollegen des Ludwig Boltzmann Instituts für Experimentelle und Klinische Traumatologie, die mich indirekt und direkt bei diesem Vorhaben unterstützt haben. Mein besonders großer Dank gebührt hierbei Viola Oberhauser, Claudia Keibl, Nicole Swiadek, Helen Frick, Gregor Längle, James Ferguson, Gabriele Leinfellner, Susanne Drechsler und Julia Gilge. Bei Karin Brenner möchte ich mich ausdrücklich für ihre Arbeit an und mit den Versuchstieren bedanken. Ich bin ihr auch sehr dankbar für alles was ich von ihr lernen durfte.

Professor Dr. J. Grillari danke ich für sein großes Vertrauen in mich und seine Unterstützung meines Vorhabens. Prof. Dr. H. Redl danke ich ebenfalls für sein großes Vertrauen und die Unterstützung auf meinem Weg seit mehr als fünf Jahren.

Meinem Freund und Mentor David Hercher möchte für alles danken, was er mir ermöglicht hat und für seine Unterstützung meines Werdegangs danken. Ich werde ihm dafür stets verbunden sein.

Mein abschließender Dank gilt meinen Eltern sowie meiner Familie und meinen Freunden, ohne deren bedingungslose Unterstützung und Liebe ich niemals diesen Weg hätte beschreiten können.