

Aus dem Zentrum für operative Medizin  
Der Philipps – Universität Marburg  
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. P. Griss  
Klinik für Unfallchirurgie  
Direktor Prof. Dr. L. Gotzen

**Histologische Studie zum zeitlichen Heilungsablauf der  
subtrochantären Mehrfragmentfraktur des Schaffemurs mit Hilfe der  
polychromen Sequenzmarkierung**

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

Dem Fachbereich Humanmedizin  
der Philipps – Universität Marburg  
vorgelegt von

Michael Buhl  
aus Fulda

Marburg 2001

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps – Universität  
Marburg am 01.03.2001, gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. R. Arnold

Referent: Prof. Dr. F. Baumgaertel

Correferent: Prof. Dr. D. Jones

In guter Erinnerung meinem Vater gewidmet.

# **Inhaltsverzeichnis**

<b><u>1. Einleitung</u></b>	<b>Seite 1</b>
1.1. Osteosynthese und Knochenheilung	1
1.2. Frakturentstehung und -heilung	1
1.2.1. Frakturentstehung	1
1.2.2. Frakturheilung	2
1.2.2.1. Die primäre Frakturheilung	2
1.2.2.2. Die sekundäre Frakturheilung	3
1.2.3. Die Dehnungstheorie	3
1.3. Die polychrome Sequenzmarkierung	4
1.4. Die Vascularität des Knochens und Fraktur	4
1.5. Die Vascularisation unter der Fixationsplatte	5
1.6. Die biologische Osteosynthese	6
1.7. Problemstellung und offene Fragen	7
<b><u>2. Material und Methode</u></b>	<b>8</b>
2.1. Vorausgegangenes Experiment	8
2.1.1. Frakturmodell	8
2.1.2. Implantate	8
2.1.2.1. DCP – Dynamic Compression Plate	8
2.1.2.2. PCP – Pointed Contact Plate	9
2.1.3. Operationsmethoden	9
2.1.4. Zeiteinteilung und Markierung	10
2.1.5. Histologische Verarbeitung	10
2.1.6. Radiographien	11
2.2. Qualitative Analyse der Präparate	11
2.2.1. Fluoreszenzmikroskopie	12
2.2.2. Auswahl der Präparate	13
2.2.2.1. Querschnitte	13
2.2.2.2. Längsschnitte	13
2.2.3. Mikrophotographie	14
2.2.4. qualitative Beurteilung des Plattenlagers	14
2.3. morphometrische Analyse der Präparate	15
2.3.1. Bildanalyse	15
2.3.1.1. Messung der Querschnitte	15
2.3.1.2. Messung der Längsschnitte	16
2.3.2. Computer-Makro der Bildanalyse	16
2.4. Datenverarbeitung	17
2.4.1. Addition der Meßwerte	17

2.4.2. Descriptive Statistik	17
2.4.3. Beurteilende Statistik	17
<b><u>3. Resultate</u></b>	<b>19</b>
3.1. Qualitative Auswertung der Präparate	19
3.1.1. Frakturzone	19
3.1.1.1. Anatomische Reposition mit DCP	19
3.1.1.2. Indirekte Reposition mit DCP (Gruppe B)	21
3.1.1.3. Indirekte Reposition mit PCP (Gruppe C)	22
3.1.1.4. Zeitlicher Verlauf der Frakturheilung	23
3.1.2. Plattenlager	26
3.2. Quantitative Analyse	27
3.2.1. proximale Querschnitte	28
3.2.2. Radiographien der mittleren Querschnitte	29
3.2.3. Fluoreszenz der mittleren Querschnitte	32
3.2.4. Distale Querschnitte	33
3.2.5. Radiographien der proximalen Längsschnitte	34
3.2.6. Fluoreszenz der proximalen Längsschnitte	35
3.2.7. Auswertung der Fluoreszenz der distalen Längsschnitte	40
<b><u>4. Diskussion</u></b>	<b>41</b>
4.1. Bewertung der Methodik	41
4.1.1. Erfassen der Knochenneubildung	41
4.1.2. Einteilung der Meßregionen	43
4.2. Bewertung der Meßmethodik	44
4.3. Bewertung der Ergebnisse	45
4.3.1. Die Knochenneubildung in den ersten 4 Wochen	45
4.3.2. Die Knochenneubildung nach 8 Wochen	46
4.3.2. Die Knochenneubildung nach 12 Wochen	46
4.3.4. Fluoreszenz und Bruchfestigkeit	47
4.3.5. Plattenferne Knochenneubildung / mediale Abstützung	48
<b><u>5. Schlußfolgerungen</u></b>	<b>49</b>
<b><u>6. Zusammenfassung</u></b>	<b>52</b>
<b><u>7. Literaturliste</u></b>	<b>53</b>
<b><u>8. Anhang</u></b>	<b>57</b>
8.1. Macro Biofix II	57
8.2. Macro IMCOsum	60
8.3. Einzelwertgraphiken	61
8.3.1. Fluoreszenz mittlere Querschnitte	61

8.3.2. Radiographie proximale Längsschnitte	62
8.3.3. Fluoreszenz proximale Längsschnitte Plattenrand	63
8.3.4. Fluoreszenz proximale Längsschnitte Plattenmitte	64
<b><u>Akademische Lehrer</u></b>	<b>65</b>
<b><u>Danksagung</u></b>	<b>66</b>

# **1. Einleitung**

## **1.1. Osteosynthese und Knochenheilung**

Ziel der operativen Osteosynthese ist die Heilung der Fraktur bei möglichst früher Mobilisation der betroffenen Extremität. Die Vorteile sind erhaltene Beweglichkeit durch frühfunktionelle Bewegungsübungen, Vermeidung einer Inaktivitätsosteoporose, Erhaltung der Muskelmasse, geringeres Risiko einer Thrombose und seltener auftretende Pneumonien. Das Resultat der operativen Osteosynthese wird einerseits durch die Mechanik im Frakturbereich, andererseits durch die Zirkulationsverhältnisse beeinflusst. Ein Implantat übernimmt dabei zum einen die Stützfunktion des Knochens und zum anderen schafft es die für die Knochenbruchheilung erforderliche Stabilität in der Frakturzone. In der Vergangenheit wurde dabei dem Konzept der absoluten operativen Stabilisierung mit primärer Knochenheilung und radiologisch korrekter Reposition der Fragmente Priorität eingeräumt. Dabei wurde auf die Vascularität der Weichteile und des Knochens nicht ausdrücklich geachtet. Diese Ansicht hat sich in den letzten Jahren geändert. Man hat erkannt, daß eine Heilung komplizierter Frakturen nur dann optimal möglich ist, wenn eine gute Durchblutung des Gewebes eine Regeneration nach dem Trauma erlaubt. Daher gewinnen heute zirkulationsschonende Operationsverfahren immer mehr Gewicht.

## **1.2. Frakturentstehung und -heilung**

### **1.2.1. Frakturentstehung**

Durch eine exzessive Krafteinwirkung kommt es zu einer Überlastung und in deren Folge zu einer Fraktur des Knochens. Vom Beginn der Deformation an speichert der Knochen die auf ihn einwirkende Kraft, und gibt sie im Zeitpunkt des Bruches explosionsartig frei. Der dabei entstehende Kavitationseffekt führt zu einem erheblichen Traumaverstärkung des umliegenden Weichteilgewebes durch Entstehung eines Unterdruckes im Markraum mit ausgedehnter Zerstörung der Markraumgefäße und mit Einsaugen der umgebenden Weichteile. Die Rissfortpflanzungsgeschwindigkeit beträgt dabei ca. 500 m/s, die Bruchdauer ca. 400 Mikrosekunden (Moor 1989).

### 1.2.2. Frakturheilung

Durch die frakturbedingte Instabilität kann der Knochen seine Aufgabe als Stützorgan nicht mehr erfüllen, sodaß Reparaturvorgänge notwendig werden. Die Zellen des Knochenmarks und die Zellen aus Endost, Haversschen Kanal und Periost werden aktiviert und reagieren mit Knochenresorption, Knochenaufbau oder der Bildung von Bindegewebe und Knorpel.

Die Osteoblasten differenzieren aus den fibroblastenähnlichen Osteoprogenitorzellen, die seit der Geburt persistieren. Sie sezernieren kollagene Fibrillen und Osteoid, welches später, ebenfalls durch die Osteoblasten, mineralisiert wird. Nach diesem Einmauern der Zellen ändert sich der Stoffwechsel und man spricht von Osteozyten. Diese stehen untereinander durch Canaliculi in Verbindung und sind für den Mineralaustausch mit dem Extrazellularraum verantwortlich.

Die Osteoklasten, die vermutlich aus Monocyten entstehen, sind Riesenzellen, die für die Knochenresorption zuständig sind. Mit ihrem Bürstensaum umfassen sie eine Knochenzone, die sie durch Säure und Enzyme auflösen. Dadurch bilden sie die Howship'schen Lakunen oder die Bohrkanäle beim Haversschen Umbau.

Grundsätzlich werden zwei Arten der Frakturheilung unterschieden, zum einen die primäre und zum anderen die sekundäre Frakturheilung.

#### 1.2.2.1. Die primäre Frakturheilung

Der Begriff der primäre Frakturheilung wurde wahrscheinlich erstmals von Lane 1914 genannt. Gemeint ist die direkte Durchbauung des Frakturspaltes ohne Resorption der Fragmentenden und der anschließenden Kallusbildung. Die Frakturlinie verschwindet im Röntgenbild langsam, ohne daß eine weitere Knochenreaktion zu erkennen wäre. Deshalb sprach Danis (1949) von einem Verschweißen der Fraktur. Schenk und Willenegger (1963) konnten die histomorphologischen Grundlagen hierfür am Hunderadius nach Osteotomie mit nachfolgender Kompressionsplattenosteosynthese zeigen. In den folgenden Jahren konnten verschiedene Autoren diesen Vorgang für andere Tierspezies und den Menschen bestätigen. Die Voraussetzung für diese Art der Knochenheilung ist die genaue Adaptation und Ruhigstellung der Frakturzone. Dies wird durch eine Kompressionsosteosynthese, bei der die Fragmentenden z.B. durch eine Platte fixiert werden, erreicht (Perren et al. 1971). Weiterhin muß die Vitalität der Fragmente erhalten sein. Natürlich lassen sich die Fragmentenden nicht immer perfekt adaptieren, sodaß häufig kleine Spalten vorhanden sind. Diese werden jedoch durch Lamellenknochen direkt aufgefüllt. Man spricht hier von Spaltheilung im Gegensatz zur Kontaktheilung, bei der sich zwei Fragmentenden direkt berühren.



Bei der Kontaktheilung "fräsen" Osteoklasten sogenannte Bohrkanäle longitudinal von einem Fragment durch die Fraktur in das andere. Kapillaren sprossen ein und Osteoblasten füllen diesen entstandenen Kanal konzentrisch mit Lamellenknochen wieder auf, sodaß das Haver`sche System direkt wieder hergestellt wird. Dabei entsteht eine Verzapfung der Frakturzone. Mit Hilfe der Fluoreszenzmarkierung läßt sich der Verlauf des Knochenumbaus gut beobachten (Rahn und Perren 1971). Nach ca. 5-8 Wochen ist der Frakturspalt verschwunden.

Bei der Spaltheilung sprossen Kapillaren aus Endost, Volkmann`schen oder Haver`schen Kanälen oder Periost in den Spalt ein. Osteoblasten bauen Lamellenknochen oder bei etwas größeren Spalten Faserknochenbälkchen auf. Diese Lamellen liegen meist quer zur Längsachse des Knochens und werden durch Haver`schen Umbau in die eigentliche Struktur des Knochens integriert. (Schenk und Willenegger 1964, Willenegger 1971, Wolff 1988)

#### 1.2.2.2. Die sekundäre Frakturheilung

Diese Art der Frakturheilung findet man bei der spontanen Heilung oder bei geringerer Fixation der Fragmente. Zuerst verbreitern Osteoklasten den Frakturspalt, indem sie die Fragmentenden reduzieren. Dann bildet sich auf beiden Seiten je eine Kallusmanschette aus, die etwas hinter der Frakturzone beginnt. Langsam wachsen beide Manschetten aufeinander zu, bis die Fraktur überbrückt ist. Dem Kallusaufbau geht zuerst ein Hämatom voraus, das dann durch Granulationsgewebe ersetzt wird. Diesem folgt dann kollagenes Bindegewebe, das durch Faserknochen abgelöst wird. Dieser wird im weiteren Verlauf durch lamellären Knochen verstärkt. Der Faserknorpel im interfragmentären Bereich verkalkt allmählich von den Fragmentenden her, engt den Frakturspalt ein, und versteift damit die Fraktur. Dadurch wird der knöcherne Durchbau der Frakturzone möglich (Willenegger 1971). Bis der Haver`sche Umbau die alte Knochenstruktur wiederhergestellt hat, vergehen mehrere Jahre.

#### 1.2.3. Dehnungstheorie

Die bei der Knochenheilung zuerst stattfindende Resorption an den Fragmentenden dient der Erhöhung der Dehnbarkeit des Gewebes im Frakturspalt. Lange Röhrenknochen stellen einen langen Hebel dar, der auf die Fraktur einwirkt. Je größer der Frakturspalt ist, um desto mehr Gewebe verteilt sich die einwirkende Hebelkraft, sodaß die maximale Dehnbarkeit nicht überschritten wird. Ist der Frakturspalt zu klein, wird die verträgliche Dehnbarkeit überschritten. Die nächste Stufe der Kallusbildung

wird nicht erreicht. Die Gewebedehnbarkeit von Granulationsgewebe liegt bei 100%, bei ausdifferenziertem Bindegewebe 15%, bei Knorpel 10% und bei lamellären Knochen 2% (Yamada 1970). Das jeweils vorausgehende Gewebe sorgt für die Stabilität, die benötigt wird, um die nächste Stufe zu erreichen. Die Differenzierungskaskade und die veränderten Hebelverhältnisse erleichtern die Frakturheilung (Perren und Cordey 1977, 1980).

Bei der operativen Stabilisierung kann aufgrund der fehlenden interfragmentären Bewegung gleich eine direkte Knochenheilung ablaufen, da die dehnbareren Vorstufen des Kallusgewebes übersprungen werden. Bei multifragmentären Brüchen wird die Bewegung auf viele Spalten verteilt. Die Bewegungstoleranz der Kallusformation wird dadurch selten überschritten, weswegen diese Frakturen häufig gute Heilungsergebnisse zeigen (Perren 1992).

### **1.3. Die polychrome Sequenzmarkierung**

Die Calcifizierung von Knochen läßt sich mit Fluochromen zeigen. Fluochrome bilden mit dem Kalzium einen fluoreszierenden Chelatkomplex, der in den mineralisierenden Knochen eingelagert wird. Bei der Sequenzmarkierung werden unterschiedliche Farben in bestimmten Zeitabständen hintereinander verabreicht, sodaß in der Farbfolge der zeitliche Verlauf der Mineralisation codiert ist. Dadurch kann der zeitliche Ablauf einer Knochenheilung verfolgt werden. Dafür eignen sich z. B. die Farben Calceingrün, Xylenolorange und Tetracyclin. Diese Farben erfüllen das generelle Gebot keine lokale oder generalisierte Toxizität zu besitzen, die die Knochenbildung und somit den Versuch beeinflussen könnten. Sie werden außerdem nicht durch die Fixierung und die Einbettung in Methylmethacrylat verändert. Dadurch können intravital markierte Knochen auch mit anderen histologischen Färbungen versehen werden (Rahn 1976).

### **1.4. Die Vascularität des Knochens und Fraktur**

Die Arteriae nutriciae und ihre Verzweigungen ziehen in der Markhöhle als Längsarterien bis in metaphysäre Bereiche und anastomosieren mit den Metaphysenarterien. Von den Längsarterien ziehen zahlreiche Gefäße zur Peripherie, wo sie mit den Periostarterien anastomosieren. Die Periostarterien stehen in enger Verbindung mit den muskulären Arterien. Sie versorgen im Normalfall nur das äußere Drittel der Kortikalis, die restliche Kortikalis wird von medullär versorgt.

Wie in Versuchen mit Kaninchen gezeigt wurde, führt ein reines Deperiostieren des Knochen zu keiner schwer wiegenden Veränderung der kortikalen Durchblutung (Gunst

1979). Die physiologische Blutversorgung des Knochens erfolgt zum größten Teil zentrifugal (von medullär nach kortikal). Werden die Gefäße im Markraum durch eine Fraktur zerstört, so stellt die gesteigerte Durchblutung von periostal in der ersten Heilungsphase der Fraktur den Beginn des Heilungsprozesses dar (Rhineland 1968). Im weiteren Heilungsverlauf bilden sich die medullären Gefäße wieder aus und hypertrophieren, so daß sie die Blutversorgung der Kortikalis wieder übernehmen können. Die kortikale Devitalisierung bei nicht intakter medullärer Versorgung ist umso stärker, je ausgedehnter die periostalen Weichteile geschädigt sind (Schweiberer et al. 1977).

Berggren et al. (1982) gehen in ihrem Konzept der dualen Blutversorgung davon aus, daß durch den Druckgradienten zwischen medullärem und periostalem Gefäßsystem die inneren zwei Drittel von medullär versorgt werden. Bei Verlust der medullären Gefäße ändert sich der Druckgradient und die Kortikalis kann allein von periostal versorgt werden. Dann stellen die Anastomosen zu den Muskelarterien die Blutversorgung der Kortikalis sicher.

## **1.5. Die Vascularisation unter der Fixationsplatte**

Eine Osteosyntheseplatte soll die frakturbedingte Instabilität kompensieren. Die Wirkung der Plattenosteosynthese beruht in einer interfragmentären Druckbelastung bei gleichzeitiger Verhinderung einer Überdehnung des Kallusgewebes. (s.h. Dehnungstheorie). Unter der Platte zeigt sich dabei häufig eine Porosierung (früher auch Spongiosierung genannt) mit nachfolgendem Remodelling der Kortikalis. Diese Osteoporose stellt eine quantitative Verminderung der Kortikalis durch Knochenabbau dar. Zusätzlich ist die Mineraldichte in der verbliebenen Kortikalis reduziert, und das Kollagenfibrillengerüst verliert seine geordnete Struktur (Gördes 1974). Dieser Prozeß schreitet von endostal nach periostal fort (Refior et al. 1975, Gördes et al. 1975, Paavolainen et al. 1978). Die Ursache der Porosierung liegt in einer temporären Vascularitätsstörung mit Devitalisierung des Knochens.

Die Vermutung, daß die Kompression der Kortikalis dafür verantwortlich sei, widerlegten Coutts et al. (1975). Weiterhin konnten Matter et al. (1974) eine Fremdkörperreaktion und den Einfluß der Schraubkräfte als Ursache ausschließen.

Einige Autoren hielten die "stress protection" der Kortikalis durch die Platte mit funktioneller Anpassung im Sinne des Wolff'schen Transformationsgesetzes für den Grund der Osteoporose (Kinzl et al. 1974, Refior et al. 1975, Moyon et al. 1978). Denn es konnte gezeigt werden, daß die Biegefähigkeit des Knochens durch Metallimplantate auf der Plattenseite um  $\frac{3}{4}$ , auf der Gegenseite jedoch nur um  $\frac{1}{3}$  reduziert wird. Die Osteoporose wurde also als Inaktivitätsosteoporose erklärt.

Cordey (1985) konnte allerdings mit der Zweibalkentheorie beweisen, daß die immer unter der Platte lokalisierte Osteoporose und die Neutralachse, die im Sinne des Wolff'schen Transformationsgesetzes Ursache der Porose sein sollten, nur übereinstimmen, wenn die Platte auf der Zugseite des Knochens liegt. Daraus folgt, daß keine Korrelation zwischen Entlastung und Porose besteht.

Die derzeitige Vorstellung ist, daß die Durchblutung der Kortikalis unter einer Fixationsplatte in den ersten beiden Wochen nach Fixation nahezu vollständig unterbrochen wird, wodurch die Osteoporose verursacht wird (Gunst 1979, Kunze 1985, Gautier 1991). Dabei ist der Perfusionsausfall eng mit der Kontaktgröße und der Gestaltung der Auflagefläche der Platte verknüpft. Bleiben auf der Unterseite der Platte Aussparungen (z. B. bei der Limited Contact - Dynamic Compression Plate [LC - DCP] und der Pointed Contact Plate [PCP]), bleibt in diesem Bereich das Periost funktionstüchtig. Die Osteoporose mit Remodelling wird durch erhaltene Vascularisation vermindert oder tritt nicht auf (Gautier et al. 1986, 1991, Tepic et al. 1992, Hönig et al. 1992).

## **1.6. Die biologische Osteosynthese**

Der von Brunner und Weber (1981) geprägte und von Ganz verbreitete Begriff der "biologischen" Osteosynthese umfaßt im wesentlichen die Schonung der Vascularität beim operativen Eingriff, um die Vitalität der Fragmente zu erhalten. Verwendet werden die gleichen Implantate, aber die Operation wird mit anderen Techniken durchgeführt. Die Wiederherstellung von Länge und Achse des frakturierten Knochens ist wie bei anatomischer Reposition das Ziel. Eine exakte Reposition der einzelnen Fragmente erfolgt jedoch nur dort, wo keine Denudierung und Vaskularitätsstörung die Folge wäre. Mit den Techniken der indirekten Reposition (Mast 1989), Ligamentotaxis (Vidal 1979) und der überbrückenden Plattenosteosynthese soll dieses Ziel erreicht werden. Die gute Durchblutung der Fragmente zur Förderung des Heilungsprozesses hat, neben der Stabilität der Osteosynthese, höchste Priorität. Bei multifragmentären Frakturen erscheint die biologische Osteosynthese aufgrund der Dehnungstheorie besonders geeignet (Perren et al. 1993). Bei diesen Verletzungen haben sich gute Heilungserfolge der sogenannten biologischen Osteosyntheseverfahren eingestellt. Perren et al. haben vorgeschlagen, diese Methode biologische Abstützung (bio-butress) zu nennen, da der Begriff der "biologische Osteosynthese" unglücklich gewählt ist.

Baumgaertel (1993) entwickelte ein Frakturmodell für eine subtrochantäre Mehrfragmentfraktur am Schaffemur, um die unterschiedlichen Heilungsvorgänge nach anatomischer und biologischer Reposition zu untersuchen. Zusätzlich wurde die

Auswirkung der durchblutungsschonenden "point contact plate" (PCP) auf die biologische Osteosynthese untersucht. Die Experimente erbrachten folgende Ergebnisse:

1. Die direkte, "anatomische" Reposition führte im Gegensatz zur indirekten Reposition zur exakteren Wiederherstellung der ursprünglichen Knochenform.
  2. Die indirekte Reposition führte zu einer unkalkulierbaren primären Stabilität.
  3. Die indirekte Reposition führte zu besseren Knochenheilungswerten, besonders bei Verwendung der PCP.
  4. Die indirekte Reposition führte zu höherer Bruchfestigkeit, besonders bei Verwendung der PCP.
  5. Makroradiographisch und mikroangiographisch zeigten sich nach indirekter Reposition weniger Knochenheilungsstörungen als nach anatomischer Reposition. Bei Verwendung der PCP konnten die Ergebnisse signifikant verbessert werden.
- Insgesamt zeigte sich in radiologischer, biomechanischer und morphologischer Hinsicht die biologische Überbrückungsosteosynthese mit PCP der Überbrückungsosteosynthese mit DCP und besonders der anatomischen Kompressionsosteosynthese überlegen.

## **1.7. Problemstellung und Offene Fragen**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die noch nicht untersuchten histologischen Aspekte des Experimentes von Baumgaertel (1993) anhand des vorliegenden Materials zu klären.

Folgende Fragen sollten untersucht werden:

- Gibt es Unterschiede im zeitlichen Heilungsablauf nach biologischer und anatomischer Reposition ?
- Unterscheiden sich die Versuchsgruppen in der Menge der Knochenneubildung ?
- Wo ist die Lokalisation der Knochenneubildung ?
- Welchen Einfluß hat die PCP im Vergleich zur DCP auf die Knochenheilung ?
- Lassen sich in der Histologie Hinweise auf die Ursache für die höhere Bruchfestigkeit und Steifigkeit nach biologischer Reposition finden ?

## **2. Material und Methode**

Die während der Untersuchung von Baumgaertel (1993) gewonnenen histologischen Präparate der Femora von 35 Schafen mit Mehrfragmentfrakturen wurden histologisch und radiographisch bearbeitet. Insgesamt wurden aus mehreren tausend histologischen Präparaten und Radiographien je 630 ausgewählt und ausgewertet. Zusätzlich wurden davon 2520 Dias hergestellt und auf die Lokalisation und den zeitlichen Ablauf der Knochenheilung untersucht.

### **2.1. Vorausgegangenes Experiment**

Der Aufbau des Experimentes wird im folgenden erläutert.

#### **2.1.1. Frakturmodell**

Als Frakturmodell diente eine subtrochantäre Mehrfragmentfraktur. Durch bicorticale und longitudinale Osteotomien und mehrere Bohrlöcher wurde der Knochen in einer definierten Zone geschwächt. Über 2 Schanzschrauben wurde mit einem Fixateur externe ein Biegemoment auf den Knochen gebracht. Mit einer Dreipunktzange wurde der Knochen in 2 Hauptfragmente, mindestens 2 Nebenfragmente und mehrere Kleinfragmente gebrochen.

#### **2.1.2. Implantate**

Als Implantate für die Osteosynthese wurden entweder eine DCP (dynamische Kompressionsplatte) oder eine PCP (point contact plate) als 90° Winkelplatten verwendet. (Baumgaertel 1993)

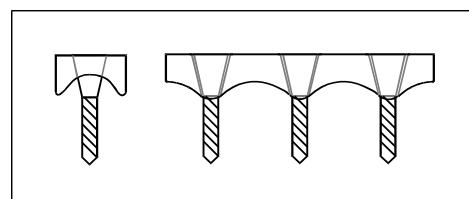
##### **2.1.2.1. DCP - Dynamic Compression Plate**

Die DC - Platte war eine Abwandlung der Standardkinderhüft - Rechtwinkelplatte aus AO - Implantatstahl (ISOTC 150 5832/1). Es handelte sich um eine Spanngleitlochplatte, die den Dimensionen des Schaffemurs entsprechend gewählt wurde. Als Kortikalisschrauben wurden 4,5 mm und als Zugschrauben 3,5 mm AO - Schrauben verwendet.

### 2.1.2.2. PCP - Pointed Contact Plate

Als zweites Implantat wurde eine Experimentalplatte mit minimaler Kontaktfläche (PCP - Pointed Contact Plate) getestet. Dieses Implantat wurde am AO Forschungsinstitut, Davos, Schweiz entwickelt. Die Grundform entsprach der oben erwähnten Kinderhüftplatte. Der Schaftanteil unterscheidet sich jedoch grundlegend von der DCP. Die Löcher haben eine konische Form (Konus 1:20). Die Schraubenköpfe besitzen dieselbe Form, so daß eine Verblockung beim Einschrauben entsteht. Dadurch entsteht das Prinzip eines Fixateur interne. Desweiteren ist der Plattenschaft in der Art eines Wellenprofils geformt. Zusätzlich ist die Platte in der Querachse halbmondförmig gestaltet. Daraus resultiert, daß die Plattenunterfläche nur punktuell aufliegt. Das Periost wird dadurch nur an einigen Stellen komprimiert und nicht mehr perfundiert.

Durch das Verblocken der konischen Schraubenköpfe (dem Prinzip des Fixateur interne) sind die Platten - Schrauben - Einheiten so stabil, daß nur unicortikale Schrauben verwendet werden mußten. Dadurch blieb die Gegenkortikalis unberührt.



**Abb. 2** Schemazeichnung der PCP  
Quer- und Längsansicht

### 2.1.3. Operationsmethoden

Gruppe A: 12 Schafe wurden mit anatomischer Reposition und mit einer dynamischen Kompressionsplatte versorgt. Die Fraktur wurde freigelegt und das Hämatom zur Darstellung des Frakturgebietes ausgeräumt. Größere Nebenfragmente wurden durch Zugschrauben fixiert.

Gruppe B: 12 Schafe wurden mit indirekter Reposition und mit einer dynamischen Kompressionsplatte versorgt. Der laterale Schaftanteil wurde lediglich für die Plattenaufgabe minimal freigelegt. Eine Darstellung der Fraktur erfolgte nicht. Die Reposition erfolgte durch Ligamentotaxis. Die Traumatisierung des Muskelmantels wurde so gering wie möglich gehalten. In dieser Gruppe gab es einen nicht Methode bedingten Ausfall.

Gruppe C: 12 Schafe wurden mit indirekter Reposition und mit der PC - Platte versorgt. Die Reposition erfolgte wie in Gruppe B. (Baumgaertel 1993)

"Eselbrücke" für die Gruppenbezeichnungen:

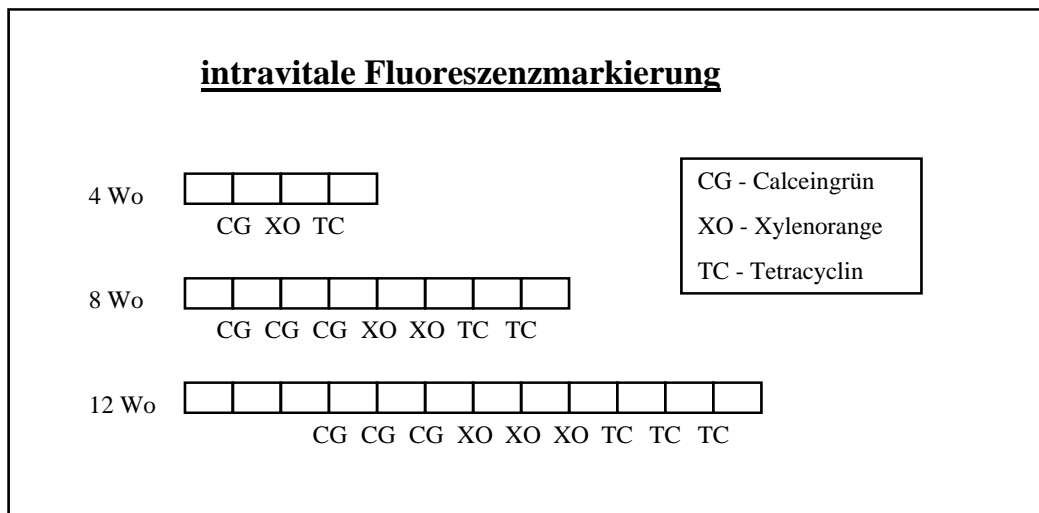
**A - Anatomisch**

**B - Biologisch**

**C - Circulationsschonend**

### 2.1.4. Zeiteinteilung und Markierung

Um den zeitlichen Heilungsablauf und die Aktivität der Knochenneubildung in den Gruppen A, B und C darzustellen, sind die Versuchstiere in Untergruppen zu je 4 Schafen mit 4, 8 und 12 Wochen postoperativer Lebenszeit unterteilt worden. Mit Fluochromen wurde die Knochenmineralisation nach dem Schema der polychromen Sequenzmarkierung intravital markiert:



**Abb. 3** Intravitale Fluoreszenzmarkierung. Dargestellt ist die Verwendung der Fluochrome in den Untergruppen (4, 8 und 12 Wochen).

### 2.1.5. Histologische Verarbeitung

Die explantierten Femora mußten für die späteren histologischen Untersuchungen konserviert und in Stücke zertrennt werden. Hierzu wurden die Knochen in Methylmethacrylat (MMA) eingebettet.

Zur Konservierung wurden die Femora zuerst in 40% igem Alkohol fixiert und dann mit 80%, 96% und absolutem Alkohol entwässert. Die Behandlungen mit den jeweiligen Chemikalien erfolgten für je eine Woche.

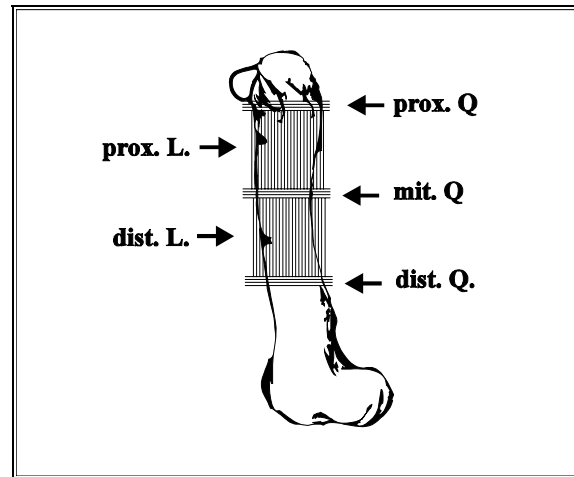
Als Zwischenmedium vor der Einbettung in MMA wurde Xylol verwendet. Die Einbettung in MMA erfolgte in drei Stufen:

- MMA I      100 ml MMA
- MMA II     100 ml MMA + 2g Dibenzolperoxyd
- MMA III    100 ml MMA + 2g Dibenzolperoxyd + 25 ml Plastoid-N

Vor der Polymerisation des MMA III bei Zimmertemperatur im Wasserbad wird es im Kühlschrank für 3-4 Wochen vorpolymerisiert.



Der MMA-Block wurde mit einer Diamantsäge (1600 von Leitz) in ca. 500 µm dicke Präparate geschnitten, wobei der Femur in drei Gruppen von je 4 Querschnitten und zwei Gruppen von unterschiedlich vielen sagittalen Längsschnitten zerteilt wurde (Abb. 2). Die Längsschnitte wurden im 90° Winkel zur Osteosyntheseplatte erstellt. Die proximale Quergruppe liegt über, die mittlere im unteren Anteil und die distale unter der eigentlichen Frakturzone. Die proximalen Längsschnitte stellen die Frakturzone dar, die distalen die Knochenstrukturen unter der Osteosyntheseplatte ohne Fraktur. Die für die Mikroskopie ausgewählten Schnitte wurden mit einer semiautomatischen Schleifmaschine (Struers) auf ca. 100 µm Dicke reduziert. In einem weiteren Schritt wurden sie zwischen zwei Glasplatten auf die erforderlichen 60 µm geschliffen.



**Abb. 4** Histologische Schnittserien

### 2.1.6. Radiographien

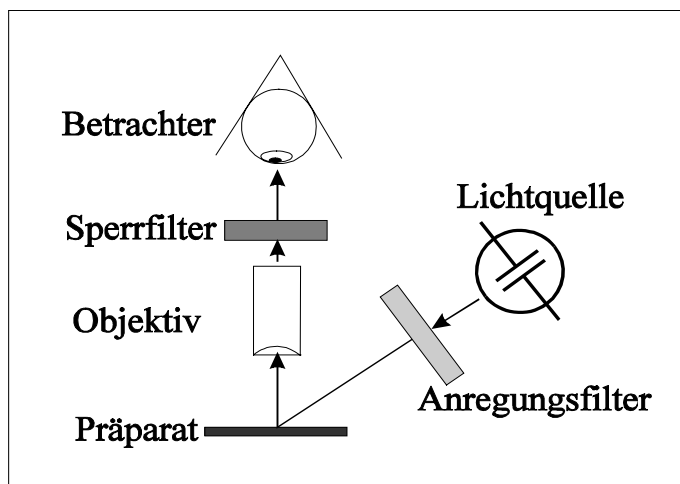
Von den Schnittserien der Femora wurden Kontaktradiographien (auch: Makroradiographien) mit dem Faxitron 304 erstellt. Als Film wurde der Structurix D4, Größe 24/30 cm verwendet, der eine 30fach bessere Auflösung als eine herkömmliche Film-Folien-Kombination hat. Für die Minderung des Streustrahlenschleiers sorgte ein Aluminiumfilter mit 0.5 mm Stärke. Die Präparate wurden 5 Minuten mit 30 kV und einem Film-Fokus-Abstand von 40 cm belichtet.

### 2.2. Qualitative Analyse der Präparate

Es wurden Kontaktradiographien von allen vorhandenen Schnitten beurteilt. Die daraus ermittelten interessanten Bereiche histologisch genauer begutachtet. In der qualitativen Beurteilung wurde die Knochenheilung in den 3 Gruppen untersucht und die Parameter für die morphometrische Auswertung definiert. Zusätzlich wurden die Präparate für die quantitative Analyse ausgesucht.

### 2.2.1. Fluoreszenzmikroskopie

Die Präparate wurden mit der Methode der Auflichtmikroskopie untersucht. Das Erregerlicht fällt dabei im 45° Winkel auf das Präparat. Im Vergleich zur Durchlichtmikroskopie ist so die Lichtausbeute bei der Fluoreszenzmikroskopie besser, da das Emissionslicht nicht durch das Präparat selber gefiltert wird und ein Sperrfilter mit geringer Absorption gewählt werden kann.



**Abb. 5** Prinzip der Auflichtfluoreszenzmikroskopie

Als Lichtquelle wurde der Quecksilberhöchstdruckbrenner HBO 50 verwendet. Für die verwendeten Fluochrome sind folgende Filterkombinationen benutzt worden:

Fluorochrom:	Excitationsfilter:	Anregungslicht:	Sperrfilter:
Calceingrün	BP 485, FT 510	Blaulicht	OG1c (Gelbfilter) + KP 540
Xylenolorange	BP 546, FT 580	Grünlicht	orangeroter Filter
CG, XO + Tetracyclin	BP 490/500, FT 510 + spez. UV - Lampe	UV + Blaulicht	OG1c

**Tab. 1** Verwendete Filterkombinationen.

Der Emissionsbereich von Tetracyclin überschneidet sich mit denen von Calceingrün und Xylenolorange, sodaß bei der Messung von Tetracyclin ein Anteil von Calceingrün oder Xylenolorange mitgemessen wird, wodurch ein systematischer Fehler entsteht. Daher sind Calceingrün und Xylenolorange nur für eine quantitative Auswertung geeignet.

### 2.2.2. Auswahl der Präparate

Für die quantitative Auswertung wurden Präparate aus drei Gruppen von Querschnitten und den zwei Gruppen von Längsschnitten verwendet. Von allen ausgewählten Schnitten wurden sowohl die Radiographien als auch die Fluoreszenzpräparate untersucht.

#### 2.2.2.1. Querschnitte

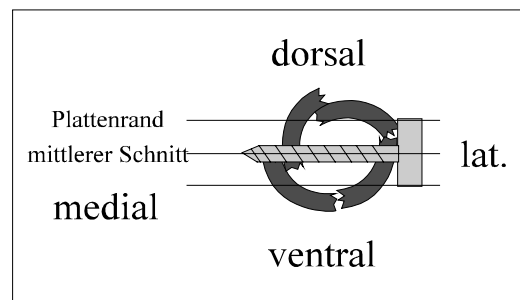
Aus den je vier Schnitten der proximalen, mittleren und distalen Querschnitte wurde nach dem Zufallsprinzip je ein Präparat ausgesucht.

#### 2.2.2.2. Längsschnitte

Die Unterschiede in den drei Schafgruppen waren im Bereich von dorsolateral über lateral nach ventrolateral zu erwarten. Nur in der Gruppe A wurde das Gewebe im gesamten Operationsgebiet im Rahmen der Reposition und Fixation manipuliert. In den Gruppen B und C erstreckte sich die für die Reposition benötigte Manipulation der Fragmente hauptsächlich auf die laterale Seite, wo später die Mitte der Fixationsplatte zu liegen kam. Dorsolateral und ventrolateral wurde das Gewebe so wenig wie möglich irritiert.

Gruppe C unterscheidet sich von Gruppe B durch die Verwendung der PCP. Unterschiede in der Durchblutung, und somit in der Menge der Knochenneubildung, waren also im Bereich des Plattenlagers zu erwarten.

Anhand der Schraubenlöcher, die sowohl im Makroschnitt als auch in der Radiographie gut zu sehen waren, wurde der Schnitt, der direkt unter der Plattenmitte lag, ausgewählt. Desweiteren wurden die beiden histologischen Präparate, die das Gewebe unter dem jeweiligen Plattenrand darstellten, ausgesucht. Da die Breite der Fixationsplatten 11 mm und die Dicke eines histologischen Schnittes, addiert zum Verlust durch die Stärke des Sägeblattes, ca. 900 µm betrug, lag der fünfte Längsschnitt, vom Mittelschnitt ausgehend, knapp unter dem Plattenrand (Abb. 4).



**Abb. 6** Einteilung der Längsschnitte

### **2.2.3. Mikrofotografie**

Alle histologischen Schnitte wurden fotografiert, um den Informationsverlust durch das Ausbleichen der Fluochrome während einer längeren Auswertungszeit zu verhindern. Die erstellten Dias konnten dann beliebig lange betrachtet und ausgewertet werden. Voraussetzung für die quantitative Auswertung war, daß alle Präparate mit der gleichen Belichtung und Vergrößerung fotografiert wurden.

Als Fotoapparat wurden eine Canon F1 mit Balgengerät und als Objektiv ein 63 mm Luminarobjektiv verwendet, das direkt am Balgengerät montiert war. Dadurch projizierte das Objektiv das Objekt direkt auf die Filmebene und war somit wegen seiner geringen Vergrößerung für Übersichtsaufnahmen gut geeignet. Als Film für die Fluoreszenzbilder wurde ein Fujichrome 400 (Tageslicht geeignet) verwendet. Die Dias der Radiographien der jeweiligen Präparate wurden ebenfalls mit der gleichen Vergrößerung aufgenommen. Die Ausleuchtung der Radiographien erfolgte mit einer Neonröhre. Als Film wurde ein Ilford Pan F mit 50 ASA verwendet.

### **2.2.4. Qualitative Beurteilung des Plattenlagers**

Anhand der Makroradiographien der Längsschnitte wurden zum einen die Auflagepunkte der PCP bzw. die Auflagefläche der DCP und zum anderen die Schraubenlöcher aller 3 Hauptgruppen begutachtet. Bei Auffälligkeiten wurden die histologischen Präparate als Zusatzinformation ebenfalls zu Rate gezogen. Bei den Auflagepunkten interessierte die Struktur der Kortikalis in Bezug auf Osteolyse und Osteoporose. Diese Veränderungen wurde falls vorhanden deskriptiv festgehalten. Die Schraubenlöcher wurden in den Radiographien auf Osteolyse und ihren vermutlichen Halt in der Kortikalis hin untersucht. Der Halt wurde durch die Kontur der Schraube in der Kortikalis definiert, d.h. das Schraubenloch mußte scharfkantig und nicht durch Osteolyse erweitert sein.

## 2.3. Morphometrische Analyse der Präparate

### 2.3.1. Bildanalyse

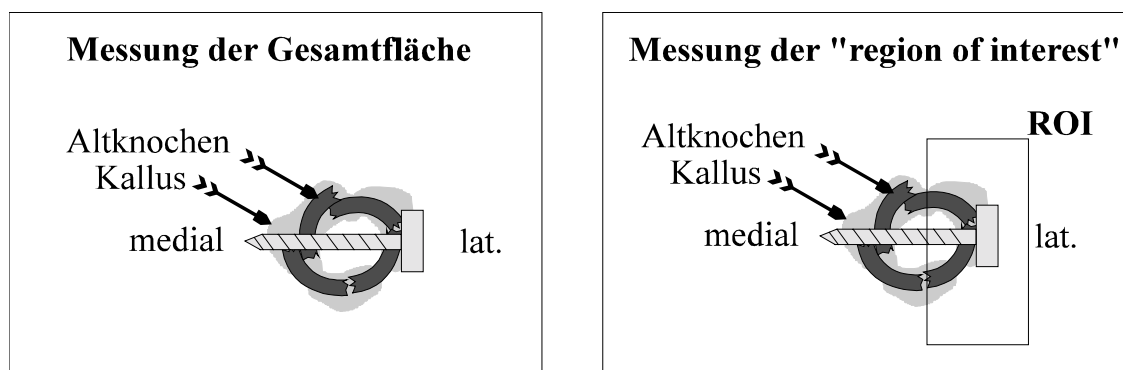
Für die Quantifizierung wurde das Bildanalyse - System IMCO 1000 mit Soft- und Hardware von der Firma Kontron Elektronik GmbH verwendet. Die Dias wurden über eine Schwarz/Weiß - Videokamera von Ikegami aufgenommen und vom IMCO Programm digitalisiert. Als Hardware wurde ein spezieller Bildrechner der Firma Kontron verwendet, der zusätzlich einen Rechner mit einem 32 Bit 80386 CPU der Intel Corp. als "Host - Gerät" benutzt.

Alle Bilder wurde im Online-Modus entsprechend ihrer morphologischen Einteilung ausgerichtet. Gleichzeitig fand das Abgleichen der Grauwertstufen statt. Die hellste Fläche des Dias wurde gerade als letzte Graustufe, die erfaßt und differenziert werden konnte, eingestellt. Dadurch wurden die für das Auge nur noch als schwarz zu erkennenden Flächen nicht mehr digital in Graustufen getrennt. Desweiteren wurde der Meßablauf in einem Makro gespeichert (s.h. Anhang), wodurch der Meßablauf standardisiert wird. Der Vergrößerungsfaktor der Videokamera wurde für alle Bilder konstant gehalten.

#### 2.3.1.1. Messung der Querschnitte

Von einem Präparat wurden acht Meßwerte ermittelt:

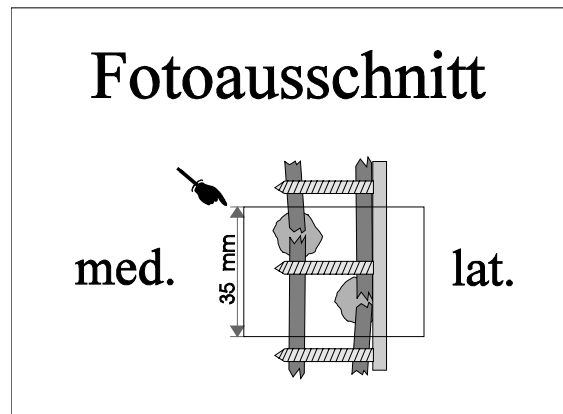
In den Radiographien wurde die Fläche des Gesamtknochens (alter und neuer Knochen zusammen) und des alten Knochens gemessen (Abb. 6). Desweiteren wurden in einer "region of interest" der lateralen (plattennahen) Bildhälfte beide Meßwerte wiederholt (Abb. 7 + 8). Die "Region of interest" umfaßt das Operationsgebiet und Plattenlager (s. a. Abschnitt 2.2.2.2.). Von den Fluoreszenzdiass wurde zum einen die Aktivität von Calceingrün im Gesamtbild und zum anderen in derselben "region of interest" wie in der Radiographie gemessen. Für Xylenolorange wurden die gleichen Messungen vorgenommen.



**Abb. 7+8** Darstellung der Meßflächen in den Querschnitten

### 2.3.1.2. Messung der Längsschnitte

Von den Längspräparaten wurde jeweils ein Ausschnitt fotografiert, der quer zur Längsachse der Femura lag. Dadurch wurde gewährleistet, daß die gesamte Breite des Knochens, die durch unterschiedliche Knochendicke und Kallusbildung stark variierte, im Bild enthalten war. Die Höhe des Bildausschnittes betrug für jedes Bild 35 mm. Für alle Präparate wurde dadurch gewährleistet, daß die Vergrößerung durch das Fotografieren identisch war.



**Abb. 8** Fotoausschnitt aus den Längsschnitten

Bei den Längsschnitten wurde wie bei den Querschnitten in den Radiographien die Fläche des Gesamtknochens (alter und neuer Knochen zusammen) und des alten Knochens gemessen. Desweiteren wurden in der "region of interest" der lateralen Bildhälfte beide Meßwerte wiederholt. Von den Fluoreszenzdiagrammen wurde wie bereits bei den Querschnitten beschrieben die Aktivität für Calceingrün und Xylenolorange im Gesamtbild und der "region of interest" ermittelt.

### 2.3.2. Computer-Makro der Bildanalyse

Ein Computer-Makro ist ein Programm, das Befehle speichert und diese bei Aufruf ausführt. Das Makro "Biofix II" ist sowohl für die Auswertung der Querschnitte als auch der Längsschnitte verwendet worden. Es handelt sich dabei um einen teilautomatisierten Ablauf, in dem zuerst die korrekte Positionierung und Ausrichtung der Präparate und die Abgleichung der Blendeneinstellung der Kamera vom Untersucher vorgenommen werden. Desweiteren wurden das Abgleichen der Grauwerte und damit das Bestimmen der zu messenden Fläche interaktiv vom Untersucher vollzogen.

Die eigentliche Messung der Fläche führte der Computer nach Identifikation der einzelnen Flächen im Bild durch. Die Identifikation konnte vom Untersucher kontrolliert werden. ( Makro "Biofix II" s.h. Anhang)

## **2.4. Datenverarbeitung**

### **2.4.1. Addition der Meßwerte**

Innerhalb eines Bildes gab es viele Einzelpunkte und Flächen, in denen Fluoreszenz auftrat und gemessen wurde. Die Software legte alle Meßwerte als Einzeldaten in einem File ab, sodaß eine Addition der Werte erfolgen mußte. Dies geschah mit Hilfe des Makros "IMCOsum" im Programm Winword 2.0c der Microsoft Corp. (s.h. Anhang)

### **2.4.2. Descriptive Statistik**

Für die Berechnung und Darstellung der Meßwerte in den Graphiken wurde das Programm Excel 4.0 der Microsoft Corp. verwendet. Aus den Meßwerten für Gesamtknochen und dem alten Knochen wurde der Wert neuer Knochen durch Subtraktion gewonnen. Aus den Werten für das Gesamtbild und der plattennahen Bildhälfte konnten die Werte für die plattenferne Bildhälfte errechnet werden.

Die Werte für den neuen Knochen, Calceingrün und Xylenolorange wurden jeweils durch den Wert für den alten Knochen dividiert, um die unterschiedliche Kortikalisstärke der Versuchstiere und die Bildung von Sequestern in die Beurteilung miteinzubeziehen.

Die Darstellung der Werte erfolgte zuerst in einer Einzelwertdarstellung für alle Daten. Da es in jeder den Längsgruppe zwei Schnitte gab, die am Plattenrand lagen, wurden diese Werte gemittelt.

Zur Demonstration der zeitliche Entwicklung der Radiographiewerte für neuen und alten Knochen wurde der Median der Schafgruppen verwendet.

Um den zeitlichen Verlauf der Fluoreszenzkumulation innerhalb einer der Hauptgruppen A, B und C zu zeigen, wurden die Werte der einzelnen Schafe innerhalb der Vier-, Acht- und Zwölfwochenuntergruppe gemittelt. Die Farben Calceingrün und Xylenolorange wurden nicht getrennt gezeigt. Die Punkte der Meßwerte wurden durch Geraden miteinander verbunden. In der dritten Dimension wurden die Vier-, Acht- und Zwölfwochenuntergruppen einer Hauptgruppe dargestellt.

### **2.4.3. Beurteilende Statistik**

Eine weitere Bearbeitung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm RS 1. Der Zusammenhang zwischen der gemessenen Querschnittfläche (neuer und alter Knochen) und die von Baumgaertel gemessene Bruchfestigkeit und Steifigkeit des Knochens

wurden auf ihre Beziehung zueinander untersucht. Desweiteren wurde die Fluoreszenzaktivität in den mittleren Querschnitten, dividiert durch die Fläche des alten Knochens, auf ihre Beziehung zur Bruchfestigkeit und Steifigkeit hin untersucht.

In den Längsschnitten wurde der Zusammenhang zwischen der gesamten fluoreszenzmarkierten Knochenfläche (Calceingrün und Xylenolorange) und der Bruchfestigkeit untersucht. Berechnet wurden die Varianzen der Faktoren Zeit und operativer Versorgung in Bezug auf die Bruchfestigkeit und Steifigkeit unter den jeweiligen Aspekten für neuer, alter Knochen und Fluoreszenz.



## 3. Resultate

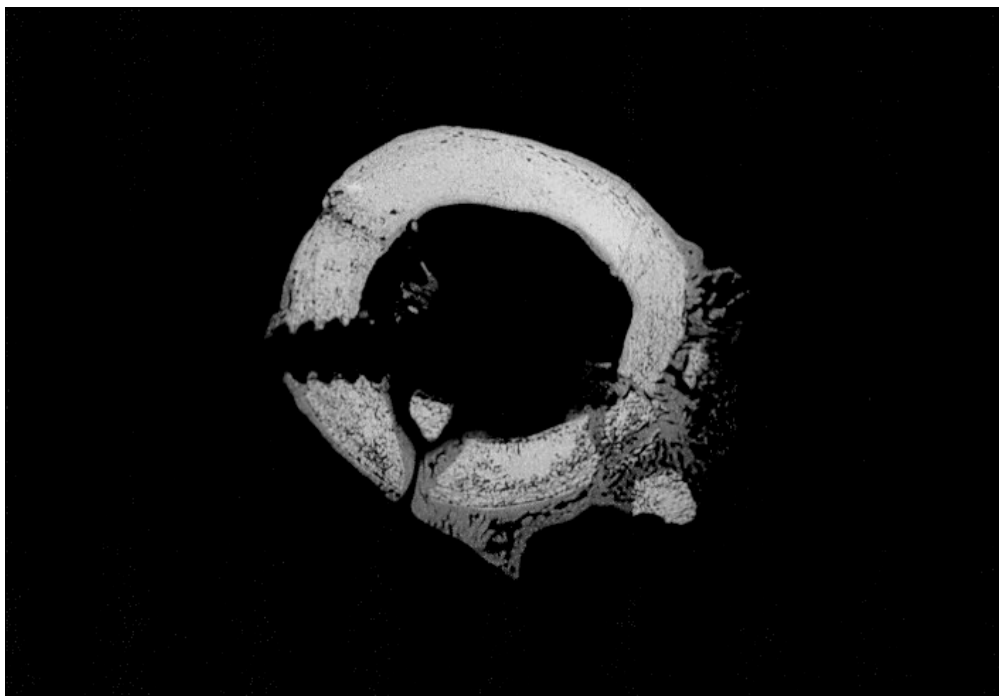
### 3.1. qualitative Auswertung der Präparate

#### 3.1.1. Frakturzone

##### 3.1.1.1. Anatomische Reposition mit DCP (Gruppe A)

Die Fragmentreposition der Gruppe A (anatomische Reposition) sollte, wie bei anatomischer Osteosynthese gefordert, die ursprüngliche Kortikalisform und den medullären Kanal wiederherstellen. Dies konnte in den Quer- und Längsschnitten nachgewiesen werden.

Der Kallus bildete sich hauptsächlich interfragmentär, aber auch periostal lag den Fragmenten ein dünner Kallussum auf. Insgesamt vergrößerte sich der Gesamtquerschnitt jedoch nicht wesentlich. Endostal fand sich kaum Kallus.



**Abb. 8** Anatomische Reposition. Die alte Kortikalisform war wiederhergestellt. Es bildete sich wenig Kallus. Die Kortikalis war in großen Bereichen porotisch und im Remodelling begriffen. Der Frakturspalt bei 7 Uhr war nicht überbrückt. (Kontakt-radiographie nach 12 Wochen)

In den Längsschnitten zeigte sich das gleiche Bild wie in den Querschnitten, die ursprüngliche Kortikalisform und der medulläre Kanal wurden wie gefordert wiederhergestellt. Auf der plattennahen Seite zeigte sich die Kallusbildung hauptsächlich interfragmentär. Endostal und periostal war kaum Kallus zu erkennen.

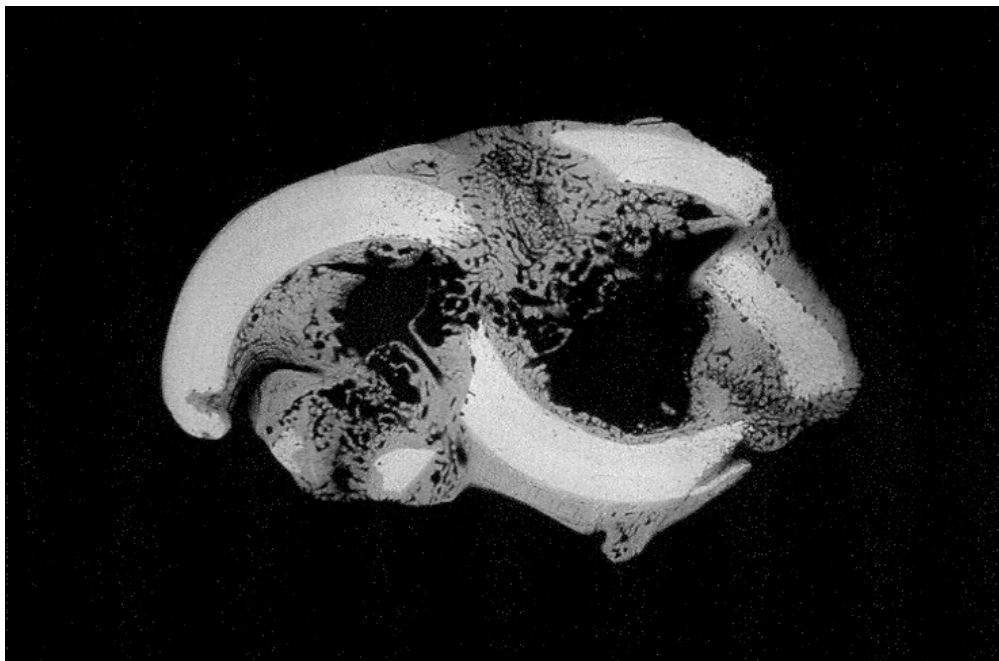
Auf der plattenfernen Seite zeigte sich sowohl interfragmentär als auch periostal eine Kallusbildung, die endostal deutlich geringer ausgeprägt war.

Im zeitlichen Verlauf über 4, 8 und 12 Wochen nahm die Kallusbildung zu, wobei sich in der Vierwochengruppe insgesamt nur spärlich Kallus zeigte. In der Achtwochengruppe war die Kallusmenge auf der plattennahen Seite im Vergleich zur plattenfernen deutlich geringer. Die Anbindung einzelner Fragmente durch Kallus war auch nach 8 Wochen in einigen Fällen noch spärlich. Dies galt besonders für die plattennahe Präparathälfte, in der auch einige Sequester zu finden waren. Auch in den Zwölfwochengruppen waren noch nicht alle Frakturspalten überbrückt, die Kallusmenge zum Teil noch sehr gering ausgeprägt. (s.h. auch Abb.8)

### 3.1.1.2. Indirekte Reposition mit DCP (Gruppe B)

Die Fragmente wurden, wie im Versuchsaufbau gefordert, nicht anatomisch reponiert. Die Frakturzone stellte sich auch nach indirekter Reposition immer noch als Trümmerzone dar und der ursprüngliche medulläre Kanal war größtenteils nicht mehr erkennbar. Die Breite der Frakturspalten betrug zum Teil mehrere Millimeter. Diese großen Distanzen waren jedoch bereits nach 8 Wochen durch die starke Kallusbildung überbrückt. Der Querschnitt des Knochens in der Frakturzone hatte sich stark vergrößert. Die interfragmentäre Kallusbildung war ausgeprägt.

Durch die zum Teil stark verdrehten Fragmente war die Einteilung in endostal und periostal erschwert. Im Bereich einer gedachten idealisierten Kortikalis mit Einbeziehung der Fragmente war die endostale Knochenneubildung gegenüber der periostalen stärker ausgeprägt.



**Abb. 9** Indirekte Reposition. Die ursprüngliche Knochenform war nicht wiederhergestellt. Große Frakturspalten wurden überbrückt, wobei dies erst vor kurzem geschehen war (dunkle, wenig mineralisierte Knochenstrukturen in der Mitte der Frakturspalte). Die Kortikalis war porotisch kaum verändert. (Kontaktradiographie nach 12 Wochen)

In den Längsschnitten zeigte sich ebenfalls eine Trümmerzone, die häufig mit vielen kleinen Knochensplittern durchsetzt war. Die großen Frakturspalten waren auch hier zu erkennen. Insgesamt war die Kallusbildung stark ausgeprägt, wobei auch hier die Einteilung in end- oder periostal schwerfiel. Die interfragmentäre Knochenneubildung überbrückte schon nach 8 Wochen große Frakturspalten. Ein Unterschied zwischen der Knochenneubildung der beiden Kortikales war nicht deutlich ausgeprägt.

Im zeitlichen Verlauf war eine Zunahme der Knochenneubildung stark ausgeprägt, wobei bereits in der Vierwochengruppe eine deutliche Kallusbildung vorhanden war. In den Zwölfwochengruppen hatte der Mineralisationsgrad des neuen Knochens (in den Makroradiographien dargestellt) stellenweise fast den Stand der alten Kortikalis erreicht.

### 3.1.1.3. Indirekte Reposition mit PCP (Gruppe C)

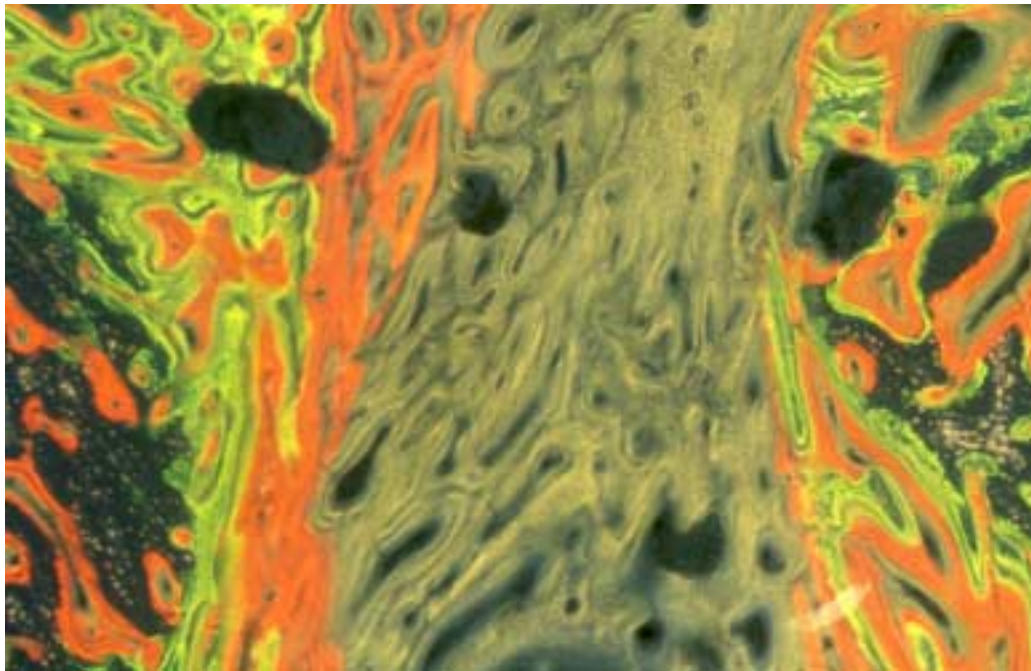
Hier zeigte sich von seiten der Reposition, Kallusbildung und -verteilung ein ähnliches Bild wie bei der biologischen Reposition mit DCP. Qualitativ lassen sich im Heilungsverhalten zwischen den Gruppen B und C keine Unterschiede festhalten. Jedoch war die Kallusbildung in der Vierwochengruppe C (mit PCP) stärker ausgeprägt und die Mineralisation etwas weiter fortgeschritten. Auch in der Acht- und Zwölfwochengruppe war der Mineralisationsgrad des Knochens der 12 Schafe insgesamt noch weiter fortgeschritten als dies in der Gruppe B der Fall war.



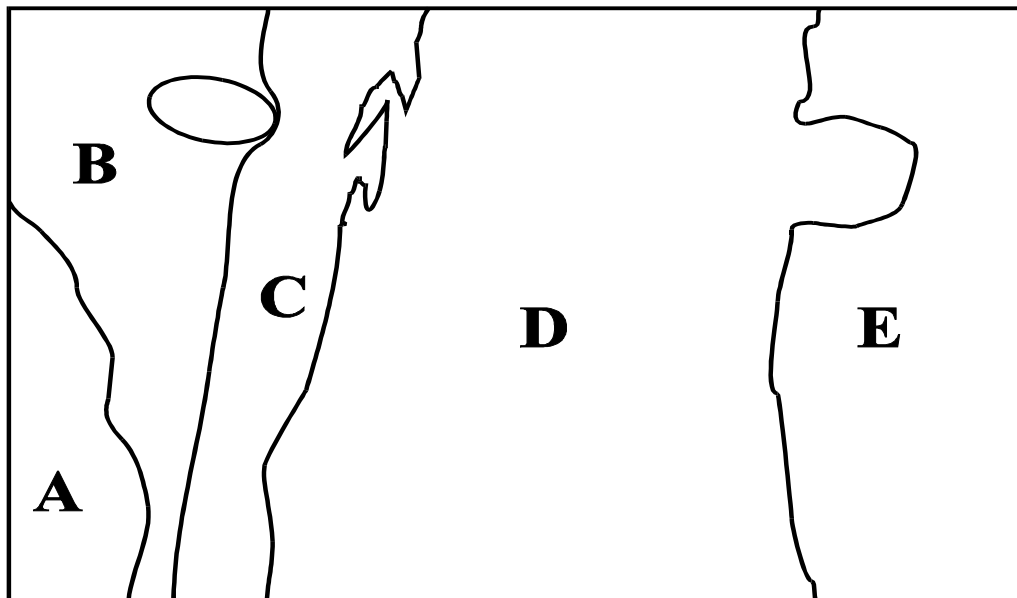
**Abb. 10** Indirekte Reposition mit PCP. Insgesamt frühe Kallusbildung die medial (linke Bildhälfte) stark ausgeprägt war. Lateral waren jedoch auch Kallusschleier zu erkennen, die nach anatomischer Reposition nicht zu finden waren. (Kontakt-radiographie nach 4 Wochen)

### 3.1.1.4. zeitlicher Verlauf der Frakturheilung

Um den zeitlichen Ablauf der Kallusbildung zu dokumentieren, wurden die bereits genannten Fluochrome einzeln angeregt und nacheinander auf ein Dia belichtet.



**Abb. 11** späte Frakturspaltüberbrückung eines 12-Wochen-Schafes nach anatomischer Reposition. Calceingrün stellte die 4. - 6. Woche, Xylenolorange die 7. - 9. Woche und Tetracyclin (ockerfarben) die 10. - 12. Woche dar.



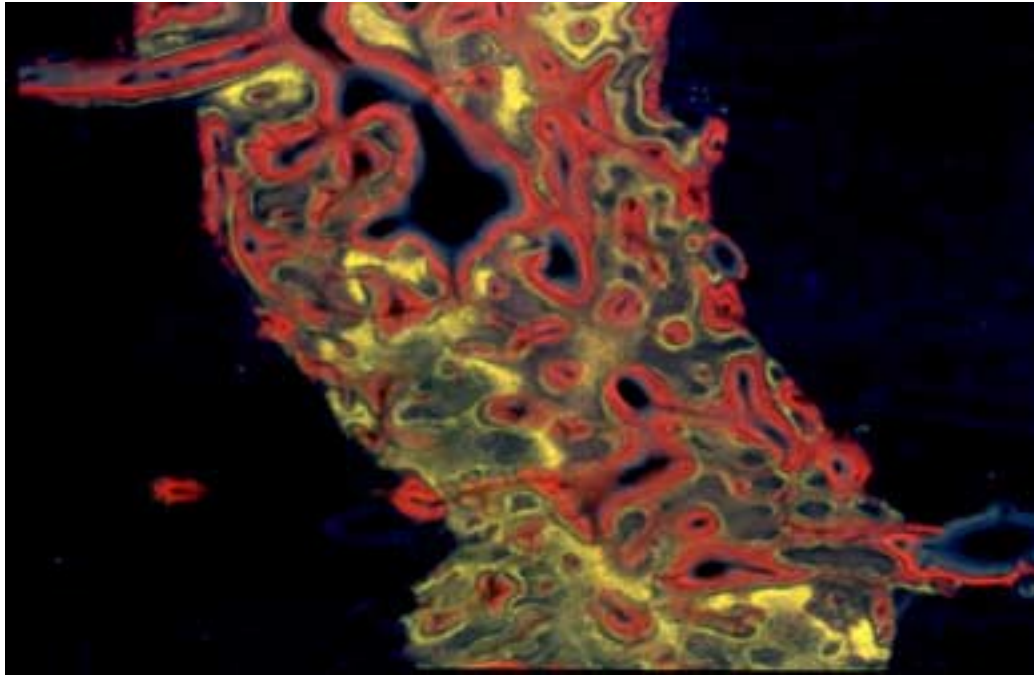
**Abb. 11a** Schemazeichnung der Abbildung 11.

Zone A: Fragment; Zone B: Fragment mit Remodelling; Zone C: Frakturspalt;  
Zone D: Frakturspalt; Zone E: Fragment mit Remodelling.

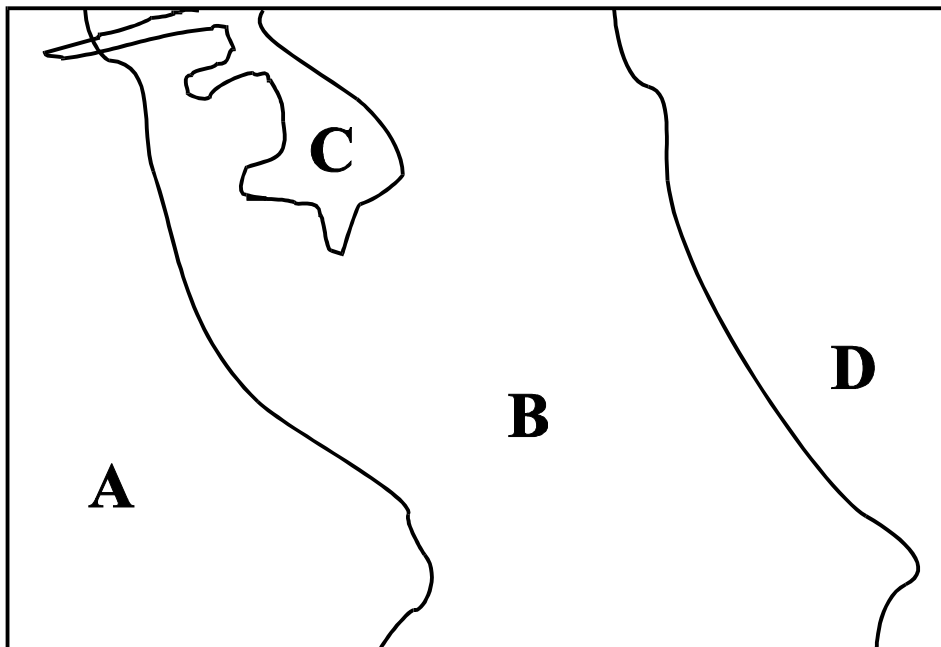
Abbildung 11 zeigt ein typisches Beispiel der Frakturheilung und der Knochenentwicklung nach anatomischer Reposition (12-Wochen-Gruppe). Das Fragment im Randbereich (Zone B) war ebenso wie das Fragment in Zone E einem starken Remodelling unterworfen. Dies ist ein Zeichen für Zelluntergang durch Unterbrechung der Durchblutung mit nachfolgender starker Revaskularisierung in diesem Bereich.

Die Revaskularisierung der Fragmentenden erfolgte in der 4. - 6. Woche (sichtbar durch Calceingrün) und in der 7. - 9. Woche (sichtbar durch Xylenolorange). Ein Knochenwachstum im eigentlichen Frakturspalt erfolgte erst in der 7. - 9. Woche. Im Sinne einer appositionellen Kallusbildung wurde in den ersten 9 Wochen nur  $\frac{1}{6}$  des Frakturspalt überbrückt. Die endgültige Überbrückung mit Geflechtknochen (Zone D) erfolgte erst in der 10. - 12. Woche (sichtbar durch Tetracyclin).

Abbildung 12 zeigt im Gegensatz dazu ein Beispiel nach indirekter Osteosynthese (8-Wochen-Gruppe). Die Fragmentenden (Abb. 12a Zone A und D) weisen kein Remodelling auf. Dies ist ein Zeichen dafür, daß hier die Durchblutung erhalten geblieben ist und somit kein Zelluntergang stattgefunden hat. Es mußten keine neuen Osteone mit Zentralgefäß gebildet werden. Die Überbrückung des Frakturspalt (Zone B in Abb. 12a) mit Kallus erfolgte bereits in der 2. - 4. Woche (Calceingrün in Abb. 12). Eine weitere Stabilisation erfolgte in der 5. - 6. Woche. Zu diesem Zeitpunkt war Frakturheilung sehr weit fortgeschritten. In der 7. - 8. Woche erfolgte nur noch in einzelnen Osteonen bzw. in der Zone C (Abb. 12a) ein weitere Kalzifizierung (Tetracyclin Abb. 12). Im Vergleich dazu war die Überbrückung des Frakturspalt nach anatomischer Reposition zu diesem Zeitpunkt erst zu  $\frac{1}{6}$  erfolgt.



**Abb. 12** frühe Frakturspaltüberbrückung eines 8-Wochen-Schafes nach biologischer Reposition. Calceingrün stellt die 2. - 4. Woche, Xylenolorange die 5. - 6. Woche und Tetracyclin die 7. - 8. Woche dar.



**Abb. 12a** Schemazeichnung der Abb. 12  
 Zone A: Fragment; Zone B: Frakturspalt; Zone C: Frakturspalt; Zone D: Fragment  
 (nähere Erläuterungen s.o.)

### **3.1.2. Plattenlager**

Bei den beiden Gruppen mit DC - Platte fand sich häufig die äußere Schicht der Kortikalis über lange Strecken bis zu einer Tiefe von 2 mm sequestriert oder osteolytisch abgebaut. Der darunter liegende Knochen war in großen Bereichen porotisch verändert.

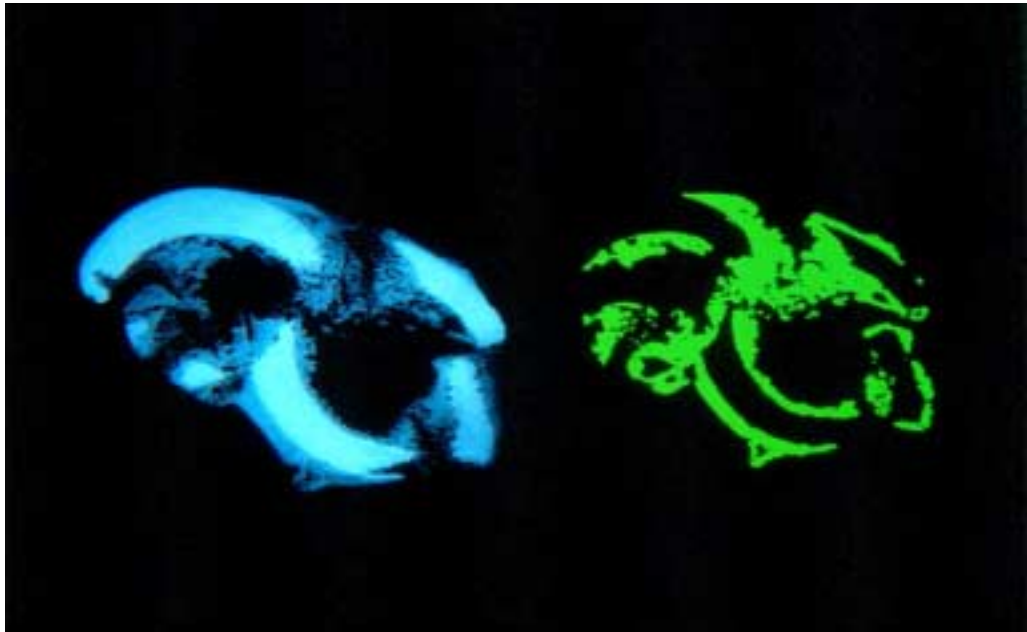
In der Gruppe mit der PCP war die Porose der Kortikalis weniger stark ausgeprägt. Eine Osteolyse fand sich in einigen Fällen nur unter den Auflagepunkten der Platte.

In allen 3 Gruppen war ein Teil der Schraubenlöcher auf der plattennahen Seite osteolytisch verändert.



### 3.2. Quantitative Analyse

Für die Messungen der Flächen in den Präparaten wurden die Radiographien und die Fluoreszenzpräparate in den Computer eingelesen und digitalisiert. Dabei mußte auf die morphologisch korrekte Ausrichtung der Fluoreszenzbilder in Bezug auf die Radiographien geachtet werden. Es wurden zur Demonstration des Meßablaufes einige Bilder direkt vom Bildschirm photographiert.



**Abb. 13** Radiographie und Calceingrün (mittlere Querschnitte). Schaf 12 Wochen nach biologischer Osteosynthese.



**Abb. 14** Radiographie und Xylenolorange.

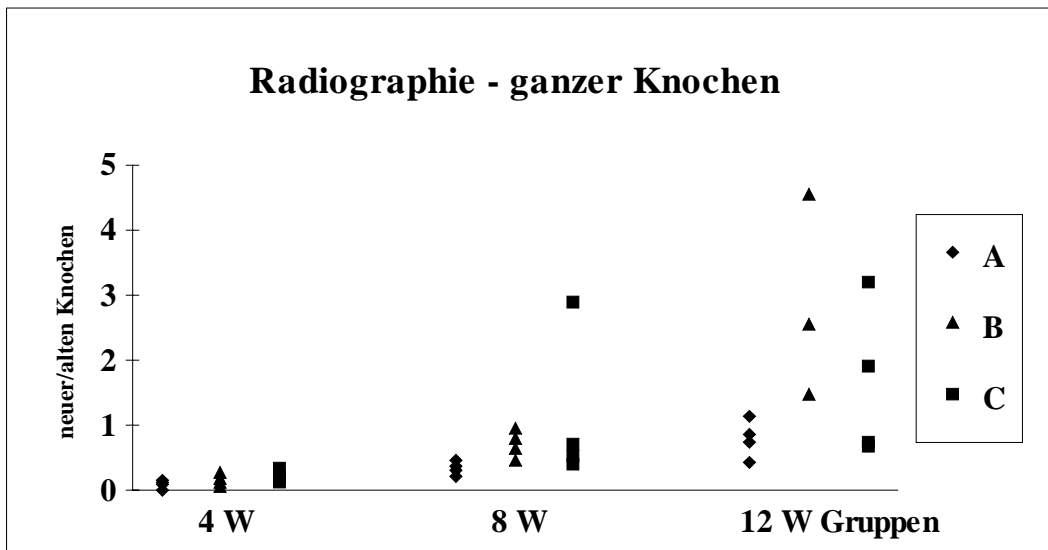
In den Abb. 13 und 14 war dieselbe Radiographie wie in Abb. 9 (S. 18) zu sehen. Es war im Vergleich eine schlechtere Auflösung des Fotos vom Bildschirm zu erkennen. Zusätzlich war der Kontrast des Computerbildes geringer. Calceingrün stellt die Calcifizierung von der 4. - 6. Woche und Xylenolorange von der 7. - 9. Woche dar. Die Fluoreszenzflächen überlagern sich zum Teil, da in beiden Zeiträumen in diesen Gebieten Aktivität vorhanden war.

### **3.2.1. proximale Querschnitte**

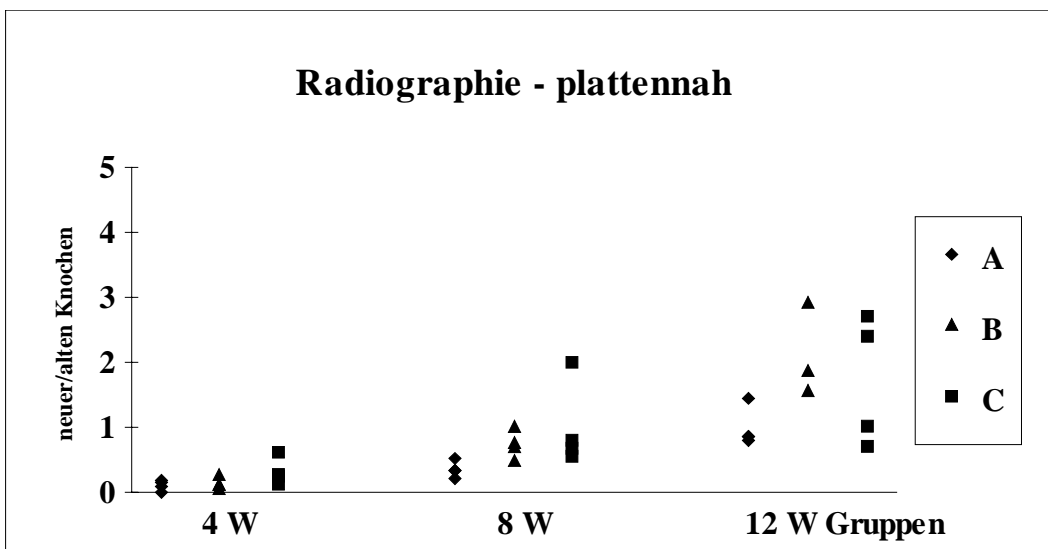
Bei der Auswertung der proximalen Querschnittgruppe hatte sich gezeigt, daß nicht bei allen Schafen die Frakturzone bis in diese Quergruppe reicht. Auf eine quantitative Auswertung wurde daher verzichtet.

### 3.2.2. Radiographien der mittleren Querschnitte

Die Einzelwerte der Meßergebnisse aus den Radiographien der medialen Querschnitte werden in den Abb. 15 und 16 beispielhaft dargestellt. Die Einzelwertgraphiken der weiteren Meßwerte waren im Anhang. Auf der y-Achse war der Quotient neuer/ alten Knochen aufgetragen, auf der x-Achse stehen jeweils die Vier-, Acht- und Zwölfwochen-  
gruppen der Gruppen A, B und C nebeneinander.

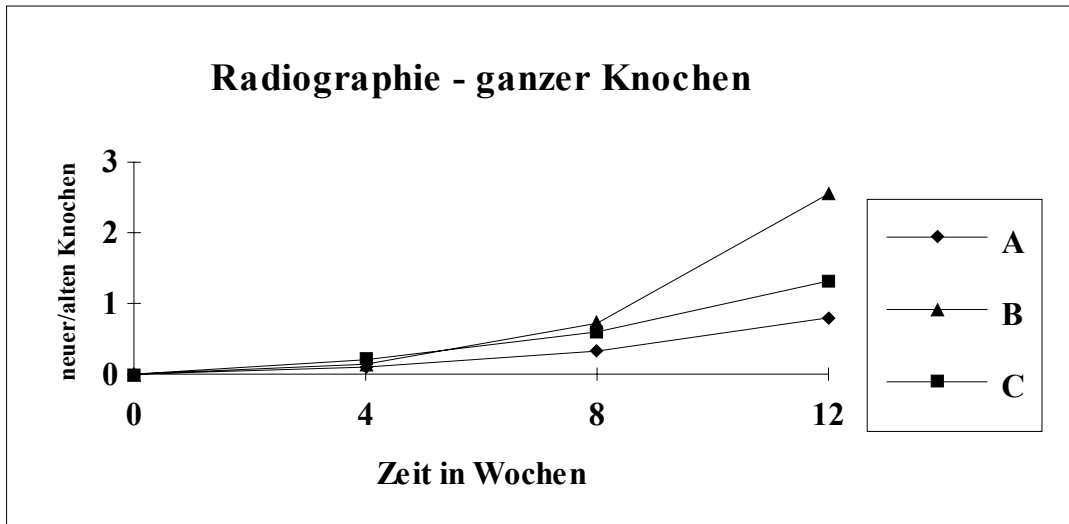


**Abb. 15** Radiographiewerte - ganzer Knochen (mittlere Querschnitte). Die Einzelwerte der jeweiligen Gruppen waren im Vergleich miteinander dargestellt.



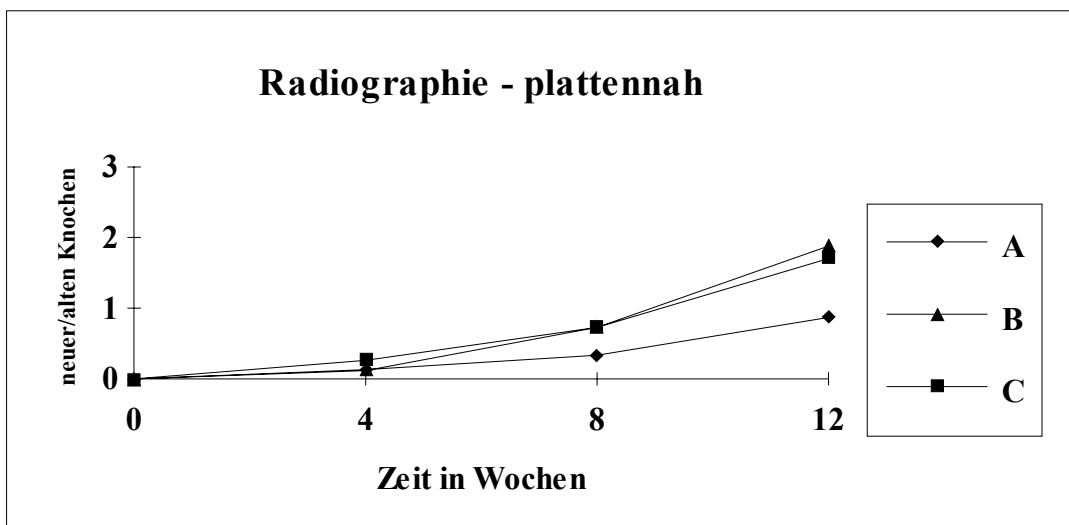
**Abb.16** Radiographie - plattennah (mittlere Querschnitte). Die Werte der jeweiligen Untergruppen werden nebeneinander dargestellt. In der plattennahen Bildhälfte war das Operationsgebiet und das Plattenlager.

Der zeitliche Verlauf des Quotienten neuer/alten Knochen war in den Abb. 17 und 18 dargestellt. Ein Symbol stellt den Median einer Schafgruppe dar.



**Abb. 17** Radiographie (mittlere Querschnitte). Zeitliche Entwicklung der Knochenbildung (bezogen auf die ursprüngliche Kortikalis).

Bis zur 4. Woche war der Quotient neuer/alten Knochen in den 3 Gruppen A, B und C gleich. Im Bereich der 8. Woche war bei den beiden biologischen Gruppen (B, C) etwas mehr neuer Knochen gebildet als in Gruppe A. Nach 12 Wochen hatte die Gruppe A im Median die 0.8 fache Menge neuen Knochens im Verhältnis zum alten gebildet. Die Gruppe B hatte in der gleichen Zeit die 2.5 fache Menge gebildet. Gruppe C hatte ca. die 1.3 fache Menge gebildet, wobei hier bei der Beurteilung zu beachten war, daß sich der alte Knochen zum Teil nicht mehr vom neuen stark mineralisierten Knochen trennen ließ.

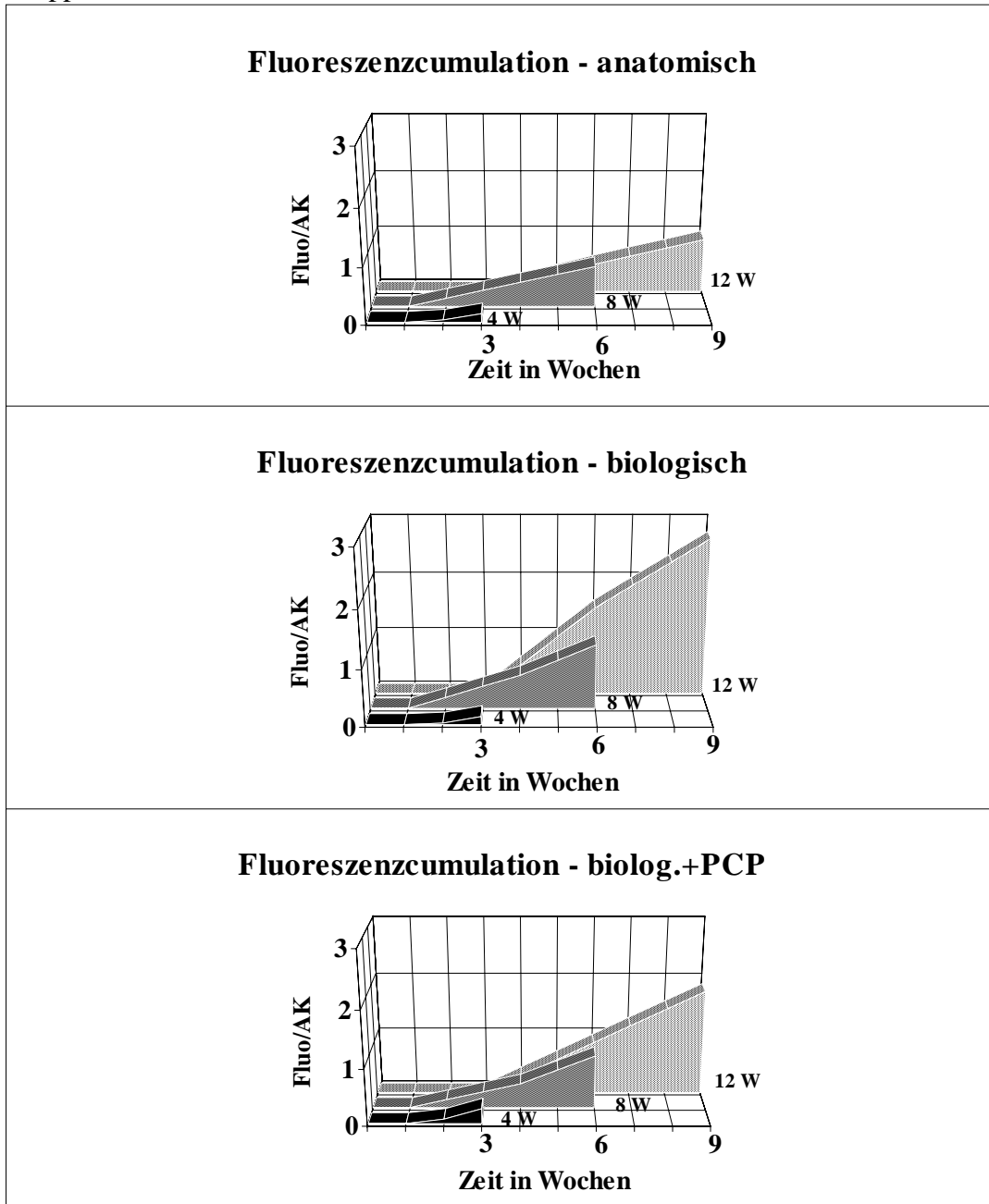


**Abb.18** Radiographie - plattennah (mittlere Querschnitte). Zeitliche Entwicklung der Knochenbildung (bezogen auf die ursprüngliche Kortikalis). Darstellung der Radiographiewerte in der plattennahen Bildhälfte, in der das Operationsgebiet und das Plattenlager waren.

Auf der plattennahen Seite zeigt sich ein ähnliches Bild wie in der Graphik des ganzen Knochens, die anatomische Gruppe bildet am wenigsten neuen Knochen. Nach 4 Wochen war der Quotient in der Gruppe C am höchsten (ca. doppelt so groß). Nach 8 Wochen haben die beiden biologischen Gruppen den gleichen Wert, während Gruppe A deutlich darunter liegt. Nach 12 Wochen waren die beiden biologischen Gruppen plattennah, im Gegensatz zum ganzen Knochen, gleich auf. Aber auch hier war zu beachten, daß in Gruppe C stärker mineralisierter Knochen vom alten Knochen nicht mehr vollständig zu trennen war.

### 3.2.3. Fluoreszenz der mittleren Querschnitte

Die Cumulation der Fluoreszenz im zeitlichen Verlauf war in den Abb. 19 - 21 dargestellt. Die Fluoreszenz wird dabei ebenfalls auf den alten (stark mineralisierten) Knochen bezogen (y-Achse). Da die Farbe Tetracyclin nicht in der quantitativen Auswertung enthalten war, waren die 4, 8 und 12 Wochen (dargestellt in der 3. Dimension) nicht vollständig mit Fluoreszenzmessungen abgedeckt. Die 12 Wochengruppen beginnen mit der Markierung im Gegensatz zu den beiden anderen Gruppen erst ab der 3. Woche.



**Abb. 19 + 20 + 21** Fluoreszenzaccumulation in den 3 Gruppen (mittlere Querschnitte). Darstellung der Mittelwerte

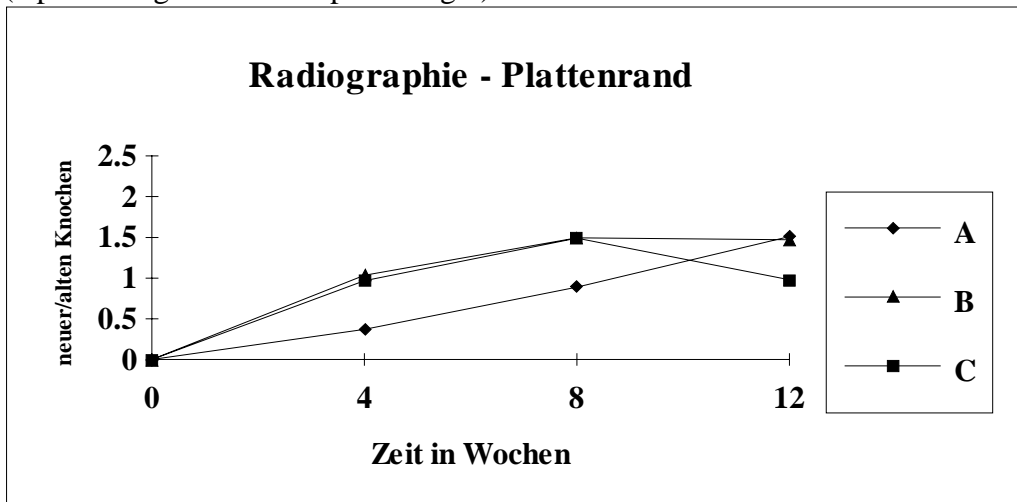
Entsprechend der Flächenzunahme des neugebildeten Knochens in der Radiographie verhält sich die Fläche der Fluoreszenz und deren Zunahme in den mittleren Querschnitten. Der Anstieg in Gruppe A war insgesamt langsam und fast konstant. In der Gruppe B zeigt sich insgesamt deutlich mehr Fluoreszenz. Im Bereich der 5. und 6. Woche war die Zunahme am stärksten. Gruppe C zeigt in der 4. Wochengruppe mehr Fluoreszenz als die Gruppen A und B. Insgesamt war die Fläche der Fluoreszenz nicht so hoch wie bei B. Aufgrund der Tatsache daß die Fluoreszenz auf den alten Knochen bezogen wird, kommt in der Zwölfwochengruppe wieder der Effekt der stärkeren Mineralisation zum Tragen. Der Zwölfwochenwert muß somit höher bewertet werden.

#### **3.2.4. distale Querschnitte**

Die Meßergebnisse in der distalen Quergruppe zeigen keine Unterschiede in den 3 Gruppen. Die Aktivität war zu klein, um im nichtfrakturierten Knochen Unterschiede in der Fluoreszenz messen zu können. Auf eine Darstellung der Werte wird deshalb verzichtet.

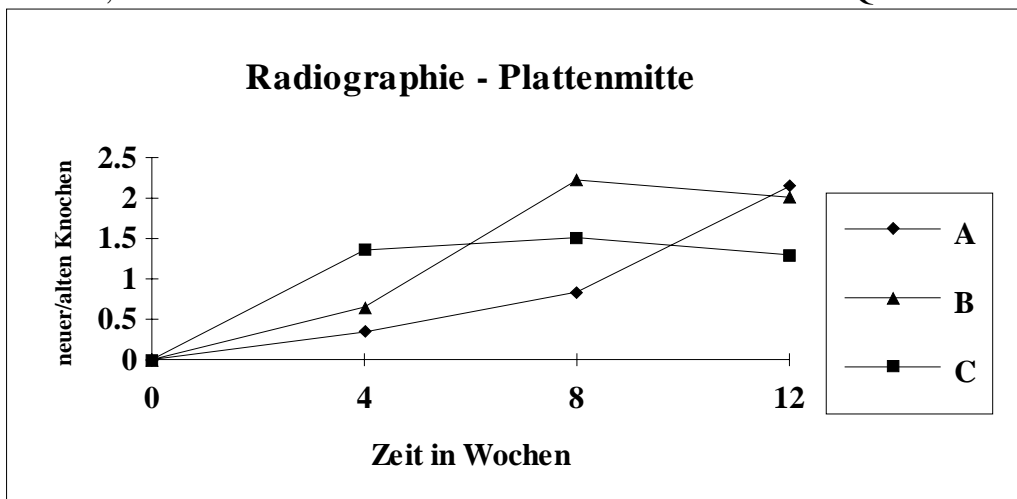
### 3.2.5. Radiographien der proximalen Längsschnitte

Der zeitliche Verlauf des Quotienten neuer/alten Knochen am Plattenrand und in der Plattenmitte war in den Abb. 22 und 23 dargestellt. Ein Punkt stellt den Median einer Schafgruppe dar. Die Werte entstammen der plattennahen Bildhälfte der Längsschnitte (Operationsgebiet und Implantatlager).



**Abb. 22** Radiographie - Plattenrand (proximale Längsschnitte - Operationsgebiet); Mediane.

Die Gruppe A zeigt über den gesamten Zeitraum eine konstante Zunahme des neuen nicht stark mineralisierten Knochens. Die Gruppen B und C bilden im Bereich 4 und 8 Wochen deutlich mehr Kallus. Nach 8 Wochen weisen die Kurven einen Sattelpunkt auf, ab dem die Steigung negativ wird. Die Menge des neuen Knochens nimmt hierbei nicht ab, sondern der stark mineralisierte Knochen im Nenner des Quotienten zu.



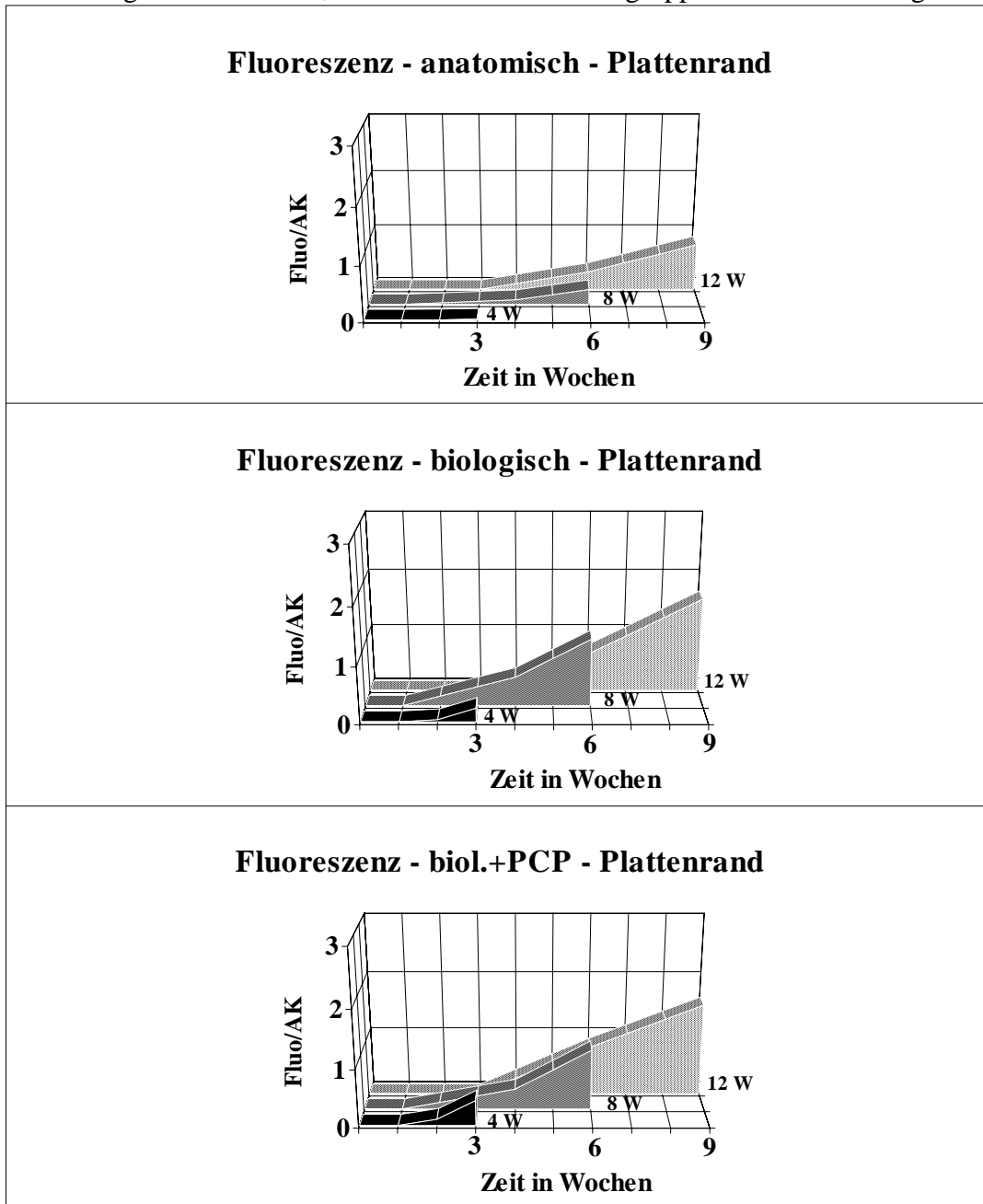
**Abb. 23** Radiographie Plattenmitte (proximale Längsschnitte - Operationsgebiet); Mediane.

In der Plattenmitte war das gleiche Phänomen wie am Plattenrand zu beobachten. Allerdings war hier die Kurve von C im Bereich von 4 Wochen am höchsten und erreicht schon in diesem Bereich ihren Sattelpunkt.



### 3.2.6. Fluoreszenz der proximalen Längsschnitte

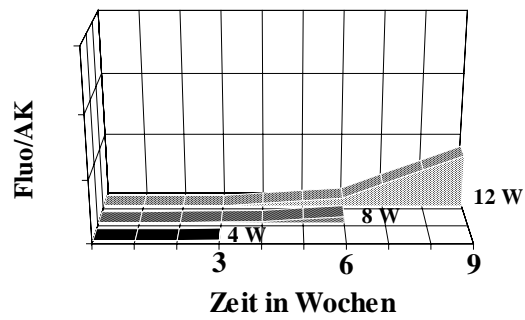
Die Cumulation der Fluoreszenz im zeitlichen Verlauf war für den Plattenrand in den Abb. 24 - 26 und für die Plattenmitte in den Abb. 27 - 29 dargestellt. Die Fluoreszenzmarkierung deckt die Vier-, Acht- und Zwölfwochengruppen nicht vollständig ab.



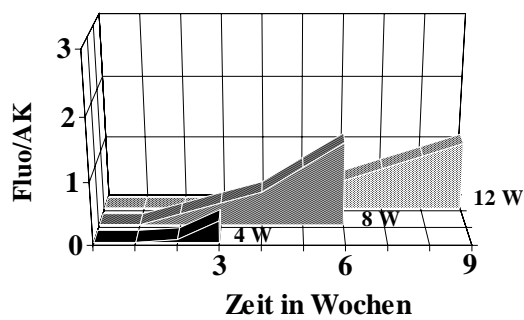
**Abb. 24 + 25 + 26** Fluoreszenzaccumulation in den 3 Gruppen am Plattenrand (proximale Längsschnitte - Operationsgebiet), Darstellung der Mittelwerte.

Ein Anstieg der Fluoreszenz war nach anatomischer Reposition erst ab der 5. - 6. Woche zu erkennen. Nach indirekter Reposition beginnt der Anstieg in der 2. - 3. Woche. Die Gruppe mit PCP zeigt hier besonders hohe Werte. Insgesamt cumulieren die biologischen Gruppe deutlich mehr Fluoreszenz als die anatomische Gruppe.

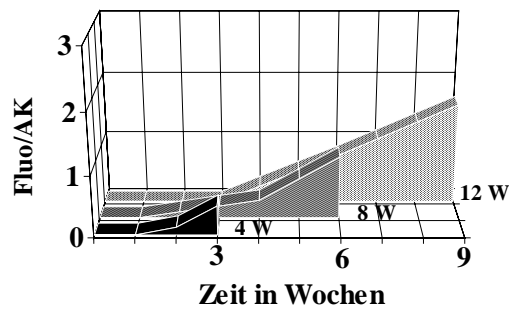
### Fluoreszenz - anatomisch - Plattenmitte



### Fluoreszenz - biologisch - Plattenmitte



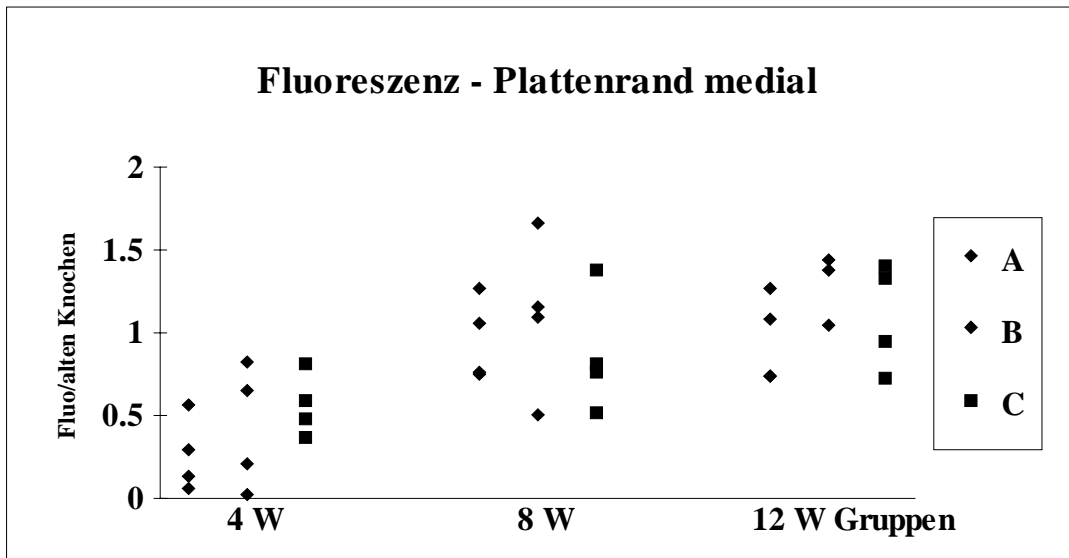
### Fluoreszenz - biolog.+PCP - Plattenmitte



**Abb. 27 + 28 + 29** Fluoreszenzaccumulation in den 3 Gruppen in der Plattenmitte (proximale Längsschnitte - Operationsgebiet), Darstellung der Mittelwerte.

In der Plattenmitte zeigt sich die Fluoreszenz in der anatomischen Gruppe noch später als am Plattenrand. Die biologischen Gruppen beginnen wie am Plattenrand in der 2. - 3. Woche. Die Gruppe mit PCP zeigt hier die höchsten Fluoreszenzwerte (s.h. Vierwochengruppen).

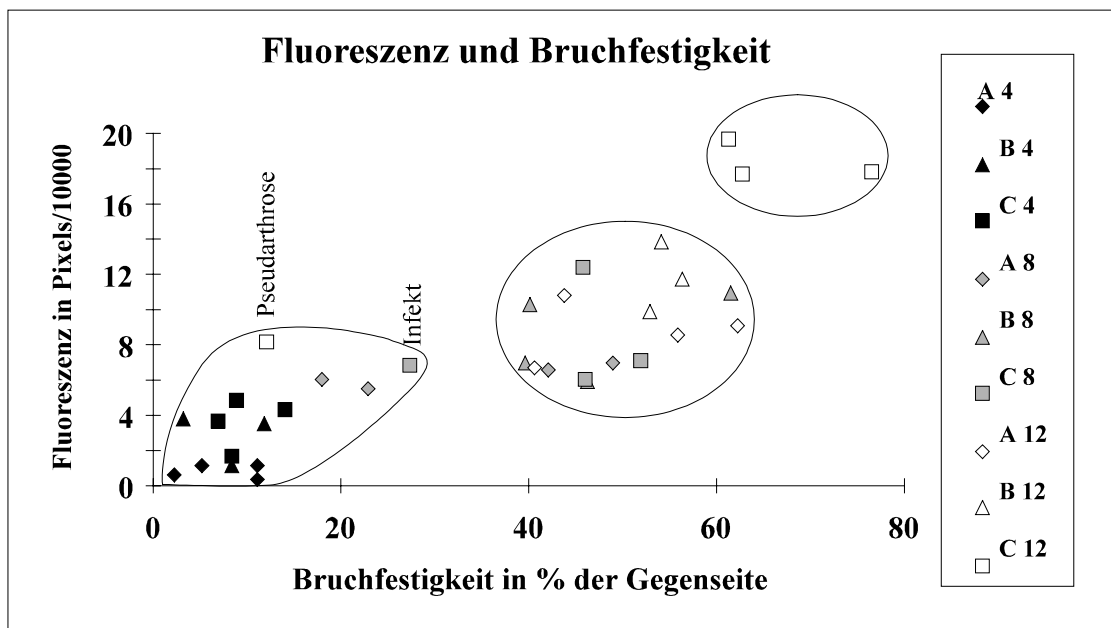
Die Region Plattenrand medial stellte die plattenferne Hälfte der Längsschnitte dar. Das Operationsgebiet lag nicht in diesem Bereich. Die Schraubenlöcher der beiden Gruppen mit bicortikalen Schrauben (A und B) lagen ebenfalls außerhalb dieses Bereiches der Gegenkortikalis. Die Fluoreszenzwerte werden wie zuvor auf den alten Knochen bezogen.



**Abb. 30** Fluoreszenz - Plattenrand medial (proximale Längsschnitte). Dargestellt war die Gesamtfluoreszenz (Calceingrün und Xylenolorange) in der Frakturzone auf der plattenfernen Seite.

Es zeigen sich zwischen den 3 Gruppen A, B und C außerhalb des Operationsbereiches keine Unterschiede in der Fluoreszenzaktivität.

Die Beziehung zwischen Fluoreszenz und Bruchfestigkeit ist in Abb. 31 dargestellt. Es wurden die Werte aus der gesamten Frakturzone (plattenferne und -nahe Bildhälfte zusammen) verwendet. Die Fluoreszenzwerte von Calceingrün und Xylenolorange wurden für ein Schaf addiert, um den gesamten markierten Zeitraum zu berücksichtigen. Die Einheit "Pixels" bezeichnet eine Fläche des digitalisierten Bildes des Bildanalysecomputers. Die Werte der Bruchfestigkeit wurden von Baumgaertel in mechanischen Tests ermittelt.



**Abb. 31** Fluoreszenz und Bruchfestigkeit (proximale Längsschnitte). Die Gesamtfluoreszenz (Calceingrün und Xylenolorange) in der Frakturzone war auf der y-Achse und die Bruchfestigkeit der Femora auf der x-Achse aufgetragen.

Es scheint eine Abhängigkeit der Bruchfestigkeit von der absolut gebildeten fluoreszenzmarkierten Knochenmenge zu existieren. Das visuelle Bestimmen einer Trendkurve ist möglich. Beachtet werden muß, daß in der Graphik zusätzlich eine zeitliche Information durch die Vier-, Acht- und Zwölfwochengruppen steckt. Außerdem enthält die Graphik noch die Behandlungsmethode. Eine statistische Berechnung dieser komplexen Information ist daher wenig sinnvoll.

Es fallen aber sofort bei der Betrachtung der Graphik 3 Cluster ("Wolken" - in der Grafik umrandet) auf. Im Bereich des ersten Clusters kann von einer klinisch relevanten Bruchfestigkeit noch nicht gesprochen werden. Wie zu erwarten befinden sich alle Schafe der 4-Wochen-Gruppen in diesem Bereich. Zusätzlich waren 2 Versuchstiere der Gruppe A8, 1 Tier aus der Gruppe C8 und 1 Tier aus der Gruppe C12 in diesem Cluster vertreten. Bei diesen Tieren kann ebenfalls nicht von einer klinisch relevanten Bruchfestigkeit gesprochen werden. Bei dem Tier aus der Gruppe C8 lag ein Infekt vor,

bei dem Tier aus C12 handelte es sich um eine verzögerte Knochenheilung. Beide Tiere müssen als Ausreißer durch den komplizierten Heilungsverlauf interpretiert werden. Die beiden Tiere der Gruppe A8 zeigten dagegen einen unauffälligen Heilungsverlauf. Die Bruchfestigkeit und die Menge der Fluoreszenz (gleichbedeutend mit der Kalzifizierung) waren hier ähnlich wie bei den 4-Wochen-Schafen.

Der 3. Cluster beinhaltet 3 Tiere aus der Gruppe C12. Hier wurde eindeutig die meiste Fluoreszenz gemessen. Die Bruchfestigkeit war mit am höchsten.

Im 2. Cluster befinden sich Tiere aus den Gruppen A8, B8, C8, A12 und B12. Eine weitere Strukturierung war in diesem Cluster nicht zu erkennen.

Für die Steifigkeit, die ebenfalls von Baumgaertel gemessen wurde, ergibt sich in der Abhängigkeit von der Menge der Fluoreszenz ein ähnliches Bild (nicht dargestellt).

### 3.2.7. Auswertung der Fluoreszenz der distalen Längsschnitte

Dargestellt werden die Einzelwerte der distalen Längsschnitte der Achtwochengruppen. Bei einigen Präparaten reichte die Fraktur bis in die distalen Längsschnitte. Deshalb wurden diese Präparate von der Untersuchung ausgeschlossen. In der Gruppe A waren 3, in der Gruppe B waren 2 und in der Gruppe C waren 3 Schafe in der Auswertung enthalten. Auf der y-Achse war die Gesamtfluoreszenz (Calceingrün und Xylenolorange) in Bezug auf den alten Knochen aufgetragen. Auf der x-Achse werden die plattennahen und plattenfernen Werte dargestellt.

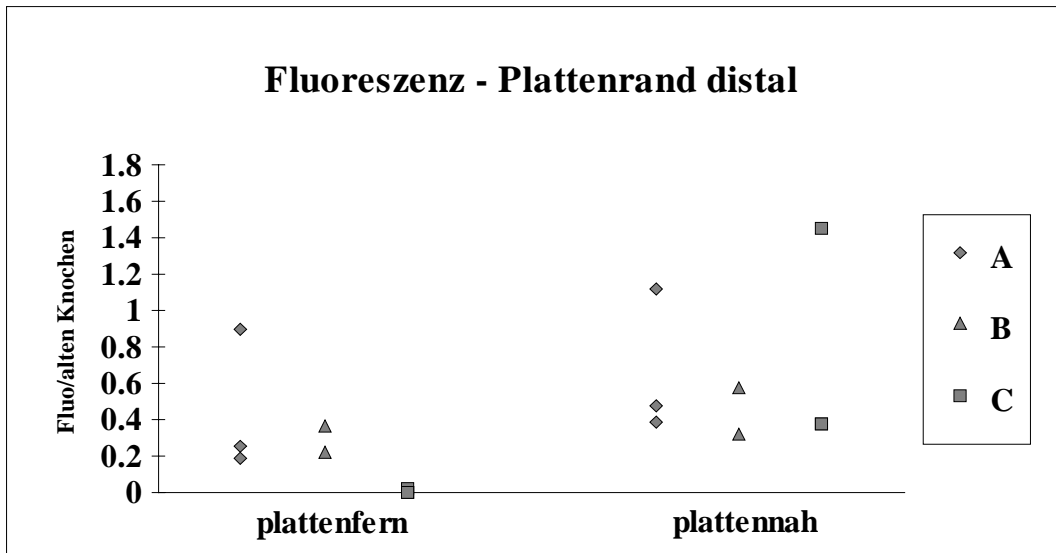


Abb.32 Fluoreszenz - Plattenrand (distale Längsschnitte). Einzelwerte der 3 Achtwochengruppen.

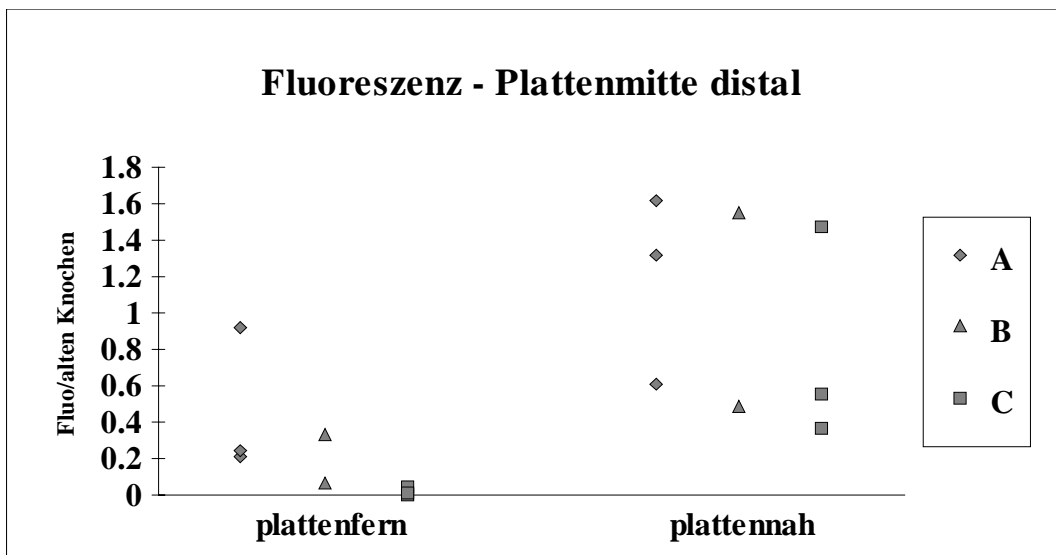


Abb. 33 Fluoreszenz - Plattenmitte (dwarale Längsschnitte). Einzelwerte der 3 Achtwochengruppen. Auf der plattenfernen Seite wurde bei der Gruppe C mit den unikortikalen Schrauben keine Fluoreszenz, d.h. kein Knochenumbau im nichtfrakturierten Knochen, erwartet. Ansonsten sollte der Knochenumbau durch die Schraubenlöcher in allen anderen Bereichen identisch sein. Dies wird in den Graphiken bestätigt.

## **4. Diskussion**

### **4.1. Bewertung der Methodik**

Die Ergebnisse von Baumgaertel aus den Röntgenbildern, CT's, biomechanischen Tests und den Mikroangiographien sollten histologisch bestätigt werden. Besonders der dynamische Verlauf der Heilung sollte quantitativ erfaßt werden, um Rückschlüsse auf die Operationsmethoden und Implantate (DCP und PCP) ziehen zu können. Der Unterschied im zeitlichen Heilungsablauf nach indirekter und anatomischer Reposition sollte herausgearbeitet werden. Die Menge und die Lokalisation der Kallusbildung sollten bestimmt werden. Histologisch sollte die Ursache für die von Baumgaertel gefundene höhere Bruchfestigkeit nach indirekter Reposition ermittelt werden.

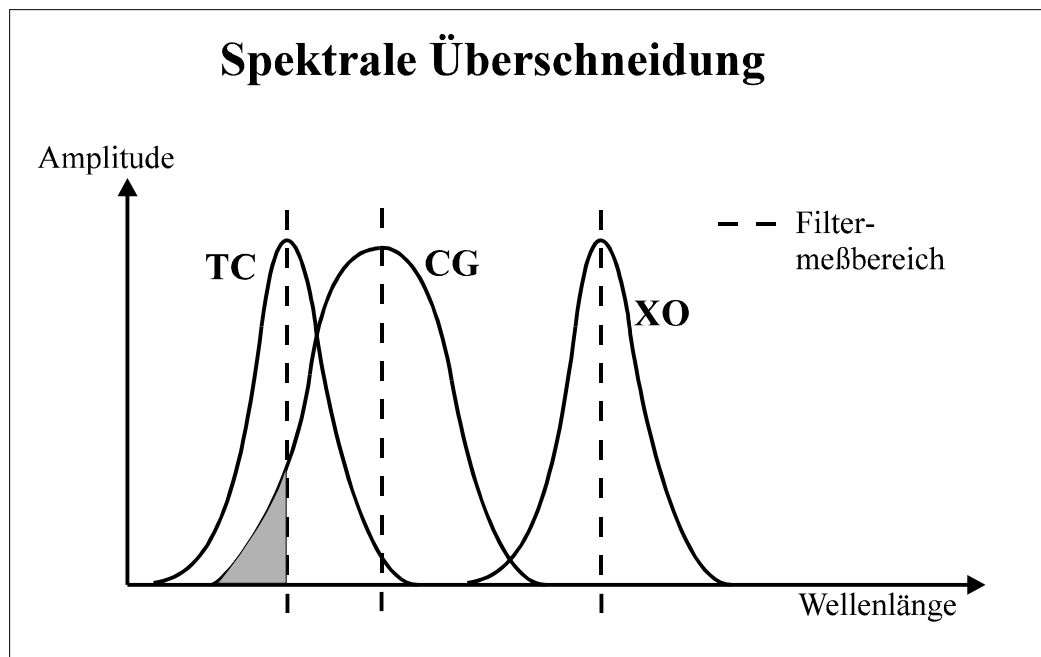
Die histologische Auswertung sollte qualitativ und quantitativ erfolgen. Daher mußten in der Erstellung der Präparate und Methoden ein Kompromiß zwischen beiden Ansprüchen erfolgen. Dadurch entstanden bei den Untersuchungen Grenzen, die aber klar definiert und bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden konnten. Zum Beispiel war Tetracyclin spektral nicht exakt von Calceingrün trennbar und daher nur qualitativ auswertbar. D.h. die Lokalisation war genau erkennbar, aber die Menge der Anreicherung von Tetracyclin war nicht bestimmbar. Tetracyclin ermöglichte aber die Einteilung der Zeitachse in drei statt nur zwei Abschnitte, wodurch die Beobachtung der Knochenneubildung entlang der Zeitachse genauer wurde.

#### **4.1.1. Erfassen der Knochenneubildung**

Die Markierung der Knochenneubildung wurde so gewählt, daß sowohl der zeitliche Ablauf als auch die Menge der Knochenneubildung dargestellt werden konnte.

Verwendet wurden die Farben Calceingrün, Xylenolorange und Tetracyclin. Diese Methode wurde von Dr. Dr. B. Rahn (Davos) entwickelt und von Dr. E. Gautier weiterentwickelt. In der Literatur wird diese Methode allgemein anerkannt und in der Untersuchung von Knochenneubildungen verwendet. (Heitemeyer, Hierholzer '92)

Die Messung der Fluoreszenz muß aufgrund der insgesamt vergleichsweise schwachen Lichtintensität immer im Amplitudenmaximum erfolgen. Bei den Farben Tetracyclin (TC) und Calceingrün (CG) überschneiden sich dabei die Anregungskurven relevant (s.h. Abb. 34). Tetracyclin läßt sich spektral nicht exakt von Calceingrün trennen, so daß diese Farbe nur qualitativ ausgewertet wurde. Im Gegensatz dazu hat Calceingrün in seinem Anregungsmaximum nur eine äußerst minimale Überschneidung mit der Kurve von Tetracyclin, so daß diese vernachlässigt werden kann, die quantitative Bestimmung von Calceingrün ist meßtechnisch exakt durchführbar (s.h. Abb. 34). Die Trennung von



**Abb. 34** Spektrale Überschneidung. Der graumarkierte Bereich zeigt die Überschneidung von Tetracyclin und Calceingrün, wodurch die quantitative Bestimmung von Tetracyclin nicht sinnvoll ist.

Xylenolorange und Calceingrün ist ebenfalls sehr gut möglich, entsprechend ist eine quantitative Auswertung exakt. Markiert wird mit den Fluoreszenzfarben die Steigung der Knochenneubildung in einem bestimmten Zeitraum (Menge pro Zeit). Dabei muß beachtet werden, daß die Farben in einer Intervallmarkierung verabreicht wurden. Der Serumspiegel erreicht zu Beginn (bei der Injektion) eine Sättigung im Serum, ist allerdings im weiteren Verlauf nicht konstant, da der Serumspiegel bis zur nächsten Injektion abfällt (s.h. Abb. 3). Daraus folgt, daß mit den Fluoreszenzfarben die Mineralisation dargestellt wird, die in einem nicht exakt bestimmbareren Zeitraum nach Beginn der Bildung des Knochengewebes erfolgt. Weiterhin ist zu beachten, daß sowohl die Mineralisation in den folgenden Stunden und Tagen markiert wird. Folglich wird auch bindegewebiger Kallus, der bereits etwas vor dem ersten Markierungszeitpunkt gebildet wurde, dann in seiner Mineralisationsphase markiert wird. Deshalb wird die Knochenneubildung sowohl folgender Tage, als auch einiger Stunden oder Tage vor der Injektion markiert. Eine exakte Angabe über diese Zeiträume ist bisher in der Literatur nicht bekannt und mit den heutigen Untersuchungsmethoden auch nicht möglich (pers. Gespräch mit Dr. Dr. B. Rahn). Es ist daher unmöglich eine mathematisch exakte Darstellung der Knochenneubildung als die Steigung einer Kurve darzustellen. Aber durch die unterschiedliche Verwendung der Farben in den Vier-, Acht- und Zwölfwochengruppengelangen es, die Knochenneubildung im zeitlichen Verlauf über diese Zeiträume aus diesen Untergruppen zusammenzusetzen, so daß eine Steigungskurve hierdurch simuliert wurde. Für alle untersuchten Gruppen bzw. Untergruppen wurden entsprechend dem Schema aus Abb. 3 die Markierungen mit den Fluorochromen identisch verabreicht, so daß in der Beurteilung aufgrund der



obengenannten Problematik keine absoluten Meßwerte für den neugebildeten Knochen ermittelt werden konnten, aber der Vergleich der Gruppen untereinander ist aufgrund der Meßwerte äußerst exakt möglich.

Zusammenfassend läßt sich die Fluorochrommarkierung innerhalb eines Präparates bzw. histologischen Schnittes als Dynamik der Knochenneubildung (Calcifizierung) relativ zu den anderen Versuchstieren innerhalb einer zeitgleichen Versuchstieruntergruppe beschreiben, deren Messung und deren Vergleich aufgrund der Relation zueinander äußerst exakt möglich ist, ohne sich auf nicht bestimmbar absolute Fluoreszenzmeßwerte zu beziehen.

#### **4.1.2. Einteilung der Meßregionen**

Der Einfluß der Operationsmethode, der Plattenart und der mono- bzw. bikortikalen Schrauben auf die Knochenheilung sollte untersucht werden. Deshalb erfolgte die Einteilung der Meßregion (ROI = Region Of Interest) in eine plattenferne und -nahe Knochenhälfte. Sowohl in den histologischen Querschnitten als auch in den Längsschnitten stellte die plattennahe ROI das Operationsgebiet und das Implantatlager dar. Die Einflüsse durch die unterschiedlichen Operationstechniken sollten sich nach der Vorstellung in diesem Gebiet darstellen. Zum einen sollte die indirekte Reposition gewebeschonend und damit vaskularitätserhaltend sein, zum anderen sollte die anatomische Repositionstechnik die Knochenfragmente mehr denudieren und damit die Vaskularität der Fragmente im Operationsgebiet deutlich mehr schädigen. Ein deutlicher Unterschied auf die Kallus- bzw. die Knochenneubildung wurde aus genannten Gründen durch die Operationstechniken in dieser deshalb entsprechend definierten plattennahen ROI erwartet (s.h. auch Abb. 8). Desweiteren sollte der Einfluß des Implantates auf die Knochenneubildung untersucht werden. Erwartet wurde, daß die PCP (pointed contact plate) die Durchblutung im Bereich des Periostes mehr schont als die DCP (dynamic compression plate) und dadurch die Kallusbildung in der Frakturzone im Bereich des Plattenlagers deutlich stärker ausgeprägt ist. Deshalb ist auch hier die Einteilung in eine plattennahe ROI sinnvoll. In den histologischen Längsschnitten wurde zusätzlich noch eine weitere Unterteilung in Plattenrand und Plattenmitte unternommen, so daß eine weitere Aufschlüsselung über die Kallusbildung im Plattenlager möglich war.

Plattenrand bedeutete jeweils ein Präparat am ventralen und dorsalen Plattenrand. Das Präparat für die Plattenmitte wurde exakt in der Mitte des Implantates gewählt, weil hier der Einfluß der Durchblutung bei unterschiedlichen Implantaten am deutlichsten ausgeprägt sein würde.

Die plattenferne ROI stellte die medialen Anteile des Femurs dar. Da der operative Zugang und die Implantation der Osteosyntheseplatten von lateral erfolgte, wurde erwartet, daß hier die Kallusbildung in der Frakturzone ohne jeden Einfluß durch

Operation oder Implantat wäre. Lediglich die bicortikalen Schrauben der DCP führten zu einer Manipulation in diesem Gebiet. Dabei muß beachtet werden, daß der Einfluß der Schrauben auf die Vaskularität und damit die Fähigkeit zur Kallusbildung im Bereich dieser Gegenkortikalis vergleichsweise gering ist, da die Muskulatur und das Periost nur punktuell im Bereich des Bohrkanales der Schraube irritiert wird.

## **4.2. Bewertung der Meßmethodik**

Aufgrund der natürlichen Ausbleichung der Fluoreszenzfarben in den histologischen Schnitten durch Lichteinfall würden die Meßergebnisse im Verlauf von einigen Wochen verfälscht werden. Um dieses Phänomen als Fehlerquelle auszuschalten, wurden alle histologische Präparate photographiert und die Messungen erfolgten von den erstellten Dias. Das natürliche Ausbleichen der Präparate hat somit keinen Einfluß auf die Messung nehmen können.

In den histologischen Schnitten sollte grundsätzlich die Fläche (die Kallusneubildung), in der Fluoreszenz zu finden war, gemessen werden. Die Intensität der Fluoreszenz wurde dabei primär nicht berücksichtigt. Allerdings überstrahlte hohe Lichtintensität der Fluoreszenz bei der Aufnahme durch die Videokamera für die digitale Bildverarbeitung leicht die eigentliche Fläche der Fluoreszenzerscheinung, sodaß in der Flächenvergrößerung die Intensität (die besonders starke Mineralisation des Knochen) indirekt miterfaßt wurde.

Zur digitalen Bildverarbeitung der mit der Videokamera gemessenen Fläche der Fluoreszenz wurde ein teilautomatisierter Computer-Macro verwendet (s.h. Anhang), so daß eine hohe Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse resultierte.

In der Zwölfwochengruppe der biologischen Reposition + PCP (Gruppe C12) entstand der Effekt, daß kleine Bereiche des neugebildeten Knochen bereits so stark mineralisiert waren, daß sie in der Messung des alten Knochen als alter (stark mineralisierter) Knochen bewertet wurden. Qualitativ ließ sich der Unterschied in den Radiographien noch erkennen, aber die Kontraststärke der Videokamera war nicht ausreichend hoch, um diese minimalen Unterschiede feststellen zu können. Die Gruppe C12 wurde somit in der Beurteilung der Mineralisation in Relation zum alten Knochen benachteiligt. In der Gruppe A wurde dieses Phänomen nicht beobachtet, in Gruppe B nur in seltenen Fällen. Bei der Bewertung der Ergebnisse muß dieses Phänomen jedoch berücksichtigt werden.

Bei den Längsschnitten wurden die Ergebnisse der beiden Schnitte am Plattenrand zusammengefaßt und gemittelt. Dieser Vorgang erscheint zulässig, da keine Systematik in der Verteilung der dorsalen und ventralen Plattenrandergebnisse vorhanden war, so

daß die Bildung des Mittelwertes möglich war. Die klinischen Einflußgrößen auf die Kallusbildung in diesen beiden Schnitten wie Operationstechnik und Implantatlager waren zudem in diesem Bereich per definitionem identisch.

Die Werte des Plattenrandes durften jedoch nicht direkt mit denen aus der Plattenmitte verglichen werden, da hier der Einfluß der Implantate mit unterschiedlicher Unterfläche einen Unterschied in der Kallusbildung hervorrufen könnten. Dieser Unterschied sollte mit der Versuchsanordnung ermittelt werden.

### **4.3. Bewertung der Ergebnisse**

Untersucht wurden 3 Versuchsgruppen A - anatomische Reposition, B - indirekte Reposition, C - indirekte Reposition mit PCP und jeweils 3 Untergruppen, die in 4, 8 und 12 Wochen Knochenheilung unterteilt waren.

#### **4.3.1. Die Knochenneubildung in den ersten 4 Wochen**

Betrachtet man die Knochenneubildung im Osteosynthesegebiet (plattennahe ROI) in den 4-Wochen-Gruppen zeigt sich besonders in den histologischen Längsschnitten ein deutlicher Unterschied. Sowohl in der Menge (Radiographien - Kap. 3.2.5) als auch der Mineralisation (Fluoreszenzaccumulation - Kap. 3.2.6) zeigte die Gruppe A mit mehr Denudierung der Knochenfragmente und Verwendung der DC-Platte eindeutige Nachteile. Diese Ergebnisse bestätigten die Werte von Baumgaertel '92, der sowohl in der Frakturspaltüberbrückung als auch in der Fragmentdurchblutung (Tuscheinjektion) schlechtere Ergebnisse der Gruppe A gegenüber den Gruppen B und C fand.

Im Bereich der plattenfernen Kortikalis zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede in der Knochenneubildung. Dieses Ergebnis wurde entsprechend erwartet, da außerhalb des Operationsgebietes die Durchblutung nur die Fraktur beinflusst wurde.

In Bezug auf das Plattendesign zeigte die Gruppe C (indirekte Reposition und PCP) nochmal etwas früher auftretende Knochenneubildung und eine deutlich stärker ausgeprägte Mineralisation im Vergleich zur Gruppe B (indirekte Reposition und DCP). Bereits in den Vierwochengruppen zeigte sich somit ein Vorteil der indirekten Reposition und der Verwendung der PCP statt der DCP.

### **4.3.2. Die Knochenneubildung nach 8 Wochen**

Im wesentlichen setzte sich hier der Trend aus den 4 Wochengruppen fort. Die Gruppe C zeigte im Operationsgebiet (platten nahe ROI) die meiste Knochenneubildung und die stärkste Mineralisation. Die schlechtesten Ergebnisse erzielte hier ebenfalls die Gruppe A. Die Ergebnisse von Baumgaertel '92 zeigten bei den 8 Wochengruppen in Bezug auf die Tuschezeichnung und die Fragmentanbindung eine entsprechende Abstufung der Gruppen.

Besonders interessant ist aber der Vergleich der Zunahme der Knochenneubildung und der Mineralisation. Während in der Gruppe A und B noch weiterhin eine Steigung des Quotienten aus neuem und altem Knochen zu erkennen war, zeigte hier die Gruppe C eine gewisse Stagnation. Wird hierbei allerdings der weiter oben beschriebene Effekt berücksichtigt, daß in der Gruppe C bereits ein Teil des neugebildeten Knochens so stark mineralisiert war, daß er nur noch vom Untersucher und nicht mehr vom Bildanalysecomputer vom alten, vorbestehendem Knochen zu unterscheiden war, zeigt sich hier der Vorteil der indirekten Reposition in Kombination mit der PCP. Bereits nach 8 Wochen stand hier nicht mehr die Kallusneubildung, sondern die Mineralisation des Kallus im Vordergrund. Die erhalten gebliebene Vaskularität im Operationsgebiet ermöglichte eine schnellere Frakturheilung. Dies dürfte die Ursache der von Baumgaertel gefundenen höheren Bruchfestigkeit der Gruppe C sein.

### **4.3.3. Die Knochenneubildung nach 12 Wochen**

Im Vergleich der Fluoreszenzakkumulation im Osteosynthesegebiet (platten nahe ROI) nach 12 Wochen wies die Gruppe A deutlich geringere Werte auf als die Gruppen B und C. Gleichzeitig war die Steigung des Quotienten aus neuem/altem Knochen in den Radiographien nach 12 Wochen noch deutlich im Anstieg. Die Gruppe B und besonders die Gruppe C zeigten nach 12 Wochen bereits eine negative Steigung des Quotienten. Unter Berücksichtigung des oben genannten Effektes, daß vom Bildanalysecomputer der neue bereits stark mineralisierte Knochen nicht mehr vom alten Knochen zu unterscheiden war, setzte sich hier die bereits nach 8 Wochen zu erkennende Tendenz fort, daß die Frakturspaltüberbrückung durch neugebildeten Kallus in der Gruppe B und besonders der Gruppe C im wesentlichen bereits abgeschlossen war. Die Mineralisation des Kallus stand in diesen beiden Gruppen im Vordergrund, die Frakturheilung befand sich bereits im Abschluß, während in der Gruppe A weiterhin eine Kallusbildung feststellbar war, die Frakturspaltüberbrückung war hier noch nicht vollständig abgeschlossen.

#### **4.3.4. Fluoreszenz und Bruchfestigkeit**

Bei der Untersuchung der Abhängigkeit der von Baumgaertel '92 ermittelten Bruchfestigkeit von der Menge der insgesamt feststellbaren Fluoreszenz zeigte sich die in Abb. 31 dargestellte Verteilung. Aufgrund der komplexen Informationen war in dieser Darstellung keine statistische Auswertung sinnvoll, aber bei Betrachtung der Verteilung der Einzelpunktwerte zeigte sich eine eindeutige Trendkurve. Je höher die ermittelte Fluoreszenzcumulation lag, desto höher war die ermittelte Bruchfestigkeit. Die Vermutung lag nahe, daß nicht nur die Menge der Fluoreszenz (also die Mineralisation) einen Einfluß auf die Bruchfestigkeit, sondern auch der Knochenquerschnitt einen entscheidenden Einfluß hatte. Bei den Versuchstieren mit indirekter Reposition ergab sich postoperativ häufig ein deutlich erhöhter Knochenquerschnitt (s.h. Abb. 9), dadurch daß der laterale Schaftanteil nur im Bereich des vorzubereitenden Plattenlagers präpariert und die eigentliche Fraktur nicht freigelegt wurde. Nur eindeutig sichtbare größere Fragmente wurden mit einem Zahnarztthaken soweit möglich reponiert. Der dadurch vergrößerte Knochenquerschnitt betrug im Extremfall das 2,5 fache des anatomisch vorbestehenden Querschnittes. Interessanterweise konnte aber keine statistisch relevante Beziehung zwischen dem postoperativ vergrößerten Knochenquerschnitt und der Bruchfestigkeit ermittelt werden. Baumgaertel fand '92 bei der Beurteilung der Frakturspaltüberbrückung eindeutige Vorteile der Gruppen B und C. In diesen Gruppen waren im Vergleich zur Gruppe A deutlich mehr Frakturspalten überbrückt. Gleichzeitig fand in der Gruppe B und besonders in der Gruppe C ein deutlicher Anstieg der Fluoreszenzcumulation bereits nach 4 Wochen statt (s.o.). Zusätzlich bestand eine Abhängigkeit der Bruchfestigkeit von der Fluoreszenzcumulation, bei der die Gruppen B und C ebenfalls Vorteile aufwiesen. Daraus ergibt sich, daß die Bruchfestigkeit hauptsächlich von der Qualität und nicht der Quantität der Frakturspaltüberbrückung abhängen. Qualität bedeutet in diesem Fall die vollständige Überbrückung des Frakturspaltes mit Kallus, wobei der Ersatz der bindegewebigen Vorstufen durch frakturspaltüberbrückenden Faserknochens den entscheidenden Schritt zur erwünschten Frakturheilung und letztendlich der Bruchfestigkeit darstellen. Dieser entscheidende Schritt ist durch die Mineralisation des Faserknorpels geprägt. Hier wiesen die Gruppen B und C mit indirekter und somit atraumatischer und vaskularitätsschonender Reposition ein deutlich früheres und wesentlich stärkeres Mineralisationsverhalten (Fluoreszenzcumulation) als die Gruppe A mit anatomischer, denudierender Reposition auf. Besonders die Gruppe C mit indirekter Reposition und vaskularitätsschonender PC-Platte zeigte die früheste und ausgeprägteste Mineralisation. Dies deckt sich mit den Untersuchungen von Tepic '92 und Remiger '92, die die Durchbauung von Osteotomien des Schaffemurs mit osteosynthetischer Versorgung durch die PCP im Vergleich zur DCP untersuchten.

Beide fanden ebenfalls eine deutlich höhere Bruchfestigkeit des Knochens durch hohe Mineralisation bei Verwendung der PCP.

#### **4.3.5. Plattenferne Knochenneubildung / mediale Abstützung**

Zur Entlastung der Implantates und somit als Schutz vor einem frühzeitigen Plattenbruch ist die mediale, plattenferne Abstützung im Bereich der Frakturzone von entscheidender Bedeutung (Perren et al. 1993). Die anatomische Reposition der Fragmente hat aufgrund der gegenseitigen Fragmentabstützung mit entsprechender Kraftübertragung in axialer Richtung einen Vorteil gegenüber der überbrückenden Plattenosteosynthese bei der die komplette Kraftübertragung über das Implantat erfolgt. Diese sogenannte "intrinsische Stabilität" ist in der Anfangsphase nach Osteosynthese deutlich größer (Heitemeyer und Hierholzer 1992). Allerdings kann die Belastung der Osteosyntheseplatte durch eine rasche Kallusbildung schnell abnehmen (Klaue et al. 1985). Im Bereich der plattenfernen Frakturzone konnten erwartungsgemäß in der Studie keine Unterschiede in der Knochenneubildung und in der Mineralisation im Vergleich der 3 Gruppen A,B und C gefunden werden (s.h. Abb. 30). Da dieser Bereich sowohl bei der indirekten als auch der anatomischen Reposition unberührt blieb, waren dort auch keine Unterschiede in der Vaskularität und der entsprechenden Frakturheilung zu erwarten. In diesem Punkt hat die anatomische Reposition in den ersten Tagen und Wochen nach Osteosynthese sicherlich einen Vorteil in Bezug auf die intrinsische Stabilität. Entsprechend fand Baumgaertel in der 4 - Wochengruppe der Gruppe B mit indirekter Reposition und DCP einen Plattenanriß, der auf die fehlende mediale Abstützung bei überbrückender Plattenosteosynthese zurückzuführen ist. Hier wies die Verwendung der PCP zwei entscheidende Vorteile im Vergleich zur DCP bei der überbrückenden Plattenosteosynthese auf. Zum einen trat die Frakturspaltüberbrückung bereits nach den ersten 2 Wochen auf, so daß die Entlastung der Platte vergleichsweise früh erfolgen konnte. Zum anderen wurde das Design der PCP besonders in den für den Plattenbruch kritischen Schraubenlöchern so verändert, daß die Kraftübertragung in diesem Bereich deutlich verbessert wurde, und somit die Strukturbelastung der PCP durch Microbewegungen entsprechend minimiert wurde (Tepic, Perren pers. Angaben).

## **5. Schlußfolgerungen**

Ziel dieser Studie ist es, eine Aussage über die Unterschiede von 2 Operationsverfahren und 2 Osteosyntheseplatten zu treffen, dabei zeigte das vascularitätsschonende Operationsverfahren mit indirekter Reposition im Vergleich zur anatomischen Reposition mit Denudierung folgende Vorteile:

- ◆ die Frakturspaltüberbrückung erfolgt schneller und in größerer Zahl
- ◆ die Mineralisation des neugebildeten Knochen erfolgt schneller und in größerer Menge
- ◆ die verbesserte Mineralisation und Bruchspaltüberbrückung führen zu höherer Bruchfestigkeit.
- ◆ die Verwendung der PCP führt zu noch schnellerer Frakturspaltüberbrückung und Mineralisation des Kallus

Die Ursache dieser Unterschiede der Knochenheilung liegen in der indirekten Reposition, bei der die Weichteile (Periost und Muskel) nicht vom Knochenfragment in der Frakturzone abgetrennt werden. Die Knochendurchblutung von den Markgefäßen ist aufgrund des Kavitationseffektes mit großer zerstörerischer Auswirkung auf die Markhöhle unterbrochen. (Mohr 1989) Allerdings können die Knochenfragmente von den kleinen Muskelarterien über das Periost ernährt werden (Rhineland 1968). Die nichtdenudierten Fragmente sind dabei als "mikrovasculärgestielte Knochentransplantate" zu verstehen. Die in der Studie gefundene frühere Knochenheilung ist darauf zurückzuführen, daß die zur Regeneration bzw. Frakturheilung nötigen Zellen (Osteoprogenitorzellen, Osteoblasten und Osteoklasten), die sich besonders häufig im Periost befinden, nicht absterben, sondern weiterhin ernährt werden. Dadurch setzte die Überbrückung der Frakturspalten und Mineralisation der Kallusbrücken ca. 4 Wochen früher ein als nach Denudierung der Fragmente (Versuchsgruppe A). Dies zeigt sich besonders deutlich im unterschiedlichen Knochenwachstum in den 4 Wochengruppen direkt in der Frakturzone in der Mitte des Plattenlagers (s.h. Abb. 27-28). In der Gruppe B und besonders in der Gruppe C (mit PCP) beginnt die Kallusmineralisation in der 2. - 3. Woche, die Mineralisation nach anatomischer Reposition setzt erst ca. 4 Wochen später ein. Besonders wichtig ist die Tatsache, daß die mit Fluochromen nachgewiesene Zellaktivität sich hauptsächlich periostal und nur geringgradig medullär findet. Diese Ergebnisse bestätigen die von Baumgaertel 1992 gefundene bessere Tuschezeichnung in der Frakturzone der Gruppen B und C, die ein Hinweis auf eine bessere Durchblutung der Fragmente ist. Entsprechend geringer war die Zahl der von Baumgaertel gefundenen Sequester in der Frakturzone.

Baumgaertel konnte ebenfalls zeigen, daß nach 8 bzw. 12 Wochen der Knochen nach indirekter Reposition eine deutlich höhere Bruchfestigkeit aufwies. Histologisch läßt

sich dies durch die in dieser Studie gefundene vermehrte Kallusbildung und den höheren Mineralisationsgrad des Kallus erklären. Hier wiesen die Gruppen B und C deutlich höhere Werte auf als die Gruppe A. Besonders im Verlauf der Mineralisation wird der Unterschied deutlich (s.h. Abb. 22 + 23), die indirekte Reposition führt zu einer schnellen Kallusbildung und Mineralisation in den ersten Wochen (s.o.) nach der Fraktur, so daß die Frakturheilung nach 8 Wochen bereits so weit fortgeschritten ist, daß der mineralisierte Kallus von der alten Kortikalis zum Teil nicht mehr zu unterscheiden ist. Nach anatomischer Reposition ist zu diesem Zeitpunkt ein Großteil der Frakturspalten, obwohl sie durch die Reposition nur sehr klein sind, die meisten Kallusbrücken erst in der Anfangsphase der Mineralisation und somit noch nicht sehr belastungsstabil.

Für die Klinik haben diese Ergebnisse eine entscheidende Bedeutung bei der operativen Frakturbehandlung. Es sollten nur die für die Implantation der Platte nötigen Fragmente vom Muskel gelöst werden und das weitere Darstellen der Fraktur möglichst vermieden werden, um die Durchblutung und damit die schnelle Knochenheilung nicht zu gefährden (s.h. auch Abb. 12). Auf eine anatomische Reposition der Fragmente kann verzichtet werden. Zusätzlich wird die Gefahr der Sequesterbildung, die die Entstehung einer Infektion begünstigen oder eine Sequesterotomie mit Spongiosaplastik erfordern, verringert.

Bei der indirekten Reposition resultierten zum Teil große Frakturspalten und ein nicht wiederhergestellter medullärer Kanal. Der Querschnitt des Knochen in der Frakturzone vergrößerte sich dadurch zum Teil erheblich (s.h. auch 3.1.1.2.). Postoperativ angefertigte Röntgenbilder zeigen daher ein "radiologisch schlechtes primäres Repositionsergebnis" im Vergleich zur anatomischen Reposition, allerdings muß man bedenken, daß die Röntgenbilder dabei nichts über die Durchblutung der Fragmente und damit die Heilungspotenz der jeweiligen Frakturzone aussagen.

Baumgaertel konnte in seiner Studie bei der Befragung von Unfallchirurgen über die dem Knochen subjektiv zugetraute Belastbarkeit zeigen, daß bei hoher Signifikanz die meisten Befragten dem Knochen nach indirekter Reposition im weiteren Verlauf (nach 8 und 12 Wochen) eine höhere Belastbarkeit zutrauten. Diese subjektive Einschätzung deckte sich sehr gut mit der in den Belastungstests ermittelten Bruchfestigkeit der Knochen. Untersucht wurde dabei allerdings nicht, ob das Vertrauen in die erhöhte Belastbarkeit des Knochens vom erhöhtem Querschnitt oder von einer erhöhten Röntgenstrahlendichte subjektiv abgeleitet wurde. Gezeigt hat sich, daß der erhöhte Querschnitt des Knochen nach indirekter Reposition keinen statistisch faßbaren Bezug zur Bruchfestigkeit des Knochens aufweist. Im Gegensatz dazu besteht aber eine Abhängigkeit von der Fluoreszenzaccumulation des Kallus und somit der Mineralisation (Abb. 31). Diese bedeutet im Röntgenbild eine erhöhte Röntgenstrahlendichte. Somit muß der Betrachter bei der Beurteilung von Röntgenbildern bewußt den



Knochenquerschnitt unberücksichtigt lassen und sich bei der Beurteilung, ob der Knochen voraussichtlich eine hohe Belastbarkeit hat, hauptsächlich auf den Mineralisationsgrad des Knochens konzentrieren. Diese Frage hat im klinischen Alltag eine entscheidende Bedeutung bei der Mobilisation der Patienten. Natürlich müssen dabei andere Kriterien wie die Lage von Knochendefekten, das Auftreten von Sequestern oder die Art des Implantatmaterials ebenfalls berücksichtigt werden. Eine weitere wichtige Frage war, welchen Einfluß die Verwendung der PCP gegenüber der DCP hat. In den ersten Versuchen mit Osteosynthese mittels PCP von Tepic 1992 konnte er zeigen, daß die Refraktur 12 Wochen nach Plattenosteosynthese bei Verwendung der DCP immer durch den primären Frakturspalt verlief, während nach Verwendung der PCP der Refrakturspalt immer außerhalb der primären Frakturzone lag und insgesamt die Bruchfestigkeit signifikant höher lag. Die selben Versuche wurden zusätzlich nach 48 Wochen wiederholt, hier war die Bruchfestigkeit nach Verwendung von DCP und PCP gleich.

Die Ursache hierfür läßt sich histologisch in den oben genannten Ergebnissen gut erklären. Zum einen ist die frühe Frakturspaltüberbrückung nach indirekter Reposition bei Verwendung der PCP noch stärker ausgeprägt, zum anderen ist die Einlagerung von Kalzium in den Kallus wesentlich stärker ausgeprägt. Dadurch ist die frühe Frakturkonsolidierung im Vergleich zur Osteosynthese mittels DCP und besonders die mediale Abstützung (s.o.) bereits nach 4 Wochen Heilung wesentlich weiter fortgeschritten.

## **6. Zusammenfassung**

Bei der Osteosynthese von Mehrfragmentfrakturen hat die exakte anatomische Wiederherstellung des Knochens nicht mehr die alleinige Priorität. Neben der Reposition und Osteosynthese mit radiologisch „gutem Ergebnis“ wird zunehmend mehr auf die Durchblutung des Weichteil-Knochen-Komplexes Wert gelegt. Die Knochenheilung und Regeneration kann nur bei erhaltener Vascularität optimal verlaufen, deshalb erfolgt die Osteosynthese mit indirekter Reposition, Ligamentotaxis und überbrückender Plattenosteosynthese. Ein vermeintliches, radiologisch schlechtes Repositionsergebnis wird dabei akzeptiert.

Um die Heilungsvorgänge nach überbrückender Plattenosteosynthese und indirekter Reposition besser verstehen zu können, entwickelte Baumgaertel 1991 ein reproduzierbares Frakturmodell der subtrochantären Mehrfragmentfraktur am Schaffemur, an dem die Unterschiede nach anatomischer und indirekter Reposition untersucht werden konnten. Es zeigte sich, daß die biologische Überbrückungsosteosynthese der anatomischen Kompressionsosteosynthese in radiologischer, biomechanischer und morphologischer Hinsicht deutlich überlegen ist.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, daß die Frakturspaltüberbrückung und die Mineralisation des Kallus nach indirekter Reposition deutlich schneller und effektiver abläuft.

Verwendet wurden histologische Schnitte von Versuchsschafen, die in drei Gruppen (je 12 Tiere) mit anatomischer, biologischer und biologischer Osteosynthese mit PCP unterteilt wurden. Die Kallusbildung und Mineralisation wurde nach dem Schema der polychromen Sequenzmarkierung intravital angefärbt (Rahn 1976), sodaß der zeitliche Heilungsablauf mit Fluochromen codiert war. Die fluoreszierenden, histologischen Präparate und die entsprechenden Radiographien wurden qualitativ und quantitativ mit computerunterstützter Bildanalyse untersucht.

Es zeigt sich, daß der meßbare Beginn der Kallusbildung nach indirekter Reposition bereits in der 2. – 3. Woche einsetzte. Dies trat im Vergleich nach anatomischer Reposition erst in der 6. Woche auf. Insgesamt wurde bis zur 12. Woche nach indirekter Reposition ein deutlich erhöhter Mineralisationsgrad erreicht. Die erhöhte Bruchfestigkeit der indirekt reponierten Femora ist auf diese schnelle Kallusbildung und Mineralisation zurückzuführen.

Dieser Effekt konnte zusätzlich durch die Verwendung der PCP bei indirekter Reposition durch noch besser erhaltende periostale Durchblutung gesteigert werden.

## **7. Literaturliste**

- Baumgaertel, F. R., Perren, S. M., Rahn, B. A. Gotzen, L., Kreitz, G., Vergleichende Untersuchungen der Behandlung einer experimentellen subtrochantären Mehrfragmentfraktur am Schaf mit direkter Reposition und konventioneller AO Technik sowie indirekter Reposition und biologischer Osteosynthese. Chir Forum, W. Hartel et al. (Hrsg.), Springer, Berlin Heidelberg, 231-234 (1991)
- Baumgaertel, F., Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zur biologischen Plattenosteosynthese von Mehrfragmentfrakturen des Femurs. Habilitationsschrift, Marburg (1993)
- Berggren, A., Microvascular free bone transfer with revascularization of the medullary and periosteal circulation or the periosteal circulation alone: a comparative experimental study. J Bone Jt Surg 64 A, 799-809 (1982)
- Betz, A. M., Stock, W., Hierner, R. Schweiberer, L., Der Einfluß des Weichteilschadens auf die Frakturheilung - "Konzept der Funktionseinheit Weichteil-Knochen". Langenbecks Arch Chir Suppl (Kongreßbericht 1993)
- Brunner, Ch. F., Weber, G. B., Besondere Osteosynthesetechniken. Springer, Berlin Heidelberg New York (1981)
- Cordey, J., Perren, S. M., Steinemann, S., Parametric analysis of the stress protection in bone after plating. aus: Biomechanics - Basic and Applied Research, Martinus Nijhoff, Dordrecht Boston Lancaster, 387-392 (1987)
- Coutts, R. D., Harris, W. H., Weinberg, E. H., Compression Plating: experimental study of the effect on bone formation rates. Acta Orthop Scand 44, 256-262 (1973)
- Danis, R., Théorie et pratique de l'osteosynthèse. Masson, Paris (1949)
- Gautier, E., Rampoldi, E., Weber, P., Rahn, B. A., Frühveränderungen der Knochenstruktur und Knochengometrie nach Verplattung mit unterschiedlich steifen Osteosyntheseplatten. Acta Med Austriaca (13 Suppl 35), 17 (1986)
- Gautier, E., Cordey, J., Lüthi, U. Mathys, R., Rahn, B. A., Perren, S. M., Knochenumbau nach Verplattung: biologische oder mechanische Ursache? Helv Chir Acta 50, 53-57 (1983)

- Gautier, E., Perren S. M., Die Reaktion der Kortikalis nach Verplattung - eine Folge der Belastungsveränderungen des Knochens oder ein Vaskularitätsproblem ? aus: Die Plattenosteosynthese und ihre Konkurrenzverfahren. Springer, Berlin Heidelberg New York, 21-37 (1991)
- Gördes, W., Koszyk, W., Holländer, H., Histologische und histomorphometrische Veränderungen bei Plattenosteosynthesen nach Osteotomien an der Tibia des Kaninchens. Arch Orthop Unfall-Chir 82, 123-133 (1975)
- Gördes, W., Versuche der Kalksalzdichtebestimmung der osteotomierten und stabilisierten Tibia des Kaninchens mittels Profilschanning. Habilitationsschrift, München (1974)
- Gunst, M. A., Suter, C., Rahn, B. A., Die Knochendurchblutung nach Plattenosteosynthese. Helv. chir. Acta 46, 171-175 (1979)
- Heitemeyer, U., Hierholzer, G., Die Beachtung der Biologie bei der Plattenosteosynthese. OP-Journal, 30-36 (1/1992)
- Hönig, J. F., Merten, H. A., Einfluss punktförmig gelagerter Osteosyntheseplatten im Vergleich zur konventionellen Osteosyntheseplattenlagerung auf das subimplantäre Lagerungsgewebe. Unfallchirurg, 95, 271-279, (1992)
- Kinzl, L., Perren, S. M., Burri, C., Veränderungen mechanischer Qualität der unter Druckplatten liegenden Knochencorticalis (Stressprotection). Langenbecks Arch Chir Suppl Chir Forum, 215-126 (1974)
- Klaue, K., Frigg, R., Perren, S. M., Die Entlastung der Osteosyntheseplatte durch interfragmentäre Plattenzugschraube. Helv. chir. Acta 52, 19-23 (1985)
- Küntscher, G., Das Kallus-Problem. Enke, Stuttgart (1970)
- Kunze, K.-G., Die Durchblutung der Knochen. Hefte der Unfallheilkunde, Springer, Berlin Heidelberg New York (1985)
- Lane, W.A., The operative treatment of fractures. The Medical Publishing Company Ltd, London (1914)
- Mast, J., Jakob, R., Ganz, R., Planning and Reduction Technique in Fracture Surgery. Springer, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo (1989)
- Matter, P., Brennwald, J., Perren, S. M., Biologische Reaktion des Knochens auf Osteosyntheseplatten. Helv. Chir. Acta Suppl. 12 (1974)

- Moor, R., Tepic, S., Perren, S. M., Hochgeschwindigkeits-Film-Analyse des Knochenbruchs. Z. Unfallchir. Vers. med. Berufskr., 82 (1989)
- Moyen, B. J-L, Lahey, P. J., Weinberg, E. H., Harris, W. H., Effect on intact femora of dogs of the application and removal of metal plates. J Bone Joint Surg (Am) 60, 940-947 (1978)
- Paavolainen, .P, Karaharju, E., Slätis, P., Ahonen, J., Holström, T., Effect of rigid plate fixation on structure and mineral content of cortical bone. Clin Orthop, 136, 278-293 (1978)
- Perren, S. M., Cordey, J., Die Gewebisdifferenzierung in der Frakturheilung. Unfallheilkunde 80, 161-164 (1977)
- Perren, S. M., Huggler, A., Russenberger, M., Allgöwer, M., Mathys, R., Schenk, R., Willenegger, H., Müller, M. E., Reaktion der Kortikalis auf Kompression. übersetzt aus Acta Orthop Scand Suppl 125, 1-14 (1971)
- Perren, S. M., Biomechanik der Frakturheilung. Manuscript AOK Freiburg (Feb 1992)
- Perren, S. M., Ganz, R., Cordey, J., Wissenschaftliche Grundlage zur biologischen Osteosynthese: Dehnungstheorie, vasculäre Elemente. Hefte zu der Unfallchirurg, 230, 777-782, Springer, Berlin Heidelberg New York (1993)
- Perren, S. M., Cordey, J., The concept of interfragmentary strain. Springer, Berlin Heidelberg New York (1980)
- Rahn, B. A., Perren, S.M., Xylenol Orange, a fluorochrome useful in polychrome sequential labeling of calcifying tissues. Stain Technology, 46, 125-129 (1971)
- Rahn, B. A., Die polychrome Sequenzmarkierung. Habilitationsschrift. Freiburg i. Br. (1976)
- Rahn, B. A., Die polychrome Sequenzmarkierung des Knochenanbaus. Zeiss Information 22, 36-39 (1976)
- Refior, H. J., Meister, P., Matzen, K., Untersuchungen zum Verhalten der Mikrostruktur der menschlichen Cortikalis nach Druckplattenosteosynthese. Arch Orthop Unfall-Chir 81, 45-56 (1975)
- Rhineland, F. W., The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture. J Bone Jt Surg, 50-A, 784-800 (1968)

- Schenk, R. K., Willenegger, H., Zur Histologie der primären Knochenheilung. Langenbecks Arch klin Chir, 308, 440-451 (1964)
- Schenk, R. und Willenegger, H., Zum histologischen Bild der sogenannten Primärheilung der Knochenkompakta nach experimentellen Osteotomien am Hund. Experientia, 19, 593-595 (1963)
- Schweiberer, L., Schenk, R., Histomorphologie und Vascularisation der sekundären Knochenbruchheilung, unter besonderer Berücksichtigung der Tibiaschaftfraktur. Unfallheilkunde 80, 275-286 (1977)
- Tepic, S., Predieri, M., Plavljanic, M., Lippuner, K., Monney, G., Foglar, C., Frankle, M., Remiger, A., Rahn, B., Perren, S., Internal Fixation with minimal plate-to-bone contact. 38th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, Feb. 17-20, 1992, Washington, D.C.
- Tscherne, H., Trezn, O., Operationstechnik und Ergebnisse bei Mehrfragment- und Trümmerbrüchen des Femurschaftes. Unfallheilkunde 80, 221-230 (1977)
- Vidal, J., Treatment of articular fractures by "ligamentotaxis" with external fixation in: Brooker, HS, Edward, CC (eds.), External Fixation: Current State of the Art, Williams and Wilkins, Baltimore (1979)
- Willenegger, H., Perren, S. M., Schenk, R., Primäre und sekundäre Knochenbruchheilung. Der Chirurg 42, 241-252 (1971)
- Wolff, R. Knochenstabilität nach Kontakt- und Spaltheilung. Hefte der Unfallheilkunde Springer, Berlin Heidelberg New York (1988)
- Yamada, H., Strength of biological materials. The William and Wilkins Company Baltimore (1970)

## **8. Anhang**

### **8.1. Makro Biofix II**

```
label "label"
sel_ovl 4,1
sync 0
label "radiogr"
set_roi "2",252,0,256,511,1,0,0,1,1
clear "1",0
tv_on 1
tv_in "1"
invert "1","1"
clear_ovl "2"
graph_hist "1"
set_roi "1",252,0,256,511,1,0,0,1,1
ovl_to_gr "1","2",255
fill "2","2"
invert "2","2"
subtract "1","3","2",2
copy "1","8"
clear_ovl "1"
clear "2",0
label "1ges.kno"
discr "1","2",21,255,1,1
contour "2","1",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0,0
ident "2","2",1
beep 200,700
meas_geom "2",16,0,0,0,"mb___1gk"
clear "2",0
clear_ovl "1"
label "3hal.kno"
discr "3","4",21,255,1,0
contour "4","3",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0,0
ident "4","4",1
beep 200,700
meas_geom "4",16,0,0,0,"mb___3hk"
clear "4",0
clear_ovl "3"
label "2ges.alt"
discr "1","2",152,255,1,1
contour "2","1",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0,0
ident "2","2",1
beep 200,700
meas_geom "2",16,0,0,0,"mb___2ga"
clear_ovl "1"
clear "2",0
```

```

label "4hal.alt"
discr "3","4",152,255,1,0
contour "4","3",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0
ident "4","4",1
beep 200,700
meas_geom "4",16,0,0,0,"mb___4ha"
clear_ovl "3"
clear "4",0
copy "8","2"
set_roi "2",252,0,256,511,1,0,0,1,1
clear "1",0
label "bgu"
tv_on 1
tv_in "1"
copy "1","7"
copy "8","2"
clear "1",0
label "gruen"
tv_on 1
tv_in "1"
graph_hist "1"
set_roi "1",252,0,256,511,1,0,0,1,1
clear "2",0
clear_ovl "2"
ovl_to_gr "1","2",255
fill "2","2"
invert "2","2"
subtract "1","3","2",2
clear "2",0
label "5ges.cg"
clear_ovl "1"
discr "1","2",26,255,1,1
contour "2","1",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0
ident "2","2",1
beep 200,700
meas_geom "2",16,0,0,0,"mb___5GC"
clear_ovl "1"
clear "2",0
label "6hal.cg"
discr "3","4",25,255,1,0
contour "4","3",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0
ident "4","4",1
beep 200,700
meas_geom "4",16,0,0,0,"mb___6hc"
clear_ovl "3"
copy "7","3"
copy "8","2"

```



```

set_roi "2",252,0,256,511,1,0,0,1,1
clear "4",0
clear "1",0
label "rot"
tv_on 1
tv_in "1"
graph_hist "1"
set_roi "1",252,0,256,511,1,0,0,1,1
clear_ovl "2"
clear "2",0
ovl_to_gr "1","2",255
fill "2","2"
invert "2","2"
subtract "1","3","2",2
clear "2",0
label "7ges.xo"
discr "1","2",37,255,1,1
contour "2","1",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0,0
ident "2","2",1
beep 200,700
meas_geom "2",16,0,0,0,"mb___7gx"
clear_ovl "1"
clear "2",0
label "8hal.xo"
discr "3","4",30,255,1,0
contour "4","3",255,100,5,1
par_geom 1,0,0,0,0,0,0,0,0
ident "4","4",1
beep 200,700
meas_geom "4",16,0,0,0,"mb___8hx"
clear_ovl "3"
clear "4",0
clear "3",0
goto "label"

```

## **8.2. Makro IMCOsum**

REM \* Mit der rechten oder linken Maustaste den interessierenden Bereich markieren.  
REM \* Ein 2.Fenster muss geöffnet sein. Das Macro summiert die markierten Werte  
REM \* und schiebt sie mit dem Filenamen in das nächste Fenster.

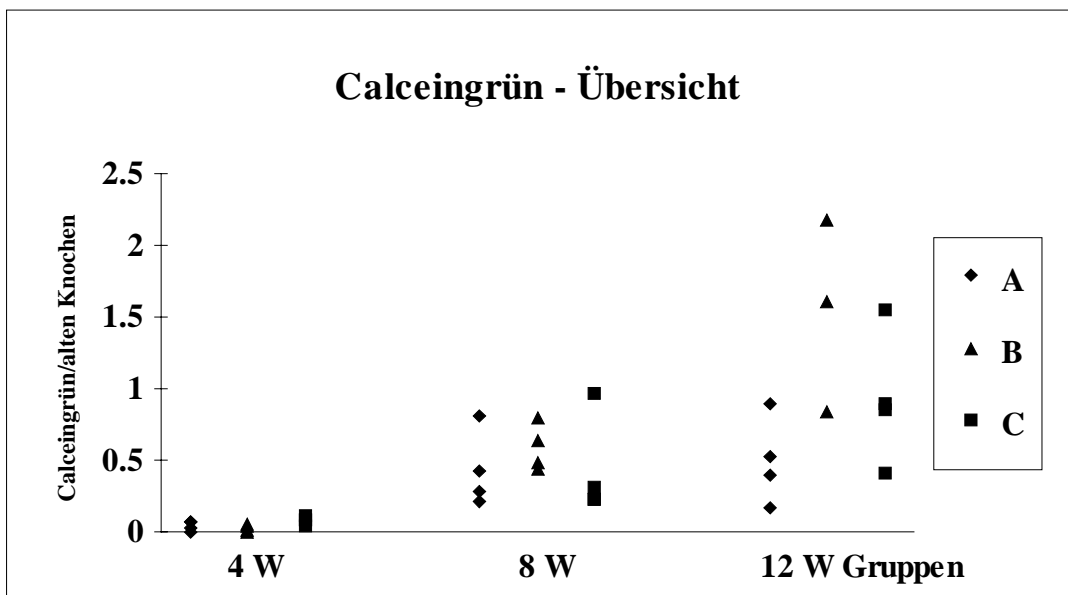
```
Sub MAIN
ToolsCalculate
EndOfDocument
InsertPara
A$ = FileName$(0)
B$ = Mid$(a$, 4) :REM kürzt den Pfadnamen aus dem Filenamen
Insert B$ + " S:"
Insert Chr$(9)
EditPaste
StartOfLine
ParaDown 1, 1
EditCopy
NextWindow
EditPaste
NextWindow
FileClose 2

End Sub
```

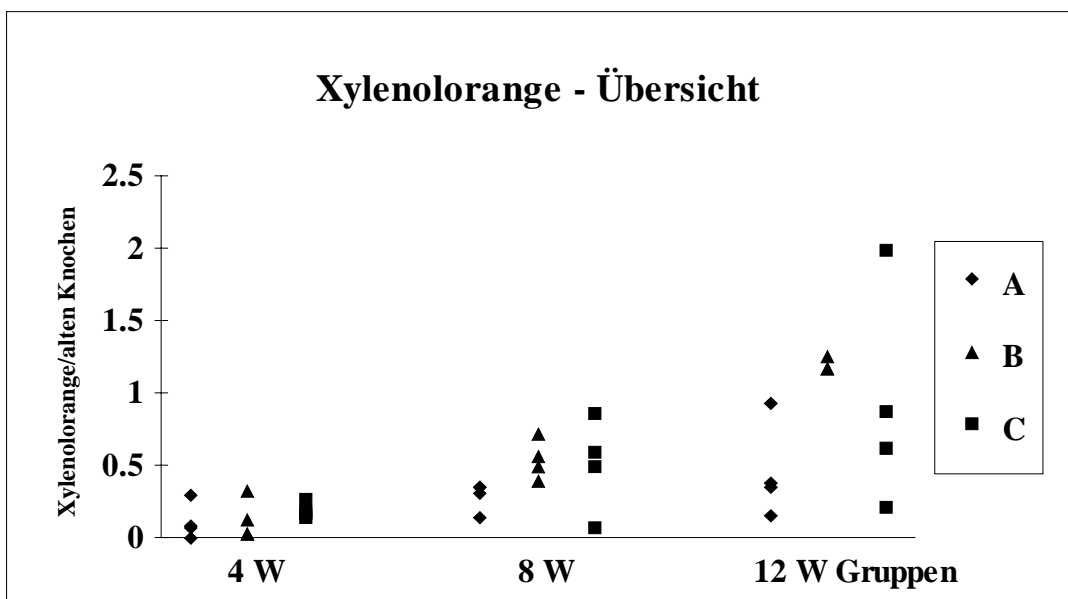
### 8.3. Einzelwertgraphiken

In den Einzelwertgraphiken sind die Vier-, Acht- und Zwölfwochengruppen auf der x-Achse dargestellt. Das Calceingrün repräsentiert in den Fluoreszenzdarstellung der 4 Wochengruppe einen anderen Zeitraum als in der 8 oder 12 Wochengruppe (s.h. intravitale Fluoreszenzmarkierung, Abb. 1, S. 8). Das Gleiche gilt für Xylenolorange.

#### 8.3.1. Fluoreszenz mittlere Querschnitte

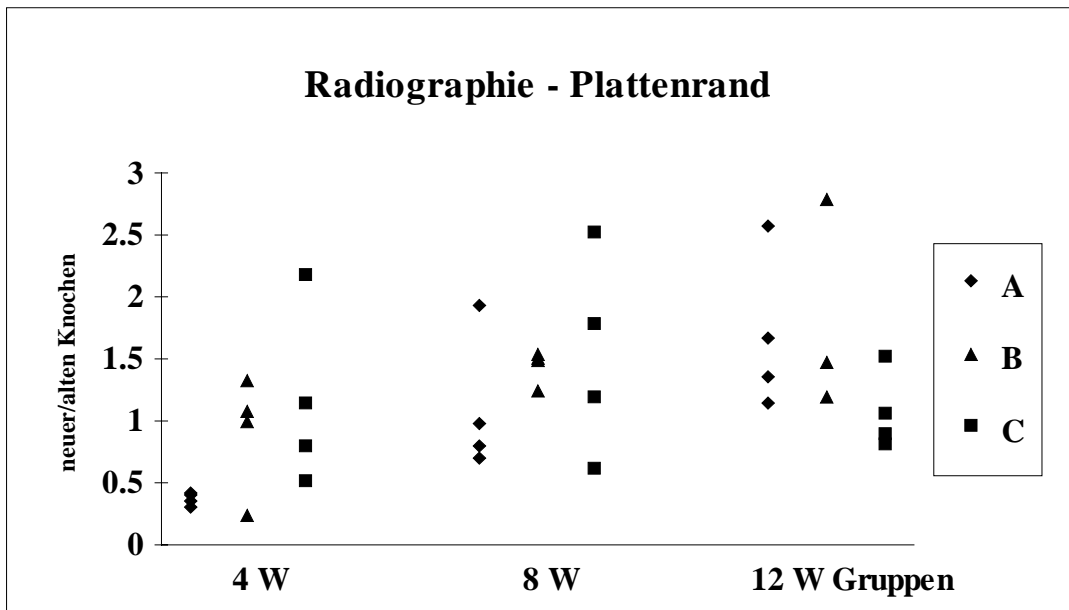


**Abb. 34** Calceingrün - Übersicht (mittlere Querschnitte). Alle Calceingrünmeßwerte werden in Bezug auf den alten Knochen dargestellt.

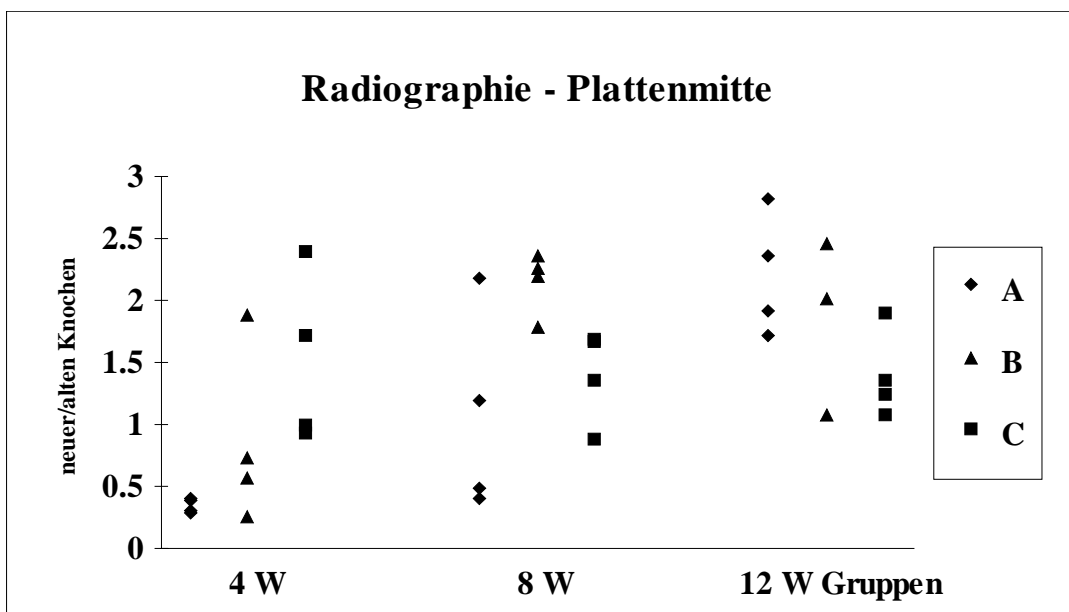


**Abb. 35** Xylenolorange - Übersicht (mittlere Querschnitte). Darstellung der Xylenolorangewerte in Bezug auf den alten Knochen.

### 8.3.2. Radiographie proximale Längsschnitte



**Abb. 36** Radiographien - Plattenrand (proximale Längsschnitte). Einzelwertdarstellung der Meßergebnisse in Bezug auf den alten Knochen.



**Abb. 37** Radiographie Plattenmitte (proximale Längsschnitte). Einzelwertdarstellung der Meßergebnisse in Bezug auf den alten Knochen.

### 8.3.3. Fluoreszenz proximale Längsschnitte Plattenrand

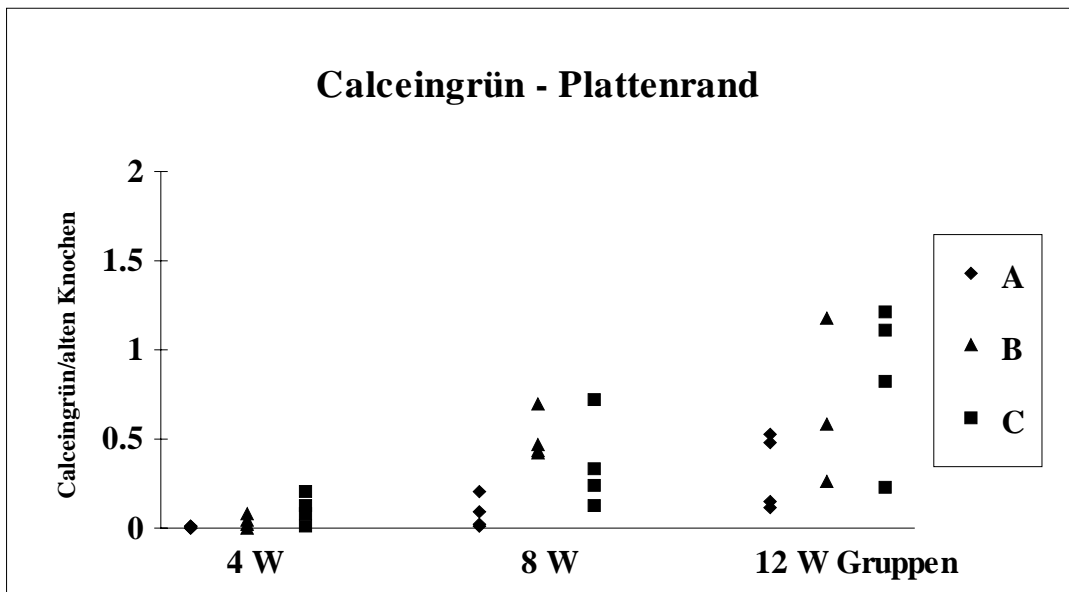


Abb. 38 Calceingrün - Plattenrand (proximale Längsschnitte). Darstellung der Calceingrünmeßwerte in Bezug auf den alten Knochen.

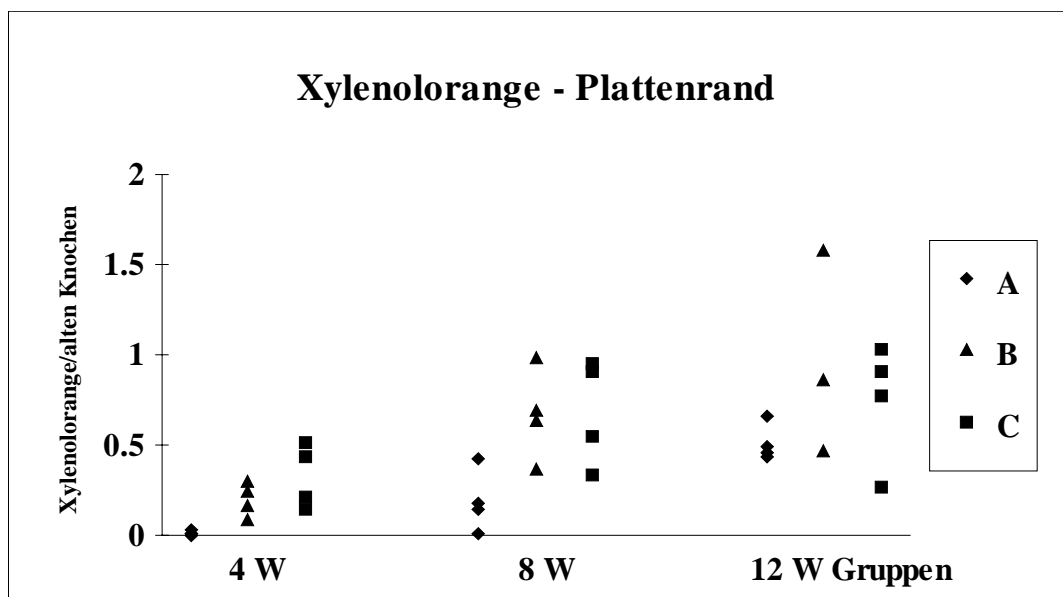


Abb. 39 Xylenolorange - Plattenrand (proximale Längsschnitte). Darstellung der Xylenolorange-meßwerte in Bezug auf den alten Knochen.

### 8.3.4. Fluoreszenz proximale Längsschnitte Plattenmitte

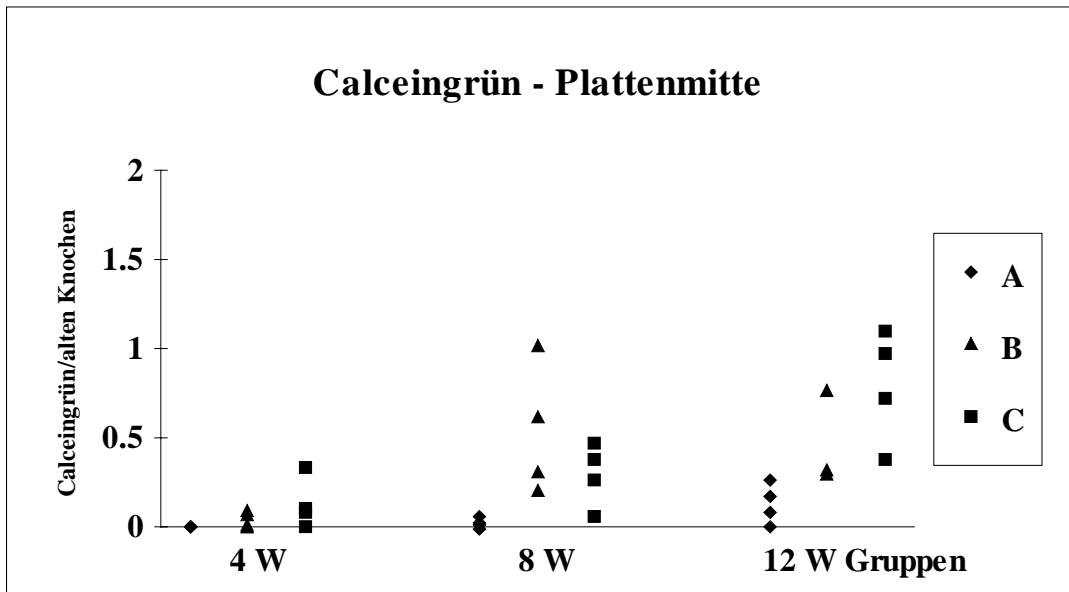


Abb. 40 Calceingrün - Plattenmitte (proximale Längsschnitte). Meßwerte von Calceingrün in Bezug auf den alten Knochen.

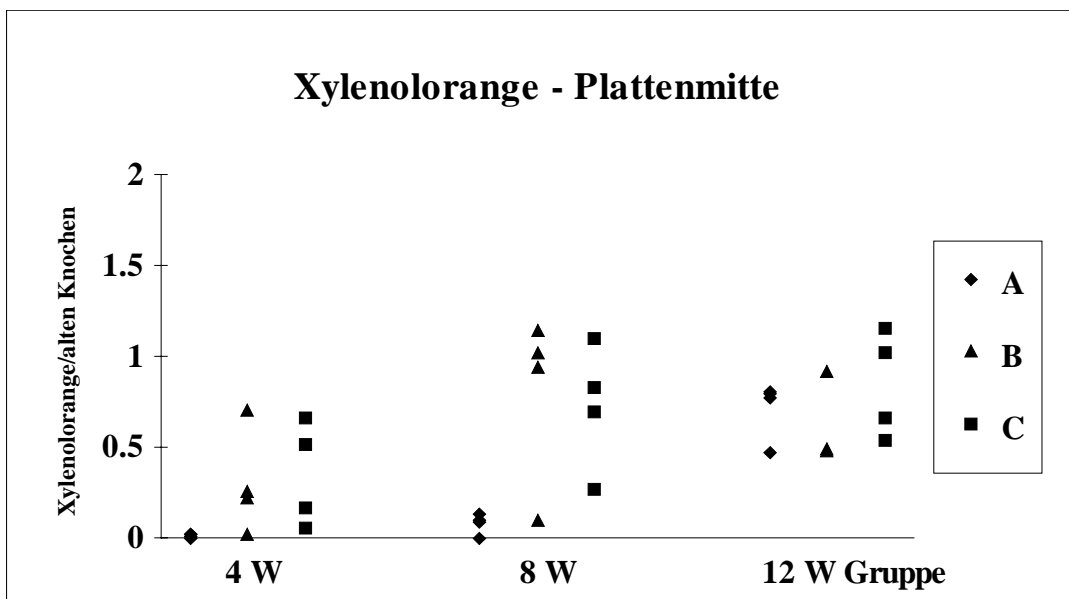


Abb. 41 Xylenolorange - Plattenmitte (proximale Längsschnitte). Meßwerte von Xylenolorange in Bezug auf den alten Knochen.

**Meine akademischen Lehrer in Marburg waren:**

Amon	Klenk
Arnold	Lennartz
Basler	Lührmann
Baum	Mazumder
Baumgaertel	Oepen
Blankenburg	Pohlen
Eschenbach	Prinz
Fuhrmann	Riedmiller
Ganz	Rothmund
Geus	Schüffel
Gohlenhofen	Schulz
Gotzen	Thomas
Gressner	Voigt
Griss	Wagner
Habermehl	Wichmann
Happle	Wiegand
Huffmann	Zelder
Kern	

**Meine akademischen Lehrer in Fulda waren:**

Haas  
Hammar  
Rumpf  
Wörsdörfer

**Meine akademischen Lehrer in Davos waren:**

Perren  
Rahn

## Danksagung

Ich möchte mich bei PD Dr. F. R. Baumgaertel für die Aufgabenstellung und die Einarbeitung ins Thema bedanken. Er hat sehr viel Zeit investiert, um mir die Grundlagen für Fraktur, Frakturheilung und Osteosynthese theoretisch und in der medizinischen Praxis zu vermitteln. Insbesondere bin ich ihm für die Betreuung meiner Dissertation auch während meiner Zeit am AO Forschungsinstitut in Davos dankbar.

Herrn Prof. Dr. S. M. Perren danke ich für mein Stipendium am AO – Forschungsinstitut, durch das ich die außergewöhnlich umfangreichen Möglichkeiten des Institutes nutzen konnte. Die Erstellung der Dias und die Auswertung derselben am Computer erfolgte von Oktober '93 bis April '94 am AO – Forschungsinstitut in Davos.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. B. A. Rahn. Durch seine Beratung und Unterstützung war es möglich, meine Auswertungen erfolgreich durchzuführen. In vielen Stunden gemeinschaftlicher Diskussion hat er mir die Grundlagen wissenschaftlichen Denkens und Arbeitens beigebracht. Besonders in der Frage der Darstellung und Präsentation meiner Ergebnisse habe ich wertvolle Impulse bekommen.

Allen Mitarbeiter des Forschungsinstitutes möchte ich für ihre freundliche Aufnahme und ihre Hilfe recht herzlich danken. Frau Elena Rampoldi hat die histologischen Schnitte angefertigt, die Herren Dr. Jacques Cordey und Dr. Walter Ziegler haben mich in der Statistik beraten, Frau Claudia Güntensperger und Herr Emir Omerbegovic machten die Photoarbeiten und Frau Helga Klebl beschaffte unermüdlich die gewünschten Literaturquellen.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Frau danken, die für meine dissertationsbedingte Abwesenheit viel Verständnis und Geduld aufgebracht hat.