

Aus dem

Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie

Klinik für Orthopädie und Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie

Ärztlicher Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Carsten Perka

Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Ulrich Stöckle

Habilitationsschrift

Interaktion osteoregulativer und -regenerativer Prozesse am Beispiel metabolischer Ausnahmesituationen

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Orthopädie und Unfallchirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Ricarda Johanna Seemann, geb. Locher
aus Cuxhaven

Eingereicht: 13.01.2022

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Axel R. Pries

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. W. Lehmann

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. M. Raschke

Inhalt

1	Einleitung	5
1.1	Historischer Hintergrund	5
1.2	Knochenstoffwechsel und Phasen der Frakturheilung.....	6
1.3	Verzögerte Frakturheilung und Pseudarthrosen: Klassifikation, Ätiologie, Therapie.	7
1.4	Metabolische Extremsituationen und ihr Einfluss auf den Knochenstoffwechsel....	10
1.5	Fragestellung und Ziel der Habilitationsschrift.....	12
2	Ergebnisse	14
2.1	Klinische Ergebnisse und PROMs (patient-reported outcome measures) nach operativer Stabilisierung von Frakturen des dorsalen Beckenrings.....	14
2.2	Schädel-Hirn-Trauma und Knochenheilung: radiologische und biomechanische Analyse der Knochenformation und der Knochenstabilität im kombinierten Trauma-Maus-Modell.....	23
2.3	Gestörte Frakturheilung mit hoher Pseudarthroserate bleibt irreversibel trotz Schädel-Hirn-Trauma in leptindefizienten Mäusen	32
2.4	Leptin-Defizienz hebt den positiven Effekt eines Schädel-Hirn-Traumas auf die Knochenheilung auf: histologische Analyse im kombinierten Trauma-Maus-Modell	42
2.5	Leptin-vermittelte Signalwege stabilisieren posttraumatisches Insulin und Osteocalcin nach kombinierter Fraktur langer Röhrenknochen und Schädel-Hirn-Trauma und beeinflussen die Frakturheilung im kombinierten Trauma-Maus-Modell	54
3	Diskussion	70
3.1	Klinische Implikationen.....	70
3.2	Mehrdimensionale Analyse von Knochenstoffwechsel und -heilung im Tiermodell	71
3.3	Überlegungen zur Interaktion osteoregulativer und -regenerativer Prozesse	74
3.4	Einordnung und Ausblick.....	76

4	Zusammenfassung	79
5	Literaturverzeichnis	81
	Danksagung	90
	Erklärung	92

Verzeichnis relevanter Abkürzungen

(α)CGRP	Calcitonin gene-related peptide (alpha)
AO	Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen
BMPs	Bone Morphogenetic Proteins
CT	Computertomographie
CCII	Controlled cortical impact injury
Fx	Fraktur
ESWT	extrakorporale Stoßwellentherapie
Gla-OCN	γ -carboxyglutamic acid (carboxyliertes) Osteocalcin
Glu-OCN	glutamic acid (uncarboxyliertes) Osteocalcin
Jhd.	Jahrhundert
LIPUS	low intensity pulsed ultrasound
LO	Leptin-defizient, Leptindefizienz-
n. Chr.	nach Christus
ob	obese
OCN	Osteocalcin
OPG	Osteoprotegerin
PROMs	Patient-reported outcome measurements
QoL	Quality of Life
SF-36	Short Form 36
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
SMFA-D	Short Musculoskeletal Funktion Assessment (deutsche Version)
SNS	Sympatisches Nervensystem
SPF	Spinopelvine Fixation
TIFI	Transiliacaler Fixateur interne
v. Chr.	vor Christus
WT	Wildtyp
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Historischer Hintergrund

Während die Entstehung von internistischen Krankheitszuständen spätestens seit Hippokrates (5./4. Jhd. v. Chr.) und seinen Nachfolgern auf ein Ungleichgewicht der Körperkräfte und -säfte zurückgeführt und deren Heilung in einer Wiederherstellung dieses Gleichgewichtes begründet wurde (1, 2), nimmt der Umgang mit Verletzungen eine Sonderstellung in der Geschichte der Medizin ein. Von außen zugefügte Verletzungen und Knochenbrüche forderten eine mechanistischere Herangehensweise: der Arzt und Chirurg sollte hier die Heilung unterstützen, indem er natürliche Stellung und Zustand, z.B. durch adäquate Schienung eines Knochenbruches, wiederherstellte (3). Hippokrates konzentrierte sich in seinen Schriften mehr auf die praktische ärztliche Kunst der Frakturheilung als auf ihre Hintergründe und äußerte widersprüchliche Ansichten zur Regenerationsfähigkeit des Knochens (1, 2). Nichtsdestotrotz bestand schon in der Antike ein Interesse daran, auch die *Mechanismen* der Knochenheilung zu beschreiben und zu verstehen. Der Begriff „Kallus“ (von lat. *callus*, -i, Schwielen) wird im Zusammenhang mit neugebildetem Knochen von mehreren antiken Autoren, u.a. von Aristoteles (4. Jhd. v. Chr.) und Celsus (1. Jhd. n. Chr.) verwendet (4). Galen (2. Jhd. n. Chr.), bis in die Neuzeit hinein prägende Autorität ärztlicher Heilkunde, beschreibt den Kallus als aus den Knochenenden ausgetretenen, festgewordenen „Leim“, der unterbrochenen Knochen wie zwei Holzteile wieder vereinigt (4, 5). Hierbei sind mehrere Aspekte bemerkenswert: zum einen die Unterteilung in eine primäre Heilung („per primam intentionem“; diese sei jedoch bei Knochen aufgrund seiner Trockenheit unmöglich!) und eine sekundäre Heilung (über die Bildung von Kallus), ganz ähnlich unserer heutigen, chirurgisch geprägten Einteilung in direkte und indirekte Knochenheilung (6). Zum anderen das bereits vorhandene Verständnis für einen Heilungsprozess, der auf verschiedenen Ebenen verschiedene Phasen durchläuft (von flüssig zu fest, von „Leim“ zu Knochen, von Vorläufer zu Endprodukt).

Auch wenn sich unser heutiges Verständnis von Frakturheilung und ihren Einflussfaktoren von den antiken Vorstellungen emanzipiert hat und hauptsächlich auf den Erkenntnissen des 19. Jahrhunderts basiert, sind viele der zugrundeliegenden Mechanismen weiterhin nicht zufriedenstellend erklärt.

1.2 Knochenstoffwechsel und Phasen der Frakturheilung

Regeneration bezeichnet im medizinischen Kontext die morphologische und funktionelle Wiederherstellung geschädigten Gewebes durch zelluläre Neubildung. Prinzipiell kann das Phänomen der Frakturheilung oder Knochenregeneration von unterschiedlichen Standpunkten aus beleuchtet und beschrieben werden. Von operationstechnischem Interesse ist die Unterteilung in direkte und indirekte Frakturheilung. *Direkte Frakturheilung* bezeichnet dabei die Heilung ohne Kallusbildung, die in der Regel nur durch eine stabile Osteosynthese mit Kompression z.B. durch eine interfragmentäre Zugschraube mit Neutralisationsplatte zu erreichen ist. Bei guter Durchblutung kann die Fraktur so mittels Durchwanderung von Osteonen überbrückt werden.



Abbildung 1: Beispiel für regelrechte (indirekte) Frakturheilung bei einem siebenjährigen Jungen, der nach einem Foul beim Fußballspiel auf den Unterarm gestürzt war. **(a)** Die konventionellen Röntgenaufnahmen a.p. und seitlich am Unfalltag zeigen eine Fraktur des Radiuschaftes mit Achsfehler. Nach Reposition in Kurznarkose erfolgte die Ruhigstellung im Unterarmcast. **(b)** Die Kontrollaufnahmen nach 21 Tagen zeigen eine deutliche Kallusbildung. Klinisch ist die Fraktur bereits stabil (*Verwendung der Röntgenaufnahmen mit freundlicher Zustimmung des kleinen Patienten und seiner Familie*).

Die *indirekte Frakturheilung* entspricht dem physiologischen Regenerationsprozess und durchläuft mehrere Phasen (die folgende vereinfachte Darstellung orientiert sich an Einhorn/Gerstenfeld (7) und Schlundt et al. (8)): Die initiale Phase ist gekennzeichnet durch Bildung des Frakturhämatoms in der Frakturzone und den Ablauf inflammatorischer Prozesse sowie Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren. Mit

beginnender Revaskularisation wird das Hämatom von Fibroblasten durchwandert und durch Granulationsgewebe und Knorpel (den sog. weichen Kallus) ersetzt. Dieser wird in der Folge durch parallel ablaufende Resorptionsvorgänge und zunehmende Kalzifizierung zu Geflechtknochen umgewandelt. Remodeling-Prozesse schließen die Frakturheilung ab und bringen den Knochen auch morphologisch-makroskopisch in den ursprünglichen Zustand. Ein Beispiel für regelrechte Frakturheilung bei einem siebenjährigen Jungen zeigt Abbildung 1.

1.3 Verzögerte Frakturheilung und Pseudarthrosen: Klassifikation, Ätiologie, Therapie

Eine gestörte Frakturheilung kann durch verschiedene Faktoren bedingt sein. Die Definition als Krankheitsbild ist international uneinheitlich; im deutschsprachigen Raum wird ein Ausbleiben der knöchernen Frakturheilung über einen Zeitraum von vier bis sechs Monaten als verzögerte Frakturheilung bzw. *delayed union* bezeichnet, über sechs Monate hinaus bezeichnet man die fehlende Konsolidierung als Pseudarthrose oder *non-union* (9). Die AO (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen) löst sich in ihrer Definition vom zeitlichen Verlauf und definiert die Pseudarthrose als Fraktur, die ohne Intervention nicht zur Ausheilung kommen wird (10). Einen wichtigen Beitrag zu unserem heutigen Verständnis ausbleibender Frakturheilung lieferten Giannoudis et al. mit dem Diamond Concept, da dieses aus den verschiedenen Einflussfaktoren gestörter Frakturheilung konkrete therapeutische Handlungsansätze ableitet (11, 12). Nachdem sich die Grundlagenforschung über eine lange Zeit auf molekulare Einflussfaktoren (osteogene Zellen, osteokonduktive Strukturen, Wachstumsfaktoren) der Frakturheilung konzentriert hatte, bezieht das Diamond Concept explizit die biomechanischen Gegebenheiten und die Durchblutungssituation mit ein (11, 13-15).

Klinisch bedeutsam ist die auf Weber und Czech 1973 zurückgehende Unterscheidung zwischen *atropher* (biologisch inaktiver) und *hypertropher* (biologisch aktiver) Pseudarthrose (16), da diese von entscheidender Wichtigkeit für die weitere Therapieplanung ist (17). Atrophe Pseudarthrosen sind bildmorphologisch charakterisiert durch fehlende Kallusbildung im Frakturspalt und haben ihren Ursprung in einer mangelnden Vaskularisation und Versorgung mit für die Heilung notwendigen Faktoren (insuffiziente lokale Biologie) (16, 18). Dies kann bereits primär unfallbedingt sein, z.B. bei Deperiostierung des Knochens, ossärer Segmentverletzung mit „Abhängen“ eines

Knochenteils von der Gefäßversorgung oder schweren Begleitverletzungen der umliegenden Weichteile mit konsekutiver Einschränkung der Gefäßversorgung. Sekundär spielt dann die Qualität der operativen Versorgung eine Rolle. Weitere Faktoren, die zu einer für die Knochenheilung suboptimalen Situation führen, sind patientenabhängig, also fortgeschrittenes Alter, Vorerkrankungen wie Stoffwechsel- und Gefäßerkrankungen oder Nikotinkonsum (19, 20). Hypertrophe Pseudarthrosen hingegen sind bildmorphologisch charakterisiert durch übermäßige Kallusbildung bei instabilen Verhältnissen im Bereich des Frakturspaltes, z.B. durch ungenügende Ruhigstellung bei konservativer Therapie oder durch insuffiziente Osteosynthese (16, 18). Eine besondere diagnostische und therapeutische Herausforderung stellen die Infektpseudarthrosen dar, welche in ihrer Morphologie sowohl atrophen als auch hypertrophen Pseudarthrosen entsprechen können und durch mikrobiologischen oder histologischen Infektnachweis im Frakturspalt oder eine Fistel im Frakturbereich diagnostiziert werden (21, 22).

Die entstehenden Kosten für das Gesundheitssystem sind erheblich. Laut einer Pressemitteilung des Spitzenverbandes der gesetzlichen Krankenkassen GKV wurden im Jahr 2010 in Deutschland über 660 000 stationäre Behandlungen aufgrund von Knochenbrüchen gezählt, wobei die durchschnittlichen Kosten im Fall von Unterschenkel- und Sprunggelenksfrakturen 3.991 € betragen (23), Verdienstausschlag und sonstige Folgekosten nicht eingerechnet. Das Risiko für das Auftreten einer Pseudarthrose als Komplikation nach Frakturen wird in der gängigen Literatur, je nach Lokalisation und Verletzung, mit 5-10% angegeben (vgl. Mills et al. (24)), wobei die untere Extremität häufiger betroffen ist als die obere. Auch eine neuere Studie von Mills et al. 2017 sieht die meisten Pseudarthrosen bei Frakturen der unteren Extremität, kommt aber auf eine niedrigere Gesamtinzidenz von 1,9% (24). Als unstrittig gilt, dass die Pseudarthroserate bei Vorliegen eines oder mehrerer Risikofaktoren signifikant ansteigen kann (25-27). Die durchschnittlichen Behandlungskosten übersteigen diejenigen von Frakturen mit unkomplizierter Heilung um ein Vielfaches (28); so wird die Behandlung von Tibiaschaftpseudarthrosen je nach Art und Dauer mit durchschnittlich 25.556 US-\$ (gut 22.500 €, Antonova et al. (29)) oder 26.000 £ (gut 30.000 €, Khunda et al. (30)) kalkuliert.

Durch die Heterogenität des Krankheitsbildes ist die Etablierung eines einheitlichen Therapiestandards schwierig. Nach eingehender Analyse der Umstände, die zur Entwicklung einer Pseudarthrose geführt haben, ist unter Berücksichtigung des Diamond Concepts (11) ein individueller Behandlungsplan zu entwickeln. Dieser ist prinzipiell konservativ oder operativ ausgerichtet. Besteht aufgrund der radiologischen Morphologie und der wahrscheinlichen Ursache der Pseudarthrose, des zeitlichen Verlaufs und der patientenspezifischen Begleitumstände die begründete Hoffnung, dass die Fraktur noch Potential zur Durchbauung hat, so kann ein *konservativer Therapieversuch* eingeleitet werden. Neben der Optimierung patientenspezifischer Einflussfaktoren (u.a. Ernährung, Stoffwechsel, Nikotinkarenz) wird die Anwendung von ultraschallbasierten Therapien (low intensity pulsed ultrasound LIPUS oder extrakorporaler Stoßwellentherapie ESWT) diskutiert. Bei korrekter Indikationsstellung und sorgfältiger Selektion der Patienten weisen mehrere Studien auf eine positive Wirkung von LIPUS (vgl. Harrison/Alt (31)), und ESWT (vgl. Schaden et al. (32)) auf die Frakturheilung hin, was sich in einer zunehmenden Kostenübernahme durch die Krankenkassen abbildet. Auch wenn die Evidenzlevel der entsprechenden Studien eher niedrig und die Datenlage damit nicht eindeutig ist (31-34), sollten konservative Therapieverfahren – insbesondere in Hinblick auf den alternativ zu wählenden langen Weg aufwändiger Revisionsoperationen mit den damit einhergehenden perioperativen Risiken – in Erwägung gezogen und individuell und in enger Absprache mit den Patienten in den Behandlungsplan integriert werden. Fällt die Entscheidung zur *operativen Therapie*, richtet sich auch diese nach den zugrundeliegenden Mechanismen und Ursachen der Pseudarthroseentstehung. Bei auf dem Boden einer Instabilität entstandenen hypertrophen Pseudarthrosen steht die Biomechanik im Vordergrund (35). Die Operationsindikation ist frühzeitig zu stellen, wobei das Vorgehen prinzipiell aus einem Implantatwechsel mit dem Ziel der Erhöhung der Stabilität besteht oder der Erhöhung der interfragmentären Kompression. Dies kann beispielsweise bei intramedullären Kraftträgern durch eine Dynamisierung des Marknagels erreicht werden. Die Anfrischung der Pseudarthrose sowie Verfahren wie die Markraumabbohrung können die Heilung zusätzlich stimulieren (35-37). Atrophe Pseudarthrosen hingegen erfordern neben der Optimierung der Biomechanik durch eine adäquate Osteosynthese ein zusätzliches Augenmerk auf die Stimulation biologischer Faktoren (15, 35). Klinisch

wird, je nach Defekt, meist eine Kombination verschiedener stimulierender Verfahren eingesetzt, wie sie z.B. in der Defektauffüllung mit autologer Spongiosa als osteogener Trägerstruktur oder der Masquelet-Technik realisiert ist (38, 39), ergänzt durch biologische Substanzen wie BMPs (bone morphogenetic proteins) (27, 40). Die Therapie der Infektpseudarthrosen stellt eine besondere Herausforderung dar und erfordert die Infektsanierung durch komplette Implantatentfernung und gezielte antibiotische Therapie, bevor nach den genannten Prinzipien weiterverfahren werden kann.

Die Therapie von Pseudarthrosen ist entsprechend komplex, langwierig und teuer. Die sozioökonomischen Auswirkungen werden je nach Land und Gesundheitssystem unterschiedlich bewertet (41-43) – insgesamt ist aber von einer erheblichen Belastung des Gesundheitssystems und der Gesellschaft auszugehen, die auch durch indirekte Kosten (z.B. Verdienstausschlag, langfristige körperliche Behinderung) in der Gruppe der jungen, im Erwerbsleben stehenden Patienten bedingt ist (44). Aufgrund des demographischen Wandels ist zudem davon auszugehen, dass nicht nur die Gesamtzahl der zu versorgenden Knochenbrüche zunehmen wird, sondern mit steigendem Anteil älterer Patienten mit entsprechenden Vorerkrankungen auch der Anteil komplikationsbehafteter Verläufe in der Frakturheilung ansteigen wird. Aus diesen Gründen ist das klinische und grundlagenwissenschaftliche Interesse an Möglichkeiten zur Optimierung der Frakturheilung groß.

1.4 Metabolische Extremsituationen und ihr Einfluss auf den Knochenstoffwechsel

Die Auswirkungen eines Schädel-Hirn-Traumas (SHT) auf den Organismus sind komplex (45, 46). Je nach Schweregrad führt ein SHT zu einer mehr oder weniger ausgeprägten inflammatorischen und metabolischen Reaktion und bringt den Organismus in eine dysregulatorische Ausnahmesituation (45, 47-49), wobei die Blut-Hirn-Schranke über Wochen gestört sein kann (50). Mögliche Interaktionen mit dem Knochenstoffwechsel und ein potentieller Einfluss auf die Knochenheilung wurden dabei lange Zeit kontrovers diskutiert (51-55). Die klinische Beobachtung, dass Patienten mit Extremitätenfrakturen und gleichzeitig vorliegendem SHT eine überschießende Kallusbildung aufweisen, geht bereits auf die 1960er Jahre des letzten Jahrhunderts zurück und wurde erstmals von Calandriello et al. beschrieben (56). Diverse klinische Studien und Fallberichte versuchten, das Phänomen weiter einzugrenzen, wobei immer

wieder ähnliche Beobachtungen gemacht wurden: vermehrte Kallusbildung und vermehrtes Auftreten von heterotopen Ossifikationen (57-59) schienen darauf hinzuweisen, dass ein SHT einen positiven Einfluss auf die Frakturheilung hat (60-63). Die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen sind bis heute nicht abschließend geklärt (47), wobei sich die aktuelle Forschung u.a. mit folgenden Zielstrukturen auseinandersetzt: Mesenchymale Stammzellen und ihre Signalwege (55, 64, 65) sowie Hormone wie Leptin (66) oder CGRP (Calcitonin gene-related peptide) (67, 68), die wiederum von einer Vielzahl humoraler Faktoren wie Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Proteinen und Enzymen abhängig sind (47).

In den letzten Jahrzehnten rückte die endokrine Funktion des Knochens, welcher lange Zeit lediglich als Stützorgan des menschlichen Körpers wahrgenommen wurde, mehr und mehr in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen (69, 70). Das knochenspezifische Osteocalcin (OCN) gilt als „Downregulator“ des Knochenaufbaus und wird fast ausschließlich von Osteoblasten gebildet (71, 72). Die Bindung von Insulin an den Insulinrezeptor von Osteoblasten führt zu einer vermehrten Produktion des inaktiven Gla(γ -carboxyglutamic acid)-OCN (73) sowie über RANK/RANKL zu einer vermehrten Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung, welche wiederum durch pH-Abfall in der Howship-Lakune eine Aktivierung des von Osteoblasten gebildeten Gla-OCN zu Glu(glutamic acid)-OCN bedingt. Aktives Glu-OCN erhöht die Insulinsekretion im Pankreas und die periphere Insulinsensitivität, der Kreis schließt sich, was dem Zusammenspiel von Insulin und OCN in diesem Kontext den Namen "*Insulin-OCN-Fast-Forward-Loop*" (74, 75) gab. Leptin hingegen kann diese Stoffwechsellaskade über das sympathische Nervensystem unterbrechen (76). Osteoprotegerin (OPG) wird nicht mehr gehemmt und kann über RANK die Osteoklastenaktivierung herunterregulieren, sodass weniger aktives Glu-OCN gebildet wird. Leptin, das sogenannte „Sättigungshormon“, spielt eine wichtige Rolle in der Adipositas-Forschung (77, 78) und ist zuletzt auch vermehrt in den Fokus der Forschungen zur Interaktion zwischen den verschiedenen Stoffwechselsystemen gerückt. Während das Hormon über den „central pathway“ (Hypothalamus-Sympathikus-Achse) in der Summe eine anti-osteogene Wirkung entfaltet (79), wird in der Peripherie durch Aktivierung der Osteoblasten-Differenzierung von einer pro-osteogenen Wirkung ausgegangen (66, 80-82). Sowohl nach einer knöchernen Verletzung als auch nach einem vorausgegangenem SHT lassen sich erhöhte

Leptinkonzentrationen in Blut und/oder Cerebrospinalflüssigkeit messen (66, 83, 84), sodass hier eine mögliche Verbindung zum Phänomen der verbesserten Frakturheilung bei gleichzeitig vorliegendem SHT besteht.

1.5 Fragestellung und Ziel der Habilitationsschrift

Im Rahmen meiner wissenschaftlichen Tätigkeit habe ich mich insbesondere mit den speziellen Auswirkungen endokriner Dysbalancen auf den Knochenstoffwechsel und die Knochenregeneration beschäftigt, als Beispiel für die Interaktion verschiedener Organsysteme – hier dem ZNS, endokrinem und inflammatorischem System und Zwischenstoffwechsel – mit dem Skelettsystem im Rahmen des „Organ Crosstalk“. Klinische Grundlage hierfür war die im operativen Alltag immer wiederkehrende Konfrontation mit komplizierten Heilungsverläufen und reduziertem Outcome insbesondere bei polytraumatisierten Patienten mit Verletzungen des Stammskeletts.

Um ein besseres Verständnis des Knochenstoffwechsels, seinen Einflussfaktoren und Wechselwirkungen mit anderen Organsystemen zu ermöglichen, wurde in unserer Arbeitsgruppe erstmals ein Mausmodell etabliert, das die besonderen Verhältnisse des kombinierten Traumas verschiedener Organsysteme am Beispiel des Schädel-Hirn-Traumas *in vivo* abbildet und umfangreiche Untersuchungen zu verschiedenen Aspekten der Knochenheilung ermöglicht (85). Davon ausgehend konnten folgende Fragestellungen beleuchtet werden:

1. Welche klinischen Einflussfaktoren sind für den Heilungsverlauf bei komplexen Verletzungen wie Beckenringverletzungen von Bedeutung, und wie wirken sich verschiedene Parameter auf den Knochenheilungsverlauf und das subjektive Outcome bei Patienten mit Beckenringfrakturen aus?
2. Welche Wechselwirkungen mit der Knochenregeneration sind bei der Traumatisierung unterschiedlicher Organsysteme zu beobachten und welche Einflussfaktoren begünstigen oder hemmen diese Interaktion?
3. Lässt sich der pro-osteogene Einfluss eines SHT auch unter veränderten Stoffwechselbedingungen bei leptindefizienten Mäusen reproduzieren?
4. Welche histomorphometrischen Eigenschaften weist der neugebildete Knochen leptindefizienter Mäuse im Vergleich zu Wildtypmäusen unter verschiedenen Voraussetzungen auf?

5. Wie wirkt sich das Fehlen des Hormons Leptin auf Osteocalcin- und Insulinspiegel bei den genannten Trauma-Konstellationen aus?

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die eingehende Untersuchung der radiologisch, histologisch und biomechanisch messbaren Veränderungen, welche mit dem Phänomen überschießender Kallusbildung bei Patienten mit gleichzeitig vorliegendem Schädel-Hirn-Trauma und Extremitätenfraktur einhergehen, sowie der molekularen Mechanismen auf Stoffwechselebene, die diese Vorgänge begleiten. Sie soll ein besseres Verständnis der Frakturheilungsmechanismen generell ermöglichen und damit Grundlage für die Entwicklung neuer klinischer Ansätze in der Therapie gestörter Frakturheilung bilden.

2 Ergebnisse

2.1 Klinische Ergebnisse und PROMs (patient-reported outcome measures) nach operativer Stabilisierung von Frakturen des dorsalen Beckenrings

Der nachfolgende Text (in Anführungszeichen) entspricht dem Abstrakt der Arbeit

Clinical and patient-related outcome after stabilization of dorsal pelvic ring fractures: a retrospective study comparing transiliac fixator (TIFI) and spinopelvic fixation (SPF) (2021).

Seemann, R., Hempel, E., Russow, G., Tsitsilonis, S., Stöckle, U., Märdian, S.

Frontiers in Surgery, 8:745051

<https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.745051>

“Purpose: Aim of this retrospective cohort study was the comparison of the transiliac fixator (TIFI) and spinopelvic fixation (SPF) for fixation of dorsal pelvic ring fractures in terms of clinical outcome, complications, and quality of life.

Methods: Thirty-eight patients (23 men, 15 women; mean age 47±19 years) with dorsal pelvic ring fractures (type-C-injuries after AO/OTA) that have been stabilised by either TIFI (group TIFI, n=22) or SPF (group SPF, n=16) between May 2015 and December 2018 were retrospectively reviewed. Outcome measurements included demographic data, perioperative parameters, and complications and were obtained from the medical information system. Quality of life was assessed using the German version of the short form 36 (SF-36) and short musculoskeletal function assessment (SMFA-D). Clinical results were assessed using Merle d'Aubigné-Score, Iowa Pelvic Score, and Majeed Pelvic Score.

Results: Both groups show relatively good postoperative results, which has previously been reported. Quality of life was comparable in both groups. Group TIFI was slightly superior regarding complication rates, cutting/suture time, and fluoroscopy time. Group SPF seemed to be superior regarding pain and pelvic scores.

Conclusion: None of the methods could demonstrate significant superiority over the other. Management of pelvic injuries remains a highly individual challenge adapted to the individual patients' condition. Nevertheless, if fractures allow for stabilisation

with TIFI, the use of this method should be taken into consideration as a less invasive and more tissue-conserving approach.”

Im klinischen Bereich wird eine Vielzahl von Faktoren diskutiert, die die Frakturheilung direkt und indirekt beeinflussen (11, 12, 14) und bei ungünstigem Zusammenspiel zu einer prolongierten oder sogar ausbleibenden Heilung führen können. Die vorliegende Studie ist Teil einer Serie von Nachuntersuchungen an Patienten mit verschiedenen Frakturlokalisationen und -versorgungen und beleuchtet Unterschiede im Outcome bei Beckenringfrakturen. Wir konnten u.a. zeigen, dass die Lebensqualität der betroffenen Patienten unabhängig von der operativen Versorgung abnahm, und dass die Versorgung mit TIFI mit einer tendenziell niedrigeren Komplikationsrate einherging. Neben der Fokussierung auf einzelne Prädiktoren (wie der gewählten operativen Versorgung) eines positiven oder negativen Verlaufs stellt sich letztlich die Frage nach dem ursächlichen Zusammenhang zwischen Outcome im Sinne einer erfolgreichen Heilung und den komplexen metabolischen und immunologischen Mechanismen, die die Frakturheilung gerade bei Mehrfachverletzten beeinflussen können. Während sich unsere Untersuchungen zur Interaktion osteoregulativer und -regenerativer Prozesse in metabolischen Ausnahmesituationen naturgemäß im experimentell-grundlagenwissenschaftlichen Bereich bewegten, um die Pathophysiologie des Phänomens besser zu verstehen und weitere, gezieltere Studien zu molekularen und zellulären Zusammenhängen zu ermöglichen, sollten auch die klinischen Implikationen für Patienten nicht außer Acht gelassen werden.

2.2 Schädel-Hirn-Trauma und Knochenheilung: radiologische und biomechanische Analyse der Knochenformation und der Knochenstabilität im kombinierten Trauma-Maus-Modell

Der nachfolgende Text (in Anführungszeichen) entspricht dem Abstrakt der Arbeit

Traumatic brain injury and bone healing: radiographic and biomechanical analyses of bone formation and stability in a combined murine trauma model (2015)

Locher, R. J., Lünemann, T., Garbe, A., Schaser, K., Schmidt-Bleek, K., Duda, G., Tsitsilonis, S.

Journal of musculoskeletal & neuronal interactions, 15(4), 309–315.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26636276>

“The combination of traumatic brain injury (TBI) and long-bone fractures has previously been reported to lead to exuberant callus formation. The aim of this experimental study was to radiographically and biomechanically study the effect of TBI on bone healing in a mouse model. 138 female C57/Black6N mice were assigned to four groups (fracture (Fx) / TBI / combined trauma (Fx/TBI) / controls). Femoral osteotomy and TBI served as variables: osteotomies were stabilized with external fixators, TBI was induced with controlled cortical impact injury. During an observation period of four weeks, in vivo micro-CT scans of femora were performed on a weekly basis. Biomechanical testing of femora was performed ex vivo. The combined-trauma group showed increased bone volume, higher mineral density, and a higher rate of gap bridging compared to the fracture group. The combined-trauma group showed increased torsional strength at four weeks. TBI results in an increased formation of callus and mineral density compared to normal bone healing in mice. This fact combined with a tendency towards accelerated gap bridging leads to increased torsional strength. The present study underscores the empirical clinical evidence that TBI stimulates bone healing. Identification of underlying pathways could lead to new strategies for bone-stimulating approaches in fracture care.”

Nach erfolgreicher Etablierung eines reproduzierbaren kombinierten Trauma-Mausmodells (85) wurde in der vorliegenden Arbeit radiographisch (MicroCT) und biomechanisch ausgewertet, welche Eigenschaften der neu gebildete Knochen unter verschiedenen metabolischen Voraussetzungen aufweist. Es konnte gezeigt werden, dass ein gleichzeitig vorliegendes Schädel-Hirn-Trauma zu vermehrter Kallusbildung bei gleichbleibender Mineralisierungsdichte in Mäusen mit Femurosteotomie und in der Folge zu gesteigerter biomechanischer Belastbarkeit der Knochen führt, sodass wir postulierten, dass tatsächlich von einer „verbesserten“ Knochenheilung gesprochen werden kann. Dies bestätigte die bereits seit den 1960er Jahren formulierte und diskutierte klinische Hypothese einer vermehrten Kallusbildung nach Mehrfachverletzung mit SHT und Fraktur (56, 60-63, 86) im Tiermodell und erlaubt die Annahme, dass ein SHT zu Verschiebungen im Metabolismus führt, die eine gesteigerte Knochenneubildung bedingen.

2.3 Gestörte Frakturheilung mit hoher Pseudarthroserate bleibt irreversibel trotz Schädel-Hirn-Trauma in leptindefizienten Mäusen

Der nachfolgende Text (in Anführungszeichen) entspricht dem Abstrakt der Arbeit

Impaired fracture healing with high non-union rates remains irreversible after traumatic brain injury in leptin-deficient mice (2017).

Graef, F., **Seemann, R.**, Garbe, A., Schmidt-Bleek, K., Schaser, K. D., Keller, J., Duda, G., Tsitsilonis, S.

Journal of musculoskeletal & neuronal interactions, 17(2), 78–85.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28574414>

“Patients with traumatic brain injury (TBI) and long-bone fractures can show increased callus formation. This effect has already been reproduced in wild-type (wt) mice. However, the mechanisms remain poorly understood. Leptin is significantly increased following TBI, while its role in bone healing remains unclear. The aim of this study was to evaluate fracture healing in leptin-deficient ob/ob mice and to measure any possible impact of TBI on callus formation. 138 female, 12 weeks old, ob/ob mice were divided into four groups: Control, fracture, TBI and combined trauma. Osteotomies were stabilized with an external fixator; TBI was induced with Controlled Cortical Impact Injury. Callus bridging was weekly evaluated with in vivo micro-CT. Biomechanical testing was performed ex vivo. Micro-CT showed high non-union rates after three and four weeks in the fracture and combined trauma group. No differences were observed in callus volume, density and biomechanical properties at any time point. This study shows that bony bridging is impaired in the present leptin-deficient trauma model. Furthermore, the phenomenon of increased callus formation after TBI could not be reproduced in ob/ob mice, as in wt mice. Our findings suggest that the increased callus formation after TBI may be dependent on leptin signaling.”

Das Hormon Leptin ist zuletzt vermehrt in den Fokus der Forschungen zur Interaktion zwischen den verschiedenen Stoffwechselsystemen gerückt (77, 78). Je

nach Wirkmechanismus kann es sowohl eine pro- als auch antiosteogene Wirkung entfalten (66, 79-82). Nachdem in der vorangegangenen Arbeit die radiologischen und biomechanischen Eigenschaften der Frakturheilung in WT-Mäusen mit und ohne gleichzeitig vorliegendem SHT beschrieben wurden (87), sollte der Versuch nun an leptindefizienten Tieren wiederholt werden. Es zeigte sich eine hohe Pseudarthroserate sowohl bei isolierter Fraktur als auch bei gleichzeitig vorliegendem Schädel-Hirn-Trauma und verglichen mit den WT-Tieren ein deutlich vermindertes Knochenvolumen und reduzierte biomechanische Eigenschaften, unabhängig von der Versuchsgruppe. Der positive Effekt des SHTs auf die Frakturheilung konnte in leptindefizienten Mäusen nicht reproduziert werden, was auf die mögliche Mitbeteiligung von Leptin am Phänomen der verbesserten Frakturheilung nach SHT schließen lässt.

2.4 Leptin-Defizienz hebt den positiven Effekt eines Schädel-Hirn-Traumas auf die Knochenheilung auf: histologische Analyse im kombinierten Trauma-Maus-Modell

Der nachfolgende Text (in Anführungszeichen) entspricht dem Abstrakt der Arbeit

Leptin-deficiency eradicates the positive effect of traumatic brain injury on bone healing: histological analyses in a combined trauma mouse model (2018).

Seemann, R., Graef, F., Garbe, A., Keller, J., Huang, F., Duda, G., Schmidt-Bleek, K., Schaser, K. D., Tsitsilonis, S.

Journal of musculoskeletal & neuronal interactions, 18(1), 32–41.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29504576>

“The combination of traumatic brain injury (TBI) and long-bone fracture leads to increased formation of callus and mineral density in wild-type (WT) mice. However, this effect was not detected radiologically in leptin-deficient mice. Due to the complex interactions between hormonal and bone metabolism and the important role of leptin in this setting, our aim was to investigate morphologic properties and the tissue composition in the fracture callus comparing WT and leptin-deficient mice. Female C57/Black6N mice (n=36) and leptin deficient ob/ob mice (n=36) each were assigned to two groups (fracture Fx/combined trauma Fx/TBI). Femoral osteotomy was stabilized with external fixator, TBI was induced with controlled cortical impact injury. After sacrifice of the animals, femora were harvested, cryofixed, and 7 microm slices were prepared. Staining was performed adhering to Movat's Pentachrome protocol. Histomorphometric analysis, quantifying percentage of mineralized bone area, and a semi-quantitative evaluation of bone bridging were performed. Leptin deficient mice showed a higher rate of non-union after osteotomy, less callus formation in the osteotomy gap, and unexpected bone and cartilage formation independent of the osteotomy region. Leptin plays an important role in fracture healing and bone formation. Without Leptin, the positive effect of TBI on fracture healing ceases. The comprehension of the underlying pathophysiological process could sign important for novel strategies in stimulation of fracture healing.”

Der zuvor in Wildtypmäusen gezeigte positive Effekt eines Schädel-Hirn-Traumas auf Kallusformation und biomechanische Eigenschaften (87) ließ sich in der folgenden Studie unserer Arbeitsgruppe zu leptindefizienten Mäusen nicht reproduzieren (88). Die aktuelle Arbeit ergänzt und bestätigt zum einen die radiologischen und biomechanischen Beobachtungen an leptindefizienten Mäusen, illustriert aber auch die histomorphologischen Besonderheiten, die der unter diesen Umständen neugebildete Knochen aufweist: so zeigten sich u.a. ungerichtete Knorpel- und Knochenformationen auch an frakturunabhängigen Lokalisationen. Diese Ergebnisse deuten auf den möglichen Einfluss Leptin-vermittelter Signalwege auf die gerichtete Knochenheilung hin.

2.5 Leptin-vermittelte Signalwege stabilisieren posttraumatisches Insulin und Osteocalcin nach kombinierter Fraktur langer Röhrenknochen und Schädel-Hirn-Trauma und beeinflussen die Frakturheilung im kombinierten Trauma-Maus-Modell

Der nachfolgende Text (in Anführungszeichen) entspricht dem Abstrakt der Arbeit

Leptin Mediated Pathways Stabilize Posttraumatic Insulin and Osteocalcin Patterns after Long Bone Fracture and Concomitant Traumatic Brain Injury and Thus Influence Fracture Healing in a Combined Murine Trauma Model (2020).

Garbe, A., Graef, F., Appelt, J., Schmidt-Bleek, K., Jahn, D., Lünemann, T., Tsitsilonis, S., **Seemann, R.**

International journal of molecular sciences, 21(23), 9144.

<https://doi.org/10.3390/ijms21239144>

“Recent studies on insulin, leptin, osteocalcin (OCN), and bone remodeling have evoked interest in the interdependence of bone formation and energy household. Accordingly, this study attempts to investigate trauma specific hormone changes in a murine trauma model and its influence on fracture healing. Thereunto 120 female wild type (WT) and leptin-deficient mice underwent either long bone fracture (Fx), traumatic brain injury (TBI), combined trauma (Combined), or neither of it and therefore served as controls (C). Blood samples were taken weekly after trauma and analyzed for insulin and OCN concentrations. Here, WT-mice with Fx and, moreover, with combined trauma showed a greater change in posttraumatic insulin and OCN levels than mice with TBI alone. In the case of leptin-deficiency, insulin changes were still increased after bony lesion, but the posttraumatic OCN was no longer trauma specific. Four weeks after trauma, hormone levels recovered to normal/basal line level in both mouse strains. Thus, WT- and leptin-deficient mice show a trauma specific hyperinsulinaemic stress reaction leading to a reduction in OCN synthesis and release. In WT-mice, this causes a disinhibition and acceleration of fracture healing after combined trauma. In leptin-deficiency, posttraumatic OCN changes are no longer specific and fracture healing is impaired regardless of the preceding trauma.”

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den vielfältigen Interaktionen von Zwischen- und Knochenstoffwechsel auf Hormon-Ebene. Wir konnten im zuvor beschriebenen Trauma-Maus-Modell Unterschiede in den posttraumatischen Veränderungen in Insulin- und Osteocalcinspiegel in Abhängigkeit des induzierten Traumas feststellen und zeigen, dass sich in Abwesenheit von Leptin eine deutlich größere Schwankungsbreite der Hormonspiegel über die Zeit ergab. Dies unterstreicht die regulatorische und ausgleichende Funktion des Hormons Leptin für den Knochenstoffwechsel und seine mögliche Schlüsselrolle in der Erklärung des Phänomens erhöhter Kallusbildung bei gleichzeitig vorliegendem SHT.

3 Diskussion

3.1 Klinische Implikationen

Multiple Faktoren können die Frakturheilung direkt und indirekt beeinflussen (11, 12, 14) und bei ungünstigem Zusammenspiel zu einem prolongierten Heilungsverlauf oder gänzlich ausbleibender Heilung führen. Polytraumatisierte Patienten stellen diesbezüglich eine besondere klinische Herausforderung dar. Auch wenn das Management dieser Patienten in den letzten Jahren stetig verbessert wurde (89), ist ihr Outcome regelmäßig schlechter als das bei Patienten mit Monotraumata (90). In bis zu 25 % der Mehrfachverletzten liegen Verletzungen des knöchernen Beckens vor (91). In unserer retrospektiven Studie konnten wir erstmals im direkten Vergleich zeigen, dass der transiliacale Fixateur interne (TIFI) eine tendenziell geringere Komplikationsrate als die spinopelvine Fixation (SPF) bei Patienten mit Verletzungen des dorsalen Beckenringes aufweist. Bezüglich der meisten anderen klinischen Outcome-Parameter lieferten die beiden Verfahren vergleichbar gute Ergebnisse, was sich gut in die vorhandene Studienlandschaft einfügt (92). Auch die Lebensqualität (PROMs) der nachuntersuchten Patienten wurde mittels Fragebögen erfasst und war niedriger verglichen mit der deutschen Referenzpopulation, unabhängig von der gewählten Operationsmethode. Dennoch sahen wir Unterschiede, z.B. in der o.g. Häufigkeit von Komplikationen: Wundheilungsstörungen traten in 18,8 % der Fälle der SPF-Gruppe, aber nicht in der TIFI-Gruppe auf. Dies wird durch die bestehende Literatur bestätigt, wo von Wundheilungsstörungen in 6 % der Fälle nach TIFI und bis zu 35 % nach SPF berichtet wird (93-101). Wundheilungsstörungen sind im ungünstigsten Fall mit einer tiefen Wundinfektion vergesellschaftet und damit ein vermeidbarer Risikofaktor für beeinträchtigte Knochenheilung (102), sodass wir zu dem Schluss kamen, dass die weniger invasive TIFI hier zu einer Risikoreduktion führen könnte und bei sorgfältiger Indikationsprüfung bei geeigneten Patienten als gewebeschonendere Alternative in Betracht gezogen werden sollte.

Die Frage, ob eine Fraktur verheilt ist, ist im klinischen Setting nicht immer einfach zu beantworten. Neben (weitgehend) objektivierbaren radiologischen Parametern wie Überbrückung und Kallusbildung in der konventionell radiologischen Diagnostik oder Durchbauung des Frakturspaltes im hochauflösenden CT (103) bleiben dem Kliniker nur

die körperliche Untersuchung und das subjektive Empfinden des Patienten, welches letztendlich auch ausschlaggebend ist – denn selbst eine verzögerte oder ausbleibende Frakturheilung ist nur dann Indikation zur weitergehenden Therapie und/oder Operation, wenn beim Patienten ein entsprechender Leidensdruck besteht. Neben klinischer Untersuchung und klinischen Scores ist also das patientenzentrierte Outcome (PROMs) und die Lebensqualität (Quality of Life QoL), abgebildet z.B. in SMFA-D (Short Musculoskeletal Funktion Assessment, deutsche Version) (104, 105), SF-36 (Short Form 36) (106) und Schmerzfragebögen ganz entscheidend.

Die Verletzung mehrerer Organe und Organsysteme führt in ihrem Zusammenspiel zu einer regulativen Extremsituation des Organismus, die ein komplexes interdisziplinäres Management fordert (89). Da unüberschaubar viele Faktoren Einfluss auf den Heilungsverlauf nehmen, sollten gerade iatrogene Einflüsse wie das Timing einer Operation optimal und die Wahl der geeigneten Operationsmethode so atraumatisch wie möglich gestaltet werden. Letztendlich zählt eine individuell auf den Patienten abgestimmte Vorgehensweise.

3.2 Mehrdimensionale Analyse von Knochenstoffwechsel und -heilung im Tiermodell

Ein zuvor aus unserer Arbeitsgruppe heraus neu etabliertes Mausmodell legte den Grundstein für die nachfolgenden Arbeiten zur Untersuchung von Knochenstoffwechsel und Frakturheilung unter verschiedenen Bedingungen (85). Durch die Kombination zweier bereits etablierter, standardisierter Traumamodelle (Controlled Cortical Impact Injury (CCII) (107, 108) sowie Femurosteotomie stabilisiert mittels Fixateur externe (109, 110)) in der Maus wurden umfassende, reproduzierbare Untersuchungen zum Einfluss eines SHT auf Stoffwechsel und Frakturheilung möglich.

Die Stabilisierung mittels Fixateur externe ermöglicht – im Vergleich bspw. zu Modellen mit Marknagelsystemen (110, 111) – artefaktfreie, konsekutiv wiederholbare *in-vivo*-MicroCT-Untersuchungen. Unsere Untersuchung im Mausmodell konnte zeigen, dass ein gleichzeitig zu einer ossären Verletzung vorliegendes SHT zu einer radiologisch messbar erhöhten Kallusbildung führt (87). Bereits zwei Wochen nach initialem Trauma wies die Kombinationstrauma-Gruppe (Fx+SHT) im MikroCT ein signifikant erhöhtes Kallusvolumen verglichen mit der Frakturgruppe (Fx) auf, welches über den Beobachtungszeitraum weiter zunahm. Dieses Ergebnis deckt sich mit vorangegangenen

Studien anderer Arbeitsgruppen, wobei hier hauptsächlich konventionell-radiologische Methoden zum Einsatz kamen (55, 66, 112). Im Rattenmodell berichteten Boes et al. von einem erhöhten Kallusdurchmesser drei Wochen nach kombiniertem Trauma (55). Wei et al. und Wang et al. dokumentierten erhöhte berechnete Kallusvolumina bei Ratten bis zu acht Wochen nach kombiniertem Trauma (66, 113). Der Vorteil der Computertomographie liegt hier in der dreidimensionalen Auswertung und einer damit verbundenen erhöhten Genauigkeit in der Kallusvolumen-Messung. Ein weiteres Vergleichsinstrument bietet die CT durch die Bestimmung der Mineralisationsdichte im neugebildeten Knochen. Hier zeigten sich in unserer Untersuchung über die Zeit jeweils vergleichbare Werte zwischen den Gruppen Fx und Fx+SHT, sodass wir von einem qualitativ mindestens normwertigen neugebildeten Knochen ausgingen, und im Zusammenspiel dieser radiologisch messbaren Eigenschaft – erhöhtes Kallusvolumen bei gleichbleibender Mineralisationsdichte – die Begründung für die ebenfalls in unserem Experiment gezeigten verbesserten biomechanischen Eigenschaften sahen. Analog zu den Beobachtungen von Boes et al. (55) wies die Gruppe Fx+SHT nach vier Wochen eine tendenziell höhere Steifigkeit auf als die Vergleichsgruppe Fx. Anders verhielt es sich mit dem maximalen Drehmoment (Festigkeit), welches ähnlich der Arbeit von Boes et al. nach drei Wochen keine Unterschiede in den Gruppen zeigte. Nach vier Wochen jedoch ließ sich in der SHT+Fx-Gruppe eine signifikant erhöhte Festigkeit des Knochens verglichen mit der Fx-Gruppe nachweisen. Dies unterstreicht die Wichtigkeit der Kombination unterschiedlicher Methoden sowie der Durchführung konsekutiver Untersuchungen, um die Dynamik und die zeitlichen Dimensionen der Knochenheilung möglichst genau abzubilden.

Die Wahl der Maus als Tiermodell bietet neben ökonomischen Vorteilen im Vergleich zu Großtiermodellen auch eine Vielzahl genetischer Varianten (76) wie die ob/ob-Maus. Dieser Maus fehlt das für Leptin codierende Gen, sodass sie das Vollbild eines metabolischen Syndroms mit Übergewicht, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie ausbildet (114, 115). Die Arbeit von Ducy et al. legte zunächst nahe, dass Leptin ein zentraler Inhibitor der Knochenbildung sei, da ob/ob-Mäuse ein erhöhtes Knochentrabekelvolumen aufwiesen, welches durch zentrale Leptingabe reversibel war (79). Weitere Studien erschlossen komplexere Zusammenhänge und berichteten neben lokalisationsabhängiger, unregelmäßiger Knochenformation in ob/ob-Mäusen (116, 117)

auch vom peripher vermittelten, über die Osteoblastenstimulation pro-osteogenen Wirkmechanismen des Leptins. Je nach Wirkmechanismus kann Leptin also sowohl pro- als auch anti-osteogene Wirkung entfalten (66, 80-82). Es stellte sich für uns die Frage, ob sich der zuvor in Wildtypmäusen gezeigte positive Effekt eines SHT auf Kallusformation und biomechanische Eigenschaften (87) in leptindefizienten Mäusen reproduzieren ließe. Es zeigte sich jedoch eine hohe Pseudarthroserate sowohl in der Fx- als auch der SHT+Fx-Gruppe und, verglichen mit den WT-Tieren, ein deutlich vermindertes Knochenvolumen und reduzierte biomechanische Eigenschaften (88). Die Einordnung in die existierende Literatur gestaltet sich nicht ganz einfach; während Khan et al. ebenfalls von einer beeinträchtigten Knochenheilung in leptindefizienten Mäusen berichteten (84) und Turner et al. die Knochenregenerationsprozesse als ineffektiv beschrieben (118), kam eine Studie von Beil et al. zu dem Ergebnis, dass leptindefiziente ob/ob-Mäuse eine verbesserte Knochenheilung mit besseren biomechanischen Eigenschaften und erhöhter Kallusfläche aufweisen (119). Ein direkter Vergleich der Studien ist aufgrund des unterschiedlichen Versuchsaufbaus nur begrenzt möglich.

Einen weiteren Vorteil des Modells bildet die Tatsache, dass der Knochen nach Euthanasie der Tiere histologisch aufgearbeitet und untersucht werden kann, ohne den gebildeten Kallus zu verletzen. Mit unserer histologischen Studie an leptindefizienten Mäusen konnten wir unsere zuvor gemachten radiologischen und biomechanischen Beobachtungen ergänzen (120). Bemerkenswert sind insbesondere die histomorphologischen Besonderheiten, die der unter diesen Umständen neugebildete Knochen aufweist, und die erstmals in dieser Form beschrieben wurden: so zeigten sich interessante qualitative Unterschiede zwischen WT- und ob/ob-Mäusen. Während die WT-Mäuse ein zeitgerechtes Bridging des Osteotomiespaltes und Momentaufnahmen fortschreitenden Remodelings (z.B. beginnende Rekanalisation) aufwiesen, war bei den leptindefizienten Mäusen ungerichtete Kallus- und Knorpelbildung zu sehen, überwiegend an frakturunabhängigen Lokalisationen. Dass leptindefiziente Tiere Besonderheiten in ihrer Knochenstruktur aufwiesen, wurde u. a. von Hamrick et al. und Ealey et al. publiziert, die intraindividuelle, lokalisationsabhängige Unterschiede in Knochenparametern von unverletzten ob/ob-Mäusen beschrieben (116, 117). Unsere Ergebnisse erweitern diese Beobachtungen um die Beschreibung der Morphologie der

Kallusformation in leptindefizienten Mäusen und deuten auf den möglichen Einfluss Leptin-vermittelter Signalwege auf die *gerichtete* Knochenheilung hin.

3.3 Überlegungen zur Interaktion osteoregulativer und -regenerativer Prozesse

Die Bedeutung von Knochen und Skelettsystem für den Energiehaushalt und umgekehrt die Einflüsse aus Zwischenstoffwechsel, Hormonhaushalt und Immunsystem sind zunehmend in den Fokus der Grundlagenforschung gerückt (121). Insbesondere die Interaktionen zwischen dem knochenspezifischen Osteocalcin (OCN), Insulin und Leptin scheinen für die Balance zwischen den Systemen von zentraler Bedeutung zu sein (122-124). Während einerseits, wie oben beschrieben, die Wahl des Mausmodelles zahlreiche Vorteile bezüglich der Simulation spezieller Traumakombinationen und metabolischer Konstellationen bietet, wird andererseits mit steigender Komplexität des Modelles auch die Interpretation der Ergebnisse schwieriger. So sind die nun folgenden Überlegungen zur Interaktion osteoregulativer und -regenerativer Prozesse gerade bei multimorbiden Tieren mit metabolischem Syndrom nicht als finale Schlussfolgerungen, sondern vielmehr als „Zwischenbilanz“ auf dem Weg zu einer umfassenden Erklärung zu sehen. In unserer Untersuchung an WT- und leptindefizienten Mäusen konnten wir deutliche Unterschiede in den posttraumatischen Veränderungen von Insulin- und Osteocalcinspiegel in Abhängigkeit vom induzierten Trauma nachweisen (125). Die in unserem Versuch nachgewiesene posttraumatische Hyperinsulinämie bei WT-Tieren ist in Anlehnung an die „Selfish Brain Theory“ von Peters et al. (126, 127) zumindest teilweise zu erklären: In einer akuten Stressreaktion sichert sich das Gehirn den eigenen Glucosebedarf über eine zentrale Sympathikusaktivierung sowie Induktion einer peripheren Insulinresistenz über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (127, 128), was eine systemische Hyperglykämie auslöst und zur vermehrten Bildung von Insulin in β -Zellen des Pankreas führt. Möglicherweise führt die zentrale Wirkung von Leptin – die durch eine traumabedingte dysfunktionale Blut-Hirn-Schranke noch ausgeprägter ist – über bislang ungeklärte Mechanismen ebenfalls zur Hochregulation des Sympathikus und damit parallel auch zu vermehrter Aktivität von OPG, sodass die Osteoklastenproliferation und -aktivierung herunterreguliert und weniger aktives Glu-OCN gebildet wird, was wiederum den posttraumatischen OCN-Abfall in WT-Tieren in unserem Versuch erklären würde. Die (relative) intrazelluläre Unterversorgung mit Glukose im Knochen würde dann zur kompensatorischen OCN-

Aktivierung über eine Steigerung der Knochenumbaurate führen, was wiederum klinisch als vermehrte Kallusbildung sichtbar wäre. Eine Synopsis der mutmaßlich zugrundeliegenden Mechanismen bietet Abbildung 2.

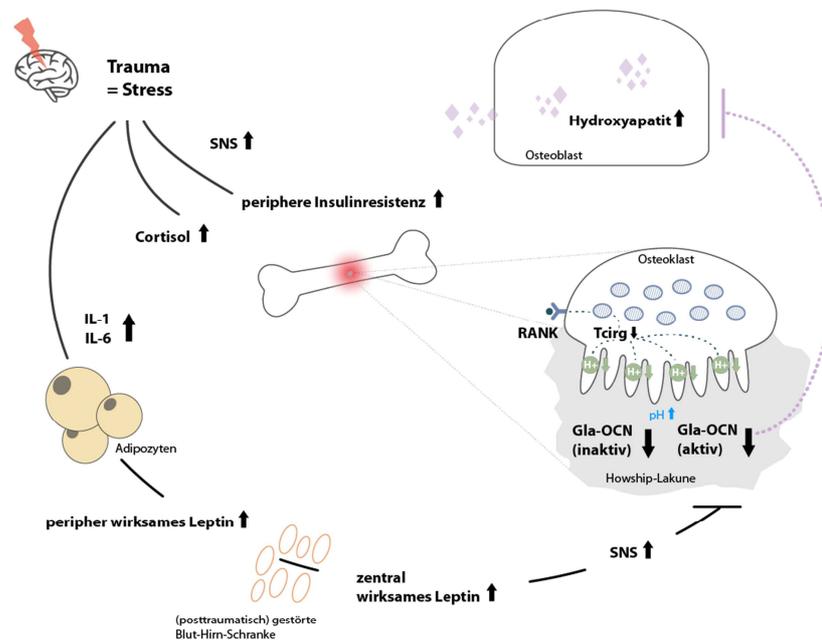


Abbildung 2: Die durch ein SHT induzierte Stressreaktion führt über Sympathikusaktivierung und Anstieg von Zytokinen und Cortisol zu einer peripheren Insulinresistenz, einem Abfall von aktivem Osteocalcin und erhöhten Leptinkonzentrationen. Die Interaktion der Schlüsselsubstanzen Insulin, Osteocalcin und Leptin könnte so das Phänomen verbesserter Knochenheilung nach SHT erklären. SNS: sympathisches Nervensystem, IL: Interleukin, OCN: Osteocalcin. Modifiziert nach (125).

Bei Wegfall der regulierenden Wirkung von Leptin in leptindefizienten Mäusen zeigte sich eine deutlich größere Schwankungsbreite der Hormonspiegel über die Zeit (125), was für die balancierende Funktion des Leptins in diesem Zusammenhang spricht. Die Theorie, dass es sich beim Phänomen der vermehrten Kallusbildung bei gleichzeitig vorliegendem SHT lediglich um eine untergeordnete Begleiterscheinung handelt, während der Organismus vorrangig das Ziel verfolgt, die verfügbare Energie in Stresssituationen optimal zu verteilen (87), wird auch durch unsere vorhergehenden Ergebnisse gestützt. Während ein Kombinationstrauma aus SHT und Fx in WT-Mäusen zu verbesserten biomechanischen Eigenschaften führte, trat dieser Effekt bei isoliertem SHT

nicht oder sogar gegenteilig auf (87). Erst die Interaktion zwischen den Systemen scheint in der Summe zu dem beobachteten Effekt zu führen. Einen ähnlichen Blickwinkel nehmen in ihrer Studie Probst et al. ein, die in Tieren mit Polytrauma (inkl. SHT und Fx) einen deutlicher ausgeprägten Anstieg inflammatorischer Zytokine im Vergleich mit Monotrauma-Tieren (SHT oder Fx) feststellten und ebenfalls schlussfolgerten, dass nur die Kombination der Traumata zu überschießenden systemischen Dysregulationen führte (129).

Auch zunehmendes biologisches Alter geht mit spezifischen Veränderungen im gesamten Organismus einher, die u. a. Hormonhaushalt, Stoffwechsel und Immunsystem betreffen. Obwohl von einer schlechteren Knochenheilung im Alter ausgegangen wird (20), sind die zugrundeliegenden Mechanismen abgesehen von abnehmender Knochenqualität und -masse (130, 131) bisher nicht zufriedenstellend erklärt. Eine Erweiterung der Fragestellung und das Einbeziehen der besonderen Situation alter Organismen und die Auswirkungen des Alters auf Immunsystem, Knochenstoffwechsel und Knochenheilung erscheint vor diesem Hintergrund hochinteressant. Im Tiermodell mit WT-Mäusen verschiedener Altersgruppen von 12 bis 102 Wochen konnte gezeigt werden, dass eine direkte Verbindung zwischen adaptivem Immunsystem und Regenerationsfähigkeit des Knochens besteht (132). Es lässt sich schlussfolgern, dass nicht nur das biologische Alter, sondern auch das immunologische Alter in die Risikoeinschätzung einer beeinträchtigten Frakturheilung miteinbezogen werden sollte (133). Für nachfolgende Untersuchungen wäre das Einbeziehen der metabolischen Veränderungen in alten Tieren von Interesse und die Frage, ob ein SHT auch in alten Tieren mit „erfahrenem“ Immunsystem zu einer Verbesserung der Frakturheilung führt. Hamrick et al. wiederum warfen in ihren Arbeiten die explizite Frage auf, ob Leptindefizienz als Modell für die metabolischen Anpassungsprozesse mit steigendem Alter dienen kann (116).

3.4 Einordnung und Ausblick

Obwohl schon in der Antike durchaus Interesse an den zugrundeliegenden Mechanismen der Frakturheilung bestand und erste Hypothesen zu Ablauf und Charakteristika aufgestellt wurden, dauerte es weitere 2000 Jahre, bis das Skelettsystem mit Knochenstoffwechsel und -heilung als komplexes, im Organismus agierendes und

reagierendes System begriffen wurde. Historisch gesehen erleben wir einen neuerlichen Paradigmenwechsel im ärztlichen Umgang mit Verletzungen: von mechanistisch begründeter Traumatologie, die den gebrochenen Knochen wieder ausrichtet, stabilisiert und den Rest der Natur überlässt, zu einem „internistischeren“ Selbstverständnis des Traumatologen, der nun neben seinem Anspruch an chirurgische Kunstfertigkeit und exzellente Repositionsergebnisse auch biologische Vorgänge mehr und mehr in sein Denken und Handeln einbezieht, um Heilungsprozesse optimal zu unterstützen.

Dieses Umdenken findet Ausdruck in innovativen Forschungsprojekten zur Knochenregeneration unter den verschiedensten Gesichtspunkten, wie sie in der jüngst gegründeten Arbeitsgruppe „Molekulare Unfallchirurgie“ am Julius-Wolff-Institut der Charité umgesetzt werden. Der interdisziplinäre Ansatz ermöglicht dabei die Integration verschiedener Herangehensweisen, Methoden und Interpretationsansätze. In den zur vorliegenden Habilitationsschrift zusammengefassten Arbeiten konnten wir erstmals anhand eines verlässlich reproduzierbaren Trauma-Mausmodells mit zunehmender Komplexität (Einbezug genetisch veränderter Mäuse, Kombination visualisierender / molekularbiologischer / biomechanischer Methoden) Aussagen zur Knochenheilung unter wechselnden Bedingungen aus verschiedenen Blickwinkeln treffen und den Versuch wagen, die Einzelergebnisse in einen größeren Kontext einzuordnen. Auf dieser Basis kann man sich nun wieder vermehrt auf spezifische Teilbereiche und Akteure der Interaktion zwischen ZNS und Skelettsystem konzentrieren und diese lokal und systemisch einer genaueren Untersuchung unterziehen, um dem translationalen Gedanken – also der Schaffung von Schnittstellen zwischen experimenteller und klinischer Wissenschaft – gerecht zu werden.

Einen vielversprechenden Ansatz bietet das im zentralen und peripheren Nervensystem ubiquitär vorkommende Neuropeptid Calcitonin gene-related peptide (CGRP), welches insbesondere als Zielstruktur für neue Pharmakotherapeutika gegen Migräne in der Schmerz- und Migränerforschung eine Rolle spielt (134). Interessanterweise gibt es u.a. mit CGRP und Leptin Überschneidungen zwischen der Pathophysiologie der Migräne und den zentralen und peripheren Stoffwechselsignalwegen, die das metabolische Syndrom definieren, sodass wiederum die Verbindung zum Knochenstoffwechsel und seinen Einflussfaktoren naheliegt.

Während der positive Einfluss der durch alternatives Splicing entstehenden Variante α CGRP auf Bone remodeling und Osteoblastendifferenzierung im intakten Knochen bereits bekannt war (135), konnte zuletzt gezeigt werden, dass α CGRP auch bei der Heilung frakturierter Knochen für Kallusbildung und Knochenregeneration eine zentrale Bedeutung hat (136, 137). Möglicherweise ergeben sich daraus direkte pharmakologische Ansätze in der Therapie gestörter Frakturheilung.

4 Zusammenfassung

Gestörte Frakturheilung stellt in ihrer Genese ein multifaktorielles, in ihren Auswirkungen und Folgen ein multidimensionales Problem in der medizinischen Versorgung dar. Nicht nur vor dem Hintergrund einer überalternden Bevölkerung und der damit einhergehenden prognostizierten Zunahme altersassoziierter Erkrankungen, Immobilität und komplizierter Heilungsverläufe nach Trauma und Fraktur ist die Erforschung der Frakturheilungsmechanismen mit dem Ziel der Entwicklung neuer diagnostischer und therapeutischer Anwendungen von großer Wichtigkeit. Sowohl grundlagenwissenschaftlich als auch klinisch wurden in den letzten Jahren große Fortschritte diesbezüglich gemacht. Mit dem zunehmenden Bewusstsein für Knochen und Skelettsystem als endokrin agierendes Organsystem, das über seine Funktion als Stützapparat und Mineralstoffspeicher hinaus regulierenden Einfluss auf den Gesamtorganismus nimmt, ergaben sich neue Denkansätze und Fragestellungen. Im komplexen Zusammenspiel zwischen Knochen und anderen Organsystemen nehmen die Hormone Osteocalcin, Insulin und Leptin als homöostatische Vermittler eine prominente Rolle ein. Der sog. Insulin-Osteocalcin-Fast-Forward-Loop beschreibt eine sich selbst verstärkende wechselseitige Interaktion von Insulin und Osteocalcin. Diese kann durch Leptin über das sympathische Nervensystem unterbrochen werden. Sowohl nach einer Fraktur als auch nach einem Schädel-Hirn-Trauma sind im Blut erhöhte Leptinkonzentrationen zu finden; ein Schädel-Hirn-Trauma wiederum fungiert als „Sichtbarmacher“ osteoregulativer Prozesse, da es bei gleichzeitiger Fraktur aus bislang nicht abschließend geklärten Ursachen zu einer verbesserten Frakturheilung führt.

Für die Untersuchung dieser komplexen homöostatischen Zusammenhänge bietet sich der Einsatz eines Trauma-Tiermodelles aus mehreren Gründen an: zum einen ermöglicht es die Untersuchung unterschiedlicher Verletzungsmuster und -kombinationen, zum anderen bietet die Wahl der Maus als Versuchstier zusätzliche genetische Varianten, sodass standardisierte Experimente mit wechselndem Fokus auf bestimmte Effektorgrößen möglich sind. Im kombinierten Trauma-Maus-Modell konnten wir erstmals die radiologisch messbaren und die biomechanischen Eigenschaften des Knochens nach Femurosteotomie unter dem Einfluss eines gleichzeitig vorliegenden Schädel-Hirn-Traumas in Wildtypmäusen reproduzierbar darstellen und stellten fest, dass das Zusammenspiel aus Schädel-Hirn-Trauma und Fraktur tatsächlich zu vermehrter Kallusbildung und verbesserten biomechanischen Eigenschaften des neugebildeten Knochens führt. In der Wiederholung des

Experimentes am homöostatisch komplexeren Modell, nämlich an leptindefizienten Mäusen, konnte der positive Effekt des SHTs nicht reproduziert werden. Die leptindefizienten Tiere zeigten verglichen mit den WT-Tieren ein deutlich vermindertes Knochenvolumen sowie reduzierte biomechanische Eigenschaften und es zeigte sich eine hohe Pseudarthroserate, auch bei gleichzeitig vorliegendem Schädel-Hirn-Trauma. Histomorphologisch sahen wir ungerichtete Knorpel- und Knochenformationen auch an frakturunabhängigen Lokalisationen. Dies führte uns zu der Annahme, dass Leptin nicht nur eine zentrale Rolle im Phänomen gesteigerter Knochenbildung nach SHT einnimmt, sondern möglicherweise auch für die gerichtete Knochenformation von Bedeutung ist. Zuletzt untersuchten wir das Verhalten von Insulin und Osteocalcin nach Induktion verschiedener Traumata, wiederum im Vergleich zwischen Wildtyp- und leptindefizienten Mäusen. Wir konnten deutliche Unterschiede in den posttraumatischen Veränderungen in Insulin- und Osteocalcinspiegel in Abhängigkeit vom induzierten Trauma feststellen. Bei fehlendem Leptin registrierten wir eine deutlich größere Schwankungsbreite der Hormonspiegel über die Zeit. Dies unterstreicht die regulatorische Funktion des Hormons Leptin im Zusammenspiel von Insulin, Osteocalcin und Knochenstoffwechsel. Gleichzeitig ergibt sich eine Vielzahl neuer Fragen bezüglich der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen und Effektorgrößen.

Unsere Arbeit leistet einen grundlegenden Beitrag für das Verständnis der Interaktion und Wechselwirkung verschiedener Organsysteme mit Knochenstoffwechsel und Knochenregeneration und kann somit Basis sein für weitere translationale Untersuchungen, die auf Therapien von Knochenregenerationsstörungen unter erschwerten Bedingungen wie Polytrauma oder Multimorbidität fokussieren.

5 Literaturverzeichnis

1. Hippokrates. Ausgewählte Schriften. Schubert C, Leschhorn W, editors: De Gruyter (A); 2014.
2. Pohlenz M. Hippokrates und die Begründung der wissenschaftlichen Medizin. Berlin/Boston: Walter de Gruyter GmbH; 2020.
3. Flashar H. 10. Chirurgie und Orthopädie. Hippokrates: Meister der Heilkunst. 1 ed. München: Verlag C.H.BECK Literatur - Sachbuch - Wissenschaft; 2016. p. 155-68.
4. Böni T. [Changes in the concept of fracture healing and callus formation]. *Der Orthopäde*. 2000 Dec;29(12):1072-81. PubMed PMID: 11193260. Epub 2001/02/24. Vom Wandel unserer Vorstellungen über die Frakturheilung und Kallusbildung. ger.
5. Galenus. Claudii Galenii Opera Omnia: Cambridge University Press; 2011 2011.
6. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1978 May;60-B(2):150-62. PubMed PMID: 350882. Epub 1978/05/01. eng.
7. Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature reviews Rheumatology*. 2015 Jan;11(1):45-54. PubMed PMID: 25266456. Pubmed Central PMCID: PMC4464690. Epub 2014/10/01. eng.
8. Schlundt C, Reinke S, Geissler S, Bucher CH, Giannini C, Märdian S, et al. Individual Effector/Regulator T Cell Ratios Impact Bone Regeneration. *Frontiers in immunology*. 2019;10:1954. PubMed PMID: 31475013. Pubmed Central PMCID: PMC6706871. Epub 2019/09/03. eng.
9. Everding J, Roßlenbroich S, Raschke MJ. [Pseudarthroses of the long bones]. *Chirurg*. 2018 Jan;89(1):73-88. PubMed PMID: 29143138. Epub 2017/11/17. Pseudarthrosen der langen Röhrenknochen. ger.
10. McKee MD, Ochsner PE. Aseptic nonunion. In: T R, Buckley R, CG M, editors. *AO Principles of Fracture Management*. Stuttgart; New York: Georg Thieme Verlag; 2007.
11. Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury*. 2007 Sep;38 Suppl 4:S3-6. PubMed PMID: 18224731. Epub 2008/01/29. eng.
12. Miska M, Schmidmaier G. [Diamond concept for treatment of nonunions and bone defects]. *Der Unfallchirurg*. 2020 Sep;123(9):679-86. PubMed PMID: 32761357. Epub 2020/08/08. Diamond-Konzept zur Behandlung von Pseudarthrosen und Knochendefekten. ger.
13. Giannoudis PV, Einhorn TA, Schmidmaier G, Marsh D. The diamond concept--open questions. *Injury*. 2008 Sep;39 Suppl 2:S5-8. PubMed PMID: 18804574. Epub 2008/09/23. eng.
14. Schmidmaier G, Moghaddam A. [Long Bone Nonunion]. *Zeitschrift für Orthopädie und Unfallchirurgie*. 2015 Dec;153(6):659-74; quiz 75-6. PubMed PMID: 26670151. Epub 2015/12/17. Pseudarthrosen langer Röhrenknochen. ger.
15. Moghaddam A, Zietzschmann S, Bruckner T, Schmidmaier G. Treatment of atrophic tibia non-unions according to 'diamond concept': Results of one- and two-step treatment. *Injury*. 2015 Oct;46 Suppl 4:S39-50. PubMed PMID: 26542865. Epub 2015/11/07. eng.
16. Weber BG. Pseudarthrosen. *Pathophysiologie, Biomechanik, Therapie, Ergebnisse*. 1973.
17. Raschke MJ, Roßlenbroich S, Everding J. Pseudarthrosen. *Trauma und Berufskrankheit*. 2017 2017/11/01;19(3):255-9.
18. Schweiberer L, Baumgart R, Deiler S. [The biological reaction in atrophic and hypertrophic pseudarthrosis of diaphysis of long bone. Causes and forms of appearance]. *Chirurg*. 1999 Nov;70(11):1193-201. PubMed PMID: 10591755. Epub 1999/12/11. Die biologischen Bedingungen atropher und hypertropher Pseudarthrosen der Schaftknochen. Ursachen und Erscheinungsbild. ger.
19. Kawakita A, Sato K, Makino H, Ikegami H, Takayama S, Toyama Y, et al. Nicotine acts on growth plate chondrocytes to delay skeletal growth through the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *PLoS one*. 2008;3(12):e3945. PubMed PMID: 19079602. Pubmed Central PMCID: PMC2596484. Epub 2008/12/17. eng.
20. Copuroglu C, Calori GM, Giannoudis PV. Fracture non-union: who is at risk? *Injury*. 2013 Nov;44(11):1379-82. PubMed PMID: 24035757. Epub 2013/09/17. eng.

21. Renz N, Müller M, Perka C, Trampuz A. [Implant-associated infections - Diagnostics]. *Chirurg*. 2016 Oct;87(10):813-21. PubMed PMID: 27439064. Epub 2016/07/21. Implantatassoziierte Infektion - Diagnostik. ger.
22. Jain AK, Sinha S. Infected nonunion of the long bones. *Clinical orthopaedics and related research*. 2005 Feb(431):57-65. PubMed PMID: 15685056. Epub 2005/02/03. eng.
23. Ganz normal für die gesetzlichen Kassen: 663.114-mal hat die GKV im Jahr 2010 die Krankenhausbehandlung von Knochenbrüchen finanziert [Internet]. GKV-Spitzenverband. 2012 [cited 10.06.2021]. Available from: https://www.gkv-spitzenverband.de/presse/pressemitteilungen_und_statements/pressemitteilung_3591.jsp.
24. Mills LA, Simpson AH. The relative incidence of fracture non-union in the Scottish population (5.17 million): a 5-year epidemiological study. *BMJ open*. 2013;3(2). PubMed PMID: 23396560. Pubmed Central PMCID: PMC3586107. Epub 2013/02/12. eng.
25. Pneumaticos SG, Panteli M, Triantafyllopoulos GK, Papakostidis C, Giannoudis PV. Management and outcome of diaphyseal aseptic non-unions of the lower limb: a systematic review. *The surgeon : journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland*. 2014 Jun;12(3):166-75. PubMed PMID: 24309558. Epub 2013/12/07. eng.
26. Moghaddam A, Zimmermann G, Hammer K, Bruckner T, Grützner PA, von Recum J. Cigarette smoking influences the clinical and occupational outcome of patients with tibial shaft fractures. *Injury*. 2011 Dec;42(12):1435-42. PubMed PMID: 21665205. Epub 2011/06/15. eng.
27. Schmidmaier G, Schwabe P, Wildemann B, Haas NP. Use of bone morphogenetic proteins for treatment of non-unions and future perspectives. *Injury*. 2007 Sep;38 Suppl 4:S35-41. PubMed PMID: 18224735. Epub 2008/01/29. eng.
28. Rupp M, Biehl C, Budak M, Thormann U, Heiss C, Alt V. Diaphyseal long bone nonunions - types, aetiology, economics, and treatment recommendations. *International orthopaedics*. 2018 Feb;42(2):247-58. PubMed PMID: 29273837. Epub 2017/12/24. eng.
29. Antonova E, Le TK, Burge R, Mershon J. Tibia shaft fractures: costly burden of nonunions. *BMC musculoskeletal disorders*. 2013 Jan 26;14:42. PubMed PMID: 23351958. Pubmed Central PMCID: PMC3573940. Epub 2013/01/29. eng.
30. Khunda A, Al-Maiyah M, Eardley WG, Montgomery R. The management of tibial fracture non-union using the Taylor Spatial Frame. *Journal of orthopaedics*. 2016 Dec;13(4):360-3. PubMed PMID: 27453643. Pubmed Central PMCID: PMC4946378. Epub 2016/07/28. eng.
31. Harrison A, Alt V. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) for stimulation of bone healing - A narrative review. *Injury*. 2021 Jun;52 Suppl 2:S91-S6. PubMed PMID: 34020780. Epub 2021/05/23. eng.
32. Schaden W, Mittermayr R, Haffner N, Smolen D, Gerdesmeyer L, Wang CJ. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT)--First choice treatment of fracture non-unions? *International journal of surgery (London, England)*. 2015 Dec;24(Pt B):179-83. PubMed PMID: 26454164. Epub 2015/10/11. eng.
33. Busse JW, Bhandari M, Einhorn TA, Schemitsch E, Heckman JD, Tornetta P, 3rd, et al. Re-evaluation of low intensity pulsed ultrasound in treatment of tibial fractures (TRUST): randomized clinical trial. *BMJ (Clinical research ed)*. 2016 Oct 25;355:i5351. PubMed PMID: 27797787. Pubmed Central PMCID: PMC5080447 www.icmje.org/coi_disclosure.pdf and declare: TAE, ES, and MB have received consulting fees from Smith & Nephew, the manufacturer of the study device. PT receives royalties from Smith & Nephew. GJDR is a paid consultant for Bioventus LLC, which is 51% owned by Essex Woodlands and 49% by Smith & Nephew. MB is supported, in part, by a Canada research chair, McMaster University. Epub 2016/11/01. eng.
34. Haffner N, Antonic V, Smolen D, Slezak P, Schaden W, Mittermayr R, et al. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) ameliorates healing of tibial fracture non-union unresponsive to conventional therapy. *Injury*. 2016 Jul;47(7):1506-13. PubMed PMID: 27158008. Epub 2016/05/10. eng.
35. Märdian S, Seemann R, Schmidt-Bleek K, Heyland M, Duda G. Biologie und Biomechanik der Frakturheilung und Osteosynthese. *Orthopädie und Unfallchirurgie up2date*. 2019;14(02):163-83.

36. e.Medpedia Orthopädie und Unfallchirurgie: Pseudarthrosen [Internet]. Springer Medizin. [cited 11.06.2021]. Available from: https://www.springermedizin.de/emedpedia/orthopaedie-und-unfallchirurgie/pseudarthrosen?epediaDoi=10.1007/978-3-642-54673-0_43.
37. Märdian S, Giesecke M, Haschke F, Tsitsilonis S, Wildemann B, Schwabe P. Treatment of Tibial Non-Unions - State of the Art and Future Implications. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae Cechoslovaca*. 2016;83(6):367-74. PubMed PMID: 28026731. Epub 2016/12/28. Léčení pakloubů tibie – současný stav a výhledy do budoucna. eng.
38. Masquelet AC, Begue T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects. *The Orthopedic clinics of North America*. 2010 Jan;41(1):27-37; table of contents. PubMed PMID: 19931050. Epub 2009/11/26. eng.
39. Gubin AV, Borzunov DY, Marchenkova LO, Malkova TA, Smirnova IL. Contribution of G.A. Ilizarov to bone reconstruction: historical achievements and state of the art. *Strategies in trauma and limb reconstruction*. 2016 Nov;11(3):145-52. PubMed PMID: 27432154. Pubmed Central PMCID: PMC5069200. Epub 2016/10/21. eng.
40. Dumic-Cule I, Peric M, Kucko L, Grgurevic L, Pecina M, Vukicevic S. Bone morphogenetic proteins in fracture repair. *International orthopaedics*. 2018 Nov;42(11):2619-26. PubMed PMID: 30219967. Epub 2018/09/17. eng.
41. Beaver R, Brinker MR, Barrack RL. An analysis of the actual cost of tibial nonunions. *The Journal of the Louisiana State Medical Society : official organ of the Louisiana State Medical Society*. 1997 Jun;149(6):200-6. PubMed PMID: 9188244. Epub 1997/06/01. eng.
42. Busse JW, Bhandari M, Sprague S, Johnson-Masotti AP, Gafni A. An economic analysis of management strategies for closed and open grade I tibial shaft fractures. *Acta orthopaedica*. 2005 2005/01/01;76(5):705-12.
43. S. P, R. M. Management of complex tibial and femoral nonunion using the Ilizarov technique, and its cost implications. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2006;88-B(7):928-32.
44. Hak DJ, Fitzpatrick D, Bishop JA, Marsh JL, Tilp S, Schnettler R, et al. Delayed union and nonunions: epidemiology, clinical issues, and financial aspects. *Injury*. 2014 Jun;45 Suppl 2:S3-7. PubMed PMID: 24857025. Epub 2014/05/27. eng.
45. Blennow K, Hardy J, Zetterberg H. The neuropathology and neurobiology of traumatic brain injury. *Neuron*. 2012 Dec 6;76(5):886-99. PubMed PMID: 23217738. Epub 2012/12/12. eng.
46. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2010 Nov;91(11):1637-40. PubMed PMID: 21044706. Epub 2010/11/04. eng.
47. Hofman M, Koopmans G, Kobbe P, Poeze M, Andruszkow H, Brink PR, et al. Improved fracture healing in patients with concomitant traumatic brain injury: proven or not? *Mediators of inflammation*. 2015;2015:204842. PubMed PMID: 25873754. Pubmed Central PMCID: PMC4385630. Epub 2015/04/16. eng.
48. Hinson HE, Rowell S, Schreiber M. Clinical evidence of inflammation driving secondary brain injury: a systematic review. *The journal of trauma and acute care surgery*. 2015 Jan;78(1):184-91. PubMed PMID: 25539220. Pubmed Central PMCID: PMC4297199. Epub 2014/12/30. eng.
49. McDonald SJ, Sharkey JM, Sun M, Kaukas LM, Shultz SR, Turner RJ, et al. Beyond the Brain: Peripheral Interactions after Traumatic Brain Injury. *Journal of neurotrauma*. 2020 Mar 1;37(5):770-81. PubMed PMID: 32041478. Epub 2020/02/12. eng.
50. Strbian D, Durukan A, Pitkonen M, Marinkovic I, Tatlisumak E, Pedrono E, et al. The blood-brain barrier is continuously open for several weeks following transient focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2008 Apr 22;153(1):175-81. PubMed PMID: 18367342. Epub 2008/03/28. eng.
51. Bidner SM, Rubins IM, Desjardins JV, Zukor DJ, Goltzman D. Evidence for a humoral mechanism for enhanced osteogenesis after head injury. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1990 Sep;72(8):1144-9. PubMed PMID: 2398084. Epub 1990/09/01. eng.
52. Khare GN, Gautam VK, Gupta LN, Gupta AK. A new hypothesis for faster healing of fractures in head injured patients. *Indian journal of medical sciences*. 1995 Dec;49(12):281-4. PubMed PMID: 8772833. Epub 1995/12/01. eng.

53. Kushwaha VP, Garland DG. Extremity fractures in the patient with a traumatic brain injury. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 1998 Sep-Oct;6(5):298-307. PubMed PMID: 9753757. Epub 1998/10/01. eng.
54. Morley J, Marsh S, Drakoulakis E, Pape HC, Giannoudis PV. Does traumatic brain injury result in accelerated fracture healing? *Injury*. 2005 Mar;36(3):363-8. PubMed PMID: 15710151. Epub 2005/02/16. eng.
55. Boes M, Kain M, Kakar S, Nicholls F, Cullinane D, Gerstenfeld L, et al. Osteogenic effects of traumatic brain injury on experimental fracture-healing. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2006 Apr;88(4):738-43. PubMed PMID: 16595463. Epub 2006/04/06. eng.
56. Calandriello B. CALLUS FORMATION IN SEVERE BRAIN INJURIES. *Bulletin of the Hospital for Joint Diseases*. 1964 Oct;25:170-5. PubMed PMID: 14266318. Epub 1964/10/01. eng.
57. Simonsen LL, Sonne-Holm S, Krashennikoff M, Engberg AW. Symptomatic heterotopic ossification after very severe traumatic brain injury in 114 patients: incidence and risk factors. *Injury*. 2007 Oct;38(10):1146-50. PubMed PMID: 17572418. Epub 2007/06/19. eng.
58. Chalidis B, Stengel D, Giannoudis PV. Early excision and late excision of heterotopic ossification after traumatic brain injury are equivalent: a systematic review of the literature. *Journal of neurotrauma*. 2007 Nov;24(11):1675-86. PubMed PMID: 18001198. Epub 2007/11/16. eng.
59. Moore TJ. Functional outcome following surgical excision of heterotopic ossification in patients with traumatic brain injury. *Journal of orthopaedic trauma*. 1993;7(1):11-4. PubMed PMID: 8433193. Epub 1993/01/01. eng.
60. Spencer RF. The effect of head injury on fracture healing. A quantitative assessment. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1987 Aug;69(4):525-8. PubMed PMID: 3611151. Epub 1987/08/01. eng.
61. Perkins R, Skirving AP. Callus formation and the rate of healing of femoral fractures in patients with head injuries. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1987 Aug;69(4):521-4. PubMed PMID: 3611150. Epub 1987/08/01. eng.
62. Newman RJ, Stone MH, Mukherjee SK. Accelerated fracture union in association with severe head injury. *Injury*. 1987 Jul;18(4):241-6. PubMed PMID: 3508863. Epub 1987/07/01. eng.
63. Giannoudis PV, Mushtaq S, Harwood P, Kambhampati S, Dimoutsos M, Stavrou Z, et al. Accelerated bone healing and excessive callus formation in patients with femoral fracture and head injury. *Injury*. 2006 Sep;37 Suppl 3:S18-24. PubMed PMID: 16963358. Epub 2006/09/12. eng.
64. Gautschi OP, Cadosch D, Frey SP, Skirving AP, Filgueira L, Zellweger R. Serum-mediated osteogenic effect in traumatic brain-injured patients. *ANZ journal of surgery*. 2009 Jun;79(6):449-55. PubMed PMID: 19566868. Epub 2009/07/02. eng.
65. Cadosch D, Gautschi OP, Thyer M, Song S, Skirving AP, Filgueira L, et al. Humoral factors enhance fracture-healing and callus formation in patients with traumatic brain injury. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2009 Feb;91(2):282-8. PubMed PMID: 19181971. Epub 2009/02/03. eng.
66. Wei Y, Wang L, Clark JC, Dass CR, Choong PF. Elevated leptin expression in a rat model of fracture and traumatic brain injury. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 2008 Dec;60(12):1667-72. PubMed PMID: 19000372. Epub 2008/11/13. eng.
67. Zhang D, Zhang P, Wang Y, Han N, Tang C, Jiang B. The influence of brain injury or peripheral nerve injury on calcitonin gene-related peptide concentration variation and fractures healing process. *Artificial cells, blood substitutes, and immobilization biotechnology*. 2009;37(2):85-91. PubMed PMID: 19247856. Epub 2009/02/28. eng.
68. Song Y, Bi L, Zhang Z, Huang Z, Hou W, Lu X, et al. Increased levels of calcitonin gene-related peptide in serum accelerate fracture healing following traumatic brain injury. *Molecular medicine reports*. 2012 Feb;5(2):432-8. PubMed PMID: 22038198. Epub 2011/11/01. eng.
69. Karsenty G, Ferron M. The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature*. 2012 Jan 19;481(7381):314-20. PubMed PMID: 22258610. Epub 2012/01/20. eng.
70. Katsnelson A. Physiology: The bones of contention. *Nature*. 2010 Aug 19;466(7309):914-5. PubMed PMID: 20725014. Epub 2010/08/21. eng.

71. Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*. 1996 Aug 1;382(6590):448-52. PubMed PMID: 8684484. Epub 1996/08/01. eng.
72. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *The Journal of clinical investigation*. 1980 11/01;66(5):878-83.
73. Cristiani A, Maset F, De Toni L, Guidolin D, Sabbadin D, Strapazzon G, et al. Carboxylation-dependent conformational changes of human osteocalcin. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. 2014 Jun 1;19:1105-16. PubMed PMID: 24896339. Epub 2014/06/05. eng.
74. Lee NK, Karsenty G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2008 Oct-Dec;8(4):351. PubMed PMID: 19147972. Epub 2009/01/17. eng.
75. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010 Jul 23;142(2):296-308. PubMed PMID: 20655470. Pubmed Central PMCID: PMC2910411. Epub 2010/07/27. eng.
76. Karsenty G, Oury F. Biology without walls: the novel endocrinology of bone. *Annual review of physiology*. 2012;74:87-105. PubMed PMID: 22077214. Epub 2011/11/15. eng.
77. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998 Oct 22;395(6704):763-70. PubMed PMID: 9796811. Epub 1998/10/31. eng.
78. Friedman J. The long road to leptin. *The Journal of clinical investigation*. 2016 Dec 1;126(12):4727-34. PubMed PMID: 27906690. Pubmed Central PMCID: PMC5127673 leptin, the author is named as an inventor on the patent for leptin and, as per University policy, receives a portion of the milestone and royalty payments made to Rockefeller University by Astra Zeneca, the company that owns the license to the patents. Epub 2016/12/03. eng.
79. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 2000 Jan 21;100(2):197-207. PubMed PMID: 10660043. Epub 2000/02/05. eng.
80. Reseland JE, Syversen U, Bakke I, Qvigestad G, Eide LG, Hjertner O, et al. Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2001 Aug;16(8):1426-33. PubMed PMID: 11499865. Epub 2001/08/14. eng.
81. Steppan CM, Crawford DT, Chidsey-Frink KL, Ke H, Swick AG. Leptin is a potent stimulator of bone growth in ob/ob mice. *Regulatory peptides*. 2000 Aug 25;92(1-3):73-8. PubMed PMID: 11024568. Epub 2000/10/12. eng.
82. Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis, and mineralization: Impact on differentiation markers, apoptosis, and osteoclastic signaling. *Journal of cellular biochemistry*. 2002;85(4):825-36. PubMed PMID: 11968022. Epub 2002/04/23. eng.
83. Lin C, Huang SJ, Wang N, Shen ZP. Relationship between plasma leptin levels and clinical outcomes of pediatric traumatic brain injury. *Peptides*. 2012 Jun;35(2):166-71. PubMed PMID: 22764368. Epub 2012/07/06. eng.
84. Khan SN, Duraine G, Virk SS, Fung J, Rowland D, Reddi AH, et al. The temporal role of leptin within fracture healing and the effect of local application of recombinant leptin on fracture healing. *Journal of orthopaedic trauma*. 2013 Jan 2. PubMed PMID: 23287761. Epub 2013/01/05. Eng.
85. Tsitsilonis S, Seemann R, Misch M, Wichlas F, Haas NP, Schmidt-Bleek K, et al. The effect of traumatic brain injury on bone healing: an experimental study in a novel in vivo animal model. *Injury*. 2015 Apr;46(4):661-5. PubMed PMID: 25682315. Epub 2015/02/16. eng.
86. Yang TY, Wang TC, Tsai YH, Huang KC. The effects of an injury to the brain on bone healing and callus formation in young adults with fractures of the femoral shaft. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2012 Feb;94(2):227-30. PubMed PMID: 22323691. Epub 2012/02/11. eng.

87. Locher RJ, Lunnemann T, Garbe A, Schaser K, Schmidt-Bleek K, Duda G, et al. Traumatic brain injury and bone healing: radiographic and biomechanical analyses of bone formation and stability in a combined murine trauma model. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2015 Dec;15(4):309-15. PubMed PMID: 26636276. Pubmed Central PMCID: 5628590. Epub 2015/12/05. eng.
88. Graef F, Seemann R, Garbe A, Schmidt-Bleek K, Schaser KD, Keller J, et al. Impaired fracture healing with high non-union rates remains irreversible after traumatic brain injury in leptin-deficient mice. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2017 Jun 1;17(2):78-85. PubMed PMID: 28574414. Pubmed Central PMCID: 5492322. Epub 2017/06/03. eng.
89. Pape HC, Halvachizadeh S, Leenen L, Velmahos GD, Buckley R, Giannoudis PV. Timing of major fracture care in polytrauma patients - An update on principles, parameters and strategies for 2020. *Injury*. 2019 Oct;50(10):1656-70. PubMed PMID: 31558277. Epub 2019/09/29. eng.
90. Pohlemann T, Stengel D, Tosounidis G, Reilmann H, Stuby F, Stöckle U, et al. Survival trends and predictors of mortality in severe pelvic trauma: estimates from the German Pelvic Trauma Registry Initiative. *Injury*. 2011 Oct;42(10):997-1002. PubMed PMID: 21513936. Epub 2011/04/22. eng.
91. Gänsslen A, Pohlemann T, Paul C, Lobenhoffer P, Tscherne H. Epidemiology of pelvic ring injuries. *Injury*. 1996;27 Suppl 1:S-A13-20. PubMed PMID: 8762338. eng.
92. Kerschbaum M, Hausmann N, Worlicek M, Pfeifer C, Nerlich M, Schmitz P. Patient-related outcome of unstable pelvic ring fractures stabilized with a minimal invasive screw-rod system. *Health Qual Life Outcomes*. 2017 Dec;15(1):248. PubMed PMID: 29273093. Pubmed Central PMCID: PMC5741929. Epub 2017/12/22. eng.
93. Lindahl J, Mäkinen TJ, Koskinen SK, Söderlund T. Factors associated with outcome of spinopelvic dissociation treated with lumbopelvic fixation. *Injury*. 2014 Dec;45(12):1914-20. PubMed PMID: 25270692. eng.
94. He S, Zhang H, Zhao Q, He B, Guo H, Hao D. Posterior approach in treating sacral fracture combined with lumbopelvic dissociation. *Orthopedics*. 2014 Nov;37(11):e1027-32. PubMed PMID: 25361365. eng.
95. Williams SK, Quinnan SM. Percutaneous Lumbopelvic Fixation for Reduction and Stabilization of Sacral Fractures With Spinopelvic Dissociation Patterns. *Journal of orthopaedic trauma*. 2016 Sep;30(9):e318-24. PubMed PMID: 26894767. Pubmed Central PMCID: PMC4987022. eng.
96. Jazini E, Weir T, Nwodim E, Tannous O, Saifi C, Caffes N, et al. Outcomes of lumbopelvic fixation in the treatment of complex sacral fractures using minimally invasive surgical techniques. *Spine J*. 2017 Sep;17(9):1238-46. PubMed PMID: 28458065. Epub 2017/04/27. eng.
97. Koshimune K, Ito Y, Sugimoto Y, Kikuchi T, Morita T, Mizuno S, et al. Minimally Invasive Spinopelvic Fixation for Unstable Bilateral Sacral Fractures. *Clin Spine Surg*. 2016 Apr;29(3):124-7. PubMed PMID: 27002375. eng.
98. Yu YH, Lu ML, Tseng IC, Su CY, Hsu YH, Yeh WL, et al. Effect of the subcutaneous route for iliac screw insertion in lumbopelvic fixation for vertical unstable sacral fractures on the infection rate: A retrospective case series. *Injury*. 2016 Oct;47(10):2212-7. PubMed PMID: 27375014. Epub 2016/06/23. eng.
99. Keel MJ, Benneker LM, Siebenrock KA, Bastian JD. Less invasive lumbopelvic stabilization of posterior pelvic ring instability: technique and preliminary results. *The Journal of trauma*. 2011 Sep;71(3):E62-70. PubMed PMID: 21399542. eng.
100. Sobhan MR, Abrisham SM, Vakili M, Shirdel S. Spinopelvic Fixation of Sacroiliac Joint Fractures and Fracture-Dislocations: A Clinical 8 Years Follow-Up Study. *Arch Bone Jt Surg*. 2016 Oct;4(4):381-6. PubMed PMID: 27847854. Pubmed Central PMCID: PMC5100457. eng.
101. Dienstknecht T, Berner A, Lenich A, Nerlich M, Fuechtmeier B. A minimally invasive stabilizing system for dorsal pelvic ring injuries. *Clinical orthopaedics and related research*. 2011 Nov;469(11):3209-17. PubMed PMID: 21607750. Pubmed Central PMCID: PMC3183204. Epub 2011/05/24. eng.

102. Depypere M, Morgenstern M, Kuehl R, Senneville E, Moriarty TF, Obremskey WT, et al. Pathogenesis and management of fracture-related infection. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020 May;26(5):572-8. PubMed PMID: 31446152. Epub 2019/08/26. eng.
103. Firoozabadi R, Morshed S, Engelke K, Prevrhal S, Fierlinger A, Miclau T, 3rd, et al. Qualitative and quantitative assessment of bone fragility and fracture healing using conventional radiography and advanced imaging technologies--focus on wrist fracture. *Journal of orthopaedic trauma*. 2008 Sep;22(8 Suppl):S83-90. PubMed PMID: 18753895. Epub 2008/09/09. eng.
104. Swiontkowski MF, Engelberg R, Martin DP, Agel J. Short musculoskeletal function assessment questionnaire: validity, reliability, and responsiveness. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1999 Sep;81(9):1245-60. PubMed PMID: 10505521. eng.
105. Wollmerstedt N, Kirschner S, Wolz T, Ellssel J, Beyer W, Faller H, et al. [Evaluating the reliability, validity and responsiveness of the german short musculoskeletal function assessment questionnaire, SMFA-D, in inpatient rehabilitation of patients with conservative treatment for hip osteoarthritis]. *Die Rehabilitation*. 2004 Aug;43(4):233-40. PubMed PMID: 15318291. Epub 2004/08/20. Reliabilitäts-, Validitäts- und Änderungsensitivitätsprüfung des Funktionsfragebogens Bewegungsapparat (SMFA-D) in der stationären Rehabilitation von Patienten mit konservativ behandelte Coxarthrose. ger.
106. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Medical care*. 1992 Jun;30(6):473-83. PubMed PMID: 1593914. eng.
107. Smith DH, Soares HD, Pierce JS, Perlman KG, Saatman KE, Meaney DF, et al. A model of parasagittal controlled cortical impact in the mouse: cognitive and histopathologic effects. *Journal of neurotrauma*. 1995 Apr;12(2):169-78. PubMed PMID: 7629863. Epub 1995/04/01. eng.
108. Thomale UW, Kroppenstedt SN, Beyer TF, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF. Temporal profile of cortical perfusion and microcirculation after controlled cortical impact injury in rats. *Journal of neurotrauma*. 2002 Apr;19(4):403-13. PubMed PMID: 11990347. Epub 2002/05/07. eng.
109. Cheung KM, Kaluarachi K, Andrew G, Lu W, Chan D, Cheah KS. An externally fixed femoral fracture model for mice. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2003 Jul;21(4):685-90. PubMed PMID: 12798069. Epub 2003/06/12. eng.
110. Histing T, Garcia P, Holstein JH, Klein M, Matthys R, Nuetzi R, et al. Small animal bone healing models: standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting. *Bone*. 2011 Oct;49(4):591-9. PubMed PMID: 21782988. Epub 2011/07/26. eng.
111. Garcia P, Histing T, Holstein JH, Klein M, Laschke MW, Matthys R, et al. Rodent animal models of delayed bone healing and non-union formation: a comprehensive review. *European cells & materials*. 2013;26:1-14. PubMed PMID: 23857280. Epub 2013/07/17. eng.
112. Wang L, Tang X, Zhang H, Yuan J, Ding H, Wei Y. Elevated leptin expression in rat model of traumatic spinal cord injury and femoral fracture. *The journal of spinal cord medicine*. 2011;34(5):501-9. PubMed PMID: 22118258. Pubmed Central PMCID: PMC3184488. Epub 2011/11/29. eng.
113. Wang L, Yuan JS, Zhang HX, Ding H, Tang XG, Wei YZ. Effect of leptin on bone metabolism in rat model of traumatic brain injury and femoral fracture. *Chinese journal of traumatology = Zhonghua chuang shang za zhi / Chinese Medical Association*. 2011 Feb 1;14(1):7-13. PubMed PMID: 21276361. Epub 2011/02/01. eng.
114. Genuth SM, Przybylski RJ, Rosenberg DM. Insulin resistance in genetically obese, hyperglycemic mice. *Endocrinology*. 1971 May;88(5):1230-8. PubMed PMID: 5278387. Epub 1971/05/01. eng.
115. Kennedy AJ, Ellacott KL, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease models & mechanisms*. 2010 Mar-Apr;3(3-4):156-66. PubMed PMID: 20212084. Pubmed Central PMCID: PMC2869491. Epub 2010/03/10. eng.
116. Hamrick MW, Pennington C, Newton D, Xie D, Isaacs C. Leptin deficiency produces contrasting phenotypes in bones of the limb and spine. *Bone*. 2004 Mar;34(3):376-83. PubMed PMID: 15003785. Epub 2004/03/09. eng.

117. Ealey KN, Fonseca D, Archer MC, Ward WE. Bone abnormalities in adolescent leptin-deficient mice. *Regulatory peptides*. 2006 Sep 11;136(1-3):9-13. PubMed PMID: 16764953. Epub 2006/06/13. eng.
118. Turner RT, Kalra SP, Wong CP, Philbrick KA, Lindenmaier LB, Boghossian S, et al. Peripheral leptin regulates bone formation. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013 Jan;28(1):22-34. PubMed PMID: 22887758. Pubmed Central PMCID: PMC3527690. Epub 2012/08/14. eng.
119. Beil FT, Barvencik F, Gebauer M, Beil B, Pogoda P, Rueger JM, et al. Effects of increased bone formation on fracture healing in mice. *The Journal of trauma*. 2011 Apr;70(4):857-62. PubMed PMID: 20664377. Epub 2010/07/29. eng.
120. Seemann R, Graef F, Garbe A, Keller J, Huang F, Duda G, et al. Leptin-deficiency eradicates the positive effect of traumatic brain injury on bone healing: histological analyses in a combined trauma mouse model. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2018 Mar 1;18(1):32-41. PubMed PMID: 29504576. Pubmed Central PMCID: 5881126. Epub 2018/03/06. eng.
121. Otto E, Knapstein PR, Jahn D, Appelt J, Frosch KH, Tsitsilonis S, et al. Crosstalk of Brain and Bone-Clinical Observations and Their Molecular Bases. *International journal of molecular sciences*. 2020 Jul 13;21(14). PubMed PMID: 32668736. Pubmed Central PMCID: PMC7404044. Epub 2020/07/17. eng.
122. Confavreux CB. Interactions between bone tissue and energy metabolism. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 2010 Jul;77(4):287-9. PubMed PMID: 20605508. Epub 2010/07/08. eng.
123. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007 Aug 10;130(3):456-69. PubMed PMID: 17693256. Pubmed Central PMCID: PMC2013746. Epub 2007/08/19. eng.
124. Pogoda P, Priemel M, Rueger JM, Amling M. Bone remodeling: new aspects of a key process that controls skeletal maintenance and repair. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2005 Mar;16 Suppl 2:S18-24. PubMed PMID: 15551056. Epub 2004/11/20. eng.
125. Garbe A, Graef F, Appelt J, Schmidt-Bleek K, Jahn D, Lunnemann T, et al. Leptin Mediated Pathways Stabilize Posttraumatic Insulin and Osteocalcin Patterns after Long Bone Fracture and Concomitant Traumatic Brain Injury and Thus Influence Fracture Healing in a Combined Murine Trauma Model. *International journal of molecular sciences*. 2020 Nov 30;21(23). PubMed PMID: 33266324. Pubmed Central PMCID: 7729898. Epub 2020/12/04. eng.
126. Peters A, Schweiger U, Frühwald-Schultes B, Born J, Fehm HL. The neuroendocrine control of glucose allocation. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2002 Aug;110(5):199-211. PubMed PMID: 12148083. Epub 2002/07/31. eng.
127. Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, et al. The selfish brain: competition for energy resources. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2004 Apr;28(2):143-80. PubMed PMID: 15172762. Epub 2004/06/03. eng.
128. Peters A. The selfish brain: Competition for energy resources. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2011 Jan-Feb;23(1):29-34. PubMed PMID: 21080380. Epub 2010/11/17. eng.
129. Probst C, Mirzayan MJ, Mommsen P, Zeckey C, Tegeder T, Geerken L, et al. Systemic inflammatory effects of traumatic brain injury, femur fracture, and shock: an experimental murine polytrauma model. *Mediators of inflammation*. 2012;2012:136020. PubMed PMID: 22529516. Pubmed Central PMCID: PMC3316998. Epub 2012/04/25. eng.
130. Manini T. Development of physical disability in older adults. *Current aging science*. 2011 Dec;4(3):184-91. PubMed PMID: 21529321. Pubmed Central PMCID: PMC3868456. Epub 2011/05/03. eng.
131. Khosla S, Bellido TM, Drezner MK, Gordon CM, Harris TB, Kiel DP, et al. Forum on aging and skeletal health: summary of the proceedings of an ASBMR workshop. *Journal of bone and mineral*

research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 2011 Nov;26(11):2565-78. PubMed PMID: 21915901. Pubmed Central PMCID: PMC3625440. Epub 2011/09/15. eng.

132. Bucher CH, Schlundt C, Wulsten D, Sass FA, Wendler S, Ellinghaus A, et al. Experience in the Adaptive Immunity Impacts Bone Homeostasis, Remodeling, and Healing. *Frontiers in immunology*. 2019;10:797. PubMed PMID: 31031773. Pubmed Central PMCID: 6474158. Epub 2019/04/30. eng.

133. Reinke S, Geissler S, Taylor WR, Schmidt-Bleek K, Juelke K, Schwachmeyer V, et al. Terminally differentiated CD8⁺ T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Science translational medicine*. 2013 Mar 20;5(177):177ra36. PubMed PMID: 23515078. Epub 2013/03/22. eng.

134. Schou WS, Ashina S, Amin FM, Goadsby PJ, Ashina M. Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review. *The journal of headache and pain*. 2017 Dec;18(1):34. PubMed PMID: 28303458. Pubmed Central PMCID: PMC5355411. Epub 2017/03/18. eng.

135. Naot D, Musson DS, Cornish J. The Activity of Peptides of the Calcitonin Family in Bone. *Physiological reviews*. 2019 Jan 1;99(1):781-805. PubMed PMID: 30540227. Epub 2018/12/13. eng.

136. Appelt J, Baranowsky A, Jahn D, Yorgan T, Köhli P, Otto E, et al. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide alpha is essential for bone healing. *EBioMedicine*. 2020 Sep;59:102970. PubMed PMID: 32853990. Pubmed Central PMCID: PMC7452713. Epub 2020/08/28. eng.

137. Appelt J, Tsitsilonis S, Otto E, Jahn D, Köhli P, Baranowsky A, et al. Mice Lacking the Calcitonin Receptor Do Not Display Improved Bone Healing. *Cells*. 2021 Sep 3;10(9). PubMed PMID: 34571953. Pubmed Central PMCID: PMC8471896. Epub 2021/09/29. eng.

Danksagung

Mein größter Dank gilt den Direktoren des Centrums für Muskuloskeletale Chirurgie (CMSC) der Charité – Universitätsmedizin Berlin: Prof. Ulrich Stöckle besonders für den Ansporn, neben klinischer Tätigkeit und Lehre auch meine grundlagenwissenschaftliche Arbeit nicht aus den Augen zu verlieren. Prof. Carsten Perka für den campusübergreifenden starken Rückenwind bei allen möglichen und unmöglichen Vorhaben, das in mich gesetzte Vertrauen und den kritischen Zuspruch, der mir die Fertigstellung dieser Habilitationsschrift ermöglichte.

Prof. Norbert Haas wird immer mein Chef bleiben. Ihm danke ich für die prägendsten Jahre meiner klinischen und wissenschaftlichen Ausbildung – er vermittelte mir die größte vorstellbare Freude an den ernstesten Dingen. Prof. Klaus-Dieter Schaser gab mir meine allererste Forschungsstelle und die Chance, mich in seinem Team zu beweisen. Durch ihn bekam „carpe diem“ für mich eine echte Bedeutung. Und ich bedanke mich aufs herzlichste bei Prof. Almut Tempka, deren Büro immer offen steht und die mir mit den richtigen Worten zum richtigen Zeitpunkt nicht nur einmal neue Wege aufgezeigt hat.

Prof. Georg Duda danke ich für die Möglichkeit, meine grundlagenwissenschaftlichen Arbeiten im Julius-Wolff-Institut (JWI) durchzuführen. Er war und ist mir ein verlässlicher Ansprechpartner und Förderer. Ich danke PD Dr. Serafim Tsitsilonis für die unermüdliche und mannigfaltige Unterstützung als Forschungsgruppenleiter, Teamkollege und Leidensgenosse, Oberarzt und Freund – ohne ihn wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Bei PD Dr. Kate Schmidt-Bleek kann ich mich gar nicht genug bedanken, für eigentlich einfach alles, insbesondere aber für ihr genuines Interesse und dafür, dass ich sie mir als Vorbild aussuchen durfte. Wissenschaftlerinnen wie sie haben großen Anteil am konstruktiven Klima des JWI. Darüber hinaus möchte ich mich, stellvertretend für alle Mitarbeiter des Instituts, bei Gabriela Korus und Mario Thiele für ihre ausgezeichnete Arbeit im Labor bedanken.

Meinem klinischen und wissenschaftlichen Mentor PD Dr. Sven Märdian danke ich für seinen Rückhalt und seine Verlässlichkeit. Sein Leistungswille und sein Anspruch an sich und andere begleiten mich seit meinem ersten Tag am CMSC. Bei Ariane Scheller als Oberärztin verbrachte ich die wichtigsten Jahre meiner klinischen Ausbildung. Ihr Einfordern von

Leistung, ihre Bereitschaft, fortwährend auszubilden und ihren großen Erfahrungsschatz zu teilen, haben mich jeden Tag aufs Neue motiviert. Danke!

All meinen Kollegen des CMSC, besonders Dr. Kathi Thiele und Zimmergenossin Gabriele Russow, gebührt großer Dank für die viele Unterstützung und immer faire und freundschaftliche Zusammenarbeit. Das schließt auch alle Doktoranden und Studenten ein, die maßgeblich an unserer Arbeit beteiligt waren und sind, dazu gehören Erik Hempel, Iva Doycheva und Fabienne Sigler. Ganz besonders danke ich natürlich dem Mobil-Team der ersten Stunde Dr. Anja Garbe, Dr. Tim Lünemann und Dr. Frank Graef – mit euch, einer Tasse Kaffee und ungezählten Gängen zum Süßigkeitenautomaten im Forum 3 wurden die zahlreichen Frühschichten im Tierstall mehr als erträglich.

Ich danke dem Team LiStri in Tettngang, zu dem mittlerweile auch meine beiden wundervollen Kinder Lorenz und Nike gehören, dafür dass mit euch jedes Problem zu einem Projekt und jedes Projekt zu einem großen Spaß wird. Meine Mutter Dr. Maria Locher ist meine schärfste und konstruktivste Kritikerin, mein Vater Prof. Hermann Locher ist mir als Arzt und Lehrer ein großes Vorbild. Ich danke Euch von Herzen für all die Unterstützung.

Und zuallererst und zuallerletzt bedanke ich mich bei meinem Freund (und glücklicherweise auch Ehemann) Max – das Leben ist schön mit Dir!

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, den 13.01.2022

Dr. med. Ricarda Seemann