

Aus dem Centrum für muskuloskeletale Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Alter und biomechanischer Stabilität auf die  
Knochendefektheilung.

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Thomas Jan Riha

aus Wesel

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. C. Perka  
2. Prof. Dr. rer. nat. K. Raum  
3. Priv.-Doz. Dr. med. habil. D. Wohlrab

Datum der Promotion: 16. Mai 2010

## **Glossar**

KQF: Kallusquerschnittsfläche

TV: totale Varianz

JS: jung semi-rigide

AS: alt semi-rigide

JR: jung rigide

AR: alt rigide

1	<b>EINLEITUNG</b> .....	1
1.1	Die Knochendefektheilung im klinischen Alltag.....	1
1.2	Ursachen von Knochendefekten.....	2
1.3	Knochenheilung und Heilungsstörungen.....	4
1.3.1	Direkte Knochenheilung.....	4
1.3.2	Indirekte Knochenheilung.....	5
1.3.3	Gründe für das Entstehen von Pseudarthrosen.....	6
1.4	Einflüsse auf die Knochendefektheilung.....	7
1.4.1	Einfluss der mechanischen Umgebung auf die Knochenheilung.....	7
1.4.2	Einfluss des Alters auf die Knochendefektheilung.....	9
1.5	Zielstellung.....	11
2	<b>MATERIALIEN UND METHODEN</b> .....	12
2.1	Auswahl der Tiere.....	12
2.2	Konstruktion und Rigidität des Fixateur externe.....	13
2.3	Anästhesie.....	19
2.4	Operationstechnik.....	20
2.5	Klinische Untersuchung.....	23
2.6	Radiologische Untersuchung.....	23
2.7	Biomechanische Testung.....	25
2.8	Statistische Auswertung.....	26

3	<b>ERGEBNISSE</b> .....	27
3.1	Klinische Ergebnisse .....	27
3.2	Radiologische Ergebnisse .....	28
3.3	Ergebnisse der biomechanischen Testung .....	32
4	<b>DISKUSSION</b> .....	36
4.1	Klinische Ergebnisse .....	36
4.2	Radiologische Ergebnisse .....	38
4.3	Biomechanische Ergebnisse .....	39
4.4	Einfluss der mechanischen Umgebung auf die Knochenheilung .....	40
4.5	Einfluss des Alters auf die Knochendefektheilung .....	42
4.6	Die Studie einschränkende Faktoren .....	44
4.7	Schlussfolgerung .....	46
5	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	47
6	<b>SCHRIFTENVERZEICHNIS</b> .....	49
7	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	56
8	<b>LEBENS LAUF</b> .....	57
9	<b>PUBLIKATIONS LISTE</b> .....	58
10	<b>ERKLÄRUNG</b> .....	59
11	<b>DANKSAGUNG</b> .....	60

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Knochendefektheilung im klinischen Alltag

Der Knochen ist ein dynamisches Organ, das an Regenerations- und Wandlungsfähigkeit anderen Organsystemen des Menschen in nichts nachsteht. Vor allem im Jugend- und Kindesalter heilen Knochendefekte in der Regel schnell und vollständig aus. Jedoch gibt es immer wieder Schädigungen des Knochens, die nur sehr langsam oder nicht heilen. Diese finden sich vor allem bei älteren Menschen. Eine chirurgische Sanierung mittels verschiedenster Stabilisierungs- und Fixationssysteme ist meist unumgänglich um ein Ausheilen des Knochendefektes zu erreichen. Trotz Einsatz modernster Materialien und immer besserem klinischen Management liegt die Pseudarthroserate humaner Frakturen noch bei bis zu 20 %<sup>1</sup>. Wird wie bei der Pseudarthrose die Regenerationskraft des menschlichen Knochens überschritten, ist ein Knochenersatz oft unumgänglich. Dieser muss neben suffizienten biomechanischen Eigenschaften auch eine hohe Biokompatibilität aufweisen um eine optimale und komplikationslose Heilung zu gewährleisten<sup>2,3</sup>. Probleme bei chirurgischen Eingriffen am muskuloskeletalen Bewegungsapparat stellen neben dem allgemeinen OP-Risiko vor allem Komplikationen in Form von Hämatomen, persistierenden Schmerzen und Frakturen dar. So lässt sich die Komplikationsrate bei der Spongiosaentnahme am Beckenkamm auf ca. 10-39 % beziffern<sup>4,5</sup>. Für den Patienten geht eine pathologische Knochenheilung mit einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität einher. Dem Gesundheitssystem entstehen hohe Kosten aufgrund prolongierter Morbidität, verlängerter Nachbehandlungszeiten sowie zusätzlich nötiger orthopädischer Hilfsmittel<sup>6,7</sup>. Eine speziell auf die Risikofaktoren des Patienten abgestimmte Therapie ist notwendig, um eine vollständige, schnelle und physiologische Knochenheilung sicherzustellen. Da die biomechanischen und molekularbiologischen Mechanismen der Heilungsstörungen knöcherner Defekte unter unterschiedlichen biologischen und mechanischen Bedingungen derzeit noch nicht hinreichend bekannt sind, existieren auch keine ursächlichen Therapiestrategien auf dieser Ebene.

## 1.2 Ursachen von Knochendefekten

Knochendefekte entstehen auf verschiedene Arten. Die Ursachen reichen von traumatologischen Ereignissen über therapeutische Osteotomien bis zur aseptischen Lockerung endoprothetischer Implantate<sup>8</sup>.

Die Fraktur als vollständige Durchtrennung des Knochens entsteht direkt oder indirekt durch eine über der Elastizität und Festigkeit des Knochens liegende Kraft<sup>9</sup>. Nach dem Entstehungsmechanismus werden verschiedene Frakturtypen unterschieden<sup>10</sup>.

Die Biegungsfraktur wird durch eine direkte punktuelle Gewalteinwirkung auf den Knochen hervorgerufen. Auf der Seite der einwirkenden Gewalt kommt es zu einer konkaven Umformung des Knochens und einer daraus resultierenden Druckspannung, die zur Aussprengung eines Knochenkeils führt. Auf der gegenüberliegenden Seite entsteht durch das Biegemoment eine konvexe Zugspannung, die zu einer Rissbildung im Knochen führt. Die Haut und das umliegende Weichteilgewebe werden mehr oder weniger stark traumatisch mitgeschädigt. Eine weitere Frakturform ist die Torsionsfraktur, die fast immer durch eine indirekte Gewalteinwirkung fern ab der Bruchstelle entsteht. Durch die auftretende Torsionskraft am Knochen kommt es zu einer Spiralfaktur. Ein Weichteilschaden findet sich nur milde ausgeprägt in Form eines Hämatoms und einer Verletzung des Periostes. Als letzter Frakturtyp sei hier noch die schwerste Form eines Knochentraumas erwähnt, der Trümmerbruch. Dieser entsteht durch eine massive direkte Krafteinwirkung auf den Knochen. Meist ist der begleitende Weichteilschaden erheblich. Wenn es zu einem Verlust von Knochengewebe kommt liegt eine Defektfraktur vor<sup>9</sup>.

Eine weitere Form der Unterbrechung der Knochenkontinuität stellen iatrogene Knochendefekte im Zuge therapeutischer Maßnahmen dar, welche die hohe Regenerationskraft des menschlichen Knochens ausnutzen. Beispielsweise stellt die hohe tibiale Osteotomie zur Verhinderung der Arthrose des Kniegelenkes eine effektive Therapieoption dar und kann den Zeitraum bis zum Auftreten einer manifesten Gonarthrose mit konsekutiver Implantation einer Totalendoprothese verlängern<sup>11-13</sup>. Auch kongenitale Defekte wie die frühkindliche Hüftdysplasie werden chirurgisch korrigiert, falls die konservative Therapie versagt. Die Erfolgsaussichten hinsichtlich

---

einer Vermeidung von präarthrotischen Veränderungen des Gelenkes und einer schnellen Knochendefektheilung sind in diesem Fall auch aufgrund der biologischen Alterssituation sehr gut<sup>14-16</sup>.

Trotz eines hohen operativen Standards sind ungewollte Knochensubstanzverluste und Knochendefekte nicht immer vermeidbar. Sie stellen besonders in der Revisionschirurgie ein Problem dar. Vor allem bei Revisionen endoprothetischer Implantate im Bereich der Hüfte und des Knies entstehen Knochensubstanzverluste. Das Ausschlagen eines Schaftes oder einer Pfanne aus dem knöchernen Lager birgt ein nicht zu vernachlässigendes Risiko für ein Frakturereignis<sup>17,18</sup>. Auch bei der aseptischen Lockerung endoprothetischer Implantate können kritische Knochendefekte entstehen, die oftmals mittels Knochentransplantaten aufgefüllt werden müssen<sup>8</sup>.

## 1.3 Knochenheilung und Heilungsstörungen

Die Knochendefektheilung ist ein komplexer Prozess, der auf der koordinierten Zusammenarbeit unterschiedlichster Zellen beruht. Durch das Zusammenspiel adaptiver Mechanismen des Organismus kommt es im Idealfall zur Wiederherstellung der Strukturintegrität des Knochens und somit auch der biomechanischen Stabilität<sup>19-23</sup>.

### 1.3.1 Direkte Knochenheilung

Optimal adaptierte Frakturenden heilen primär. Es werden zwei Formen der direkten Frakturheilung unterschieden. Das morphologische Kennzeichen der Spaltheilung ist das Auftreten von Granulationsgewebe. Die eingeschwemmten Fibroblasten wandeln sich im Heilungsverlauf in Osteoblasten um, die Faserknorpel bilden, der dann sekundär zu Lamellenknochen umgewandelt wird<sup>24</sup>. Die zweite Form der direkten Frakturheilung wird als Kontaktheilung bezeichnet. Situationen, die das Auftreten der Kontaktheilung favorisieren, lassen sich bei stabilen Osteosyntheseverfahren aufzeigen. Diese pressen die Frakturenden dynamisch aufeinander und ermöglichen ein direktes Vorschieben von Osteoklasten aus den eröffneten Havers-Kanälen in die gegenüberliegende Knochenbruchfläche<sup>10,24</sup>. Da kein Kallusgewebe gebildet wird, kommt dem neu entstehenden Haversschen System von Resorptionskanälen eine besondere Bedeutung zu. Es ist essentiell für das Einsprossen neuer Blutgefäße und somit auch für die Einwanderung von Endothelzellen und mesenchymalen, perivaskulären Stammzellen, die sich im weiteren Verlauf zu Osteoblasten differenzieren und den Resorptionskanal mit Osteoid auskleiden<sup>19,24</sup>. Die Stabilität des Knochens wird so wiederhergestellt. Eine absolute Stabilität der Fraktur und das konsekutive Auftreten der direkten Frakturheilung bedeutet aber nicht automatisch einen schnelle Heilung<sup>10</sup>. Vielmehr ist es durchaus erwünscht bei einer primär stabilen Versorgung, z.B. durch eine Plattenosteosynthese, Mikrobewegungen zuzulassen um so den Heilungsverlauf positiv zu beeinflussen<sup>25,26</sup>.

### 1.3.2 Indirekte Knochenheilung

Die Mehrzahl der Frakturen heilt indirekt. Ein breiter Defektspace sowie interfragmentäre Mikrobewegungen begünstigen diese Heilungsform. Auch bei bereits chirurgisch versorgten Knochendefekten bleiben gewisse Bewegungsspielräume bestehen<sup>27-31</sup>. Die indirekte Knochenheilung kann als eine Kombination aus intermembranöser (Knochen entsteht metaplastisch aus Bindegewebe) und enchondraler (aus hyalinem Knorpel entstehender Knochen) Ossifikation gesehen werden<sup>19</sup>. Sie lässt sich in mehrere Schritte unterteilen, wobei das Periost und das umliegende Weichteilgewebe in dieser Heilungsform eine wichtige Rolle spielen<sup>19,20,32</sup>.

Initial kommt es zur Bildung eines Hämatoms im Knochendefektspace und im angrenzenden Weichteilgewebe. Durch die Einwanderung von Makrophagen, Lymphozyten und polynukleären Leukozyten entsteht eine Entzündungsreaktion in diesen Bezirken<sup>20</sup>. Innerhalb der ersten sieben bis zehn Tage entsteht vom Periost ausgehend, durch intramembranöse Ossifikation, ein stabilisierender Geflechtknochenmantel um die Frakturenenden. Etwa zur gleichen Zeit findet eine durch das umliegende Weichteilgewebe induzierte Rekrutierung mesenchymaler Stammzellen statt, welche zu Chondrozyten proliferieren und das Kallusgewebe zwischen den Defektenden knorpelig umwandeln. Etwa zehn Tage nach dem Frakturereignis kann man einen harten, intramembranös entstanden und in einen weichen, enchondral gebildeten Kallus unterscheiden<sup>19</sup>. Nach circa zwei Wochen beginnt die Kalzifizierung des Knorpelkallus. Auch die periostale Knochenbildung nimmt zu diesem Zeitpunkt zu. In den darauf folgenden vier bis sechs Wochen durchläuft der Knorpelkallus eine Resorption durch Chondroklasten, die ihrerseits Signale für das Einsprossen von Gefäßen aussenden<sup>20</sup>. Durch die Einschwemmung perivaskulärer mesenchymaler Stammzellen, welche zu Geflechtknochen bildenden Osteoblasten differenzieren und die gleichzeitige Resorption des kalzifizierten Knorpels durch Chondroklasten, durchläuft der Knorpelkallus einen knöchernen Um- und Aufbau. Die Stabilität des Kallusgebildes nimmt zu. In der sich über Monate bis Jahre anschließenden Kallushärtungs- und Remodellingphase findet die weitere Mineralisation des Kallus, die Umstrukturierung des Knochens entsprechend der Belastung und die Wiederherstellung der ursprünglichen Knochenstruktur statt<sup>10</sup>.

### 1.3.3 Gründe für das Entstehen von Pseudarthrosen

Als Pseudarthrose wird eine pathologische Knochenheilung bezeichnet, die aus einer fehlenden Überbrückung des Knochendefektes resultiert. Als Ursachen für die unzureichende knöcherne Überbrückung und Kallusbildung kommt eine zu hohe Beweglichkeit der Knochendefektenden, eine zu große Distanz der Defektenden oder eine inadäquat frühe Belastung des heilenden Knochens in Frage<sup>33,34</sup>. Auch eine lokale Ischämie kann zu einer gestörten oder gar fehlenden Konsolidierung des Knochendefektes führen<sup>35</sup>. Es werden zwei Hauptformen der Pseudarthrose unterschieden die hypertrophe, vitale Pseudarthrose und die atrophe, avitale Pseudarthrose<sup>10,36</sup>.

Bei der vitalen, hypertrophen Form der Pseudarthrose ist die Störung der Knochenheilung rein mechanisch bedingt. Histologisch findet sich ein gefäßloser Spalt, der mit Fasergewebe aufgefüllt ist. Das umgebende Pseudarthrosegewebe ist gut vaskularisiert. Eine Spaltüberbrückung findet nur aufgrund mechanischer Instabilitäten nicht statt und kann meist durch eine stabile Osteosynthese forciert werden<sup>37,38</sup>.

Die hypotrophe Pseudarthrose ist größtenteils biologisch bedingt und tritt zumeist nach schweren Unfällen und operativer Frakturbehandlung infolge großer Knochendefekte mit ausgedehnter Fragmentation von Knochenmaterial auf<sup>38</sup>. Sie ist durch ein avitales, nekrotisches, reaktionsloses Gewebe gekennzeichnet<sup>36</sup>. Eine Kallusbildung findet nicht oder nur ungenügend statt. Eine Stabilisierung reicht hier nicht aus um eine Heilung zu bewirken. Vielmehr muss der Knochendefekt zum Teil reseziert werden und durch vitale Gewebe wie autologe Knochentransplantate aufgefüllt werden<sup>38,39</sup>.

## 1.4 Einflüsse auf die Knochendefektheilung

Die Knochendefektheilung wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. In der Traumatologie und Orthopädie geht man von einem multimodalem Konzept aus, welches eine optimale Knochendefektheilung gewährleisten soll. Dieses Konzept betrachtet das Zusammenwirken von vier Komponenten (diamond concept)<sup>40,41</sup>. Mesenchymale Stammzellen, Wachstumsfaktoren, extrazelluläre Matrix und insbesondere die mechanische Umgebung des Kallusgewebes sind hier von fundamentaler Bedeutung und beeinflussen das Heilungsergebnis maßgeblich. Auch darf der systemische Einfluss des Alters auf die Knochendefektheilung nicht außer Acht gelassen werden.

### 1.4.1 Einfluss der mechanischen Umgebung auf die Knochenheilung

Eine optimale mechanische Umgebung ist entscheidend für das Heilungsergebnis eines Knochendefektes<sup>42-45</sup>. Die biomechanische Umgebung im Defektspace wird dabei durch die Fixationsstabilität bestimmt<sup>28,44-46</sup>. Operative Methoden zur Knochendefektversorgung sollten neben dem schonenden Vorgehen im Hinblick auf die Blutgefäßversorgung am Frakturspace eine möglichst optimale Fixation des Knochens gewährleisten um gute Voraussetzungen für eine schnelle Heilung zu schaffen<sup>40</sup>. Die Grenzen zwischen einem positiven und negativen Einfluss biomechanischer Stabilität bzw. Instabilität auf die Knochenheilung bleiben bisher undefiniert.

Eine zu hohe Instabilität im Kallus verhindert die knöchernen Überbrückung des Defektspace und führt zu einer verzögerten Heilung bzw. zur Pseudarthrose<sup>43,47</sup>. Insbesondere Scherkräfte haben einen negativen Einfluss auf den Heilungsverlauf<sup>47,48</sup>. Es kommt zu einer vermehrten Expression bindegewebiger Kallusanteile, wohingegen die knorpeligen Anteile des Kallusgewebes abnehmen. Da faserreiches Bindegewebe nicht in einen Knochenkallus umgewandelt werden kann, resultiert eine Pseudarthrose und konsekutive biomechanische Impotenz. Bekannt ist, dass niedrig-moderate Zugbelastung in der Initialphase der Knochenheilung zur Knochenbildung, moderate bis hohe mechanische Belastung zur Bildung von Bindegewebe und hydrostatischer Kompressionsdruck zur Knorpelgewebssynthese führt<sup>49,50</sup>. Auch die Blutversorgung des

---

Kallus ist von biomechanischen Parametern bestimmt. In der Frühphase der Frakturheilung auftretende zu hohe interfragmentäre Bewegungsspielräume resultieren in einer geringen Durchblutung des Kallusgewebes, was wiederum zu einer Verzögerung des Heilungsprozesses und zu einer pathologischen Zunahme bradytrophen Bindegewebes im Defektspace führt<sup>42,51</sup>. Zurückzuführen ist dies auf eine Ruptur kleiner Kapillaren und Gefäße im Kallusgewebe, verursacht durch Bewegungskräfte, die über dessen mechanischer Toleranzgrenze liegen. In späteren Stadien der Frakturheilung, in denen bereits eine gewisse Mineralisation des Kallusgewebes bei biomechanisch günstigen Bedingungen vorhanden ist, ist ein Teil der kleinen Gefäße und Kapillaren durch die stabileren Knochentrabekel vor allzu exzessiven Bewegungen geschützt. In diesen Zonen ist die Dichte der Blutgefäße weniger abhängig von interfragmentären Bewegungen, da diese hauptsächlich auf die noch nicht mineralisierten Anteile des Kallusgewebes wirken. Jedoch resultiert auch hier ein zu hoher interfragmentärer Bewegungsspielraum in einer Heilungsstörung, da die ungeschützten Gefäße im noch nicht mineralisierten Kallusgewebe überbelastet werden<sup>51</sup>. Andererseits kann ein Fehlen mechanischer Reize am Knochendefekt auch eine Heilungsverzögerung bewirken<sup>52-54</sup>. Klein et al. konnten zeigen, dass besonders die initiale Phase der Knochendefektheilung abhängig vom interfragmentären Bewegungsspielraum ist. Ein in der Anfangsphase höherer Bewegungsspielraum der Knochendefektenden osteotomierter Schafe, führte bei diesen nach neun Wochen Standzeit zu einem kleineren Kallusdurchmesser und das Kallusgewebe wies eine höhere Steifigkeit auf. Dieses deutet auf eine, im Vergleich zu der stabil versorgten Gruppe, fortgeschrittenere Stadium der Heilung hin<sup>22</sup>.

### 1.4.2 Einfluss des Alters auf die Knochendefektheilung

Die Knochensubstanz und das Reparaturpotential des Knochens sind vom systemischen Einfluss des Alters abhängig. Während im Jugendalter die Knochensubstanz insbesondere die Kortikalis noch sehr ausgeprägt erhalten ist, findet sich bei alten Menschen eine deutliche Reduktion derselben. Nyssen-Behets et al. stellten poröse Veränderungen in der Kortikalis der Tibia älterer Menschen fest<sup>55</sup>. Kennzeichen des kindlichen Knochens sind eine hohe Elastizität, eine hohe Wachstumspotenz und ein widerstandsfähiges Periost. Im Gegensatz zu Knochendefekten des Erwachsenen toleriert der kindliche Knochen laterale Verschiebungen als auch Achsenfehler in der Frontal- und Sagittalebene wesentlich besser. Problematisch bleiben Rotationsfehler für die nur eine geringe Korrekturpotenz besteht<sup>56,57</sup>. Die Therapie von Knochenbrüchen im Wachstumsalter erfolgt daher überwiegend konservativ. Die Indikationen für eine offene Reposition und ein operatives Vorgehen beschränken sich hauptsächlich auf stark dislozierte Frakturen, Epiphysenfugenfrakturen Typ Aitken II und III, dislozierte Gelenkfrakturen, Polytraumata und Frakturen bei denen Gefäß- und Nervenstraßen mitbeteiligt sind<sup>10,58</sup>.

In klinischen Beobachtungen zeigen alte Menschen einen verzögerten Knochenheilungsverlauf und eine insgesamt höhere Morbidität gegenüber Jugendlichen<sup>59</sup>. Auch die Aktivität von Stoffwechselfvorgängen in Osteonen älterer Individuen ist herabgesetzt<sup>60</sup>. Im Tierversuch findet sich eine verzögerte Knochenheilung älterer Individuen. So zeigten Meyer et al., dass eine Wiederherstellung der biomechanischen Integrität einer Fraktur bei sechs Wochen alten Ratten bereits nach vier Wochen erfolgt ist, wohingegen sich die Heilungsphase bei zwei Jahre alten Tieren über mehr als 24 Wochen erstreckt<sup>61</sup>. Lu et al. fanden in ihrem Frakturmodell an der Maus ein höheres Heilungspotential des Knochens junger Tiere gegenübergestellt älteren Tieren<sup>62</sup>. Ursächlich für die verlangsamte Heilung werden verschiedene Faktoren wie die verminderte Verfügbarkeit osteogener Stammzellen und deren reduziertes Proliferations- und Differenzierungs-potential sowie systemische und lokale Minderperfusion diskutiert<sup>63-67</sup>. Battmann et al. konnten in vitro eine verminderte osteoblastäre Funktion bei Knochenzellen älterer Menschen nachweisen<sup>63</sup>. Während im Tierversuch die Bildung des knorpeligen Kallus molekularbiologisch wenig durch das Alter beeinflusst zu sein scheint, zeigen sich in für die Bildung von Knochenmatrix

---

verantwortlichen Genen und in osteodensitometrischen Messungen des Kallus deutliche Altersunterschiede<sup>61,68,69</sup>. Meyer et al. konnten an einem Rattenmodell mit drei verschiedenen Altersgruppen eine stärkere Expression Kalzifikation inhibierender Gene bei älteren Tieren nachweisen, die im Zusammenhang mit einer Ossifikationsverzögerung stehen könnten<sup>68</sup>. In neuen Ansätzen zur Heilungsbeschleunigung von Knochendefekten könnten diese Interaktionen von Alter und Kalluszusammensetzung klinische Anwendungsmöglichkeiten finden. So werden bereits osteogene Stammzellen und Wachstumsfaktoren substituiert um optimale Voraussetzungen für die Heilung zu schaffen<sup>40,41</sup>.

## 1.5 Zielstellung

Da im klinischen Alltag sowohl das Alter als auch die mechanische Stabilität auf die Knochendefektheilung einwirken und bisherige Tierversuche diesen Aspekt nicht berücksichtigten, resultiert die Notwendigkeit einer kombinierten Betrachtung und Untersuchung dieser Faktoren. Um therapeutische Konsequenzen hinsichtlich einer eventuell notwendigen Anpassung der mechanischen Umgebung an die biologisch ungünstige Situation des fortgeschrittenen Alters abzuleiten, ist es notwendig Knochenregeneration fördernde sowie hemmende Effekte zu identifizieren.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es biomechanische und radiologische Unterschiede in der Heilung eines subkritischen Knochendefektes bei alten und jungen Ratten unter dem Einfluss verschiedener Fixationssteifigkeiten aufzuzeigen. Weiterhin sollte untersucht werden ob die Einflussgrößen unabhängig voneinander wirken oder statistische Interaktionen untereinander zeigen. Die Hypothesen der Arbeit waren zum einen die biomechanische Überlegenheit heilender Knochendefekte junger Tiere gegenüber alten Tieren, zum anderen ein biomechanisch besseres Heilungsergebnis rigide fixierter Tiere innerhalb der jeweiligen Altersgruppe.

Es soll ein Kreuzmodell etabliert werden, welches vier Versuchsgruppen enthält:

1. junge Tiere, semi-rigide Fixation (Gruppe JS)
2. alte Tiere, semi-rigide Fixation (Gruppe AS)
3. junge Tiere, rigide Fixation (Gruppe JR)
4. alte Tiere, rigide Fixation (Gruppe AR)

---

## 2 Materialien und Methoden

### 2.1 Auswahl der Tiere

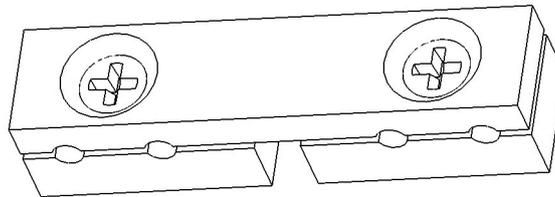
Alle Experimente wurden unter Beachtung der Richtlinien und Grundsätze des Animal Welfare Acts, dem NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals und den National Animal Welfare Guidelines ausgeführt und vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit in Berlin unter der Registrierungsnummer G 0190/05 genehmigt.

36 weibliche Sprague-Dawley Ratten wurden in vier Gruppen von je neun Tieren aufgeteilt, Gruppe JS (jung, semi-rigide Fixation) und JR (jung, rigide Fixation) bestand aus Tieren mit einem Alter von 12 Wochen und einem Gewicht von  $257 \pm 12$  g. Gruppe AS (alt, semi-rigide Fixation) und AR (alt, rigide Fixation) bestand aus Ratten mit einem Alter von 12 Monaten und einem Gewicht von  $335 \pm 16$  g. Während Gruppe JS und AS mit der weniger rigiden Konfiguration des externen Fixateurs versorgt wurden, erfolgte die Operation in den Gruppen JR und AR mit dem rigiden Setup. Weibliche Ratten wurden aufgrund des geringeren Wachstums während der Standzeit gewählt. Die Standzeit nach Operation bis zur Opferung betrug sechs Wochen.

Die Versuchstiere wurden nach erfolgter Anlieferung zunächst sieben Tage in der Tierversuchsanstalt des Campus Virchow-Klinikums gehalten, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen. Dabei wurde den Tieren ein Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden vorgegeben. Präoperativ erfolgte die Tierhaltung im Großkäfig (Grundfläche 1800 cm<sup>2</sup>, Höhe 19 cm) in Gruppen von maximal sechs Tieren. Postoperativ wurde auf Einzeltierhaltung (Käfiggrundfläche 810 cm<sup>2</sup>, Höhe 19 cm) gewechselt um eine gegenseitige Manipulation am Fixateur externe zu verhindern und gute Voraussetzungen für die Wundheilung zu schaffen. Die Tiere durften zu jedem Zeitpunkt den operativ versorgten Femur uneingeschränkt belasten und konnten nach Belieben Nahrung aufnehmen oder trinken.

## 2.2 Konstruktion und Rigidität des Fixateur externe

Der in dieser Studie verwendete Fixateur externe wurde in den technischen Laboren des Forschungshauses Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Virchow Klinikum entwickelt (Abb.1). Der standardisierte externe Fixateur besteht aus vier 1,2 mm Kirschner-Drähten (Fa. Jagel, Bad Blankenburg, Deutschland) mit 10 mm Gewinde und einem Querbalken der Dimension 22 x 5 x 2 mm. Jeweils zwei Pins sind über je eine versenkte Schraube (M 2.5) mit einer Stahlzwinde am Fixateurquerbalken befestigt. Das Gesamtgewicht der Querbalkenkonstruktion beträgt 3 g.



**Abb.1: Fixateur externe**

Dargestellt ist der Querbalken des Fixateur externe. Die im Knochen verankerten Pins werden in die Aussparungen eingebracht und durch das Anziehen der Schrauben fixiert.

Der für das Versuchsvorhaben notwendige Stabilitätsunterschied wurde durch Variation des Abstandes des Fixateurquerbalkens zum Os femoris der Ratte erreicht. Der Fixateur-Knochenabstand (Offset) beträgt in der steifen Konfiguration 7,5 mm und in der weniger steifen Konfiguration 15,0 mm, woraus eine um 123 % höhere torsionale und eine um 243 % höhere axiale Stabilität der rigiden Konfiguration resultiert (ex vivo Testung am Rattenknochen mittels Materialprüfmaschine Zwick 1445, Ulm, Deutschland). Definiert wurde das minimale Offset durch die Dicke des Weichteilmantels um den Femur der verwendeten alten Ratten. Das maximale Offset von 15,0 mm wurde gewählt, um einen für die Tiere schädlichen Fixateur-Käfig-Kontakt zu verhindern. Ein definierter Spalt wurde mittels Distraction erzielt. Hierfür diente ein Konstrukt in Form des Fixateurquerbalkens, jedoch 1,1 mm kürzer als dieser aufgrund einer ebensoviel geringeren Distanz zwischen den inneren proximalen und distalen

Pins, als Bohr- und Sägeschablone bevor der definitive Fixateur montiert wurde. Der definitive Spalt betrug so 1,5 mm (1,1 mm Distraction + 0,4 mm Sägespalt).

Die mechanische Evaluation der verschiedenen Rigiditäten des Fixateurs erfolgte in einem Vorversuch sowohl an Bambusrohren von 7,0 mm Durchmesser und 45 mm Länge als auch ex vivo an Femora von ca. 12 Monaten (360 g) und 12 Wochen (260 g) alter Ratten. Die Knochen wurden sofort nach Opferung der Tiere in gepufferte Salzlösung überführt und gekühlt sowie direkt im Anschluss der biomechanischen Testung zugeführt. Jede Testung erfolgte an mindestens sechs Testobjekten bzw. sechs verschiedenen Knochen (maximal zehn). In jedem Durchgang wurde das Offset des Fixateurs in 2,5 mm Schritten, beginnend bei 5 mm bis auf 15,0 mm erhöht.

In die Bambusrohre bzw. Knochen wurden mittels der Bohrschablone vier Pins eingebracht. Unter Arretierung der Schablone wurden die Testobjekte mittig zwischen den inneren Pins durchtrennt (Säge mit 0,3 mm Sägeblatt und resultierendem Sägespalt von 0,4 mm, S-8R, Implantmed<sup>®</sup>, W&H Oral Surgery, Österreich) sowie im Anschluss die Schablone gegen den Fixateur ausgetauscht und die Pins gekürzt. Zur Rotationssicherung in der Gießvorrichtung wurden die Testobjekte jeweils proximal und distal mit einem gekürzten, quer verlaufenden Pin versehen. Zur Testung wurden beide Enden der Testobjekte mittels einer Haltevorrichtung in Gießbehälter mit Methylmethacrylat (Technovit<sup>®</sup> 3040, Heraeus Kulzer, Deutschland) eingebettet. Diese wurden in eine eigens angefertigte Messvorrichtung eingespannt (Zwick 1445, Ulm, Deutschland) mit 5 N axial vorbelastet und mit 2 mm/min Umlaufgeschwindigkeit getestet (Abb.2a)<sup>70</sup>. Die axiale Testung (Abb.2b) erfolgte nach Einspannen in die hierfür vorgesehene Messvorrichtung (Zwick 1445, Ulm, Deutschland) bei einer Vorlast von 0,05 N und einer Prüfgeschwindigkeit von 1 mm/min Die axiale sowie torsionale Steifigkeit des Fixateur externe wurden in N/mm bzw. Nmm/° gemessen.

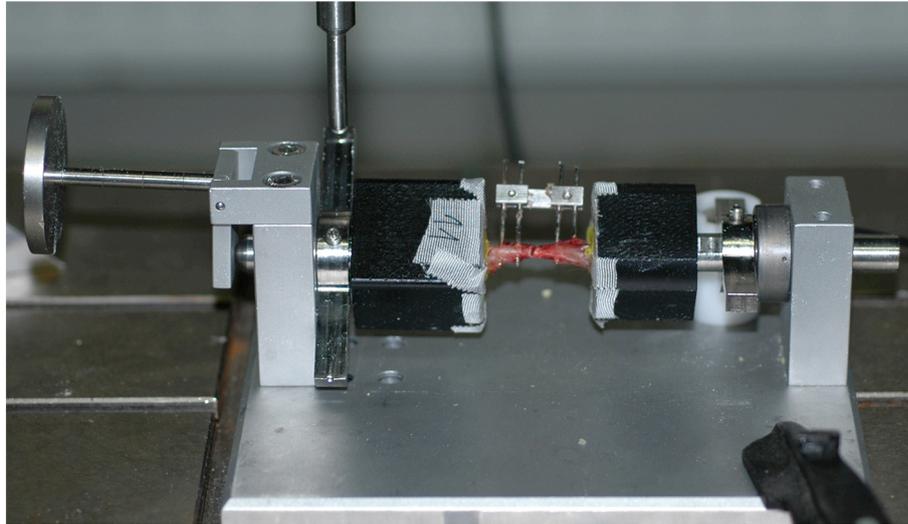
Im ersten Untersuchungssetup wurde die torsionale Steife des Fixateurs erst an Bambusrohren dann am Rattenknochen bestimmt. Die Kombinationen zeigten eine exponentielle Abnahme der Steifigkeit mit größer werdendem Offset. Die Kombinationen mit Bambus führten im Vergleich zu denen mit Knochen zu einer steiferen Konfiguration des Fixateurs. Bezogen auf das Setup dieser Studie, ist in der Knochen Konfiguration bei torsionaler Testung ein Offset von 7,5 mm signifikant steifer als eines von 15 mm ( $p=0,023$ ). In der Bambus Konfiguration zeigt sich ein ähnliches

---

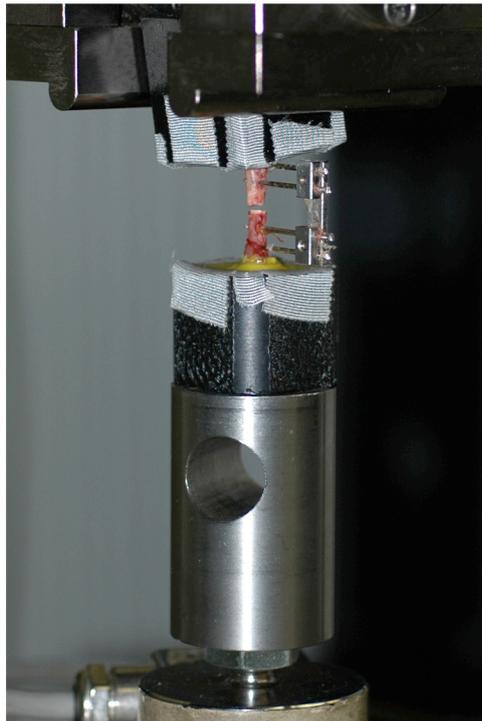
Ergebnis ( $p < 0,001$ ). Die torsionale Steife der Konfigurationen im Bezug auf die einzelnen Offset-Einstellungen ist der Tabelle 1 sowie der Abb.3a, b zu entnehmen.

Im zweiten Testsetup wurde die axiale Rigidität ebenfalls erst an Bambusröhrchen und dann am Rattenknochen geprüft. Beide Kombinationen zeigten ein exponentiales Abfallen der axialen Rigidität mit zunehmendem Offset. Die Differenz im Bezug auf die von uns verwendeten Offsettingen war ebenfalls signifikant, wobei sowohl beim Knochen ( $p < 0,001$ ) als auch beim Bambus ( $p < 0,001$ ) das Offset von 7,5 mm steifer war als das von 15 mm. Die entsprechenden Messwerte der axialen Prüfung sind der Tabelle 2 sowie der Abb.4a, b zu entnehmen.

a



b

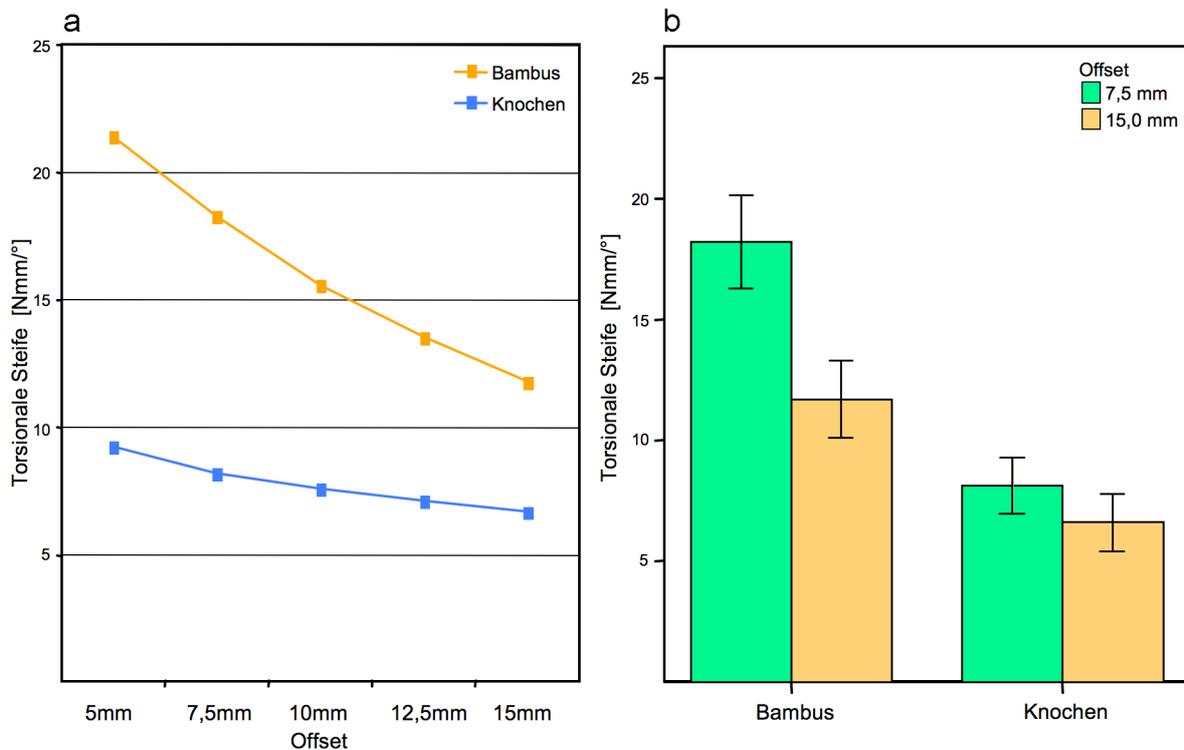


**Abb.2a, b: Biomechanische Testung des Fixateur externe**

Die Testung erfolgt hier am Rattenknochen. Der Fixateur externe wurde mit einem Offset von 7,5 mm montiert und einer torsionalen (a) und axialen (b) Belastung ausgesetzt.

**Tabelle 1: Torsionale Steife [Nmm/°]**

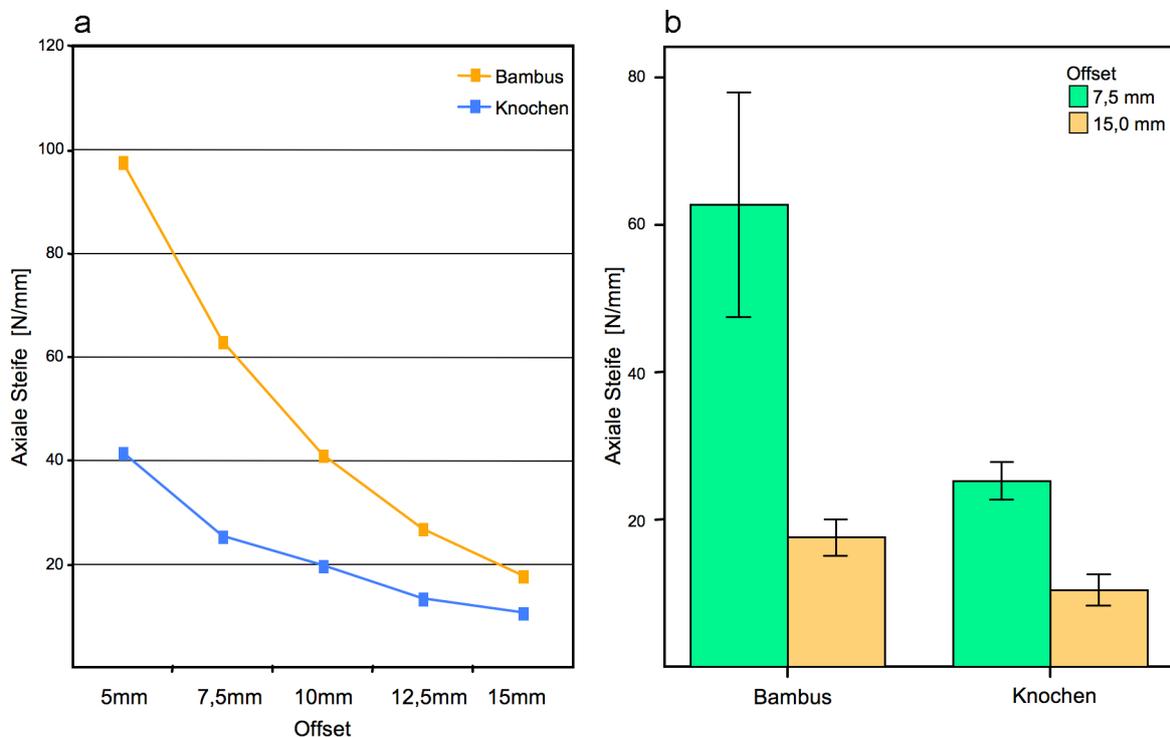
Offset	5mm	7,5mm	10mm	12,5mm	15mm
Bambus	21,36	18,22	15,51	13,48	11,72
Knochen	9,17	8,13	7,53	7,06	6,62

**Abb.3a, b: Torsionale Steife des Fixateur externe**

Dargestellt ist die torsionale Steife des Fixateur externe bei unterschiedlichen Offsets und Materialkonfigurationen. Die Steifigkeit des Fixateurs fällt mit zunehmenden Offset ab; die Bambus Konfiguration zeigt eine höhere Steife als die Knochen Konfiguration (a). Die Steife bei den in der Studie verwendeten Offsets unterscheidet sich signifikant hinsichtlich beider Konfigurationen (b).

**Tabelle 2: Axiale Steife [N/mm]**

Offset	5mm	7,5mm	10mm	12,5mm	15mm
Bambus	97,49	62,75	40,87	26,62	17,54
Knochen	41,35	25,21	19,53	13,18	10,39

**Abb.4a, b: Axiale Steife des Fixateur externe**

Dargestellt ist die axiale Steife des Fixateur externe bei unterschiedlichen Offsets und Materialkonfigurationen. Die Steifigkeit des Fixateurs fällt mit zunehmenden Offset ab; die Bambus Konfiguration zeigt eine höhere Steife als die Knochen Konfiguration (**a**). Die Steife bei den in der Studie verwendeten Offsets unterscheidet sich signifikant hinsichtlich beider Konfigurationen (**b**).

### 2.3 Anästhesie

Die Narkose wurde mittels einer Mischung aus Sauerstoff-Lachgas-Isofluran (Isofluran<sup>®</sup>, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleissheim, Deutschland) in einer eigens dafür gefertigten Narkosevorrichtung (Abb.5) eingeleitet.



**Abb.5: Narkoseeinleitung**

In einer Box erfolgt die Kurznarkose für die Kontrolluntersuchungen sowie die Einleitung der Operationsnarkose durch ein Sauerstoff-Lachgas-Isofluran Gemisch.

Daraufhin wurde durch eine intraperitoneale Injektion eines Ketamin-Xylazin-Gemisches 0,1ml/100g KG (Ketamin:Xylazin = 4:3; Ursotamin<sup>®</sup>, Serumwerk Bernburg AG, Deutschland; Rompun<sup>®</sup> 2 %, Bayer AG, Leverkusen, Deutschland) die definitive Operationsnarkose appliziert. Zur intra- und postoperativen Analgesie wurde Buprenorphin s.c. (1 : 10 verdünnt mit 0,9 % NaCl-Lösung, Fresenius Kabi Frankreich, Louviers, Frankreich; Temgesic<sup>®</sup>, Essex Pharma GmbH, München, Deutschland)

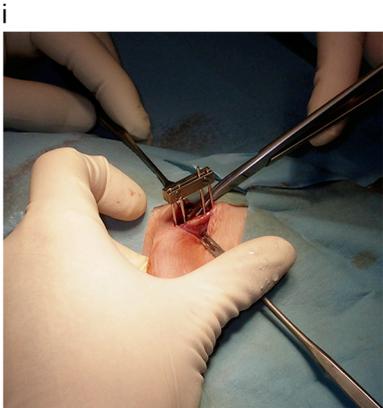
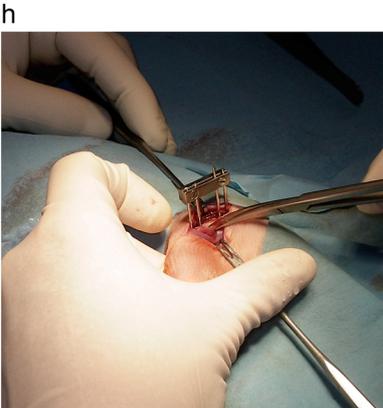
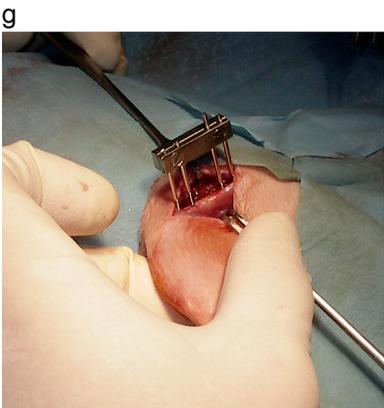
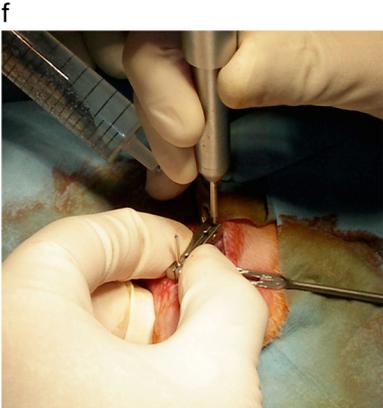
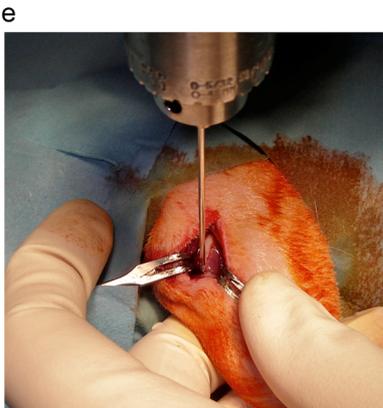
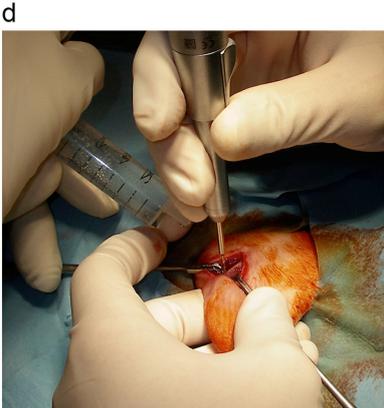
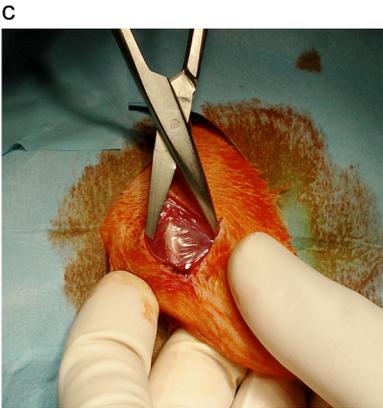
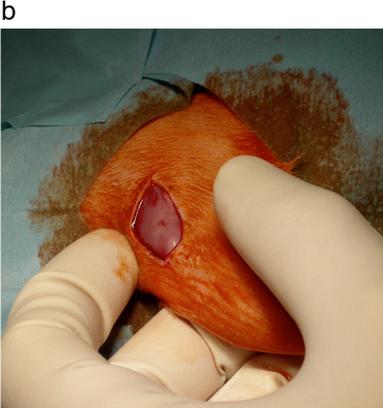
appliziert. Postoperativ wurde für zwei Stunden Rotlicht zur Prävention einer Auskühlung appliziert. Zu den wöchentlichen Kontrollzeitpunkten erfolgte die klinisch-radiologische Untersuchung in Inhalationsnarkose (Sauerstoff-Lachgas-Isfluran).

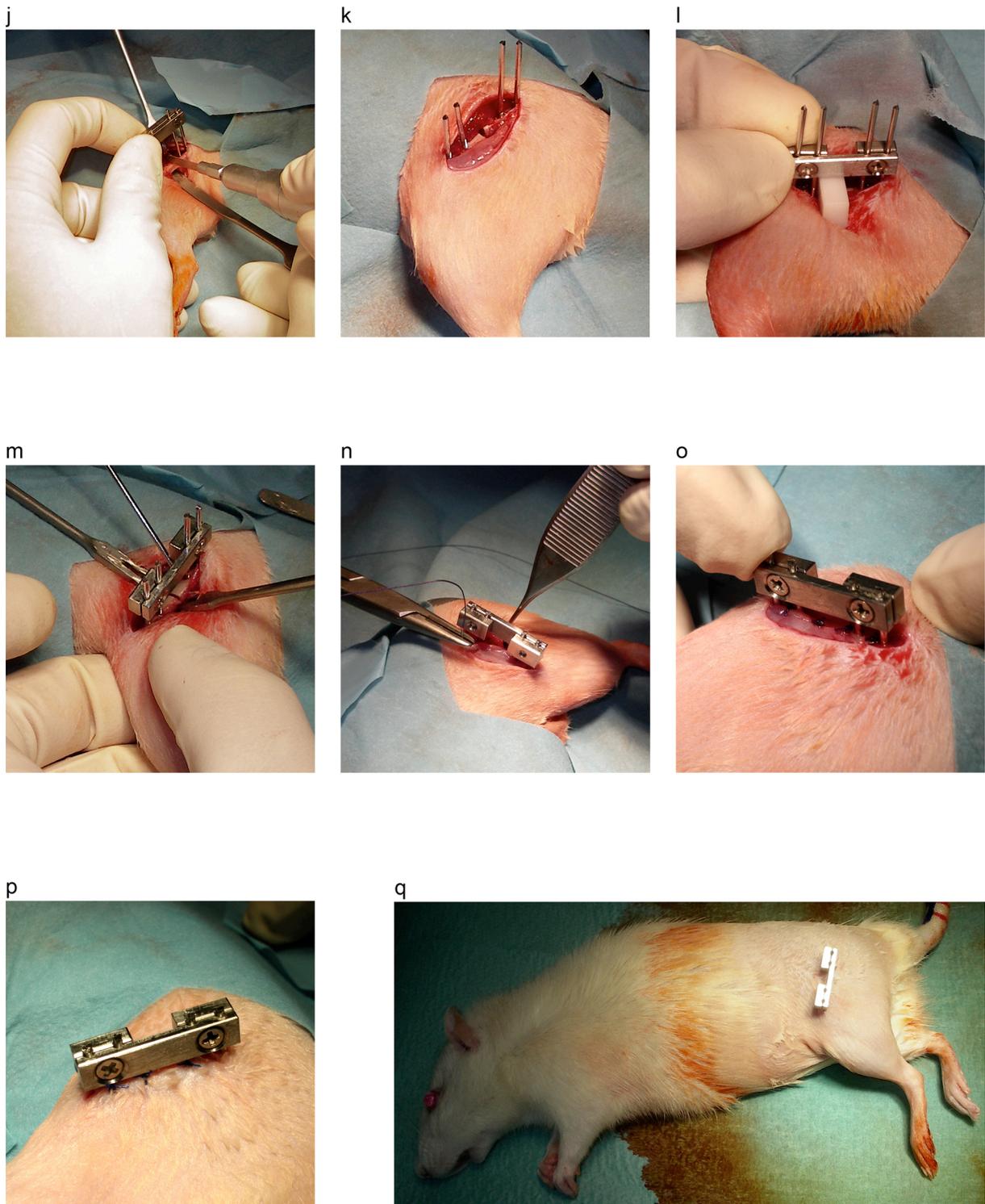
## 2.4 Operationstechnik

Die Operationen wurden von einem Operationsteam und unter sterilen Bedingungen auf einer Wärmeplatte bei 37°C durchgeführt. In Anästhesie erfolgte das Rasieren und Waschen des linken Beines mit Desinfektionsmittel (Braunoderm<sup>®</sup>, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) sowie die sterile Abdeckung.

Über eine 2 cm lange leicht gebogene Inzision der Haut und der Faszie im mittleren Teil des lateralen Os femoris wurde über einen intermuskulären anterolateralen Zugang zwischen M. quadriceps femoris und der Hamstringmuskulatur teils stumpf, teils scharf die laterale Seite des Femurs schaftmittig dargestellt (Abb.6a-c). Unter Spülung mit 0,9 % NaCl-Lösung wurden nun mit Hilfe einer Bohrschablone nacheinander monokortikal die vier Löcher für die Pins mit einem Bohrer von 0,8 mm Durchmesser (S-11, Implantmed<sup>®</sup>, W&H Oral Surgery, Österreich) geschaffen und über die Schablone jeweils ein Draht mit Gewinde bikortikal verankert (Abb.6d-f). Nach Einbringen der Pins wurde der Knochen durch den primären Fixateur im Abstand von 10 mm vom Knochen fixiert und der Schaft mittig mittels einer scharfen Schere von anliegenden Weichteilen befreit (Abb.6g-i). Daraufhin wurde der Femur, unter Schonung umgebener Weichteile durch Haken und Spülung mit 0,9 % NaCl-Lösung, durchgesägt (Säge mit 0,3 mm Sägeblatt und resultierendem Sägespalt von 0,4 mm, S-8R, Implantmed<sup>®</sup>, W&H Oral Surgery, Österreich) (Abb.6j). Die Montage des definitiven Fixateurs mit dem, der jeweiligen Gruppe entsprechenden Offset, erfolgte mittels eines eigens angefertigten Hochpräzisionsspacers aus Polyoxymethylen (Delrin<sup>®</sup>, Du Pont de Nemours, Bad Homburg, Deutschland) nach Entfernen des primären Fixateurs (Abb.6k-m). Im Anschluss erfolgte das Kürzen der Pins auf Fixateurniveau. Sowohl der Verschluss der Faszie als auch der Haut wurde mittels vier Einzelknopfnähten zwischen den Pins durchgeführt (Faszie: Vicryl<sup>®</sup> 4-0, Haut: Mersilene<sup>®</sup> 4-0, Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland,). Abschließend wurde eine nochmalige Desinfektion mit Braunol<sup>®</sup> (Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)

durchgeführt sowie ein Sprühpflasterverband appliziert um eine frühe Wundkontamination zu vermeiden (Abb.6n-q).





**Abb.6a-q: Operationssitus und Fixateuranlage**

Dargestellt ist das Procedere der Anlage eines rigiden Fixateurs (Offset: 7,5mm). Besondere Bedeutung kommt der sorgfältigen Platzierung der Bohrlöcher (**d-f**) und einer weichteilschonenden Osteotomie zu (**j**).

## 2.5 Klinische Untersuchung

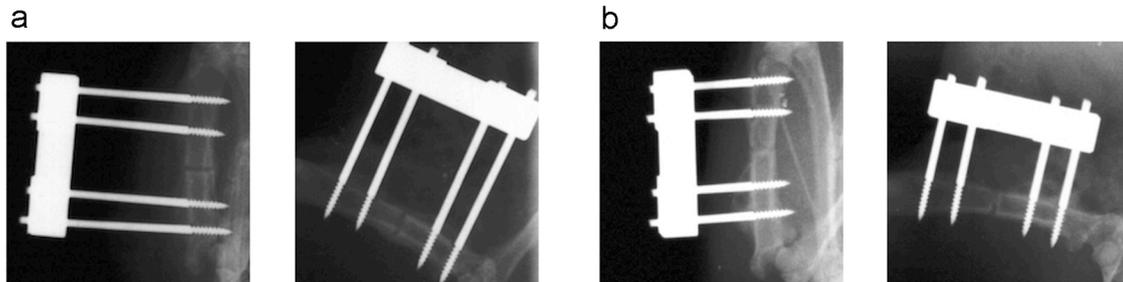
Bei jeder Ratte erfolgte präoperativ sowie wöchentlich bis zum Zeitpunkt der Opferung eine Temperatur- (°C) und Gewichtskontrolle (g). Tiere, bei denen ein Temperaturanstieg sowie eine Gewichtsabnahme registriert wurden, wurden insbesondere auf Zeichen einer Osteomyelitis oder Weichteilinfektes mit einhergehender Pinlockerung untersucht und gegebenenfalls frühzeitig getötet. Postoperativ wurden die Tiere täglich visitiert und gegebenenfalls Analgetika appliziert. Im wöchentlichen Abstand fand eine Reinigung der Wunde und des Fixateur externe mittels Wasserstoffperoxid statt. Anschließend wurde die Wunde desinfiziert (Ondrohexidin<sup>®</sup>, One Drop Only<sup>®</sup>, Berlin, Deutschland). Des Weiteren wurde der Fixateur auf korrekten Sitz und Fixation der Pins im Femur der Ratten untersucht. Die Hautnaht wurde nach zwei Wochen entfernt. Alle Untersuchungen fanden in oben erwähnter Inhalationskurznarkose statt.

Eine klinisch sowie radiologisch apparente verzögerte Knochendefektheilung (makroskopisch fibröses Gewebe innerhalb des Osteotomiespalt es ohne interfragmentäre Stabilität sowie Röntgenscore C) wurde nach Knochenentnahme registriert und aufgrund der mangelnden biomechanischen Kompetenz von der weiteren biomechanischen Untersuchung und radiologischen Auswertung ausgeschlossen.

## 2.6 Radiologische Untersuchung

Röntgenologische Untersuchungen erfolgten direkt postoperativ sowie im Abstand von zwei Wochen in Gasnarkose bis zum Zeitpunkt der Tötung. Dabei wurden standardisiert drei Ebenen (anterior-posterior, lateral, axial) erfasst. Als Röntgengerät kam der Mobilett Plus X-Ray Unit (30 cm Abstand, Siemens, Erlangen, Deutschland, Filme: Chronex 5 Medical X-Ray Film, AGFA-Gevaert N. V., Mortsel, Belgien) zum Einsatz. Die qualitative Auswertung der Röntgenbilder erfolgte zu jedem Zeitpunkt durch zwei unabhängige Beobachter anhand folgender Kriterien in zwei senkrecht zueinander stehenden Ebenen<sup>70</sup>. Dabei wurde jedem Röntgenbild ein Score von A bis C zugeordnet. Ein Score von A entspricht einer vollständigen Überbrückung aller vier Kortikalen durch das Kallusgewebe in zwei senkrecht zueinander stehenden Ebenen

(Abb.7a, b). Ein Score von B entspricht einer inkompletten Überbrückung; auf den zwei senkrecht zueinander stehenden Röntgenbildern werden nur eine bis drei Kortikalen von Kallusgewebe überbrückt. Ein Score von C wurde vergeben wenn sich in keiner Ebene eine Überbrückung der Kortikalis durch Kallusgewebe nachweisen ließ. Im Falle



**Abb.7a, b: Radiologische Aufnahmen Woche 6**

Abgebildet sind radiologische Aufnahmen der Gruppe JS (a) und der Gruppe JR (b). In allen Aufnahmen überbrückt das Kallusgewebe den Osteotomiespalt vollständig (Score: A).

einer unterschiedlichen Bewertung durch die beiden Betrachter wurde der definitive Score durch eine dritte Person bestimmt.

Zur quantitativen radiologischen Auswertung wurden die Röntgenbilder eingescannt und anhand des Pindurchmessers (1,2 mm) skaliert. Die maximale Kallusbreite sowie die Knochendurchmesser wurden in zwei senkrecht zueinander stehenden Ebenen computerisiert ausgemessen (Photoshop® CS, Adobe® Systems, USA) und anschließend die Kallusquerschnitte bzw. Querschnitte der Knochen (Flächeninhalt einer Ellipse) errechnet. Beide Querschnitte wurden zum Gruppenvergleich ins Verhältnis zueinander gestellt.

## 2.7 Biomechanische Testung

Für die biomechanische Testung der osteotomierten Ossa femora wurden alle Tiere der vier Gruppen am 42. postoperativen Tag getötet. Die Tötung erfolgte unter tiefer Sauerstoff-Lachgas-Isfluran Narkose mittels intrakardialer Injektion von 10 ml 7,5 % Kaliumchlorid, was zu einem sofortigen Herzstillstand führte.

Bei jedem Versuchstier wurden beide Femora entnommen und die Weichteile größtenteils abpräpariert. Zur Schonung des Kallusgewebes verblieb ein minimaler Weichteilmantel um das den Osteotomiespalt überbrückende Gewebe. Um die Knochen vor Austrocknung zu bewahren, wurden diese in gekühlte 0,9 % NaCl-Lösung eingebettet und direkt zur biomechanischen Testung, welche spätestens drei Stunden nach Entnahme stattfand, ins Labor überführt. Zur Rotationssicherung des rechten unoperierten Femurs während der Biomechaniktestung wurde jeweils ein Kirschnerdraht in die proximale und distale Epiphyse des Knochens eingebracht und gekürzt. Die Position der inneren Pins des linken Femurs wurde am rechten Femur markiert. Beim linken Femur erfolgten vor Testung die Abnahme des Fixateurs und eine Kürzung der Pins sodass dieser in der Gussform rotationssicher eingebettet werden konnte. Zur Testung wurden beide Femora erst proximal dann distal bis zu den mittleren Pins bzw. den Markierungen am rechten Femur mittels einer Haltevorrichtung mittig in Gussformen platziert. Nach Überprüfung der achsgerechten und zentrierten Lage der Femora, wurde die Gussform bis zur Markierung mit Methyl-Methacrylat (Technovit® 3040, Heraeus Kulzer, Deutschland) aufgefüllt. Nach Aushärtung des Methyl-Methacrylates wurden die in den Gussformen fest eingebetteten Femora sodann in eine speziell angefertigte Messvorrichtung eingespannt (Zwick 1445, Ulm, Deutschland) und einer axialen Kraft von 5 N bei einer Umlaufgeschwindigkeit von 2 mm/min torsional bis zum Versagen belastet wie früher beschrieben<sup>70</sup>. Die maximale Belastung bei Versagen und die Torsionssteifigkeit des operierten Femurs wurden als Prozentangabe relativ zur kontralateralen nicht operierten Seite angegeben<sup>71</sup>.

## 2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung und mit Hilfe des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité. Die Daten wurden mit der Statistik Software SPSS 14.01 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) und Prism 4.03 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) analysiert. Der Einfluss des Alters, der Fixationsstabilität und die statistische Interaktion beider Parameter hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften des Femurknochens und der Kallusquerschnittsfläche sowie die gruppenspezifischen Unterschiede dieser Variablen wurden zweiseitig mittels 2-way Analysis of Variance (ANOVA) und einem posthoc Bonferroni-Test geprüft. Die bei der statistischen Analyse aufgetretenen Ausreißer sowie Extremfälle gingen in die Auswertung der Daten mit ein. Die statistische Analyse der radiologischen Untersuchungen wurde durch einen  $\chi^2$ -test durchgeführt. Im Falle signifikanter Unterschiede innerhalb der Gruppen wurde ein Fisher's exact-Test angeschlossen. Die Interobservervariabilität der radiologischen Evaluation wurde bestimmt unter Verwendung der  $\kappa$ -Statistik. Das Signifikanzniveau für alle statistischen Untersuchungen betrug  $p=0,05$ .

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Klinische Ergebnisse

Ein Tier der Gruppe JR (Weichteilinfekt im Bereich der Operationsnarbe und Pinlockerung) sowie ein Tier der Gruppe AS (Pinbruch) wurden von der Analyse ausgeschlossen und vorzeitig getötet. Im weiteren Verlauf traten keine Komplikationen wie Pinbrüche oder Fixateurlockerungen auf.

Bei 20,5 % der Tiere trat eine sowohl klinisch als auch radiologisch gesicherte pathologische Knochendefektheilung auf. Die Anzahl der Heilungsverzögerungen innerhalb der einzelnen Gruppen ist Tabelle 3 zu entnehmen. Hinsichtlich des Auftretens einer verzögerten Knochendefektheilung innerhalb der Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,614$ ).

**Tabelle 3: Anzahl der Heilungsstörungen**

Verzögerte Knochendefektheilung	JS	AS	JR	AR
Ja	1	1	2	3
Nein	8	7	6	6
Insgesamt	9	8	8	9

### 3.2 Radiologische Ergebnisse

Im Zeitverlauf zeigte sich in allen Gruppen eine Zunahme der Konsolidierung des Knochendefektes. Im radiologischen Score fanden sich signifikante Differenzen zwischen den Gruppen zum Zwei-Wochen-Zeitpunkt ( $p=0,006$ ) im Bezug auf eine höhere Konsolidierungsrate der Gruppe JR gegenüber den Gruppen JS ( $p=0,05$ ) und AR ( $p=0,009$ ). In Woche sechs post OP ( $p=0,032$ ) fand sich eine signifikant höhere Konsolidierungsrate der Gruppe JS gegenübergestellt Gruppe AS ( $p=0,024$ ) und AR ( $p=0,015$ ) und Gruppe JR gegenübergestellt Gruppe AR ( $p=0,038$ ). Die Messungen in Woche vier ergaben keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 4).

**Tabelle 4: Radiologischer Score**

Zeitpunkt post OP	Score	JS	AS	JR	AR
2 Wochen	A	0	0	0	0
	B	1	1	5	0
	C	8	7	3	9
4 Wochen	A	1	0	4	0
	B	7	5	2	7
	C	1	3	2	2
6 Wochen	A	7	1	5	1
	B	2	6	2	7
	C	0	1	1	1

Die mittlere Kallusquerschnittsfläche (KQF) der osteotomierten Femora betrug  $7,7 \pm 0,8 \text{ mm}^2$  in Gruppe JS, in Gruppe AS:  $9,4 \pm 0,8 \text{ mm}^2$ , in Gruppe JR:  $7,7 \pm 0,5 \text{ mm}^2$  und in Gruppe AR:  $9,1 \pm 0,7 \text{ mm}^2$ .

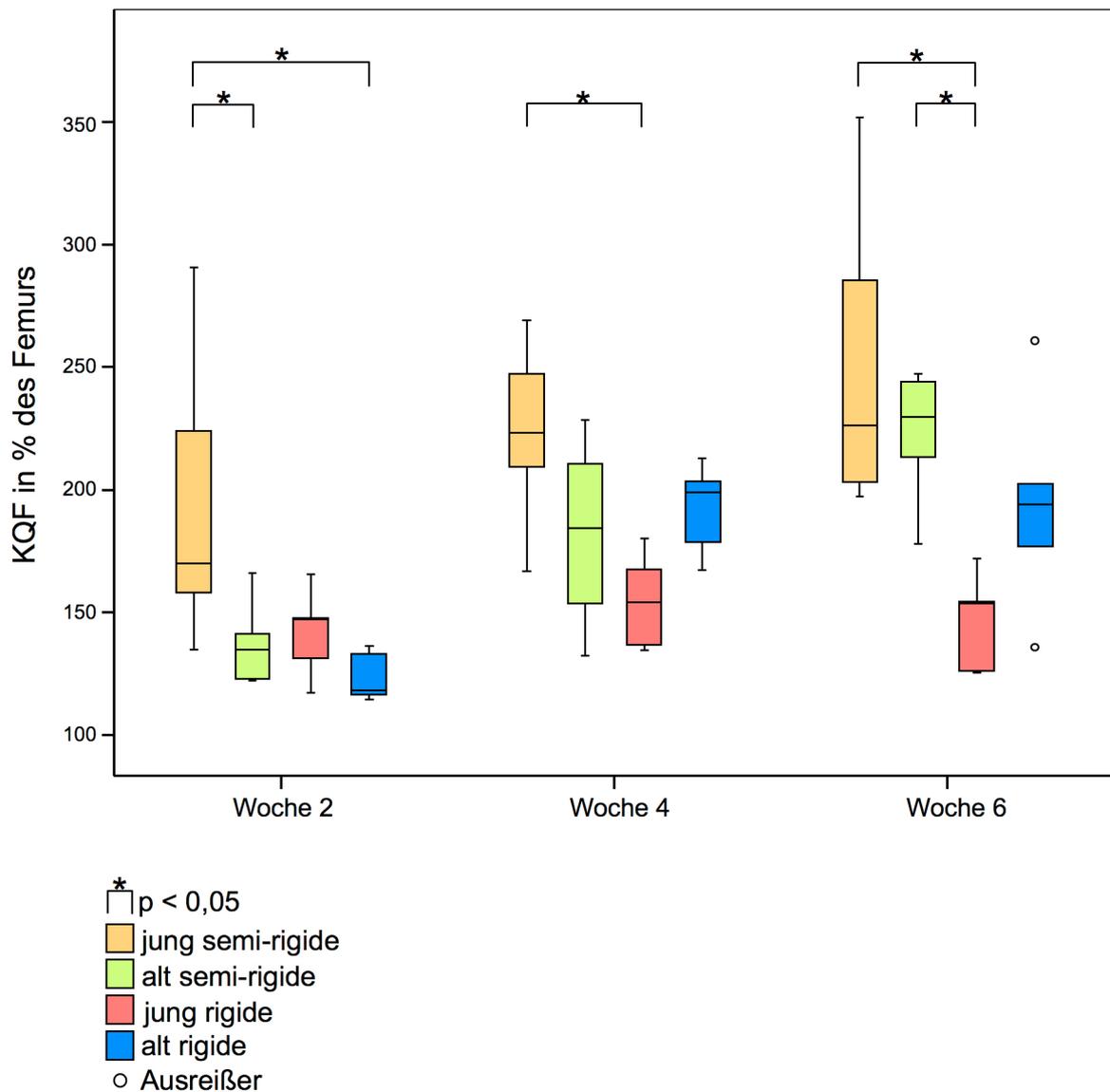
Nach zwei Wochen zeigte sich eine signifikante Abhängigkeit der KQF vom Alter (21,5 % der totalen Varianz (TV);  $p=0,007$ ) und von der Fixationssteifigkeit (15,4 % der TV;  $p=0,019$ ). Die statistische Interaktion zwischen beiden hatte keinen Einfluss auf die KQF (4,6 % der TV,  $p=0,182$ ). Zum selbigen Zeitpunkt zeigte sich eine signifikant größere KQF der Gruppe JS im Vergleich zu den Gruppen AS ( $p=0,025$ ) und AR ( $p=0,003$ ), jedoch nicht zur Gruppe JR ( $p=0,055$ ). Im Gruppenvergleich fanden sich in den anderen Konstellationen keine signifikanten Unterschiede zu diesem Zeitpunkt.

Vier Wochen post OP konnte kein Einfluss des Alters auf die KQF (<0,1 % der TV;  $p=0,879$ ) beobachtet werden, wohingegen die Fixationssteifigkeit (15,6 % der TV,  $p=0,019$ ) und die statistische Interaktion zwischen Alter und Fixationssteifigkeit (31,1 % der TV;  $p=0,002$ ) signifikant die radiologischen Ergebnisse bestimmten. Die KQF der Gruppe JS gegenübergestellt der Gruppe JR war signifikant größer ( $p=0,002$ ). Zwischen den Gruppen JS und AS ( $p=0,08$ ) fanden sich ebenso wie in den weiteren Gruppenvergleichen keine signifikanten Differenzen zum Vier-Wochen follow-up.

6 Wochen postoperativ beeinflussten maßgeblich die Fixationssteifigkeit (36,8 % der TV;  $p=0,001$ ) und die statistische Interaktion zwischen Fixationssteifigkeit und Alter (11,2 % der TV;  $p=0,042$ ) die KQF. Das Alter an sich (0,8 % der TV;  $p=0,564$ ) hatte keinen signifikanten Einfluss auf die KQF. Weiterhin fand sich eine signifikant geringere Kallusquerschnittsfläche der Gruppe JR gegenüber den Gruppen JS ( $p=0,002$ ) und AS ( $p=0,030$ ). In den anderen Gruppenvergleichen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Einen Überblick über die verschiedenen Zeitpunkte mit ihren korrespondierenden Kallusquerschnittsflächen gibt Tabelle 5 und Abb.8.

**Tabelle 5: Kallusquerschnittsfläche (KQF) in Prozent des ipsilateralen Femurs**

Zeitpunkt post OP	JS	AS	JR	AR
Woche 2	290,70	166,32	117,47	114,42
	214,36	132,02	165,58	133,33
	233,83	137,78	147,82	116,51
	171,68	141,43	147,51	136,37
	153,30	122,37	147,32	118,77
	134,85	122,86	131,57	117,85
	163,18			
	168,62			
Mittelwert	191,32	137,13	142,88	122,88
Standardabweichung	51,47	16,24	16,46	9,44
Woche 4	215,74	184,44	180,18	196,30
	223,26	132,58	167,63	167,45
	267,40	218,54	148,63	201,94
	202,95	138,41	159,46	203,84
	166,92	202,79	134,68	178,81
	269,17	169,36	136,93	212,91
	227,47	228,89		
Mittelwert	224,70	182,14	154,59	193,54
Standardabweichung	35,83	37,58	17,85	17,07
Woche 6	325,51	216,12	126,33	135,86
	197,57	247,53	125,63	177,13
	207,99	243,50	153,99	198,99
	352,10	178,27	154,47	202,77
	198,63	213,48	172,16	260,83
	245,78	244,42	153,36	189,30
	226,23			
Mittelwert	250,54	223,89	147,66	194,15
Standardabweichung	63,06	26,89	18,22	40,63



**Abb.8: Kallusquerschnittsfläche (KQF) in Prozent des ipsilateralen Femurs**

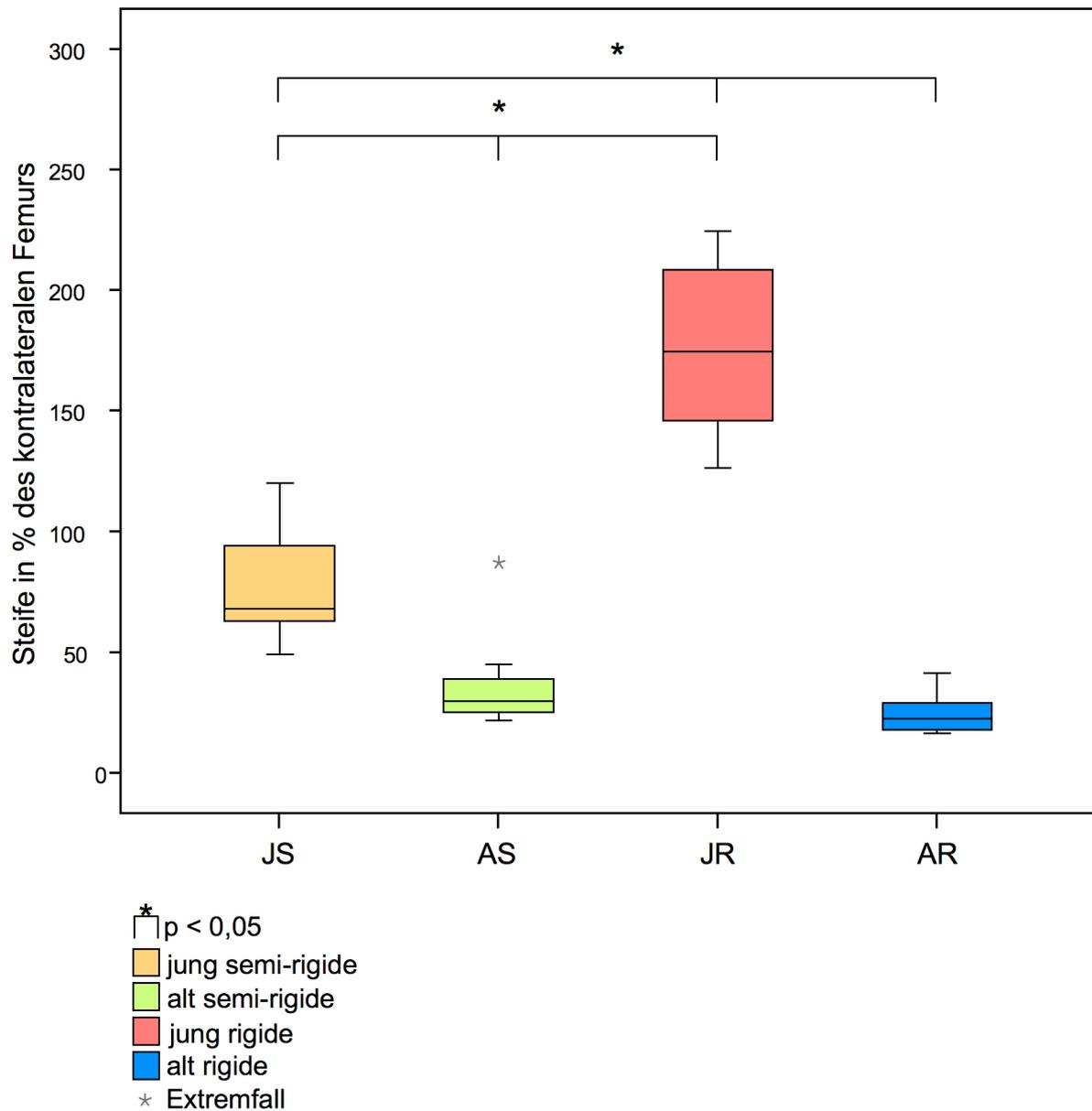
2 Wochen post OP zeigt sich eine signifikant größere KQF der Gruppe JS im Vergleich zu Gruppe AS und AR. Nach 4 Wochen findet sich nur noch zwischen Gruppe JS und JR eine signifikante Differenz. In Woche 6 ist die KQF der Gruppe JR signifikant kleiner als in Gruppe JS und AS.

### 3.3 Ergebnisse der biomechanischen Testung

Nach sechs Wochen zeigte sich in den Messungen, dass die torsionale Steife der operierten Femora im Vergleich zur kontralateralen Seite signifikant vom Alter (59,6 % der TV,  $p < 0,0001$ ), der Fixationssteifigkeit (12,0 % der TV;  $p = 0,0003$ ) sowie der statistischen Interaktion zwischen Alter und Fixationssteifigkeit (20,5 % der TV;  $p < 0,0001$ ) abhängig war. Die torsionale Steife der operierten Femora im Vergleich zur nicht operierten Gegenseite (Tabelle 6) war signifikant größer in der Gruppe JR gegenübergestellt der Gruppe JS ( $p < 0,001$ ), der Gruppe AR ( $p < 0,001$ ) sowie der Gruppe AS ( $p < 0,001$ ). Das Kallusgewebe der Gruppe JS zeigte eine signifikant höhere Steifigkeit als das der Gruppe AR ( $p = 0,006$ ) und das der Gruppe AS ( $p = 0,046$ ). Zwischen der Gruppe AS und der Gruppe AR zeigte sich basierend auf den Daten kein signifikanter Unterschied (Abb.9).

**Tabelle 6: Steifigkeit in Prozent des kontralateralen Femurs**

	JS	AS	JR	AR
Steife in %	73,15	87,2	126,56	18,14
	71,44	29,87	190,65	16,55
	49,14	32,89	208,52	23,56
	115,62	25,28	158,33	29,14
	64,73	21,99	224,41	41,44
	63,24	25,3	146,19	21,8
	120,08	45,1		
	63,06			
Mittelwert	77,56	38,23	175,78	25,11
Standardabweichung	25,91	22,88	38,11	9,14



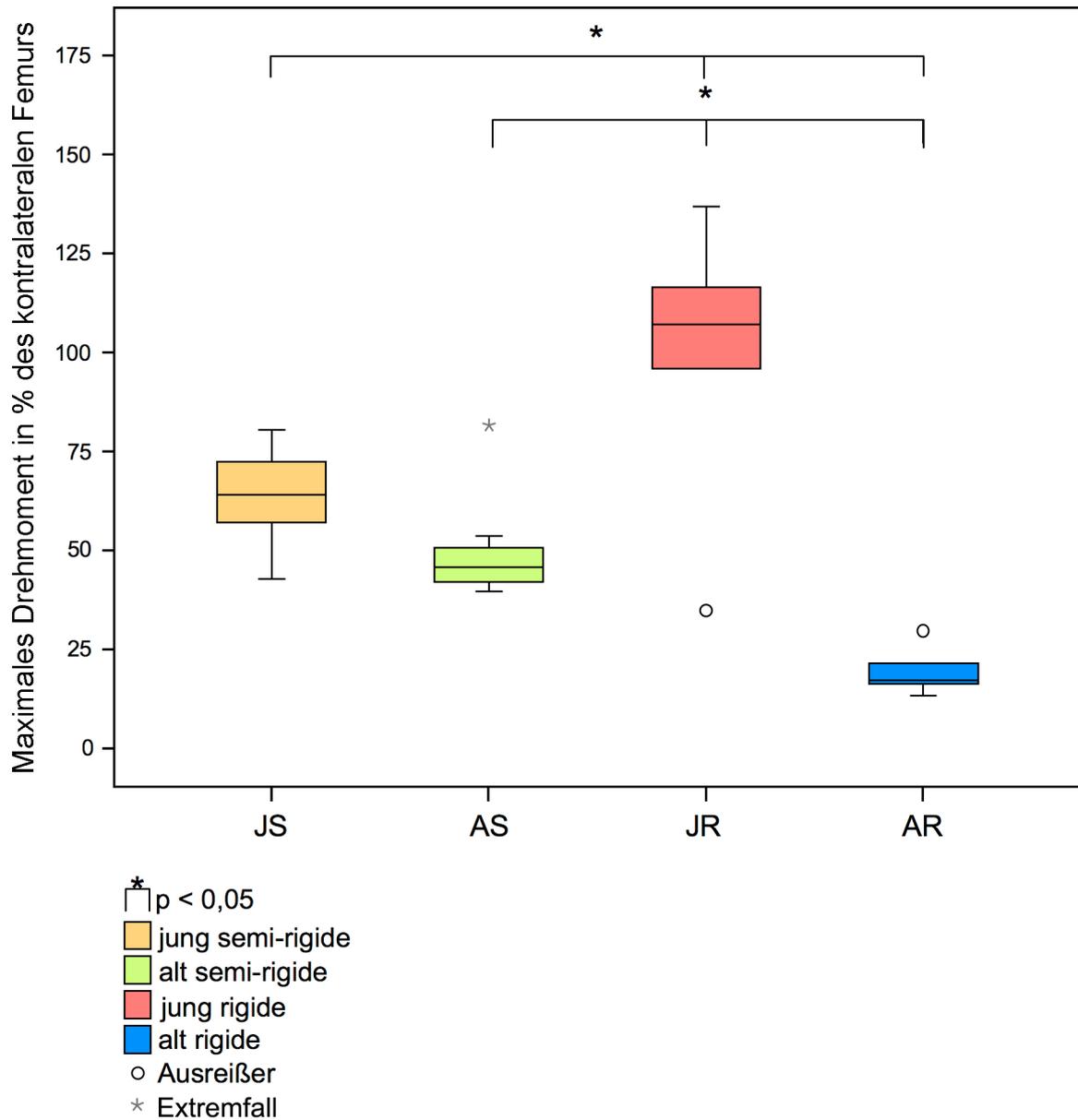
**Abb.9: Torsionale Steife des Kallus in Prozent des kontralateralen Femurs**

Gruppe JR weist zum 6 Wochenzeitpunkt eine signifikant höhere Steifigkeit als die übrigen Gruppen auf. Das Kallusgewebe der Gruppe JS ist signifikant steifer als das der Gruppe AS und AR.

Im Hinblick auf das nach sechs Wochen Standzeit ermittelte maximale Drehmoment zum Zeitpunkt des biomechanischen Versagens des Kallusgewebes im Vergleich zum kontralateralen Femur zeigte die Testung einen signifikanten Einfluss des Alters (51,4 % der TV,  $p < 0,0001$ ) und der statistischen Interaktion von Alter und Fixationsstabilität (26,2 % der TV,  $p = 0,0002$ ). Die Fixationssteifigkeit (0,1 % der TV,  $p = 0,753$ ) hatte keinen signifikanten separaten Einfluss auf das maximale Drehmoment. Weiterhin zeigen die Ergebnisse (Tabelle 7) ein signifikant geringeres maximales Drehmoment in der Gruppe AR jeweils der Gruppe JS ( $p = 0,002$ ), AS ( $p = 0,046$ ) und JR ( $p < 0,001$ ) gegenübergestellt. Gruppe JR zeigte ein signifikant höheres maximales Drehmoment verglichen mit Gruppe JS ( $p = 0,012$ ) und Gruppe AS ( $p = 0,001$ ) (Abb.10).

**Tabelle 7: Maximales Drehmoment in Prozent des kontralateralen Femurs**

	JS	AS	JR	AR
Maximales Drehmoment in %	42,78	81,63	34,85	17,07
	56,56	53,72	116,6	29,66
	76,65	40,92	107,54	16,35
	63,29	39,79	95,96	13,45
	80,55	43,37	136,97	17,53
	68,3	47,79	106,81	21,52
	65,16	45,88		
	57,7			
Mittelwert	63,87	50,44	99,79	19,26
Standardabweichung	11,95	14,52	34,66	5,72



**Abb.10: Maximales Drehmoment in Prozent des kontralateralen Femurs**

Nach 6 Wochen ist Gruppe JR allen anderen Gruppen signifikant überlegen.

Gruppe AR ist trotz rigider Fixation allen anderen Gruppen bezüglich des maximalen Drehmomentes signifikant unterlegen.

## 4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit zeigt eine Abhängigkeit der Knochenheilung vom Alter sowie von den biomechanischen Umgebungsbedingungen. Während sich die Hypothese der besseren Knochenheilungspotenz junger Tiere gegenüber alten Tieren bestätigt, zeigen sich hinsichtlich der mechanischen Umgebung inhomogene Ergebnisse. Diese Studie zeigt erstmals, dass obwohl beide Altersgruppen mit gleichartigen Fixationssystemen versorgt wurden, eine für junge Säuger scheinbar optimale biomechanische Ausgangskonfiguration für die Knochendefektheilung, bei alten Tieren zu einem im Vergleich schlechteren Heilungsergebnis führt.

### 4.1 Klinische Ergebnisse

In den Untersuchungen konnten keine signifikanten Differenzen bezüglich des Auftretens einer verzögerten Knochendefektheilung zwischen den vier Gruppen gefunden werden. Bei insgesamt 20,5 % der osteotomierten Tiere konnte ein pathologisches Heilungsergebnis festgestellt werden. Verschiedene Gründe könnten für diese Heilungsverzögerung verantwortlich sein.

Eine zu rigide Fixation bei alten Individuen könnte das Auftreten von Knochenheilungsstörungen begünstigen. Insbesondere das schlechte Abschneiden der Gruppe AR in der biomechanischen Testung stützt die These, dass alte Individuen einen höheren mechanischen Stimulus für eine vollständige und normale Knochenheilung benötigen<sup>72,73</sup>. Auch ist bei alten Individuen die Zahl sowie die Proliferationsgeschwindigkeit der Osteoblasten herabgesetzt<sup>65,74</sup>. Eine zu niedrige Anzahl dieser Zellen kombiniert mit zu wenig Stimulation könnte einen Grund für die verzögerte Knochendefektheilung darstellen. Lu et al. stellten eine prolongierte enchondrale Ossifikation bei Mäusen fest<sup>62</sup>. Übertragen auf die Ergebnisse dieser Studie kam es bei den alten Ratten möglicherweise zu einem Defizit der enchondralen Komponente, einhergehend mit einer Überexpression von Bindegewebe im Knochendefektspace und konsekutiver Verzögerung der Heilung. Auch die generell schlechtere Vaskularisation und Perfusion des Kallusgewebes älterer Individuen

---

könnte eine Rolle bei der Manifestation von Knochenheilungsstörungen spielen<sup>75,76</sup>. Möglicherweise führt auch die individuelle Schmerztoleranz der Tiere zu Knochenheilungsstörungen. Bei manchen Tieren könnte diese zur inadäquaten Belastung des osteotomierten Femurs geführt haben. In Kombination mit den anatomischen Gegebenheiten am Rattenfemur könnte es bei Beinbelastung zu starken Scherkräften am Kallusgewebe kommen. Zu hohe Scherkräfte resultieren in einer Heilungsverzögerung. Augat et al. fanden bei Schafen im Falle einer Fixation, die exzessive Scherbewegungen zulässt, eine signifikante Heilungsverlangsamung<sup>48</sup>. Lienau et al. stellten ebenfalls in einer Studie an Schafen fest, dass interfragmentäre Scherbewegungen mit einer reduzierten initialen Blutversorgung einhergehen und zu einer verlangsamten Knochenheilung führen<sup>42</sup>. Ein Einreißen der Gefäße des Kallusgewebes könnte eine dauerhafte lokale Ischämie bewirkt haben und so Knochenheilungsstörungen begünstigen. Da in dieser Arbeit keine signifikanten Differenzen für das Auftreten verzögerter Knochendefektheilung in den einzelnen Gruppen gefunden wurden, könnten individuelle, nicht kontrollierbare Faktoren Hauptgründe für diesen pathologischen Heilungsverlauf darstellen.

## 4.2 Radiologische Ergebnisse

Die im Röntgenscore gefundene Verzögerung der Überbrückung des Osteotomiespalttes alter Tiere ist möglicherweise Ausdruck einer verzögerten Mineralisierung des knorpeligen Primärkallus und bestätigt die gruppenspezifischen biomechanischen Ergebnisse. In vorangegangenen Studien schien sich in knochendensitometrischen Untersuchungen vor allem die Mineralisierung des Kallus mit zunehmendem Alter zu verzögern und zu verlängern<sup>61</sup>. In RNA-Analysen wurde unter anderem eine prolongierte Expression kalzifikationsinhibierender und knochenmatrixbildender Gene im Kallus alter Ratten gefunden<sup>68,69</sup>. Ob die generell geringere biomechanische Kompetenz des Kallus alter Tiere nach sechs Wochen ein indirekter Beweis für eine radiologisch erfassbare Mineralisierungsverzögerung des knorpeligen Kallus ist, bleibt anhand der vorliegenden Daten offen.

Hinsichtlich der Kallusgröße belegen die quantitativen röntgenologischen Untersuchungen nur in der Gruppe junger Tiere, dass eine geringere Fixationssteifigkeit mit einem makroskopisch größeren externen Kallusvolumen korreliert<sup>42,45,77,78</sup>. Die gemessene geringere biomechanische Kompetenz des Kallus der semi-rigide fixierten jungen Tiere lässt sich eventuell durch eine Verschiebung des Knochen-Knorpel-Verhältnisses im Kallusgewebe zugunsten des weicheren Knorpels erklären<sup>29,49,51,79</sup>. Entsprechend wäre es möglich, dass in der Gruppe der alten rigide fixierten Tiere zu wenig elastisches Knorpelgewebe gebildet wird und es bei ähnlicher Mineralisierung zu einer größeren Sprödigkeit des Kallus kommt<sup>49,51</sup>. In dieser Studie konnte jedoch keine Korrelation der biomechanischen Charakteristika mit dem Auftreten des externen Kallus festgestellt werden. Möglicherweise wird bei der Ratte die Stabilität des Kallus auch über endostale, im Röntgen nicht sichtbare, Kallusbildung erreicht. Hinweise für eine langsamere Ossifikation des Kallus instabil fixierter Knochendefekte und den hohen Stellenwert der intramedullären Kallusformation zeigen die Ergebnisse von Mark et al.<sup>79</sup>

### 4.3 Biomechanische Ergebnisse

Die biomechanischen Testergebnisse zeigen eine höhere torsionale Steifigkeit des Kallus junger rigide fixierter Tiere im Vergleich zum Kallusgewebe junger semi-rigide fixierter und dem Kallusgewebe alter Tiere mit beiden Fixationssteifigkeiten. Dies legt zum einen eine Überlegenheit in der Knochendefektheilung innerhalb der Gruppe junger Individuen bei rigider Fixation nahe, zum anderen bestätigt dieser Umstand zusammen mit der höheren torsionalen Steife des Kallus junger semi-rigide fixierter Tiere gegenüber der Kallussteife der alten Tiere variabler Fixation, dass junge Ratten ein höheres Knochenheilungspotential im Vergleich zu alten Ratten haben<sup>61,68,80,81</sup>. Innerhalb der Gruppen der alten Tiere ließ sich hinsichtlich der torsionalen Steife in dieser Studie kein Unterschied finden. Der Einfluss der mechanischen Umgebung auf das Kallusgewebe scheint hier weniger ausgeprägt.

Betrachtet man das maximale Drehmoment bei Versagen der Knochenstruktur, ist dieses nach sechs Wochen Knochenheilung in der Gruppe der alten rigide fixierten Tiere biomechanisch allen anderen Gruppen mit nur etwa 20 % des maximalen Drehmomentes der kontralateralen Seite unterlegen. Trotz gleicher torsionaler Steife scheint sich eine rigide Fixation bei alten Tieren negativ auf den Knochenheilungsverlauf, im Speziellen auf das maximale Drehmoment beim Versagen der Knochenstruktur auszuwirken. Im Gegensatz hierzu zeigt sich in der Gruppe der jungen Tiere die Überlegenheit der rigide fixierten Tiere auch anhand dieses Parameters. Dies ist Ausdruck für eine biomechanisch optimale Fixation des Knochendefektpaltes der Gruppe JR wohingegen bei den Gruppen der alten Tiere die Konfiguration des Fixateur externe suboptimal zu sein scheint.

#### 4.4 Einfluss der mechanischen Umgebung auf die Knochenheilung

Trotz Fehlens einer Definition für eine optimale Fixationssteifigkeit herrscht Einigkeit unter den Autoren vorangegangener Studien, dass eine optimale biomechanische Umgebung, welche direkt von der Fixationsmethode abhängt, entscheidend für den Knochenheilungsverlauf ist<sup>28,40-43,45</sup>. Die in dieser Studie hinsichtlich der Steife und des maximalen Drehmomentes nach sechs Wochen beobachtete hohe biomechanische Kompetenz des Kallusgewebes junger rigide fixierter Tiere, ist ein Beleg für eine besser angepasste und somit optimale biomechanische Umgebung im Vergleich zur Gruppe der jungen semi-rigide fixierten Tiere.

Während das Zulassen einer geringen Beweglichkeit der Knochendefektenden die Heilung über Steigerung der Zellproliferation und -differenzierung zu stimulieren scheint, führt eine zu hohe Instabilität im Knochendefektspace durch die Ruptur von Gewebe, Knochenbälkchen und Gefäßen zu einer Heilungsverzögerung und im Extremfall zur Pseudarthrose<sup>28,43,49,50,53,68,82</sup>. Vor diesem Hintergrund stellten Lienau et al. eine verlangsamte Vaskularisation des Kallusgewebes bei semi-rigide fixierten Schafen fest<sup>42</sup>. Claes et al. fanden bei Schafen mit hohen interfragmentären Bewegungsspielräumen ein Absinken der Knochenbildung sowie eine erhöhte Bildung von Binde- und Knorpelgewebe. Ein hoher interfragmentärer Bewegungsspielraum führte außerdem zu einer geringeren Dichte von Blutgefäßen bedingt durch den hohen Anteil an unvascularisiertem Knorpelgewebe<sup>51</sup>. Die biomechanische Unterlegenheit des Kallus der semi-rigide fixierten jungen Tiere in dieser Studie ist möglicherweise Ausdruck für eine verringerte Vaskularisation des Kallusgewebes und stützt die These, dass eine instabile Fixation die Knochendefektheilung verlangsamt.

Vor dem Hintergrund, dass niedrig-moderate Zugbelastung in der Initialphase des Heilungsvorganges zur Knochenbildung, moderate bis hohe mechanische Belastung zur Bildung von Bindegewebe und hydrostatischer Kompressionsdruck zur Knorpelgewebssynthese führen, lassen sich die biomechanischen Differenzen des Kallusgewebes zwischen den Gruppen möglicherweise auch durch ein Überwiegen einer der oben genannten Komponenten erklären<sup>49,50</sup>. So könnte bei den semi-rigide fixierten Tieren die dauerhaft hohe mechanische Belastung zu vermehrter Bindegewebssynthese und folglich zu einem qualitativ schlechteren Kallusgewebe

geführt haben. Wohingegen bei den jungen rigide fixierten Tieren der geringere interfragmentäre Bewegungsspielraum möglicherweise zu einer optimaleren Konfiguration des Kallusgewebes geführt hat.

Andererseits führt das Fehlen mechanischer Reize ebenfalls zu einer Heilungsverzögerung<sup>52,54</sup>. Die signifikant geringere mechanische Belastbarkeit rigide fixierter alter Tiere ist möglicherweise ein Ausdruck einer zu rigiden Fixation in dieser Altersgruppe. Osteoprogenitorzellen alter Individuen differenzieren und proliferieren langsamer, wobei auch deren absolute Anzahl herabgesetzt ist<sup>63-66,74</sup>. Möglicherweise ist das geringere maximale Drehmoment bei Versagen der Knochenstruktur alter rigide fixierter Tiere ein Hinweis dafür, dass Osteoprogenitorzellen alter Tiere einen höheren biomechanischen Stimulus für einen optimalen Heilungsverlauf benötigen. Tierstudien zum Remodelling mechanisch belasteter intakter Knochen belegen diese Hypothese. So konnten Rubin et al. an einem Truthahnmodell einen deutlichen Knochenzuwachs der Tibia mechanisch belasteter junger Tiere im Vergleich zu alten Individuen zeigen<sup>73</sup>. Weiterhin stellten Turner et al. fest, dass bei alten Ratten ein höherer mechanischer Schwellenwert zur Knochenbildung während des Remodelling notwendig ist<sup>72</sup>. Im Kontrast hierzu zeigte sich in einer in vitro Studie unter gleicher mechanischer Belastung eine vermehrte Knochenbildung alter Stammzellen<sup>83</sup>. Respektive könnte man vermuten, dass in dieser Studie eine noch instabilere Konfiguration des Fixateur externe bei alten Individuen über verstärktes Remodelling zu einem biomechanisch kompetenteren Kallus führen könnte.

Basierend auf den Daten der Studie können diese Hypothesen weder bestätigt noch verneint werden. Dennoch untermauern sie den hohen Stellenwert einer biomechanisch optimalen Umgebung im Kallusgewebe<sup>40,41</sup>. Um definitive Aussagen hinsichtlich einzelner Gewebeanteile des Kallus und deren Lokalisation und Interaktion treffen zu können, wären histologische, histomorphometrische und molekularbiologische Untersuchungen nötig.

## 4.5 Einfluss des Alters auf die Knochendefektheilung

Die geringe biomechanische Stabilität des Kallusgewebes der alten Tiere stützt die These, dass junge Individuen ein höheres Regenerationspotenzial haben. Andere Arbeiten am Tiermodell sowie Studien am Menschen untermauern die altersspezifischen Ergebnisse dieser Studie<sup>63-68,80</sup>.

Im Frakturmodell der Ratte konnte eine Heilungsverzögerung adulter Ratten im Vergleich zu jungen Ratten gefunden werden<sup>61,68,80</sup>. Histologische Untersuchungen sowie Knochendichtemessungen zeigen, dass es bei älteren Individuen zu einer Mineralisierungsverzögerung des Kallusgewebes kommt<sup>61,62</sup>. Weiterhin kommt als Ursache für den prolongierten Heilungsverlauf und die biomechanisch unterlegene Knochenqualität alter Tiere, die verminderte Anzahl von Knochenvorläuferzellen sowie deren vermindertes Proliferations- und Differenzierungspotenzial in Frage<sup>65,74</sup>. Anhand von Tierversuchen mit Mäusen konnten diese altersabhängigen Charakteristika ebenso wie eine Zunahme osteoklastärer Progenitorzellen bestätigt werden<sup>64,66,84</sup>. So konnten Lu et al. in Ihrem Frakturmodell bei alten Tieren eine verzögerte Reifung und Differenzierung von Chondrozyten aufzeigen. Auch stellten sie eine verlangsamte Resorption von Knorpel im Kallusgewebe und eine im Resultat protrahierte enchondrale Ossifikation fest<sup>62</sup>. Tonna und Cronkite zeigten zudem neben einer Verringerung der periostalen Mitoserate auch eine Verlängerung der periostalen Mitosedauer nach einem Frakturereignis im Alter<sup>67</sup>. Durch diese Umstände resultiert möglicherweise eine prolongierte Phase der geringeren biomechanischen Kompetenz im Kallusgewebe der alten Tiere. Die biomechanischen Testergebnisse dieser Arbeit implizieren somit ein früheres Stadium der Knochenheilung alter Tiere zum Sechs-Wochen-Zeitpunkt.

Auch metabolische Faktoren scheinen eine Rolle in der Knochendefektheilung zu spielen. So fanden Battmann et al. in vitro nach Stimulation von endostalen humanen Osteoblasten mit Vitamin D3 eine geringere Knochenmatrixbildung in Zellen alter Individuen<sup>63</sup>. Da weniger Knochenmatrix mit einem biomechanisch weicheren Kallus einhergeht, könnte das schlechtere Abschneiden der alten Tiere in der biomechanischen Testung durch diese relative Unempfindlichkeit mitbedingt sein. Weiterhin stellten Meyer et al. bei alten Ratten eine höhere bzw. längere Expression bestimmter Gene fest, die im Zusammenhang mit einer verlangsamten

---

Knochendefektheilung stehen könnten<sup>68</sup>. Insbesondere eine Überexpression von Genen, welche die Zellproliferation von Myofibroblasten und den Fettmetabolismus beeinflussen sowie die Kalzifikation des Kallus verlangsamen, könnte eine Rolle spielen. Eine überhöhte Zahl von Myofibroblasten und Fett im Knochendefektspace einhergehend mit einer verlangsamten Kalzifikation des Kallus, würde sich negativ auf den Heilungsverlauf auswirken. Die in dieser Studie festgestellte biomechanische Unterlegenheit der alten Tiere wäre somit Ausdruck einer pathologischen Konfiguration des Kallusgewebes.

Eine weitere mögliche Ursache für die verzögerte Knochenheilung der alten Ratten könnte in einer verminderten Anzahl an Knochenkapillaren und in einem reduzierten Blutfluss im Femur zu finden sein<sup>75,76</sup>. Eine adäquate Blutversorgung ist Grundvoraussetzung für den optimalen Ablauf der Knochenheilung<sup>41</sup>. Die Abhängigkeit der Osteoblastenarbeitsrate vom Blutfluss ist mittels Beckenkammbiopsien bei osteoporotischen Menschen nachgewiesen worden<sup>85</sup>. Die im Vergleich zu den jungen Gruppen, schlechteren biomechanischen Testergebnisse der alten Tiere zum Sechswochen-Zeitpunkt, könnten demnach durch die schlechtere vaskuläre Situation im Kallusgewebe kombiniert mit einer verminderten Anzahl und Arbeitsrate der Osteoblasten und einer daraus resultierenden langsameren Ossifikation erklärt werden.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie lassen sich keine direkten Aussagen über die Zusammensetzung des Kallusgewebes der einzelnen Gruppen treffen. Auch können aus den Daten keine Rückschlüsse auf die vaskuläre Situation oder die Expression bestimmter Gene im Knochendefektspace getroffen werden. Um Genaueres über den zeitlichen Verlauf der Knochendefektheilung der Ratten sagen zu können, sind histologische und molekularbiologische Untersuchungen nötig und Gegenstand nachfolgender Studien in diesem Modell.

## 4.6 Die Studie einschränkende Faktoren

Die vorliegende Studie zeigt bis auf die radiologischen Daten nur eine Momentaufnahme zum Sechs-Wochen-Zeitpunkt. Aussagen über den Knochenheilungsverlauf sind daher nur begrenzt möglich. Eventuell nivellieren sich die biomechanischen Unterschiede zwischen den Gruppen im Bezug auf das maximale Drehmoment und die Steife des osteotomierten Femurs, bei längeren postoperativen Standzeiten der Tiere.

Auch gilt es die Ergebnisse der radiologischen Ausmessung der Kallusquerschnittsfläche mit Vorsicht zu interpretieren. Dies ist begründet durch mögliche Ungenauigkeiten hinsichtlich der Bestimmung des größten und kleinsten Durchmessers des Kallusgewebes, da nur zwei aufeinander senkrecht stehende Ebenen betrachtet wurden. Der Fehler wurde minimiert, indem standardisierte Ansichten für die einzelnen Gruppen benutzt wurden.

Nachteilig auf die Ergebnisse der Studie wirken sich die unterschiedlichen Gewichte der Tiere zwischen den Altersgruppen aus. Der Rattenfemur wird mit etwa der Hälfte des Rattengewichtes belastet, sodass die Krafteinwirkung auf den Fixateur zwischen den schwereren alten Tieren und den leichteren jungen Tieren ca. 1 N differiert, woraus ein größerer Bewegungsspielraum der Fragmentenden resultiert. Somit waren die alten Tiere einer minimal höheren Instabilität ausgesetzt<sup>86</sup>. Weiterhin könnte auch die variierende Muskelmasse um den Femurknochen Effekte auf die Knochendefektheilung gehabt haben. Insbesondere zwischen den jungen und alten Gruppen könnte die größere Muskelmasse der alten Tiere aufgrund von Zugeffekten an den in den Knochen verankerten Pins einen nicht erfassten Einfluss auf den Heilungsverlauf gezeigt haben. Durch Verwendung langsamer wachsender weiblicher Tiere wurde versucht diese Fehler zu minimieren<sup>87</sup>.

Hinsichtlich der Belastungsfrequenz des osteotomierten Femurs und dem interfragmentären Bewegungsspielraum muss weiterhin beachtet werden, dass in dieser Studie die Tiere jederzeit uneingeschränkt in ihrer Bewegung und Aktivität waren. Folglich war das Kallusgewebe und auch der Fixateur externe keiner standardisierten Bewegungsfrequenz und Belastung ausgesetzt, was zu Inhomogenitäten innerhalb der einzelnen Gruppen geführt haben könnte. Trotz wöchentlicher Kontrolle des Sitzes und der Stabilität des Fixateur externe könnte die

---

dauerhafte Belastung des Fixationssystemes zu Materialermüdung im Sinne von Mikrorissen oder Lockerung der Pinfixation im Fixateur externe geführt haben. Dieses könnte sich letzten Endes direkt auf den interfragmentären Bewegungsspielraum des Knochendefektes niedergeschlagen haben.

Weiterhin gab es im Bezug auf die Gruppengröße Inhomogenitäten. Obwohl für jede Gruppe neun Ratten osteotomiert und mit einem Fixateur externe versorgt wurden, konnten in der Studie in den Gruppen JR und AR nur sechs und in der Gruppe AS nur sieben Tiere biomechanisch getestet werden. Trotz der geringeren Anzahl auswertbarer Tiere in den oben genannten Gruppen war es möglich, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Jedoch gilt es auch hier, die Ergebnisse vorsichtig zu interpretieren.

Auch muss beachtet werden, dass eine Osteotomie, wie sie in dieser Studie durchgeführt wurde, möglicherweise einen anderen biologischen Heilungsverlauf zeigt als eine Fraktur. Ohnehin sind die Ergebnisse eines Kleinterversuches nicht direkt auf den Heilungsverlauf einer Fraktur oder Knochendefektes beim Menschen übertragbar.

## 4.7 Schlussfolgerung

Die erstmalig kombiniert durchgeführte Betrachtung von biologischem Alter und biomechanischer Fixationsstabilität in dieser Studie belegt den maßgeblichen Einfluss des biologischen Alters und der mechanischen Umgebung auf das qualitative Ergebnis der Knochendefektheilung. Vor dem Hintergrund der bisher hauptsächlich bei jungen Tieren durchgeführten Versuche zeigt diese Studie, dass bei jungen Individuen optimale Fixationsbedingungen nicht zwangsläufig auf alte Individuen übertragbar sind und so wie hier zu einem inversen Ergebnis führen können.

Eine besser an das biologische Alter angepasste Fixationsstabilität könnte helfen die Pseudarthroserate im klinischen Alltag zu senken. Auch könnte eine Variation der Fixationssteife, angepasst an die Stadien des ossären Heilungsvorganges, einen positiven Einfluss auf die Knochendefektheilung haben. Eine schnellere und bessere Heilung hätte vor allem beim alten Menschen positive Aspekte. Sie könnte helfen die Krankenhausaufenthaltsdauer und die Phase der Bettlägerigkeit mit unerwünschter und problematischer Muskelatrophie zu verkürzen. Ohnehin sind alte, oft multimorbide, Patienten aufgrund ihres schwächeren Immunstatus stärker durch nosokomiale Infekte gefährdet. Der Krankenhausaufenthalt sollte somit so kurz wie möglich gehalten werden. Die Konsequenz einer schnellen und optimalen Versorgung von Knochendefekten wäre eine schnellere Rehabilitation einhergehend mit einer besseren Lebensqualität und niedrigerer Mortalität. Weiterhin stünde durch die Anpassung der Fixationsstabilität eine kostengünstige und leicht durchführbare Methodik bereit, die Ausgaben im Gesundheitssystem zu senken.

Die Ursachen für die biomechanisch gemessenen Differenzen und Unterschiede bleiben anhand dieser Studie im Unklaren. Weitere Untersuchungen des Kallusgewebes und der umliegenden Weichteile auf histologischer, radiologischer und molekularbiologischer Ebene, wie z.B. Micro-CT- und PCR Untersuchungen, könnten hier ursächliche Mechanismen aufzeigen sowie zu einer Verbesserung des klinischen Managements unterschiedlichster Knochendefekte und ossärer Heilungsstörungen führen.

## 5 Zusammenfassung

Die Behandlung von Knochendefekten stellt hohe Anforderungen an die moderne Medizin. Eine Therapie, sei sie konservativer oder operativer Natur, muss immer auf die biologische Situation des Patienten abgestimmt werden. Dabei darf das Alter nicht außer Acht gelassen werden, um optimale biomechanische Umgebungsbedingungen für eine vollständige Heilung zu gewährleisten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es biomechanische und radiologische Unterschiede in der Knochendefektheilung alter und junger Ratten unter dem Einfluss variabler Fixationssteifigkeit aufzuzeigen. Hypothesen der Arbeit waren zum einen die biomechanische Überlegenheit des ausgeheilten Kallusgewebes junger Tiere gegenüber alten Tieren; zum anderen ein biomechanisch besseres Heilungsergebnis rigide fixierter Tiere innerhalb der jeweiligen Altersgruppe.

36 weibliche Sprague-Dawley Ratten wurden in vier Gruppen von je neun Tieren aufgeteilt, Gruppe JS und JR bestand aus jungen Tieren mit einem Alter von 12 Wochen. Gruppe AS und AR bestand aus Ratten mit einem Alter von 12 Monaten. Während Gruppe JS und AS mit der semi-rigiden Konfiguration (Offset 15 mm) des externen Fixateurs versorgt wurden, erfolgte die Operation in den Gruppen JR und AR mit dem rigiden Setup (Offset 7,5 mm). Nach sechs Wochen wurden beide Femora der Tiere entnommen und hinsichtlich Steife und maximalem Drehmoment untersucht. Weiterhin wurde radiologisch die Kallusquerschnittsfläche der Femora sowie die Pseudarthroserate bestimmt.

Sechs Wochen post OP zeigte sich eine signifikante statistische Interaktion zwischen Alter und Fixation ( $p < 0,0001$ ). Die torsionale Steife der Gruppe JR war signifikant höher als die der übrigen Gruppen (JS:  $p < 0,001$ ; AR:  $p < 0,001$ ; AS:  $p < 0,001$ ). Weiterhin zeigte Gruppe JS ein signifikant höhere torsionale Steife gegenüber Gruppe AS ( $p = 0,006$ ) und AR ( $p = 0,046$ ). Die Testung des maximalen Drehmomentes zeigte eine signifikante statistische Interaktion beider Variablen ( $p = 0,0002$ ). Weiterhin zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen AR und JS ( $p < 0,001$ ), AS ( $p = 0,046$ ) und JR ( $p < 0,001$ ). Gruppe JR zeigte ein höheres maximales Drehmoment verglichen mit JS ( $p = 0,012$ ) und AS

( $p=0,001$ ). Zum Zwei-Wochen-Zeitpunkt zeigte die Gruppe JR ( $p=0,006$ ) einen signifikant höheren radiologischen Score im Vergleich zu Gruppe JS ( $p=0,05$ ) und AR ( $p=0,009$ ). In Woche sechs post OP ( $p=0,032$ ) fand sich eine signifikant höhere Konsolidierungsrate der Gruppe JS gegenübergestellt Gruppe AS ( $p=0,024$ ) und AR ( $p=0,015$ ) und Gruppe JR gegenübergestellt Gruppe AR ( $p=0,038$ ). Die KQF der Gruppe JS war in der zweiten Woche größer als die der alten Gruppen (AS:  $p=0,025$ ; AR:  $p=0,003$ ). Die KQF der Gruppe JR gegenübergestellt Gruppe JS war signifikant kleiner zum Vier- als auch zum Sechs-Wochen-Zeitpunkt (Woche vier, sechs:  $p=0,002$ ). Der Vergleich mit Gruppe AS zeigte zum Sechs-Wochen-Zeitpunkt ein ähnliches Ergebnis ( $p=0,03$ ).

Diese Studie belegt den maßgeblichen Einfluss des biologischen Alters und der mechanischen Umgebung auf das Ergebnis der Knochendefektheilung. Vor dem Hintergrund der bisher hauptsächlich bei jungen Tieren durchgeführten Versuche zeigt diese Studie, dass bei jungen Individuen optimale Fixationsbedingungen nicht zwangsläufig auf alte Individuen übertragbar sind und so wie hier zu einem inversen Ergebnis führen können. Eine an das biologische Alter angepasste Fixationsstabilität könnte helfen die Pseudarthroserate im klinischen Alltag zu senken und zu einer schnelleren und qualitativ besseren Knochendefektheilung führen.

---

## 6 Schriftenverzeichnis

1. Haas NP. Callusmodulation-Fiktion oder Realität? *Chirurg* 2000;71:987-8.
2. Santavirta S, Takagi M, Gomez-Barrena E, et al. Studies of host response to orthopedic implants and biomaterials. *J Long Term Eff Med Implants* 1999;9:67-76.
3. Zhang XS, Revell PA, Evans SL, et al. In vivo biocompatibility and mechanical study of novel bone-bioactive materials for prosthetic implantation. *J Biomed Mater Res* 1999;46:279-86.
4. Arrington E, Smith W, Chambers H, et al. Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop* 1996;329:300-9.
5. Banwart J, Asher M, Hassanein R. Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity. A statistickak evaluation. *Spine* 1995;20:1055-60.
6. Sprague S, Bhandari M. An economic evaluation of early versus delayed operative treatment in patients with closed tibial shaft fractures. *Arch Orthop Trauma Surg* 2002;122:315-23.
7. Zlowodzki M, Obrebsky WT, Thomison JB, et al. Functional outcome after treatment of lower-extremity nonunions. *The Journal of trauma* 2005;58:312-7.
8. Perka C, Schultz O, Spitzer RS, et al. Segmental bone repair by tissue-engineered periosteal cell transplants with bioresorbable fleece and fibrin scaffolds in rabbits. *Biomaterials* 2000;21:1145-53.
9. Mommsen U, Holzrichter D, Schumpelick V. Frakturen. In: Schumpelick V, Bleese N, Mommsen U, eds. *Kurzlehrbuch Chirurgie*: Georg Thieme; 2004:755-64.
10. Raschke M, Haas NP. Unfallchirurgie. In: Siewert JR, ed. *Chirurgie*: Springer; 2006:773-892.
11. Marti RK, Verhagen RA, Kerkhoffs GM, et al. Proximal tibial varus osteotomy. Indications, technique, and five to twenty-one-year results. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83-A:164-70.
12. Miller BS, Joseph TA, Barry EM, et al. Patient satisfaction after medial opening high tibial osteotomy and microfracture. *J Knee Surg* 2007;20:129-33.
13. Gstottner M, Pedross F, Liebensteiner M, et al. Long-term outcome after high tibial osteotomy. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008;128:111-5.

14. Papavasiliou VA, Papavasiliou AV. Surgical treatment of developmental dysplasia of the hip in the periadolescent period. *J Orthop Sci* 2005;10:15-21.
15. Vallamshetla VR, Mughal E, O'Hara JN. Congenital dislocation of the hip. A reappraisal of the upper age limit for treatment. *J Bone Joint Surg Br* 2006;88:1076-81.
16. Domzalski M, Synder M, Drobniowski M. Long-term outcome of surgical treatment of developmental dysplasia of the hip using the Dega and Salter method of pelvic osteotomy with simultaneous intratrochanteric femoral osteotomy. *Ortop Traumatol Rehabil* 2004;6:44-50.
17. Farfalli GL, Buttaro MA, Piccaluga F. Femoral fractures in revision hip surgeries with impacted bone allograft. *Clin Orthop Relat Res* 2007;462:130-6.
18. Diehl P, Burgkart R, Klier T, et al. Periprothetische Frakturen nach Knieendoprothetik. *Orthopäde* 2006;35:961-74.
19. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998:S7-21.
20. Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma* 2005;19:S4-6.
21. Bak B, Andreassen T. The effect of aging on fracture healing in the rat. *Calcif Tissue Int* 1989;45:292-7.
22. Klein P, Schell H, Streitparth F, et al. The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions. *J Orthop Res* 2003;21:662-9.
23. Willenegger H, Perren S, Schenk R. Primäre und sekundäre Knochenbruchheilung. *Chirurg* 1972;42:241-52.
24. Jundt G. Knochen. In: Böcker W, Denk H, Heinz U, eds. *Pathologie*: Urban & Fischer; 2001:957-82.
25. Karnezis IA. Biomechanical considerations in 'biological' femoral osteosynthesis: an experimental study of the 'bridging' and 'wave' plating techniques. *Arch Orthop Trauma Surg* 2000;120:272-5.
26. Uthoff HK, Poitras P, Backman DS. Internal plate fixation of fractures: short history and recent developments. *J Orthop Sci* 2006;11:118-26.
27. Epari D, Schell H, Bail H, et al. Instability prolongs the chondral phase during bone healing in sheep. *Bone* 2006;38:864-70.
28. Mark H, Bergholm J, Nilsson A, et al. An external fixation method and device to study fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand* 2003;74:476-82.

- 
29. Mark H, Rydevik B. Torsional stiffness in healing fractures: influence of ossification: an experimental study in rats. *Acta Orthop* 2005;76:428-33.
  30. Utvåg S, Korsnes L, Rindal D, et al. Influence of flexible nailing in the later phase of fracture healing: strength and mineralization in rat femora. *J Orthop Sci* 2001;6:576-84.
  31. Utvåg S, Reikerås O. Effects of nail rigidity on fracture healing Strength and mineralisation in rat femoral bone. *Arch Orthop Trauma Surg* 1998;118:7-13.
  32. Iwaki A, Jingushi S, Odo Y, et al. Localisation and quantification od proliferating cells during rat fracture repair: Detection of proliferating cell nuclear antigen by immunohistochemistry. *J Bone Miner Res* 1997;12:96-102.
  33. Rolf C, Ekenman I, Tornqvist H, et al. The anterior stress fracture of the tibia: an atrophic pseudoarthrosis? *Scand J Med Sci Sports* 1997;7:249-52.
  34. Sturmer KM. Pathophysiologie der gestörten Knochenheilung. *Orthopäde* 1996;25:386-93.
  35. Lu C, Miclau T, Hu D, et al. Ischemia leads to delayed union during fracture healing: a mouse model. *J Orthop Res* 2007;25:51-61.
  36. Schweiberer L, Baumgart R, Deiler S. Die biologischen Bedingungen atropher und hypertropher Pseudarthrosen der Schaftknochen. Ursachen und Erscheinungsbild. *Chirurg* 1999;70:1193-201.
  37. Reed AA, Joyner CJ, Brownlow HC, et al. Human atrophic fracture non-unions are not avascular. *J Orthop Res* 2002;20:593-9.
  38. Bosch U, Skutek M, Kasperczyk WJ, et al. Diaphysare Oberarmpseudarthrosen - operative und konservative Behandlung. *Chirurg* 1999;70:1202-8.
  39. Hierholzer C, Sama D, Toro JB, et al. Plate fixation of ununited humeral shaft fractures: effect of type of bone graft on healing. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1442-7.
  40. Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury* 2007;38 Suppl 4:S3-6.
  41. Giannoudis PV, Einhorn TA, Schmidmaier G, et al. The diamond concept--open questions. *Injury* 2008;39 Suppl 2:S5-8.
  42. Lienau J, Schell H, Duda GN, et al. Initial vascularization and tissue differentiation are influenced by fixation stability. *J Orthop Res* 2005;23:639-45.

- 
43. Mora G, Forriol F. Mechanical analysis of the healing of different osteotomies fixed externally. *International orthopaedics* 2000;24:295-8.
  44. Schell H, Epari DR, Kassi JP, et al. The course of bone healing is influenced by the initial shear fixation stability. *J Orthop Res* 2005;23:1022-8.
  45. Yamagishi M, Yoshimura Y. The biomechanics of fracture healing. *J Bone Joint Surg Am* 1955;37-A:1035-68.
  46. Epari DR, Kassi JP, Schell H, et al. Timely fracture-healing requires optimization of axial fixation stability. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:1575-85.
  47. Claes L, Wolf S, Augat P. Mechanische Einflüsse auf die Callusheilung. *Der Chirurg* 2000;71:989-94.
  48. Augat P, Burger J, Schorlemmer S, et al. Shear movement at the fracture site delays healing in a diaphyseal fracture model. *Journal of Orthopaedic Research* 2003;21:1011-7.
  49. Carter DR, Beaupre GS, Giori NJ, et al. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin Orthop Relat Res* 1998:S41-55.
  50. Thompson Z, Miclau T, Hu D, et al. A model for intramembranous ossification during fracture healing. *J Orthop Res* 2002;20:1091-8.
  51. Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P. The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing. *J Orthop Res* 2002;20:1099-105.
  52. Goodship AE, Kenwright J. The influence of induced micromovement upon the healing of experimental tibial fractures. *J Bone Joint Surg Br* 1985;67:650-5.
  53. Kraus KH, Kadiyala S, Wotton H, et al. Critically sized osteo-periosteal femoral defects: a dog model. *J Invest Surg* 1999;12:115-24.
  54. Perren SM. Backgrounds of the technology of internal fixators. *Injury* 2003;34 Suppl 2:B1-3.
  55. Nyssen-Behets C, Duchesne PY, Dhem A. Structural changes with aging in cortical bone of the human tibia. *Gerontology* 1997;43:316-25.
  56. Viljanto J, Kiviluoto H, Paananen M. Remodelling after femoral shaft fracture in children. *Acta Chir Scand* 1975;141:360-5.
  57. Davids JR. Rotational deformity and remodeling after fracture of the femur in children. *Clin Orthop Relat Res* 1994:27-35.

- 
58. von Laer L, Kraus R. Die konservative Behandlung von Frakturen der langen Röhrenknochen im Wachstumsalter. *Unfallchirurg* 2007;110:811-23.
59. Gruber R, Koch H, Doll BA, et al. Fracture healing in the elderly patient. *Exp Gerontol* 2006;41:1080-93.
60. Rauch F, Travers R, Glorieux FH. Intracortical remodeling during human bone development--a histomorphometric study. *Bone* 2007;40:274-80.
61. Meyer RA, Jr., Tsahakis PJ, Martin DF, et al. Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats. *J Orthop Res* 2001;19:428-35.
62. Lu C, Miclau T, Hu D, et al. Cellular basis for age-related changes in fracture repair. *J Orthop Res* 2005;23:1300-7.
63. Battmann A, Battmann A, Jundt G, et al. Endosteal human bone cells (EBC) show age-related activity in vitro. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997;105:98-102.
64. Bergman RJ, Gazit D, Kahn AJ, et al. Age-related changes in osteogenic stem cells in mice. *J Bone Miner Res* 1996;11:568-77.
65. Quarto R, Thomas D, Liang CT. Bone progenitor cell deficits and the age-associated decline in bone repair capacity. *Calcif Tissue Int* 1995;56:123-9.
66. Silbermann M, Weiss A, Reznick AZ, et al. Age-related trend for osteopenia in femurs of female C57BL/6 mice. *Comprehensive gerontology* 1987;1:45-51.
67. Tonna EA, Cronkite EP. The periosteum. Autoradiographic studies on cellular proliferation and transformation utilizing tritiated thymidine. *Clin Orthop Relat Res* 1963;30:218-33.
68. Meyer MH, Meyer RA, Jr. Genes with greater up-regulation in the fracture callus of older rats with delayed healing. *J Orthop Res* 2007;25:488-94.
69. Meyer RA, Jr., Desai BR, Heiner DE, et al. Young, adult, and old rats have similar changes in mRNA expression of many skeletal genes after fracture despite delayed healing with age. *J Orthop Res* 2006;24:1933-44.
70. Schmidmaier G, Wildemann B, Melis B, et al. Development and Characterization of a Standard Closed Tibial Fracture Model in the Rat. *Eur J Trauma* 2004;30:35-42.
71. White AA, 3rd, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am* 1977;59:188-92.

- 
72. Turner CH, Takano Y, Owan I. Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. *J Bone Miner Res* 1995;10:1544-9.
73. Rubin CT, Bain SD, McLeod KJ. Suppression of the osteogenic response in the aging skeleton. *Calcif Tissue Int* 1992;50:306-13.
74. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, et al. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone* 2003;33:919-26.
75. Bloomfield SA, Hogan HA, Delp MD. Decreases in bone blood flow and bone material properties in aging Fischer-344 rats. *Clin Orthop Relat Res* 2002:248-57.
76. Hruza Z, Wachtlova M. Diminution of bone blood flow and capillary network in rats during aging. *Journal of gerontology* 1969;24:315-20.
77. Anderson LD. Treatment of Ununited Fractures of the Long Bones; Compression Plate Fixation and the Effect of Different Types of Internal Fixation on Fracture Healing. *J Bone Joint Surg Am* 1965;47:191-208.
78. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg Br* 1978;60-B:150-62.
79. Mark H, Nilsson A, Nannmark U, et al. Effects of fracture fixation stability on ossification in healing fractures. *Clin Orthop Relat Res* 2004:245-50.
80. Desai BJ, Meyer MH, Porter S, et al. The effect of age on gene expression in adult and juvenile rats following femoral fracture. *J Orthop Trauma* 2003;17:689-98.
81. Ekeland A, Engesoeter LB, Langeland N. Influence of age on mechanical properties of healing fractures and intact bones in rats. *Acta Orthop Scand* 1982;53:527-34.
82. Perren SM. Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing a new balance between stability and biology. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84:1093-110.
83. Klein-Nulend J, Sterck JG, Semeins CM, et al. Donor age and mechanosensitivity of human bone cells. *Osteoporos Int* 2002;13:137-46.
84. Perkins SL, Gibbons R, Kling S, et al. Age-related bone loss in mice is associated with an increased osteoclast progenitor pool. *Bone* 1994;15:65-72.
85. Reeve J, Arlot M, Wootton R, et al. Skeletal blood flow, iliac histomorphometry, and strontium kinetics in osteoporosis: a relationship between blood flow and corrected apposition rate. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1988;66:1124-31.

86. Clarke KA. Differential fore- and hindpaw force transmission in the walking rat. *Physiology & behavior* 1995;58:415-9.
87. Kiebzak GM, Smith R, Howe JC, et al. Bone status of senescent female rats: chemical, morphometric, and biomechanical analyses. *J Bone Miner Res* 1988;3:439-46.

---

## 7 Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Fixateur externe.....	13
Abb.2a, b: Biomechanische Testung des Fixateur externe.....	16
Abb.3a, b: Torsionale Steife des Fixateur externe.....	17
Abb.4a, b: Axiale Steife des Fixateur externe.....	18
Abb.5: Narkoseeinleitung.....	19
Abb.6a-q: Operationssitus und Fixateuranlage .....	21f
Abb.7a, b: Radiologische Aufnahmen Woche 6.....	24
Abb.8: Kallusquerschnittsfläche (KQF) in Prozent des ipsilateralen Femurs.....	31
Abb.9: Torsionale Steife des Kallus in Prozent des kontralateralen Femurs.....	33
Abb.10: Maximales Drehmoment in Prozent des kontralateralen Femurs.....	35

## **8 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 9 Publikationsliste

Strube P, Sentuerk U, Riha T, et al. Influence of age and mechanical stability on bone defect healing: age reverses mechanical effects. *Bone* 2008; 42: 758-64.

## 10 Erklärung

„Ich, Thomas Jan Riha, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss von Alter und biomechanischer Stabilität auf die Knochendefektheilung.“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 20. April 2010

Thomas Jan Riha

## 11 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Allen voran danke ich Herrn Prof. Dr. med. C. Perka dem stellv. Klinikdirektor Campus Charité Mitte, Herrn Univ.-Prof. Dr. med. N.P. Haas, dem Direktor des Centrums für Muskuloskeletale Chirurgie und Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. G.N. Duda dem Leiter des Forschungslabores, an deren Einrichtung ich die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit erhielt.

Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. med. Patrick Strube für das Überlassen des Themas dieser Dissertation sowie für seine überaus kompetente Betreuung bei der Durchführung dieser Studie.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern, meinem Bruder und allen Freunden bedanken, deren Unterstützung und Ermutigung mir bei dieser Arbeit sehr geholfen haben.