

2 Stand des Wissens

2.1 Biologie des Knochens

Knochen gehören zu den härtesten Geweben des Körpers, sie dienen daher u. a. dem Schutz der Weichteile und inneren Organe. Durch die Befestigung von Sehnen und Bändern am Knochen wird die Bewegung ermöglicht. Knochen stellen aber auch ein Reservoir für Kalzium und Phosphor dar, die bei Bedarf freigesetzt und an das Blut abgegeben werden. Trotz seiner Härte und Belastbarkeit ist Knochen kein totes Gewebe, sondern befindet sich vielmehr in einem lebenslangen Auf-, Ab- und Umbau (Remedios, 1999).

2.1.1 Makroskopischer Aufbau des Knochens

Knochen variieren hinsichtlich ihrer Form, Größe und Stärke. Unterschieden werden lange, platte, kurze und unregelmäßige Knochen. Lange Knochen, die auch als Röhrenknochen bezeichnet werden, sind typisch für die Gliedmaßen. Zu ihnen zählen u. a. der Oberarm (Humerus), der Oberschenkel (Femur) oder das Schienbein (Tibia). Röhrenknochen besitzen einen charakteristischen Aufbau (König et al., 2005). Die Enden der Röhrenknochen (Epiphysen) sind verbreitert. Dadurch wird die Belastung, die auf die Oberflächen der Gelenke einwirkt, auf einen größeren Querschnitt verteilt (Trostle et al., 1996). Unterhalb der Epiphyse befindet sich die Metaphyse, die während der Knochenentwicklung als Epiphysenplatte bzw. Epiphysenfuge dem Längenwachstum der Röhrenknochen dient (Junqueira et al., 1996). Zwischen den Metaphysen befindet sich der Knochenschaft (Diaphyse) (Trostle et al., 1996). Der schmale Knochenschaft ist das wichtigste Element für die Tragfähigkeit und Steifigkeit des Knochens (Schweiberer et al., 1999) und wird von einem dichten Knochenmantel (Substantia compacta) begrenzt, der im Inneren des Knochens die Markhöhle einschließt (König et al., 2005). Der Markraum ist unter physiologischen Bedingungen das führende Versorgungskompartiment des Knochens und aufgrund seiner Leichtbauweise ein wichtiges biomechanisches Kompartiment. Der Röhrenknochen könnte ohne den Markraum mit seiner hohen elastischen Verformbarkeit Spitzenbelastungen nicht standhalten (Schweiberer et al., 1999). Die Markhöhle beinhaltet Blut- und Lymphgefäße, rotes Knochenmark und hämatopoetische Zellen (Remedios, 1999). Das Knochenmark wird mit zunehmendem Alter sukzessiv durch gelbes Fettmark ersetzt, das bei Bedarf z. T. in rotes Knochenmark zurückgewandelt werden und somit wieder der Hämatopoese dienen kann (Bucher et al., 1997). Vor allem im stark belasteten diaphysiären Bereich des Knochens

führen ständig wirkende Druck- und Zugkräfte zu einer stark ausgebildeten Substantia compacta, deren Dicke im Bereich der Epiphysen wieder abnimmt (Liebig, 1999). 80% des Skeletts besteht aus kortikalen Knochen, der aufgrund seiner Festigkeit und Dichte die Belastung, die durch das Gewicht auf den Knochen einwirkt, trägt. Kortikaler Knochen besitzt ein geringes Oberflächen-Volumen-Verhältnis (Ng et al., 1997).

In den beiden Epiphysen des Röhrenknochens befindet sich ein inneres Bälkchenwerk (Substantia spongiosa), das ähnlich einem feinporigen, verknöcherten Schwamm aufgebaut ist. Es tritt in der Diaphyse kaum auf (König et al., 2005). Der Verlauf der Spongiosabälkchen ist entsprechend der auf den Knochen von Außen einwirkenden Druck- und Zugspannungen funktionell angepasst (trajektorielle Bauweise). Ebenso wie die zentrale Markhöhle sind die Hohlräume der Substantia spongiosa mit Knochenmark gefüllt (Remedios, 1999). Der spongiöse Knochen besitzt ein großes Oberflächen-Volumen-Verhältnis (Ng et al., 1997).

Die Knochenhaut, das Periost, überzieht den Knochen in Form einer fibro-elastischen Membran (Simon et al., 2003). Ausgenommen sind die Gelenkflächen, Ansätze von Bändern und Sehnen sowie die Sesambeine (Remedios, 1999; Simon et al., 2003).

Die Knochenhaut dient mit ihrem zweischichtigen Aufbau zum einen der Verankerung von Muskeln, Sehnen und Bändern am Knochen zum anderen ist sie an sämtlichen Knochenumbauvorgängen, wie z. B. der Bildung eines knorpeligen oder knöchernen Kallus, beteiligt (Junqueira et al., 1996; Malizos et al., 2005).

Das Endost besteht aus abgeflachten fibroblastenähnlichen Vorläuferzellen, die die gesamte innere Oberfläche des Knochens bedecken. Diese Zellen befinden sich auch auf den Spongiosabälkchen (Webb et al., 2000). Das Endost besitzt, ebenso wie das Periost, eine osteogene Potenz, es ist also ebenfalls in der Lage, Knochengewebe neu zu bilden (Junqueira et al., 1996).

2.1.2 Mikroskopischer Aufbau des Knochens

Nach Trostle et al. (1996) besteht das Knochengewebe zu 71 % aus anorganischen, zu 21 % aus organischen Material und zu 8 % aus Wasser. Die Matrix verleiht dem knöchernen Gewebe seine mechanischen Eigenschaften, sie bindet Zellen und beeinflusst deren Proliferation und Differenzierung (Schweiberer et al., 1999). Die anorganische Matrix beinhaltet v. a. Phosphor (50%) und Kalzium (35%), die in Form von Hydroxyapatit gebunden vorliegen (Remedios, 1999; Webb et al., 2000). Den restlichen Anteil an der anorganischen Grundsubstanz haben Zitrat, Karbonat, Natrium, Magnesium, Fluor und

Spurenelemente (Junqueira et al., 1996). 99 % des Gesamtkalziums und 88 % des gesamten Phosphors befinden sich im Knochen (Ng et al., 1997).

Zu den organischen Bestandteilen gehören osteogene Zellen und die extrazelluläre, organische Matrix. Die organische Matrix dient als strukturelles Gerüst für die Anreicherung der anorganischen Kristalle (Remedios, 1999). Sie besteht zu 95 % aus Kollagen, wobei der Kollagen-Typ-I dominiert. Die Fibrillen dieses Kollagentyps setzen sich aus sich wiederholenden Tripeptidketten zusammen, wobei jede aus ca. 1000 Aminosäuren aufgebaut ist. Diese Ketten sind so umeinander gewunden, dass eine Tripel-Helix entsteht (Weiner et al., 1998). Die Zusammensetzung dieses Kollagen-Typs macht den Knochen äußerst stabil gegenüber Spannung. Die restlichen Bestandteile der organischen Matrix stellen von Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen dar, die gemeinsam die Grundsubstanz des Knochens bilden (Remedios, 1999; Trostle et al., 1996).

Die Zellpopulation des Knochens wird von drei Zelltypen gebildet, die für den Knochenumbau verantwortlich sind. Zu diesen Zellen gehören Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten.

Die **Osteoblasten** stammen von undifferenzierten, mesenchymalen Zellen des Knochenmarks, des Endosts und der inneren Schicht des Periosts ab (Remedios, 1999; Webb et al., 2000). Diese Zellen sind in der Lage, sich zu den unmittelbaren Vorläufern der Osteoblasten, den Präosteoblasten oder Osteoprogenitor-Zellen zu differenzieren (Owen, 1970). Osteoblasten liegen meist in einem epithelartigen Verband auf der Oberfläche des Knochens (Amling et al., 1996). Sie sind nicht mehr in der Lage, sich durch Zellteilung zu vermehren (McKibbin, 1978). Es lassen sich aktive und inaktive Osteoblasten unterscheiden. Letztere werden als „bone lining cells“ oder Belegzellen bezeichnet. Man findet sie nur an neu gebildeten knöchernen Oberflächen, nachdem die Knochenbildung abgeschlossen ist. Diese Zellen besitzen einen abgeflachten Zellkörper und stehen mit den Osteoblasten über ihre zytoplasmatischen Ausläufer in Verbindung. Einigen dieser inaktiven Osteoblasten wird die Fähigkeit zugesprochen, sich zu aktiven Osteoblasten umzuwandeln (Noble et al., 2000). Der metabolisch aktive Osteoblast besitzt zahlreiche Organellen, die für eine aktive Proteinsynthese von Bedeutung sind, wie z. B. Golgi-Apparat, raues Endoplasmatisches Retikulum, Ribosomen und Mitochondrien. Diese Zelle gibt die von ihm synthetisierten Kollagene und Proteoglykane in den extrazellulären Raum ab und bildet so die organische, unmineralisierte Knochenmatrix, das Osteoid. Der aktive Osteoblast synthetisiert aber auch das Enzym Alkalische Phosphatase, das essentiell für die Initiation der Mineralisation ist

(Remedios, 1999). Dieses Enzym spaltet Phosphat-Ionen von Phosphorsäureestern ab, die in den sog. Kristallisationskernen abgelagert werden. Hier reichern sich auch bald Kalzium-Ionen an, wobei die Kollagenfibrillen der organischen Matrix das Gerüst für die Ablagerung des Kalziumphosphats darstellen (Bucher et al., 1997; Remedios, 1999). Die Umwandlung der Kalziumsalze in Hydroxyapatit-Kristalle wird wahrscheinlich durch Matrixvesikel beschleunigt, die sich von den Osteoblasten abschnüren (Junqueira et al., 1996). Osteoblasten bilden so pro Tag einen ca. 0,7-1,2 µm breiten Osteoidsaum (Noble et al., 2000).

Etwa 10% der Osteoblasten werden mit Fortschreiten der Mineralisation vollständig von Osteoid umgeben. Die so eingemauerten Zellen werden dann als **Osteozyten** bezeichnet (Bonewald, 2002; Noble et al., 2000; Remedios, 1999). Nach Bonewald (2002) werden diese Zellen entsprechend ihrer Lokalisation und nicht, wie Osteoblasten und Osteoklasten, entsprechend ihrer Funktion definiert. Osteozyten dienen dem Erhalt der knöchernen Matrix und sind an der Kalzium- und Phosphorhomöostase beteiligt (Webb et al., 2000). Diese Zellen ähneln morphologisch Osteoblasten, besitzen aber weniger raues Endoplasmatisches Retikulum und weniger prominente Golgi-Apparate (Remedios, 1999), was auf eine gegenüber den Osteoblasten verminderte Syntheseaktivität hinweist. Der Zelleib der Osteozyten ist flach und mandelförmig (Junqueira et al., 1996). Die einzelnen Osteozyten bewohnen Knochenhöhlen (Lakunen) innerhalb der mineralisierten Knochenmatrix (Noble et al., 2000). Sie besitzen zahlreiche zytoplasmatische Fortsätze, die radiär durch Kanälchen (Canaliculi ossei) innerhalb der Knochenmatrix verlaufen (Remedios, 1999; Trostle et al., 1996). Über diese zytoplasmatischen Fortsätze kommunizieren die Osteozyten zum einen mit anderen Osteozyten und Osteoblasten, zum anderen dienen sie dem Transport von Nährstoffen und Ionen aus der extrazellulären Flüssigkeit in die knöcherne Matrix (Noble et al., 2000; Remedios, 1999; Trostle et al., 1996). Die Osteozyten reagieren auf mechanische Beanspruchung des Knochens. Gehen Osteozyten zugrunde, so wird die benachbarte Matrix abgebaut (Junqueira et al., 1996).

Osteoklasten sind für die Knochenresorption verantwortlich. Ihre Funktion ist im Rahmen des Remodelings eng an die der Osteoblasten gekoppelt. Sie stellen unter den Knochenzellen eine sehr kleine Population dar. Nur etwa ein Prozent der gesamten Knochenoberfläche wird von Osteoklasten bedeckt (Amling et al., 1996). Die Herkunft der Osteoklasten ist umstritten. Sie stammen wahrscheinlich von hämatopoetischen Stammzellen ab und besitzen mit Monozyten/Makrophagen eine gemeinsame Vorläuferzelle. Aus diesen entstehen einkernige

Osteoklastenprogenitor-Zellen, die dann in Kontakt mit Osteoblasten und der Knochenmatrix eine Umwandlung in Präosteoklasten erfahren (Klaushofer et al., 1994). Durch die Fusion einzelner Präosteoklasten entstehen die mehrkernigen (2-10, maximal bis zu 100 Kerne) Osteoklasten. Diese Zellen zeichnen sich durch ein stark basophiles, granuliertes Zytoplasma aus und verfügen über eine Vielzahl von Mitochondrien und Vakuolen, da der Resorptionsvorgang viel Energie benötigt (Amling et al., 1996). Osteoklasten sind große Zellen (20-100 nm) (Remedios, 1999), die in der Lage sind, auf der Knochenoberfläche zu wandern (Amling et al., 1996). Die zahlreichen Lysosomen bilden die Grundlage für die stark positive Reaktion auf Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP-Reaktion), eine Reaktion, die eine histochemische Unterscheidung der Osteoklasten von anderen mehrkernigen Riesenzellen ermöglicht. Zum Zeitpunkt der Resorption liegen sie in Nestern in durch ihre Tätigkeit entstandenen Einbuchtungen der Knochenmatrix, die als Howship-Lakunen bezeichnet werden. Der Knochenabbau findet an spezifischen Resorptionsstrukturen („ruffled border“) des Osteoklasten statt. Es handelt sich dabei um fingerförmige Zellausstülpungen, die der Oberflächenvergrößerung des aktiv resorbierenden Osteoklasten dienen (Remedios, 1999). Durch die Synthese und Sekretion unterschiedlicher Enzymgruppen wird ein breites pH-Wirksamkeitsspektrum garantiert. So löst das saure Milieu der Cysteinprotease, der sauren Phosphatase und der Wasserstoff-Ionen die Hydroxyapatit-Kristalle aus der kollagenen Knochenmatrix. Die übrig bleibenden Kollagenfasern werden durch Kollagenasen und Proteasen abgebaut (Amling et al., 1996). Die Abbauprodukte werden durch Endozytose aufgenommen, intrazellulär transportiert und in die Kapillaren abgegeben (Junqueira et al., 1996; Remedios, 1999).

2.1.3 Knochenformen und ihre Entstehung

Knochengewebe kann auf zwei Arten entstehen: durch Mineralisation der von Osteoblasten sezernierten Matrix (=desmale oder direkte Ossifikation) oder durch den Ersatz von einer knorpeligen Matrix (=chondrale oder indirekte Ossifikation).

Bei beiden Prozessen tritt zunächst Geflechtknochen auf, der dann meist durch Lamellenknochen ersetzt wird.

Die **desmale Ossifikation** beginnt in primären Ossifikationszentren. Dabei entwickeln sich aus undifferenzierten Mesenchymzellen Präosteoblasten, die sich dann zu Osteoblasten differenzieren. Diese Osteoblasten produzieren eine unverkalkte Knochenmatrix, in der die groben, ca. 30 µm dicken Kollagenfasernbündel irregulär angeordnet ist (Trostle et al., 1996

Weiner et al., 1998). Die Knochenmatrix verkalkt innerhalb weniger Tage, was zur Einkapselung einiger Osteoblasten und zur Bildung von Knochenbälkchen führt. Zwischen diesen Bälkchen wachsen Blutgefäße ein, weitere Mesenchymzellen proliferieren und differenzieren sich zu Osteoblasten. Dadurch wächst das Ossifikationszentrum, die Ossifikationszentren eines Knochens verschmelzen schließlich, wodurch sie das ursprüngliche Bindegewebe ersetzen (Junqueira et al., 1996).

Der so entstandenen Bindegewebs- oder Faserknochen wird als **Geflechtknochen** bezeichnet. Er wird im Rahmen der embryonalen Entwicklung und während der Knochenheilung gebildet (Noble et al., 2000; Trostle et al., 1996). Der Geflechtknochen dient, mit Ausnahme an einigen speziellen Lokalisationen, wie z. B. der dentalen Alveole, an Ansatzstellen großer Sehnen und in einigen Bereichen der Schädel- und Gesichtsknochen, als temporäre Struktur, die durch den stabileren Lamellenknochen ersetzt wird (Trostle et al., 1996). Dieser Knochen besitzt im Vergleich zum Lamellenknochen eine größere Anzahl Osteozyten und weniger mineralische Bestandteile. Er ist deshalb flexibler aber mechanisch weniger belastbar als Lamellenknochen (Noble et al., 2000).

Die Röhrenknochen entstehen im Rahmen der **chondralen Ossifikation** aus präformierten Knorpelmodellen, die von einer Verdichtung mesenchymaler Zellen ausgehen. Zunächst bildet sich durch desmale Ossifikation Knochengewebe innerhalb des Perichondriums, das die noch knorpelige Diaphyse umgibt. Durch den als perichondrale Ossifikation bezeichneten Vorgang entsteht ein hohler Knochenzylinder, die Knochenmanschette, die den Knorpel ummantelt. Zu diesem Zeitpunkt wird das Perichondrium als Periost bezeichnet. Die Knochenmanschette schränkt die Ernährung der Chondrozyten durch Diffusion ein, so dass die Chondrozyten zugrunde gehen. Die übrig bleibende Knorpelmatrix verkalkt durch die Einlagerung von Mineralsalzen. In die verkalkte Knorpelmatrix dringen Blutgefäße und mit ihnen Chondroklasten und mesenchymale Stammzellen ein. Die Chondroklasten bauen die Knorpelmatrix ab. Die mesenchymalen Stammzellen lassen sich in unmittelbarer Nähe der Blutgefäße nieder und differenzieren sich zu Osteoblasten. Diese Osteoblasten besiedeln nun die Knorpelmatrix und beginnen mit der Synthese der knöchernen Grundsubstanz. Auf diese Weise kommt es an den Resten der verkalkten Knorpelmatrix zur Bildung von Geflechtknochen. Mit fortschreitender Entwicklung werden Reste der mineralisierten Knorpelmatrix durch Osteoklasten resorbiert.

In der Diaphyse wächst die periostale Knochenmanschette in Richtung der Epiphysen. Gleichzeitig bauen Osteoklasten im Zentrum der Diaphyse Knochengewebe ab, so dass die

Knochenmarkhöhle entsteht. In späteren Entwicklungsstadien entstehen im Zentrum der Epiphysen durch enchondrale Ossifikation sekundärer Ossifikationszentren, die das Längenwachstum ermöglichen. In den Epiphysenfugen proliferieren Chondroblasten. Die von ihnen sezernierte extrazelluläre Matrix wird von beiden Seiten fortwährend durch Knochengewebe ersetzt. Der Schluss der Epiphysenfugen stellt auch den Abschluss des Längenwachstums der Röhrenknochen dar (Junqueira et al., 1996). Die enchondrale Ossifikation findet auch im Rahmen der sekundären Knochenbruchheilung statt, wenn der knorpelige Kallus zunächst durch Geflechtknochen und anschließend durch Lamellenknochen ersetzt wird (Bucher et al., 1997).

Der primitive Geflechtknochen wird beim Menschen schon innerhalb des ersten Lebensjahres, bis auf die oben genannten Ausnahmen, durch den in mechanischer und biologischer Hinsicht höher differenzierten **Lamellenknochen** ersetzt. Diese Knochenart ist die im adulten Organismus am häufigsten auftretende Knochenart (Noble et al., 2000; Weiner et al., 1998). Sie ist die Grundlage der Röhrenknochen sowie der platten und kurzen Knochen.

Die strukturelle Grundeinheit des Lamellenknochens stellt das Osteon dar (Webb et al., 2000), das nach seinen Entdecker, dem englischen Anatom Clapton Havers, auch als Havers-System bezeichnet wird (Weiner et al., 1998). Osteone verlaufen parallel zur longitudinalen Achse des Knochens (Remedios, 1999). Im Zentrum eines jeden Osteons befindet sich ein schmaler Kanal, der auch als Havers-Kanal bezeichnet wird, und Blut- und Lymphgefäße sowie vegetative Nerven enthält.

Um den Zentralkanal sind in konzentrischen Reihen eine unterschiedliche Anzahl Lamellen (Speziallamellen) mineralisierten Knochens angeordnet (Remedios, 1999; Trostle et al., 1996; Webb et al., 2000). Lamellen sind deutlich voneinander abgesetzte Knochenschichten, die durch parallel angeordnete Kollagenfasern und Osteozyten charakterisiert werden. Ihr Dicke beträgt durchschnittlich 3-5 μm (Weiner et al., 1999). Die Kollagenfasern einer jeden Lamelle haben in der Regel einen spiralförmigen Verlauf. Die Verlaufsrichtung und der Steigungswinkel der Kollagenfasern wechseln von Lamelle zu Lamelle. Aus jeder Lamelle scheren einzelne Fasern aus und treten in die benachbarten Lamellen über, so dass ein Lamellenverbund resultiert (Junqueira et al., 1996). Durch diese Konstruktion, die mit der des Sperrholzes verglichen wird (Weiner et al., 1998), resultiert die hohe Festigkeit des Lamellenknochens (Bucher et al., 1997).

Die Anzahl der Speziallamellen schwankt zwischen drei und zwanzig pro Osteon. Diese Schwankung geht auf die Entstehungsweise der Osteone zurück. Der Aufbau eines Osteons

beginnt mit der Bildung der äußeren Lamelle, die deswegen jeweils die älteste ist. Von hier aus bilden sich in Richtung Zentralkanal weitere Lamellen, die diesen einengen (Junqueira et al., 1996). Die Osteozyten liegen zwischen den konzentrisch geschichteten Lamellen in Lakunen und stehen über ihre zytoplasmatischen Ausläufer, die in den Canaliculi ossei radiär durch die Knochenmatrix verlaufen, untereinander und mit dem Zentralkanal in Verbindung. Auf diese Weise wird der Stofftransport aus dem Havers-Kanal zu jeder Stelle der Knochenmatrix ermöglicht (Remedios, 1999; Trostle et al., 1996; Webb et al., 2000). Die Havers-Gefäße haben über quer durch Osteone verlaufende Gefäße, den Volkmann-Gefäßen, Zugang zu den Gefäßen der inneren und äußeren Knochenhaut (Junqueira et al., 1996). In der Peripherie werden die einzelnen Osteone voneinander durch die Zementlinie getrennt. Diese besteht v. a. aus Glykosaminoglykanen und stellt die Schwachstelle der Mikroarchitektur des Knochens dar (Trostle et al., 1996).

Im Rahmen des lebenslangen, kontinuierlichen Knochenumbaus werden einzelne Osteone, die keine funktionelle Aufgabe mehr besitzen, abgebaut und durch neue Osteone ersetzt. Die Bruchstücke (Schaltlamellen) dieser teilweise abgebauten Lamellensysteme liegen zwischen den intakten Osteonen. Die den Knochen unter der inneren und äußeren Oberfläche als Ganzes umfassenden Lamellen werden als innere Generallamelle, die dem Endost unmittelbar anliegt, und als äußere Generallamelle, die dem Periost unmittelbar anliegt, bezeichnet (Bucher et al., 1997; Junqueira et al., 1996).

Die Beschreibung der **Blutversorgung** langer Knochen orientiert sich weniger an den anatomischen Gegebenheiten, sondern viel mehr an der Funktion der Blutgefäße. So werden ein afferentes (arterielles), ein efferentes (venöses) und ein zwischengeschaltetes (intermediäres) System unterschieden (Rhineland, 1974).

Das afferente Blutsystem besteht aus einer nutritiven Arterie, aus den proximalen und distalen metaphysiären Arterien und den periostalen Arteriolen (Remedios, 1999). Die nutritive Arterie (A. nutritiva) durchdringt den Kortex der Diaphyse und gelangt so in den Markraum des Knochens. Hier teilt sie sich in auf- und absteigende Arterien, die sich erneut in kleinere Arteriolen aufzweigen. Diese nutritiven Arteriolen durchbrechen erneut den Kortex und speisen die Gefäße der Havers-Systeme. Auf diese Weise werden die inneren zwei Drittel des diaphysären Kortex arteriell versorgt (Remedios, 1999). Die zahlreichen metaphysealen Arterien durchbrechen die Knochenmanschette am proximalen und distalen Enden der langen Knochen, um sich in der Markhöhle mit den terminalen medullären Arteriolen zu vereinigen (Rhineland, 1974). Im gesunden Knochen besitzen die metaphysealen Arterien an der

afferenten Blutversorgung des Knochens keinen großen Anteil (Remedios, 1999). Ihre Bedeutung steigt aber, wenn im Zuge einer Fraktur oder aufgrund einer notwendigen Frakturversorgung die nutritive Arterie und ihre Zweige zerstört wurden. In diesem Fall halten die metaphysealen Arterien die kortikale Blutversorgung aufrecht (Rhineland, 1974). Der Kortex unreifer Individuen wird durch die periostalen Arteriolen großzügig versorgt. Diese Gefäße tragen entscheidend zum appositionellen Knochenwachstum bei. Mit zunehmender Reife atrophieren die Arteriolen und berühren die knöchernen Oberfläche nur noch an den Bereichen, die mit Fascien oder Bändern in Kontakt stehen (Remedios, 1999; Rhineland, 1974). Die periostalen Arteriolen versorgen das äußere Drittel des reifen Kortex (Rhineland, 1974).

Das efferente System transportiert das venöse Blut in externe Richtung. Innerhalb der Markhöhle münden dabei Venolen in größere Venen, die sich zu einer zentralen Markvene vereinigen. In der Kortikalis anastomosieren kortikale Venolen mit periostalen Venolen, die das Blut an die systemische Zirkulation abgeben (Rhineland, 1974). Markraum und Kortikalis werden so getrennt entsorgt (Remedios, 1999). Der Verlust der venösen Drainage führt unter Umständen zu Störungen der Durchblutung des Knochens (Schweiberer et al., 1999).

Innerhalb des kortikalen Knochens verlaufen die dem afferenten und efferenten System zwischengeschalteten Gefäße in knöchernen Kanälen, den Havers- und Volkmann-Kanälen. Den Haverschen Kanälen obliegt die Versorgung der Osteozyten. Eine Obliteration der Haverschen Gefäße hat eine Nekrose und nachfolgende Autolyse sämtlicher Osteozyten des betreffenden Osteons zur Folge (Schweiberer et al., 1999). Das Kaliber der Kanäle richtet sich dabei nach der Größe der Gefäße (Remedios, 1999).

Der Blutfluss verläuft im intakten Knochen zentrifugal, d. h. von der Markhöhle in Richtung Periost (Rhineland, 1974). Im Rahmen der Knochenheilung kommt es durch die frakturbedingte Unterbrechung der medullären A. nutritiva jedoch zu einer Flussumkehr, der Blutfluss ist zentripetal orientiert (Braun et al., 1996). Periostale Gefäße übernehmen nun die Hauptversorgung des Knochens (Rhineland, 1974).

2.2 Physiologie der Frakturheilung

Die Frakturheilung stellt einen sehr komplexen Vorgang dar, der eine Serie von zellulären und biomechanischen Ereignissen umfasst, so dass das neu gebildete Gewebe in eine biomechanisch kompetente Struktur umgewandelt wird (Klaushofer et al., 1994). Dabei

resultiert die Frakturheilung, im Gegensatz zu Reparationsvorgängen anderer Gewebe, nicht in der Bildung einer Narbe, sondern in der kompletten Rekonstruktion der ursprünglichen Struktur und Funktion des Knochens (McKibbin, 1978; Trostle et al., 1996). Braun und Mitarbeiter (1996) sprechen deshalb von einer „Knochenregeneration“. Einhorn (1998b) geht davon aus, dass eine komplette Regeneration der ursprünglichen Anatomie nur bei Kindern möglich ist, bei Adulten der neu gebildete Knochen dennoch eine mechanisch stabile lamelläre Struktur aufweist.

2.2.1 Primäre und sekundäre Frakturheilung

Die Vereinigung der Frakturfragmente kann direkt oder indirekt erfolgen (Trostle et al., 1996). In Anlehnung an die Wundheilung haben sich die Begriffe der „primären“ und „sekundären“ Knochenheilung gefestigt. Die primäre Knochenheilung ist durch das Fehlen eines sichtbaren Kallus und von intermediär auftretendem Bindegewebe und Faserknorpel im Frakturspalt gekennzeichnet. Diese lassen sich hingegen im Zuge der sekundären Knochenheilung radiologisch und histologisch darstellen (Rhineland, 1974; Schenk, 1975; Willenegger et al., 1971). Ein weiteres Kriterium der primären Knochenheilung ist das Fehlen formverändernder Resorptionsvorgänge an den Frakturenden (Willenegger et al., 1971).

Primäre Frakturheilung

Stürmer (1996) bezeichnet die primäre Knochenheilung als Kunstform der Heilung. Diese kann nur stattfinden, wenn die anatomische Ausrichtung der Fraktur exakt ist, d. h. wenn die Frakturfragmente durch geeignete Osteosynthesen direkten Kontakt aufweisen, die Fixation rigide und die Blutversorgung intakt ist (Braun et al., 1996; Rhineland, 1974; Trostle et al., 1996). Bei dieser Art der Knochenheilung werden die Entzündungs- und Granulationsphase sowie die Phase der Kallusbildung und -härtung übersprungen, allerdings unter Verzicht auf die physiologischerweise in diesen Heilungsabschnitten allmählich entstehende Stabilität (Rüter et al., 1999). Da die Heilungsvorgänge fast ausschließlich in der Kortikalis ablaufen, wird diese Form der Knochenheilung auch als kortikale Heilung bezeichnet. Selbst unter besonders günstigen Bedingungen lässt sich aber nie ein über die gesamte Querschnittsfläche der Frakturenden ausgedehnter Flächenkontakt erreichen. Es bleiben immer leicht klaffende Spalten, so dass Kontaktzonen und Spalträume nebeneinander auftreten. Diese Inkongruenzen haben zur Folge, dass die primäre Knochenheilung histologisch in zwei Modifikationen abläuft, die als Spaltheilung und als Kontaktheilung bezeichnet werden (Schenk, 1975). Bei

der Kontaktheilung verhindert der direkte Flächenkontakt der Kortikalis das Eindringen von Blutgefäßen und Gewebeelementen in den Frakturspalt. Die Knochenregeneration erfolgt über longitudinal gerichtete Osteone (Willenegger et al., 1971). Dabei bohren kegelförmig angeordnete Osteoklasten einen Knochenkanal in das benachbarte Fragment („cutter-heads“, „cutting cones“). Den Osteoklasten folgen unmittelbar Kapillaren und Osteoblasten-Vorläuferzellen, die sich zu Osteoblasten differenzieren. Die Osteoblasten reihen sich entlang des Resorptionskanals auf und füllen den Kanal mit neuen Knochenlamellen auf. Die regenerierenden Osteone durchwandern die kortikalen Kontaktflächen nach Art einer gegenseitigen Verzapfung (Braun et al., 1996; Willenegger et al., 1971).

Liegt zwischen den Fragmentenden ein Spalt von weniger als 0,5 mm, so sprießen in der ersten Phase der Spaltheilung zunächst Kapillaren aus dem Endost und dem Periost in den interfragmentären Spalt. Diese werden von perivaskulären Zellen begleitet, die sich zum Teil zu Osteoblasten differenzieren. Das so den Frakturspalt ausfüllende Regenerat verbindet zwar die Fragmentenden, entspricht aber noch nicht dem ursprünglichen Aufbau der Kortikalis. Osteoblasten lagern direkt Lamellenknochen in osteonaler Form ab (Schenk, 1975). Diese Osteone sind zunächst noch longitudinal zum Frakturspalt ausgerichtet (Rhineland, 1974). Die zweite Phase der Spaltheilung erfolgt im Prinzip analog zur Kontaktheilung. Sie wird durch eine Aktivierung des intrakortikalen Haverschen Umbaus eingeleitet und geht zunächst von intakt gebliebenen Zellpopulationen und Gefäßen innerhalb der Haverschen Kanäle und von Resorptionskanälen aus. Diese werden ausgehend vom Periost und von der Markhöhle in die Kortikalis vorgetrieben. Dabei drängen Osteone in Längsrichtung durch die devitalisierten Fragmentenden vor, durchbohren den im Frakturspalt gebildeten Lamellenknochen und stellen so sukzessiv eine in ihrem Aufbau dem ursprünglichen Zustand entsprechende Kortikalis wieder her. Auch bei der Spaltheilung tritt kein endostaler und periostaler Kallus auf (Schenk, 1975). Die primäre Knochenheilung stellt dabei keinen gezielten Regenerationsmechanismus dar, sondern ist Teil des normalen Knochenumbaus, der zeitlebens im gesamten Skelett stattfindet (McKibbin, 1978). Stürmer (1996) bezeichnet ihn sogar als „Abfallprodukt des Haversschen-Umbaus“.

Sekundäre Frakturheilung

Die primäre Knochenheilung, als Kunstform der Frakturreinigung, findet nur selten statt, die meisten Frakturen heilen sekundär (Einhorn, 1998b). Diese hat im Tierreich eine oft lebensrettende Funktion. So hat sie sich im Laufe der Evolution ein üppig ausgestatteter

Reparationsmechanismus etabliert (Stürmer, 1996). Sekundäre Knochenheilung tritt bei Frakturspaltbreiten von mehr als 0,5 Millimetern auf (Klaushofer et al., 1994).

Das für die indirekte Knochenheilung charakteristische Ereignis der Kallusbildung findet periostal, endostal und interfragmentär statt. Auch das umliegende Weichgewebe besitzt einen entscheidenden Anteil an der Heilung des Knochens (Einhorn, 1998b). Einhorn (1998b) bezeichnet die Reaktionen des Periosts als die wohl wichtigsten während der Knochenheilung. Der periostale Kallus ist dabei in der Lage, auch Frakturspalten, dessen Ausmaße größer als die Hälfte des Knochendurchmessers sind, schnell zu überbrücken (McKibbin, 1978). In Bereichen, die sich in einiger Entfernung zum Frakturspalt befinden, bilden sich im Rahmen der intramembranösen (desmalen) Ossifikation ohne eine knorpelige Zwischenstufe direkt Knochen (McKibbin, 1978). In unmittelbar der Fraktur anliegenden Gebieten wird zunächst im Zuge der enchondrale Ossifikation Knorpel gebildet, der mineralisiert und anschließend durch Knochen ersetzt wird (Einhorn, 1998b).

Anhand des mikroskopischen Bildes lässt sie die sekundäre Knochenheilung in mindestens drei Phasen beschreiben: 1. Entzündungsphase/Inflammatorische Phase, 2. Phase der Kallusbildung und 3. Phase des Remodellings (Cruess et al., 1975; McKibbin, 1978; Simmons, 1985). Braun und Kollegen (1996), Frost (1998a) sowie Klaushofer und Mitarbeiter (1994) unterscheiden sogar fünf Phasen. Sie betrachten die Gewebsschädigung, also die Fraktur selbst, als die der Inflammation vorangestellte Phase. Auch untergliedern sie die Kallusbildung in eine Phase der Bildung des weichen Kallus, gefolgt von der Phase der Bildung des harten Kallus. Die Phasen der sekundären Knochenheilung finden dabei nicht nacheinander statt, vielmehr handelt es sich um zum Teil überlappende Ereignisse, die sogar zusammenwirken (Cruess et al., 1975; Remedios, 1999).

Die im Zeitraum von Sekundenbruchteilen ablaufende **Phase der Fraktur** dauert vom Eintritt der Gewalteinwirkung bis zu dem Moment, an dem die gesamte Energie durch den hierbei brechenden Knochen und das umgebene Gewebe aufgenommen ist. Bei diesem Vorgang werden individuell Form, Schwere und Ausmaß der Fraktur festgelegt (Braun et al., 1996).

Die **Entzündungsphase** beginnt unmittelbar nach dem Auftreten der Fraktur (Remedios, 1999, Brighton, 1984) und dauert nach Braun et al. (1996) sowie Brighton (1984) ein bis drei Tage, nach Simmons (1985) fünf Tage und nach Klaushofer und Kollegen (1994) sogar bis zu sieben Tage an.

Die Fraktur bedingt eine Zerstörung zahlreicher Blutgefäße des betroffenen Knochens und der umgebenden Weichteile, einschließlich des Periosts und der umliegenden Muskulatur (Cruess et al., 1975). Als Folge kommt es zu Blutungen in das Frakturgebiet und den umliegenden Weichteilen mit daraus resultierender Bildung eines Hämatoms (McKibbin, 1978, Rhinelander, 1974). Aber nicht nur die Gefäße, sondern auch die Kanalikuli der unmittelbaren Enden der Knochenfragmente werden zerstört (Remedios, 1999). Die Unterbrechung der Blutversorgung und die Schädigung der Kanalikuli haben weitreichende Folgen (Cruess et al., 1975): Osteozyten werden von ihrer Versorgung abgeschlossen und sterben ab. Aus den geschädigten Osteozyten werden lysosomale Enzyme frei, die zur Degeneration der organischen Matrix beitragen. Auch die Frakturrenden werden nekrotisch. Die als Folge der Fraktur entstandenen Gewebstrümmer der Kortikalis, des Knochenmarks, des Endosts, des Periosts und der Weichteile lösen die akute inflammatorische Reaktion aus. Dabei überfluten Akute-Phase-Proteine das Frakturgebiet. Diese Proteine, wie Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-6 (IL-6), aktivieren proteolytische Enzymkaskaden, die die Entzündungsreaktion verstärken und die Koagulation fördern (Remedios, 1999).

Die ersten Zellen, die im Frakturgebiet erscheinen, sind, neben den durch die Blutung bedingte Erythrozyten, Thrombozyten. Durch die Schädigung des Endothels der Gefäße werden die Kollagene IV und V des Subendothels freigelegt, an welche sich die Thrombozyten über den Van-Willebrand-Faktor (Faktor VIII der Gerinnungskaskade) anlagern. Diese Interaktion induziert die Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten (Probst et al., 1997).

Die Thrombozyten stabilisieren das Frakturhämatom (Webb et al., 2000) und entlassen während ihrer Aggregation und der Bildung eines Gerinnungsthrombus die molekulare Mediatoren „platelet-derived-growth-factor“ (PDGF) und „transforming-growth-factor- β “ (TGF- β), die als erste Signale an reparative Zellen gerichtet sind. Diese chemotaktisch wirkenden Faktoren vermitteln die Migration von Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und Osteoblasten in das Frakturgebiet (Probst et al., 1997). Die genannten Mediatoren sind aber auch während des gesamten Heilungsprozesses in Chondrozyten und Osteoblasten präsent, sie beeinflussen die Knorpel- und Knochenbildung (Marsh et al., 1999).

Als Antwort auf eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren bilden Endothelzellen der postkapillären Venolen und der Mikrozirkulation Leukozyten-spezifische Adhäsionsmoleküle. Diese Moleküle vermitteln die Anheftung der sich im Blutstrom befindenden Leukozyten an die Gefäßwand. Diese Anheftung führt dazu, dass Leukozyten in

der Nähe chemotaktisch wirksamen Mediatoren die Wände der Blutgefäße penetrieren und sich in das Wundgewebe begeben. Neutrophile Granulozyten sind dabei die ersten Leukozyten des Blutes, die in den Frakturbereich eindringen (Brighton, 1984; Probst et al., 1997). Diese sind gemäß Trostle und Mitarbeiter (1996) für die Bekämpfung eingedrungener Bakterien essentiell, nicht jedoch für den weiteren Heilungsverlauf. Webb und Kollegen (2000) sehen in der Hauptfunktion der neutrophilen Granulozyten jedoch die Sekretion zahlreicher Zytokine, die in der Frühphase der Frakturheilung als Regulatoren der Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Zellen dienen.

Unmittelbar nach den Leukozyten verlassen Monozyten die Zirkulation und migrieren in das Frakturgebiet, wo sie sich zu Makrophagen differenzieren. Sie entfernen gemeinsam mit Lymphozyten Zelldetritus sowie Bakterien und sezernieren unter den im Frakturgebiet herrschenden hypoxischen Bedingungen für die Knochenheilung essentielle Angiogenesestimulierende Faktoren (Probst et al., 1997; Remedios, 1999; Trostle et al., 1996).

Durch die Proliferation osteogener Vorläuferzellen kommt es zu einer Verdickung des Periosts (Tonna et al., 1963). Ausgeschlossen von der gesteigerten Proliferation sind jedoch die Frakturende, da diese durch die Fraktur-bedingte Unterbrechung der Blutzufuhr und der Zerstörung der Kanalikuli der Nekrose unterliegen. Sie haben nur eine passive Rolle in der Knochenheilung, der eigentlich überbrückende Prozess findet im gesunden Bereich des Knochens statt (McKibbin, 1978).

Das Frakturhämatom dient nicht nur als wichtigste Quelle für Zytokine während der frühen Heilungsphase (Trostle et al., 1996), sondern verleiht der Fraktur durch die Verbindung der Bruchenden durch Fibrinfäden in dieser mechanisch empfindlichen Phase ein gewisses Maß an Stabilität (Bucher et al., 1997). Hulth (1989) bezeichnet die molekulare Aktivität des Frakturhämatoms als den ausschlaggebenden Faktor für die Knochenheilung.

Der anfangs im Hämatom herrschende niedrige pH-Wert dient als zusätzlicher Anreiz für die zelluläre Proliferation und Differenzierung (Cruess et al., 1975). Im weiteren Heilungsverlauf nimmt der pH-Wert alkalische Werte an. Diese Alkalisierung ist für den Prozess der Kalzifizierung bedeutungsvoll, da die für die Mineralisierung erforderlichen Enzymsysteme ihr optimales Wirkungsspektrum im alkalischen Bereich besitzen (Penning, 1990).

Wie alle reparativen Vorgänge ist auch die Knochenheilung ein sehr stoffwechselaktiver Prozess, der an die Neubildung von Gefäßen gebunden ist (Stürmer, 1996). Die Proliferation vaskulärer Zellen stellt im adulten Organismus ein relativ seltenes Ereignis dar. Es tritt

lediglich im Rahmen des weiblichen Menstruationszyklus, der Tumorgenese und der Wundheilung auf (Glowacki, 1998).

Vaskularisierung ist neben der Frakturstabilisierung der entscheidende Faktor für die Regeneration des verletzten Knochens. Das wird umso deutlicher, da devaskularisierter Knochen erst revaskularisiert bzw. durch neuen Knochen ersetzt werden muss, bevor er überhaupt am Heilungsprozess teilnehmen kann (Rhineland, 1974).

Aus unverletzt gebliebenen Gefäßen sprießen Endothelzellen entsprechend des angiogenen Stimulus' in den Frakturbereich und bilden so sukzessiv neue Kapillaren (Glowacki, 1998). Dabei dienen die Fibrinfäden des Frakturhämatoms als Leitstruktur für den Verlauf dieser Kapillaren (Cruess et al., 1975). Die neu gebildeten Gefäße entstammen entweder aus dem Periost und den Muskelansätzen oder aus dem Markraum. Ist eine dieser Quellen geschädigt, so kann die andere diese teilweise kompensieren. Ersatzweise findet die Revaskularisierung auch durch langsamen Haverschen Umbau statt (Stürmer, 1996).

Proliferierende extraossäre Arterien und Arteriolen versorgen dabei v. a. initial, also in der Frühphase, den periostalen Kallus und nachfolgend nekrotische Bereiche des Kortex, die aufgrund der frakturbedingten Zerstörung der medullären Gefäße von einer suffizienten Blutversorgung isoliert sind. Die Blutversorgung aus den umliegenden Weichteilen stellt allerdings nur ein temporäres Ereignis dar. Sie schwächt im Verlauf der Heilung ab und verschwindet schließlich, sobald die medullären Gefäße vollständig regeneriert sind. (Rhineland, 1974).

Die zunehmende Vaskularisierung verbessert nicht nur die Sauerstoffversorgung der ortsständigen Zellen, sondern bringt zusätzlich zahlreiche weitere Zellen in das Frakturgebiet. Diese Zellen stammen nicht nur aus dem zirkulierenden Blut, sondern gehen auch aus dem Gefäßendothel selbst hervor (Braun et al., 1996).

Im weiteren Verlauf der ersten Heilungsphase dringen Fibroblasten, die durch Mediatoren angelockt werden, in das Frakturhämatom ein. Diese Zellen beginnen mit der Bildung von Kollagen, so dass das Frakturhämatom schrittweise organisiert und die zweite Phase der Frakturheilung, die Granulationsphase oder **Phase des weichen Kallus**, schleichend eingeleitet wird (McKibbin, 1978).

Die im Hämatom auftretenden Makrophagen bauen Fibrinfäden ab, Osteoklasten beginnen mit der Entfernung nekrotischen Knochengewebes (Remedios, 1999). Das entstandene Granulationsgewebe, bestehend aus Entzündungszellen, Fibroblasten und Kollagenfasern (Brighton, 1984), wird von weiteren Kapillaren durchsetzt (Braun et al., 1996). Die

gesteigerte Angiogenese erreicht etwa 2 Wochen nach der Fraktur mit Werten von bis zum 6-fachen der Norm ihren Höhepunkt. Bereits in dieser frühen Phase finden sich zwischen den Kollagenfibrillen Mineraldepots (Braun et al., 1996).

Das charakteristische Ereignis der Granulationsphase stellt, neben der verstärkten Vaskularisierung, die intensive Proliferation und Einwanderung mesenchymaler Zellen in das Frakturgebiet dar. Diese Zellen entstammen sowohl aus dem Endost als auch aus dem Periost. Die pluripotenten mesenchymale Vorläuferzellen differenzieren sich, je nach mechanischer Situation, Sauerstoffspannung und Größe des Spaltes, zu Fibroblasten, Chondroblasten oder Osteoblasten. Eine niedrige Sauerstoffspannung, bedingt durch eine limitierte Gefäßversorgung, und eine erhöhte Kompression führen zur Entstehung von Knorpel, wohingegen sich bei höherer Sauerstoffspannung Bindegewebe bildet (Remedios, 1999; Cruess et al., 1975). Sowohl das faserige Bindegewebe als auch der Faserknorpel werden schrittweise zu Faserknochen nach Art eines dreidimensionalen Geflechtes (Geflechtknochen) ersetzt (Willenegger et al., 1971).

Bereits in den ersten Tagen nach einer Fraktur bildet sich subperiostal an der Oberfläche der Diaphyse in konzentrischer Auflagerung ein Gerüst aus Geflechtknochen, das in Richtung Fraktur an Dicke zunimmt. Dadurch wird das Stratum fibrosum des Periosts mantelförmig abgehoben (Willenegger et al., 1971). Dieser Knochen wird direkt durch Osteoblasten der Cambiumschicht des Periosts via intramembranösen Ossifikation gebildet (Webb et al., 2000).

Da Knorpel nicht so stark wie Knochen an die Anwesenheit von Blutgefäßen gebunden ist, tritt er v. a. in Bereichen erhöhter Beweglichkeit auf. Das betrifft überwiegend Bereiche in direkter Nachbarschaft des Frakturspaltes, da hier auftretende Kräfte die neu entstandenen zarten Blutgefäße und zarten Knochen trabekel immer wieder zerstören würden (Simmons, 1985; Owen, 1970). Knorpel stellt somit das geeignete Material für die Überbrückung des Frakturspaltes dar, da er weniger von der Sauerstoffversorgung abhängig ist als Knochen. Er überbrückt temporär die Fraktur, bis die Blutversorgung des interfragmentären Gewebes durch Erhöhung der Steifigkeit des Kallusgewebes gesichert ist (McKibbin, 1978). Der dominierende Kollagen-Typ während dieser Phase ist der von den Chondrozyten synthetisierte Kollagen-Typ-II (Einhorn, 1998b).

Die Phase der Bildung des weichen Kallus umfasst einen Zeitraum von zwei (Braun et al., 1996; Frost, 1989; Klaushofer et al., 1994) bis drei Wochen (Brighton, 1984) und endet, wenn die Frakturrenden über Bindegewebe oder Knorpel verbunden sind (Brighton, 1984).

Um eine ausreichende Stabilisierung der Fraktur zu gewährleisten, wird das Kallusgewebe durch Einlagerung von Kalksalzen mineralisiert (Schebitz et al., 1993). Der Beginn der Mineralisation leitet die **Phase des harten Kallus** ein und dauert beim Menschen etwa drei bis vier Monate (Braun et al., 1996).

Dieser Prozess geht von hypertrophen Chondrozyten innerhalb des noch weichen Kallus aus (Webb et al., 2000). Während sich die Chondrozyten vergrößern, entlassen sie Proteasen und Phosphatasen aus ihren intrazellulären Vesikeln in die extrazelluläre Matrix. Die in der Matrix vorhandenen Phosphationen werden durch die Phosphatase und durch eine lokale Phosphodiesterase gespalten. Die gelösten Phosphationen präzipitieren anschließend mit Kalziumionen zu Mineralsalzen (Einhorn, 1998b; Webb et al., 2000). Die Kalziumionen stammen aus Chondroblasten und Chondrozyten, die im sauerstoffarmen Milieu des Knorpels im Rahmen der anaeroben Glykolyse ihr mitochondrial gespeichertes Kalzium abgeben (Braun et al., 1996). Die von der mineralisierten knorpeligen Matrix eingeschlossenen Chondrozyten unterliegen im Laufe dieser Vorgänge der Apoptose (Einhorn, 1998b).

Der mineralisierte knorpelige Kallus umhüllt die Knochenenden, und erhöht damit die Stabilität zwischen den Frakturfragmenten (Remedios, 1999), so dass neu gebildete Gefäße den Frakturspalt überbrücken können (Marsh et al., 1999). In den Verknöcherungszonen, die in Bereichen des faserigem Bindegewebes liegen, treten in enger Anlehnung an den Gefäßverlauf zwischen den kollagenen Fasern Osteoblasten auf, die Osteoid bilden, welches anschließend verkalkt (Willenegger et al., 1971). Die zunehmende Mineralisation der zwischen den Kollagenfasern gelegenen Grundsubstanz und des vorhandenen Knorpelgewebes führt zur „Aushärtung“ des Kallusgewebes (Braun et al., 1996). Der mineralisierte Kallus ist nun röntgenologisch darstellbar (Simmons, 1985).

Der knöcherne Ersatz des Faserknorpels findet im Rahmen der enchondralen Ossifikation statt. Diese wird durch die Ausbildung von Gefäßkanälen eingeleitet. In den mineralisierten Knorpel dringen Blutgefäße, Chondroklasten, Osteoklasten und mesenchymale Vorläuferzellen ein (Willenegger et al., 1971). Letztgenannte differenzieren sich zu Osteoblasten. Chondroklasten und Osteoklasten beginnen mit der Resorption des mineralisierten Knorpels (Probst et al., 1997). Einwachsende Kapillaren sind vor allem periostalen Ursprungs (Hulth, 1989). Die zwischen den vorrückenden Gefäßkanälen verbleibenden Kalkknorpelreste dienen als Gerüst für die Ablagerung von neuem Faserknochen durch Osteoblasten, der später durch Lamellenknochen verstärkt und ersetzt wird (Willenegger et al., 1971).

Der neu gebildete Geflechtknochen toleriert nun eine vorsichtige mechanische Belastung (Klaushofer et al., 1994) und führt klinisch zur Einigung der Fraktur (Marsh et al., 1999). Strukturell unterscheidet er sich jedoch vom ursprünglichen Knochen (Remedios, 1999).

Da sich die Architektur der schnell gebildeten Knochen trabekel nach der Lage der Kapillaren richtet, die der Ernährung dieses Knochens dienen, lässt dieser eine strukturelle und belastungsabhängige Orientierung vermissen (Frost, 1989; Klaushofer et al., 1994). Die knöchernen Trabekel des Geflechtknochens sind dabei irregulär angeordnet und unterschiedlich dick (Probst et al., 1997).

Der Ersatz des primitiven Geflechtknochens durch den höher orientierten Lamellenknochen findet im Rahmen des **Remodelings** statt. Dieser Prozess beginnt bereits innerhalb des mineralisierten Knorpels (Frost, 1989; Remedios, 1999) und schließt den Ersatz dieses Knorpels durch Geflechtknochen ein. Ziel des Remodellings ist die Wiederherstellung der ursprünglichen Knochenstruktur. Dabei wird das Kallusgewebes zwischen der Kompakta im Rahmen des Havers-Remodellings durch aus Lamellenknochen bestehenden sekundären Osteonen ersetzt. Diese werden entsprechend der mechanischen Belastung longitudinal ausgerichtet. Die Kontinuität der Markhöhle wird durch die Entfernung des medullären Kallus restauriert (Frost, 1989). Überschüssige oder schlecht platzierte Knochen trabekel unterliegen dabei der Resorption (Cruess et al., 1975). Die Grundlage dieser Vorgänge bilden so genannten „basic multicellular units“ (BMUs). Sie existieren u. a. unter dem Periost, in den Markräumen und in den Gefäßkanälen. Diese lokalen Einheiten bestehen aus Osteoblasten, Osteoklasten, der diese Zellen umgebenden Interzellulärsubstanz und aus Kapillaren. Zunächst resorbieren Osteoblasten eine bestimmte Menge Knochengewebe, um Raum für nachrückende Kapillaren zu schaffen. Perivaskulär auftretende Osteoblasten lagern anschließend vitalen Lamellenknochen in die entstandene Knochenlücke ab, so dass neue Osteone entstehen (Braun et al., 1996; Frost, 1989; Klaushofer et al., 1994). Die Vorgänge in den BMUs (Aktivierung, Resorption, Neubildung) laufen dabei zyklisch und stereotypisch ab und umfassen einen Zeitraum von drei bis vier Monaten pro BMU (Frost, 1989; Klaushofer et al., 1994). Der vollständige Ersatz des Kallus mit funktionsfähigen Lamellenknochen nimmt einen Zeitraum von ein bis vier Jahren in Anspruch (Frost, 1989).

Das Remodelling wird wahrscheinlich durch elektrische Signale reguliert (Cruess et al., 1975). Diese Signale entstehen durch mechanische Kräfte, die vor allem über die Muskulatur auf den Knochen einwirken. Konvexe Oberflächen besitzen dabei ein für Osteoklasten

stimulierenden elektropositives Potential, konkave Oberflächen wirken hingegen durch ihr elektronegatives Potential für Osteoblasten attraktiv. Demzufolge finden an konvexen knöchernen Oberflächen resorptive Vorgänge statt, an konkaven Oberflächen wird Knochen abgelagert (Cruess et al., 1975; Trostle et al., 1996). Die Kopplung von Resorption und Knochenneubildung entsprechend der mechanischen Belastung bestimmte die Form des neu gebildeten Knochens. Diese adaptativen Vorgänge bewirken, dass der Knochen nicht immer seine ursprüngliche anatomische Form zurückerhält, er jedoch der jeweiligen mechanischen Situation angepasst wird (Cruess et al., 1975; Probst et al., 1997).

Remodelling auf Basis der BMUs findet jedoch nicht nur während der Knochenheilung, sondern zeitlebens statt, allerdings wesentlich langsamer und in geringerem Umfang (Klaushofer et al., 1994). Durch das so genannte „resorption/ formation coupling“ wird die Form, Struktur und damit die Funktion des Knochens zeitlebens aufrechterhalten. Frakturen oder chirurgische Eingriffe bewirken jedoch eine Beschleunigung der internen Umbauvorgänge. Durch dieses so genannte „regional acceleratory phenomenon“ (RAP) verlaufen die Heilungsstadien etwa zwei-bis zehnmal schneller, als dies bei normalen Umbauvorgängen im nicht geschädigten Knochen zu erwarten wäre. Das Phänomen beginnt bereits wenige Tage nach der Fraktur und bleibt über einen Zeitraum von bis zu etwa 24 Monaten bestehen, wobei nach ein bis zwei Monaten ein Höhepunkt erreicht wird. In kurzer Zeit wird so die mechanische Insuffizienz zumindest so weit korrigiert, dass eine Belastung möglich ist (Frost, 1989; Klaushofer et al., 1994).

Bisher existiert noch keine allgemein gültige Definition, die den Eintritt der Frakturvereinigung (Union) beschreibt. Einhorn (1998a) versteht unter dem Begriff der Union, dass die Heilungsprozesse zur Wiederherstellung der Knochenkontinuität führen.

Histologisch zeigt sich die Frakturereinigung durch die Bildung einer knöchernen Brücke zwischen den Fragmenten. Biomechanisch ist die Einigung der Fraktur erfolgt, wenn die biomechanischen Eigenschaften des harten Knochengewebes wieder hergestellt sind (Aro et al., 1990). Klinische Kriterien für den Eintritt der Union sind sowohl die Abwesenheit von manuell auslösbarer Bewegung und Schmerzen im Frakturbereich als auch die Fähigkeit, die betroffene Extremität ohne Hilfsmittel schmerzfrei voll zu belasten (Gebauer et al., 2005; Heckman et al., 1994; Schmitz et al., 1999). Radiologisch müssen im antero-posterioren sowie im lateralen Strahlengang dargestellt mindestens drei der vier Kortizes durch einen soliden, knöchernen Kallus überbrückt sein. (Audige et al., 2005; Gebauer et al., 2005; Heckman et al., 1994; Schmitz et al., 1999).

2.3 Periost und Knochenheilung

Die Knochenhaut umhüllt als fibro-elastische Membran, mit Ausnahme der Gelenkflächen und Ansatzstellen für Sehnen und Bänder sowie Sesambeine, den gesamten Knochen (Simon et al., 2003). In der Literatur wird das Periost meist als zweischichtiges Gewebe beschrieben (McKibbin, 1978, Malizos et al., 2005). Die zell-, nerven-, und gefäßreiche innere Cambium-Schicht liegt den Knochen unmittelbar auf. Dieser Nervenreichtum macht das Periost zu einem sehr schmerzempfindlichen Gewebe. Wichtigster Bestandteil des Stratum cambium sive osteogenicum sind neben Osteoblasten Progenitorzellen, die sich zu knochen- oder knorpelbildende Zellen differenzieren. Die spindelförmigen Vorläuferzellen finden sich nicht nur periostal sondern residieren auch auf den endostalen Oberflächen (McKibbin, 1978). Die äußere Schicht des Periosts, das Stratum fibrosum, besteht aus straffen, zugfestem Bindegewebe. Die faserige Schicht schützt mit seine visko-elastischen Eigenschaften die darunter liegende Cambiumschicht vor mechanischen Insulten (Ellender et al., 1988). Von hieraus ziehen Kollagenfaserbündel als sog. Sharpey-Fasern zur Knochenoberfläche und verankern das Periost fest mit dem Knochen. Das Stratum fibrosum dient daneben auch der Befestigung von Muskeln, Sehnen und Bändern am Knochen (Webb et al., 2000).

Elektronenmikroskopische lässt sich das Periost in drei Zonen gliedern (Squier et al., 1990). Die dem Knochen direkt aufliegende 10-20 µm dicke Zone besteht hauptsächlich aus Osteoblasten, die beim juvenilen Organismus 90 % der gesamten Zellpopulation dieser Zone ausmachen. Daneben finden sich hier auch fibroblastenähnliche Zellen, bei denen es sich wahrscheinlich um Progenitorzellen handelt. In der darüber liegende Zone dominieren mit je 25 % Fibroblasten und Kollagenfibrillen auch Kapillaren, die 15 % des Volumens dieser Schicht einnehmen. Die dritte Zone weist mit 46 % den höchsten Kollagen-Anteil auf. Fibroblasten sind mit 94 % der dominanteste Zelltyp der dritten Zone. Diese repräsentiert das Stratum fibrosum (Squier et al., 1990).

Mit zunehmender Reifung werden die beiden Schichten des Periosts kompakter. Nach Abschluss des Wachstums flachen die Cambium-Zellen ab und nehmen als ruhende Zellen eine spindelförmige Gestalt an. Das Stratum cambium ist bei Adulten kaum noch sichtbar (Ellender et al., 1988; Tonna et al., 1961). Die Faserschicht des Periosts dagegen wird mit dem Alter dicker (Ellender et al., 1988).

Bereits in den 1960er Jahren konnten Tonna und Mitarbeiter die osteogene Entwicklung von aus dem Periost isolierten Progenitorzellen nachweisen. Ito (2001) nimmt an, dass Osteoblasten und Chondrozyten einen gemeinen Vorläufer im Periost besitzen. Diese Progenitoren werden durch mechanische und chemische Stimuli, wie eine Fraktur oder Entzündung, aktiviert (Kanou et al., 2005).

Die Progenitorzellen der Cambiumschicht besitzen auch *in vitro* ein osteogenes (Arnold et al., 2002, Breitbart et al., 1998, Redlich et al., 1999, Vögelin et al., 2000, Takushima et al., 1998) und ein chondrogenes Potential (Nakahara et al., 1990; Ito et al., 2001). Durch den hohen Gehalt an Vorläuferzellen und die gute Gefäßversorgung besitzt das Periost eine hohe regenerative Potenz (Vögelin et al., 2000). Das wird umso deutlicher, als dass durch die Implantation künstlicher Membranen zwischen Periost und Knochen eine Verzögerung der Knochenheilung nachgewiesen werden kann (Würzler et al., 2000).

Vor allem die im Periost verlaufenden Blutgefäße und residierenden Vorläuferzellen induzieren die initialen Schritte in der Frakturheilung (Einhorn, 1998b; Rhineland, 1974). Bereits 8-12 Stunden nach der Fraktur kommt es zu einer Proliferation osteogener Progenitorzellen in der Cambiumschicht des Periosts (Simmons, 1985). Diese Proliferation erreicht ihren Höhepunkt ca. 24 Stunden nach dem Auftreten der Fraktur (McKibbin, 1978). Li und Mitarbeiter (2002) nehmen an, dass die zelluläre Teilung ihren Höhepunkt 2-8 Tage nach dem traumatischen Ereignis erreicht. Durch die erhöhte Proliferation osteogener Vorläuferzellen kommt es während der Knochenheilung zu einer Verdickung des Periosts (Tonna et al., 1963). Dabei ist die proliferative Aktivität nicht nur auf den betroffenen Knochenabschnitt beschränkt, sondern bezieht das Periost des gesamten Knochens ein und kann sich sogar auf das periostale Gewebe anderer Knochen ausdehnen. Mit zunehmender Entfernung zur Fraktur schwächt diese Reaktion jedoch ab (Li et al., 2002; Simmons, 1985).

Die subperiostal proliferierenden osteogenen Progenitorzellen bilden im Rahmen der desmalen Ossifikation knöchernes Kallusgewebe. In Bereichen höherer Instabilität, explizit in der Umgebung des Osteotomiespaltes, differenzieren sich die im Periost residierenden Vorläufer zu Chondroblasten. Knorpel ist weniger von einer adäquaten Blutversorgung abhängig als Knochen und ist somit das ideale Material zur Überbrückung der Fraktur. Via enchondrale Ossifikation wird der knorpelige Kallus allmählich knöchern ersetzt (Simmons, 1985; Willenegger et al., 1971; Webb et al., 2000).

In Studien, in denen die Knochenhaut entweder thermisch zerstört (Kokubu et al., 2003) oder durch Ablösen vom Knochen entfernt wurde (Takushima et al., 1998; Volpon, 1994), konnte

eine Verzögerung oder ein Ausbleiben der Heilung ermittelt werden. Wird das Periost zerstört, so kommt es zur interfragmentären Infiltration von fibrösem Gewebe. Eine knöcherne Konsolidierung der Fraktur und damit erfolgreiche Heilung unterbleibt (Macnab et al., 1974). Somit ist ersichtlich, dass das Periost essentiell für die Knochenheilung ist.

2.4 Störungen der Frakturheilung

Das Ziel einer jeden Frakturbehandlung ist die völlige Wiederherstellung der Funktion der verletzten Gliedmaße in möglichst kurzer Zeit. Das setzt eine komplikationsfreie Knochenheilung voraus (Runkel et al., 2000). Es treten jedoch bei 10-20 % aller Frakturen Heilungsstörungen auf (Haas, 2000). Die Bedeutung liegt nicht nur in der physischen und psychischen Mehrbelastung der Betroffenen, sondern auch in den hohen volkswirtschaftlichen Kosten. Allein in Europa liegt der finanzielle Aufwand der Behandlung von Frakturheilungsstörungen jährlich bei 14,7 Milliarden Euro (Knowledge Enterprises Inc, 2002).

2.4.1 Klassifizierung der Heilungsstörungen

Störungen der Frakturheilung umfassen sowohl die verzögerte Heilung (Delayed Union) als auch die ausbleibende Knochenheilung (Nonunion).

Nach der heute weltweit anerkannten Definition wird von einer **verzögerten Heilung** ausgegangen, wenn eine Fraktur vier Monaten nach dem traumatischen Ereignis nicht konsolidiert ist (Kuner et al., 1996; Rüter et al., 1999). Die Heilungsprozesse werden zwar fortgesetzt, eine Einigung der Frakturrenden findet in der erwarteten Zeit jedoch nicht statt. Das Ergebnis der Knochenheilung bleibt unsicher (Einhorn, 1998a).

In der orthopädischen Literatur existieren verschiedene Angaben, die den Zeitpunkt definieren, ab dem von einer **ausbleibenden Heilung** gesprochen werden kann. Findet die knöcherne Konsolidierung der Fraktur nach mehr als 6 Monaten nicht statt (Jones et al., 2005; Kuner et al., 1996; Rüter et al., 1999) oder treten innerhalb von drei Monaten keine Anzeichen einer weiteren Heilung auf (Jones et al., 2005), so spricht man von einer ausbleibenden Heilung. Runkel (2000) bezeichnen eine Fraktur, die nach acht Monaten noch nicht geheilt ist, als Nonunion, andere Autoren setzen den Zeitpunkt erst zwölf Monate nach Auftreten der Fraktur fest (Sarmiento et al., 1989).

Das Ausbleiben der Fraktureinigung mündet in einer **Pseudarthrose** (Rüter et al., 1999). Dabei sind sämtliche Heilungsprozesse zum Stillstand gekommen (Einhorn, 1998a). Es finden weder endostale noch periostale Reaktionen statt, die zu einer Überbrückung der Fraktur bzw. der Osteotomie führen (Marsh, 1998). Die Etablierung einer Pseudarthrose bedeutet immer ein Versagen reparativer Prozesse (Josten et al., 1996). Die Heilung der Pseudarthrose kann ohne äußere Interventionen nicht eintreten (Gebauer et al., 2005).

Klinisch stehen eine schmerzbedingte Minderbelastung und/oder eine pathologische Beweglichkeit der betroffenen Gliedmaße im Vordergrund, die zu erheblichen Störungen der Lauf- und Arbeitsleistung führen können. Radiologisch ist eine persistierende Dehiszenz des Fraktur- oder Osteotomiespalt vorhanden, die in zwei Ebenen kontinuierlich nachweisbar ist (Babhulkar et al., 2005; Schoellner et al., 2002).

Von entscheidender Bedeutung für die notwendige Behandlungsstrategie der Pseudarthrose ist die Analyse der Ursachen, die zur Entstehung der Pseudarthrose führten (Bosch et al., 1999) sowie die Bestimmung der Vitalität und damit der Heilungspotenz (Rüter et al., 1999; Schweiberer et al., 1999; Weber, 1982). Der Vitalitätsnachweis kann mit Hilfe der Szintigraphie erfolgen. Bei dieser nuklearmedizinischen Untersuchung reichern sich intravenös verabreichte Radionuklide an der Knochenoberfläche an. Das Maß der Anreicherung ist u. a. abhängig von der regionalen Durchblutung und der Osteoblastenaktivität (Schoellner et al., 2002; Weber, 1982).

Biologisch-aktive, vitale Pseudarthrosen weisen im Szintigramm eine starke Reaktion auf (Weber, 1982). Röntgenologisch erscheinen die Konturen der Pseudarthrose deutlich aufgetrieben. An den Frakturrenden findet sich hypertrophierender periostaler Kallus. Trotz Vitalität und Aktivität der an der Heilung beteiligten Zellen kommt es nicht zur knöchernen Überbrückung der Frakturzone (Kuner et al., 1996; Rüter et al., 1999). Diese Form der Heilungsstörung wird als **hypertrophe oder reaktive Pseudarthrose** bezeichnet (Rüter et al., 1999). Auf individuell vorhandene Instabilität und Belastung der Fraktur reagiert die sekundäre Knochenheilung mit endostaler und periostaler Kallusbildung (Stürmer, 1996). Bei intakter Durchblutung triggert eine hohe interfragmentäre Bewegung die Bildung eines kräftigen Kallus. Sobald die Bewegung auf mikroskopischer Ebene so weit reduziert ist, dass frischer Faserknochen nicht über seine Elastizitätsreserve gedehnt wird, überbrückt dieser den Spalt und der Knochen heilt (Stürmer, 1996). Kontrollierte Mikrobewegung steigert sogar die Knochenheilung (Goodship et al., 1985). Wird der heilende Knochen jedoch zum falschen Zeitpunkt überbelastet, so werden die neu gebildeten Knochenbälkchen und Kapillaren immer

wieder zerstört und müssen erneut gebildet werden. Dadurch entsteht zwar ein ausgeprägter knorpeliger, periostaler Kallus, die Fraktur jedoch wird nicht überbrückt (Kuner et al., 1996; Stürmer, 1996). Bildet sich eine hypertrophe Pseudarthrose, so ist bewiesen, dass der Instabilitätsgrad zu groß ist (Kutscha-Lissberg et al., 2003).

Da die osteogenetische Potenz hypertropher Pseudarthrosen sogar höher ist als die gesunder oder frisch fakturierter Knochen (Weber, 1982), zeigt das Gewebe eine hohe Bereitschaft für eine knöcherne Durchbauung. Das Einsproießen der Kapillaren, als Voraussetzung für die Bildung von knöchernen Trabekeln und Lamellenknochen, kann aber nur erfolgen, wenn am Ort der Fraktur mechanische Ruhe herrscht (Kuner et al., 1996). Da Vaskularität und mit ihr die Vitalität bei dieser Form der Pseudarthrose erhalten sind (Babhulkar et al., 2005), zielt die Behandlung auf die Erhöhung der Stabilität zwischen den Fragmenten ab (Rüter et al., 1999). Das Anfrischen oder die Resektion von Pseudarthrose-Gewebe sowie die Anlagerung von Spongiosa oder kortikospongiösen Spänen ist in dieser Situation nicht unbedingt notwendig (Bosch et al., 1999). Durch Erhöhung der Stabilität heilt die hypertrophe Pseudarthrose in der Regel rasch aus (Babhulkar et al., 2005; Runkel et al., 2000).

Da hypertrophe Pseudarthrosen nicht Bestandteil dieser Arbeit sind, wird auf sie im Weiteren nicht weiter eingegangen.

Bleibt die Pseudarthrose im Szintigramm stumm, so liegt eine **avitale oder inaktive** (auch areaktive) **Pseudarthrose** vor (Weber, 1982). Diese Pseudarthrosen sind biologisch reaktionsunfähig. Gemäß Weber (1982) lassen sich folgende charakteristische Formen radiologisch definieren: die Drehkeilpseudarthrose, die Defektpseudarthrose und die atrophe Pseudarthrose.

Bei der Drehkeilpseudarthrose ist ein intermediäres Fragment in seiner Zirkulation schwerst gestört bzw. nekrotisch. Die bestehende Instabilität verhindert hier die Vaskularisierung (Kuner et al., 1996).

Unter Defektpseudarthrose werden Defekte kritischer Größe (engl.: csd = critical size defect) verstanden. Diese Defekte zeichnen sich dadurch aus, dass sie aufgrund ihrer Größe während der Lebenszeit eines Individuums allein nicht heilen können (Schmitz et al., 1986). Die Knochenheilung bleibt bei einer Defektgröße ab 140 % des diaphysären Durchmessers aus (Mathon et al., 1998). Die Enden der Hauptfragmente sind vaskularisiert, die Defektzone allerdings ist osteologisch tot (Kuner et al., 1996). Eine knöcherne Vereinigung der Fragmente ist also aufgrund der Größe des Defektes nicht möglich (Schmitz et al., 1986). Die Ursachen ausgeprägter Knochenverluste können im Trauma selbst liegen, sie können aber auch Folge von Revisions-Endoprothesen oder Tumorresektionen sein (Kokubu et al., 2003;

Petite et al., 2000; Redlich et al., 1999). Häufig geht Knochen infolge einer posttraumatischer Osteitis durch Sequestrierung bzw. Nekrose verloren (Runkel et al., 2000).

Auch die Interposition von Weichteilen in den Frakturspalt verhindert die knöcherne Konsolidierung der vaskularisierten Hauptfragmente, da hier die Überbrückung der Fraktur durch die Weichteile verhindert wird (Runkel et al., 2000).

Im Gegensatz zu Defektpseudarthrosen entwickeln sich atrophe Pseudarthrosen ohne die Abwesenheit großer Knochenverluste, der Defekt wäre unter Umständen klein genug, um zu heilen (Kokubu et al., 2003), jedoch sind die biologische Aktivität der Fragmentenden und demnach ihr Reparationspotential signifikant reduziert (Josten et al., 1996).

Sowohl hypertrophe als auch atrophe Pseudarthrosen können aseptisch oder infiziert sein (Weber, 1982).

2.4.2 Atrophe Pseudarthrosen

Ätiologie atropher Pseudarthrosen

Während die Ursachen, die zur Entstehung hypertropher Pseudarthrosen führen, fast ausschließlich in zu hoher Instabilität zwischen den Fragmenten zu finden sind, ist bei atrophen Pseudarthrosen auch das biologische Potenzial reduziert (Rüter et al., 1999). Demnach ist die Prognose hypertropher Pseudarthrosen mit erhaltener Vitalität hinsichtlich der knöchernen Konsolidierung deutlich günstiger einzuschätzen als die der atrophen Pseudarthrosen (Kutscha-Lissberg et al., 2003).

Mechanische Ursachen:

Atrophe Pseudarthrosen können sowohl stabil als auch instabil sein (Rüter et al., 1999). Auf die Instabilität zwischen den Bruchenden, die als Risikofaktor zu einer Störung der Frakturheilung führen kann, wurde schon bei der Erläuterung hypertropher Pseudarthrosen eingegangen.

Aber auch eine zu hohe Steifigkeit des Fixationssystems kann die Ausbildung einer atrophen Pseudarthrose begünstigen. Bei absolut stabilen Osteosynthesen wird die Entzündungs- und Granulationsphase übersprungen (Rüter et al., 1999). Dies kann allerdings zu Störungen der Knochenheilung führen, da in diesen Phasen die für die weitere Frakturheilung so wichtigen Zellen chemotaktisch in das Frakturgebiet migrieren (Probst et al., 1997). Die interfragmentäre Bewegung stimuliert ebenfalls mesenchymale Zellen der umliegenden Weichteile zur Migration in das Frakturgebiet (Hulth, 1989). Infolge des fehlenden

Instabilitätsreizes bei der im Zuge rigider Fixation auftretenden primären Knochenheilung unterbleibt die Bildung eines periostalen und endostalen Kallusgewebes (Stürmer, 1996). Die normalerweise allmählich entstehende Stabilität der Fraktur tritt nicht ein (Rüter et al., 1999).

Gestörte Vaskularisierung

Während im gesunden Knochen die endostalen Gefäße Hauptlieferanten für die Versorgung des Knochens sind, kommt es in der physiologisch ablaufenden Frakturheilung zu einer Umkehr der Verlaufsrichtung des Blutes. Hier übernehmen periostalen Gefäße und Gefäße der umliegenden Muskulatur die Hauptversorgung des heilenden Knochens und des periostalen Kallus (Braun et al., 1996; McKibbin, 1978, Rhinelander, 1974). Die inflammatorische Hypervaskularisation des Periosts nach einer Verletzung ist Voraussetzung für die sekundäre Knochenbruchheilung (Schweiberer et al., 1999).

Jede Fraktur führt zu einer Unterbrechung der lokalen Blutversorgung (Schweiberer et al., 1999; Runkel et al., 2000). Mangelnde Durchblutung oder fehlende Gefäßversorgung können in einer Nekrose des betroffenen Knochenabschnittes resultieren (Runkel et al., 2000). Während die endostale Durchblutung vor allen bei dislozierten Frakturen unmittelbar nach dem Ereignis empfindlich gestört ist, ist die periostale Durchblutung über die Insertationsstellen der Muskulatur und der Faszien erhalten. Bei unfallkausaler Deperiostierung ist initial auch die periostale Durchblutung gestört, so dass primär avitale Knochenabschnitte vorliegen (Kutscha-Lissberg et al., 2003). Kowalski und Mitarbeiter ermittelten in einer Studie an der Schafstibia, dass periostales Stripping (Ablösen des Periosts vom Knochen) die Blutversorgung des Knochens um über 20 Prozent reduziert (Kowalski et al., 1996). Bildet der Knochen im Frakturgebiet im Rahmen der sekundären Knochenheilung jedoch Kallus, so ist die periostale Durchblutung zumindest nicht vollständig geschädigt (Kutscha-Lissberg et al., 2003).

Neben der frakturbedingten Durchblutungsstörung findet sich häufig eine additive Beeinträchtigung der Knochenvascularität durch operative Maßnahmen (Runkel et al., 2000), welche die biologischen Prinzipien der Knochenheilung unberücksichtigt lassen (Schweiberer et al., 1999). Allerdings führen alle Osteosynthesen zwangsläufig zu einer Störung der Knochendurchblutung und damit zu einer Beeinträchtigung der Vitalität. Unterschiede bestehen lediglich in der Qualität (periostal oder endostal) und in der Quantität des Schadens (Kutscha-Lissberg et al., 2003). Die lokalen Zirkulationsstörungen im Zuge der Reposition und Fixation müssen, neben der traumabedingten Durchblutungsstörung und dem Grad der mechanischen Stabilität, als Hauptursache für das Ausbleiben der Heilung verantwortlich

gemacht werden (Kuner et al., 1996). Stürmer (1996) gibt an, dass die Häufigkeit von Pseudarthrosen mit Verbreitung der Osteosynthesetechnik erheblich zugenommen hat.

Die anatomische Rekonstruktion mit ausgedehnter Weichteilablösung zur Exposition der Fraktur mit nachfolgender Plattenosteosynthese kann zu weitreichenden Schädigungen des Periosts und damit zu einer Devaskularisierung des Knochens führen. Die Folge ist eine mangelhafte oder fehlende periostalen Kallusreaktion (Bosch et al., 1999; Runkel et al., 2000; Stürmer, 1996). Die stabile Plattenosteosynthese zielt auf eine absolute Ruhigstellung und damit auf eine primäre Knochenheilung ab. Obwohl sie historisch gesehen auch gute Ergebnisse erzielte, repräsentiert sie jedoch eine unbiologische Form der Knochenheilung. Insbesondere im Schaftbereich führt diese Art der rigiden Fixation zu beachtlichen Komplikationsraten. Die im Röntgenbild nahezu ideal erscheinende Rekonstruktion ist vielfach mit einer ausgedehnten Devaskularisation verbunden und kann, vor allem bei additivem, unfallbedingtem Weichteiltrauma, in einer Knochennekrose enden (Schweiberer et al., 1999). Andererseits führt die Marknagelung zu einer Schädigung der medullären Gefäße (Runkel et al., 2000; Schweiberer et al., 1999; Stürmer, 1996). Vor allem bei übermäßigen Aufbohren im Rahmen der Marknagelung kann die auftretende avaskuläre Nekrose, insbesondere als Folge der sich im Zuge der Bohrung entwickelnden Hitze (Kuner et al., 1996), bis zu zwei Dritteln der inneren Kortikalis betreffen (Runkel et al., 2000).

Zur weitestgehenden Vermeidung operativ bedingter Schädigung der Vaskularisation wird in den letzten Jahren die so genannte biologische Osteosynthese bevorzugt. Statt einer exakten Reposition der Fragmente und Plattenanpassung wird heute, unter Schonung biologisch wichtiger Strukturen, die anatomische Achse wiederhergestellt. Vor allem bei Frakturen mit Weichteilschädigung werden weniger invasive Implantate, wie z. B. ein Fixateur externe oder eine Brückenplatte, verwendet (Claes et al., 1999; Kuner et al., 1996).

Schädigung des Periosts

Frakturen können mit einer Zerstörung der Integrität des periostalen Schlauches einhergehen. Vor allem bei höhergradig offenen Frakturen finden sich ausgedehnte Zerstörungen des Periosts (Runkel et al., 2000; Stürmer, 1996).

Sind Frakturen durch fehlendes oder defektes Periost gekennzeichnet, so können sie selbst bei idealer Lage der Bruchenden zueinander nicht heilen. Sie resultieren in der Ausbildung einer atrophen Pseudarthrose (Yoo et al., 1998).

Bei Schädigung des Periosts ist neben einer adäquaten Blutversorgung auch die Anzahl osteogener und chondrogener Vorläuferzellen und ihre Fähigkeit zur Differenzierung

reduziert (Remedios, 1999). Durch das reduzierte biologische Potential wird die Kallusbildung inkomplett (McKibbin, 1978; Stürmer, 1996).

Infektionen

Infektionen können als Folge offener Frakturen oder als Komplikation operativer Frakturbehandlungen auftreten. Die posttraumatische Differenzierung des Granulations- und Bindegewebes zu Faserknochen wird durch Infektion erheblich beeinträchtigt. Es finden sich ausgeprägte Resorptionsvorgänge mit dem Ziel, infiziertes Weichteil- und Knochengewebe zu entfernen. Dabei wird auch der neu gebildete Knochen wieder resorbiert. Eine primär instabile oder sekundär durch infektionsbedingte Resorptionsvorgänge des Knochengewebes (Osteolyse) instabil gewordene Osteosynthese begünstigt die Unterhaltung der Knocheninfektion und Ausbildung der Pseudarthrose (Bosch et al., 1999; Runkel et al., 2000). Risikofaktoren sind dabei offene Frakturen mit Verletzungen der Haut, da diese nicht nur als Eintrittsstelle für aus der Umwelt stammende Keime dient, sondern indirekt über eine Verlängerung der Operationszeit die Entstehung einer Pseudarthrose fördert (Audige et al., 2005). In dieser Situation ist nicht nur die Funktion der Gliedmaße, sondern die Gliedmaße selbst gefährdet (Kutscha-Lissberg et al., 2003).

Andere Ursachen:

Zahlreiche weitere Faktoren können zu einer Störung der physiologischen Abläufe der Frakturheilung führen und eine atrophie Pseudarthrose bewirken und unterhalten. Solche Faktoren sind zum Beispiel Medikamente wie Zytostatika, Antikoagulantien, Steroide und nichtsteroidale Antiphlogistika, weiterhin Mangelernährung, hohes Alter, aber auch Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Mikroangiopathien und Osteoporose (Kuner et al., 1996; Runkel et al., 2000; Rüter et al., 1999). Auch Rauchen (Heckman et al., 1994; Schmitz et al., 1999) und Alkoholismus (Hernigou et al., 2005) müssen als wesentliche Faktoren berücksichtigt werden, die die Frakturheilung negativ beeinflussen. Eine mögliche Ursache ist die adipöse Involution des Knochenmarks bei Starkrauchern und Alkoholikern, was eine Abnahme der Anzahl mesenchymalen Progenitorzellen im Knochenmark bewirkt (Hernigou et al., 2005). Die aufgeführten Faktoren sollten allerdings nicht überbewertet werden (Rüter et al., 1999; Kuner et al., 1996).

Morphologie atropher Pseudarthrosen

Das radiologische Erscheinungsbild atropher Pseudarthrosen ist durch den Mangel bzw. die Abwesenheit mineralisierten Kallusgewebes in der Frakturzone gekennzeichnet (Frost, 1989; Jones et al., 2005; Rüter et al., 1999). Als Ergebnis resorptiver Vorgänge zeigt sich der Frakturspalt erweitert, die Frakturrenden erscheinen abgerundet (atroph) (Kokubu et al., 2003; Volpon, 1994).

Histologisch weist das Frakturgebiet ebenfalls keine oder nur eine unzureichende periostale und endostale Kallusbildung auf. Der interfragmentäre Bereich ist mit lockerem fibrösem Gewebe gefüllt, welches die Fragmente zwar verbindet, aber keine ausreichende Stabilität gewährleistet (Boyan et al., 1999; Kokubu et al., 2003; Marsh, 1998). Auch im Markraum überwiegen sklerosierende Prozesse (Marsh, 1998). Die extrazelluläre Matrix dieses fibrotischen Gewebes kalzifiziert nicht (Boyan et al., 1999). Eine enchondrale Ossifikation unterbleibt (Kokubu et al., 2003). Die Präsenz von mesenchymalen Progenitorzellen in segmentalen Defekten deutet darauf hin, dass passende Signale für die Knochenheilung vorhanden sind. Der Defektbereich repräsentiert jedoch Bedingungen, unter denen mesenchymale Stammzellen die fibrocartiläre Differenzierungskaskade vollziehen (Boyan et al., 1999).

Vor allen in der unmittelbaren Nähe des Frakturspaltens finden sich Reihen von Osteoklasten, die die avitalen Kortikalisfragmente abbauen und dadurch den Frakturspalt erweitern (Kokubu et al., 2003; Volpon, 1994). Die osteoklastische Aktivität führt auch histologisch zu atroph erscheinenden Frakturrenden (Kokubu et al., 2003). Es besteht eine Diskrepanz zwischen der Aktivität der Osteoklasten und dem Erscheinen von reparativen Chondrozyten und Osteoblasten im Frakturbereich. Knochen wird resorbiert, jedoch nicht wieder aufgebaut (Kokubu et al., 2003; Marsh, 1998). Das interfragmentäre fibrotische Gewebe wird zwar von dünnen Gefäßzweigen durchsetzt, diese weisen jedoch keine gerichtete Orientierung auf (Volpon, 1994).

Therapie atropher Pseudarthrosen

Die Behandlungsmöglichkeiten atropher Pseudarthrosen erstrecken sich von konservativen bis zu chirurgischen Verfahren (Jones et al., 2005). Die Behandlungen erfolgen rein symptomatisch, sie sind zeitaufwendig und nicht immer erfolgreich. Da die Entstehung einer atropher Pseudarthrose das Ergebnis reduzierter Vitalität ist, zielt die erfolgreiche Therapie auf die Stimulation der Knochenneubildung ab (Runkel et al., 2000).

Infizierte Pseudarthrosen erfordern zunächst, nach Entfernung gelockerter Implantate, die radikale Resektion infizierter Knochen- und Weichteilareale einschließlich aller Sequester (Bosch et al., 1999; Kutscha-Lissberg et al., 2003). Die Stabilisierung erfolgt in der Regel mit einem Fixateur externe (Runkel et al., 2000; Rüter et al., 1999). Er bietet den Vorteil der frakturfernen Osteosynthese, die eine gute Weichteilversorgung zulässt (Runkel et al., 2000). Nach Resistenzbestimmung werden Antibiotika verabreicht (Bosch et al., 1999). Je nach Situation können auch intramedulläre antibiotikabeschichtete Nägel zum Einsatz kommen (Babhulkar et al., 2005; Jones et al., 2005). Nach Abklingen der Infektion oder bei nicht infizierten Pseudarthrosen richtet sich die Therapie nach der Defektsituation an Knochen und Weichteilen (Bosch et al., 1999). Das Fixationssystem wird belassen oder ein Verfahrenswechsel vorgenommen (Rüter et al., 1999).

Bei der Behandlung atrophischer Pseudarthrosen sollte zunächst eine Bewertung der Stabilität vorgenommen werden. Bei fehlenden Instabilitätszeichen wird auf eine Reosteosynthese verzichtet, eine Änderung der Osteosynthese ist in diesen Fällen also meist nicht erforderlich (Kutscha-Lissberg et al., 2003; Rüter et al., 1999). Zeigt sich die Pseudarthrose jedoch instabil, so muss neben der für die Heilung essentiellen Vitalität auch eine ausreichende Stabilität erzielt werden (Rüter et al., 1999). Dabei sollten die besonderen biomechanischen Voraussetzungen der betroffenen Region berücksichtigt werden. Auch bei Implantatlockerung und Vorliegen korrekturbedürftiger Fehlstellungen muss eine Reosteosynthese vorgenommen werden (Kutscha-Lissberg et al., 2003). Die erfolgreiche Behandlung sollte individuell, also je nach Situation erfolgen (Babhulkar et al., 2005). Eine zusätzliche iatrogene Devaskularisierung muss dabei in jedem Fall vermieden werden (Kutscha-Lissberg et al., 2003). Es erscheint sinnvoll, bei der früher gewählten Osteosynthesetechnik, allerdings bei höherer Stabilität, zu bleiben. Zum Einsatz kommen z. B. längere Platten (Rüter et al., 1999) oder die aufgebohrte Verriegelungsnagelung (Runkel et al., 2000).

Um die Knochenneubildung zu stimulieren, erfolgt zunächst die Resektion des fibrotischen Gewebes im Pseudarthrosenspalt und die Anfrischung der avitalen Fragmente bis in den durchbluteten Bereich (Bosch et al., 1999; Runkel et al., 2000). Es muss so weit reseziert werden, bis die Osteotomieflächen an den Hauptfragmenten Blutungen zeigen (Bosch et al., 1999). Entsteht dabei ein Defekt, muss dieser anschließend rekonstruiert werden (Babhulkar et al., 2005). Kleinere Defekte (2-2,5 cm) werden in der Regel mit Knochentransplantaten überbrückt (Rüter et al., 1999). Bei größeren Defekten kann ein Segmenttransport mit Hilfe

eines Ilizarov-Fixateurs vorgenommen werden (Bosch et al., 1999; Rüter et al., 1999). Dieses Verfahren ist für den Patienten aber wenig attraktiv (Bosch et al., 1999). Alternativ kann der entstandene Knochendefekt durch geeignete Knochenersatzmaterialien rekonstruiert werden. Zum Einsatz kommen sowohl organische (Kollagen, demineralisierte Knochenmatrix oder resorbierbare Polymere wie Polyglycolid oder Poly-L-lactid) als auch anorganische (Kalziumsulfat, Keramiken aus den Basissubstanzen Tricalciumphosphat und Hydroxyapatit) Materialien (Einhorn, 1995). Die Materialien müssen bestimmte Kriterien erfüllen: sie müssen biokompatibel sein und so verformbar, dass sie der Größe und Form des Defektes auch intraoperativ angepasst werden können. Die Oberfläche dieser Materialien muss die Adhäsion, Proliferation und Differenzierung von Zellen des Empfängerbettes erlauben (Arnold et al., 2002). Außerdem sollten sie der mechanischen Belastung durch Gewicht und Bewegung standhalten (Einhorn, 1995). Nachteil der Knochenersatzmaterialien im Vergleich zu Knochentransplantaten ist ihr Mangel an osteogenen Faktoren (Petite et al., 2000). In experimentellen Studien wurden deshalb synthetische oder biologische Knochenersatzmaterialien mit in vitro vermehrte periostale Zellen (Breitbart et al., 1998; Puelacher et al., 1996; Redlich et al., 1999; Vögelin et al., 2000) oder Stammzellen aus dem Knochenmark (Kon et al., 2000; Petite et al., 2000) kombiniert und anschließend in knöcherne Defekte implantiert.

Atrophe Pseudarthrosen benötigen zur Ausheilung zusätzlich die Unterstützung durch biologisch aktives Knochengewebe (Kuner et al., 1996). Die Transplantate werden aufgrund ihrer stabilisierenden, aber vor allem wegen ihrer biologischen Leistungen verwendet. Die Knochentransplantation stellt aber keine selbstständige Therapie dar, sondern ist als eine von mehreren Maßnahmen anzusehen (Eitel et al., 1982).

Es werden sowohl allogene (Spender- und Empfängerspezies sind identisch) als auch autologe Knochentransplantate (Spender und Empfänger sind identisch) eingesetzt.

Allogene Knochentransplantate, die toten Spendern entnommen werden (Puelacher et al., 1996), finden vor allem bei größeren Defekten Anwendung. Sie wirken v. a. osteoinduktiv. Sie stimulieren die phänotypische Differenzierung pluripotenter mesenchymaler Zellen zu knorpel- und knochenbildenden Zellen mit nachfolgender Knochenbildung durch Wachstums- und Differenzierungsfaktoren (Brighton, 1984). Allotransplantate besitzen im Vergleich zu Autotransplantaten eine vergleichsweise niedrige biologische Aktivität. Darüber hinaus bleiben die erwünschten Knochenumbauprozesse mit zunehmender Transplantatresorption und Ersatz durch vitalen Empfängerknochen häufig aus (Jäger et al., 2005a). Allogene Transplantate bergen zudem die Gefahr der Übertragung von Krankheiten des Spenders auf

den Empfänger (z. B. Hepatitis B und C, HIV) und das Risiko der Immunabstoßung (Einhorn, 1995; Gazdag et al., 1995). Bei der Verwendung gefriergetrockneter Transplantate ist die Gefahr der Immunabstoßung zwar vermindert, durch die Kältebehandlung sterben aber auch die Spenderzellen, so dass der osteogene Beitrag dieser Zellen an der Knochenheilung entfällt (Einhorn, 1995). Sie werden aufgrund der nachteiligen Eigenschaften seltener eingesetzt als autologe Knochentransplantate.

Die heterotrope Transplantation autologen Knochens stellt eine effektive Behandlungsmöglichkeit dar (Gazdag et al., 1995; Jäger et al., 2005a). Autologer Knochen liefert initial osteogene Zellen, die die osteogene Potenz im Defektbereich steigern (Jäger et al., 2005a). Zusätzlich besitzt er osteoinduktive und osteokonduktive Eigenschaften, d. h. er dient als dreidimensionales Gerüst als Leitschienen für migrierende Zellen und Blutgefäße (Einhorn, 1995; Babhulkar et al., 2005; Gazdag et al., 1995). Zudem wird autologer Knochen in der Regel gut in das Transplantatbett inkorporiert, wirkt nicht immunogen und es besteht keine Gefahr der Übertragung von Krankheiten (Arrington et al., 1996). Gewinnung und Transplantation des autologen Knochens kann in einer chirurgischen Sitzung erfolgen (Jones et al., 2005). Dadurch verlängert sich jedoch die Operationszeit (Arrington et al., 1996). Da nur wenige Zellen des Transplantates längere Zeit überleben, liegt der Hauptbeitrag des Transplantates an der Knochenheilung in seinen osteokonduktiven Eigenschaften und in den osteoinduktiven Faktoren, die während der Resorption des Transplantates freigesetzt werden (Einhorn, 1995).

Das spongiöse Autotransplantat stellt den derzeitigen „goldenen Standard“ in der Behandlung atrophen Pseudarthrosen und knöchernen Defekten dar (Lane et al., 1999; Bauer et al., 2000). Autologer Knochen ist aber nur in begrenzter Menge verfügbar. Die Gewinnung ist mit einer hohen Entnahmemorbidität assoziiert (Weinand et al., 2006). Mögliche Komplikationen bei Spongiosaentnahme aus dem Beckenkamm sind oberflächliche und seltener, tiefe Infektionen und Hämatome, Frakturen, v. a. der Spina iliaca und der Beckenschaufel sowie abdominale Hernien (Arrington et al., 1996; Jäger et al., 2005a), Verletzungen von Nerven (sensibler Äste peripherer Nerven, lateraler Femurnerv, oberflächlicher Glutealnerv) und Gefäßen (Jäger et al., 2005a; Jones et al., 2005). Auch wird die normale Knochenarchitektur im Spendebereich zeitweilig zerstört (Arrington et al., 1996). Die häufigsten Komplikationen stellen jedoch persistierende postoperative Schmerzen an der Entnahmestelle dar, die nicht selten sogar zu einer Verlängerung der Hospitalisierung führen können (Jäger et al., 2005a). Obwohl die autologe heterotrope Knochentransplantation noch immer Methode der Wahl ist, besteht ein deutlicher wissenschaftlicher und klinischer Trend zu Entwicklung und Einsatz möglicher

Alternativen wie Biomaterialien, Wachstumsfaktoren und stammzellbasierender Therapien (Jäger et al., 2005a).

Weitere Alternativen zur chirurgischen Behandlung atropher Pseudarthrosen sind Elektrostimulation, mechanische sowie humorale Stimulation (Rüter et al., 1999).

Bei der Elektrotherapie werden von außen elektrische Potentiale im Knochen erzeugt, welche die Knochenbildung induzieren sollen. Dies kann durch implantierte Induktionsspulen, durch in den Knochen implantierte Elektroden, auf die dann direkt eine Wechselspannung appliziert wird, oder durch die äußere Magnetfeldtherapie erzielt werden (Rüter et al., 1999). Runkel und Mitarbeiter (2000) geben an, dass eine Elektrostimulation nur in Verbindung mit einer chirurgischen Therapie erfolgen sollte. Die Elektrotherapie konnte sich im deutschsprachigen Raum bisher nicht durchsetzen (Kuner et al., 1996; Rüter et al., 1999).

Im Rahmen der extern, apparativ erzeugten mechanischen Stimulation der Frakturheilung werden zwei Verfahren unterschieden. Bei der extrakorporalen Stoßwellentherapie kommen hochenergetische Schallwellen zur Anwendung (Rüter et al., 1999). Diese Therapie sollte jedoch nur bei ausreichender Ruhigstellung der Fraktur (Gipsverband, stabile Osteosynthese) erfolgen (Kuner et al., 1996; Runkel et al., 2000). Die klinischen Erfolge sind bisher jedoch nicht sehr befriedigend (Rüter et al., 1999). Zudem ist die Wirkung der Stoßwellen dosisabhängig. Mit steigender Energie können Mikrofissuren der Kortikalis mit Bildung von Knochenchips und nachfolgenden ausgedehnten Kortikalisfrakturen und -defekten auftreten (Bosch et al., 1999; Kuner et al., 1996). Diese Therapieform eignet sich nur für wenige ausgewählte Fälle. Trotz langjähriger Erfahrung handelt es sich immer noch um ein klinisch-experimentelles Verfahren (Schoellner et al., 2002).

Bei der niedrig intensiven, gepulsterten Ultraschalltherapie als zweites Verfahren der mechanischen Stimulation werden Impulse von 1,5 MHz mit einer Frequenz von 1 kHz in den Frakturspalt appliziert. Diese Impulse stimulieren möglicherweise die enchondrale Ossifikation. Rüter und Kollegen (1999) berichten in ihrem Untersuchungsgut über Heilungsraten von 80-85 % der so behandelten Frakturheilungsstörungen. Diese Studie beinhaltete jedoch ein selektiertes Krankengut. Patienten mit instabile Pseudarthrosen, Infektpseudarthrosen und Pseudarthrosen mit größeren avitalen Knochenfragmenten wurden von der Studie ausgeschlossen. Diese Situationen stellen in ihren Augen eine unangefochtene Indikation zur operativen Therapie dar.

Die lokale Form der humoralen Behandlung atropher Pseudarthrosen besteht in der Injektion von autologen Knochenmark (Rüter et al., 1999). Die applizierten Zellen sollen dabei die Osteogenese im Frakturbereich unterstützen (Connolly et al., 1989). Bisher existiert keine

Studie, die die Auswirkung lokal applizierter autologer mesenchymaler Zellen in eine Situation, die zu einer atrophen Pseudarthrose führen würde, untersucht.

2.5 Mesenchymale Stammzellen (MSCs)

Stammzellen sind undifferenzierte, extensiv proliferierende, sich selbst erneuernde Zellen, die eine große Anzahl differenzierter Nachkommen bilden. Auf diese Weise tragen sie zur Bildung, Erhaltung und Regeneration verschiedenster Strukturen bei (Lovell-Badge, 2001). Gewebe, in denen diese Stammzellen residieren, werden als Stammzellreservoir bezeichnet (Pittenger et al., 1999). So stellt das Knochenmark das Reservoir für hämatopoetische Stammzellen aber auch die Hauptquelle für die Erneuerung mesenchymaler Gewebe dar (Cancedda et al., 2003).

Friedenstein konnte in den 1970er Jahren erstmals zeigen, dass eine Subpopulation von Knochenmarkszellen die Fähigkeit besitzt, in mesenchymalen Gewebe zu differenzieren (Friedenstein et al., 1970; 1976). Er beschrieb sie als adhärent wachsende, koloniebildende, fibroblastenähnliche Zellen (CFU-F = colony-forming unit-fibroblasts). Diese Zellen gehören zum nicht-hämatopoetischen Kompartiment des Knochenmarks. Das Hauptinteresse lag zu dieser Zeit zunächst in der Erforschung des Beitrags der Zellen an der Regulierung der Hämatopoese. Das eigentliche Potential dieser Zellen wurde jedoch immer deutlicher. Zahlreiche Forschungsgruppen wiesen die Differenzierungsfähigkeit dieser Zellen in verschiedenste mesenchymale Zellen (Osteoblasten, Chondroblasten, Adipozyten, Myozyten, Knochenmarks-Stromazellen, Tendozyten) nach (Caplan, 1991; Pittenger et al., 1999; Prockop, 1997). Dieses Differenzierungspotential führte zur Bezeichnung **mesenchymale Stammzelle (MSC)** (Caplan, 1991). Mesenchymale Stammzellen konnten aber nicht nur aus dem Knochenmark sondern auch aus zahlreichen anderen Geweben wie Fettgewebe, Synovia, Skelettmuskulatur (Tuan et al., 2003) oder aus perivaskulären Zellen der menschlichen Nabelschnur (Sarugaser et al., 2005) isoliert werden.

2.5.1 Differenzierung und Kultivierung mesenchymaler Stammzellen

Der Ablauf der Differenzierung mesenchymaler Stammzellen in die verschiedensten Gewebe ist noch nicht vollständig geklärt. Die in vitro adhärent wachsenden MSC-Kulturen erscheinen unter dem Lichtmikroskop zwar homogen (Le Blanc et al., 2006), hinsichtlich ihres Differenzierungspotentials weisen sie jedoch eine erhebliche Heterogenität auf. So besitzen nur etwa ein Drittel der aus dem Knochenmark isolierten MSCs ein

dreidimensionales (chondrogene, osteogene und adipogene Differenzierung) Differenzierungspotential (Pittenger et al., 1999). Die restlichen zwei Drittel weisen lediglich ein bilineares (osteogenes und chondrogenes Potential) oder sogar nur ein unilineares (osteogenes Potential) Differenzierungspotential auf (Muraglia et al., 2000). Diese Heterogenität lässt sich damit erklären, dass der MSC-Pool im Knochenmark nicht nur aus einer multipotenten Stammzelle besteht, sondern durch die Existenz von Subpopulationen der MSCs in unterschiedlichen Differenzierungsstadien (Baksh et al., 2004).

Baksh et al. stellten 2004 ein Modell der Differenzierungskaskade adulter mesenchymaler Stammzellen auf. Die Entwicklung der Stammzellen zu den terminal differenzierten Zelltypen verläuft in zwei Kompartimenten. Das erste Kompartiment, das Stammzell-Kompartiment, beherbergt eine primitive Stammzellpopulation mit einem multilinearen Differenzierungspotential, die die Fähigkeit zur extensiven Selbsterneuerung besitzt. Nach Stimulierung entstehen aus der noch nicht festgelegten, multipotenten Stammzelle durch asymmetrische Teilung zwei Tochterzellen. Eine dieser Tochterzellen ist der identische Klon der Stammzelle, die ihre Multilinearität und die Fähigkeit zur Selbsterneuerung behält, so dass der Stammzell-Pool aufrechterhalten wird. Die andere ist eine multipotente Vorläuferzelle, die zwar morphologisch der Mutterzelle identisch ist, jedoch nur noch ein eingeschränktes Entwicklungsprogramm aufweist. Aus ihr gehen die terminal differenzierten Zellen hervor. Diese Vorläuferzelle teilt sich symmetrisch und bringt tri- und bipotente Tochterzellen hervor, die der multipotenten Precursorzelle morphologisch gleichen. Im zweiten Kompartiment, dem Committed Cell Compartment, bringen die tri- bzw. bipotenten Vorläuferzellen durch symmetrische Teilung unipotente Progenitorzellen hervor, die sich zu terminal differenzierte Zellen teilen.

Mesenchymale Stammzellen zeigten neben einem osteogenen (Jaiswal et al., 1997), chondrogenen (Lee et al., 2004) und adipogenen (Bennett et al., 1991) Differenzierungspotential auch die Fähigkeit, in hämatopoetisches Stroma (Majumdar et al., 1998) und Muskelzellen (Phinney et al., 1999; Wakitani et al., 1995) zu differenzieren. In jüngeren Studien wird belegt, dass als mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks identifizierte Zellen eine weit größere Plastizität aufweisen als bisher angenommen und in Zellen mit einem nicht-mesenchymalen Phänotyp differenzieren können. So differenzierten sie *in vitro* in Neuronen-ähnliche Zellen (Sanchez-Ramos et al., 2000) und siedelten sich nach lokaler oder systemischer Injektion in verschiedenen Organen an. Sie ließen sich sogar in Epithelzellen des Lungenparenchyms (Kotton et al., 2001) und Astrozyten des Gehirns differenzieren (Kopen et al., 1999).

Aufgrund ihrer Adhärenz am Boden der Kulturflaschen lassen sich MSCs durch wiederholtes Waschen relativ leicht von anderen, nicht-adhärenenten, hämatopoetischen Zellen des Knochenmarks isolieren (Bianco et al., 2001, Friedenstein et al., 1976). Allerdings variiert die Anzahl und Morphologie der MSCs im Knochenmark von Spezies zu Spezies und innerhalb einer Spezies von Individuum zu Individuum. Diese individuellen Unterschiede sind zum einen vom Gesundheitszustand als auch vom Alter abhängig (Kahn et al., 1995; Muschler et al., 1997). So weist das Knochenmark eines Neugeborenen etwa eine MSC pro 10^5 kernhaltiger Zellen auf, das eines Fünfzigjährigen nur noch eine MSC pro 4×10^5 und das eines Fünfundachtzigjährigen eine MSC pro 10^6 kernhaltiger Knochenmarkszellen. Diese Abnahme erklärt eventuell auch die mit dem Alter abnehmende Heilungstendenz von Frakturen (Caplan, 1994). Durchschnittlich sind nur ca. 0,01% aller Knochenmarkszellen mesenchymale Stammzellen (Jaquierey et al., 2005). Auch scheinen geschlechtsabhängige Unterschiede zu bestehen. Mesenchymale Stammzellen aus Knochenmarkaspiraten von Frauen besitzen im Vergleich zu Aspiraten von Männern eine reduzierte Potenz zur osteoblastären Differenzierung (Muschler et al., 2001). Aber auch die Aspirationstechnik nimmt Einfluss auf die Anzahl der aus dem Knochenmark gewonnenen mesenchymalen Stammzellen. Durch die mehrmalige Aspiration kleinerer Mengen lassen sich signifikant mehr osteogene Vorläufer isolieren als durch die Aspiration größerer Mengen, da es in diesem Fall zu einem Verdünnungseffekt durch peripheres Blut kommen kann. Eine Steigerung des Aspirationsvolumens von 1 ml auf 4 ml führt bereits zu einer Stammzellreduktion um 50% (Muschler et al., 1997).

Unter geeigneten Kulturbedingungen besitzen die aus dem Knochenmark stammenden MSCs eine ausgeprägte Kapazität zur Selbsterneuerung (Bruder et al., 1998). Die knochenmarksstämmigen MSCs zeigen in vitro nicht nur außergewöhnlich proliferative Fähigkeiten, sondern können durch den Zusatz bestimmter Substrate in eine definierte Entwicklungslinie gelenkt werden. Die Zugabe von Dexamethason, Ascorbinsäure und β -Glycerolphosphat zum Nährmedium leitet die Zellen in eine osteogene Richtung (Bruder et al., 1997), Dexamethason und die Wachstumsfaktoren TGF- β 1 und TGF- β 2 lenken sie in eine chondrogene Richtung (Barry et al., 2001), Glukose, Insulin, Indomethacin und Dexamethason führen in vitro zu einer adipogenen Differenzierung (Pittenger et al., 1999). Eine neuere Studie konnte zeigen, dass die Differenzierung dieser Zellen auch durch die Steifigkeit und Elastizität des Kulturmediums beeinflusst werden kann. Eine weiche Matrix, ähnlich die des Gehirns, drängt die Zellen in einen neuronalen Phänotyp, eine moderate Steifigkeit fördert die myogene, eine rigide Matrix hingegen die osteogene Differenzierung

(Engler et al., 2006). Neben diesen Faktoren spielt aber auch die initiale Zelldichte eine entscheidende Rolle. Je höher die Zelldichte, desto eher entwickeln die Zellen einen osteogenen Phänotyp (Pittenger et al., 1999).

In vivo wird diese Differenzierungstendenz durch die Umgebung der Zellen und eventuell durch benachbarte Zellpopulationen unterdrückt (inhibitorische Bedingungen) und nur bei bestimmten Ereignissen, z. B. im Rahmen der Knochenheilung, aktiviert (Cancedda et al., 2003). Ursache hierfür sind Wachstumsfaktoren und Zytokine, die v. a. während der frühen Heilungsphase des Knochens von zahlreichen Zellen synthetisiert und freigesetzt werden. Jüngere Untersuchungen konnten zeigen, dass eine kleine Anzahl mesenchymaler Stammzellen unter physiologischen Umständen im Blut zirkuliert (Zvaifler et al., 2000) und es nach einer Fraktur zu einer systemischen Rekrutierung mesenchymaler Stammzellen aus dem Knochenmark in den Bereich der Reparatur kommt (Shirley et al., 2005).

Das Differenzierungspotential der MSCs bleibt auch nach mehrmaliger Subkultivierung und selbst nach Cryokonservierung erhalten (Bruder et al., 1997). Dennoch verlieren die Zellen mit zunehmender Passagierung allmählich die Fähigkeit zur Multidifferenzierung bei Aufrechterhaltung der proliferativen Fähigkeiten (Cancedda et al., 2003). Werden die Zellen hingegen in eine bestimmte Richtung gelenkt, so reduziert sich ihre proliferative Kapazität (Bianchi et al., 2001; Cancedda et al., 2003; Prockop, 1997).

2.5.2 Knochenheilung unter Einsatz mesenchymaler Stammzellen

Das osteogene Potential der aus dem Knochenmark isolierten MSCs lässt sich am deutlichsten dadurch demonstrieren, als das diese Zellen nach Transplantation in ektope Lokalisation, z. B. in die Muskulatur oder Subkutis, fähig sind, Knochen zu bilden (Bruder et al., 1998; Kadiyala et al., 1997; Kon et al., 2000).

Das Knochenmark stellt eine relativ unbegrenzte Quelle zur Gewinnung mesenchymaler Stammzellen dar (Yoo et al., 1998). Die relativ leichte Isolierung der MSCs aus dem Knochenmark sowie ihre Fähigkeit zur intensiven Proliferation ohne den Verlust ihres multilinearen Differenzierungspotentials macht sie zu einer attraktiven Quelle für zellbasierende Behandlungsmethoden. So können aus einer sehr kleinen Menge aspirierten Knochenmarks durch die in vitro-Kultivierung mehrere Millionen MSCs gewonnen werden (Cancedda et al., 2003). Diese Tatsache gewinnt v. a. bei älteren Personen und bei Patienten, deren Anzahl an MSCs aufgrund bestehender Erkrankungen erniedrigt sind, eine noch größere Bedeutung (Bruder et al., 1998). Es ist bekannt, dass die Anzahl mesenchymaler

Vorläuferzellen im Knochenmark von Patienten mit Pseudarthrosen im Vergleich zum Knochenmark gesunder Patienten deutlich reduziert ist (Hernigou et al., 1997).

Bisher existieren zahlreiche Studien, die den Einfluss in vitro expandierten mesenchymaler Stammzellen aus dem Knochenmark auf die Regeneration von Frakturheilungsstörungen untersuchen. Bei diesen Untersuchungen wurden allerdings fast ausnahmslos die Auswirkungen dieser Zellen auf Defekte kritischer Größe untersucht. In einem Schafmodell verglichen Petite und Mitarbeiter (2000) den Einfluss von Korallen-Scaffolds ohne Zusätze, Scaffolds in Kombination mit frischem autologen Knochenmark sowie in Kombination mit in vitro expandierten autologen MSCs auf die Heilung eines 24 mm großen metatarsalen Defektes. Durch die Behandlung der Defekte mit den leeren sowie mit den mit Knochenmark beladenen Scaffolds konnte zwar eine gesteigerte Osteogenese, jedoch nie eine radiologische und klinische Einigung erzielt werden, jedoch wurde bei 7 von 10 Tieren, die die mit MSCs beladenen Scaffolds erhielten, eine Überbrückung des Defektes erzielt. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Kon und Mitarbeiter (2000) in einem Tibiadefektmodell des Schafes. Auch humane MSCs sind in der Lage, die Knochenheilung zu verbessern. Bruder und Mitarbeiter (1998) implantierten eine mit humanen MSCs beladene Hydroxyapatit/Tricalciumphosphat-Keramik (HA/TCP) in einen Femurdefekt der athymischen Nackratte. Nach einer zwölfwöchigen Heilungszeit zeigten die mit MSCs beladenen Konstrukte im Gegensatz zu den zellfreien Keramiken eine komplette Einigung der Osteotomieenden.

In diesen Studien wurde auf den Zusatz osteogener Induktoren zum Nährmedium verzichtet, um so eine intensive Proliferation ohne Differenzierung der Zellen zu erreichen (Takushima et al., 1998). Diese drei Studien bestätigen die in vivo Fähigkeit mesenchymaler Stammzellen, Knochen erfolgreich zu regenerieren.

Nach intravenösen Injektion in athymischen Mäusen vermehren sich die mesenchymaler Stammzellen auch in vivo und könne über eine mehrwöchige Periode verschiedene Bindegewebe besiedeln (Pereira et al., 1995). In einem Osteotomiemodel wurden Mäusen systemisch markierte Knochenmarkszellen injiziert. Nach zehnwöchiger Heilungszeit konnten die applizierten Zellen zwar im neu gebildeten Geflechtknochen nachgewiesen werden, zu einer Verbesserung der Heilung kam es jedoch nicht (Devine et al., 2002). Nach intravenöser Injektion autologer humaner mesenchymaler Stammzellen konnten keine nachteiligen Reaktionen festgestellt werden (Lazarus et al., 1995).

Dennoch wurde bisher in keiner Studie der Einfluss lokal applizierter autologer MSCs auf die Heilung atropher Pseudarthrosen untersucht.

2.6 Herleitung und Hypothese der Studie

Die Behandlung von Pseudarthrosen erfolgt derzeit systematisch und verläuft nicht immer erfolgreich. Der Patient erfährt dabei oft eine erhebliche Einschränkung der Lebensqualität. Oftmals sind Reoperationen mit Verfahrenswechsel notwendig.

Mesenchymale Stammzellen gewinnen in den letzten Jahren in Forschung und Therapie zunehmend an Bedeutung. Ihre relativ leichte und komplikationsarme Gewinnung aus dem Knochenmark und ihre Fähigkeit der intensiven *in vitro* Expansion ohne ihr Differenzierungspotential zu verlieren, macht sie zu einem attraktiven Forschungsgegenstand. In tierexperimentellen Arbeiten zeigte sich der Einsatz von mit undifferenzierten mesenchymalen Stammzellen beladener Scaffolds auf die Regeneration knöcherner Defekte als sehr Erfolg versprechend. Daher könnte die Applikation autologer mesenchymaler im Vergleich zu den bisher etablierten operativen Strategien ein minimal invasives Verfahren in der Behandlung verzögerter oder ausbleibender Knochenheilung darstellen oder diese zumindest unterstützend ergänzen.

Die allgemein anerkannte Relevanz des Periosts für die Knochenregeneration führte in den vergangenen Jahren zu einem Umdenken der chirurgischen Frakturversorgung. Trotz der Erkenntnis der Wichtigkeit des Periosts existieren kaum Arbeiten, die sich mit der periostalen Rekonstruktion während der Knochenheilung beschäftigen. Es ist nicht bekannt, ob das Periost lediglich als diffuse Quelle von Osteoprogenitorzellen dient, oder ob es sich um eine Leitstruktur handelt, die als vollständige Einheit vorhanden sein muss, um die Heilung langer Röhrenknochen zu gewährleisten. Es soll weiterhin untersucht werden, ob die applizierten MSCs in der Lage sind, die periostale Rekonstruktion zu unterstützen.

Anhand radiologischer, histologischer, immunhistologischer und histomorphometrischer Untersuchungen gilt es, folgende Hypothesen zu überprüfen:

1. Durch die Transplantation autologer mesenchymaler Stammzellen in eine Osteotomie des Femurs, der durch Deperiostierung in seinem natürlichen Heilungspotential eingeschränkt ist, lässt sich die Heilung im Vergleich zu unbehandelt gebliebenen Heilungsstörungen verbessern.
2. Um die Knochenheilung zu gewährleisten, muss sich das Periost als vollständige Einheit zunächst selbst rekonstruieren.