

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse in vivo

#### 4.1.1 Allgemeines

Alle 32 Tiere gingen in die Auswertung ein. Die Tiere erholten sich innerhalb von zwei Tagen nach allen drei Eingriffen. Ihnen stand zu jeder Zeit Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung. Die Belastung der operierten Gliedmaße setzte unmittelbar nach der Osteotomie ein.

Die Ratten zeigten über den zeitlichen Verlauf eine Zunahme des Körpergewichtes (Tab. 3), die der physiologischen Zunahme entspricht. Lediglich nach der Osteotomie verloren die Tiere an Körpermasse, nahmen aber im Verlauf der zweiten Woche an Körpergewicht zu. Die Gewichte der Ratten beider Gruppen wiesen zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede auf.

	Zellentnahme		Osteotomie		7 Tage post OP		14 Tage post OP	
	Medium	MSC	Medium	MSC	Medium	MSC	Medium	MSC
Median [g]	414,5	413,5	446,5	438	423,5	426	431,5	443,5
Min-Max [g]	397-453	384-433	410-460	410-465	387-470	382-475	373-487	405-504
p-Wert	0,94		1,00		0,73		0,46	

Tab. 3: Gewichte der jeweiligen Untersuchungszeitpunkte. Die Bezeichnungen Medium und MSC beziehen sich auf die Gruppenzugehörigkeit.

Die Tiere zeigten hinsichtlich der rektal gemessenen Körpertemperatur individuelle Unterschiede, aber weder im zeitlichen Verlauf noch im Vergleich zwischen den Gruppen waren diese statistisch signifikant (Tab. 4).

	Zellentnahme		Osteotomie		7 Tage post OP		14 Tage post OP	
	Medium	MSC	Medium	MSC	Medium	MSC	Medium	MSC
Median [°C]	36,9	36,9	36,1	35,95	35,8	36	35,95	35,85
Min-Max [C°]	35,8- 37,7	35,2- 37,6	33,7- 37,5	34,1- 37,0	34,9- 36,6	34,0- 37,1	33,5- 36,6	34,9- 37,2
p-Wert	0,93		0,32		0,17		0,67	

Tab. 4: Rektal gemessene Körpertemperatur der jeweiligen Untersuchungszeitpunkte.

### **4.1.2 Radiologie**

Zur Kontrolle des Heilungsverlaufes wurden im wöchentlichen Abstand Röntgenaufnahmen der operierten Gliedmaße angefertigt. Um den Heilungsverlauf zwischen beiden Gruppen zu vergleichen, wurden die postoperativen Röntgenbilder und die Röntgenbilder, die nach der Tötung der Tiere angefertigt wurden, herangezogen. Bei keinem der Tiere traten radiologische Anzeichen von Osteolysen um die Kirschner-Drähte des externen Fixateurs auf. Unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit war der Osteotomiespalt bei allen Tieren zum Zweiwochenzeitpunkt sichtbar. Es ergaben sich keine Hinweise auf eine Erweiterung des Osteotomiespalt bei Vergleich der Aufnahmen am Tag der Osteotomie mit denen am Tag 14. Weder bei den Tieren der Medium-Gruppe noch bei denen der MSC-Gruppe zeigten sich zwei Wochen post OP in unmittelbarer Umgebung zur Osteotomie (Bereich der Knochenmarkentnahme und der Kauterisierung) röntgendichte Verschattungen als Hinweis auf den Beginn einer periostalen u./o. endostalen knöchernen Überbrückung des Osteotomiespalt. Außerhalb des gekauterten Bereiches traten bei den Tieren beider Gruppen periostal dezente Wolkenbildungen als Hinweis einer beginnenden Mineralisierung auf. Bei jeweils einem Tier beider Gruppen zeigte sich keine röntgenologischer Hinweise auf eine periostale Kallusbildung. Die Röntgenbilder zweier Medium-Tieren konnten hinsichtlich der periostalen Reaktionen nicht beurteilt werden, da diese während der Entwicklung überbelichtet wurden und sich demnach für die Beurteilung in Bezug auf dieses Kriterium als zu dunkel darstellten.

## **4.2 Ergebnisse ex vivo**

### **4.2.1 Deskriptive Histologie**

Bei Betrachtung der nach Movat Pentachrom und Alcian Blau gefärbten Präparate mit einer 2,5fachen Vergrößerung lag im Zentrum des mikroskopischen Bildes der die Kortikalis durchtrennende Osteotomiespalt. Da es sich um eine longitudinale Schnittebene handelte, stellte sich die Kortikalis als vier durch Markraum und Osteotomie getrennte Rechtecke dar. Zwischen der lateralen und medialen Kortikalis befand sich der Markraum. In einiger Entfernung zum Osteotomiespalt entwickelte sich in unterschiedlich starker Ausprägung der periostale resp. endostale knöcherne Kallus. Die Unterbrechung der lateralen und medialen Kortikalis durch den Osteotomiespalt ergab eine Einteilung der Osteotomiezone in vier Quadranten, so dass zwischen lateral, medial, proximal und distal unterschieden werden

konnte. In jeder der vier Quadranten wurden die Kortikalis, das periostale und endostale Gewebe betrachtet (Abb. 10).

### Periostal

Knöchernes Kallusgewebe entwickelte sich in beiden Gruppen sowohl periostal als auch endostal, aber niemals zwischen den kortikalen Fragmenten. Das Kallusgewebe schien dabei von proximal und distal kommend, aufeinander zuzuwachsen. Bei keinem der Tiere beider Gruppen überbrückte jedoch ein periostaler knöcherner Kallus den Osteotomiespalt. Ein Tier der MSC-Gruppe wies jedoch medial proximal (Kortikalis „3“) einen sehr prominenten knöchernen periostalen Kallus auf, an deren Front zahlreiche hypertrophen Chondrozyten bis an den Osteotomiespalt reichten. Der periostale knöcherne Kallus schien bei fünf Tieren der Medium-Gruppe auf der lateralen Seite deutlich größer ausgeprägt zu sein, nur bei einem Tier auf der medialen Seite. Im Gegensatz dazu entwickelte die Hälfte der MSC-Tiere auf der medialen Seite einen voluminöseren, knöchernen Kallus, bei zwei Tieren dieser Gruppe zeigte sich der Kallus auf der lateralen Seite prominenter. Die verbleibenden zwei Tiere beider Gruppe wiesen zwischen der lateralen und der medialen Seite keinen Unterschied in der Kallusausprägung auf. Der knöcherne periostale Kallus erreichte, mit einer Ausnahme bei einem MSC-Tier, nie den Osteotomiespalt. Er bildete sich deutlich in den Bereichen aus, in denen das Periost während der Operation nicht thermisch zerstört wurde. In den gekauterten Bereichen fand sich meist Bindegewebe. Der periostale knöcherne Kallus bestand immer aus kompakten Geflechtknochenbälkchen. Dieser Knochen erschien im Gegensatz zum kortikalen Knochen unstrukturiert, wies jedoch eine deutlich höhere Anzahl dunkel gefärbte Osteozyten auf. Die Kontinuität des knöchernen Kallusgewebes war durch unterschiedlich große Kavernen unterbrochen. Diese waren zum Teil mit Bindegewebe gefüllt. An den Rändern fanden sich Osteoblasten (Abb. 18). Osteoklasten trugen zur Erweiterung der Kavernen bei. Knorpel zeigte sich deutlich in Form hypertropher Chondrozyten, die säulenartig angeordnet, wie eine Kappe die knöcherne Kallusfront umgaben. In der Alcian Blau-Färbung traten diese Zellen, leuchtend blau gefärbt, besonders deutlich hervor (Abb. 19). Chondrozyten, die sich bereits in der Phase der Mineralisation befanden, zeigten in der Movat Pentachrom-Färbung eine deutliche Vergelbung (Abb. 17). Eine prominente Knorpelkappe trat bei den Präparaten der MSC-Gruppe häufiger als bei denen der Medium-Gruppe auf. Sie fand sich häufiger auf der medialen Seite und ragten immer in den gekauterten Bereich. Faserknorpel konnte mit Hilfe beider Färbungen nur schwer lokalisiert werden. Wenn ersichtlich, so fand er sich unmittelbar vor den in der Movat

Pentachrom-Färbung leuchtend grün dargestellten hypertrophen Chondrozyten am Übergang zum Bindegewebe. In anderen periostalen Kallusanteilen kamen Knorpelzellen nur selten und dann vereinzelt vor. Auf der Oberfläche des kallösen Knochens trat oftmals in beiden Gruppen eine mehrreißige zellreiche Schicht auf. In dieser dominierten Osteoblasten, die Osteoid synthetisierten. Über der osteoblastenreichen Schicht fanden sich spindelförmige bis ovale Zellen, die anscheinend in die osteoblastenreiche Schicht eindrangten. Bei zwei Dritteln der Tiere der MSC-Gruppe erstreckten sich über der zellreichen Schicht dicke Bindegewebsfasern, zwischen denen Fibrozyten und Fibroblasten eingebettet lagen (Abb. 16). Nur die Hälfte der Medium-Tiere wies eine solche bindegewebige Schicht über ihren knöchernen periostalen Kalli auf. Des Öfteren jedoch drangen diese Fasern bis in das Bindegewebe des deperiostierten Bereiches vor. Dort verjüngten sie sich oder zogen als deutlich sichtbare Faserbündel über den Osteotomiespalt in den deperiostierten Bereich des gegenüberliegenden Fragmentes.

Im gekauterten Bereich vor dem knöchernen bzw. knorpeligen Kallus dominierte in beiden Gruppen Bindegewebe. Die Bindegewebsfasern verliefen zunächst parallel zur Kortikalisoberfläche, zogen dann in den Osteotomiespalt und füllten diesen aus. Zwischen den Fasern des Bindegewebes dominierten Fibroblasten und Fibrozyten. Vereinzelt traten Erythrozyten und Lymphozyten hervor.

Der periostale knöcherne Kallus entwickelte sich osteotomiespaltfern. Auf der lateralen Seite befand sich im gekauterten Bereich bei drei Medium-Tieren Kallusgewebe mit knöchernen und knorpeligen Anteilen. Auf der proximalen lateralen Seite zeigten fünf MSC-Tiere eine ähnliche Reaktion im gekauterten Bereich. Dabei waren bei drei Tieren knöchernes, bei einem Tier knorpeliges Gewebe und bei einem Tier beide Gewebearten zu finden. Lateral distal zeigten in dieser Gruppe drei Tiere im gekauterten Bereich hartes Kallusgewebe, wobei je ein Tier knöchernes, knorpeliges oder beide Gewebetypen aufwies. Auf der medialen proximalen Seite zeigten sieben Medium-Tiere und sechs der acht MSC-Tiere im gekauterten Bereich knöchernen bzw. knorpeligen Kallus. Bei vier Medium-Tieren handelte es sich um Knochen. Drei Tieren dieser Gruppe zeigte der Kallus im gekauterten Bereich sowohl knorpelige als auch knöcherne Strukturen. Bei einem Tier der MSC-Gruppe bestand der Kallus sowohl aus knöchernem als auch aus knorpeligem Gewebe. Bei drei Tieren konnte knöcherner und bei zwei Tieren knorpeliger Kallus gefunden werden. Distal fand sich bei fünf Medium-Tieren und bei vier MSC-Tieren im genannten Bereich höher differenziertes Kallusgewebe. Dabei handelte es sich bei zwei Medium-Tieren und bei einem MSC-Tier um Knochen, bei einem Tier der Medium-Gruppe und zwei Tieren der MSC-Gruppe um

Knorpel, sowie zwei Medium- und einem MSC-Tier um beide Gewebearten. Das Gewebe fand nicht immer Anschluss an die Kortikalis, sondern erweckt einen bei einem Viertel der Tiere beider Gruppen einen „schwebenden“ Eindruck, da sich zwischen knöchernen resp. knorpeligen Kallus und Kortikalis in diesen Fällen Bindegewebe befand.

### Endostal

Der Markraum stellte sich in beiden Gruppen ähnlich dar. Es dominierte sowohl Bindegewebe als auch knöcherner Kallus, wenn auch mit individuellen Unterschieden. Der endostale knöcherne Kallus bestand aus Geflechtknochenbälkchen (Abb. 20). Der Geflechtknochen füllte die Markhöhle nicht vollständig aus, sondern endete immer in einiger Entfernung zum Osteotomiespalt. Der knöcherne Kallus dichtete, mit Ausnahme eines Medium-Tieres, den Markraum nach proximal und distal ab. Ausgehend von der Kallusfront, strebten fingerförmig knöcherne Ausläufer in Richtung Osteotomiespalt. Die Oberfläche der Geflechtknochenbälkchen war von einem dichten Osteoblastensaum besetzt (Abb. 21). Die Osteoblasten synthetisierten nicht mineralisiertes Osteoid. Eine beginnende Mineralisierung war an der allmählich einsetzenden Vergelbung der umgebenen Grundsubstanz erkennbar. Der Raum zwischen den Knochenbälkchen der Kallusfront wurde von Bindegewebe ausgefüllt (Abb. 20). Proximal bzw. distal der Kallusfront traten zwischen den Geflechtknochenbälkchen Zellen des Knochenmarks auf. Fand der knöcherne Kallus keinen Anschluss an die Porenkanäle, so füllte das Knochenmark in diesen Bereichen die gesamte Markhöhle aus. Der Raum zwischen der proximalen und distalen endostalen Kallusfront wurde von Bindegewebe ausgefüllt. Das Bindegewebe machte einen unstrukturierten Eindruck, obgleich man bei einigen Tieren beider Gruppen eine Orientierung in Richtung Längsachse des Knochens vermuten könnte. Zwischen den Fasern des Bindegewebes lagen die spindelförmigen Zellkörper der Fibrozyten und rundlich erscheinende Fibroblasten. Vereinzelt traten Lymphozyten auf. Bei einem Tier der MSC-Gruppe dominierten neben den Zellen des Bindegewebes Lymphozyten. Auch Eosinophile Granulozyten konnten bei diesem Tier mehr als erwartet gesichtet werden. Hämatomreste fanden sich in unterschiedlich starker Ausprägung bei fünf der acht Medium-Tiere und bei sechs der MSC-Tiere (Abb. 23). Ungewöhnlich war das Auftreten blasenartiger bzw. zystoider Strukturen in Markraummitte zwischen den endostalen Kallusfronten (Abb. 24). Diese Erscheinungen fanden sich bei drei der Medium-Tiere und bei vier MSC-Tieren. Die Strukturen zeichneten sich durch eine bindegewebige Kapsel aus, die sie somit vom umgebenen Bindegewebe abgrenzte. Innerhalb dieser Kapsel fanden sich kleinere blasenartige Strukturen, die netzartig mit

fibrinfädenähnlichen dünnen Strängen durchsetzt waren. Morphologisch ähnelten sich diese Strukturen innerhalb beider Gruppen. Das Innere der Kapseln bestand aus einer in der Movat Pentachrom Färbung hell-türkis erscheinenden amorphen Grundsubstanz. In dieser Substanz eingebettet lagen zahlreiche große, runde, hellgrau erscheinende Zellen, deren Kerne, wenn überhaupt, nur sehr schwer erkennbar waren. Vereinzelt fanden sich Erythrozyten und noch seltener Fibrozyten. Blutgefäße konnten nie gesehen werden. Die blasenartigen Strukturen hatten niemals Kontakt zum endostalen knöchernen Kallus.

### Kortikalis

Die der periostalen Seite zugewandeten Kortikalisränder stellten sich im gekauterten Bereich bei beiden Gruppen glattrandig dar. Zwei Tiere der Medium-Gruppe und ein MSC-Tier wiesen unmittelbar vor Beginn der knöchernen periostalen Kalli lakunenartige Einbuchtungen der Kortikalisoberfläche auf. Bei Vergrößerung konnten vielkernige Zellen auf der Oberfläche der kortikalen Einbuchtung ermittelt werden, bei denen es sich um Osteoklasten handelte.

Im nicht gekauterten Bereich zeigten die der periostalen Seite zugewandten Kortikalisränder Auflagerungen von neu synthetisierten kallösen Knochen. Die eigentlichen Kortikalisränder stellen sich glatt dar. Es ließ sich bei keinem Präparat Inkontinuitäten der periostal zugewandten Kortikalisoberfläche in Form von Resorption feststellen. Die dem Markraum zugewandte Oberfläche zeigte sich im gekauterten Bereich bei der Hälfte der Tiere jeder Gruppen glattrandig. Durch Resorption und endostale Kallusauflagerung in Form von Geflechtknochen nahmen die Kortikalisränder bei der Hälfte der Präparate beider Gruppen eine wellenförmige Gestalt an. Bei Betrachtung der endostalen Kortikalisränder im nicht gekauterten Bereich ergab sich ein heterogenes Bild. Zeigte der Markraum wenig endostalen Kallus, so stellten sich auch die Kortikalisränder glatt dar. Bei dem weit überwiegenden Teil der Tiere zeigte sich die Oberfläche jedoch wellenförmig. Bei einigen Präparaten erschien sie sogar ackerfurchengleich. Die Verteilung der unterschiedlichen Morphologien der Seitenränder ergab zwischen beiden Gruppen keinen Unterschied.

Die kortikalen Osteotomiespaltränder konnten bei einem Tier der MSC-Gruppe aufgrund schneidbedingter Überlappung nicht beurteilt werden. Ansonsten zeigten sich auch zwei Wochen post operationem die Ränder der durch die Osteotomie getrennten Kortizes in beiden Gruppen glattrandig. Lediglich bei einem Tier der MSC-Gruppe kam es an der medialen proximalen Kortikalis (Kortikalis „3“) zu einer Abrundung der endostalen

kortikalen Osteotomiespaltkante. Diese Einbuchtung wies auf der kortikalen Oberfläche Osteoklasten auf und war mit fibrotischem Gewebe gefüllt (Abb. 11).

Die Kortikalis beider Gruppen bestand aus einem dichten, kompakt erscheinenden Knochengewebe. Lediglich das Gewebe der distalen medialen Kortikalis (Kortikalis „4“) erschien bei sechs von acht Tieren beider Gruppen aufgelockert. Selten konnten Resorptionslakunen und Haverssche Kanäle beobachtet werden. Osteozyten waren, im Gegensatz zum kallösen Knochen, in der Kortikalis eher rar verteilt. Auch waren sie im Vergleich mit denen des periostalen bzw. endostalen Kallus deutlich schmaler und kleiner. Ausgehend von den Osteozytenlakunen verliefen in radiärer Ausrichtung Canaliculi ossei durch den gesamten kortikalen Knochen (Abb. 12). In den Abschnitten der Kortikalis, in denen die Knochenhaut thermisch zerstört wurde und in der die Schraubenkanäle unmittelbar angrenzenden Kortikalis waren die sonst von Osteozyten bewohnten Lakunen oftmals leer oder wiesen kernlose, blasse Zellen auf (Abb. 12).

Bemerkenswert waren Unterbrechungen der kortikalen Kontinuität durch amorph erscheinende Areale, die sich in der Movat Pentachrom-Färbung meist grün und in der Alcian Blau-Färbung leuchtend blau darstellten. Auch in der Kollagen-II-Färbung färbten sich diese Bereiche positiv, in der Negativkontrolle blieben sie jedoch farblos. Häufigkeit und Verteilung dieser Kontinuitätsunterbrechungen waren in beiden Gruppen gleich. Sie traten nie im periostalen oder endostalen knöchernen Kallus auf. Der diese Bereiche umgebene kortikale Knochen erweckte einen unstrukturierten Eindruck (Abb. 14). Er glich eher Geflechtknochen als den gewöhnlich in der Kortikalis vorkommenden Lamellenknochen. In bzw. um diese Bereiche konnten selten Zellen ermittelt werden. Wurden Zellen entdeckt, so hatten diese meist eine osteoblasten- bzw. osteozytenähnliche Erscheinung (Abb. 14). Dennoch gliche wenige dieser Zellen Chondrozyten (Abb. 15). Der umgebende Knochen ähnelte in seiner Erscheinung kleinen Osteonen ohne bzw. mit nur einer Zelle. Waren Zellen vorhanden, so strahlten Kanäle, die den Canaliculi ossei glichen, in radiärer Ausrichtung von diesen aus. Selten konnten in der unmittelbaren Umgebung dieser Areale Gefäße oder Osteoklasten beobachtet werden. Die amorph erscheinende Grundsubstanz wies in der Movat Pentachrom-Färbung nicht immer eine eindeutig grüne Färbung auf. Sie färbte sich z. T. in unmittelbarer Nachbarschaft zum umliegenden Knochen gelblich, wobei die Übergänge fließend waren (Abb. 14). Durch diese Vergelbung erweckten diese Bereiche den Eindruck, sich in das diese Areale umgebene mineralisierte Osteoid umzuwandeln (Abb. 14).

Osteotomiespalt

Der Osteotomiespalt erschien bei keinem der Tiere durch osteoklastische Aktivität erweitert oder durch interfragmentäres Kallusgewebe verengt. Die dem Osteotomiespalt angrenzenden kortikalen Kanten erschienen, wie oben erwähnt, scharfkantig. Der Osteotomiespalt war mit Bindegewebe gefüllt (Abb. 25). Das Bindegewebe war kompakter als das des periostalen und endostalen Raumes. Knorpel oder knöcherne Gewebe waren nie vorhanden.

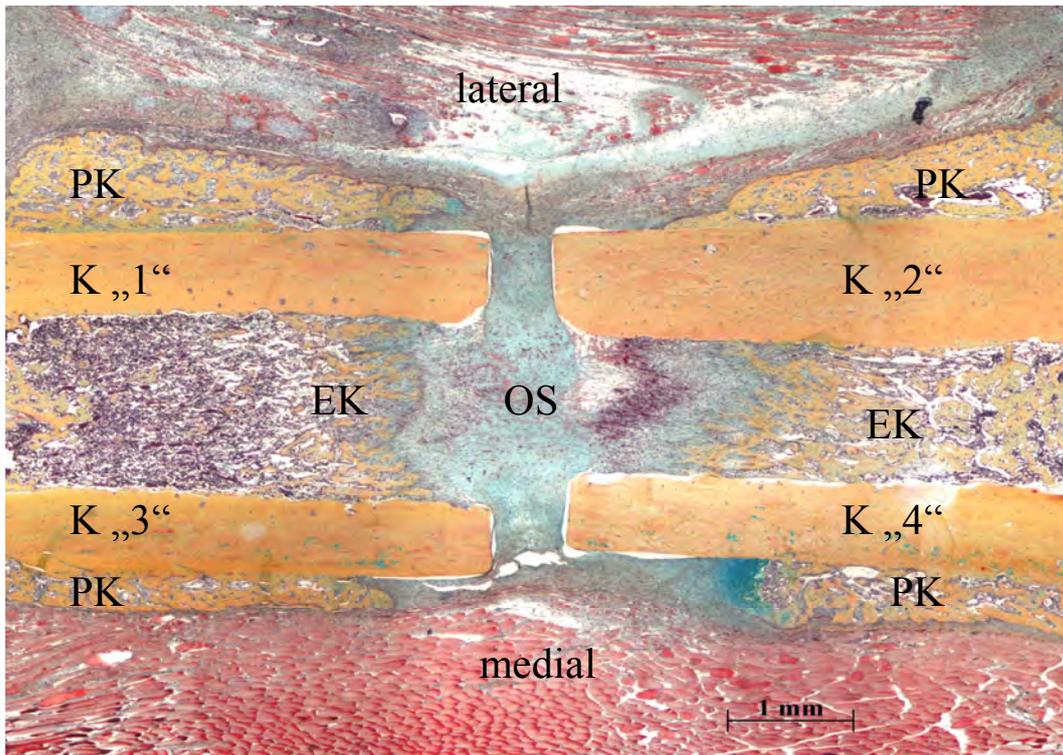


Abb. 10: Movat Pentachrom-Färbung, (MP- Färbung). Übersichtsaufnahme der Osteotomiezone, K „1“-„4“ markieren die Kortikalis, PK den periostalen Kallus, EK den endostalen Kallus und OS den Osteotomiespalt, Medium-Tier.

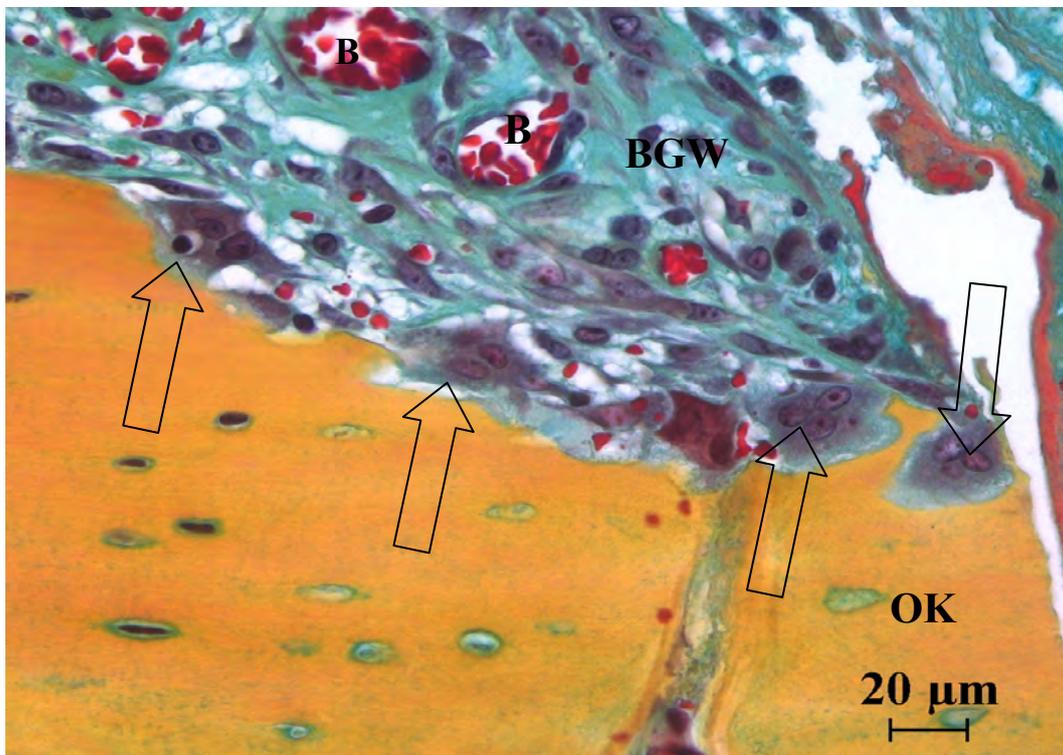


Abb. 11: MP-Färbung: Beginnende Abrundung der kortikalen Osteotomiespaltkante (OK) durch Osteoklasten (Pfeile) auf der Oberfläche der Kortikalis, Blutgefäße (B) im intramedullären Bindegewebe (BGW), MSC-Tier.

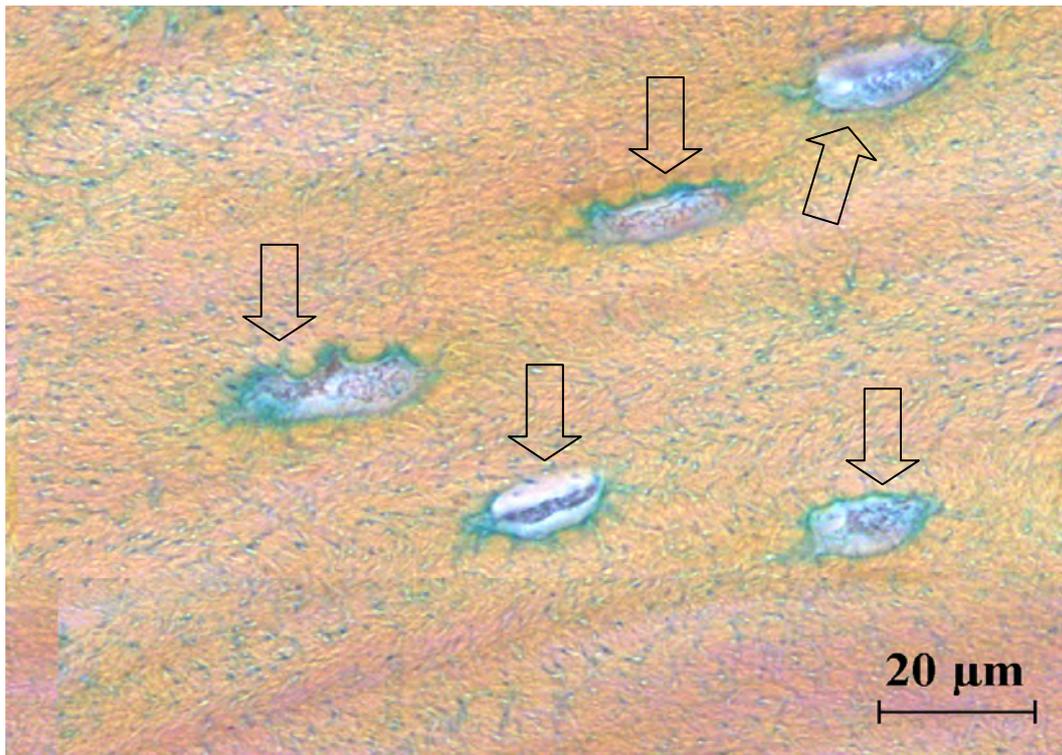


Abb. 12: MP-Färbung: kernlose, degenerierte Osteozyten in deperiostierter Kortikalis, Medium-Tier.

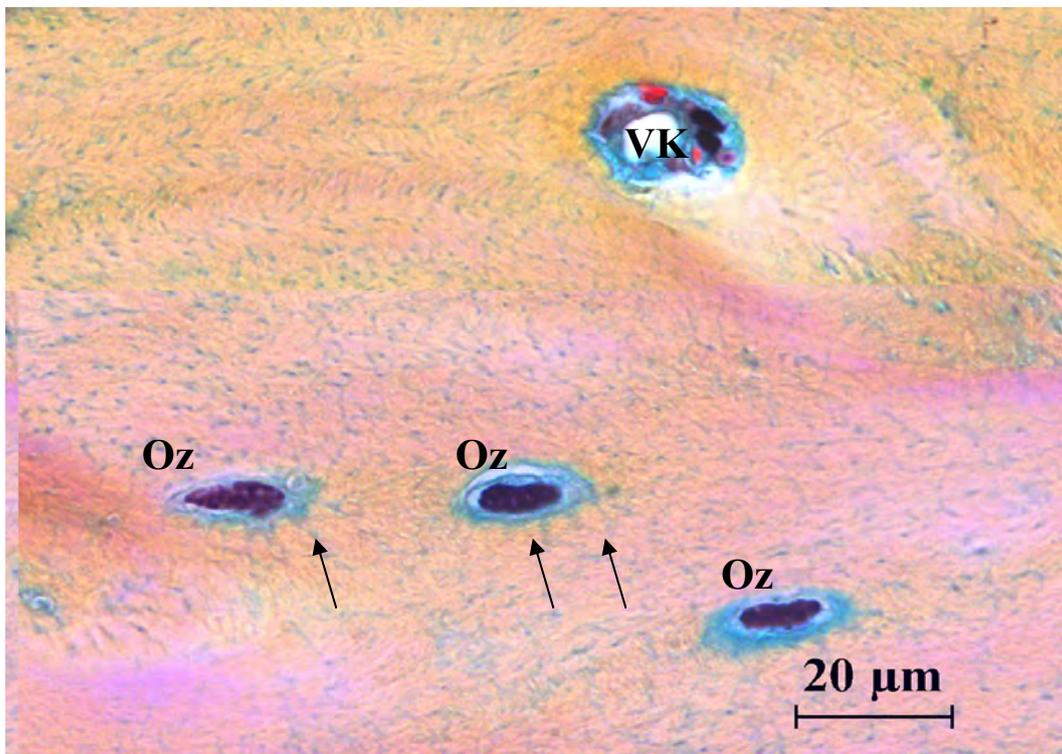


Abb. 13: MP-Färbung: Vitale intrakortikal lokalisierte Osteozyten (Oz) mit dunkel gefärbtem Kern, Canaliculi ossei (Pfeile) als feine grüne Linien sichtbar, oben Volkmann-Kanal (VK) MSC-Tier.

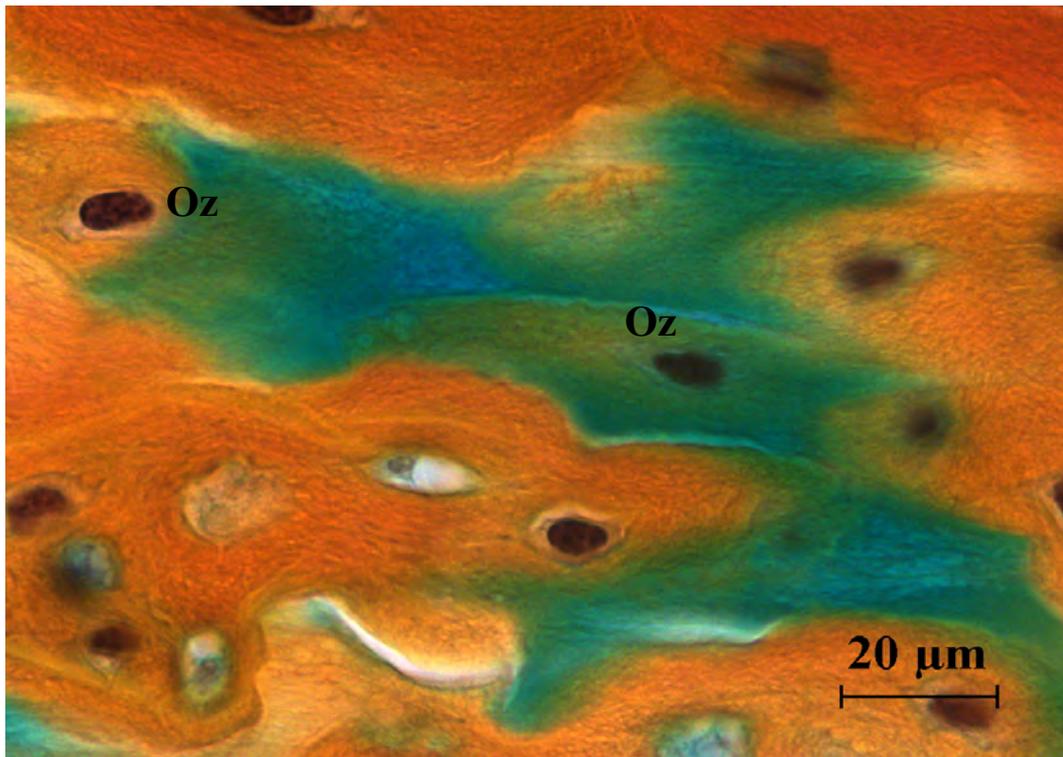


Abb. 14: MP-Färbung: intrakortikale Kontinuitätsunterbrechungen mit osteozytenähnlichen Zelle (Oz), umgeben von unstrukturiert erscheinenden Knochen, Medium-Tier.

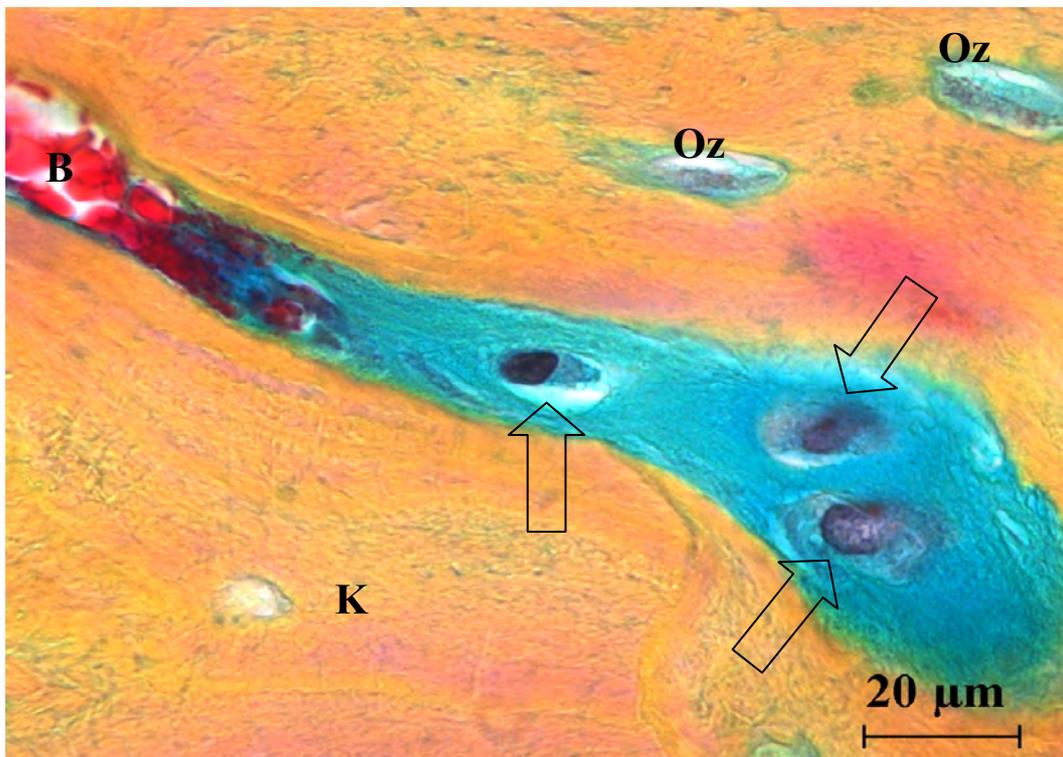


Abb. 15: MP-Färbung: intrakortikale (K) Kontinuitätsunterbrechungen mit Zellen (Pfeile) und Blutgefäß (B). Die Zellen nehmen hier eine chondrozytenähnliche Gestalt an (deutlich opaker Zellhof). Oben degenerierte Osteozyten (Oz), Medium-Tier.

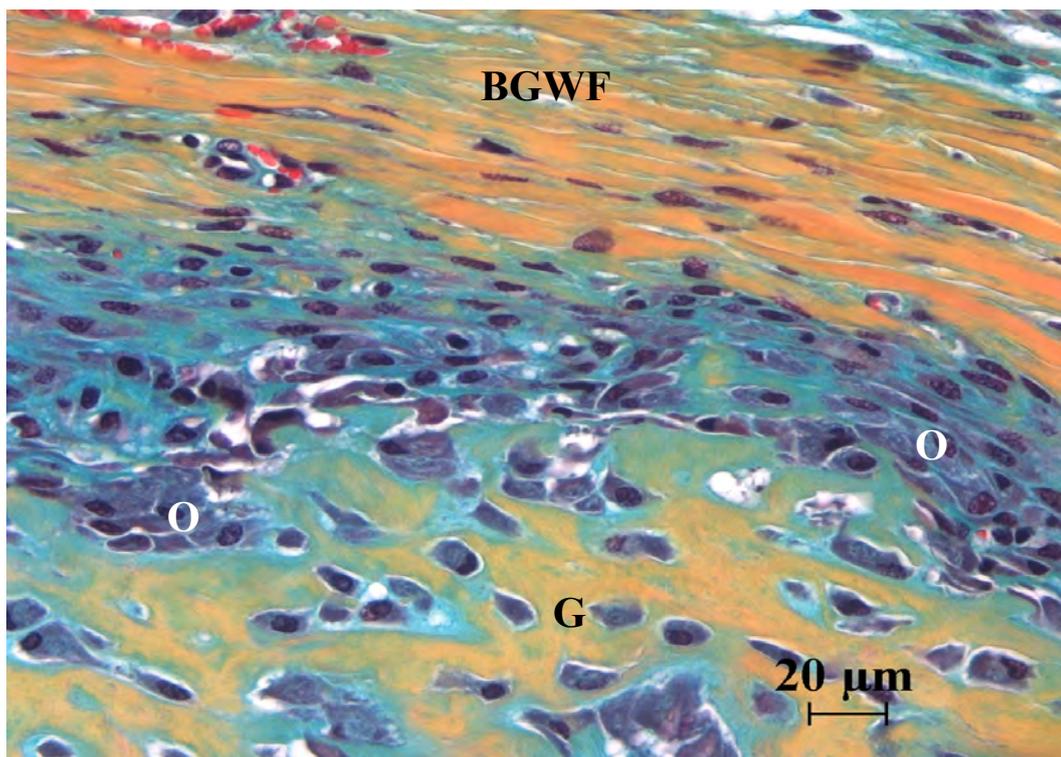


Abb. 16: MP-Färbung: Osteoblasten (O) synthetisieren Geflechtknochen (G) auf der Oberfläche des periostalen Kallus, darüber bindegewebsfaserreiche Schicht (BGWF), MSC-Tier.

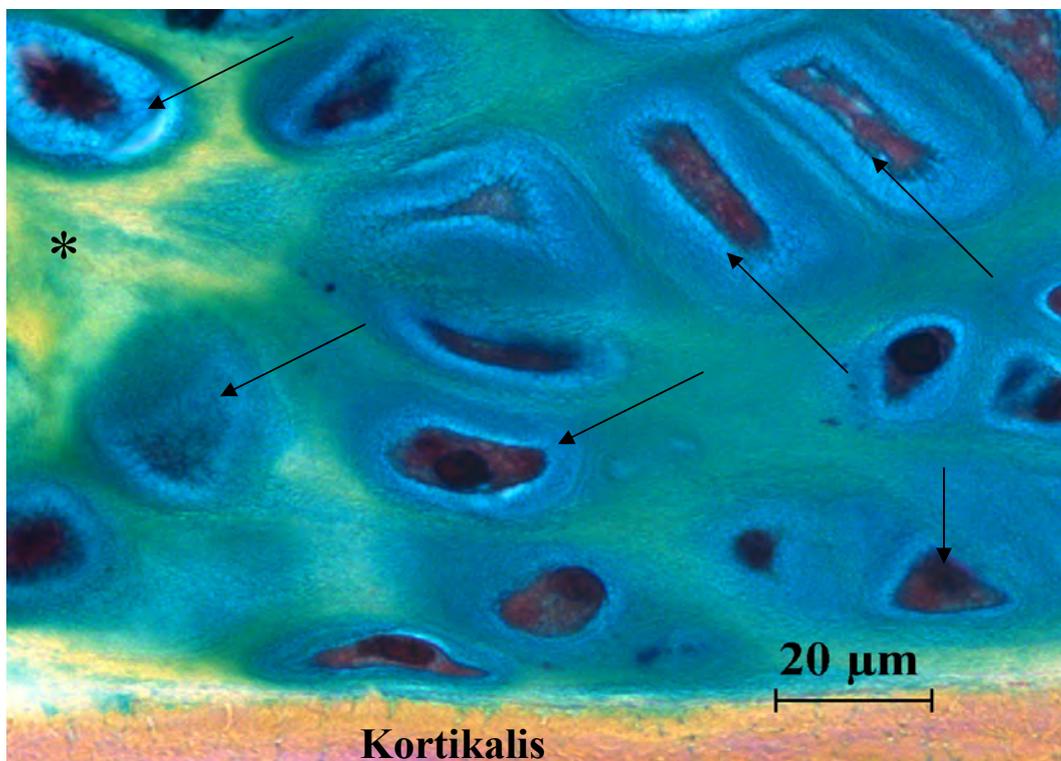


Abb. 17: MP-Färbung: hypertrophe Chondrozyten (Pfeile) des periostalen Kallus, allmählich einsetzende Vergelbung (\*) als Zeichen der Mineralisierung, Medium-Tier.

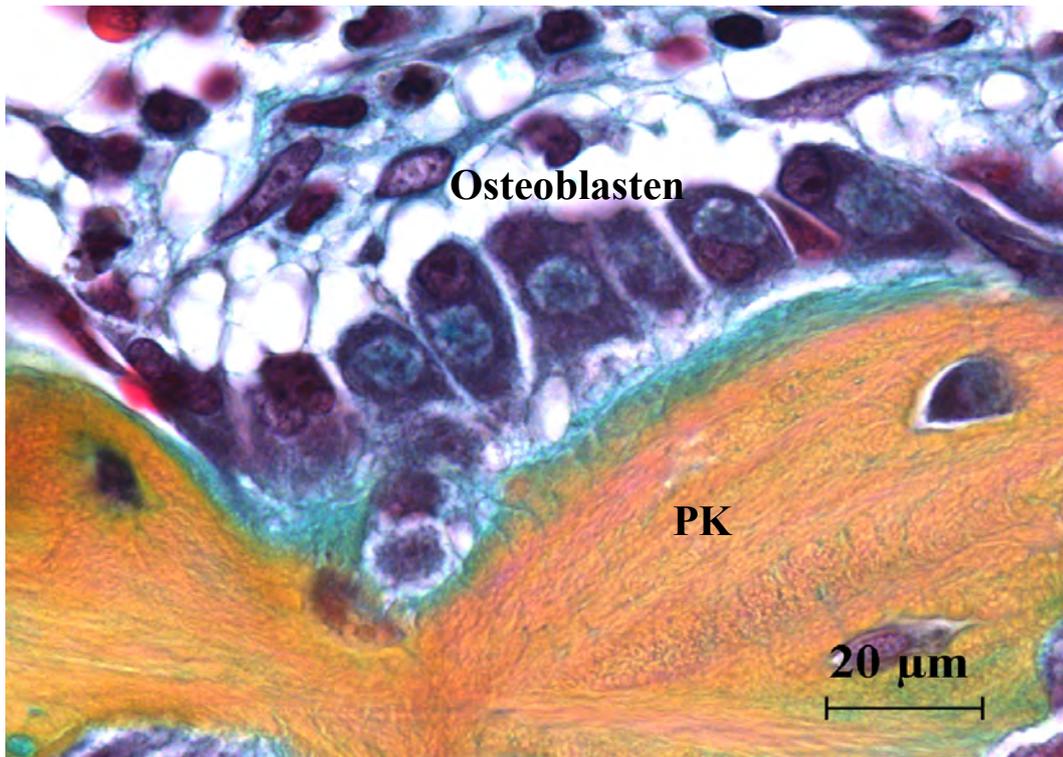


Abb. 18: MP-Färbung: Dachziegelähnlich angeordneter Osteoblastensaum im periostalen Kallus (PK), MSC-Tier.

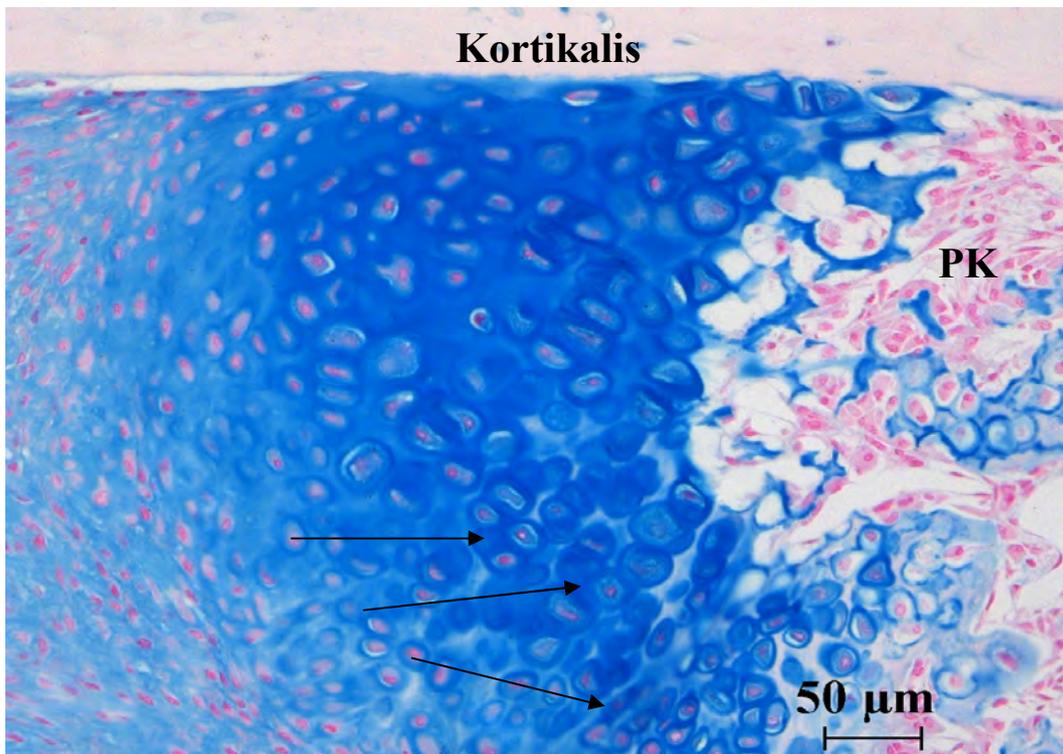


Abb. 19: Alcian Blau-Färbung: hypertrophe Chondrozyten als Knorpelkappe, deutlich säulenförmige Anordnung der Zellen (Pfeile) im periostalen Kallus (PK), Medium-Tier.

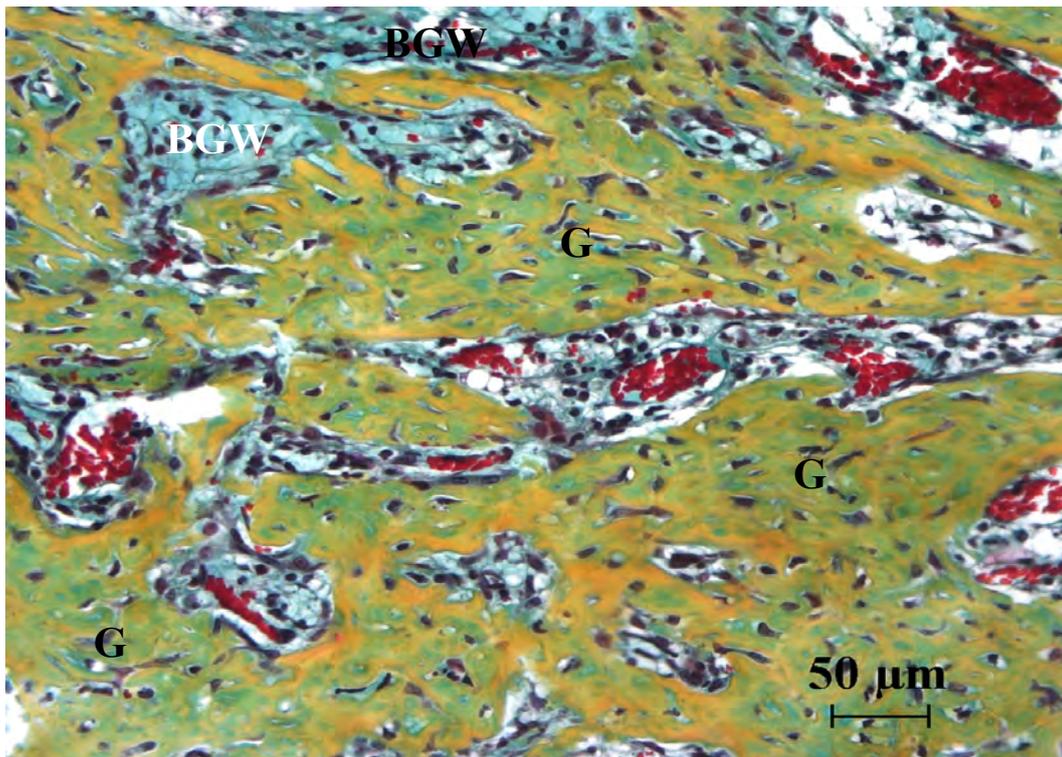


Abb. 20: MP-Färbung, endostale kallöse Geflechtknochenbälkchen (G), Zwischenräume mit Bindegewebe (BGW) gefüllt, MSC-Tier.

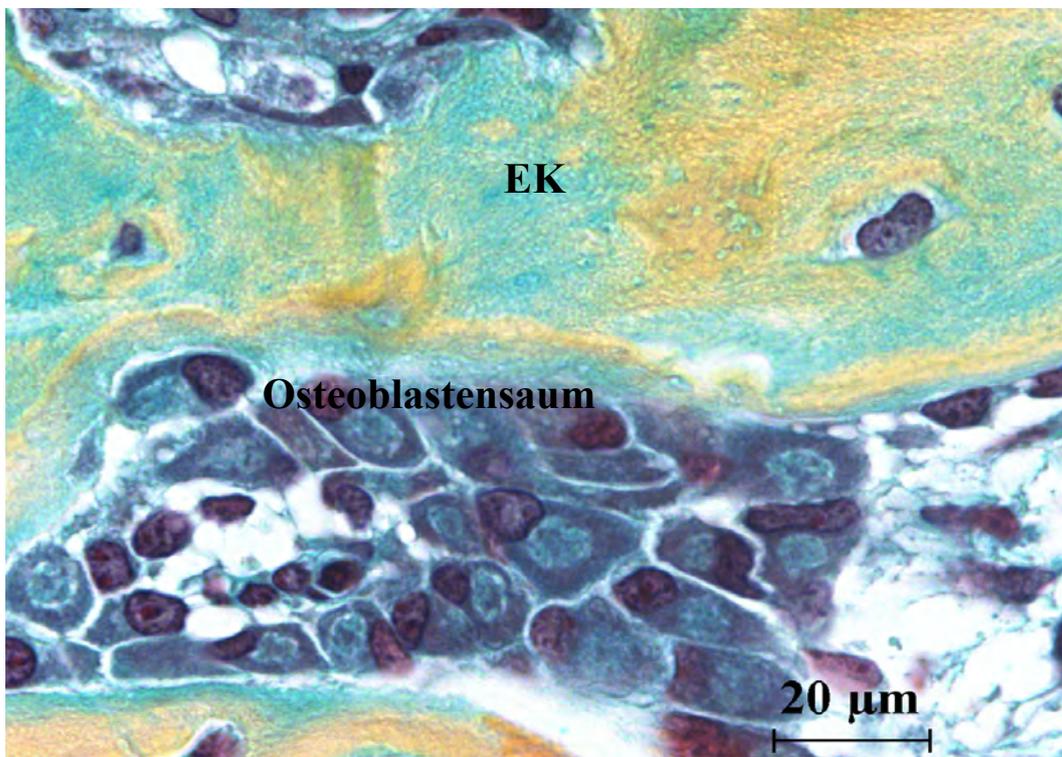


Abb. 21: MP-Färbung: Osteoblastensaum im des endostalen knöchernen Kallus (EK), MSC-Tier.

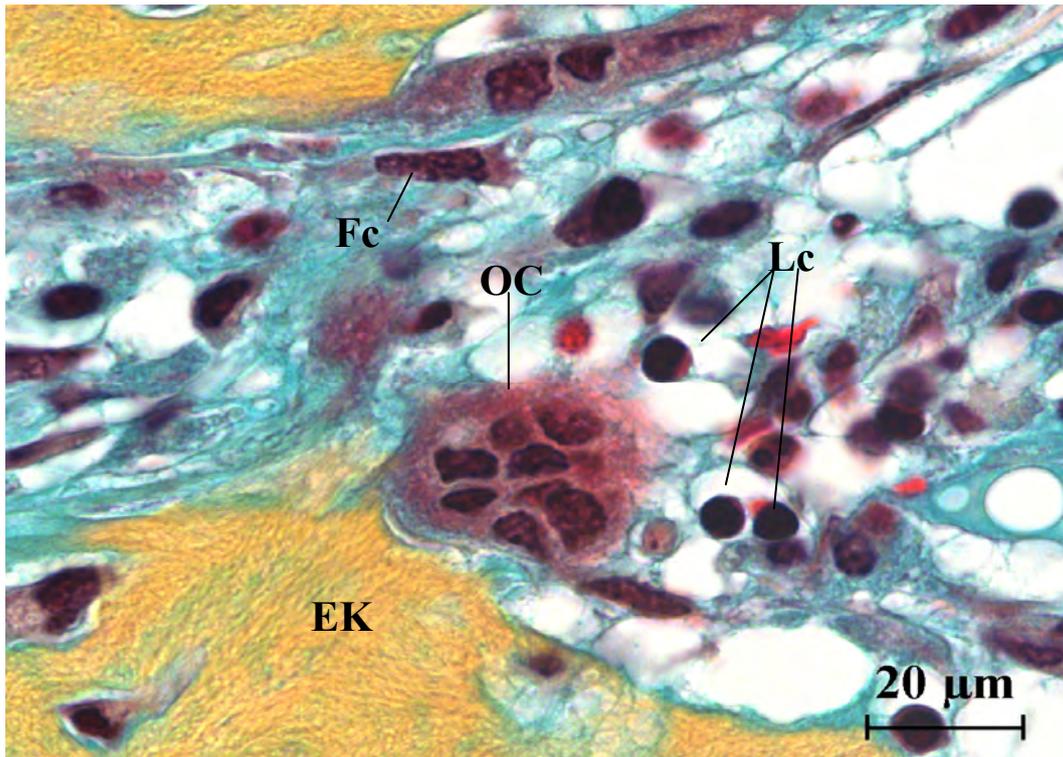


Abb. 22: MP-Färbung: zellkernreicher Osteoklast (OC) remodelt endostalen Kallus (EK), Lc = Lymphozyten Fc = Fibrozyt, Medium-Tier.

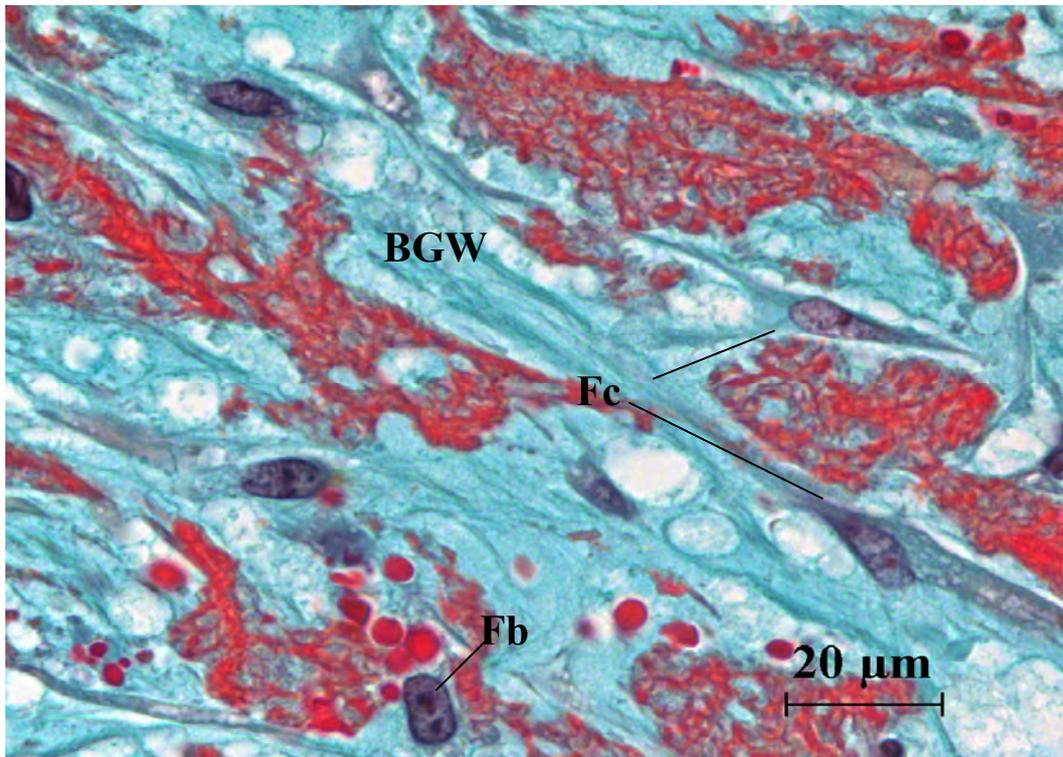


Abb. 23: MP-Färbung: Hämatom (rot) zwischen endostalen Bindegewebe (BGW) im Bereich der Osteotomie, Fb = Fibroblast, Fc = Fibrozyten, Medium-Tier.

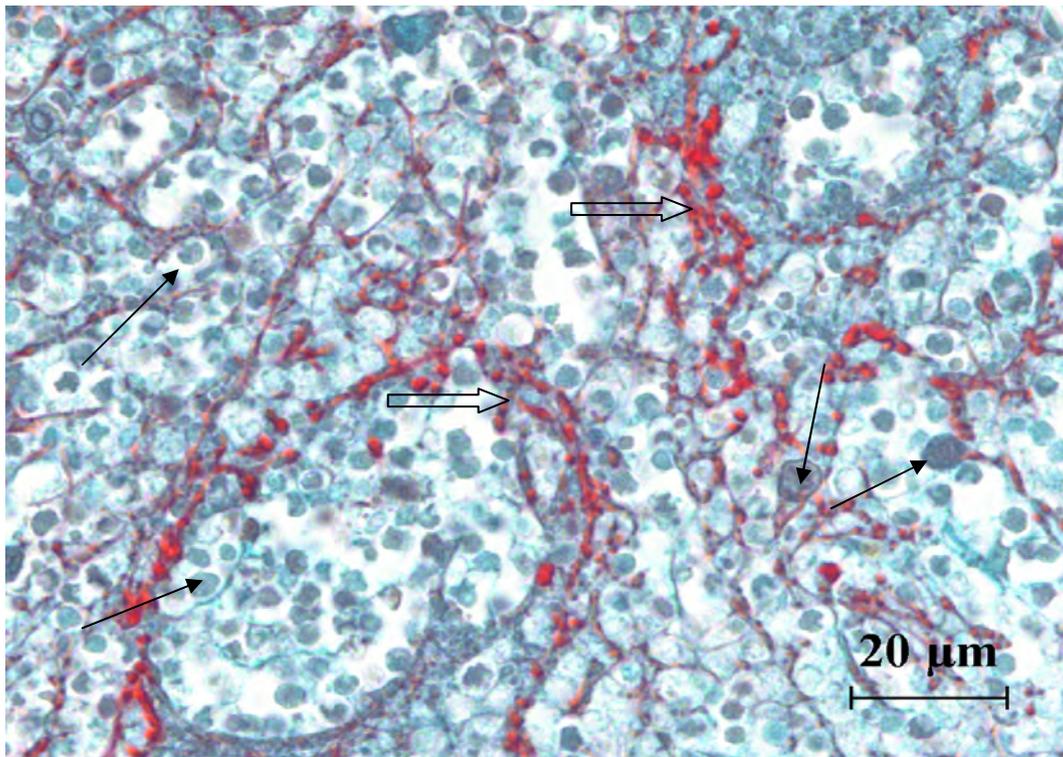


Abb. 24: MP-Färbung: Ausschnitt aus intramedullärer kammerartig aufgebauter zystoider Struktur. Deutlich erkennbar große runde, kernlose Zellen (schmale Pfeile) zwischen fibrinähnlichen Fäden (offene Pfeile), Medium-Tier.

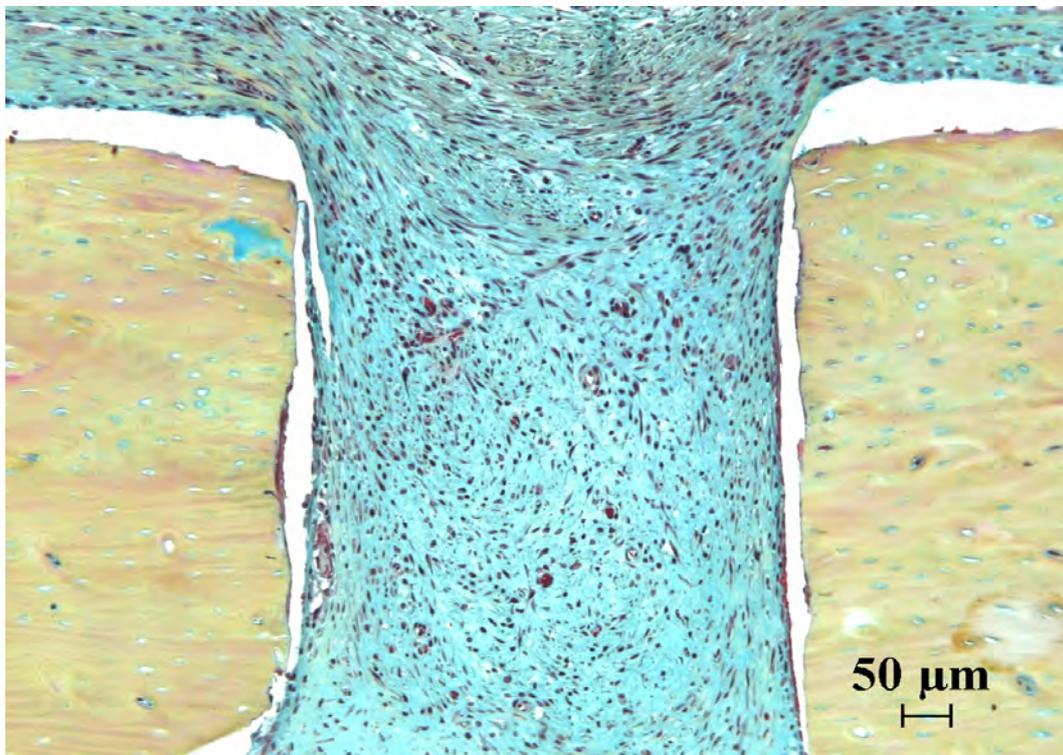


Abb. 25: MP-Färbung: Osteotomiespalt mit fibrotischem Gewebe gefüllt, MSC-Tier.

#### 4.2.2 Ergebnisse der histomorphometrischen Analyse

In die bildanalytische Auswertung gingen von den acht Tieren der Medium-Gruppe sechs Tiere mit jeweils vier nach Safranin O/von Kossa-gefärbten Präparaten ein. Bei sechs der acht MSC-Tiere wurden jeweils vier Präparate histomorphometrisch untersucht, zwei Tiere dieser Gruppe gingen mit jeweils nur drei Schnitten in die Auswertung ein. Die unterschiedliche Tier- und Präparateanzahl ist auf Ausfälle während des Schneidevorgangs zurückzuführen. Alle folgenden Ergebnisse werden als Gruppen-Median angegeben.

- **Gesamtflächen**

Die *Gesamtfläche* (Abb. 26), bestehend aus Knochen-, Bindegewebs- und Knorpelanteilen, betrug in der Medium-Gruppe 26,9 mm<sup>2</sup>, in der MSC-Gruppe 29,6 mm<sup>2</sup> ( $p = 0,35$ ). Die Fläche des *periostalen Kallus* war in der Medium-Gruppe kleiner, jedoch ohne signifikante Unterschiede ( $p = 0,08$ ). Sie betrug in der erstgenannten Gruppe 5,6 mm<sup>2</sup>, während sie in der letztgenannten Gruppe eine Fläche 9,9 mm<sup>2</sup> aufwies. Die *endostale Kallusfläche* unterschied sich in beiden Gruppen ebenfalls nicht signifikant ( $p = 0,35$ ). Der Median der Medium-Tiere lag bei 15,32 mm<sup>2</sup>, der der MSC-Gruppe bei 12,7 mm<sup>2</sup>.

Die Unterteilung der Gesamtfläche in *Gesamtknochenfläche* (bestehend aus kortikalen Knochen und knöchernen Kallus), *Gesamt-mineralisierte Knochenfläche* (als Teil der Gesamtknochenfläche), *Gesamtbindingewebs-* und *Gesamtknorpelfläche* ist im Gruppenvergleich in Abbildung 27 dargestellt. Statistisch signifikante Unterschiede zugunsten der MSC-Gruppe lassen sich nur bei der Betrachtung der Gesamtknorpelfläche darstellen ( $p = 0,02$ ). Wurden die eben genannten Gesamtteilflächen auf die Gesamtfläche bezogen, so konnte der relative (prozentuale) Anteil der jeweiligen Teilfläche an der Gesamtfläche ermittelt werden. Auch hier kristallisierten sich statistisch signifikante Unterschiede nur im Knorpelanteil der MSC-Tiere heraus ( $p = 0,02$ ). Absolutzahlen, prozentuale Anteile und entsprechende p-Werte der Teilflächen sind in Tabelle 5 dargestellt. Bei der Betrachtung der Knochenfläche muss beachtet werden, dass hier die kortikale Knochenfläche ein Teil dieser Fläche darstellt, die sonst unberücksichtigt blieb.

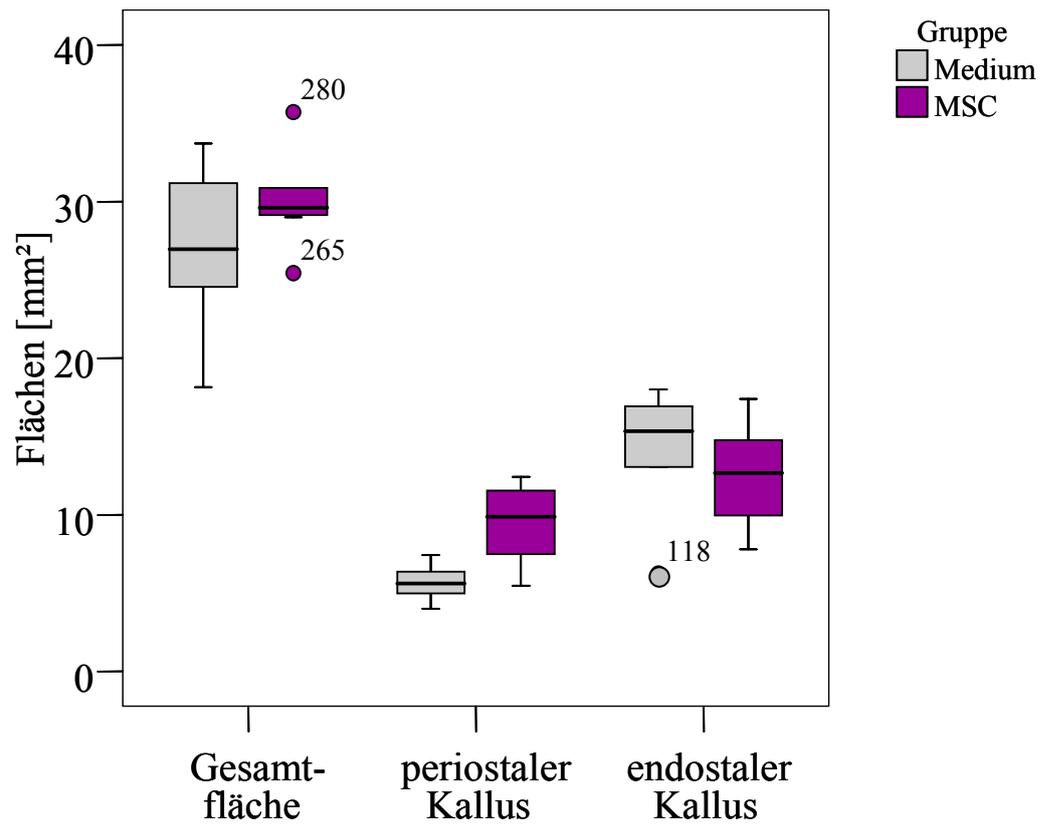
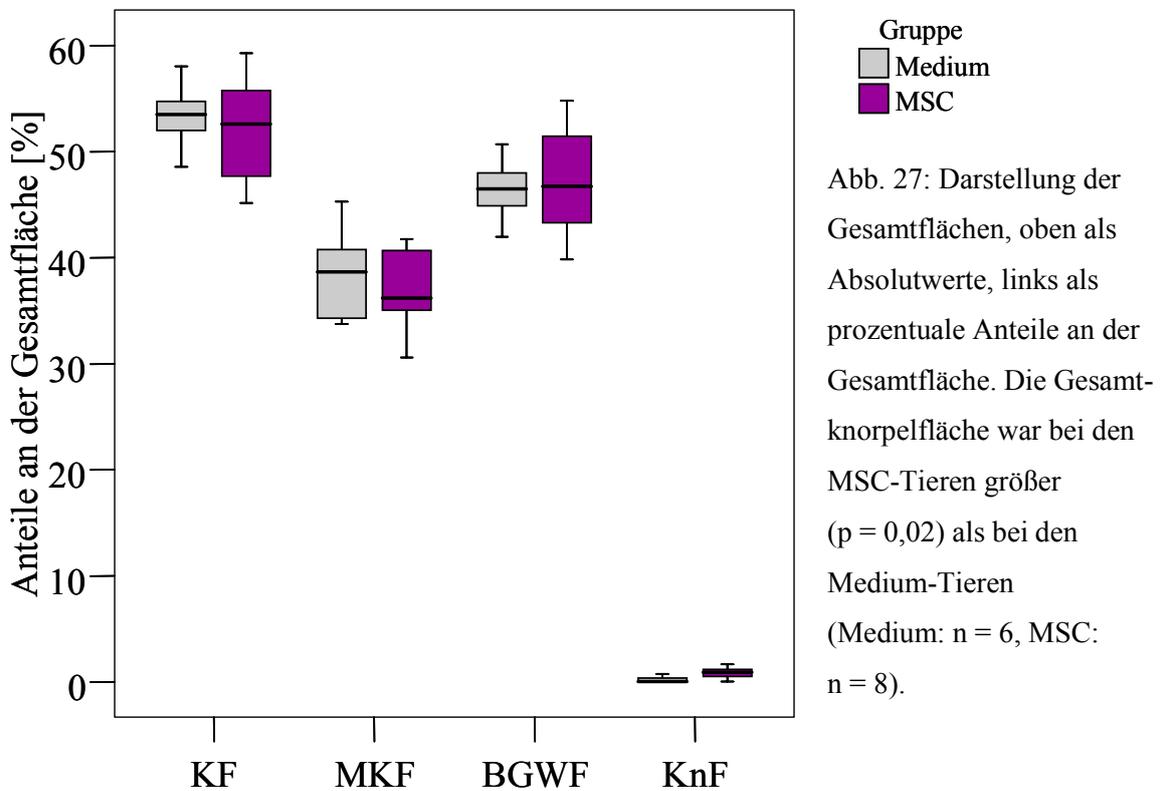
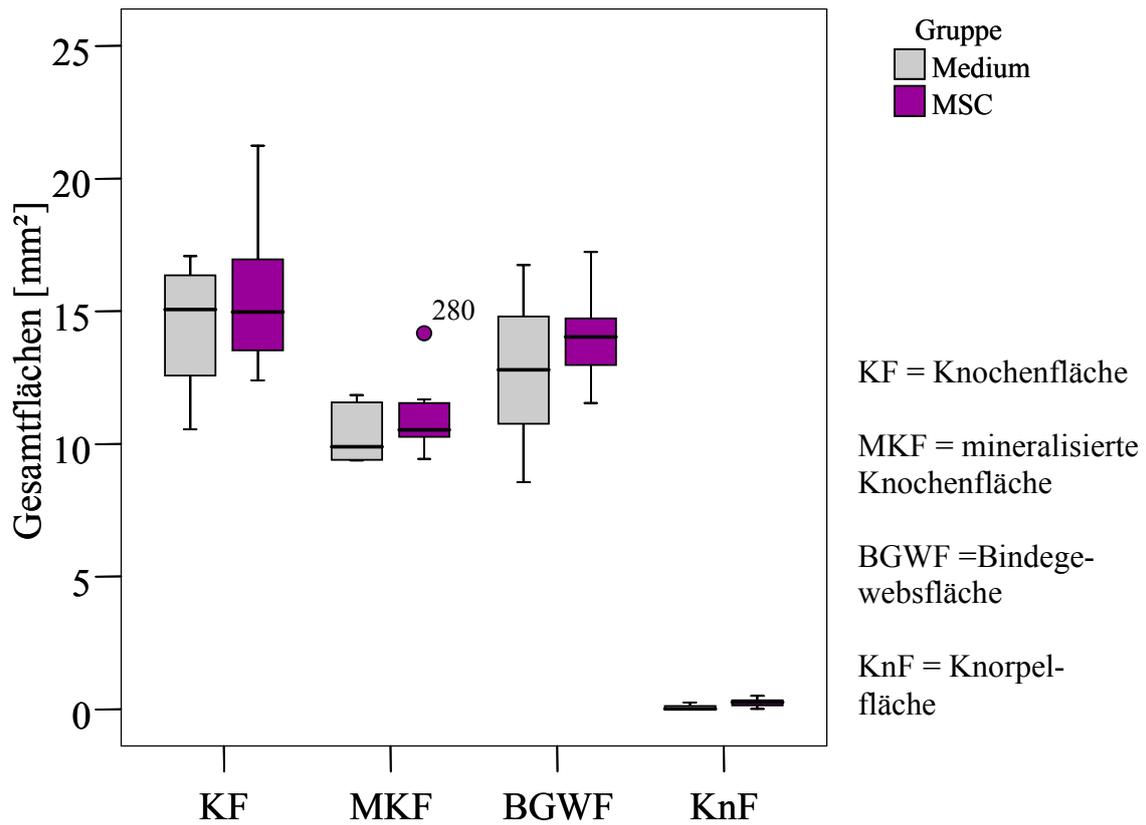


Abb. 26: Darstellung der Gesamtfläche, des periostalen und endostalen Kallus ohne signifikante Unterschiede [mm<sup>2</sup>] (Medium: n = 6, MSC: n = 8).



Parameter	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Gesamtknochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	15,1	10,6-17,1	15,0	12,4-21,2	0,8
Gesamtknochenfläche [%]	53,5	48,6-58,1	52,6	45,2-59,3	0,57
Gesamt-min. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	9,9	9,4-11,9	10,5	9,4-14,2	0,35
Gesamt-min. Knochenfläche [%]	38,7	33,7-45,3	36,2	30,6-41,7	0,85
Gesamtbindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	12,8	8,6-16,7	14,0	11,6-17,2	0,5
Gesamtbindegewebsfläche [%]	46,5	42-50,7	46,7	39,8-54,8	0,95
Gesamtknorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0,3	0,3	0-0,8	0,02
Gesamtknorpelfläche [%]	0	0-0,8	0,9	0-1,7	0,02

Tab. 5: Darstellung der Gesamtflächen als Absolutwerte und als prozentuale Anteile an der Gesamtfläche. Signifikanzen bestehen nur in der Knorpelfläche (Medium: n = 6, MSC: n = 8).

- **Histomorphometrische Analyse des periostalen Kallus**

Die Analyse der einzelnen Komponenten des periostalen Kallus erbrachte für die untersuchten Flächen, als Absolutzahl ausgedrückt, signifikante Unterschiede. Diese Signifikanz zwischen beiden Gruppen, zum Vorteil der MSC-Tiere, relativierte sich bei Betrachtung der Anteile der einzelnen Flächen in Bezug zur Gesamtfläche [%] des periostalen Kallus. Im Folgenden wird der periostale Kallus entsprechend der Gewebekomponenten statistisch und graphisch dargestellt. Des Weiteren erfolgt die getrennte Darstellung der lateralen und medialen Seite des Kallus (in tabellarischer Form). Zu beachten ist, dass bei der Betrachtung der Knochenfläche und der mineralisierten Knochenfläche die Kortikalis nicht integriert wurde. Die Darstellung der Zusammensetzung des periostalen Kallus in Absolutzahlen und in Relation zur periostalen Kallusgesamtfläche findet sich in Abbildung 28 und in Tabelle 6.

Die absolute *Knochenfläche* des periostalen Kallus unterschied sich zwischen beiden Gruppen signifikant ( $p < 0,01$ ). Der Median der Medium-Gruppe (2,3 mm<sup>2</sup>) lag unter dem der MSC-Gruppe (4,7 mm<sup>2</sup>). Bei differenzierten Betrachtung der Knochenfläche des lateralen und medialen periostalen Kallus wurden signifikante Unterschiede zu Gunsten der MSC-Gruppe im lateralen periostalen Kallus ( $p = 0,04$ ) deutlich.

Wurde die Knochenfläche auf die gesamte periostale Kallusfläche bezogen, so konnten zwischen beiden Gruppen keine Unterschiede dargestellt werden ( $p = 0,75$ ). Die Knochenfläche hatte bei den Medium-Tieren einen Anteil von 43 % am periostalen Kallus, bei den MSC-Tieren machte diese Fläche 44,8 % von der Gesamtfläche des periostalen Kallus

aus. Auch die Unterteilung in laterale und mediale periostale Knochenfläche zeigte keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,5$  und  $p = 0,35$ ).

Die Fläche des *mineralisierten Knochens*, als Teil der periostalen Knochenfläche, war bei den Medium-Tieren signifikant kleiner ( $p = 0,01$ ) als bei den MSC-Tieren ( $1,3 \text{ mm}^2$  vs.  $2,2 \text{ mm}^2$ ). Innerhalb des lateralen periostalen Kallus ergaben sich keine Signifikanzen bei Betrachtung der Absolutfläche ( $p = 0,14$ ). Die MSC-Tiere zeigten eine signifikant größere mineralisierte Knochenfläche im medialen periostalen Kallus ( $p = 0,03$ ).

Der prozentuale Anteil der mineralisierten Knochenfläche erbrachte keine Unterschiede im Gruppenvergleich ( $p = 0,49$ ). Die Medium-Gruppe wies einen größeren Anteil als die MSC-Gruppe auf ( $26,3 \%$  vs.  $22,2 \%$ ). Lateral und medial ließen sich bei Betrachtung dieses Parameters keine Unterschiede ausmachen (jeweils  $p = 0,66$ ).

Die histomorphometrische Analyse der *Bindegewebsfläche* des periostalen Kallus zeigte in der Gruppe der Medium-Tiere einen kleineren Median-Wert ( $3,1 \text{ mm}^2$ ) als in der MSC-Gruppe ( $4,8 \text{ mm}^2$ ). Es ergab sich hinsichtlich dieses Parameters ein p-Wert von 0,01. Im lateralen periostalen Kallus zeigten sich keine Unterschiede ( $p = 0,11$ ), im medialen periostalen Kallus hingegen war die Bindegewebsfläche bei den MSC-Tieren signifikant größer ( $p = 0,01$ ).

Der prozentualen Anteil des Bindegewebes an der periostalen Gesamtfläche war in der Medium-Gruppe höher ( $55,4\%$ ) als die MSC-Gruppe ( $51,6\%$ ), jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,35$ ). Der Bindegewebsanteil des periostalen Kallus unterschied sich weder lateral noch medial ( $p = 0,28$ ).

Die MSC-Tiere wiesen im periostalen Kallus eine signifikant größere *Knorpelfläche* ( $p = 0,02$ ) als die Tiere der Medium-Gruppe auf ( $0,27 \text{ mm}^2$  vs.  $0 \text{ mm}^2$ ). Die Knorpelfläche der MSC Tiere ging mit  $0,3 \text{ mm}^2$  in die mediale periostale Kallusfläche ein. Auf der lateralen Seite fand sich auch analog der Medium-Gruppe in der MSC-Gruppe kein Knorpel. Demzufolge waren auch nur die Ergebnisse der medialen Seite statistisch signifikant ( $p = 0,02$ ).

Die Tiere der MSC-Gruppe zeigten zwar einen höheren Knorpelanteil ( $2,4 \%$  vs.  $0,2 \%$ ), jedoch ohne signifikante Unterschiede ( $p = 0,08$ ). Weder für den lateralen noch für den medialen periostalen Kallus ergaben sich signifikante Unterschiede ( $p = 1,0$  und  $p = 0,08$ ) im Gruppenvergleich.

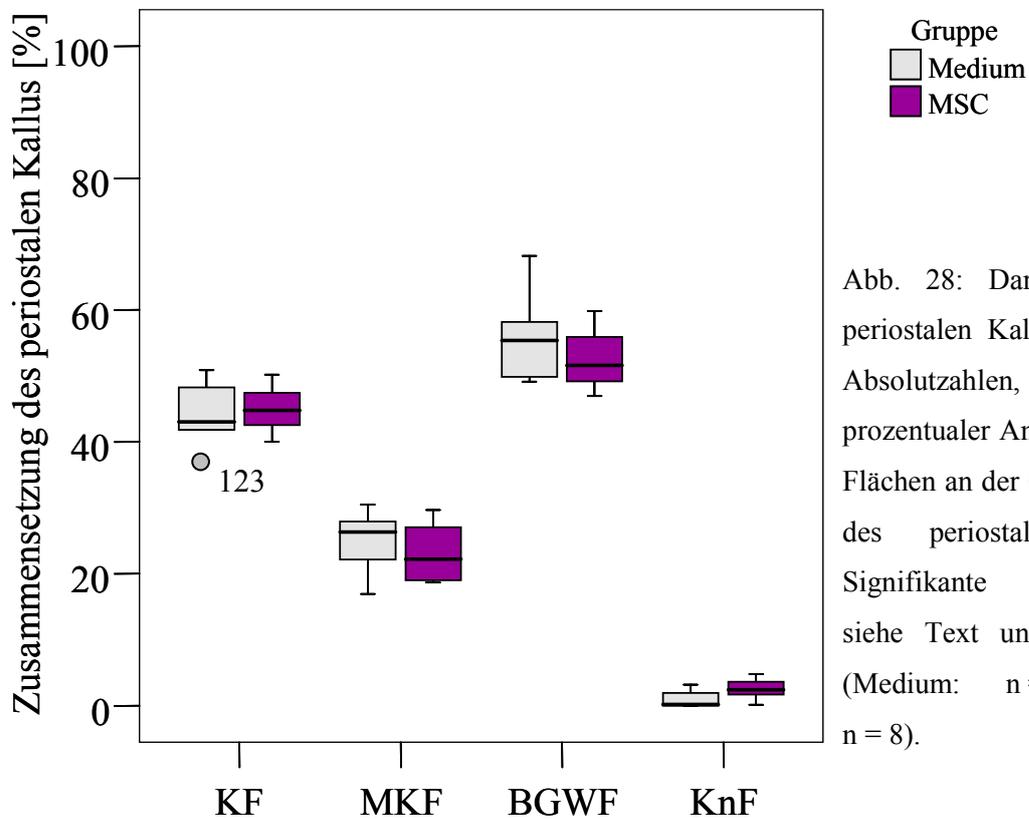
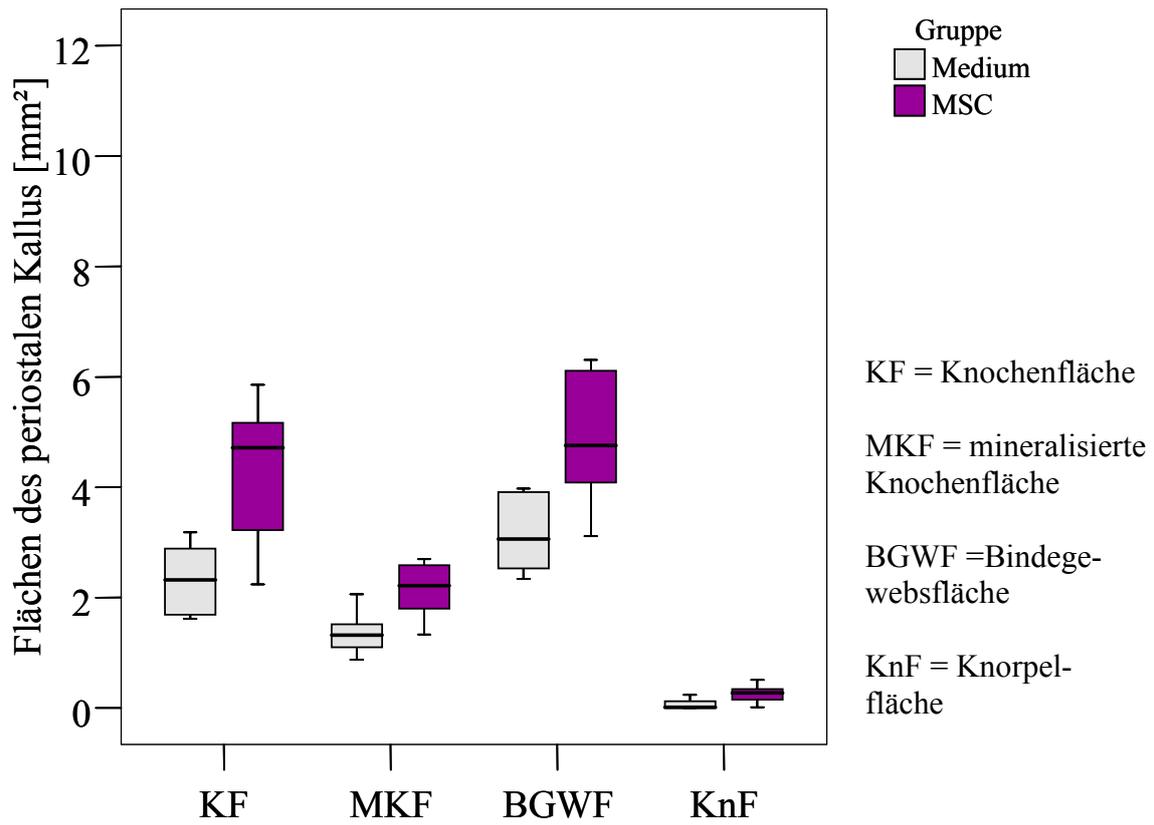


Abb. 28: Darstellung des periostalen Kallus. Oben in Absolutzahlen, links als prozentualer Anteil einzelner Flächen an der Gesamtfläche des periostalen Kallus. Signifikante Unterschiede siehe Text und Tabelle 6 (Medium: n = 6, MSC: n = 8).

Parameter des periostalen Kallus	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	2,3	1,6-3,2	4,7	2,2-5,9	0,01
-lat. periost. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,2	0,6-2,3	1,6	0,9-2,6	0,04
-med. periost. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,1	0,22-1,9	2,4	1,3-4,2	0,09
Knochenfläche [%]	43,0	31,2-51,0	44,8	40,0-50,2	0,8
-lat. periost. Knochenfläche [%]	39,6	25,4-55,1	46,0	35,4-50,2	0,28
-med. periost. Knochenfläche [%]	45,3	27,2-51,6	47,3	39,1-50,8	0,66
Mineralisierte Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,3	0,9-2,1	2,2	1,3-2,7	0,01
-lat. periost. mineral. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	0,5	0,3-1,4	0,9	0,5-1,2	0,14
-med. periost. mineral. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	0,7	0,1-1,3	1,3	0,8-1,8	0,03
Mineralisierte Knochenfläche [%]	26,3	17,0-30,5	22,2	18,7-29,7	0,49
-lat. periost. mineral. Knochenfläche [%]	20,9	11,5-32,9	23,4	11,2-28,6	0,66
-med. periost. mineral. Knochenfläche [%]	28,8	16,2-39,4	25,9	18,2-31,1	0,66
Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	3,1	2,3-4,0	4,8	3,1-6,3	0,01
-lat. periost. Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,8	1,2-2,1	2,2	1,1-3,5	0,11
-med. periost. Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,4	0,6-2,2	2,3	1,7-4,2	0,01
Bindegewebsfläche [%]	55,4	49,1-68,2	51,6	47,0-59,8	0,35
-lat. periost. Bindegewebsfläche [%]	60,4	44,9-74,7	54,0	49,6-64,6	0,28
-med. periost. Bindegewebsfläche [%]	52,0	44,8-72,8	48,4	43,2-58,8	0,28
Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0,2	0,3	0-0,5	0,02
-lat. periost. Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0	0	0-0	1,0
-med. periost. Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0,2	0,3	0-0,5	0,02
Knorpelfläche [%]	0,2	0-3,2	2,4	0,1-4,8	0,08
-lat. periost. Knorpelfläche [%]	0	0-0	0	0-0,1	1
-med. periost. Knorpelfläche [%]	0,3	0-5,4	3,9	0,3-10,2	0,08

Tab. 6: Anteile des periostalen Kallus als Absolutzahlen [mm<sup>2</sup>] und relative Werte [%]. Unterschieden wird auch zwischen lateralen und medialen periostalen Kallus.

- **Histomorphometrische Analyse des endostalen Kallus**

Die Darstellung des endostalen Kallus erfolgt analog der des periostalen Kallus.

Im endostalen Kallus lassen sich weder bei Betrachtung der Absolutwerte noch der prozentualen Anteile der analysierten Gewebekomponenten statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen darstellen. Auf die Werte des lateralen und medialen endostalen Kallus wird nur in Tabelle 7 eingegangen. Die graphische Darstellung findet sich in Abbildung 29, die Absolut- und Relativwerte in Tabelle 7.

Die Tiere der Medium-Gruppe bildeten im Median eine größere endostale *Knochenfläche* als die MSC-Tiere (5,5 mm<sup>2</sup> vs. 3,9 mm<sup>2</sup>), jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,2$ ). Die Knochenfläche der Medium-Tiere hatte einen Anteil von 35,1 % an der endostalen Gesamtfläche. Die Knochenfläche der MSC-Tiere trug mit 25,7 % zur endostalen Gesamtfläche bei ( $p = 0,49$ ).

Die *mineralisierte Knochenfläche* der Medium-Gruppe wies mit 2,0 mm<sup>2</sup> eine größere Fläche als die der MSC-Gruppe mit 1,6 mm<sup>2</sup> auf ( $p = 0,49$ ). Der Anteil der mineralisierten Knochenfläche an der endostalen Gesamtfläche zeigte in beiden Gruppen eine große Ähnlichkeit ( $p = 0,95$ ). Relativ gesehen betrug diese Fläche 13,4 % bei den Medium-Tieren und 10,6 % bei den Tieren, denen autologe mesenchymale Stammzellen in den Osteotomiespalt appliziert wurden.

Nach einer Heilungszeit von zwei Wochen ergaben sich bezüglich der *Bindegewebsfläche* des endostalen Kallus weder absolut noch relativ signifikante Unterschiede ( $p = 0,57$  und  $p = 0,49$ ). Im endostalen Kallus bildete sich in der Medium-Gruppe 9,6 mm<sup>2</sup> und in der MSC-Gruppe im Median 8,3 mm<sup>2</sup> Bindegewebe. Dies entsprach einem Anteil von 64,9 % bzw. 74,3 % Bindegewebe an der endostalen Gesamtkallusfläche.

*Knorpel* fand bei beiden untersuchten Tiergruppen im endostalen Kallus kaum. Der Median lag bei beiden Gruppen bei 0 mm<sup>2</sup> resp. 0 % ( $p = 0,74$ ).

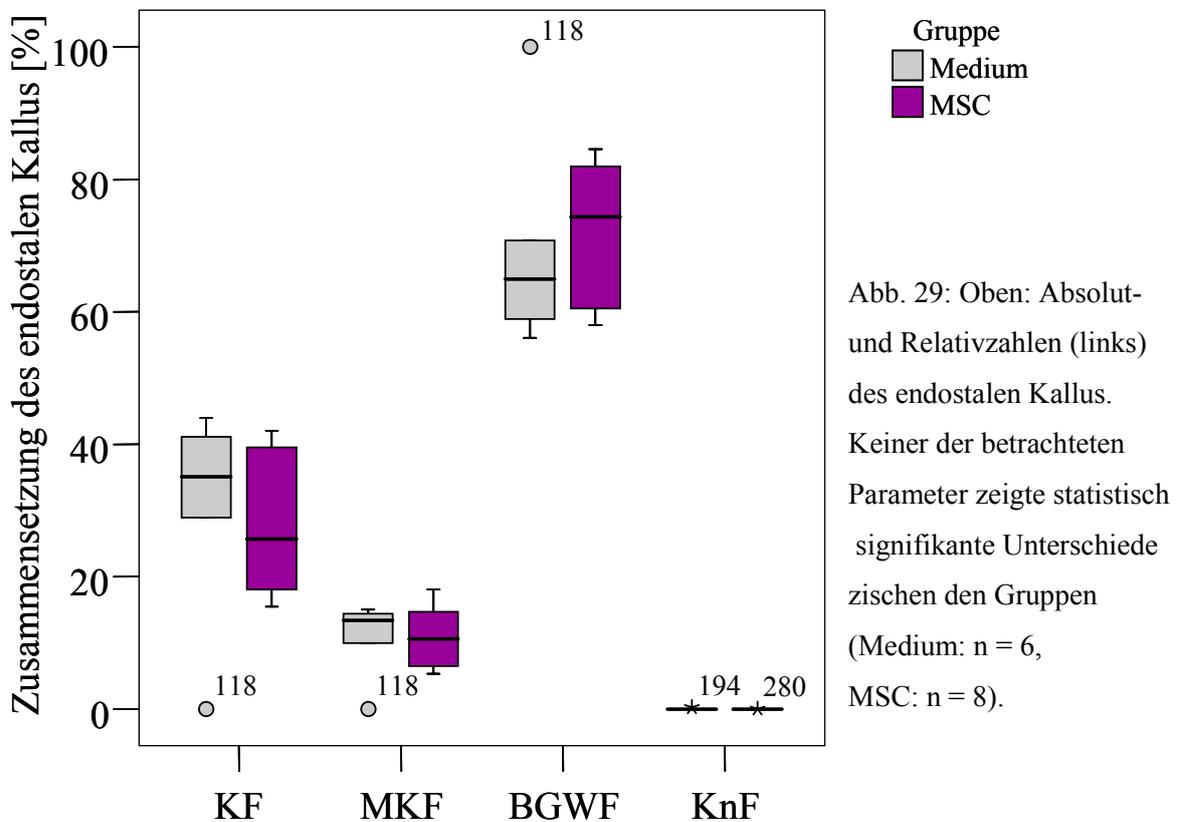
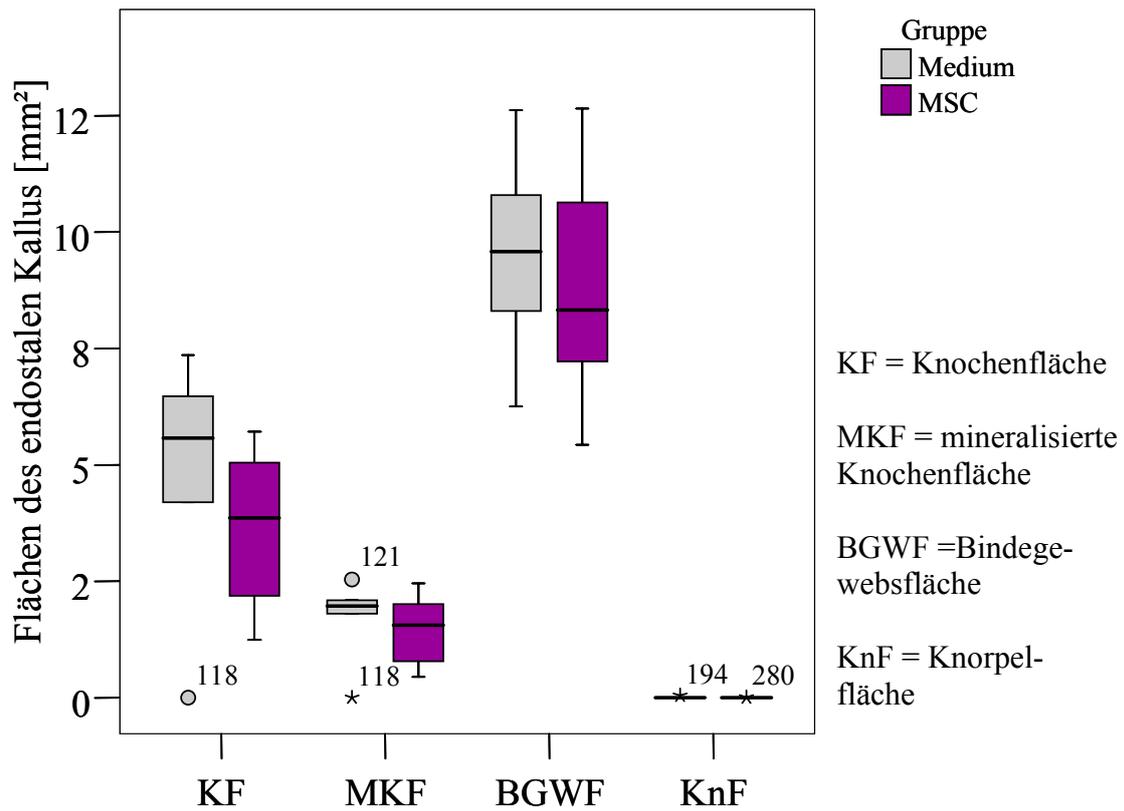


Abb. 29: Oben: Absolut- und Relativzahlen (links) des endostalen Kallus. Keiner der betrachteten Parameter zeigte statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Medium: n = 6, MSC: n = 8).

Parameter des endostalen Kallus	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	5,6	0-7,4	3,9	1,2-5,7	0,22
-lat. endost. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	2,5	0-2,8	1,6	0,7-2,5	0,08
-med. endost. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	3,0	0-4,6	2,4	0,6-3,3	0,36
Knochenfläche [%]	35,1	0-44,0	25,7	15,4-42,0	0,49
-lat. endost. Knochenfläche [%]	33,0	0-37,4	20,1	13,8-39,4	0,57
-med. endost. Knochenfläche [%]	38,1	0-51,9	30,6	16,81-46,1	0,49
Mineralisierte Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	2,0	0-2,5	1,6	0,44-2,5	0,49
-lat. endost. mineral. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	0,9	0-1,0	0,6	0,2-1,2	0,49
-med. endost. mineral. Knochenfläche [mm <sup>2</sup> ]	1,1	0-1,5	1,0	0,2-1,3	0,66
Mineralisierte Knochenfläche [%]	13,4	0-15,0	10,6	5,3-18,1	0,95
-lat. endost. mineral. Knochenfläche [%]	10,6	0-15,2	7,8	4,7-18,1	0,76
-med. endost. mineral. Knochenfläche [%]	14,6	0-17,9	13,4	4,8-17,5	0,66
Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	9,6	6,3-12,6	8,3	5,4-12,7	0,57
-lat. endost. Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	4,9	3,3-6,6	4,1	2,6-6,5	0,36
-med. endost. Bindegewebsfläche [mm <sup>2</sup> ]	4,4	3,0-6,2	4,3	2,9-6,1	0,8
Bindegewebsfläche [%]	64,9	56,1-100,0	74,3	58,0-84,6	0,49
-lat. endost. Bindegewebsfläche [%]	67,0	62,6-100,0	79,9	60,5-86,2	0,57
-med. endost. Bindegewebsfläche [%]	61,7	48,1-100,0	69,4	53,9-83,2	0,49
Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0,1	0	0-0,01	0,74
-lat. endost. Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0	0	0-0	1
-med. endost. Knorpelfläche [mm <sup>2</sup> ]	0	0-0,1	0	0-0	0,43
Knorpelfläche [%]	0	0-0,3	0	0-0,03	0,74
-lat. endost. Knorpelfläche [%]	0	0-0	0	0-0	1
-med. endost. Knorpelfläche [%]	0	0-0,5	0	0-0	0,43

Tab. 7: Anteile des endostalen Kallus als Absolutzahlen [mm<sup>2</sup>] und relative Werte [%]. Unterschieden wird auch zwischen lateralen und medialen endostalen Kallus.

- **Histomorphometrische Analyse des Osteotomiespaltes**

Der Osteotomiespalt, als Teilfläche des periostalen und endostalen Kallus, wies in beiden Gruppen ausschließlich Bindegewebe auf. Aus diesem Grund wird auf die detaillierte statistische Auswertung des Osteotomiespaltes verzichtet.

- **Histologische Ergebnisse**

In die folgenden Auswertungen gingen pro Gruppen acht Tiere mit je einem Kollagen-II und einem nach Movat Pentachrom gefärbten Präparat ein.

- **Prozentualer Anteil Kollagen-II positiver Areale/Fläche [mm<sup>2</sup>]**

Die statistische Auswertung der Kollagen-II positiv gefärbten Präparate ergab zwischen beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (Abb. 30). Histologisch und histomorphometrisch konnten nur kleine Kollagen-II positiv gefärbte Areale dargestellt werden. Den flächenmäßig größten Anteil Kollagen-II positiver Bereiche wies in beiden Gruppen der periostale Kallus auf. So zeigte die Medium-Gruppe im Median einen Anteil von 1,8 % und die MSC-Gruppe im Median einen Anteil von 2,8 % Kollagen-II an der periostalen Kallusfläche. Bezüglich des Kollagen-II Anteils im endostalen Kallus ähnelten sich beide Gruppen noch deutlicher. Hier wies die Medium-Gruppe einen Median-Wert von 0,7 % und die MSC-Gruppe einen Median-Wert von 0,6 % auf. Im Osteotomiespalt konnte in beiden Gruppen keine Kollagen-II positiv gefärbten Knorpelareale nachgewiesen werden. Eine Ausnahme bildete ein Tier der MSC-Gruppe (Tab. 8). Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass die positiv gefärbte Knorpelkappe des periostalen Kallus bis in den Bereich des Osteotomiespaltes ragte. Es muss beachtet werden, dass die Fläche des Osteotomiespaltes eine Teilfläche des periostalen und endostalen Kallus darstellte.

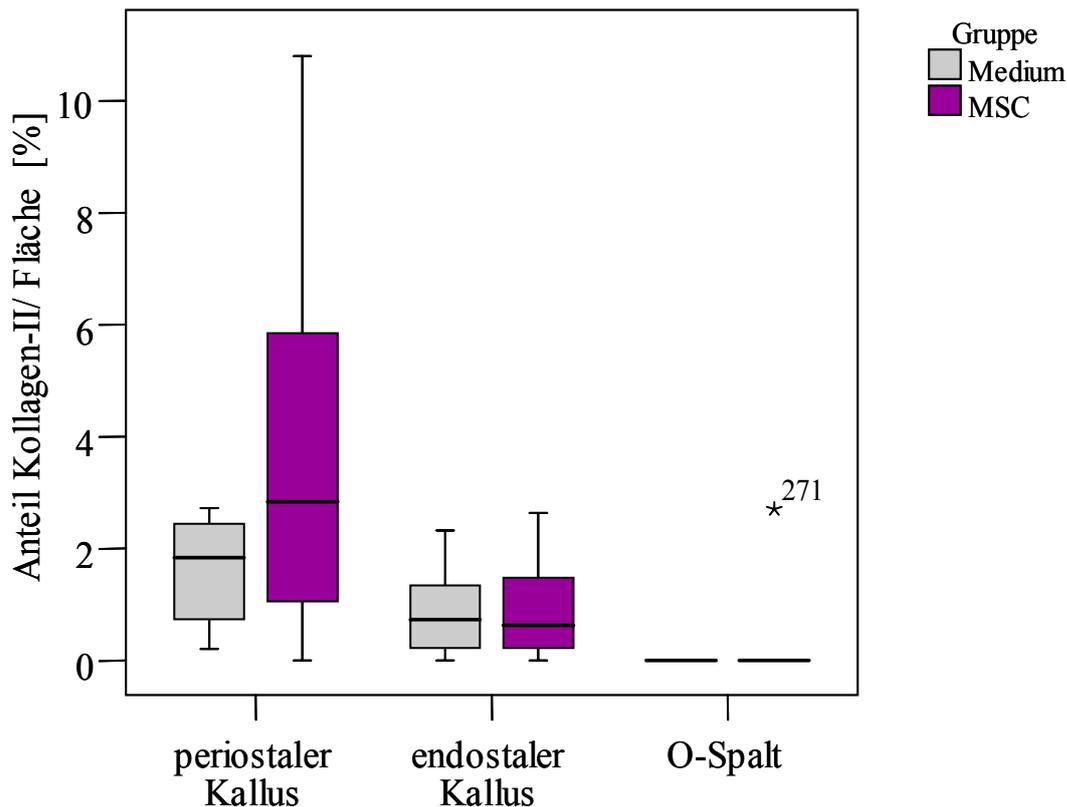


Abb. 30: Darstellung des prozentualen Anteils Kollagen-II positiv gefärbter Knorpelareale in der jeweiligen Lokalisation. Ersichtlich das Fehlen Kollagen-II im Osteotomiespalt (O-Spalt). Eine Ausnahme bildet hier ein MSC-Tier (271). Zwischen beiden Gruppen bestehen in keiner Lokalisation statistisch signifikante Unterschiede (n = 8/Gruppe).

Parameter	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Anteil Koll.-II an peri. Kallusfläche [%]	1,8	0,2-2,7	2,8	0-10,8	0,2
-Anteil Koll.-II an lat. peri. Kallusfläche [%]	1,4	0-2,8	1,6	0-10,6	0,55
-Anteil Koll.-II an med. peri. Kallusfläche [%]	1,7	0-4,9	2,7	0-18,2	0,65
Anteil Koll.-II an end. Kallusfläche [%]	0,7	0-2,3	0,6	0-2,6	0,96
-Anteil Koll.-II an lat. end. Kallusfläche [%]	0,8	0-2,8	0,6	0-3,2	0,73
-Anteil Koll.-II an med. end. Kallusfläche [%]	1,1	0-1,9	0,4	0-2,4	0,63
Anteil Koll.-II an Osteotomiespaltfläche [%]	0	0	0	0-2,7	1

Tab. 8: Darstellung des Kollagen-II Anteils des periostalen und endostalen Kallus und des Osteotomiespaltes.

- **Gefäßdichte**

Beide Gruppen zeigen nach einer Standzeit von zwei Wochen sowohl periostal als auch endostal eine hohe Gefäßdichte. Auffällig war die breite Streuung der Werte v. a. in der Medium-Gruppe (Tab. 9). Im Median wiesen die Tiere dieser Gruppe im Vergleich zur

MSC-Gruppe eine höhere *Gesamt-Gefäßzahl* pro Quadratmillimeter periostale (40,2 vs. 28,8 Gefäße/mm<sup>2</sup>) und endostale (30,1 vs. 19,6 Gefäße/mm<sup>2</sup>) Bindegewebsfläche auf. Die statistische Auswertung zeigte, dass signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen hinsichtlich dieses Parameters weder periostal ( $p = 0,21$ ) noch endostal ( $p = 0,44$ ) bestanden. Der Seitenvergleich der periostalen Kalli beider Gruppen machte jedoch deutlich, dass die Medium-Gruppe eine signifikant höhere Gefäßdichte medial zeigte ( $p = 0,04$ ) (Tab. 9). Die Gefäßdichte des Osteotomiespaltes war in beiden Gruppen deutlich höher als die des periostalen und endostalen Kallus (Abb. 31). Die Medium-Gruppe zeigte im Median eine geringere Gefäßdichte als die MSC-Gruppe (50,7 vs. 87,6 Gefäße/mm<sup>2</sup>). Aber auch hier bestanden zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p = 0,28$ ). Es muss aber beachtet werden, dass die Fläche des Osteotomiespaltes eine Teilfläche der periostalen und endostalen Bindegewebsfläche darstellt. Die hohe Gefäßdichte im Osteotomiespalt ergab sich unter anderem durch die teilweise sehr kleine Bindegewebsfläche (<1mm<sup>2</sup>) in diesem Bereich, in der relativ viele Gefäße gezählt werden konnten.

Die Unterteilung der Gesamtgefäßdichte in kleine (<40  $\mu\text{m}$ ) und große (>40  $\mu\text{m}$ ) Gefäße machte deutlich, dass zum Zweiwochenzeitpunkt in allen untersuchten Bereichen die Dichte kleiner Gefäße deutlich über der großer Gefäße lag (Tab. 9).

Die Dichte *kleiner Gefäße* ähnelt derer der Gesamtgefäße. Auch hier zeigen die Medium-Tiere im Median eine höhere Dichte als die Tiere der MSC-Gruppe (Tab. 9). Statistisch signifikante Unterschiede bestehen ebenfalls nur im medialen periostalen Kallus ( $p = 0,04$ ), wobei auch hier die Medium-Tiere eine höhere Gefäßdichte aufwiesen (Abb. 32).

Wie Tabelle 9 zu entnehmen ist, war die Dichte der *großen Gefäße* in beiden Gruppen im periostalen und im endostalen Kallus ähnlich.

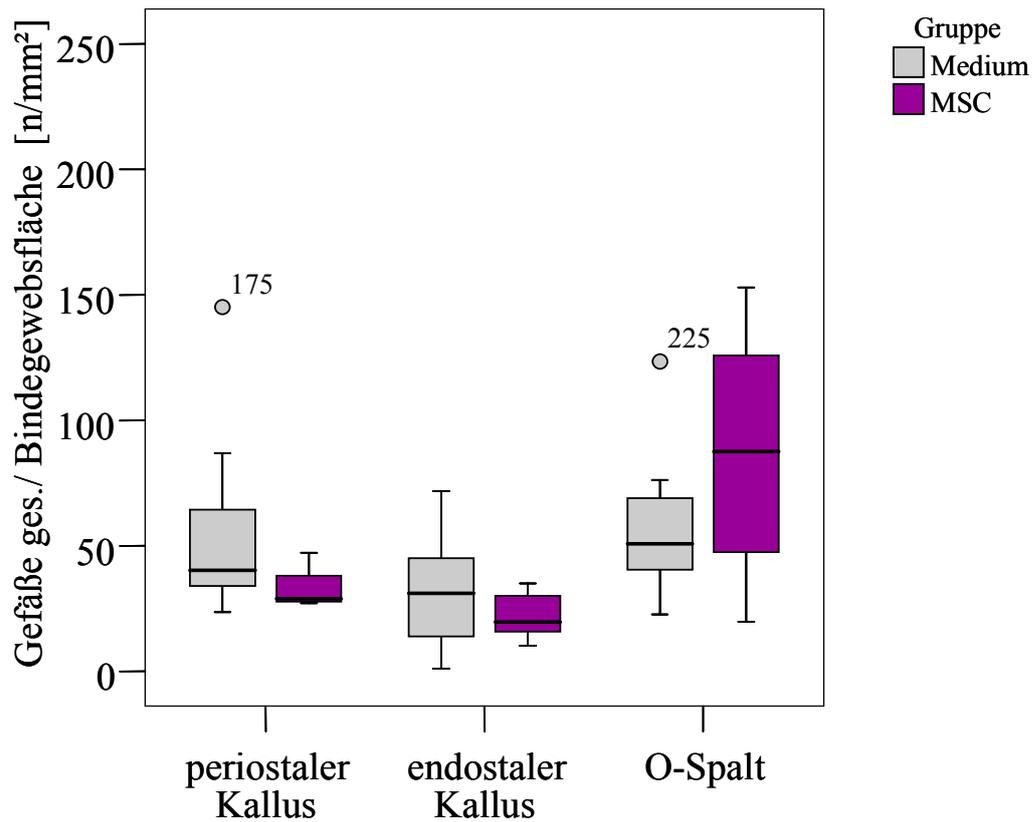
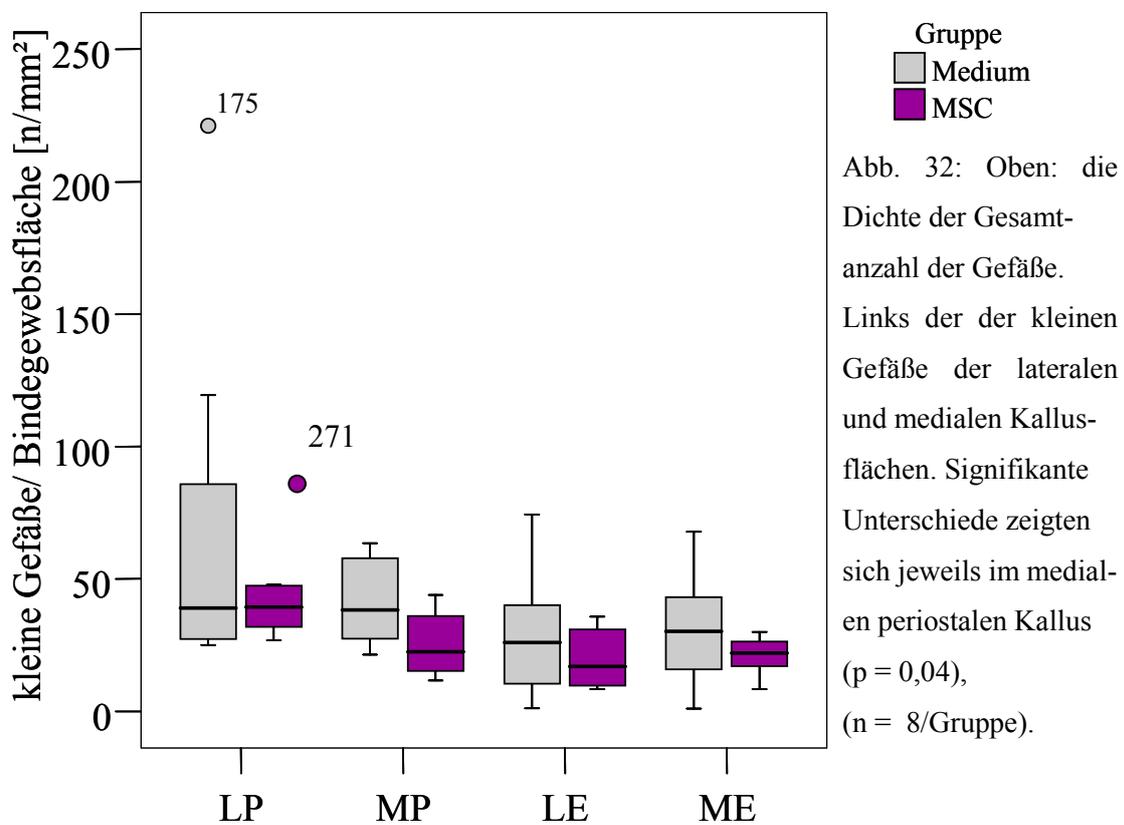
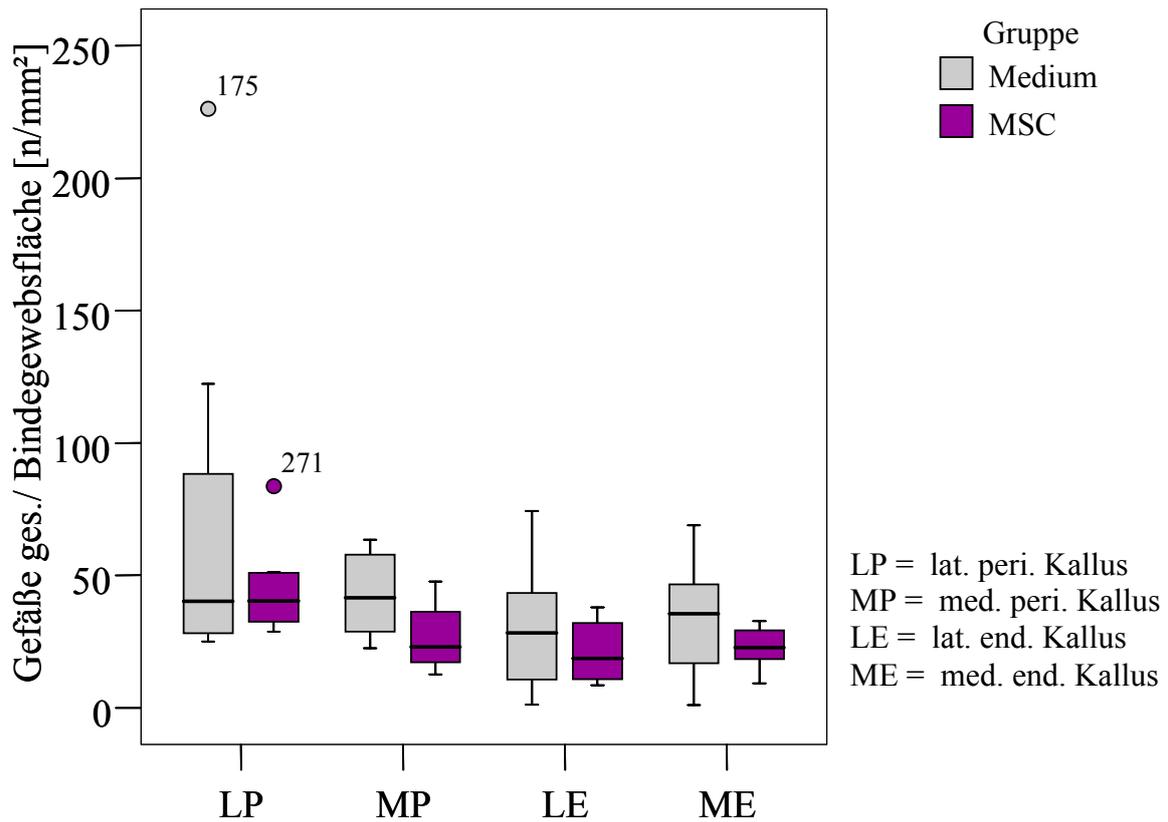


Abb. 31: Darstellung der Gefäßdichte (kleine und große Gefäße)/mm<sup>2</sup> Bindegewebsfläche im periostalen und endostalen Kallus sowie im Osteotomiespalt (O-Spalt). Zwischen beiden Gruppen bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede (n = 8/Gruppe).



Parameter	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Gefäße gesamt/peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	40,2	23,6-145,1	28,8	27,1-47,	0,21
-Gefäße gesamt/lat. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	40,2	25-226,1	40,3	28,8-83,6	0,96
-Gefäße gesamt/med. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	41,6	22,5-63,5	23	12,5-47,7	0,04
Kleine Gefäße/peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	39,2	23-142,5	28	25,2-45	0,23
-kleine Gefäße/lat. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	39	25-221	39,3	26,9-80,2	0,96
-kleine Gefäße/med. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	38,3	21,4-63,5	22,4	11,7-43,9	0,04
Große Gefäße/peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	1,3	0,3-4,6	1,4	0,4-2,6	0,88
-große Gefäße/lat. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	1,6	0-5,1	1,7	0,4-4,2	0,72
-große Gefäße/med. peri. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	0,3	0-6,6	0,8	0-3,7	0,48
Gefäße gesamt/end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	30,1	1-71,8	19,6	10,2-35,1	0,44
-Gefäße gesamt/lat. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	28,3	1,1-74,3	18,6	8,5-38	0,51
-Gefäße gesamt/med. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	35,4	1-68,9	22,7	9,1-32,7	0,28
Kleine Gefäße/end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	27,5	1-71,2	18	9,4-32,9	0,44
-kleine Gefäße/lat. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	25,9	1,1-74,3	16,9	8,3-35,7	0,65
-kleine Gefäße/med. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	30,2	1-67,9	22	8,4-29,9	0,33
Große Gefäße/end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	1,5	0-4,5	1,5	0,5-2,4	0,8
-große Gefäße/lat. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	1,1	0-3,8	1	0,2-2,5	0,96
-große Gefäße/med. end. BGFl. [n/mm <sup>2</sup> ]	1,5	0-5,8	1,3	0,2-3,6	0,51
Gefäße gesamt/BGFl. O-Spalt [n/mm <sup>2</sup> ]	50,7	22,6-123,4	87,6	19,7-152,9	0,28
-kleine Gefäße/BGFl. O-Spalt [n/mm <sup>2</sup> ]	47,4	22,6-114,5	70,2	19,7-152,9	0,28
-große Gefäße/BGFl. O-Spalt [n/mm <sup>2</sup> ]	1,9	0-8,9	1,9	0-34,8	0,96

Tab. 9: Darstellung der Gefäßdichte getrennt nach Lokalisation (periostaler und endostaler Kallus, Osteotomiespalt (O-Spalt) sowie lateral und medial) und nach Dichte der Gesamtzahl der Gefäße, der kleinen sowie großen Gefäße. Statistisch signifikante ergeben sich in der Dichte der Gesamtzahl und der kleinen Gefäße des medialen periostalen Kallus.

- **Dichte der Osteoklasten**

Die Osteoklasten (OC) werden nicht als Absolutzahl dargestellt, sondern auf die Knochenfläche in Quadratmillimetern je untersuchtem Areal bezogen. Tabelle 10 stellt die Dichte der Osteoklasten bezogen auf die jeweiligen Sub-ROIs dar.

Nach einer Heilungszeit von zwei Wochen konnten histologisch in beiden Gruppen viele Osteoklasten im Kallusgewebe gezählt werden. Signifikante Unterschiede lassen sich weder im *periostalen* ( $p = 0,51$ ) und *endostalen Kallus* ( $p = 1,0$ ) noch in der *Kortikalis* ( $p = 0,38$ )

darstellen (Abb. 33). Die Medium-Tiere wiesen im Median 21,1 OC/Knochenfläche des periostalen Kallus [mm<sup>2</sup>], die MSC-Gruppe 26,4 OC/Quadratmillimeter knöcherner periostale Kallusfläche auf. Im endostalen Kallus zeigten die Medium-Tiere einen Median von 34,6 OC/mm<sup>2</sup>. Die Osteoklastendichte der MSC-Tiere betrug im endostalen Kallus 43,7. Die Osteoklastendichte der Kortikalis betrug 2,3 vs. 1,6. Im Vergleich zwischen der lateralen und medialen Seite des periostalen und endostalen Kallus sowie der Kortikalis ergaben sich bezüglich dieses Parameters ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

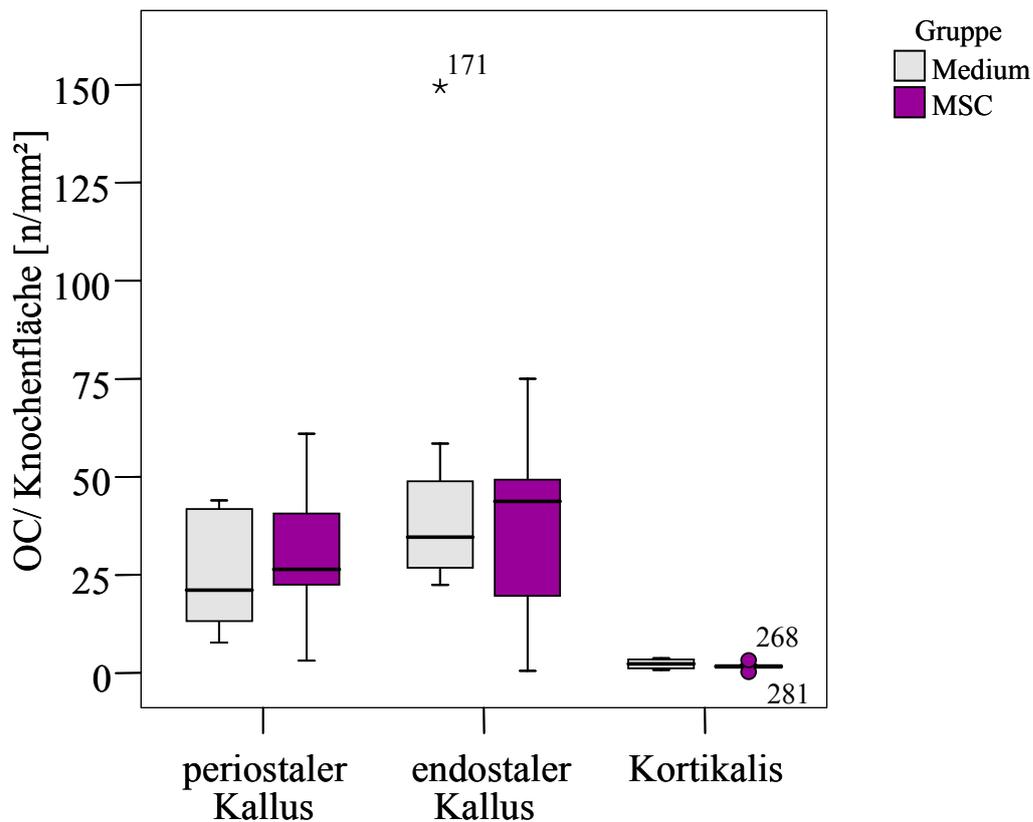


Abb. 33: Anzahl der Osteoklasten pro Quadratmillimeter Knochenfläche im periostalen und endostalen Kallus sowie in der Kortikalis (n = 8/Gruppe).

Parameter	Medium-Gruppe		MSC-Gruppe		p-Wert
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	
Periostaler Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	21,1	7,8-43,9	26,4	3,1-61,0	0,51
-lat. periost. Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	16,2	8,5-45,7	33,0	0-177,9	0,51
-med. periost. Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	24,7	2,4-74,3	21,2	5,6-48,5	0,72
Endostaler Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	34,6	22,4-149,5	43,7	0,5-75,0	1,0
-lat. endost. Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	42,7	5,0-174,3	19,6	0,4-34,7	0,08
-med. endost. Kallus [OC/mm <sup>2</sup> ]	41,5	20,6-128,4	45,1	0-58,7	0,65
Kortikalis [OC/mm <sup>2</sup> ]	2,3	0,7-3,8	1,6	0,3-3,5	0,38
-lat. Kortikalis [OC/mm <sup>2</sup> ]	1,9	1,2-3,5	2,4	0,6-3,6	1,0
-med. Kortikalis [OC/mm <sup>2</sup> ]	2,6	0,2-4,9	1,1	0-3	0,38

Tab. 10: Osteoklasten-Dichte im periostalen und endostalen Kallus sowie in der Kortikalis. In keiner dieser Lokalisationen bestehen statistisch signifikante Unterschiede.

### 4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

- **Radiologie**

Röntgenologisch zeigte zum Zweiwochenzeitpunkt keines der 32 Tiere beider Gruppen eine Überbrückung der Osteotomie. Der Bereich der Kauterisierung und der Knochenmarksentnahme ließ keine röntgendichten Strukturen erkennen. Der Osteotomiespalt war, verglichen mit den Aufnahmen post operationem, nicht erweitert. Die Kortikalisenden stellten sich scharfkantig dar.

- **Deskriptive Histologie**

Das histologische Erscheinungsbild ähnelte sich in beiden Gruppen. Es trat in keiner Gruppe eine knöcherne oder knorpelige Überbrückung des Osteotomiespalt ein. Die Tiere der MSC-Gruppe bildeten im medialen periostalen Kallus subjektiv mehr Knorpel. Knöchernes oder knorpeliges Kallusgewebe bildete sich bei Tieren beider Gruppen in geringem Maße im gekauterten Bereich aus. Der Osteotomiespalt war mit fibrösem Gewebe gefüllt, eine Erweiterung des Osteotomiespalt trat nicht ein. Über dem knöchernen periostalen Kallus zogen bei beiden Tiergruppen bindegewebsähnliche Fasern, die sich im deperiostierten Bereich verjüngten und zum Teil über den Osteotomiespalt zogen.

- **Ergebnisse der histomorphometrischen Analyse**

Bei Betrachtung der Gesamtfläche, der Flächen des periostalen und endostalen Kallus zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die Aufschlüsselung der Gesamtfläche in Knochen-, mineralisierte Knochen-, Bindegewebs- und Knorpelfläche ergab signifikante Unterschiede in der Knorpelfläche. Die MSC-Gruppe bildete eine signifikant größere Gesamtknorpelfläche [mm<sup>2</sup>]. Der periostale Kallus wies in der MSC-Gruppe absolut betrachtet mehr Knochen und mineralisierten Knochen [mm<sup>2</sup>], eine größere Bindegewebsfläche [mm<sup>2</sup>] und eine größere Knorpelfläche [mm<sup>2</sup>] auf. Wurden die Flächen der o.g. Gewebetypen auf die Gesamtfläche des periostalen Kallus bezogen [%], konnten in keinem der betrachteten Parameter signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen dargestellt werden. Die Zusammensetzung des endostalen Kallus ähnelte sich in beiden Gruppen deutlich. Weder absolut noch relativ zeigten sich signifikante Unterschiede in den Ergebnissen der histomorphometrischen Analyse des endostalen Kallus.

- **Kollagen-II Anteil**

Der Anteil des Kollagen-II am periostalen Kallus war in der MSC-Gruppe größer als in der Medium-Gruppe, jedoch ohne statistische Signifikanz. Endostal bildeten die Tiere beider Gruppen nur sehr wenig Kollagen-II, im Osteotomiespalt ließ sich, mit Ausnahme eines Tieres der MSC-Gruppe, bei keinem Tier beider Gruppen Kollagen-II nachweisen.

- **Gefäßdichte**

Beide Gruppen wiesen zum Zweiwochenzeitpunkt eine hohe Gefäßdichte auf. Die Gefäßdichte unterlag, v.a in der Medium-Gruppe, großen tierindividuellen Schwankungen. Diese Gruppe zeigte im medialen periostalen Kallus eine signifikant höhere Dichte aller Gefäße ( $< 40 \mu\text{m}$  und  $> 40 \mu\text{m}$ ) und der kleinen Gefäße ( $< 40 \mu\text{m}$ ). Der Osteotomiespalt, als Teilfläche des periostalen und endostalen Kallus, zeigte in beiden Gruppen eine deutlich höhere Gefäßdichte als die Kalli. Zum Zweiwochenzeitpunkt konnten nur wenig große Gefäße ( $> 40 \mu\text{m}$ ) gezählt werden.

- **Osteoklastendichte**

Die knöcherne periostale und endostale Kallusfläche ließ in beiden Gruppen eine hohe Osteoklastendichte erkennen. Signifikante Unterschiede stellten sich jedoch weder im periostalen noch im endostalen Kallus heraus. Die Osteoklastendichte der Kortikalis war zwei Wochen nach der Osteotomie in beiden Gruppen niedrig.