

**Aus dem Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin**

**Dissertation**

**Histologische Untersuchung der Frakturheilung  
Ein Vergleich von unaufgebohrter Marknagelung und Fixateur intern  
Stabilisierung in einer tierexperimentellen Studie an der Schafstibia**

**Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae  
(Dr. med.)**

**vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -  
Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Steffi Teschner  
aus Burg**

**Gutachter: 1. Prof. Dr.med. M.Schuetz**

**2. Prof. Dr.med. F.Baumgärtel**

**3. Priv.-Doz. Dr.med. G.Schmidmaier**

**Datum der Promotion: 23.09.2007**

<b>1. Einleitung</b>	<b>7</b>
<b>1.1. Überblick</b>	<b>7</b>
<b>1.2. Frakturheilung</b>	<b>8</b>
1.2.1. Indirekte Frakturheilung	9
1.2.2. Direkte Frakturheilung	10
1.2.3. Biomechanische Gesichtspunkte der Frakturheilung	11
1.2.4. Aspekte der Vaskularisation und der Frakturheilung	13
<b>1.3. Frakturheilung und Osteosynthese</b>	<b>14</b>
1.3.1. Historische Entwicklung der Osteosynthese	14
1.3.2. Osteosyntheseverfahren	21
1.3.2.1. Marknagelosteosynthese	21
1.3.2.2. Fixateur extern	24
1.3.2.3. Plattenosteosynthese	25
1.3.2.4. Fixateur intern	27
<b>1.4. Histologische Untersuchungstechniken der Frakturheilung</b>	<b>30</b>
1.4.1. Histomorphometrie	30
1.4.2. Polychrome Sequenzmarkierung	31
<b>1.5. Problem und Aufgabenstellung</b>	<b>33</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>34</b>
<b>2.1. Material</b>	<b>34</b>
2.1.1. Versuchstiere	34
2.1.2. Implantate	34
2.1.3. Instrumente	35
2.1.4. Fraktur- und Weichteiltraumamodell	36
2.1.5. Entlastungsvorrichtung im Stall	36

<b>2.2. Methoden</b>	<b>37</b>
2.2.1. Versuchsanordnung	37
2.2.2. Operationsvorbereitung und Anästhesie	38
2.2.3. Operationstechnik	38
2.2.3.1. Weichteiltrauma	38
2.2.3.2. Frakturmodell	39
2.2.3.4. Minimal invasive Osteosynthese mit Fixateur intern	39
2.2.3.5. Osteosynthese mit Unaufgebohrtem Marknagel	40
2.2.4. Postoperativer Verlauf und klinische Kontrollen	41
2.2.4.1. Postoperativer Zeitplan	42
2.2.4.2. Polychrome Sequenzmarkierung	42
2.2.4.3. Euthanasie	44
2.2.5. Aufarbeitung der Tibiae	44
2.2.5.1. Präparation des Plattenlagers	44
2.2.5.2 Vorbereitung der Tibiae für weitere Untersuchungen	44
2.2.6. Herstellung der histologischen Präparate	45
2.2.6.1. Sägen der Präparate	45
2.2.6.2. Charakterisierung der Schnittebene und Untersuchung der Knochengröße	46
2.2.6.3. Entwässerung	47
2.2.6.4. Einbetten in Kunststoff	48
2.2.6.5. Herstellung der Schnitte	49
2.2.6.6. Herstellung der Schriffe	50
2.2.7. Durchführung der Messungen und Auswertung der Daten	52
2.2.7.1. Messregionen	52
2.2.7.1.1. Kallus	52
2.2.7.1.2. Kortex	53
2.2.7.2. Computergestütztes Messverfahren	54
2.2.7.3. Stadien der Frakturheilung	54
2.2.7.4. Fluoreszenzmikroskopische Auswertung der Schriffe	55
2.2.7. Statistische Verfahren	56

<b>3. Ergebnisse</b>	<b>57</b>
<b>3.1. Operation</b>	<b>57</b>
<b>3.2. Postoperativer Verlauf und Röntgenbefunde</b>	<b>57</b>
<b>3.3. Ergebnisse der Histomorphometrie der Schnitte</b>	<b>58</b>
<b>3.3.1. Quantitative Analyse des Frakturkallus</b>	<b>58</b>
3.3.1.1. Validisierung der Schnittebene und Untersuchung der Knochengröße	58
3.3.1.2. Gesamtkallusfläche	60
3.3.1.3. Mineralisierte Kallusfläche	60
3.3.1.4. Quotient Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus	62
3.3.1.5. Kallusfläche medial vs. lateral	63
3.3.1.5.1. Periostaler Kallus	64
3.3.1.5.2. Insgesamt auftretender Kallus	
<b>3.3.2. Quantitative Analyse des fraktur nahen Kortex</b>	<b>65</b>
<b>3.3.3. Semiquantitative Beschreibung der Frakturheilung</b>	<b>66</b>
<b>3.3.4. Qualitative Auswertung der Schlicke</b>	<b>68</b>
<b>4. Diskussion</b>	<b>73</b>
<b>4.1. Der histologische Vergleich der Operationsmethoden</b>	<b>73</b>
<b>Fixateur intern vs. unaufgebohrter Marknagel</b>	
<b>4.2. Stärken und Schwächen der Studie, Ausblick</b>	<b>77</b>
4.2.1. Das Tiermodell	77
4.2.2. Auswahl der Messregionen und Datenerfassung	78
4.2.3. Ausblick	80
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>82</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>84</b>
<b>7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis</b>	<b>97</b>
<b>8. Lebenslauf</b>	<b>100</b>

<b>9. Publikationsliste</b>	<b>103</b>
<b>10. Erklärung an Eides Statt</b>	<b>104</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1. Überblick**

Tibiaschaftfrakturen gehören zu den häufigsten Frakturen des Menschen [66]. Betroffen ist vor allem die Altersgruppe von 20- 50 Jahren. Vielfach werden Frakturen bei Hochrasanztraumen im Rahmen von Verkehrsunfällen erworben und sind mit Weichteilschäden und mit weiteren Verletzungen kombiniert. Hier steht die frühe, schonende operative Versorgung mit kurzen OP Zeiten im Vordergrund des Behandlungskonzeptes. Den Vorteilen wie Vermeidung von Rotations- und Achsenfehlstellung, Sekundärfehlstellung, sofortige schmerzfreie Übungs- bzw. Belastungsstabilität stehen Nachteile durch das zusätzliche iatrogene Operationstrauma der Weichteile gegenüber. Die Standardmethode zur operativen Stabilisierung von Schafffrakturen langer Röhrenknochen ist die Marknagelosteosynthese. Weitere Osteosyntheseverfahren sind der Fixateur extern und die Plattenosteosynthese.

Aus der klinischen Erfahrung ist bekannt, dass im Falle eines umfangreichen Weichteilschadens das Vermögen des Gewebes einen zusätzlichen operativen Schaden zu tolerieren abnimmt und die Rate von Komplikationen wie Infektion, verzögerte Frakturheilung und die Inzidenz von Pseudarthrosen zunimmt [21, 34, 37, 49, 84]. Die operative Frakturstabilisierung führt in Abhängigkeit vom vorbestehenden traumatischen Weichteilschaden zu einer weiteren Beeinträchtigung der Perfusion des Knochens der Frakturzone. Entscheidend für den Verlauf der Frakturheilung ist neben der mechanischen Stabilität vor allem die Durchblutung der Frakturregion [31, 71, 82, 84]. Unter dem Gesichtspunkt der möglichst geringsten Schädigung der Vaskularisierung des Knochens in der Frakturregion durch das Implantat, bei guter Stabilisierung der Fraktur und weichteilschonendem Operationsverfahren, wurde ein Fixateur intern entwickelt. Die Stabilität wird durch die winkelstabile Platten Schraubenverbindung erzielt und basiert nicht wie bei der Plattenosteosynthese auf Knochen – Implantatkontakt. Damit kann der Fixateur intern auch bei geringstem Knochenkontakt eine Stabilisierung der Fraktur unter minimaler Alteration der Frakturzone erzielen.

Die hypothetischen Vorteile dieses neuen Stabilisierungskonzeptes gegenüber der unaufgebohrten Marknagelosteosynthese sind bisher nicht experimentell belegt worden.

Gegenstand dieser Arbeit ist die histologische Charakterisierung des Frakturheilungsverlaufes nach minimal invasiver Osteosynthese mit Fixateur intern im Vergleich zur Frakturstabilisierung mit unaufgebohrtem Marknagel.

Die Untersuchungen wurden an einer reproduzierbaren, schrägen Schafffraktur der Schafstibia mit einem geschlossenen Weichteilschaden (Grad II nach Tscherne) durchgeführt. Nach Applikation des Weichteiltraumas werden beide Hinterläufe frakturiert und mit einem Fixateur intern bzw. einem unaufgebohrtem Marknagel stabilisiert, was den gepaarten Vergleich der beiden Stabilisierungsverfahren ermöglicht. Die histologische Charakterisierung des Frakturheilungsverlaufs erfolgt nach 6 und 12 Wochen.

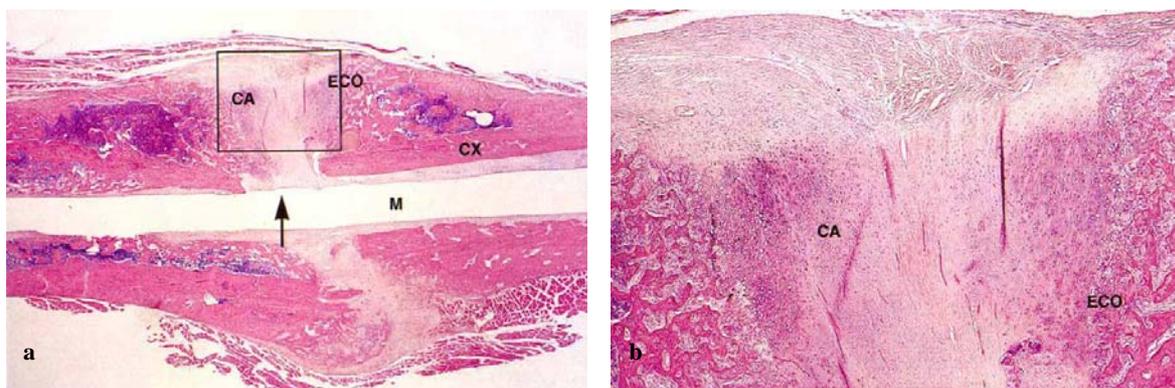
Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen dazu beitragen die bislang hypothetischen Vorteile einer minimal invasiven Fixateur intern Stabilisierung gegenüber dem Standardverfahren, der unaufgebohrten Marknagelosteosynthese, zu klären.

## 1.2. Frakturheilung

Die Frakturheilung ist ein Vorgang zur biologischen Stabilisierung des durch Überbeanspruchung geschädigten Knochens, der seine Stützfunktion nicht mehr erfüllt. Die natürliche Frakturheilung ist ein überaus komplizierter Prozess zur Überwindung der Beweglichkeit im Frakturspalt, der über Knochenneubildung erfolgt. Auf mikroskopischer Ebene stattfindende komplexe Heilungsvorgänge führen letztendlich zur soliden und funktionstüchtigen Verbindung der Fragmentenden. Prinzipiell unterscheidet man die direkte und die indirekte Frakturheilung.

### 1.2.1. Indirekte Frakturheilung

Die natürliche Knochenbruchheilung erfolgt durch indirekte Frakturheilung. Im ersten Schritt kommt es über das Einsprossen von Granulationsgewebe und osteogenetischem Gewebe aus der Frakturumgebung zur Bildung des Knorpelkallus. Dieser wird schrittweise mineralisiert und durch einsprossende Gefäße und begleitende Osteoklasten aufgebrochen. Nachfolgende Osteoblasten bilden das Faserknochengerüst [17]. Das Faserknochengerüst wird als Ergebnis des Haversschen Umbaus durch kompakten Lamellenknochen schrittweise ersetzt. Die indirekte Frakturheilung ist somit an die Bildung von peri- und endostalen Kallus gebunden.



**Abb.1.1.** Mikroskopisches Bild der indirekten Frakturheilung- über Granulationsgewebe, Knorpelkallus entsteht durch Umbauvorgänge Faserknochen und letztendlich Lamellenknochen. Tibiafraktur Ratte, HE Färbung CA: Knorpel, ECO: Gebiet des Knorpel-Knochenumbaus, CX: Umbauzone von Faserknochen in Lamellenknochen a) 25x, b) 125x (J Bone J Surg, 2000; 82A: 164)

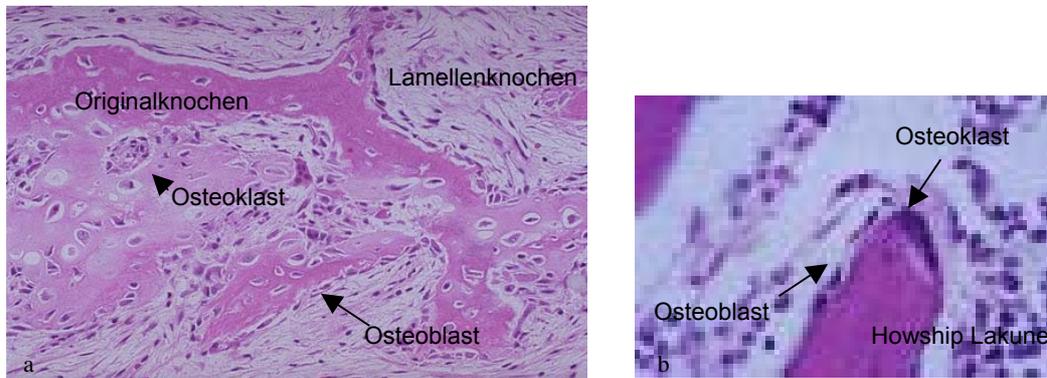


Abb.1.2. a) Knochenumbau der Frakturzone: Osteoklasten bauen avitalen und Lamellenknochen ab, Osteoblasten differenzieren sich und bilden neue Knochen substanz (200x) b) Haversscher Knochenumbau (400x, www.medlib.utah.edu)

### 1.2.2. Direkte Frakturheilung

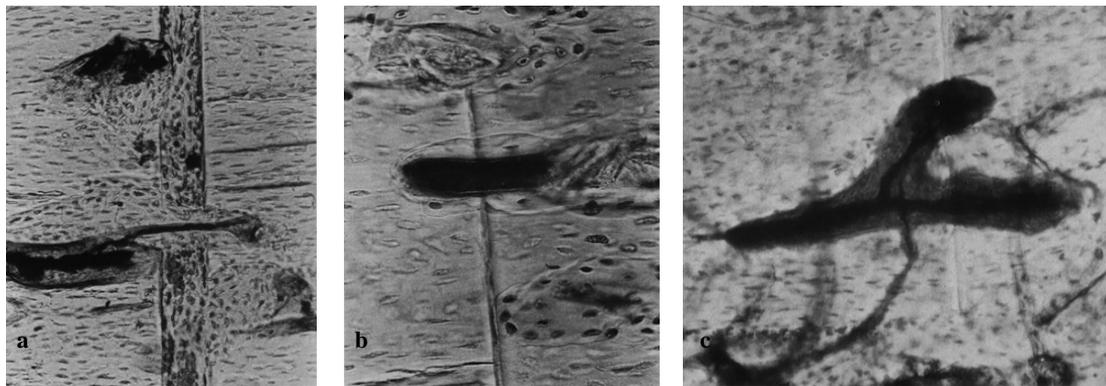
Unter formschlüssigem, mechanisch stabilem Kontakt der Fragmentenden, der nur durch anatomische Reposition und absolut stabiler Fixation (z.B. Kompressionsosteosynthese) erzielt wird, kann die Frakturheilung auch ohne die temporäre Stabilisierung mit Frakturkallus direkt erfolgen.

Bei dieser Form der Frakturheilung, die auch als primäre Knochenheilung bezeichnet wird, überbrücken vorwachsende regenerierende Osteone direkt den Frakturspalt. Es handelt sich hierbei um eine Kontaktheilung.

Verbleiben bei mechanisch stabilem Kontakt Zwischenräume, so werden diese von Geflecht- und Lamellenknochen ausgefüllt, der nachfolgend durch parallel zur Schaftachse ausgerichtete Osteone im Rahmen eines stark gesteigerten Haversschen Knochenumbaus ersetzt wird. Diese Form der primären Knochenheilung wird Spaltheilung genannt.

Beim Haversschen Knochenumbau handelt es sich um einen geordneten Prozess des Knochenumbaus, bei dem mehrkernige Osteoklasten an der Spitze von Resorptionskanälen für den Abbau des alten Knochens sorgen, während die Osteoblasten welche die Kanalwand auskleiden, für den appositionellen Aufbau der neuen Knochen substanz verantwortlich sind. Neben der Knochenheilung hat der Haverssche Knochenumbau große Bedeutung bei der stabilen Verankerung von Implantaten im Knochen sowie bei der Revitalisierung avitaler Kortikalisbezirke.

Charakteristischer Weise geht die direkte Knochenheilung mit Kontaktheilung und Spaltheilung ohne periostale Knochenneubildung einher [3, 71, 95]. Sie wird nach absolut stabiler Osteosynthese beobachtet und tritt als solche in der Natur nicht auf.



**Abb.1.3.** Direkte Frakturheilung a) Spalthheilung, b) und c) Kontakttheilung (Rahn BA et al. Primary bone healing. J Bone J Surg 1971(4); 53A: 783- 786

### 1.2.3. Biomechanische Gesichtspunkte der Frakturheilung

Kallusgewebe überbrückt im Verlauf der natürlichen Knochenheilung die Frakturfragmente und führt zur Verringerung der Fragmentbeweglichkeit. Die Anfangs entstehende dynamisch verformbare Kallusmanschette bewirkt über eine Vergrößerung des Querschnittes und damit der Struktursteifigkeit eine Stabilisierung der Frakturregion. In Anbetracht der Tatsache, dass der Querschnitt mit der 4. Potenz in die Struktursteifigkeit eingeht, setzt das Kalluswachstum, welches besonders die frühe Phase der Knochenheilung prägt, dem störenden Biegemoment ein zunehmend größeres Gegenmoment entgegen. Die im weiteren Verlauf stattfindende Versteifung des Kallusgewebes vom weichen Granulations- und Bindegewebe über Knorpel zu Knochengewebe, die sich histologisch in einem zunehmenden Mineralisationsgehalt des Frakturkallus äußert, bewirkt eine zusätzliche Verringerung der Fragmentbeweglichkeit, wobei die Materialsteifigkeit linear mit der Struktursteifigkeit korreliert [73]. Der Kallus entsteht im Rahmen der Frakturheilung als dreidimensionales Gebilde sowohl endostal als auch periostal. Primär frakturfern, wächst er in Richtung der Fraktur vor.

Der periostale Kallus stellt biomechanisch durch seine große Distanz zur Biegeneutralachse ein sehr wirksames Stabilisierungsgewebe dar. Er ist der Träger der Querschnittsvergrößerung und damit der Zunahme der Struktursteifigkeit. Der endostale Kallus, der die Fragmentenden im Bereich der Markhöhle stabilisiert, hat aufgrund seines geringen Abstandes zur Biegeneutralachse diesbezüglich eine geringere Wirkung. Infolge dessen ist er aber auch einer geringeren Deformierung bei Bewegung ausgesetzt, was die Toleranz gegenüber Instabilität wesentlich erhöht. Der sich erst spät im Verlauf der Kallusbildung entwickelnde interfragmentäre Kallus überbrückt die kurze Distanz zwischen den Fragmentenden und ist dadurch sehr anfällig für bewegungsabhängige Deformierung. Diese Anfälligkeit vermindert sich

allerdings durch die Resorption der Fragmentenden im weiteren Verlauf der Frakturheilung [73].

Bis heute ist nicht genau bekannt welcher Stimulus die Kallusbildung, die Resorption und den parallel dazu ablaufenden Knochenumbau auslösen. So kommt es bei absolut stabilem, formschlüssigen Kontakt der Fragmentenden zur direkten Überbrückung des Frakturspaltens durch vorwachsende Osteone ohne Kallusbildung. Andererseits führt Instabilität zur vermehrten Kallusbildung und auch zum vergrößerten Knochenumbau. J.W. Wolf et al. konnten in einer tierexperimentellen Studie an Hasen zeigen, dass es unter formschlüssigen Kontakt der Fragmentenden (direkte Frakturheilung), erzielt durch Kompression, in der frühen Phase (4 Wochen) zur biomechanisch festeren Frakturüberbrückung kommt. In der späteren Phase (6 Wochen) waren die unter instabileren Verhältnissen (zyklischer Kompression) geheilten Tibiae (indirekte Frakturheilung) biomechanisch stabiler [115]. Untersuchungen am Tibiaschaft des Schafes zeigten, dass bei verminderter Stabilität des Knochen - Implantatkomplexes eine umfangreichere Bildung von periostalem Kallus geringeren Mineralisationsgrades induziert wird, was biomechanisch aber zu keiner effektiven Verbesserung der Knochenheilung führt [4, 115].

Maßgebend für die Stabilität des Kallus- Frakturkomplexes ist neben der Kallusmenge der Mineralisationsgrad. Dieser nimmt im Verlauf der Knochenheilung zu, während die Kallusmenge sinkt. Es besteht eine statistisch signifikante Abhängigkeit von Mineralisationsgrad und mechanischer Belastbarkeit von kortikalem Knochen.

#### **1.2.4. Aspekte der Vaskularisation und der Frakturheilung**

Unter den Bedingungen der spontanen Frakturheilung lassen sich einzelne Stadien der Heilung der Gefäße abgrenzen.

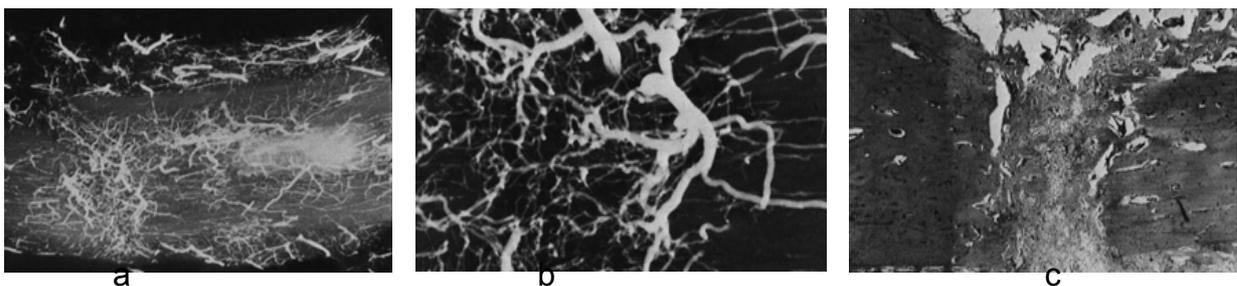
Im Frakturbereich kommt es in Abhängigkeit von der Schwere des Traumas zur Zerreißen der Haversschen Gefäße und zur Verletzung von Markraumgefäßen. Je nach Schweregrad sind damit initial Kortikalisareale von der Perfusion abgeschnitten. Kompensatorisch erfolgt zur Aufrechterhaltung der Perfusion eine Vasodilatation.

In tierexperimentellen Untersuchungen sieht man im Verlauf der ersten 7 Tage nach dem Frakturereignis eine erhebliche Zunahme des Gefäßquerschnittes, die am stärksten das medulläre Gefäßsystem betrifft, welches den größten Anteil der Kortikalis versorgt. Hier zeigen sich die Gefäße auf mehr als das Doppelte ihres

ursprünglichen Kalibers erweitert. Arteriolen, die sogenannten Schlimmerkapillaren, werden aktiviert [14, 93, 97].

Der sich zunehmend entwickelnde periostale Kallus erhält seine vaskuläre Versorgung aus den umgebenden Weichteilen und dem Periost, und damit aus einem separaten Gefäßsystem. Nach 3 Wochen findet man büschelartige Verzweigungen der Markraumgefäße in der Frakturumgebung, ohne dass diese den Frakturspalt kreuzen. Der subperiostale Bereich zeigt spiculaeartige Auflagerungen, die neben Faserknochen auch bindegewebige und knorpelige Bestandteile aufweisen. Von hieraus dringen keine Gefäße in die Kortikalis vor. Nur in Frakturnähe, wo die Kortikalis im Zuge des Haversschen Umbaus aufgelockert ist, gehen Gefäße aus dem Markraum mit Gefäßen aus dem Periost Anastomosen ein.

Die Differenzierung des interfragmentären Kallus hängt nach Theorien von Pauwels [70] und Krompecher [54] vor allen Dingen von den mechanischen Bedingungen ab. Periostal erfolgt unter mechanischer Belastung des Faserknochen eine Ausrichtung Osteone und Umbau zu lamellärem Knochen, der in die ursprüngliche Kortikalis eingliedert wird. Die Gefäße werden in diesen Umbau mit einbezogen. Die kortikal und fraktur nah bestehenden Anastomosen mit dem medullären Gefäßsystem werden umorientiert und in die neu entstehenden Osteone integriert, so dass der lamellär umgebaute Kallus letztendlich ausschließlich von medullären Gefäßen versorgt wird [93].



**Abb.1.4.** Nichtdislozierte Radiusfraktur Kaninchen nach 2 Wochen Längsschnitt, **a)** Mikroangiogramm (3,5x) zeigt reichlich Gefäßeinsprossung, **b)** Frakturbereich (35x) mit guter Gefäßvernetzung, **c)** das histologische Präparat (HE Färbung) demonstriert die Kallusbildung im Frakturspalt.(Rhineland FW,Baragy RA: Undisplaced closed fractures. J Bone J Surg 1962; 44 A: 1273)

## **1.3. Frakturheilung und Osteosynthese**

### **1.3.1. Historische Entwicklung der Osteosynthese**

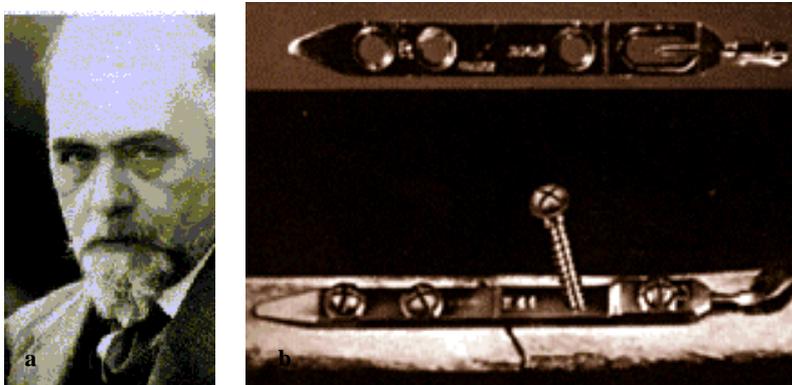
Neben der konservativen Frakturbehandlung, die schon seit dem Altertum zur chirurgischen Tradition gehörte hat sich vor allem in den letzten vier Jahrzehnten die operative Behandlung bestimmter Frakturen durchgesetzt. Gegenüber der konservativen Frakturbehandlung mit Repositions- und Gipstechnik zeigt die operative Frakturbehandlung zwei wesentliche Vorteile: I) Fixieren der erreichten Reposition in anatomisch korrekter Stellung II) Frühe Mobilisierung und damit Vermeidung trophischer Probleme, die mit der Ruhigstellung verbunden sind. Nachteilig ist vor allen Dingen das zusätzliche, zumeist frakturnahe Operationstrauma, welches die ohnehin oft schon kritische Durchblutung weiter beeinträchtigt. Das Risiko von Infektionen und Frakturheilungsstörungen steigt [110]. Zum Erreichen eines optimalen Behandlungsergebnisses sind daher folgende Kriterien zusammengefasst worden [64, 92] :

- ▶ Anatomische Rekonstruktion der Gelenkfläche bei intraartikulären Frakturen
  
- ▶ Exakte Wiederherstellung von Länge, Rotation und Achse bei Schafffrakturen
  
- ▶ Ausreichend stabile Frakturfixation zur frühfunktionellen Mobilisierung
  
- ▶ Schonung der Blutversorgung von Knochen und Weichteilen durch atraumatische Operationstechnik

Grundlegendes Prinzip der operativen Frakturfixation ist eine Schienung der Fraktur mit einem Implantat [30, 64]. Diese Schienung beruht auf der strukturellen Steifigkeit des Implantates und bewirkt eine Verminderung der Beweglichkeit der geschienten Frakturfragmente [75]. Zusätzlich übernimmt das Implantat einen Anteil der funktionellen Belastung [64]. Das Implantat kann intern als Platte, Marknagel, Schraube, Fixateur intern oder perkutan als externer Fixateur angebracht werden. Jedes dieser Implantatsysteme ist durch spezifische Vor- und Nachteile

gekennzeichnet, die bei entsprechender Indikationsstellung berücksichtigt werden müssen.

Die ersten Publikationen zur stabilen internen Fixation finden sich in der letzten Hälfte des 19. Jahrhunderts. Lambotte prägte den Begriff "Osteosynthese". Zahlreiche Publikationen zu diesem Thema erschienen von Lane, Bèranger- Fèraud, Lister, König und Anderen [51, 57]. Unter der Vorstellung der Wiederherstellung anatomischer Strukturen bei Funktionserhalt von Knochen, Gelenken und dazugehörigen Weichteilen führte Hansmann 1886 erstmals die plattenosteosynthetische Frakturbehandlung durch. Als Vater der modernen Osteosynthese gilt Robert Danis, dessen deklariertes Ziel das Erreichen der primären Knochenheilung unter Verwendung einer starren Fixation war. Er entwickelte 1947 mit dem "coapteur" eine Kompressionsplatte [20]. Die Kompression wird hier durch eine am Ende der Platte befindliche axial verlaufende Schraube erzielt, die bei länglichen Plattenlöchern, die Platte axial verschiebt und somit den Frakturspalt unter axiale Kompression setzt. Mit diesem Implantat konnte er die kallusfreie, primäre, Knochenheilung nachweisen.

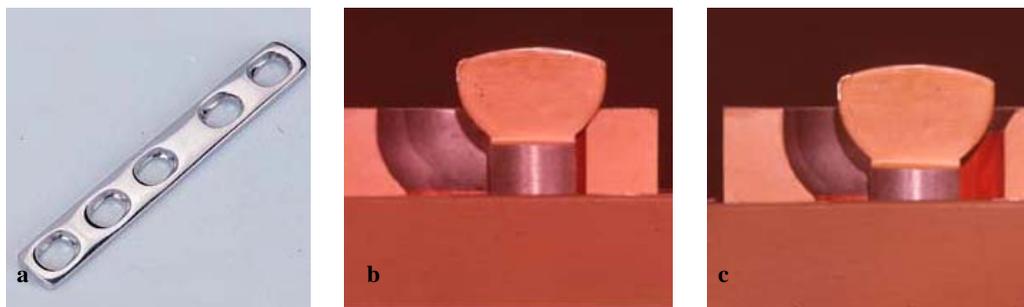


**Abb.1.5. a)** R. Danis Entwickler des Coapteur – der ersten Kompressionsplatte **b)** Die Kompression wird durch die endständige axiale Schraube erzielt

1957 stellten Bagby und James ihre modifizierte "Colison" Platte vor [5]. Das Prinzip dieser frühen "Self Compression Plate" beruht auf einer alten Tischlerweisheit: wenn eine Schraube mit konischem Schraubenkopf exzentrisch im Plattenloch platziert wird, so verschiebt der schräge Schraubenkopf beim Eindrehen der Schraube in zunehmenden Maße die Platte rechtwinklig zur Schraubenlängsachse. Es resultiert eine Kompression des Frakturspalt [74]. Auf der Arbeit Danis aufbauend erschien 1963 mit der Halbrohrplatte die erste "Self Compression Plate" der AO/ ASIF [64]. Träger der Kompression ist hier die Kombination aus ovalem, konkav- konischem

Plattenloch und exzentrisch platzierter Schraube mit konvex- konischem Schraubenkopf.

Der nächste große Schritt der Implantatentwicklung wurde mit der Einführung der "Dynamic Compression Plate" (DCP) durch Perren et al. und Allgöwer et al. 1969 vollzogen. Die DCP zeichnet sich vor allen Dingen durch die Weiterentwicklung der Plattenloch-, Schraubenkopf Verbindung aus. Durch die späherische Geometrie des Schraubenkopfes wird auch bei unterschiedlichen Neigungswinkeln der Schrauben eine kongruente Verbindung zwischen Schraube und Plattenloch gewährleistet. Die ovalen Plattenlöcher verhindern eine unkontrollierte Distraction [27]. Damit erlaubt das Design der DCP einen äußerst flexiblen Einsatz als Spannungsplatte, Neutralisationsplatte, Kompressionsplatte und Abstützplatte [76].



**Abb.1.6.** a) DCP , b) Das Gleitlochprinzip: Kompression wird durch die Kombination aus ovalem, konkav- konischem Plattenloch und exzentrisch platzierter Schraube mit konvex- konischen Schraubenkopf erzielt c) das Eindrehen der Schraube erzeugt eine Zugspannung rechtwinklig zur Schraubenlängsachse und führt zur Kompression am Frakturspalt

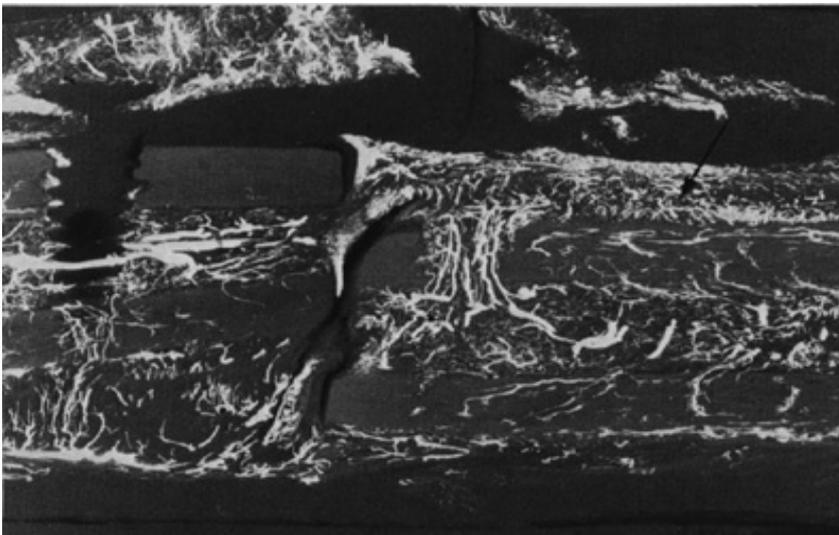
Bis zu dieser Zeit war die Entwicklung der Plattenosteosynthese geprägt durch das Ziel eine anatomisch exakte Reposition zu erreichen. Primäre Knochenheilung war das deklarierte Ziel. Als erfolgreich wurden jene Chirurgen betrachtet, denen es gelang auch das kleinste Knochenfragment wieder in das Frakturpuzzle einzupassen. Obwohl schon von Beginn an die Bedeutung eines intakten Weichteilmantels für eine komplikationslose Frakturheilung von einigen Seiten betont wurde, erfolgte durch ausgiebige Freilegung und Denudierung der Frakturfragmente, häufig zugunsten eines perfekten Röntgenergebnisses, eine zusätzliche Schädigung der Frakturzone. Komplikationen waren nicht selten und die Bedeutung einer absoluten Stabilität unter Kompressionsosteosynthese wurde Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.

Perren konnte nachweisen, dass auch hoher Druck unter stabilen Verhältnissen nicht zu Knochennekrosen führt, andererseits aber kleinste Spalten unter der normalen

funktionellen Belastung Mikrobewegungen und Knochenresorption zur Folge haben [77].

Nach Plattenosteosynthese ist eine deutliche Osteoporose der Kortikalis unter dem Implantat beschrieben worden, die initial mit Inaktivitätsatrophie und mechanischer Entlastung erklärt wurde. In Anlehnung an das Wolff Gesetz ging man davon aus, dass der implantatnahe Knochenverlust Folge der Übernahme der Belastung durch das Implantat und damit der mechanischen Entlastung des Knochens ist. Entgegen den Erwartungen zeigte sich aber keine Korrelation zwischen dem Betrag der Entlastung und dem Ausmaß der implantatnahen Porose [107].

Andere Untersuchungen machten den Gefäßschaden des Knochens durch die Platte verantwortlich [32, 84]. Tierexperimentelle Perfusionsuntersuchungen mit Disulfidinblau Vitalfärbung an der intakten Kaninchentibia nach Plattenosteosynthese zeigten eine Störung der Blutversorgung der gesamten plattennahen Kortikalis welche erst nach 4 Wochen rückläufig und nach 10 Wochen wiederhergestellt war. Wurde periost-erhaltend operiert, sah man ein geringeren Perfusionsdefekt. Gleichzeitig stellten Fluoreszenzuntersuchungen einen vermehrten Knochenumbau in diesem Gebiet mit Maximum in der 7. bis 8. Woche dar [32].



**Abb.1.7.** Mikroangiogramm einer Radiusfraktur am Kaninchen nach DCP Osteosynthese. Die linke Seite zeigt Schrauben und Platte ausgerissen, hier zeigt sich reichliche Gefäßmarkierung. Rechtsseitig liegt die Platte fest dem Knochen auf. Hier zeigt sich kortikal keinerlei Gefäßmarkierung.

(Rhineland FW. Some aspects of the microcirculation of healing bone. Clin Orthop 1965; 40: 12-16)

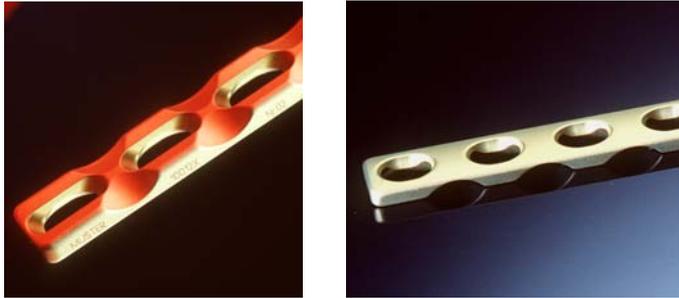
Diese Überlegungen veranlassten Weber [15] schon Ende der 70er Jahren die Technik der Wellenplattenosteosynthese zu propagieren. In den frühen 80er Jahren führten Hierholzer und Heydmeier die Brückenplatte ein. Beiden gemeinsam ist das Prinzip die Fraktur in einigem Abstand zum Knochen zu überbrücken um Knochen,

Periost und Weichteile zu schonen. Die Biegefestigkeit des Verbundes Platte - Knochen erhöht sich (längerer Hebelarm), unterhalb der Platte kann sich in der überbrückten Frakturregion ein stabilisierender Kallus entwickeln.

Um die Weichteile der Frakturumgebung zu schonen wurden in den 80er Jahren teilweise implantierbare Fixateursysteme - das ZESPOL System [81] und das Schuhli System [50] entwickelt. Innovativer Hintergrund beider Systeme ist eine feste Verankerung der Schrauben in der Fixateurplatte, die eine Frakturschienung ohne direkten Knochenkontakt erlaubt.

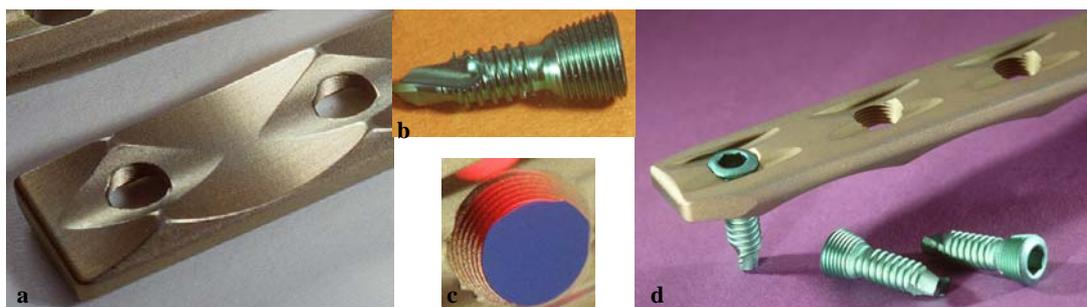
Experimentelle Untersuchungen von Gautier an der Schafstibia zeigten, dass das intrakortikale Perfusionsdefizit nicht nur mit der Größe der Auflagefläche Platte-Knochen korreliert sondern auch direkt mit dem Umfang des plattennahen Knochenumbaus (remodeling) in Zusammenhang steht. Die flexiblere Polyacetalplatte brachte entsprechend ihrer großen Auflagefläche eine weitere Verschlechterung der kortikalen Perfusion [29]. Entsprechend dieser Erfahrungen kam man in den letzten 15 Jahren zunehmend zu der Erkenntnis, dass nicht nur Stabilität und anatomische Reposition, sondern vor allen Dingen auch die Schonung der ohnehin schon geschädigten Weichteile der Frakturumgebung Berücksichtigung bei der operativen Frakturversorgung finden muss. Ende der 80er Jahre entstand so unter Führung der Schweizer Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (AO) das Konzept der „biologischen Osteosynthese“. Im Mittelpunkt dieses Konzepts steht die Unterstützung der physiologischen Abläufe der Frakturheilung mit einem Minimum an operativen Maßnahmen. Grundlage ist die Schonung des Weichteilgewebes und des Knochens in der unmittelbaren Umgebung der Frakturzone und eine hinreichend stabile Osteosynthese [16]. Operative Leitlinien bei Frakturen ohne Beteiligung der Gelenkfläche sind die indirekte Reposition zum Ausgleich der Achsenabweichung, der Längendifferenz und der Drehfehler, sowie ein differenzierter Einsatz der Implantate, je nach Indikationsstellung. Grundsätzlich steht der Erhalt der Fragmentdurchblutung im Vordergrund. Große Bedeutung im Rahmen dieses Konzeptes haben darüber hinaus die Entwicklung neuer Operationstechniken und Implantate. Als Weiterentwicklung der dynamischen Kompressionsplatte kam Anfang der 90er Jahre die „Low Contact Dynamic Compression Plate“ (LCDCP) zum klinischen Einsatz. Diese von Perren et al. entwickelte Platte berücksichtigt neben den biomechanischen vor allen Dingen die biologische Aspekte der Frakturheilung. Das neue Plattendesign erlaubt bei geringem Knochenkontakt gleichmäßige Biege-

und Torsionssteifigkeit. Der Unterschnitt reduziert die Kontaktfläche Knochen - Platte und vermindert damit die Perfusionsstörung im Plattenlager. Er erlaubt darüber hinaus das Wachstum stabilisierenden Kallus unterhalb der Platte und vermindert die Streßkonzentration bei Biegebelastung im Bereich der Plattenlöcher. Die gleichmäßige Lochgeometrie garantiert intraoperative Flexibilität, der trapezförmige Querschnitt führt zu niedrigeren und breiteren Seitenlamellen.



**Abb.1.8.** LCDCP- unterschnittenes Plattendesign reduziert die Kontaktfläche zum Knochen

Die “Low Contact Dynamic Compression Plate“ (LCDCP) beruht ebenso wie die “Dynamic Compression Plate“ (DCP) auf dem alten Prinzip der Plattenosteosynthese, welches auf Kompression des Knochens an das Implantat basiert. Seit Ende der 80er Jahre wurde von der Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen AO/ ASIF eine neue Generation von Implantaten entwickelt, deren Stabilisierungskonzept auf der winkelstabilen Verbindung monokortikaler Schrauben mit dem Kraftträger beruht. Dieser Fixateur intern (PC- Fix) steht nur noch punktförmig mit der Knochenoberfläche in Kontakt. Das Design des internen Fixateurs ist Ergebnis der aus Labor und Klinik gewonnenen Erfahrungen und soll die bestmögliche Schonung der Weichteile der Frakturumgebung und des Knochens erlauben. Inwiefern diese theoretischen Vorteile sich praktisch vorteilig auf die Frakturheilung auswirken ist nicht zuletzt Gegenstand der dargelegten Untersuchungen.



**Abb.1.9.** Der Fixateur intern: **a)** Fixateurunterseite mit punktförmiger Auflagefläche, **b)** selbstschneidende monokortikale Schraube mit konischem Gewindekopf, **c)** Plattenloch, **d)** winkelstabile Schraubenverankerung

Neben diesem klassischen Verfahren der Plattenosteosynthese wurde der 1939 von Künscher erstmals vorgestellte Marknagel [55] zu einem weiteren Standardverfahren der Frakturstabilisierung entwickelt. Grundprinzip ist die medulläre Schienung und Stabilisierung der Fraktur. Entsprechend der wissenschaftlichen und klinischen Erkenntnisse hat die Marknagelosteosynthese seit ihrer Einführung in die klinische Praxis vor 60 Jahren vielfältige Veränderungen und Neuerungen erfahren. So stellte Künscher 1943 den Y- Nagel vor, aus dem der Gamma- Nagel und der Classic- Nagel hervorgegangen sind.

Mit dem Ziel eine höhere Stabilität im Frakturbereich durch Verbesserung des Implantat- Knochenkontaktes zu erreichen führte Künscher 1947 erstmalig die Aufbohrung des Markraumes durch. 1955 stellte er die flexible Bohrwelle vor. Immer auf der Suche nach Methoden zur Verbesserung der Stabilität und damit der Leistungsfähigkeit der Marknagelosteosynthese war es wiederum Künscher, der mit der Einführung des Detensornagels 1968 den Prototyp des Verriegelungsnagels schuf. Damit war der entscheidenden Schritt zur Erweiterung des Indikationsspektrums von stabilen Frakturen mit knöcherner Abstützung, im mittleren Drittel von Tibia oder Femur, zu instabilen Schaftbrüchen ohne knöcherner Abstützung, vollzogen.



**Abb 1.10.** a) Entwicklung der Marknagelosteosynthese vom Hohl Nagel zum Kleblatt Nagel und Verriegelungsnagel b) Grosse & Kempf- Verriegelungsnagel zur Versorgung diaphysärer Frakturen in aufgebohrter Technik (Werksbild Stryker Trauma GmbH) c) Der unangebohrte Tibianagel der Firma Synthes

Problematisch aber blieb weiterhin die Versorgung der weichteilgeschädigten Unterschenkelfrakturen. Während Voigtländer bereits in den 50er Jahren über

positive Ergebnisse mit ungebohrten flexiblen Markraumimplantaten berichtete [108] und weitere klinische Versuche mittels Ender und Lottesnagel [41, 60, 112] unternommen wurden, konnten sich diese Verfahren aufgrund der mangelnden Stabilität nicht durchsetzen. Hier kam bis Ende der 80er Jahre vor allem die Technik der äußeren Fixation zum Einsatz, die Hoffmann bereits 1904 vorstellte. Erst die auf Künschers Prinzip des Verriegelungsnagels basierende Weiterentwicklung in den 80er Jahren zum unaufgebohrten, massiven Verriegelungsnagel erweiterten das Indikationsspektrum der Marknagelosteosynthese auch auf die Versorgung der weichteilgeschädigten Unterschenkelfrakturen. Entsprechend dem Grundgedanken der biologischen Osteosynthese vereint dieser unaufgebohrte, massive Verriegelungsnagel Vorteile des Fixateur extern (Schonung der kortikalen Durchblutung) mit den Vorteilen des Marknagels (geschlossenes System ohne Verbindung nach außen und hoher Patientenkomfort bei hinreichend stabiler Osteosynthese).

Neben der Weiterentwicklung der Implantate steht heute die Einführung der minimal invasiven Operationstechnik mit maximaler Schonung der Frakturumgebung im Zentrum des Konzeptes der biologische Osteosynthese.

### **1.3.2. Osteosyntheseverfahren**

#### **1.3.2.1. Marknagelosteosynthese**

Das Grundprinzip der Marknagelosteosynthese ist eine intramedulläre Schienung der Fraktur durch das Implantat. Das Operationsgebiet liegt frakturfern. Im ersten Schritt erfolgt die Eröffnung der Markhöhle frakturfern. Nachfolgend kann der Markraum aufgebohrt werden. Es folgt das Einführen des Nagels in die Markhöhle. Unter Röntgenkontrolle wird der Nagel über die Frakturzone geschoben und die Fraktur dabei reponiert. Im letzten Schritt erfolgt die Verriegelung des Marknagels. Nach distaler Verriegelung können durch Manipulationen am Einschlaginstrumentarium letzte Korrekturen der Frakturstellung erfolgen. Durch Zurückschlagen kann eine Annäherung der Frakturfragmente erzielt werden. Die proximale Verriegelung wird über ein Zielgerät durchgeführt. Die Möglichkeit der dynamischen Verriegelung führt unter funktioneller Belastung zu einem interfragmentären Kompressionseffekt am Frakturspalt.

Das Aufbohren der Markhöhle garantiert einen umfangreichen Knochen- Implantat Kontakt und damit eine gute mechanische Frakturstabilisierung nach dem Verklemmungsprinzip unter Erhalt von Länge und Rotation. Die Frakturheilung erfolgt im Rahmen einer sekundären Knochenheilung über die Bildung einer periostalen Kallusmanschette. Vorteile der aufgebohrten Marknagelosteosynthese sind eine hohe mechanische Belastbarkeit des Knochen- Implantat Verbundes, die eine postoperative Vollbelastung des Patienten erlaubt. Es handelt sich um ein geschlossenes Verfahren ohne Verbindung des Implantates nach außen und damit geringem Infektionsrisiko verbunden mit hohem Patientenkomfort. Nachteilig ist die durch den Aufbohrvorgang hervorgerufene zusätzliche Gewebeschädigung. So lies sich im Verlauf des Bohrvorganges ein Temperaturanstieg bis 50°C und ein Druckanstieg bis 800mmHg nachweisen, welche zu Mikroembolisationen, Einschwemmung von Markraumbestandteilen in den venösen Kreislauf und thermischen Kortikalisnekrosen führen [100, 101]. Die vollständige Zerstörung der A. nutricia, die zwei Drittel des Kortex versorgt, führt zu ausgedehnten Kortikalisnekrosen, die bei Schädigung der periostalen Blutversorgung durch das Frakturtrauma einen komplett avitalen Kortex hinterlassen kann [69, 93]. Damit erwies sich dieses Verfahren als das Osteosyntheseverfahren mit der stärksten biologischen Schädigung des Knochens und seiner medullären Gefäße [2, 16, 17, 18, 80, 97]. Der Indikationsbereich für die Osteosynthese mittels aufgebohrter Marknagelung war auf unkomplizierte Schräg- und Querbrüche der langen Röhrenknochen ohne oder mit nur geringfügigem Weichteilschaden (G0, G1) limitiert, weil man Komplikationen fürchtete, die sich aus dem zusätzlichen Trauma des Aufbohrens ergaben [33].



**Abb.1.11.** Mikroradiographie eines Kaninchenfemurs 4 Wochen nach aufgebohrter Marknagelosteosynthese mit Zerstörung der Markraumgefäße. Sumner-Smith G (ed): Bone in Clinical Orthopaedics A Study of Clinical Osteology, chap 2. Philadelphia, WB Saunders, 1982)

Neben Frakturheilungsstörungen in Folge der Zerstörung des intramedullären Gefäßsystems besteht vor allem bei Patienten mit begleitendem Thoraxtrauma die erhöhte Gefahr einer klinisch relevanten pulmonalen Fettembolie durch das Einpressens von Knochenmarksfett in die venöse Strombahn [63, 68, 78, 82].

Diese Nachteile können durch den Einsatz der Marknagelosteosynthese in unaufgebohrter Technik reduziert werden. Erst die Weiterentwicklung des von Künscher, Klemm und Schellmann vorgeschlagenen Verriegelungsprinzips ermöglichte eine gute Stabilität des Knochen- Implantat Verbundes auch ohne Aufbohren der Markhöhle [48, 56].

Das von Künscher bereits 1950 beschriebene Grundprinzip besteht darin, dass der Marknagel als zentraler, biege-resistenter Stabilisator frakturfern an den proximalen und distalen Verriegelungspunkten Druck und Torsionskräfte aufnimmt. Die durch den Nagel überbrückte Frakturzone wird nur den geringen Kräften ausgesetzt, die durch die elastische Biegung und Torsion des Nagels selbst bewirkt werden.

Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen eine deutlich geringere Schädigung des medullären Gefäßsystems nach unaufgebohrter Marknagelung gegenüber der aufgebohrten Technik. Klein et al. fanden an der Hundetibia 7 Stunden nach unaufgebohrter Marknagelung im Mittel 30% der Kortikalis nicht perfundiert vor, während sich nach aufgebohrter Marknagelung 70% der Kortikalis perfusionslos darstellten [47]. Schemitsch et al. konnten bei Tibiaspiralfrakturen des Schafes mittels Laserdoppler Flussmessung bei den mit unaufgebohrtem Marknagel instrumentierten Tieren sofort nach operativer Versorgung, sowie nach 2 und 6 Wochen eine signifikant höhere Kortexdurchblutung im Vergleich zu den mit aufgebohrter Marknagelung versorgten Tieren feststellen. Nach 12 Wochen zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied mehr [94]. Histomorphometrische Untersuchungen der Knochenheilung an Tibiapräparaten von Schafen ergaben nach 4 Wochen periostal größere Kallusflächen nach ungebohrter Marknagelung als nach 6 Wochen bei aufgebohrter Marknagelung. Die interfragmentäre Kallusbildung war nach 4 Wochen, 6 Wochen und 8 Wochen im Vergleich zur aufgebohrten Technik signifikant umfangreicher [87]. Schemitsch et al. fanden nach 12 Wochen eine höhere Kortexdichte bei den mit unaufgebohrtem Marknagel versorgten Tibiaspiralfrakturen. Hinsichtlich der kortikalen Knochenneubildung, die aus dem Verhältnis von fluorochrommarkierten Osteonen zur Gesamtosteonanzahl bestimmt

wurde, ergaben sich 2, 6 und 12 Wochen keine Unterschiede zwischen den beiden Operationsverfahren [94].

Während schwere Weichteilschäden bei Schafffrakturen als Kontraindikation zur aufgebohrten Marknagelosteosynthese gelten, zeigen die klinischen Erfahrungen des letzten Jahrzehnts mit dem unaufgebohrten Verriegelungsnagel auch bei diesen Problemfrakturen sehr gute Ergebnisse.

Müller et al. berichten in einer Serie von 69 mit unaufgebohrtem Verriegelungsnagel versorgten ausschließlich offenen Tibiaschafffrakturen (Frakturtyp A 28%, B 52%, C20%; Weichteilschaden I 30%, II 28%, IIIA 12%, IIIB 12%, IIIC 6%) von 3 verzögerten Heilungen (4.3%), 8 Pseudarthrosen (12%), 4 tiefen Infekten (6%) wobei 3 der 4 Infekte nach Sekundäreingriffen bei Pseudarthrose entstanden. Sekundäreingriffe wurden bei 11 Patienten (17%) notwendig [66].

Runkel et al. konnten bei 72 Unterschenkelschafffrakturen (37 offen, 35 geschlossen) mit schwerem Weichteilschaden GII 25 (35%), GIII 10 (14%), OI 6 (8%), OII 19 (26%), OIIIA 5 (7%) und OIIIB 7 (10%), die mit UTN stabilisiert wurden in 60 Fällen (83%) eine komplikationslose knöcherne Heilung beobachten. Es traten 9 verzögerte Heilungen (13%), 1 Pseudarthrose (1%) und 2 tiefe Infekte (3%) auf. Sekundäreingriffe waren bei 10 Patienten (14%) zum Erreichen der vollständigen knöchernen Konsolidierung erforderlich [89].

### **1.3.2.2. Fixateur extern**

Das Prinzip des von Raoul Hoffman erstmalig 1904 vorgestellten Fixateur extern besteht in der überbrückenden Frakturstabilisierung. Schrauben bzw. Nägel (Pins) werden frakturfern, perkutan, senkrecht zur Längsachse in den Knochen eingebracht und durch äußere Verbindungsstücke (Stangen oder spezielle Apparate) starr gegeneinander (wenn möglich unter Kompression des Frakturspaltes) fixiert. Sie sind Aufnehmer für Druck- und Torsionskräfte. Die Stabilität hängt vom guten Sitz dieser Pins und von der Stabilität des verbindenden Systems ab. Wesentliche Vorteile des Fixateur extern sind: frakturferne Fixation, kurzer und technisch einfacher operativer Eingriff zur Applikation, schonende Reposition und die Möglichkeit der stabilen Fixation auch bei Knochendefekten. Das Baukastensystem mit den vielfältigsten Konstruktionen erlaubt die Anpassung an nahezu jede Fraktursituation, sowie die unkomplizierte Korrektur von im Frakturheilungsverlauf auftretenden Fehlstellungen.

Als nachteilig erweisen sich die große elastische Deformation und stärkere Relativbewegungen, die Möglichkeit der Auslockerung der Pins unter mechanischer Belastung, die Verbindung des Knochens mit der Außenwelt über die Pinkanäle und damit ein erhöhtes Risiko der Infektion bei eingeschränktem Patientenkomfort und häufig notwendigem Verfahrenswechsel [99].

Die Indikation zu Frakturstabilisierung mit dem Fixateur extern liegt somit zum Beispiel in der Versorgung schwerer, weichteilgeschädigter offener und geschlossener Frakturen mit ausgeprägtem Weichteilschaden. Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Primärversorgung traumatologischer Problemfälle deren Allgemeinzustand keine langwierigen, technisch aufwendigen Operationen erlaubt (Polytrauma, Schock, Schädel- Hirntrauma). Auf Grund der Nachteile des Systems erfolgt hier häufig, nach initialer Stabilisierung des Patienten, ein sekundärer Verfahrenswechsel zur definitiven Frakturversorgung.

Krettek et al. fanden in einer prospektiven Studie von 202 mit einem unilateralen Fixateur extern versorgten Unterschenkelschaftfrakturen mit schwerem Weichteilschaden (Grad II/Grad III nach Tscherne , O II, O III nach Gustilo) in 12% der Fälle Infektionen der Hauteintrittsstelle der Schanzschrauben und eine Refrakturrate von 7%. In 39% der Fälle wurde eine Spongiosaplastik zur Ausheilung der Fraktur notwendig [53]. Sandelmeier et al. berichten im Rahmen einer retrospektiven Untersuchung von 66 mit einem Fixateur extern versorgten geschlossenen Unterschenkelschaftfrakturen mit schwerem Weichteiltrauma (Grad II/ Grad III nach Tscherne) von 26% Infektionsrate Bereich der Pin - Eintrittsstellen und einer Refrakturrate von 1,5%, hier wurde in 26% der Fälle eine Spongiosaplastik durchgeführt. Bei 11 der 66 primär mit einem Fixateur extern versorgten Unterschenkelfrakturen (16%) erfolgte im Verlauf ein Verfahrenswechsel [90].

### **1.3.2.3. Plattenosteosynthese**

Plattenosteosynthesen werden im Gegensatz zur Marknagelung nicht nur bei Schaftfrakturen, sondern auch bei metaphysären- und Gelenkfrakturen eingesetzt. Grundprinzip der klassischen Plattenosteosynthese bei einfachen Frakturen ist die Frakturstabilisierung mittels interfragmentärer Kompression. Die Osteosyntheseplatte wird unter optimalen mechanischen Bedingungen ausschließlich auf Zug beansprucht und bildet zumindest über die Dauer der erhaltenen Druckwirkung ein fast starres Verbundsystem [74]. Vorteile der Plattenosteosynthese sind: gute

Stabilität bei guter interfragmentärer Kompression und geringer Kallusbildung sowie die Möglichkeit der exakten anatomischen Reposition.

Nachteilig ist die Zerstörung von gefäßtragenden Muskelfaszienansätzen und Periost im Rahmen der operativen Plattenpositionierung sowie die Schädigung der periostalen Perfusion unter der Platte, die zu Ischämie, Nekrose und Osteoporose der Kortikalis in diesem Bereich führt [77, 105]. Bei auch nur geringfügiger Instabilität ist die Frakturheilung kompromittiert durch Mikrobewegungen im schmalen Frakturspalt. So birgt die Plattenosteosynthese in typischer Weise die Gefahr der Refraktur und der Entwicklung einer Pseudarthrose, deren Häufigkeit im internationalen Schrifttum mit 10 - 15% angegeben wird. Dementsprechend liegen auch die Infektionsraten bei Anwendung der Plattenosteosynthese mit 3-6% bei geschlossenen und 7-12% bei offenen Frakturen über den entsprechenden Werten bei Marknagelung und Fixateur extern Osteosynthese. Einsatzgebiete der Plattenosteosynthese sind die gelenknahen, metaphysäre Schafffrakturen, die nicht hinreichend mit einem Marknagel stabilisiert werden können, die Frakturen mit Gelenkbeteiligung, bei welchen ein anatomisches Repositionsergebnis die Voraussetzung für ein gutes funktionelles Ergebnis ist, die periprothetischen Frakturen sowie Frakturen bei denen umfangreiche Kallusbildung zu funktioneller Beeinträchtigung führt (z.B. Unterarmschafffrakturen) .

Klinische Studien der letzten Jahre haben eindrucksvoll zeigen können, dass unter biologischer, weichteilschonender Osteosynthesetechnik die Komplikationsrate nach Plattenosteosynthese deutlich abnimmt [12]. Grundprinzipien der biologischen Osteosynthese sind: minimal invasive Operationstechnik, geschlossene Reposition unter Korrektur von Länge, Rotation und Achse, Verzicht auf anatomische Frakturposition mit rigider Osteosynthesestabilität und der Einsatz von gewebeschonenden Implantaten.

An Frakturen des proximalen Humerus mit 3 - 4 verschobenen Segmenten, die bei stark beeinträchtigter vaskulärer Versorgung eine hohe Rate an avaskulären Humeruskopfnekrosen aufweisen, führte die Versorgung in minimal invasiver Technik unter Berücksichtigung der Prinzipien der biologische Osteosynthese zu einer Nekroserate von 10% gegenüber einer Nekroserate von 30% nach konventioneller Plattenosteosynthese [103]. In einer Studie an 125 Femurfrakturen bei polytraumatisierten Patienten, die nach den Prinzipien der biologischen Osteosynthese versorgt wurden, betrug die Infektionsrate 6.4%, die Rate der

Frakturheilungsstörungen 4.8%. Alle Frakturen heilten letztendlich mit gutem funktionellem Ergebnis aus [103]. In einer prospektiven Studie von Baumgaertel an 24 überwiegend Mehrfragmentfrakturen des Femurs, die mit biologischer Plattenosteosynthese behandelt wurden, heilten alle Frakturen ohne Infekt oder Pseudarthrose [11].

#### **1.3.2.4. Fixateur intern**

Der in dieser Studie angewendete Point Contact Fixateur (PC- Fix II) repräsentiert ein neues Verfahren der inneren Fixation. Er wurde unter den Gesichtspunkten der weichteilschonenden, biologischen Osteosynthese zum bestmöglichen Erhalt der Knochenbiologie, zur Förderung der Frakturheilung und zur Erhöhung der Widerstandskraft gegen Infektion entwickelt [59]. Grundkonzept des PC- Fix ist das eines komplett implantierbaren Fixateur extern. Das äußeres Design des PC- Fix gleicht dem einer Platte, Prinzip und biomechanische Eigenschaften sind die eines winkelstabilen Fixateur intern. Die winkelstabile, passgenaue Schrauben-Implantatverbindung ermöglicht eine Reduktion der Knochenauflagefläche auf punktförmige Kontaktzonen und somit die Schonung der periostalen Perfusion. Darüber hinaus erlaubt der Fixateur- Knochen- Abstand die Bildung eines periostalen Kallus auch unterhalb des Fixateurs. Die Stabilität des Systems beruht, nicht wie bei der konventionellen Plattenosteosynthese auf Kompressionskräften und auf dem Oberflächenkontakt mit dem Knochen, sondern vielmehr auf der Winkelstabilität der Schrauben- Fixateur- Verbindung. Diese Stabilität erlaubt die Verwendung monokortikaler Schrauben zur Schonung der medullären Perfusion. Auftretende Mikrobewegungen der Frakturspaltumgebung fördern die Kallusbildung [4, 114]. Im Vordergrund der Osteosynthese mittels PC- Fix steht die hinreichend stabile Schienung der Fraktur bei bestmöglicher Schonung der Weichteile und Perfusion der Frakturumgebung. Das Prinzip der Operationstechnik ist neu. In einem ersten Schritt wird die Fraktur reponiert, im zweiten Schritt wird die Reposition mit dem Fixateur fixiert. Die Schraubenlage ist durch das Implantat vorgegeben, eine Reposition über den Fixateur intern nur begrenzt möglich [43].

Entsprechend dem Grundgedanken der biologischen Osteosynthese wird der Fixateur in weichteilschonender Technik appliziert. Mittels eines Insertionsbügels kann das Implantat über einen minimalen, frakturfernen Zugang am Knochen entlang

über die Fraktur geschoben und über Stichinzisionen mit selbstbohrenden, monokortikalen Schrauben am Knochen fixiert werden.

Die Exposition der eigentlichen Frakturzone ist nur bei Frakturen mit Gelenkbeteiligung zur anatomischen Reposition notwendig. Von diesem minimal invasiven, internen Implantatsystem, konzipiert nach dem Prinzipien der biologischen Osteosynthese, werden folgende Vorteile erwartet:

- ▶ Kürzere Operationszeiten bei einfacher Anwendung des Systems
  
- ▶ Geringerer perioperativer Weichteil- und Perfusionsschaden und damit
  
- ▶ Beschleunigte Frakturheilung und frühzeitigere Wiederherstellung der Funktion
  
- ▶ Verringerung der Infektionsrate
  
- ▶ Reduktion von Refrakturen und Pseudarthrosen

Tierexperimentelle Untersuchungen anhand von einfachen queren Frakturen der Schafstibia zeigen vergleichbare biomechanische Eigenschaften des Implantat - Knochen Komplexes nach Applikation des PC- Fix, der LCDCP und der DCP [59]. Radiologische Untersuchungen der Knochenheilung der Schafstibia nach PC-Fix versus LCDCP und DCP Osteosynthese lassen eine frühere und dichtere Knochenheilung bei insgesamt homogenerer Knochenstruktur in der Frakturumgebung erkennen [35]. In einem Langzeitversuch verglichen Tepic et al. über 2 Jahre den Frakturheilungsverlauf nach PC- Fix und DCP Osteosynthese von einfachen queren Tibiafrakturen am Schafsmode. Die biomechanischen Untersuchungen zeigen eine höhere Festigkeit des PC- Fix, die histologische Aufarbeitung zeigt beim PC- Fix intrakortikale "remodeling" Aktivität im Bereichen des Frakturspaltes und der Schrauben. Bei der DCP fand sich diese zusätzlich in weiten Bereichen unterhalb der Platte. Die radiographische Messung ergab ein Verlust an Knochenmasse im Kortex unter der DCP, der am ehesten eine Folge des Perfusionsausfalls in diesem Gebiet ist. Die Gesamtkallusmenge zeigte sich bei der

DCP bis zur 12. Woche signifikant größer als beim PC- Fix entsprechend einer größeren Kallusmenge der lateralen plattenfernen Seite [104].

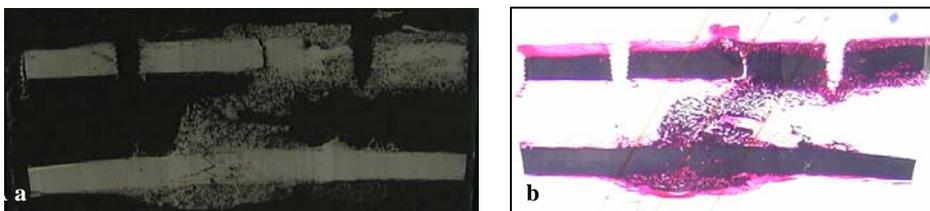
In einer Studie am subtrochantären Multifragmentfrakturmodell des Schaffemurs verglichen Baumgaertel et al. die Knochenheilung nach direkter, anatomischer Reposition mit der nach indirekter biologischer Reposition. Verglichen wurden biomechanische, radiographische und mikroangiologische Parameter der Knochenheilung. In einem zweiten Studienarm wurde die Knochenheilung von PC-Fix und DCP miteinander verglichen. Sowohl die knöchernen Überbrückung des Frakturspaltes als auch die Kallusmineralisation zeigte sich bei den indirekt reponierten Frakturen früher und effizienter. Erste Zeichen der Knochenheilung fanden sich bei den indirekt reponierten Frakturen schon nach 2- 3 Wochen bei den direkt, anatomisch reponierten Frakturen erst nach 6 Wochen. Eine weitere Verbesserung der untersuchten Parameter der Knochenheilung konnte mit dem PC-Fix erzielt werden [12].

In einer ersten klinischen prospektiven multizentrischen Studie an 277 Unterarmschaftfrakturen, die mit einem PC- Fix versorgt wurden heilten 90.6% der 387 Frakturen komplikationslos innerhalb von 4-6 Monaten, es trat 1 Refraktur auf (0.26%), 4 verzögerte Frakturheilungen (1.03%) und 7 Pseudarthrosen (1.81%). Das PC- Fix System zeigte sich leicht, schnell und komplikationsarm in der klinischen Anwendung [43]. In einer weiteren prospektiven Studie an 79 Unterarmfrakturen von 55 Patienten wurde in 100% eine solide Frakturheilung erzielt, späte Infektionen traten nicht auf [26]. In einer klinischen Studie von Hertel et al. in der 83 Unterarmschaftfrakturen mit PC- Fix versorgt wurden, heilten 79 Frakturen ohne zusätzliche chirurgische Maßnahmen aus. In einer der 83 Frakturen kam es zur Infektion, in einem Fall zeigte sich im Verlauf ein Verlust des Repositionsergebnisses und es wurden in 4 Fällen eine verzögerte Knochenheilung beobachtet. Eine Refraktur trat in 2 Fällen auf. Auch hier wurde das PC- Fix System als leicht, schnell und komplikationsarm in der klinischen Anwendung beschrieben [36].

## 1.4. Histologische Untersuchungen der Frakturheilung

### 1.4.1. Histomorphometrie

Morphometrie ist eine Methode zur quantitativen Analyse makroskopischer und mikroskopischer Objekte welche Körper, Organ, Gewebe und Zellkompartimente umfasst. Im Mittelpunkt steht das Bestreben objektive, reproduzierbare Beschreibung biologischer Strukturen zu erhalten. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Knochenheilung in direktem Zusammenhang mit der Kallusmineralisation steht [12]. Die histomorphologische Beurteilung erfolgte an histologischen Präparaten, die zur Darstellung der mineralisierten Substanz mit von Kossa/ Safranin O gefärbt und computergestützt vermessen werden. Bei der von Kossa Färbung handelt es sich um eine Silberimprägnation zur Darstellung von Kalzium [109]. Sie stellt ein zweizeitiges Versilberungsverfahren dar, bei dem Kalzium aus seinem Salz (Karbonat, Phosphat) verdrängt und gegen Silberionen ausgetauscht wird. In einer ersten Sensibilisierungsphase entstehen durch den Zusatz von Silbernitratlösung an der kalziumhaltigen Struktur Silberkeime, in der zweiten Phase wird unter dem Angebot von weiterem Silbersalz durch Reduktion das metallische Silber an jene Silberkeime angelagert. Die angefärbten Strukturen erscheinen dunkelbraun bis schwarz die übrigen Strukturen gelb. Im anschließenden Prozess der Fixierung wird das nicht reduzierte Silbersalz entfernt und die Reaktion gestoppt. Zur stärkeren Kontrastierung der nicht versilberbaren Elemente wurde eine Gegenfärbung mit Safranin O durchgeführt. Safranin O ist ein basischer Azin- Farbstoff der Glycosaminoglucane hellrot anfärbt.



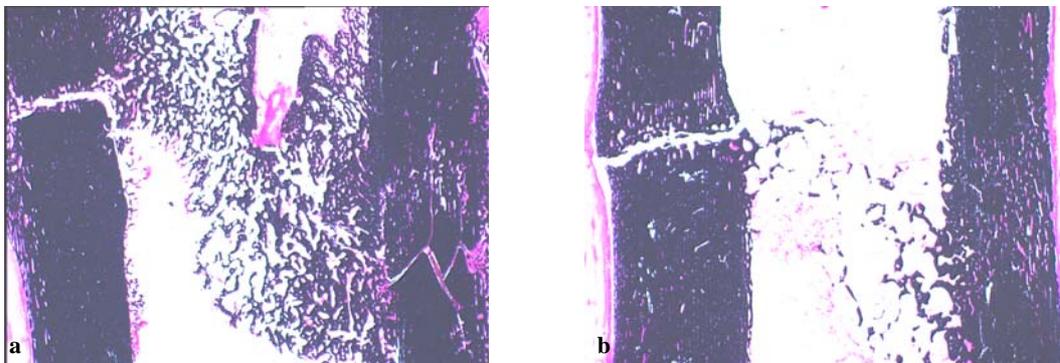
**Abb.1.12.** Dünnschnittpräparat **a)** vor und **b)** nach Färbung mit von Kossa/ Safranin O

Die morphometrische Untersuchung der Kallusmineralisation erfolgt nach Digitalisierung der gefärbten Schnitte computergestützt mit dem KS 400 Carl Zeiss Vision Imaging System. Als Primärdaten werden anhand der zweidimensionalen digitalisierten Schnittbilder in der zu untersuchenden Region die Gesamtfläche des

Kallus sowie die Fläche des mineralisierten Kallus (schwarz angefärbt) zur quantitativen Beurteilung der Frakturheilung ermittelt.

Frakturheilung sollte die Ermittlung des Verhältnisses der Gesamtfläche des Kortex zur Fläche des mineralisierten Kortex zur quantitativen Beurteilung des "remodeling" Prozesses dienen.

Des Weiteren erlaubt diese histologische Aufarbeitung die qualitative Einschätzung des Stadiums der Frakturspaltüberbrückung ausgehend von hellrot dargestellten Bindegewebsstrukturen, die zunehmend durch die schwarz dargestellten Kalziumeinlagerungen einen progredienten Frakturheilungsverlauf markieren.

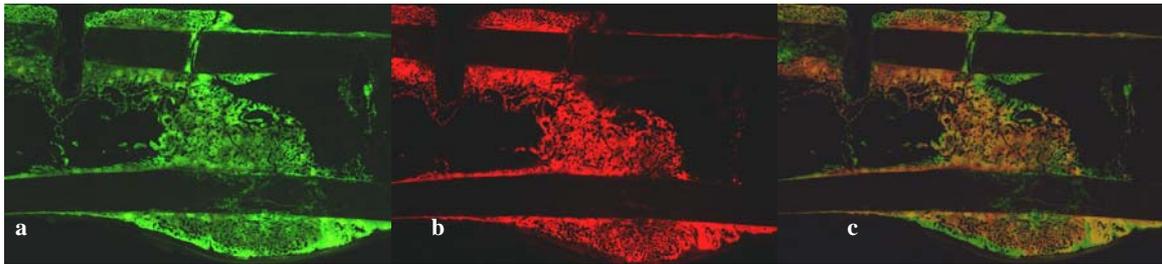


**Abb.1.13.** Frakturspaltüberbrückung nach Fixateur intern Osteosynthese und biomechanischer Testung **a)** nach 6 Wochen mit Refraktur der lateralen und medialen Kortikalis **b)** nach 12 Wochen mit Refraktur der medialen Kortikalis

#### 1.4.2. Polychrome Sequenzmarkierung

Zeitliche Abfolge und Lokalisation der Kallusmineralisation lassen sich mittels der polychromen Sequenzmarkierung verfolgen. Fluorochrome bilden mit Kalzium einen Chelatkomplex, der an der Oberfläche neu gebildeter Hydroxylapatitkristalle gebunden wird. Entsprechend der Farbverteilung der intravital in unterschiedlichen Zeiträumen verabreichten Farbstoffe kann auf Knochenappositions- und Wachstumsrate rückgeschlossen werden. Nicht vollständig mineralisiertes Geflechtknorpelgewebe wie Kallus lagert die Fluorochrome diffus ab. Die Demineralisation im Rahmen der osteoklastischen Resorption führt zu einer zarten Fluorochromeinlagerung in die scharfen Begrenzungen der Howshipschen Resorptionslakunen. Die Untersuchung erfolgt fluoreszenzmikroskopisch anhand von in Methacrylat eingebetteten unentkalkten Dünnschliffpräparaten von 80µm Dicke. Unter Einstrahlung von kurzwelligem Licht einer Quecksilberhochdrucklampe (Wellenlänge 280-580 nm) strahlen die eingelagerten Fluorochrome dieses in einem längerwelligen Licht wieder ab. Mittels Erregerfilter erfolgt die Selektion des jeweiligen Spektralbereiches, in dem das Absorptionsmaximum des fluoreszierenden

Stoffes liegt, um eine möglichst intensive artefaktfreie Sekundärfluoreszenz zu erzielen (Calzeingrün, Xylenolorange). Sperrfilter dienen der Absorption der Erregerstrahlung, nachdem diese ihre Aufgabe erfüllt hat. Die computergestützte digitale Bildverarbeitung erlaubt die Integration der einzelnen Bilder zu einem mehrfarbigen Gesamtbild.



**Abb.1.14.** Darstellung der Fluoreszenzmarkierung nach Anregung mittels kurzwelligem Licht im Spektralbereich des entsprechenden Fluorochroms **a)** Calzeingrün **b)** Xylenolorange **c)** computergeneriertes Summationsbild

## 1.5. Problem und Aufgabenstellung

Klinische und experimentelle Erfahrungen zeigen, dass das Auftreten von Störungen des Frakturheilungsverlaufes wie Infektion, verzögerte Knochenheilung, Pseudarthrose und Refraktur eng mit der Schädigung der Gefäßversorgung der Frakturumgebung vergesellschaftet sind. Die operative Frakturbehandlung ist infolge des damit verbundenen invasiven Vorgehens mit dem Nachteil der zusätzlichen Schädigung der Knochen und Weichteilstrukturen behaftet. Ziel der operativen Frakturbehandlung ist es eine Frakturposition und Stabilisierung mit möglichst geringer, operations- und Implantat bedingter Schädigung der Weichteil- und Knochenstrukturen zu erreichen.

Basierend auf der Grundlage der Erfahrungen der biologischen Osteosynthese wurde ein Fixateur intern entwickelt, der durch eine minimal invasive Operationstechnik den iatrogenen Weichteilschaden gering hält und die Frakturstabilisierung unter bestmöglichem Erhalt der Knochenvascularisation gewährleistet.

Grundkonzept des Fixateur interns ist das eines komplett implantierbaren Fixateur extern. Die Kraftübertragung erfolgt, anders als bei der Plattenosteosynthese, nicht über Reibung und Kompression zwischen Implantat und Knochen, sondern über die winkelstabile und passgenaue Schrauben- Implantatverbindung. Dieses Prinzip ermöglicht eine Reduktion der Knochenauflagefläche auf punktförmige Kontaktzonen und somit die maximale Schonung der periostalen Perfusion. Die Stabilität erlaubt die Verwendung monokortikaler Schrauben zur Schonung der medullären Gefäßversorgung. Darüber hinaus erlaubt der Fixateur- Knochen- Abstand die Bildung periostalen Kallus auch unterhalb des Fixateurs.

Experimentelle und klinische Studien unterstreichen die Bedeutung der biologischen Osteosynthese mit bestmöglichem Erhalt der Gefäßversorgung der Frakturumgebung. Die Ergebnisse zeigen einen beschleunigten Frakturheilungsverlauf und eine Verminderung der Komplikationsrate.

Ziel dieser Arbeit ist es, am Model einer Tibiaschaftfraktur mit Weichteiltrauma am Schaf, an hand histologischer Parameter zu prüfen, ob die postulierten Vorteile des Fixateur interns im Vergleich zum konventionellen Osteosyntheseverfahren mit dem unaufgebohrten Verriegelungsmarknagel tatsächlich Vorteile bezüglich des Frakturheilungsverlaufes zeigen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Versuchstiere

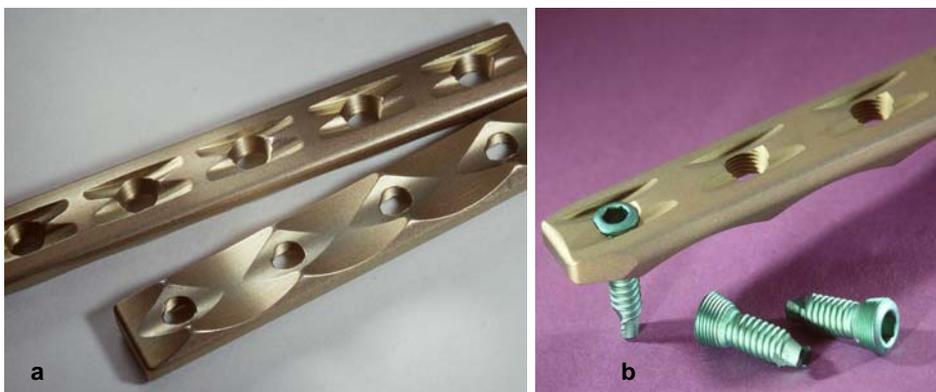
Als Versuchstiere dienten 14 weibliche Schweizer Bergschafe (12 im Hauptversuch, 2 im Pilotversuch). Das Gewicht der ausgewachsenen, im Mittel 4-jährigen Tiere lag zwischen 47 und 60 kg. Bis 24 Stunden vor der Operation wurden die Tiere im Freilaufstall danach in Einzellboxen gehalten. Als Futter erhielten die Schafe am Vormittag ein Gemisch aus je 200 g Graswürfeln, Maiswürfel und 100 g Pellets MIRH Nr.719/710 (Nafag- Kliba Gmbh, Kaiseraugst, Schweiz) in Wasser aufgeweicht und zusätzlich morgens und abends je 500 g Stroh sowie Wasser ad libitum.

Die Untersuchungen fanden im AO- Forschungsinstitut, Davos, Schweiz statt. Der Versuchsantrag wurde durch das kantonale Veterinäramt Graubünden/ Schweiz genehmigt.

#### 2.1.2. Implantate

Alle Implantate bestanden aus Titan entsprechend ISO 5832-2 Standard.

Verwendet wurden zwei Implantate. Zum Einen wurde der 7 Loch PC- Fix II (4.0 mm), Prototyp (Mathys, Bettlach, Schweiz) eingesetzt. Das Implantat ist ein komplett implantierbaren internen Fixateur. Grundlage der Systemstabilität bildet die winkelstabile Schrauben – Kraftträger Verbindung. Die Winkelstabilität wird durch passgenaue Verankerung des Schraubenkopfes im Implantat erzielt (Schrauben: selbstschneidend 10 mm Länge, Außendurchmesser 4,0 mm). Die Knochenauflagefläche wurde durch unterschnittene Implantatform punktförmig minimiert.



**Abb.2.1. a)** Fixateur intern (PC- Fix) – Implantat mit punktförmiger Auflagefläche der Fixateurunterseite **b)** Winkelstabile Schraubenverankerung

Zum Anderen kam der solide Humerus Verriegelungsmarknagel (UHN der Länge 190mm, Durchmesser 7,5mm, der Fa. Synthes, Schweiz) zum Einsatz.

### 2.1.3. Instrumente

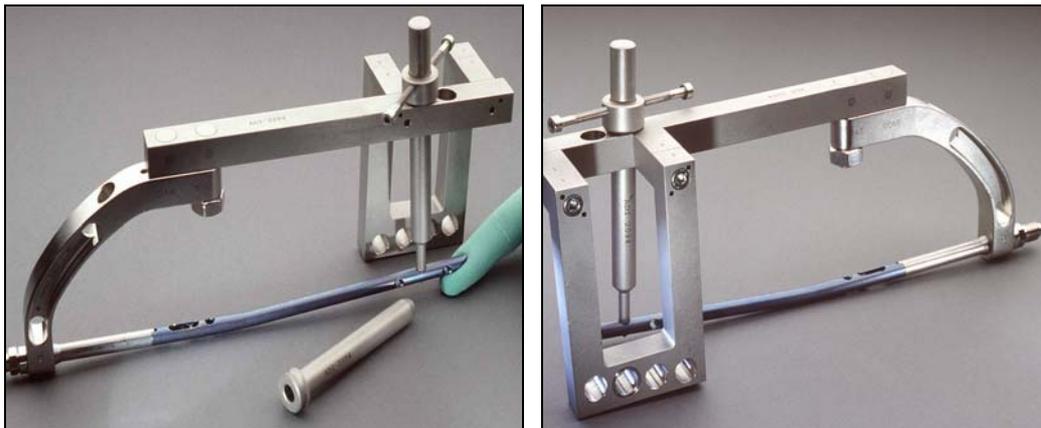
Alle Operationen wurden mit dem chirurgischen Grundinstrumentarium der AO durchgeführt.

Der Fixateur intern wurde mit Hilfe eines Insertionshandgriffes platziert. Das Einbringen der winkelstabilen Schrauben erfolgte mit einem begrenzten Drehmoment von 4,0 Nm minimal invasiv über verschiedene Trokare.



**Abb.2.2.** Insertionshandgriff mit Trokaren zum Einbringen der Schrauben

Die distale Verriegelung des unaufgebohrten Tibianagels erfolgte über ein eigens angefertigtes Zielinstrumentarium.



**Abb.2.3.** Verwendet wurde der UHN mit Zielbügel für die proximale Verriegelung der Fa. Synthes. Mittels eigens angefertigtem Zielinstrumentarium konnte auch die distale Verriegelung ohne Röntgendurchleuchtung durchgeführt werden.

### 2.1.4 Instrumente zur Erzeugung des Weichteiltraumas und der Fraktur

Zur Erzeugung eines definierten und reproduzierbaren Weichteiltraumas im lateralen Kompartiment in Tibiaschaftmitte wurde eine computerkontrollierte Vorrichtung mit justierbarem pneumatischen Zylinder (Durchmesser 25 mm, Eindringgeschwindigkeit 6m/s) verwendet, die eine Anpassung an jede Weichteildicke erlaubt.

Direkt unter dem Weichteiltrauma wurde über zwei je 2 cm lange Inzisionen eine 1/3 Osteotomie angelegt. Über den selben Zugang erfolgte das Einbringen einer 4-Punkte-Biege Vorrichtung zum Erzeugen der Querfraktur. Diese Vorrichtung setzte sich aus einem Trägerelement mit 2 äußeren Auflagepunkten, zwei monokortikal inserierten Schanzschrauben und einer Verbindungsstange zusammen. Eine Vorspannung von 49N wurde über eine Rändelschraube aufgebaut.

Die Fraktur wurde durch den Schlag eines mit der Vorrichtung verbundenen Gewichtes gesetzt.



Abb.2.4. a) Versuchsanordnung zum Setzen des Weichteiltraumas b) Instrumente zur Erzeugung der Fraktur

### 2.1.5 Entlastungsvorrichtung im Stall

Um eine mit der Klinik vergleichbare Heilung zu erzielen und um schädliche Maximalkräfte zu vermeiden wurden die Schafe 6 Wochen postoperativ in einer Entlastungsvorrichtung unterstützt. Diese Entlastungsvorrichtung hinderte die Tiere daran sich hinzulegen und verhinderte so eine Maximalbelastung des Frakturgebietes beim Wiederaufstehen.

Die Schafe standen in dieser Vorrichtung mit ganzem Gewicht am Boden. Zum Wiederkäuen legen sich die Tiere in die Haltevorrichtung und entlasten auf diese Weise die Beine.



**Abb.2.5.** Tierhaltung in Einzelboxen, die Schafe stehen mit vollem Gewicht am Boden, die Vorrichtung verhindert das Hinlegen der Tiere, damit Spitzenbelastung beim Wiederaufstehen, und erlaubt die Entlastung der Beine während der Ruhephasen

## 2.2. METHODEN

### 2.2.1. Versuchsanordnung

Jedes Schaf wurde einzeln an beiden Hinterläufen operiert. Jede frakturierte Tibia wurde mit einem unterschiedlichen Stabilisierungsverfahren (PC- Fix oder UHN) versorgt, wobei die Zuordnung des Operationsverfahrens zur rechten bzw. linken Tibia in zufälliger Auswahl erfolgte.

Die Versuchsdauer betrug 6 und 12 Wochen.

**Tab.2.1.** Verteilung der Frakturstabilisierungsmethoden auf die Versuchstiere

Schaf N	OP-Datum	Euthanasie	UHN	Fixateur intern
	<b>Versuchsdauer</b>	<b>Wochen</b>		
	<b>6</b>			
950	09.03.99	20.04.99	L	R
920	10.03.99	21.04.99	L	R
931	10.03.99	21.04.99	R	L
868	12.03.99	23.04.99	R	L
933	09.04.99	21.05.99	L	R
954	09.04.99	21.05.99	R	L
	<b>Versuchsdauer</b>	<b>Wochen</b>		
	<b>12</b>			
919	04.03.99	26.05.99	R	L
924	04.03.99	26.05.99	L	R
921	05.03.99	26.05.99	R	L
936	11.03.99	07.06.99	L	R
957	11.03.99	03.06.99	R	L
903	12.03.99	03.06.99	L	R

R, L = rechte, linke Tibia

### **2.2.2. Operationsvorbereitung und Anästhesie**

Nach 24- stündiger Nahrungskarenz wurde das Schaf eine Stunde vor Narkosebeginn mit einer intramuskulären Injektion von 0,3 ml Domosedan (10mg/ml, Orion Corporation, Finnland) prämediziert. Nach Anlage eines linksseitigen zentralvenösen Zuganges (V. jugularis externa) erfolgte die Narkoseeinleitung mit 7 ml Penthotal® 5% (Thiopental, Fa. Abbott, Schweiz). Die Intubation wurde ohne Muskelrelaxation unter laryngoskopischer Kontrolle (Tubusgröße 7,5 bzw. 8) durchgeführt. Die Narkose wurde mit einem Gasmisch von Halothan® (1,5- 2%) und Sauerstoff (2 l/min) aufrechterhalten. Die Einlage eines Magenschlauches erfolgte zur Verhinderung einer Magentympanie.

Nachfolgend wurden beide Hinterbeine vollständig rasiert, das Weichteiltrauma generiert, die Haut mit flüssiger Betadineseife gereinigt und die Hufe steril verpackt. Die Operation erfolgte in Rückenlage des Schafes. Nach Hautdesinfektion mit zweimaligem Betadineanstrich wurde das Operationsfeld in üblicher Weise steril abgedeckt.

### **2.2.3. Operationstechnik**

#### **2.2.3.1. Weichteiltrauma**

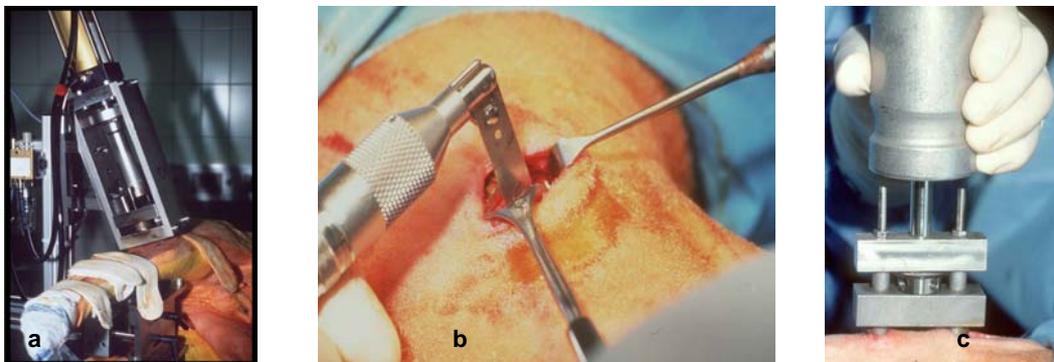
Nach Einleitung der Intubationsnarkose wurde zunächst der geschlossene Weichteilschaden im lateralen Kompartiment in Tibiaschaftmitte erzeugt. Das Schaf wurde in Seitenlage gebracht, das Schafsbein in einer vorgeformten Halteschale gelagert und durch 4 Klettverschlüsse in der Position gesichert.

Das Weichteiltrauma wurde mit einem Schlagstempel (Durchmesser 25 mm), der durch einen pneumatischen Zylinder auf 6m/s beschleunigt wurde, erzeugt. Die Eindringtiefe des Stempels entsprach der 1,6 fachen Weichteiltiefe (1,6 x STT– Soft Tissue Thickness). Aus vergleichenden Vorversuchen war bekannt, dass eine Eindringtiefe von 1,6 x STT ein markantes Weichteiltrauma mit Erhöhung des Kompartimentdruckes und ohne Entwicklung eines Kompartmentsyndroms hinterlässt. Die Weichteiltiefe des lateralen Kompartiments wurde zunächst mittels einer Nadel bestimmt, um die individuelle Eindringtiefe des pneumatisch gesteuerten Stempels zu standardisieren. Die Weichteilverletzung entspricht einem geschlossenen Weichteiltrauma ohne Eröffnung der Haut (G II nach Tscherne).

### 2.2.3.2. Frakturmodell

Nach Hautdesinfektion und steriler Abdeckung erfolgte die Erzeugung einer standardisierte Tibiaschaftfraktur. Dazu wurden zunächst zwei je 2 cm lange Inzisionen über dem medialen Tibiaschaft angelegt. Nach Eröffnung des Periosts wurde von medial mit oszillierender Säge eine 1/3 Osteotomie in Tibiaschaftmitte als Schwachpunkt angelegt. Unter den Weichteilen wurde das Trägerelement mit den zwei punktuellen Auflageflächen platziert und über dem Frakturspalt epiperiostal ausgerichtet. Die endständigen punktuellen Auflageflächen des Trägerelementes dienten als Auflagefläche für die Vierpunktvorspannung. Durch diesen Metallbalken wurden zwei selbstbohrende, monokortikale Schanzschrauben in definiertem Abstand zum Osteotomiespalt perkutan appliziert und der Aufsatz der 4-Punkt-Biege Vorrichtung zum Erzeugen einer Querfraktur angebracht. Unter einer Vorspannung (49N) wurde nun durch schnelles Zurückziehen eines Schlaggewichtes eine reproduzierbare Fraktur erzeugt.

Unter einmaliger 90° Valgusbelastung wurde das Periost rupturiert. Danach erfolgte die Frakturreposition über die Schanzschrauben, die temporäre Stabilisierung und nachfolgende definitive Versorgung.

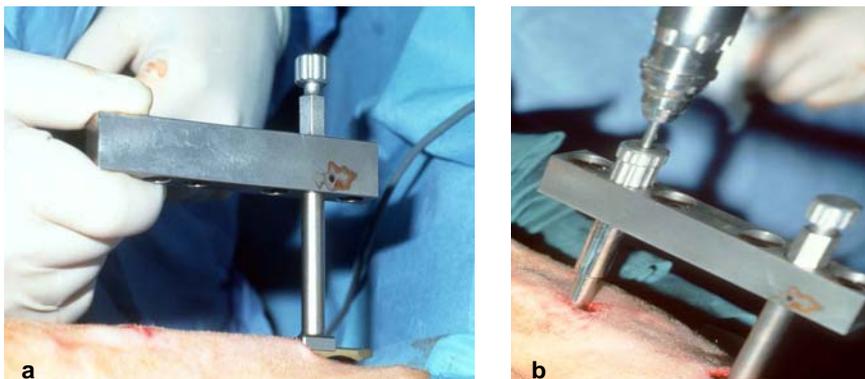


**Abb.2.6.** a) Im **Ersten Schritt** erfolgte die Erzeugung des Weichteiltraumas b) **Zweiter Schritt**: nach Hautdesinfektion und steriler Abdeckung Setzen der 1/3 Osteotomie, c) **Dritter Schritt**: Erzeugung der Fraktur: Aufsatz der 4-Punkt Biegevorrichtung mit Schlaggewicht, durch Zurückziehen des Gewichtes orthogonal zur Tibialängsachse wurde eine reproduzierbare Querfraktur erzeugt

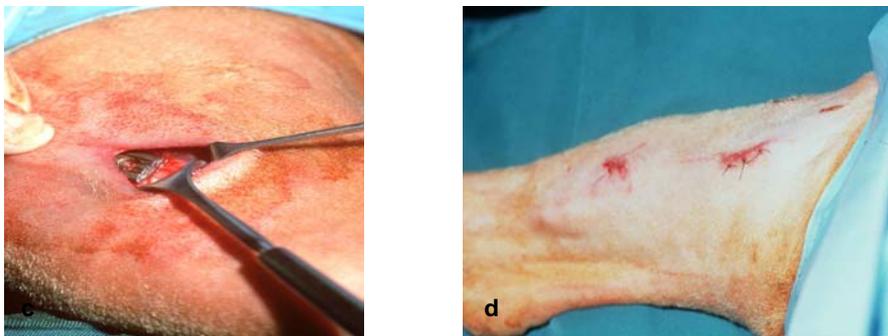
### 2.2.3.3. Minimal invasive Osteosynthese – PC- Fix II (7- Loch, 4,0 mm, Titan, Fa. Mathys, Schweiz)

Zum Einbringen des Implantates und der Schrauben in minimal invasiver Operationstechnik wurden ausschließlich die beiden Zugänge von jeweils 2 cm Länge am medialen Tibiaschaft genutzt. Unter geschlossener Frakturreposition wurde der PC- Fix mit Hilfe des Insertionshandgriffes über den proximalen Zugang

zwischen Periost und Weichteilgewebe vorgeschoben. Die Platzierung der ersten zwei Schrauben erfolgte frakturnah unter Verwendung der bereits zur Fakturerzeugung gebohrten Schanzschraubenlöcher. Die verbleibenden Schraubenlöcher wurden perkutan mittels Trokarsystem besetzt. Die Fraktur wurde mit jeweils 3 monokortikalen Schrauben pro Hauptfragment stabilisiert, das mittlere Schraubenloch über der Frakturzone blieb unbesetzt. Eine Frakturkompression wurde nicht erzeugt.



**Abb.2.7. a)** Platzieren des Fixateur interne. Über eine Stichinzision wird das Implantat zwischen Gewebe und Periost nach distal vorgeschoben und **b)** mittels Trokarsystem die übrigen Schrauben eingebracht.



**Abb.2.7. c)** Minimal invasiver Zugang (MIS) nach Platzierung des Fixateurs, **d)** nach Hautverschluß

### **2.2.3.5. Die Osteosynthese mit Unaufgebohrtem Marknagel (UHN 7,5 mm, 190 mm Länge, Titan, Fa. Synthes, Schweiz)**

Präoperativ wurde an Hand von Röntgenaufnahmen beurteilt ob Markraumweite- und Länge der Schafstibia mit dem Implantat übereinstimmen. Als Voraussetzung galt ein Markraumdurchmesser von wenigstens 8 mm in der lateralen Aufnahme.

Der Zugang zum Einbringen des Nagels und der proximalen Verriegelungsbolzens wurde paraligamentär, medial des Ligamentum patellae, gewählt. Nach Hautinzision und Präparation des Nageleintrittspunktes unter Schonung des Hoffaschen Fettkörpers wurde die Kortikalis mit einem Steinmannpin eröffnet und der Zugang

zum Markraum mit einem Pfriem erweitert. Das Implantat wurde dann in Richtung der Tibialängsachse in die Markhöhle eingeführt und unter Frakturposition so weit vorgeschoben, dass es sicher zu keiner schmerzhaften Protrusion des proximalen Nagelendes kommen konnte. Zur Platzierung der distalen, statischen Verriegelungsbolzen wurde der Nagel mit einem eigens hergestellten Zielinstrumentarium gekoppelt, welches über ein 6 mm Fixierungsloch an der distalen Tibiavorderkante mittels eines temporären Platzhalters ausgerichtet wurde. Über die zum Setzen der Fraktur bereits notwendige distale Inzision erfolgte nun das Einbringen der beiden distalen Verriegelungsbolzen. Es folgte die Repositionskontrolle, Kontrolle auf Rotationsfehler und Achsabweichung. Bei Nachweis einer Fragmentdiastase wurde die Fragmentstellung in Rückschlagtechnik optimiert. Danach erfolgte die proximale Verriegelung (eine dynamische, eine statische Verriegelungsschraube) mit Hilfe des Zielgerätes.

Nach Einbringen der Verschlusskappe folgte der schichtweise Wundverschluss. Die Hautinzisionen wurden in allen Fällen mit Einzellknopfnähten in Rückstichtechnik nach Donati (Supramid® 4.0, SSC, 8212 Neuhausen, Schweiz) verschlossen und ein steriler Wundverband angelegt.

#### **2.2.4. Postoperativer Verlauf und klinische Kontrollen**

Postoperativ wurden die Schafe für 6 Wochen in Einzelställen gehalten. Nach 6 Wochen wurden die Tiere in Gruppen gehalten.

Die klinische Kontrolle der Schafe erfolgte bei unauffälligem Verlauf an den ersten beiden postoperativen Tagen 2 mal täglich, ab dem dritten postoperativen Tag täglich und später wöchentlich. Die Kontrolle richtete sich dabei besonders auf das Auftreten von Nachblutungen, Schwellungen und Infektionszeichen im Operationsbereich. Die Messungen der Rektaltemperatur erfolgte in den ersten 2 Wochen nach Operation täglich und danach 2 mal wöchentlich bis zum Ende der 4. Woche. Der erste Verbandswechsel erfolgte am 2. postoperativen Tag und die Fadenentfernung wurde am 7. postoperativen Tag durchgeführt. Die Daten wurden sowohl im Laborbuch als auch im Ordner jedes einzelnen Schafes dokumentiert.

### 2.2.4.1. Postoperativer Zeitplan

Der Postoperativer Zeitplan war bei allen Tieren der 6 und 12 Wochen Gruppe identisch.

Der Frakturheilungsverlauf wurde alle 2 Wochen mittels Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen (a.p. und lateral) sowie durch die intravitale Fluorochrom Sequenzmarkierung verfolgt. Die Frakturen wurden an Hand der postoperativen Röntgenbilder nach der AO- Klassifikation charakterisiert.

Nach Präparation der exartikulierten Tibiae fand die biomechanische Untersuchung statt. Danach wurden die Präparate der histologischen Aufarbeitung zugeführt.

In Tabelle 2.2. und 2.3. sind die Untersuchungszeitpunkte der Messungen aufgelistet

**Tab. 2.2.** Schematischer Zeitplan für die 6-Wochen-Gruppe

1. Wo	2. Wo	4. Wo	6. Wo
OP	Rö	Rö	Eu
Rö	XO	CG	Rö
	Fdn ex		BM-Test
			Histo

**Tab.2.3.** Schematischer Zeitplan für die 12-Wochen-Gruppe

1. Wo	2. Wo	4. Wo	6. Wo	8. Wo	10. Wo	12. Wo
OP	Rö	Rö	Eu	Rö	Rö	Rö
Rö	Fdn ex		Rö	XO	CG	Eu
						BM-Test
						Histo

Op	Operation	CG	Calceingrün-Markierung
Rö	Röntgenaufnahme	XO	Xylenolorange-Markierung
Fdn ex	Fadenentfernung	BM-Test	Biomechanische Testung
Histo	Histologische Untersuchung		

### 2.2.4.2. Polychrome Sequenzmarkierung

Ein wesentlicher Bestandteil der histologischen Auswertung ist die nähere Charakterisierung der Knochenneubildung, des Knochenumbaus (Remodeling) und der Frakturheilung in Abhängigkeit von der verwendeten Frakturstabilisierungsmethode. Unter diesem Gesichtspunkt wurde eine polychrome Sequenzmarkierung mit den Fluorochromen Xylenolorange und Calceingrün vorgenommen.

In der 6 Wochen Gruppe wurde die erste Markierungssubstanz jeweils einen Tag vor Ende der dritten und vierten Woche appliziert. Die Injektion der zweiten Markierungssubstanz erfolgte 2 Tage vor Ende der fünften und sechsten Woche.

In der 12 Wochen Gruppe wurde die erste Markierungssubstanz jeweils zwei Tage vor Ende der fünften und sechsten Woche appliziert. Die Injektion der zweiten Markierungssubstanz erfolgte 2 Tage vor Ende der elften und zwölften Woche.

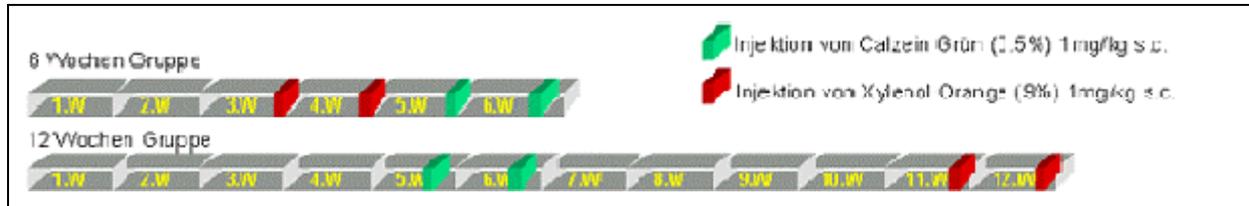


Abb.2.8. Schematischer Zeitplan der Fluorochromapplikation

Der genaue Zeitplan der Applikation der Markierungssubstanzen Xylenolorange und Calzeingrün ist Gegenstand der folgenden Tabelle.

Tab.2.4. 6 Wochen Gruppe: (1 Tag vor Ende der 3./4. Wo XO und 2 Tage vor Ende der 5./6. Wo CG)

Schaf Nr.	OP	XO 1	XO 2	CG 1	CG 2	Eu
868	Fr 12.03.	Do 01.04.	Do 08.04.	Mi 14.04.	Mi 21.04.	Fr 23.04.
931	Mi 10.03.	Di 30.03.	Di 06.04.	Mo 12.04.	Mo 19.04.	Mi 21.04.
920	Mi 10.03.	Di 30.03.	Di 06.04.	Mo 12.04.	Mo 19.04.	Mi 21.04.
950	Di 09.03.	Mo 29.03.	Mo 05.04.	So 11.04.	So 18.04.	Di 20.04.
933	Fr 09.04.	Do 29.04.	Do 06.05.	Mi 12.05.	Mi 19.05.	Fr 21.05.
954	Fr 09.04.	Do 29.04.	Do 06.05.	Mi 12.05.	Mi 19.05.	Fr 21.05.

XO: Xylenolorange; CG: Calzeingrün, Eu: Eutanasie

Tab.2.5. 12 Wochen Gruppe: (2 Tage vor Ende der 5./6. Wo. CG und 2 Tage vor Ende der 11./12. Wo. XO)

Schaf Nr.	OP	CG 1	CG 2	XO 1	XO 2	Eu
957	Do 11.03.	Di 13.04.	Di 20.04.	Di 25.05.	Di 01.06.	Do 03.06.
903	Fr 12.03.	Mi 14.04.	Mi 21.04.	Di 25.05.	Di 01.06.	Do 03.06.
921	Fr 05.03.	Mi 07.04.	Mi 14.04.	Mo 17.05.	Mo 24.05.	Mi 26.05.
924	Do 04.03.	Di 06.03.	Di 13.04.	Mo 17.05.	Mo 24.05.	Mi 26.05.
919	Do 04.03.	Di 06.03.	Di 13.04.	Mo 17.05.	Mo 24.05.	Mi 26.05.
936	Mo 15.03.	Sa 17.04.	Sa 24.04.	Sa 29.05.	Sa 05.06.	Mo 07.06.

XO: Xylenolorange; CG: Calzeingrün, Eu: Eutanasie

### 2.2.4.3. Euthanasie

Nach Prämedikation von 0,3 ml Domosedan (10mg/ml, Orion Corporation, Finnland) wurden die Schafe im Stall mit einer Überdosis Vetanarcol (Pentobarbital 162 mg/ml; 20ml/50 kg KG, Veterinaria AG, Schweiz) in die V. jugularis eingeschläfert. Der Tod wurde durch Auskultation des Herzens gesichert. Einige Minuten später erfolgte die Entnahme der Tibiae.

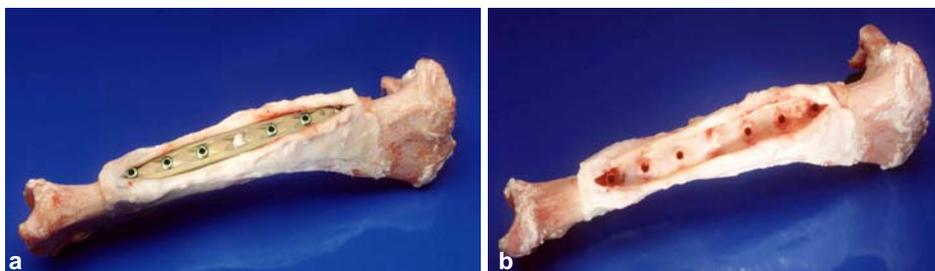
### 2.2.5. Aufarbeitung der Tibiae

#### 2.2.5.1. Präparation des Plattenlagers

Im ersten Schritt erfolgte nach oberflächlicher Längsinzision vom Knie bis zum oberen Sprunggelenk, lateral der Plattenkapsel, die Hautentfernung. Unter konsequenter Schonung der Plattenkapsel erfolgte danach die Präparation vom oberflächlichen vorderen- und hinteren Kompartiment und schließlich des tiefen hinteren- und lateralen Kompartiments. Die Amputation erfolgte proximal im Kniegelenk sowie distal zwischen Malleolus medialis tibiae und Talus.

#### 2.2.5.2. Vorbereitung der Tibiae für die weiteren Untersuchungen

Nach medianer Längsinzision der Plattenkapsel über die gesamte Plattenlänge wurde von beiden Seiten durch abwechselndes, vorsichtiges Ausdrehen der Schrauben die Platte vom Knochen entfernt. Bei stark fixierter Platte wurde dieselbe vorsichtig mittels Raspatorium abgehebelt.



**Abb.2.9.** Tibia Explantat a) vor und b) nach Implantatentfernung

Jeder einzelne Knochen wurde in Ringerlösung getränkte Kompressen einwickelt und in eine Plastiktüte gelegt. Nach Erstellen des Protokolls sowie eines Histologie-Verarbeitungs- und Begleitblattes erfolgte die sofortige Einbettung der Knochenenden (je 7 cm proximal bzw. distal der ehemaligen Plattenmitte) in Methylmetacrylat für die biomechanische Testung. Nach den biomechanischen Messungen wurde der proximale und distale in Methylmetacrylat eingebettete Knochenanteil entfernt. Danach hatten die Tibiae eine Gesamtlänge von ungefähr 10 cm.

Bis zur histologischen Weiterverarbeitung wurden die Knochen nun, einzeln in lichtgeschützten Glaszylindern, in Fixierungslösung (324 ml 36% Formalin, 540ml EtOH 100%, 130ml Natriumbarbitol), aufbewahrt.

### **2.2.6. Herstellung der histologischen Präparate**

Im Zuge der histologischen Aufarbeitung der Tibiae wurden Schnitte (Dicke 6µm) und Schliffe (Dicke 80µm) angefertigt. Anhand der Schnitte erfolgte eine quantitative Beurteilung von Kallus und Kortex der Frakturregion, sowie eine qualitative Beurteilung der Frakturheilung. Die Schliffe wurden für die Fluoreszenzmikroskopie angefertigt.

Dazu wurden die Knochen unmittelbar vor der Weiterverarbeitung den lichtgeschützten Glaszylindern entnommen und die Reste der Fixierungslösung entfernt.

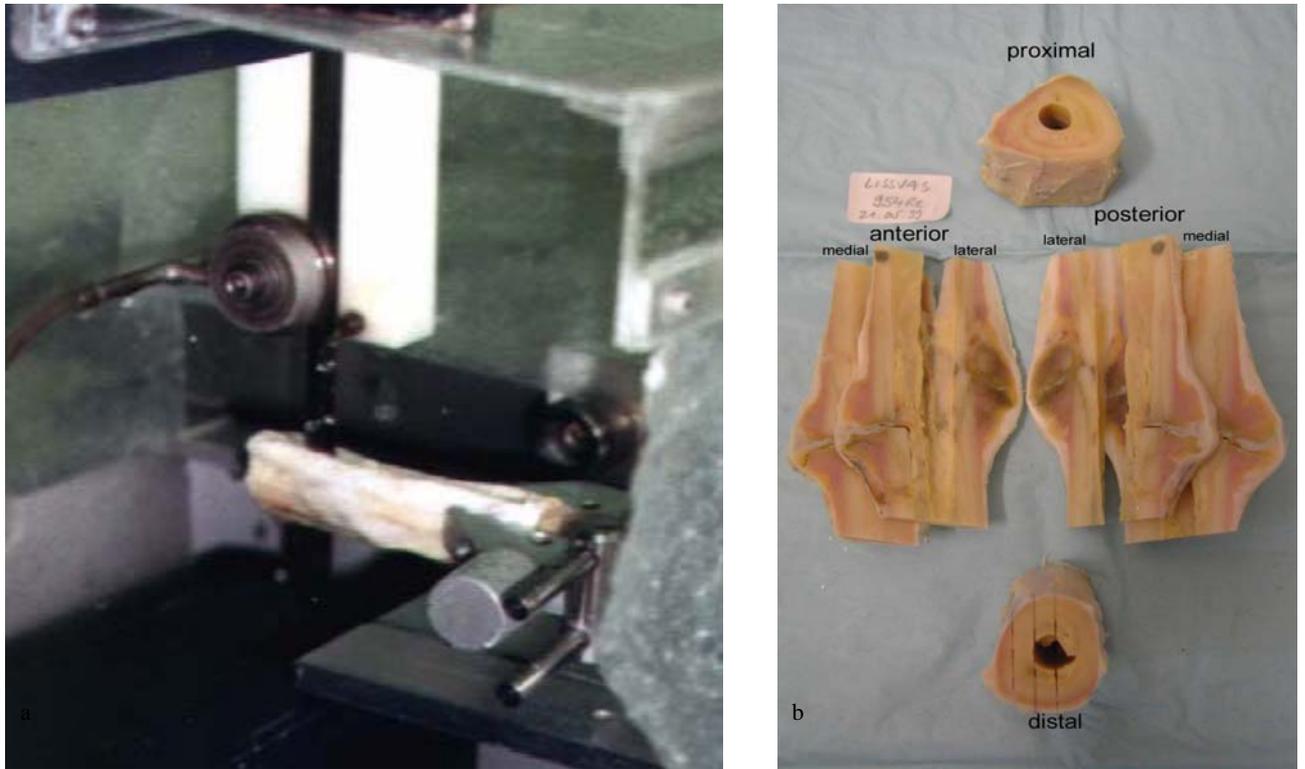
#### **2.2.6.1. Sägen der Präparate**

Im ersten Schritt wurde die Länge jeder Tibia der Länge der im Weiteren zu verwendenden Objektträger (75 x 50 x 2 mm) angepaßt.

Im zweiten Schritt wurde der Knochen in frontaler Ebene, parallel zur diaphysären Achse in 4 mm dicke Scheiben geschnitten. Der erste Schnitt wurde dabei genau durch die Mitte des Plattenlagers von medial nach lateral geführt. Eine identische Wahl der Schnittebene bei den Marknagel instrumentierten Tibiae wurde mit Hilfe der Bestimmung des Winkels, welchen die anteriore Vorderkante der Tibia mit der Schnittebene bildet, gesichert.

Um nun zwei genau 4 mm dicke Scheiben aus der Mitte des Knochens zu gewinnen wurde parallel dazu, sowohl 4 mm anterior als auch 4 mm posterior, je ein weiterer Längsschnitt gesetzt, so daß eine anteriore und eine posteriore Scheibe entstand.

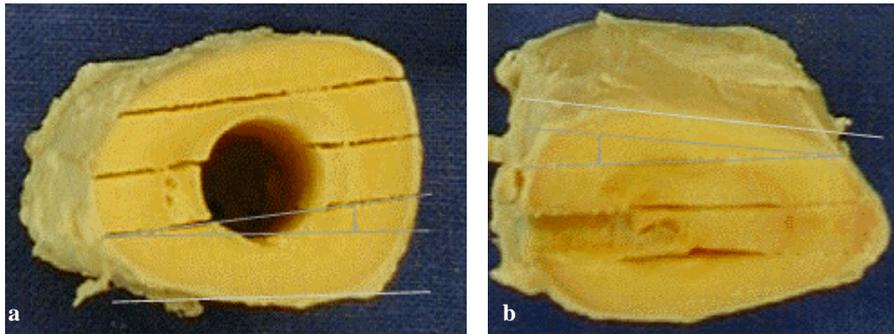
Das proximale, mediale Ende der Innenseite der anterioren und posterioren Knochenscheibe wurde markiert, um eine räumliche Identifikation zu gewährleisten. Die anteriore Scheibe wurde im Folgenden zur Herstellung der Schliffe, die posteriore Scheibe zur Herstellung der Schnitte verwendet.



**Abb.2.10.** a) Sägen des Präparates. b) Ergebnis des Sägevorganges Längs-Schnitte der Länge 75mm , der Dicke 4mm. Je ein anteriorer und posteriorer Längsschnitt wurde hergestellt. Markierungspunkt proximal medial auf der Innenseite der Schnittfläche

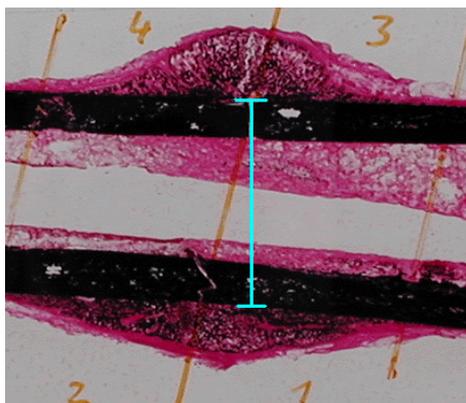
### 2.2.6.2. Charakterisierung der Schnittebene und Untersuchung der Knochengröße

Die Schnittebenen der mit PC- Fix instrumentierten Tibiae sind orthogonal zum Plattenlager in frontaler Ebene orientiert. Durch Analyse des Winkels den die Tangente der Tibiavorderseite mit den Schnittebenen bildet, soll eine Vergleichbarkeit der Wahl der Schnittebenen der Fixateur intern und Marknagel Gruppe gewährleistet sein.



**Abb.2.11.** Schaf Nr. 950 Untersuchung der Schnittebene: Erfassen des Winkels den die Tangente der Tbiavorderkante mit der Schnittebene bildet zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit der Schnittebene in **a)** UHN und **b)** PC- Fix instrumentierten Tibiae

Zur Demonstration der Homogenität der Schafstibia Präparate hinsichtlich der Größe wurde die Distanz zwischen lateraler und medialer Kortexgrenze in Höhe des medialen Frakturspaltes bestimmt.



**Abb.2.12.** Schaf Nr. 950 Kortexabstand: Messen des Abstandes zwischen lateraler und medialer Kortexgrenze in Höhe des medialen Frakturspaltes

### 2.2.6.3. Entwässerung

Die Knochenscheiben wurden in Gaze- Tüchern locker verpackt, beschriftet und in luftdicht verschlossenen, lichtgeschützten Glasbehälter in einer aufsteigenden Alkoholreihe der Entwässerung unterzogen. Die eintägige Inkubation mit Xylol diente der Entfettung.

**Tab.2.6.** Alkoholreihe

Ethanol	Xylol							
40%	70%	80%	96%	96%	100%	100%	100%	
5min	3 Tage	7 Tage	1 Tag					

#### 2.2.6.4. Einbetten in Kunststoff

Zum Einbetten der Präparate wurde Technovit® 9100 Neu (Heraeus- Kulzer, Wehrheim/ Ts., Deutschland) verwendet. Hierbei handelt es sich um ein Polymerisationssystem auf der Basis von Methymethacrylat, welches speziell zur Einbettung von mineralisierten Geweben in der Lichtmikroskopie entwickelt wurde.

Die Knochenscheiben wurden nun einzeln, mit der medianen Schnittfläche nach unten weisend beschriftet. Dann erfolgte Präinfiltration, Infiltration und Einbettung im Kunststoff. Die Einbettung selbst wurde zum regelrechten Start der Polymerisationsreaktion unter Einsatz einer Vakuumpumpe (KNF Standard Vakuummembranpumpe, Neuberger GmbH, Deutschland) durchgeführt.

Nach 24 Stunden bei -4 °C war der Polymerisationsprozess abgeschlossen und der Kunststoff ausgehärtet.

Der bei einigen Proben nicht vollständig polymerisierte Überstand (< 5 ml) wurde gegebenen Falls manuell entfernt und durch das in 6 min auspolymerisierende Technovit® 3040 (Heraeus- Kulzer, Wehrheim/ Ts., Deutschland) ersetzt.

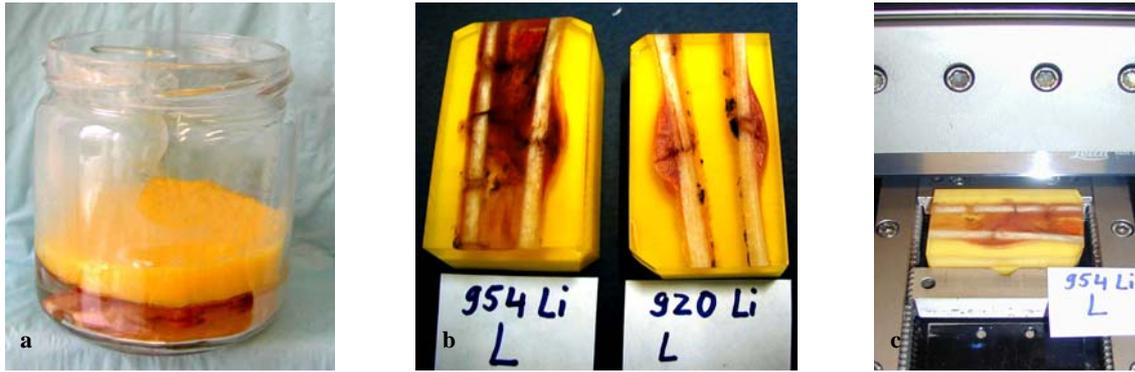
**Tab.2.7.** Vorbereitung und Einbettung

Präinfiltration	Infiltration	Einbettung
1 Stunde bei Raumtemperatur	3 Tage bei 4 °C	10 min im Vakuum, dann 24 Stunden bei -4 °C

Die chemische Polymerisation erfolgt unter Sauerstoffausschluss mit Hilfe eines Katalysatorsystems aus Peroxyd und Amin.

**Tab.2.8.** Komponenten des Polymerisationssystems

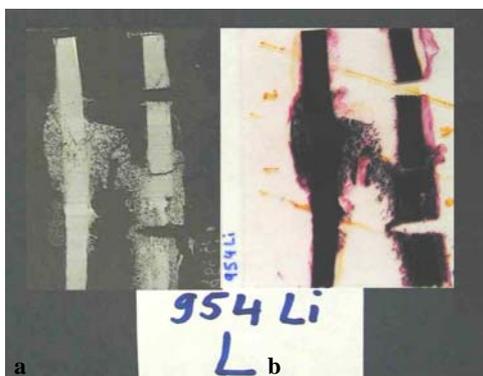
	Basislösung	PMMA Pulver	Härter 1	Härter 2	Regler	
Präinfiltrationslösung	200 ml		1 g			
Infiltrationslösung	ad 250 ml	20 g	2 g			
Lösung A	ad 500 ml	80 g	4 g			
Lösung B	ad 50 ml			4 ml	2 ml	
Polymerisations- gemisch		Lösung A	: Lösung B	=	9 : 1	frisch herstellen



**Abb.2.13.** a) Nach Einbettung: Präparat in transparentem polymerisiertem Methylmetacrylat eingebettet, aufgeossen mit Technovit 3040 (gelb) b) Geschliffene Blöcke: Nach Entfernung des Glases erfolgte das Schleifen eingebetteten Präparate zu Blöcken mit parallelen Seitenflächen und ggf. die Entfernung von PMMA- Überresten. c) Hartschnittmikrotom zu Herstellung der 6µm dicken Schnitte: Nach dem parallelen Zuschleifen erfolgte das Einpassen des Blockes in die Haltevorrichtung, dann folgte das Schneiden durch Vorschub des fixierten Blockes.

### 2.2.6.5. Herstellung der Schnitte

Die auspolymerisierten Proben wurden dann aus den Gläsern herausgeschlagen und mittels Handschleifmaschine auf Größe der Mikrotom Einspannvorrichtung zurechtgeschliffen. Die Herstellung der 6 µm dicken Schnitte erfolgte mit dem Hartschnittmikrotom Polycut S (Leica SM 2500S) ausgerüstet mit 40° Hartmetallmessern (Firma Leica, Nussloch, Deutschland) . Geschnitten wurde mit einem Messerwinkel von 0°- 1° von der Unterseite der eingebetteten Knochenscheibe ausgehend. Die so erhaltenen Präparate wurden mit Streckflüssigkeit (2-Butoxyethyl-Acetat 30 ml und Ethanol 70% 70 ml) faltenfrei auf einen Gelatine beschichteten Objektträger (75mm x 50mm, Glas) aufgebracht, mit Kisolfolie und Filterpapier abgedeckt und unter dem Druck einer Schnittpresse 24 Stunden bei 37 °C getrocknet. Nach Entfernen von Filterpapier und Kisolfolie erfolgte die Färbung der getrockneten Präparate mit von Kossa/ Safranin O- Färbung.



**Abb.2.14.** Präparat 954 Li: a) ungefärbter, getrockneter 6µm Schnitt b) Schnitt nach von Kossa/ Safranin O Färbung

#### **2.2.6.6. Herstellung der Schliffe**

Die Anfertigung der 80 µm dicken Schliffe erfolgte in Sandwichtechnik.

Nach Herausschlagen der auspolymerisierten Proben aus den Gläsern wurden diese zunächst mit einer Handschleifmaschine auf die Größe der Kunststoffobjektträger reduziert.

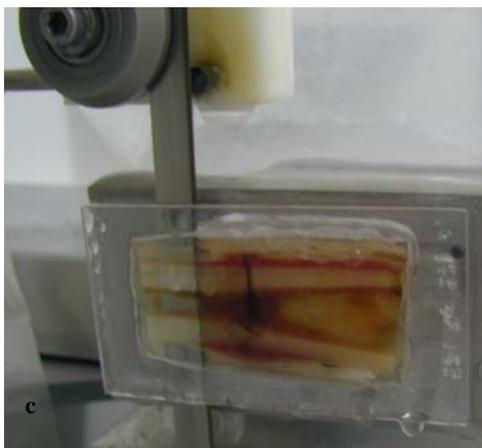
Das Präparat wurde dann mit der Rückseite auf den ersten angeschliffenen, planparallelen Objektträger mit dem Technovit® 4000 (Heraeus- Kulzer, Wehrheim/ Ts., Deutschland) aufgeklebt und zum Aushärten in eine Klebepresse gespannt. Technovit® 4000 ist ein Dreikomponentenkleber, der nach Mischen der Komponenten innerhalb von 10 min vollständig aushärtet. Die posteriore freie Seite des aufgeklebten Präparates wurde dann mit dem Mikroschleifsystem (Fa. Exakt, Norderstedt, Deutschland), Schleifpapier 800er Körnung, planparallel zum Objektträger geschliffen bis die mediane Seite der Knochenscheibe vollständig an der Oberfläche des Blockes freigelegt war. Nach kurzer Glättung der Oberfläche mit Schleifpapier 1200er Körnung wurde nun der zweite angeschliffene, planparallele Objektträger diesmal mit Technovit® 7210 (Heraeus- Kulzer, Wehrheim/ Ts., Deutschland) , einem durchsichtigen Hochpräzisionskleber, auf der medianen Seite des Präparates fixiert. Zum Starten der Polymerisationsreaktion des Klebers musste das Präparat mit kurzweiligem UV- Licht bestrahlt werden. Die Bestrahlungszeit konnte auf 7 min beschränkt werden, was aber das Aushärten der Präparate auf 24 Stunden verlängerte. Nach dieser Zeit des lichtgeschützten Aushärtens wurde der posteriore Teil des Sandwich (posteriorer Objektträger, Technovit® 7210 Schicht, Teil der Knochenscheibe 300-400 µm) mittels Punktkontaktsäge (Fa. Exakt, Norderstedt, Deutschland) mit einem 200µm dicken Sägeblatt abgetrennt und im Folgenden mit 800er, 1200er, 2000er Schleifpapier auf eine Dicke von 80µm geschliffen und anschließend mit 4000er Schleifpapier poliert. Die Bestimmung der Schliffdicke ist in Tab. 2.9. dargestellt.

**Tab.2.9.** Bestimmung der Schliffdicke

Schritt	Messobjekt	Beispiel (931 Li G)
1.Messung	Präparat+Technovit4000+Objektträger(1)	7.126 mm
2.Messung	Objektträger(2)	2.021 mm
3.Messung	Sandwich	9.212 mm
3.-(1. + 2. ) Messung	Technovit 7210	0.065 mm
Gesamtenddicke	Präparat+Technovit 7210+ Objektträger(2)	2.166 mm



**Abb.2.15.** a) PMMA-Block mit anteriorer Knochenscheibe b) Erstellen eines Sandwich-Präparates 1. Aufkleben des Blockes mit Technovit 4000 auf einen Plexiglasobjektträger 2. planparalleles Abschleifen der freien Seite bis der Knochen komplett an die Oberfläche tritt 3. Gegenkleben eines zweiten Objektträgers mit Technovit 7200, 7min UV- Bestrahlung, Trocknen über 24h



**Abb.2.15.** c) Sägen des Sandwich-Präparates bestehend aus einer 300- 400µm dicken Knochenscheibe, Technovit 7200 und einem Objektträger d) planparalleles Abschleifen der Knochenseite mit 800er, 1200er sowie 2000er Schleifpapier in aufsteigender Reihenfolge, Polieren mit 4000er Schleifpapier bis zur endgültigen Knochendicke des Schliffes: 80µm

### **2.2.7. Durchführung der Messungen und Auswertung der Daten**

Die Auswertung erfolgte an Hand digitalisierter, 1:4 vergrößerter Aufnahmen der gefärbten Schnitte.

Zur Aufnahme der Abbildungen wurden die Schnitte auf einem Leuchttisch positioniert. Die Digitalisierung der Bilder erfolgte unter Verwendung einer gekühlten, hochauflösenden Sony Color Videokamera MC-3254; 3 ½ “ – CCD chip mit 1,6 x / 0,05er Objektiv (1:4; f = 60mm) mittels AC Adaptor AAP 700 (AVT Horn Video).

Die Abbildung und Auswertung der digitalisierten Bilder erfolgte am PC mit dem KS 400 Imaging System Release 3.0 (Zeiss, Jena, Deutschland) mit einem selbst erstellten Macro und erlaubt Aussagen über:

- 1) die Gesamtkallusfläche, die Fläche des mineralisierten Kallus und damit über die Kallusdichte (Quotient aus Gesamtkallusfläche/ Fläche des mineralisierten Kallus)
  
- 2) die Gesamtkortexfläche, die Fläche des mineralisierten Kortex und damit über die Kortexdichte (Quotient aus Gesamtkortexfläche/ Fläche des mineralisierten Kortex).

#### **2.2.7.1. Messregionen**

##### **2.2.7.1.1. Kallus**

Die quantitative Auswertung der Kallusflächen erfolgte in einer fest definierten Messregion (ROI - Region of Interest) deren Ausdehnung entlang der Diaphysenachse auf 2cm proximal und distal des Frakturspaltes eingeschränkt wurde. Die laterale und mediale Grenze bildete der Kallusrand. Die Markierung erfolgte auf dem Objektträger und ist in Abb.2.16. dargestellt.



Abb.2.16. Schaf 957: Schnitte nach Färbung mit von Kossa/ Safranin O und Kenzeichnung der Messareale (ROI).

Zur Bestimmung der Gesamtkallusfläche, der Fläche des mineralisierten Kallus und der Kallusdichte wurde die Messregion (ROI) in folgende Areale unterteilt:

Tab. 2.10. Messregionen zur Bestimmung der Gesamtkallusfläche, der Fläche des mineralisierten Kallus und der Kallusdichte

Bezeichnung des Areals	Lokalisation des Areals
1	Kallus periostal lateral proximal des Frakturspaltes
2	Kallus periostal lateral distal des Frakturspaltes
1 endo*	Kallus endostal lateral proximal des Frakturspaltes
2 endo*	Kallus endostal lateral distal des Frakturspaltes
½ fx	Frakturspalt lateral
3	Kallus periostal medial proximal des Frakturspaltes
4	Kallus periostal medial distal des Frakturspaltes
3 endo*	Kallus endostal medial proximal des Frakturspaltes
4 endo*	Kallus endostal medial distal des Frakturspaltes
¾ fx	Frakturspalt medial

\*Entfällt beim UHN

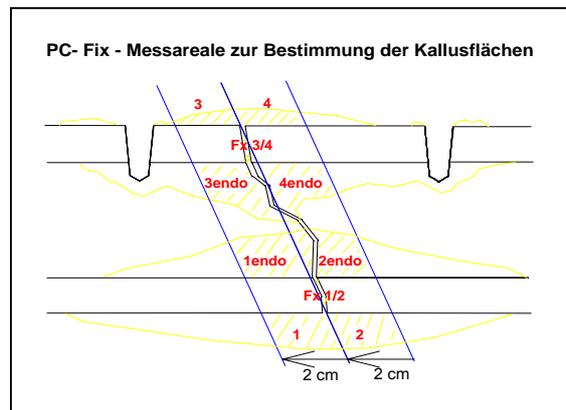


Abb.2.17 Skizze zur Darstellung der Messregionen der Kallusparameter

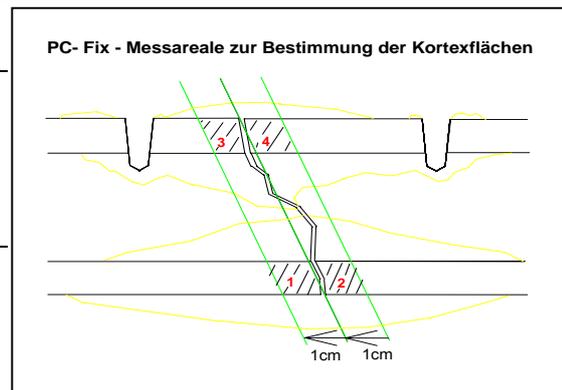
### 2.2.7.1.2. Kortex

Die proximal und distal Grenze der Messregion (ROI) zur Erfassung der Kortexparameter wurde jeweils 1cm vom Frakturspalt entfernt gelegt, da zum einen in diesem Bereich die größten Veränderungen im Zuge des Remodeling- Prozesses zu erwarten sind und andererseits überlagernde Einflüsse der mehr proximal bzw. distal gelegenen Schrauben vermieden werden.

Die Gesamtkortexfläche, die Fläche des mineralisierten Kortex und die Kortexdichte wurde in 4 Arealen bestimmt (Tab.2.11., Abb.2.18.).

**Tab.2.11.** Messareale der Kortexflächen

Bezeichnung des Areals	Lokalisation des Areals
1	Kortex lateral proximal des Frakturspaltes
2	Kortex lateral distal des Frakturspaltes
3	Kortex medial proximal des Frakturspaltes
4	Kortex medial distal des Frakturspaltes



**Abb.2.18.** Skizze zur Darstellung der Messregionen

### 2.2.7.2. Computergestütztes Messverfahren

Die Erfassung der Daten erfolgte computergestützt. Als Software wurde das KS 400 Carl Zeiss Vision Imaging System Release 3.0 (Zeiss, Jena, Deutschland) verwendet.

Die Grenzen der einzelnen Meßareale wurden mit einem Marker umfahren. Die innerhalb der Grenzen gelegene Fläche wird vom Programm als Gesamtkallus in  $\text{mm}^2$  ausgegeben und die, im Zuge der von Kossa Färbung schwarz dargestellte Fläche, als mineralisierter Kallus in  $\text{mm}^2$ . Die Kallusdichte wird als Quotient der mineralisierten Kallus zum Gesamtkallus errechnet. Die Ausgabe der Werte erfolgt in Tabellenform. Vor jeder Messserie wurde das System mittels Millimeterpapier geeicht. Die Messung der Kortexareale wurde in gleicher Weise durchgeführt.

### 2.2.7.3. Stadien der Frakturheilung

Der Grad der Frakturheilung wurde an Hand der von Kossa/ Safranin O gefärbten Schnitte qualitativ eingeschätzt. Die Beurteilung erfolgte nach folgendem Score [6]:

**Tab. 2.12.** Stadien der Frakturheilung nach Bail [6]

Stadium der Frakturheilung	Mikroskopische Kriterien
0	Wenig bis mittelmäßige peri- und endostale Kallusbildung
1	Reichliche, aber nicht kontinuierliche peri- und endostale Kallusbildung
2	Kontinuierliche periostale Kallusbildung; keine Überbrückung des Frakturspaltes
3	Kontinuierliche periostale Kallusbildung; partielle Überbrückung des Frakturspaltes
4	Vollständige Überbrückung des Frakturspaltes

#### 2.2.7.4. Fluoreszenzmikroskopische Auswertung der Schliffe

Die Schliffe wurden zur fluoreszenzmikroskopischen Charakterisierung der Mineralisationsaktivität im Laufe der Frakturheilung angefertigt.

Dazu erfolgte jeweils die intravitale Färbung mit den Fluorochromen Xylenolorange und Calzeingrün (s.h. Tab. 2.2. und Tab. 2.3.).

Die fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Abbildungen erfolgte mit dem Leica Mikroskop Leitz DMR-13 (Hexagon, Wetzlar, Deutschland) mit 1,6 x / 0,05er Objektiv (1:4; f = 60mm), über den AC Adaptor AAP 700 (Firma AVT Horn Video) unter Verwendung einer gekühlten, hochauflösenden Sony Color Videokamera MC-3254 mit 3 ½ " – CCD Chip. Als Strahlenquelle diente die Quecksilber-Höchstdruck-Entladungslampe vom Typ HBO 52/1 zur Anregung.

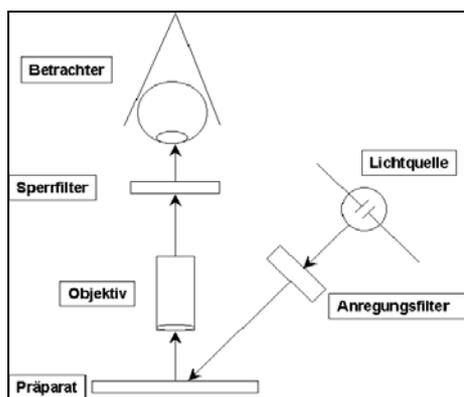


Abb.2.19. Funktionsskizze der Auflichtmikroskopie

Folgende Filterblöcke wurden benutzt:

Tab. 2.13. Filterblöcke

Teiler	Anregungsfilter	Teilerspiegel	Sperrfilter
N2.1(XO)	Bandpass 515-560nm	580nm	Langpass 590nm
I 3 (CG)	Bandpass 450-490nm	510nm	Langpass 515nm

XO : Xylenolorange, CG :Calzeingrün

Die Untersuchung der Präparate erfolgte mit der Technik der Auflichtmikroskopie. Das Erregerlicht fällt im 45° Winkel auf das Präparat. Im Vergleich zur Durchlichtmikroskopie wird das Emissionslicht nicht durch das Präparat selber gefiltert, sondern gelangt direkt durch Objektiv und Sperrfilter zum Betrachter/ zur Videokamera.

Aufgrund der Größe der Präparate kam ein motorgetriebener Kreuztisch mit MCX- 2 eco Positioniersteuerung (Firma Zeiss) zum Einsatz. Die weitere Bildverarbeitung und Auswertung am PC erfolgte mit dem KS 400 Carl Zeiss Vision Imaging System Release 3.0 (Firma Zeiss, Jena, Deutschland). Ausgewertet wurden die digitalisierten Gesamtbilder der Xylenolorange- und der Calzeingrünmarkierung, sowie ein Kombinationsbild aus beiden.

Die Mineralisationsaktivität periostal und im Frakturspalt wurde mittels eines Scores (Tab.2.14.) qualitativ beurteilt.

**Tab.2.14.** Score zu den Stadien der Mineralisationsaktivität nach Bail [7]

Mineralisationsaktivität	Mikroskopische Kriterien
0	Keine Mineralisationsaktivität
1	Mäßige Mineralisationsaktivität
2	Gute Mineralisationsaktivität
3	Reichliche Mineralisationsaktivität, Frakturspalt überbrückend
4	Remodeling
5	Rekortikation

### 2.2.7.5. Statistische Verfahren

Die Normalverteilung der Messergebnisse wurde mit dem Shapiro - Wilks Test geprüft. Bei fehlender Normalverteilung erfolgte der Stichprobenvergleich mittels eines nichtparametrischen Tests. So wurde der Wilcoxon Test für verbundene Stichproben zur statistischen Analyse der Messergebnisse der 6 und 12 Wochen Gruppe verwendet, um Unterschiede zwischen den beiden verschiedenen Operationsmethoden (Fixateur intern vs. unaufgebohrter Marknagel) zu ermitteln. Die Bildung der Wertepaare erfolgte aus den Messergebnissen, der mit der jeweiligen Stabilisierungsmethode versorgten Tibiaschaftfrakturen am rechten bzw. linken Hinterlauf eines Schafes.

Die Daten zur Charakterisierung der Schnittebene und Untersuchung der Knochengröße wurden einer Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen.

Alle statistischen Analysen erfolgten mit dem SPSS Software Paket (SPSS 9.0 for Windows®).

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Operation**

Die Operationsdauer betrug für die unaufgebohrte Nagelung der Fraktur im Mittel 84 Minuten (SD  $\pm$  21min) und für die minimal invasive Versorgung mittels Fixateur intern im Mittel 54 Minuten (SD  $\pm$  12min).

#### **3.2. Postoperativer Verlauf und Röntgenbefunde**

Die Schafe erholten sich rasch von der Operation. Bereits wenige Stunden nach der Operation standen die Tiere auf und begannen mit der Nahrungsaufnahme. In der ersten Woche vermieden die Schafe die volle Belastung der Hinterläufe danach normalisierte sich der Bewegungsablauf zusehends.

Zwei Schafe, 904 und 948, zeigten in der frühen postoperativen Phase einen komplizierten Verlauf und mussten in der ersten postoperativen Woche euthanasiert werden. Bei Schaf 904 brach der distalen Verriegelungsbolzen des unaufgebohrter Marknagels aus dem Knochen aus, bei Schaf 948 zeigte sich, operationsbedingt, eine Fehllage der 1., 2. und 3. Schraube des Fixateur intern, was bei beiden Tieren weitere Frakturen am Tibiaschaft zur Folge hatte.

Die Tiere wurden aus der Gruppenbetrachtung ausgeschlossen und durch weitere Tiere ergänzt.

Bei den anderen Tieren gestaltete sich der postoperative Verlauf komplikationslos. Infektionen, weitere Materiallockerungen oder Materialbrüche traten nicht auf. Die für die ersten 6 postoperativen Wochen angelegte Entlastungsvorrichtung wurde von den Schafen sehr gut toleriert.

Die Analyse der postoperativen Röntgenbilder zeigten in 7 Fällen (29,2%) eine 42- A2, in 11 Fällen (45,8%) eine 42- A3 und in 6 Fällen (25,0%) eine 42- B2 Fraktur nach AO- Klassifikation [86].

Von den 42- A2 Frakturen wurden vier mit dem unaufgebohrter Marknagel und 3 mittels Fixateur intern versorgt, von den 42- A3 Frakturen wurden sechs mit unaufgebohrter Marknagel und fünf mit Fixateur intern stabilisiert, zwei der 42- B2 Frakturen erhielten einen unaufgebohrter Marknagel, vier ein Fixateur intern.

**Tab. 3.1.** AO Klassifikation der erzeugten Frakturen [86]

Fraktur- klassifikation	UHN	PC- Fix
	n	n
42- A2	4	3
42- A3	6	5
42- B2	2	4

### 3.3. Ergebnisse der Histomorphometrie der Schnitte

#### 3.3.1. Quantitative Analyse des Frakturkallus

##### 3.3.1.1. Validisierung der Schnittebene und Untersuchung der Knochengröße

Die Schnittebenen der mit Fixateur intern instrumentierten Tibiae sind orthogonal zum Plattenlager in frontaler Ebene orientiert. Eine vergleichbare Wahl der Schnittebenen bei den mit unaufgebohrter Marknagel instrumentierten Tibiae zeigt die statistische Analyse des Winkels, welchen die Vorderkante Tibia mit der Schnittebene bildet.

**Tab.3.2.a** Winkel in Grad [°] : anteriore Tibiavorderkante - Schnittebene

G2W6	anteriorer Schnitt		medianer Schnitt		posteriore Schnitt	
	PC- Fix	UHN	PC- Fix	UHN	PC- Fix	UHN
954	1,8	4,5	2,1	4,2	2,1	4,2
950	6,7	4,0	6,4	4,0	6,4	4,0
931	3,7	7,5	3,7	7,5	3,7	7,5
868	15,5	6,4	14,9	6,4	15,0	6,1
920	12,7	9,1	13,7	9,6	13,7	8,6
933	3,1	2,2	3,6	2,2	3,6	2,2
<b>Mittelwert</b>	<b>7,2</b>	<b>5,6</b>	<b>7,4</b>	<b>5,6</b>	<b>7,4</b>	<b>5,4</b>
<b>SD</b>	<b>5,6</b>	<b>2,5</b>	<b>5,5</b>	<b>2,7</b>	<b>5,6</b>	<b>2,4</b>
<b>p- Wert*</b>		<b>0,43</b>		<b>0,38</b>		<b>0,34</b>

\*Wilcoxon Test

**Tab.3.2.b** Winkel in Grad [°] : anteriore Tibiavorderkante - Schnittebene

G2W12	anteriorer Schnitt		medianer Schnitt		posteriore Schnitt	
	PC- Fix	UHN	PC- Fix	UHN	PC- Fix	UHN
921	7,2	3,2	7,0	3,5	7,0	2,3
919	7,5	1,2	7,5	1,2	7,5	1,8
903	4,5	13,2	4,2	13,2	4,2	12,1
924	3,8	3,2	4,2	3,2	3,5	2,6
936	1,8	0,9	2,1	0,0	2,1	1,1
957	3,3	2,9	0,6	2,9	3,6	2,5
<b>Mittelwert</b>	<b>4,7</b>	<b>4,1</b>	<b>4,3</b>	<b>4,0</b>	<b>4,6</b>	<b>3,7</b>
<b>SD</b>	<b>2,2</b>	<b>4,6</b>	<b>2,7</b>	<b>4,7</b>	<b>2,1</b>	<b>4,1</b>
<b>p- Wert*</b>		<b>0,79</b>		<b>0,91</b>		<b>0,66</b>

\*Wilcoxon Test

Zur Demonstration der Homogenität der Schafstibia Präparate hinsichtlich der Größe wurde die Distanz zwischen lateraler und medialer Kortexgrenze in Höhe des Frakturspaltes bestimmt. Unter Verwendung der Varianzanalyse ANOVA ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Präparaten ermitteln ( $p=0,83$ ).

**Tab.3.3.a** Kortexdistanz 6Wochen

Schaf N° G2W6	Kortex-Distanz	
	PC-Fix	UHN
954	22,9	22,0
933	20,5	20,0
950	23,0	21,5
931	19,4	23,0
920	20,0	23,5
868	22,0	18,0
<b>Mittelwert</b>	<b>21,3</b>	<b>21,3</b>
<b>SD</b>	<b>1,54</b>	<b>2,04</b>

Messwerte in mm

**Tab.3.3.b** Kortexdistanz 12Wochen

Schaf N° G2W12	Kortex-Distanz	
	PC-Fix	UHN
919 li	22,0	20,4
924 re	18,5	22,3
921 li	21,2	22,5
903 re	21,2	22,0
936 re	22,0	23,7
957 li	21,3	20,2
<b>Mittelwert</b>	<b>21,0</b>	<b>21,8</b>
<b>SD</b>	<b>1,30</b>	<b>1,32</b>

### 3.3.1.2. Gesamtkallusfläche

Die Quantitative Analyse der Gesamtkallusfläche der einzelnen Messareale zeigt weniger Kallusbildung in den Arealen 3 und 4 bei den mit Fixateur intern, gegenüber den mit unaufgebohrter Marknagel versorgten Frakturen. Dieser Unterschied ist nach 6 wie auch nach 12 Wochen signifikant, wobei nach 12 Wochen die Kallusfläche in diesen Arealen, sowohl in der Fixateur intern als auch in der Marknagel Gruppe deutlich abnimmt.

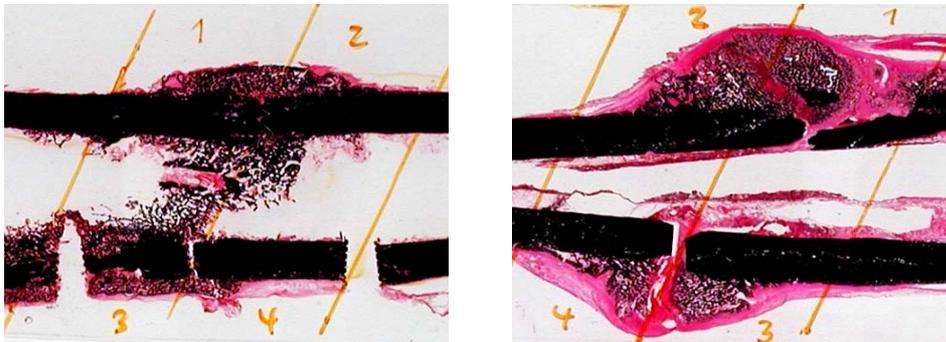
Nach 6 Wochen ähneln sich die Kallusflächen im Bereich des lateralen (fx  $\frac{1}{2}$ ) und medialen Frakturspaltes (fx  $\frac{3}{4}$ ) bei Fixateur intern- und Marknagel- Instrumentierung. Nach 12 Wochen zeigt die Kallusfläche am medialen Frakturspalt (fx  $\frac{3}{4}$ ) beim unaufgebohrter Marknagel eine deutliche Zunahme, bei gleichzeitiger Abnahme der Kallusfläche am medialen Frakturspalt des Fixateur intern, so dass sich hier ein signifikanter Unterschied herauskristallisiert.

Die Gesamtkallusflächen der lateralen Seite (Areal 1, 2) unterscheiden sich nicht signifikant. Ein Trend zu höheren Werten beim unaufgebohrter Marknagel gegenüber Fixateur intern ist nur nach 6, nicht aber nach 12 Wochen feststellbar (Tab.3.4.).

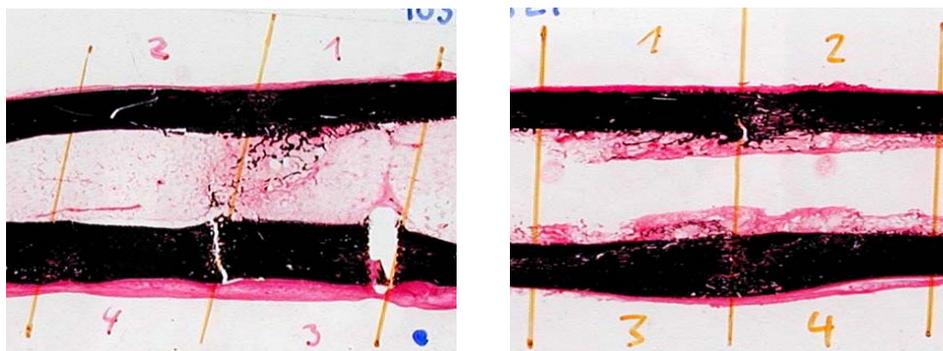
**Tab.3.4.** Gesamtkallus 6. und 12. Woche

Areal	PC-Fix 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 12Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	12 Wochen p-Wert*
1	54,0 ± 31,1	62,3 ± 22,0	0,34	25,0 ± 29,7	22,1 ± 25,5	0,92
2	44,6 ± 23,6	75,0 ± 32,6	0,17	21,5 ± 17,8	15,9 ± 15,1	0,47
3	18,2 ± 18,1	70,2 ± 26,6	0,03	6,2 ± 3,2	40,5 ± 12,1	0,03
4	21,4 ± 15,5	72,8 ± 42,8	0,03	12,1 ± 7,8	49,4 ± 31,3	0,03
1endo	40,7 ± 12,3	---		28,0 ± 11,2	---	
2endo	38,9 ± 17,7	---		21,6 ± 11,8	---	
3endo	27,0 ± 14,8	---		6,7 ± 5,3	---	
4endo	24,6 ± 14,1	---		11,2 ± 11,8	---	
fx1/2	9,5 ± 5,9	6,7 ± 6,1	0,46	11,8 ± 8,1	21,5 ± 13,0	0,07
fx3/4	6,7 ± 5,5	6,3 ± 4,5	0,75	4,0 ± 1,4	11,5 ± 4,55	0,03

\*Wilcoxon Test



**Abb.3.1.** 6 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) ist die Gesamtkallusfläche besonders medial unter dem Fixateur intern im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (954 re) vermindert



**Abb.3.2.** nach 12 Wochen hat die Gesamtkallusfläche sowohl nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) als auch nach Marknagelosteosynthese (903 li) abgenommen, der Unterschied medial (Areal 3,4) unter dem Fixateur intern ist weiterhin signifikant.

### 3.3.1.3. Mineralisierte Kallusfläche

Die Analyse der Fläche des mineralisierten Kallus zeigt nach 6 und auch nach 12 Wochen ebenfalls ein signifikanter Unterschied in den Arealen 3 und 4 zwischen den mit Fixateur intern und Marknagel instrumentierten Tibiae. Da bis zum Ende der 12. postoperativen Woche beim Fixateur intern, vor allem proximal, medial die

mineralisierte Kallusfläche abnimmt, während sie beim unaufgebohrten Marknagel nahezu konstant bleibt, ist der Unterschied zu diesem Zeitpunkt noch deutlicher. Nachdem sich die Flächen des mineralisierten Kallus nach 6 Wochen am medialen Frakturspalt bei unaufgebohrtem Marknagel und Fixateur intern in etwa gleich groß gestalten, besteht nach 12 Wochen ein signifikanter Unterschied zwischen Beiden. Auf der lateralen Seite (Areal 1, 2) finden sich vergleichbar große Flächen an mineralisiertem Kallus, wobei ein Trend zu niedrigeren Werten beim unaufgebohrten Marknagel nach 12 Wochen zu verzeichnen ist (Tab.3.5.).

Tab.3.5. Mineralisierter Kallus Gruppe II 6. & 12. Woche

Areal	PC-Fix 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 12 Wochen Mittelwert ± S.D. [mm <sup>2</sup> ] n = 6	12 Wochen p-Wert*
1	31,6 ± 16,5	34,5 ± 11,8	0,75	22,6 ± 29,9	15,9 ± 16,7	0,92
2	27,2 ± 11,8	38,8 ± 15,4	0,25	19,3 ± 16,5	12,9 ± 10,3	0,46
3	12,0 ± 14,3	35,0 ± 17,7	0,03	5,3 ± 2,9	33,9 ± 10,0	0,03
4	12,8 ± 10,4	36,5 ± 22,8	0,03	10,0 ± 5,8	36,9 ± 21,7	0,03
1endo	24,1 ± 6,1	---	---	23,1 ± 9,2	---	---
2endo	23,7 ± 10,8	---	---	17,6 ± 10,2	---	---
3endo	17,0 ± 8,2	---	---	5,2 ± 3,5	---	---
4endo	15,2 ± 9,1	---	---	9,0 ± 8,5	---	---
fx1/2	6,6 ± 3,7	3,1 ± 2,5	0,07	8,8 ± 5,9	15,6 ± 9,5	0,07
fx3/4	4,5 ± 3,5	3,9 ± 2,9	0,92	2,9 ± 1,2	7,9 ± 3,1	0,03

\*Wilcoxon Test

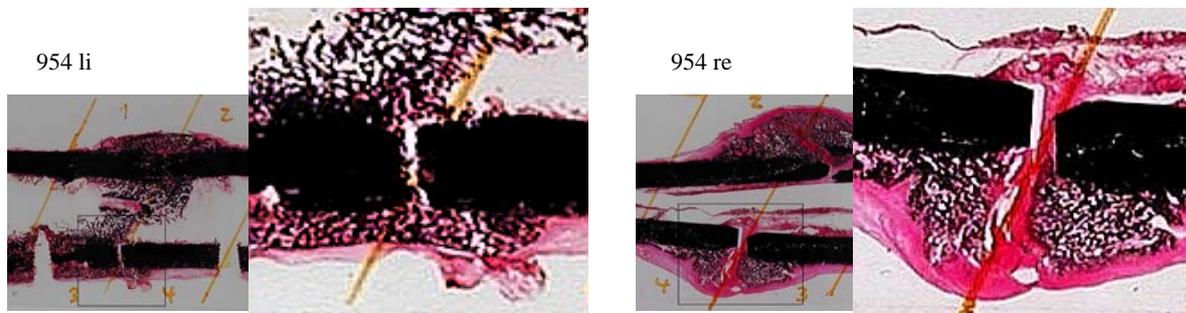


Abb.3.3. 6 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) ist die mineralisierte Kallusfläche im medialen Frakturspalt unter dem Fixateur intern im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (954 re) nahezu identisch. In der Fixateur intern Gruppe sieht man Umbauvorgänge der Frakturenden, während die Frakturfragmente in der Marknagelgruppe unverändert sind.

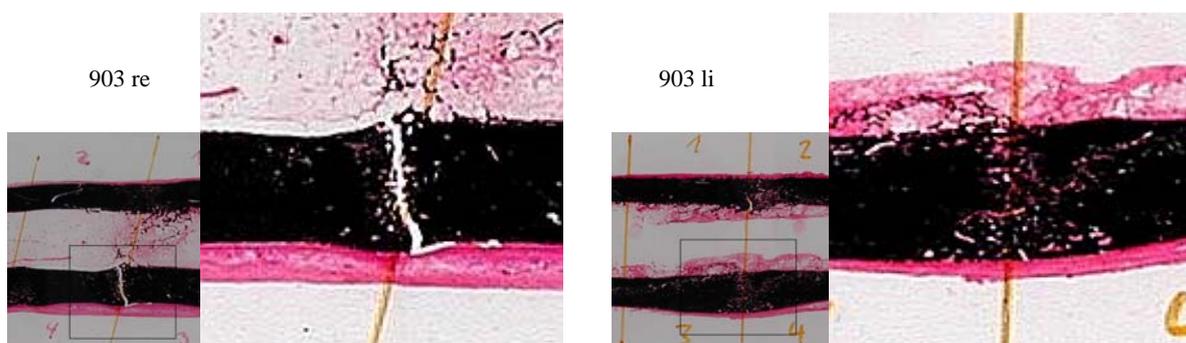


Abb.3.4. 12 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) ist die mineralisierte Kallusfläche im medialen Frakturspalt unter dem Fixateur intern im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (903 li) signifikant geringert. Hier ist nur noch minimal Kallus nachweisbar. Die Fraktur ist nahezu verheilt.

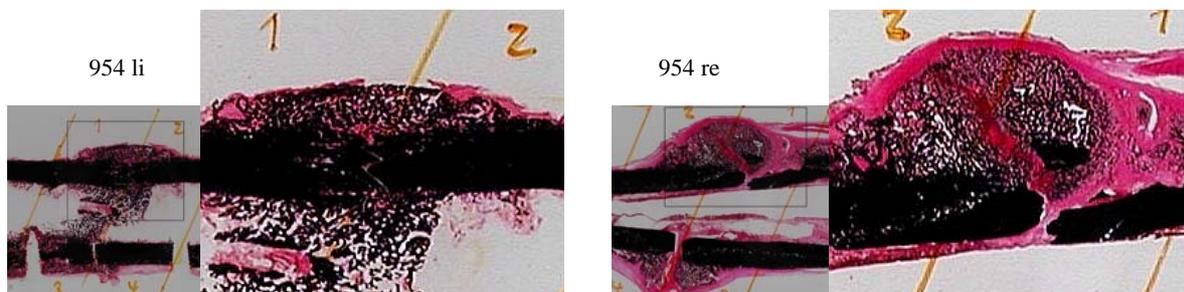
### 3.3.1.4. Quotient Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus

Die Berechnung des Quotienten mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus, als Ausdruck der Dichte des Kallus, zeigt für alle Messareale, sowohl nach 6, als auch nach 12 Wochen, höhere Werte in den mit Fixateur intern versorgten Tibiae. Diese Unterschiede sind deutlicher nach 6 Wochen, wo hingegen sich die Quotienten in den entsprechenden Arealen nach 12 Wochen nahezu angleichen. Signifikant höhere Quotienten findet man beim Fixateur intern nach 6 Wochen im Kallus der medialen Seite, distal des Frakturspaltes (Areal 4) und im Kallus des Frakturspaltes (Areal fx 1/2) der lateralen Seite (Tab.3.6.).

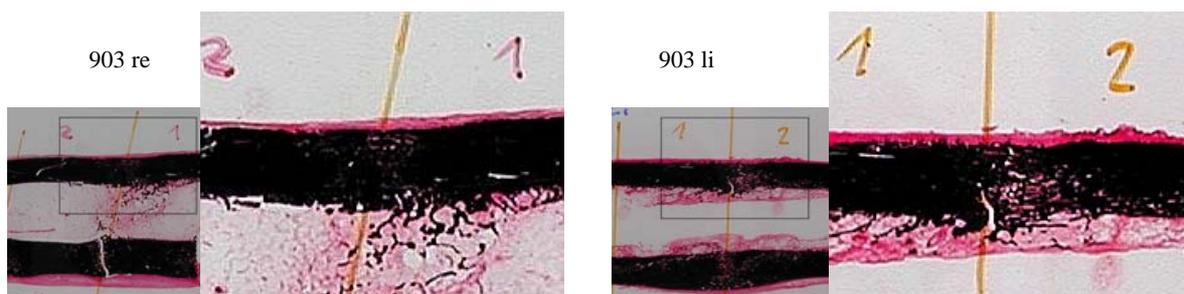
**Tab.3.6.** Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus Gruppe 6. und 12. Woche

	PC-Fix 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [%] n = 6	UHN 6 Wochen Mittelwert ± S.D. [%] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12 Wochen Mittelwert ± S.D. [%] n = 6	UHN 12 Wochen Mittelwert ± S.D. [%] n = 6	12 Wochen p-Wert*
<b>1</b>	60,6 ± 8,1	56,6 ± 8,9	0,25	88,8 ± 6,6	79,5 ± 9,3	0,12
<b>2</b>	63,2 ± 6,3	53,7 ± 9,0	0,12	88,5 ± 3,9	87,1 ± 8,7	0,92
<b>3</b>	59,5 ± 14,2	49,5 ± 13,4	0,25	85,1 ± 7,9	83,8 ± 5,3	0,92
<b>4</b>	60,4 ± 10,2	50,7 ± 10,4	0,03	85,9 ± 8,8	78,4 ± 11,7	0,25
<b>1endo</b>	60,2 ± 8,0	---	---	83,3 ± 9,2	---	---
<b>2endo</b>	62,9 ± 8,2	---	---	81,6 ± 8,4	---	---
<b>3endo</b>	63,9 ± 7,0	---	---	83,8 ± 9,7	---	---
<b>4endo</b>	58,0 ± 10,5	---	---	84,9 ± 5,8	---	---
<b>fx1/2</b>	71,5 ± 6,5	52,1 ± 11,2	0,03	74,4 ± 8,5	72,3 ± 3,4	0,60
<b>fx3/4</b>	68,6 ± 7,6	63,6 ± 14,3	0,92	70,6 ± 15,8	69,2 ± 5,3	0,46

\*Wilcoxon Test



**Abb.3.5.** 6 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) ist der Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus im lateralen, unter dem Weichteil traumatisierten, Frakturspalt im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (954 re) tendenziell höher.



**Abb.3.6.** 12 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) ist der Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus im lateralen Frakturspalt im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (903 li) fast identisch. Die Fraktur ist in beiden Gruppen nahezu verheilt.

### 3.3.1.5. Kallusfläche medial vs. lateral

#### 3.3.1.5.1. Periostaler Kallus

Betrachtet man nur den periostalen Kallus der medialen und der lateralen Seite nach 6 Wochen, so zeigt sich bei den mit unaufgebohrtem Marknagel instrumentierten Tieren im Vergleich zum Fixateur intern medialseitig eine größere Gesamtkallusfläche und mineralisierte Kallusfläche, während sich Gesamtkallusfläche und Fläche des mineralisierten Kallus auf der lateralen Seite nur wenig unterscheiden.

Dem gegenüber zeigt der Quotient (mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus), der die Dichte des Kallus beschreibt, beim Fixateur intern sowohl auf der medialen als auch auf der lateralen Seite einen signifikant dichteren Kallus nach diesem Zeitraum (Tab.3.7.).

**Tab.3.7.** Periostaler Kallus nach 6 Wochen

Mediale Seite (3+4+3/4 fx)	UHN Mittelwert±SD n=6	PCFIX Mittelwert±SD n=6	p- Wert**	Laterale Seite (1+2+1/2 fx)	UHN Mittelwert±SD) n=6	PCFIX Mittelwert±SD n=6	p- Wert**
Gesamtkallus* 6 Wochen	149,1 ± 64,3	46,4 ± 37,4	0,03	Gesamtkallus* 6 Wochen	143,9 ± 51,0	108,2 ± 51,3	0,34
Mineralisierter Kallus* 6 Wochen	75,3 ± 37,2	29,3 ± 27,5	0,03	Mineralisierter Kallus* 6 Wochen	76,4 ± 24,9	65,4 ± 25,6	0,46
Mineralisierter/ Gesamtkallus 6Wochen	50,6 ± 10,7	60,7 ± 8,8	0,05	Mineralisierter/ Gesamtkallus 6 Wochen	54,4 ± 7,4	62,7 ± 6,7	0,05

\* Fläche [mm<sup>2</sup>], \*\*Wilcoxon Test

Nach 12 Wochen zeigen periostale Gesamtkallusfläche und mineralisierte Kallusfläche bei den mit unaufgebohrtem Marknagel instrumentierten Tieren im Vergleich zu den mit Fixateur intern versorgten medialseitig signifikant höhere Werte während sich Marknagel vs. Fixateur intern hinsichtlich dieser Parameter auf der lateralen Seite nicht unterscheiden.

Der Quotient (mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus) zeigt auf der lateralen Seite der Fixateur intern instrumentierten Tiere eine signifikant höhere Dichte als beim unaufgebohrten Marknagel (Tab.3.8.).

**Tab.3.8.** Periostaler Kallus nach 12 Wochen

Mediale Seite (3+4+3/4 fx)	UHN Mittelwert±SD n=6	PCFIX Mittelwert±SD n=6	p-Wert**	Laterale Seite (1+2+1/2 fx)	UHN Mittelwert±SD n=6	PCFIX Mittelwert±SD n=6	p-Wert**
Gesamtkallus* 12 Wochen	101,4 ± 51,0	22,3 ± 8,4	0,03	Gesamtkallus* 12 Wochen	59,5 ± 45,9	58,3 ± 48,1	0,92
Mineralisierter Kallus* 12 Wochen	78,5 ± 25,8	18,2 ± 5,9	0,03	Mineralisierter Kallus* 12 Wochen	44,5 ± 30,9	50,6 ± 43,9	0,92
Mineralisierter Gesamtkallus 12 Wochen	78,4 ± 8,1	83,5 ± 6,6	0,25	Mineralisierter/ Gesamtkallus 12 Wochen	77,9 ± 5,0	85,6 ± 3,1	0,05

\* Fläche [mm<sup>2</sup>], \*\*Wilcoxon Test

### 3.3.5.2. Insgesamt auftretender Kallus

Während der insgesamt auftretende Kallus bei den mit einem unaufgebohrten Marknagel stabilisierten Frakturen methodenbedingt dem periostalen Kallus entspricht, kann man bei den mit Fixateur intern stabilisierten Frakturen zusätzlich eine ausgeprägte Bildung endostalen Kallus beobachten.

Bezieht man also sowohl periostalen als auch endostalen Kallus in die Betrachtung medialer vs. lateraler Kallus mit ein so sieht man nach 6 Wochen beim Fixateur intern und unaufgebohrten Marknagel in etwa gleich große Gesamtkallusflächen (285,8 mm<sup>2</sup> ± 61,1mm<sup>2</sup> vs. 293,0mm<sup>2</sup> ± 106,6mm<sup>2</sup>) wobei die mediale Fixateur intern besetzte Seite signifikant weniger Gesamtkallus aufweist (98,0mm<sup>2</sup> ± 41,5mm<sup>2</sup>) als die mediale Seite beim Marknagel (149,1mm<sup>2</sup> ± 64,3mm<sup>2</sup>) während lateralseitig beim Fixateur intern ein Trend zu höheren Werten (187,8mm<sup>2</sup> ± 69,4mm<sup>2</sup> vs. 143,9mm<sup>2</sup> ± 51,0mm<sup>2</sup>) zu verzeichnen ist.

Auch die Fläche des mineralisierten Kallus tendiert medialseitig zu niedrigeren Werten beim Fixateur intern (61,6mm<sup>2</sup> ± 30,8mm<sup>2</sup> vs. 75,3mm<sup>2</sup> ± 37,2mm<sup>2</sup>) und lateralseitig zu höheren Werten als beim unaufgebohrten Marknagel (76,4mm<sup>2</sup> ± 24,9mm<sup>2</sup> vs. 113,3mm<sup>2</sup> ± 35,9mm<sup>2</sup>).

Nach 12 Wochen sind die Verhältnisse in den beiden Gruppen ähnlich, wobei die Gesamtkallusflächen in beiden Gruppen deutlich niedrigere Werte zeigen.

### 3.3.2. Quantitative Analyse des frakturnahen Kortex

Die Auswertung der Ergebnisse der Messungen der Gesamtkortexfläche und der mineralisierten Kortexfläche brachten keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Operationsmethoden (Fixateur intern vs. Marknagel), weder nach 6 noch nach 12 Wochen.

In Tab.3.9. sind die Ergebnisse der Messung der Gesamtkortexflächen und in Tab.3.10. die der mineralisierten Kortexflächen zusammengefasst.

**Tab.3.9.** Gesamtkortex 6. und 12. Woche

Areal	PC-Fix 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 12Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	12 Wochen p-Wert*
1	22,8 ± 9,7	29,6 ± 5,1	0,25	19,1 ± 4,7	16,0 ± 5,8	0,11
2	25,7 ± 15,1	27,4 ± 11,6	0,92	23,5 ± 10,3	22,6 ± 13,6	1,00
3	22,8 ± 13,2	31,8 ± 8,8	0,05	5,6 ± 9,9	25,1 ± 12,4	1,00
4	30,4 ± 9,4	23,9 ± 10,1	0,12	20,9 ± 12,5	18,5 ± 11,0	0,28

\*Wilcoxon Test

**Tab.3.10.** Mineralisierter Kortex 6. und 12. Woche

Areal	PC-Fix 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	UHN 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [mm <sup>2</sup> ] n = 6	12 Wochen p-Wert*
1	22,3 ± 9,5	28,9 ± 4,7	0,25	18,7 ± 4,5	15,7 ± 5,5	0,11
2	25,1 ± 15,2	26,7 ± 11,4	0,92	23,2 ± 10,0	22,2 ± 13,4	1,00
3	21,7 ± 13,0	31,0 ± 8,7	0,05	24,8 ± 9,9	24,3 ± 12,3	1,00
4	30,0 ± 9,4	23,5 ± 10,0	0,12	20,6 ± 11,9	18,2 ± 10,7	0,28

\*Wilcoxon Test

Der Quotient aus mineralisiertem Kortex und Gesamtkortex, der die "Dichte" des Kallus veranschaulicht, zeigt beim Fixateur intern nach 6 Wochen einen Trend zu niedrigeren Werten in Areal 2 und 3 gegenüber dem unaufgebohrten Marknagel. Während sich die Werte im Areal 2 nach 12 Wochen angleichen fällt die geringere "Dichte" des Fixateur intern Kortex im Areal 3 auch noch nach 12 Wochen auf. Allgemein, besteht sowohl beim Marknagel, als auch beim Fixateur intern, nach 6 Wochen der Trend zu niedrigeren Werten als nach 12 Wochen. Statistisch signifikante Unterschiede werden dabei allerdings nicht erreicht (Tab.3.11.).

**Tab.3.11.a** Quotient: mineralisierter Kortex/ Gesamtkortex 6. und 12. Woche

Areal	PC-Fix 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	UHN 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	6 Wochen p-Wert*	PC-Fix 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	UHN 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	12 Wochen p-Wert*
1	97,5 ± 1,0	97,6 ± 1,4	0,60	98,4 ± 1,2	98,5 ± 0,7	0,92
2	96,8 ± 3,8	97,6 ± 1,1	0,53	98,4 ± 0,8	98,1 ± 0,8	0,60
3	95,1 ± 6,0	97,2 ± 1,7	0,60	96,5 ± 4,6	98,4 ± 1,0	0,75
4	98,5 ± 0,6	98,3 ± 0,8	0,34	98,8 ± 0,9	98,6 ± 0,6	0,60

\*Wilcoxon Test

Weder beim Fixateur intern noch beim Marknagel zeigt der Vergleich des Quotienten Mineralisierter Kortex/ Gesamtkortex nach 6 und nach 12 Wochen eine signifikante Veränderung.

**Tab.3.11.b**

Areal	PC-Fix 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	PC-Fix 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	p- Wert*	UHN 6 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	UHN 12 Wochen (Mittelwert ± S.D.) [%] n = 6	p-Wert*
1	97,5 ± 1,0	98,45 ± 1,2	0,09	97,6 ± 1,4	98,5 ± 0,7	0,40
2	96,8 ± 3,8	98,43 ± 0,8	0,39	97,6 ± 1,1	98,1 ± 0,8	0,40
3	95,1 ± 6,0	96,54 ± 4,6	0,31	97,2 ± 1,7	98,4 ± 1,0	0,40
4	98,5 ± 0,6	98,79 ± 0,9	0,18	98,3 ± 0,8	98,6 ± 0,6	0,40

\*U-Test nach Mann und Whitney für unabhängige Stichproben

### 3.5. Semiquantitative Beschreibung der Frakturheilung

Die Frakturheilung wurde mittels eines Scores unter besonderer Berücksichtigung der Kallusbildung und Frakturspaltüberbrückung beurteilt (Tab.3.12.).

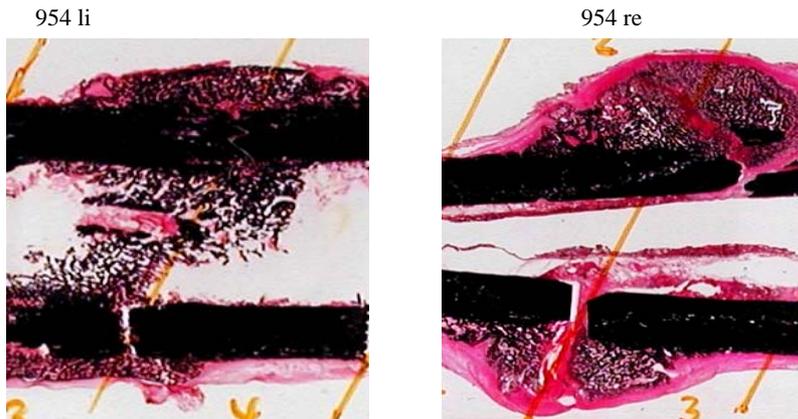
**Tab. 3.12.** Stadien der Frakturheilung nach Bail [6]

Stadium der Frakturheilung	Mikroskopische Kriterien
0	Wenig bis mittelmäßige peri- und endostale Kallusbildung
1	Reichliche, aber nicht kontinuierliche peri- und endostale Kallusbildung
2	Kontinuierliche periostale Kallusbildung; keine Überbrückung des Frakturspalt
3	Kontinuierliche periostale Kallusbildung; partielle Überbrückung des Frakturspalt
4	Vollständige Überbrückung des Frakturspalt

**Tab.3.13.** 6 Wochen Gruppe- Stadium der Frakturheilung

Schaf N°	mediale Seite		laterale Seite	
	PC-Fix	UHN	PC-Fix	UHN
954	3	1	4	2
950	3	1	3	1
931	3	1	4	3
868	3	3	3	3
920	4	3	4	3
933	4	2	4	2
<b>Mittelwert</b>	<b>3,33</b>	<b>1,83</b>	<b>3,67</b>	<b>2,33</b>
<b>SD</b>	<b>0,52</b>	<b>0,98</b>	<b>0,52</b>	<b>0,82</b>
<b>p-Wert*</b>		<b>0,03</b>		<b>0,04</b>

\*Wilcoxon Test

**Abb.3.7.** 6 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) ist die Frakturheilung in der Fixateur intern Gruppe im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (954 re) fortgeschrittener.

Die semiquantitative Analyse der Frakturheilung zeigt nach 6 Wochen bei den mit Fixateur intern versorgten Frakturen einen fortgeschritteneren Frakturheilungsverlauf gegenüber den mit Marknagel versorgten Frakturen. Dieser Unterschied manifestiert sich sowohl im Bereich des medialen Frakturspaltens als auch lateralseitig. Eine komplette Frakturspaltüberbrückung findet sich dabei nur bei den mit Fixateur intern versorgten Frakturen (Tab.3.13.).

**Tab.3.14.** 12 Wochen Gruppe Frakturheilung

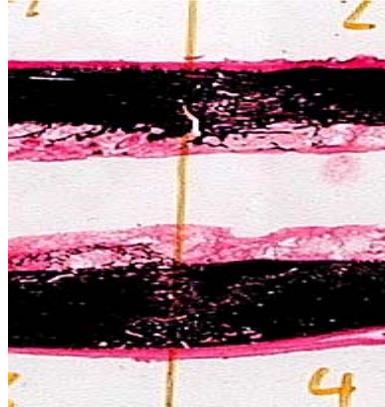
Schaf N°	mediale Seite		laterale Seite	
	PC-Fix	UHN	PC-Fix	UHN
921	4	3	4	3
919	4	4	4	4
903	4	4	4	4
924	3	3	4	4
936	4	3	4	4
957	4	3	4	4
<b>Mittelwert</b>	<b>3,83</b>	<b>3,33</b>	<b>4,00</b>	<b>3,83</b>
<b>SD</b>	<b>0,41</b>	<b>0,52</b>	<b>0,00</b>	<b>0,41</b>
<b>p-Wert*</b>		<b>0,08</b>		<b>0,32</b>

\*Wilcoxon Test

903 re



903 li



**Abb.3.8.** Nach 12 Wochen zeigt sich sowohl nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) als auch nach Marknagelosteosynthese (903 li) eine fortgeschrittene Frakturheilung.

Nach 12 Wochen ist der Frakturspalt lateralseitig bei nahezu allen Frakturen mit mineralisiertem Kallus überbrückt. Auch am medialen Frakturspalt zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Frakturheilungsstadium zwischen Fixateur intern und Marknagel (Tab.3.14.).

### 3.6. Qualitative Auswertung der Schliffe

Zur Charakterisierung des zeitlichen Frakturheilungsverlaufes nach Stabilisation der Tibiafrakturen mit einem der beiden Verfahren (Fixateur intern vs. Marknagel) wurde die Mineralisationsaktivität periostal und im Frakturspalt nach intravitale Applikation zweier Fluoreszenzfarbstoffe mittels eines Scores qualitativ beurteilt (Tab.3.15.).

**Tab. 3.15.** Score zu den Stadien der Mineralisationsaktivität nach Bail [7]

Mineralisationsaktivität	Mikroskopische Kriterien
0	Keine Mineralisationsaktivität
1	Mäßige Mineralisationsaktivität
2	Gute Mineralisationsaktivität
3	Reichliche Mineralisationsaktivität, Frakturspalt überbrückend
4	Remodelling
5	Rekortikation

Die Tab.3.16. gibt einen Überblick über die Ergebnisse der 6 Wochen Gruppe. Die Mineralisationsaktivität zu Beginn der 4. bis Anfang der 5. postoperativen Woche, repräsentiert durch Färbung mit Xylenolorange, ist nach Fixateur intern Stabilisierung signifikant ausgeprägter als nach Osteosynthese mit einem unaufgebohrten Marknagel. Betrachtet man nun die einzelnen Areale, so fällt im Bereich des

medialen Frakturspaltes, an der Unterseite des Fixateur intern, bereits in dieser frühen Phase der Frakturheilung eine signifikant höhere Mineralisationsaktivität als nach unaufgebohrten Marknagelosteosynthese auf.

Auch im Verlauf der 6. postoperativen Woche zeigt sich die Mineralisationsaktivität, hier repräsentiert durch die Gabe von Calzeingrün, deutlich höher beim Fixateur intern, besonders im Frakturbereich.

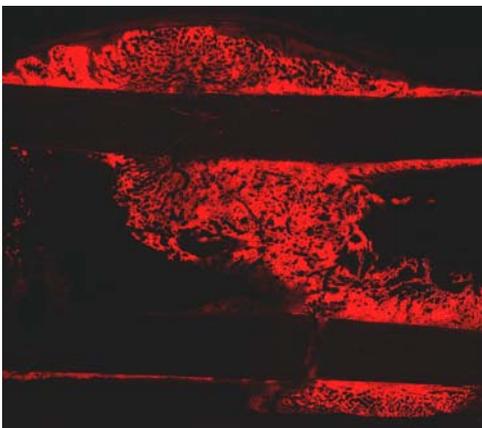
**Tab.3.16a.** Mineralisationsaktivität nach Xylenolorange Markierung

Areal	Xylenol orange		
	PC-Fix 6 Wochen	UHN 6 Wochen	6 Wochen
	Mittelwert ± S.D. n = 6	Mittelwert ± S.D. n = 6	p-Wert*
medial, periostal	2,0 ± 0,89	1,67 ± 0,52	0,41
lateral, periostal	1,83 ± 0,75	1,50 ± 0,55	0,16
medial, Frakturspalt	1,67 ± 0,82	0,33 ± 0,82	0,04
lateral, Frakturspalt	1,33 ± 1,51	0,17 ± 0,41	0,07

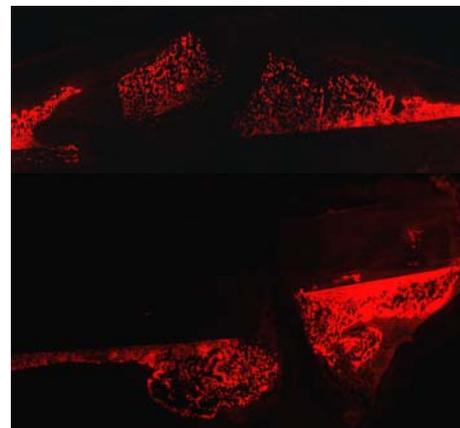
\*Wilcoxon signed-ranks test

Applikation von Xylenolorange: Beginn der 4. Woche und 5. postoperativen Woche

954 li



954 re



**Abb.3.9.** In der frühen Phase der Frakturheilung ist nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) die Frakturheilung in der Fixateur intern Gruppe im Vergleich zur Marknagelosteosynthese (954 re) fortgeschrittener.

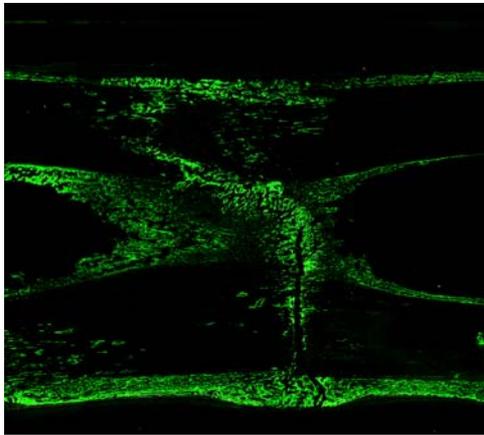
**Tab.3.16b.** Mineralisationsaktivität nach 6 Wochen Calzeingrün Markierung

Areal	Calzein grün		
	PC-Fix 6 Wochen	UHN 6 Wochen	6
	Mittelwert ± S.D. n = 6	Mittelwert ± S.D. n = 6	Wochen p-Wert*
medial, periostal	2,50 ± 0,55	2,00 ± 0,00	0,08
lateral, periostal	2,83 ± 0,41	2,50 ± 0,55	0,32
medial, Frakturspalt	3,00 ± 0,89	0,83 ± 0,98	0,04
lateral, Frakturspalt	3,00 ± 0,89	1,00 ± 0,63	0,03

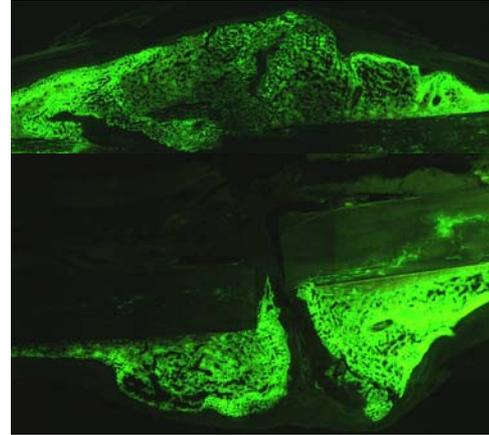
\*Wilcoxon signed-ranks test

Applikation von Calzeingrün: Ende der 5. Woche und 6. postoperativen Woche

954 li



954 re



**Abb.3.10.** Auch nach 6 Wochen zeigt sich nach Fixateur intern Osteosynthese (954 li) deutlich mehr Mineralisationsaktivität als auch nach Marknagelosteosynthese (954 re).

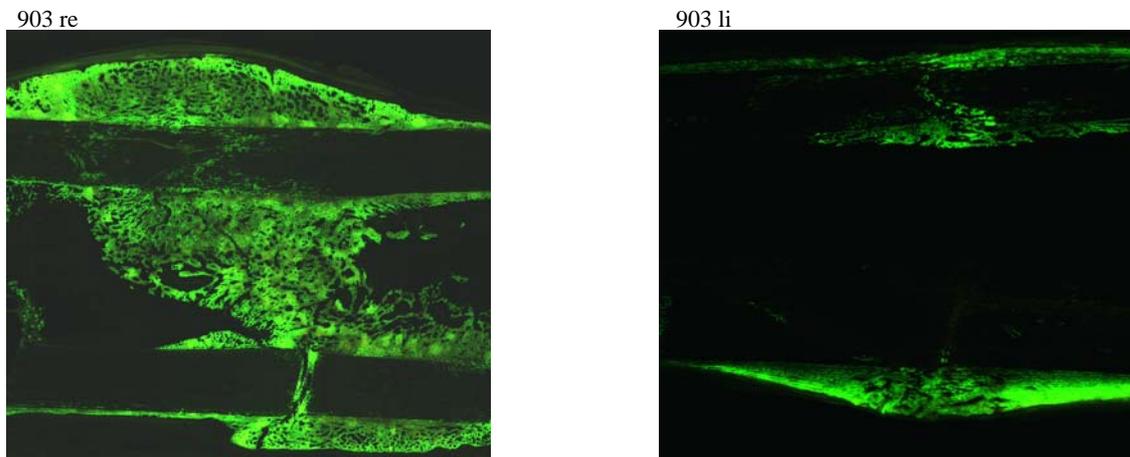
Tab.3.17. zeigt die Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung der 12 Wochen Tiere. Wie bei den Tieren der 6 Wochen Gruppe erfolgte auch hier die intravitale Färbung mit Calzeingrün während der 5 und 6. postoperativen Woche. Die Mineralisationsaktivitäten in allen 4 Arealen in beiden Tiergruppen sind im Vergleich der Operationsverfahren ähnlich. Die 12 Wochen Tiere zeigen dabei insgesamt niedrigere Score Werte als die 6 Wochen Tiere. Die intravitale Färbung mit Xylenolorange, welche in dieser Gruppe die Mineralisationsaktivität der 11. und 12. postoperativen Woche markiert, zeigt einen deutlichen Anstieg der Score Werte der Marknagel instrumentierten Tiere vor allem im Frakturbereich und im Bereich des lateralen periostalen Kallus, welche weiterhin signifikant geringer ausfallen als beim Fixateur intern.

**Tab.3.17a.** Mineralisationsaktivität nach 12 Wochen- Calzeingrün Markierung

Areal	Calzein grün		12 Wochen p-Wert*
	PC-Fix 12 Wochen Mittelwert ± S.D. n = 6	UHN 12 Wochen Mittelwert ± S.D. n = 6	
medial, periostal	2,50 ± 0,55	2,00 ± 0,63	0,41
lateral, periostal	2,67 ± 0,52	1,67 ± 0,52	0,16
medial, Frakturspalt	2,17 ± 0,75	0,50 ± 0,55	0,4
lateral, Frakturspalt	3,33 ± 1,03	1,33 ± 0,52	0,07

\*PC- Fix vs. UHN: \* Wilcoxon signed-ranks test

Applikation von Calzeingrün: Ende der 5. Woche und 6. postoperativen Woche



**Abb.3.11.** Auch in der 12 Wochen Gruppe zeigt 6 Wochen sich nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) deutlich mehr Mineralisationsaktivität als auch nach Marknagelosteosynthese (903 li). Die Applikation von Calzeingrün ist hier wie in der 6 Wochen Gruppe Ende der 5. Woche und 6. postoperativen Woche erfolgt.

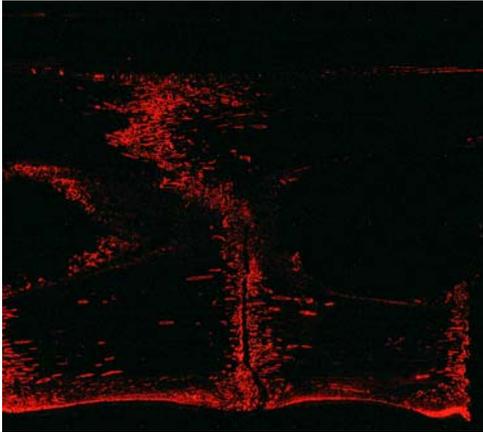
**Tab.3.17b.** Mineralisationsaktivität nach 12 Wochen- Xylenolorange Markierung

Areal	Xylenol orange		12 Wochen p-Wert*
	PC-Fix 12 Wochen Mittelwert ± S.D. n = 6	UHN 12 Wochen Mittelwert ± S.D. n = 6	
medial, periostal	3,67 ± 0,52	2,67 ± 1,03	0,08
lateral, periostal	3,83 ± 0,98	3,17 ± 0,98	0,32
medial, Frakturspalt	4,00 ± 0,00	2,83 ± 0,75	0,04
lateral, Frakturspalt	4,17 ± 0,41	3,67 ± 0,52	0,03

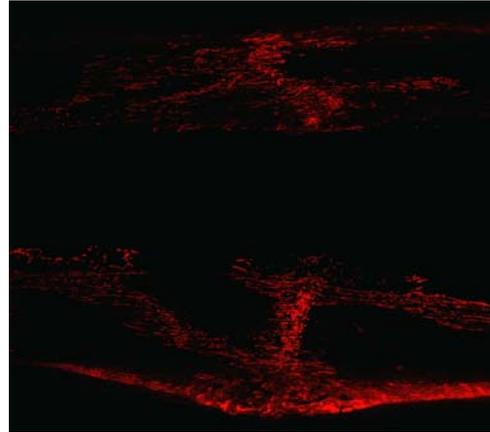
\*PC- Fix vs. UHN: \* Wilcoxon signed-ranks test

Applikation von Xylenolorange: Ende der 11. Woche und 12. postoperativen Woche

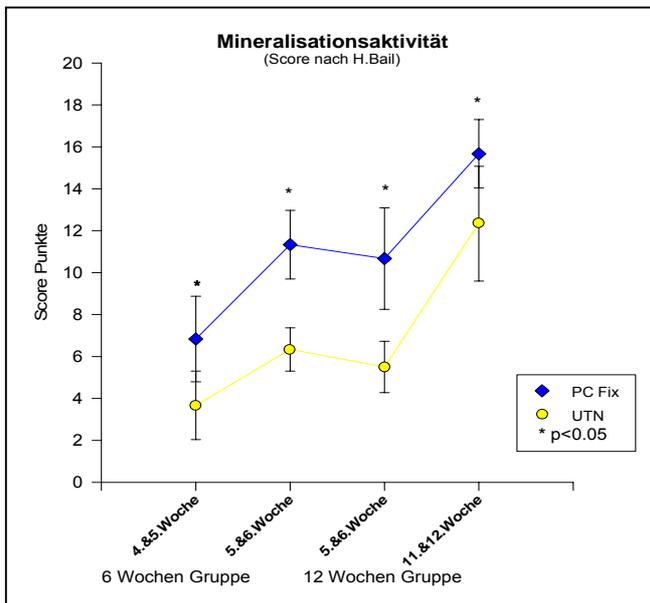
903 re



903 li



**Abb.3.12.** Nach 12 Wochen zeigt sich nach Fixateur intern Osteosynthese (903 re) mehr Mineralisationsaktivität als auch nach Marknagelosteosynthese (903 li).



**Abb.3.1.** Qualitative Auswertung des postoperative Verlaufs der Mineralisationsaktivität nach Osteosynthese Fixateur intern vs. UHN (Score nach H. Bail)

## 4. Diskussion

### 4.1. Der histologische Vergleich der Operationsmethoden Fixateur intern und Verriegelungsmarknagel

Ziel dieser Studie ist der histologische Vergleich der Frakturheilung nach operativer Stabilisierung von Tibiaschaftfrakturen mit einem Fixateur intern (PC- Fix) und der Osteosynthese mit einem unaufgebohrten Verriegelungsnagel (UHN). Zu diesem Zweck ist eine Versuchsreihe an ausgewachsenen Schweizer Bergschafen durchgeführt worden, deren Aufbau und Durchführung im methodischen Teil der Arbeit ausführlich beschrieben wurde.

Entsprechend den bisherigen tierexperimentell gewonnenen Erfahrungen wird bei geringerer Stabilität des Knochen – Implantatverbundes eine umfangreichere Bildung von Kallus erwartet [37, 38, 113, 114]. Nach 6 Wochen zeigt der Vergleich der mit Fixateur intern und Marknagel stabilisierten Tibiaschaftfrakturen gleich große Gesamtkallusmengen ( $285,8\text{mm}^2 \pm 61,1\text{mm}^2$  vs.  $293,0\text{mm}^2 \pm 106,6\text{mm}^2$ ,  $p=0,44$ ), wobei nach Marknagelosteosynthese ausschließlich der biomechanisch bedeutendere periostale Kallus zu finden ist. Die periostale Kallusmanschette ist nur bei einigen mit Marknagel stabilisierten Tibiae kontinuierlich ausgebildet, die Kallusmineralisation ist im Vergleich zum Fixateur intern ( $151,7\text{mm}^2 \pm 58,3\text{mm}^2$  vs.  $171,6\text{mm}^2 \pm 26,7\text{mm}^2$ ,  $p=0,21$ ; mineralisierte Gesamtkallusfläche nach 6 Wochen) geringer. Im Gegensatz dazu zeigen nach diesem Zeitraum die mit Fixateur intern instrumentierten Tibiae einheitlich eine kontinuierliche periostale Kallusmanschette. E. van Frank Haasnoot et al. beschreiben ebenfalls anhand radiologischer Untersuchungen von Querfrakturen der Schafstibia nach 6 Wochen einen schmaleren aber deutlich dichteren, kontinuierlichen Kallus nach Fixateur intern Osteosynthese im Vergleich zur konventionellen Plattenosteosynthese (LCDCP und DCP) [35].

Die Stabilisierung der Fraktur mit dem Fixateur intern erfolgt medialseitig. Unterschnittenes Fixateurdesign und punktförmige Auflagefläche erlauben die Ausbildung einer zwar räumlich begrenzten aber kontinuierlichen periostalen Kallusmanschette unterhalb des Fixateurs. Die periostale Perfusion wird erhalten. Unterhalb des Fixateurs findet sich eine deutlich geringere Gesamtkallusfläche (46,4

$\text{mm}^2 \pm 37,4\text{mm}^2$  vs.  $149,1\text{mm}^2 \pm 64,3\text{mm}^2$ ,  $p=0,03$ ), die aber dichter mineralisiert ist ( $60,7\% \pm 8,8\%$  vs.  $50,6\% \pm 10,7\%$ ,  $p=0,046$ ).

Der lateralen Frakturspalt bleibt bei monokortikaler Fixateur intern Osteosynthese von medial ohne zusätzliche Beeinflussung periostaler und endostaler Perfusion durch Operationstrauma und Implantatmaterial. Hier ist jedoch theoretisch eine größere mechanische Unruhe zu erwarten.

Experimentelle Untersuchungen von T. Miclau et al. [62] an Schafstibiaexplantaten mit Querfraktur zeigen keine signifikanten Unterschiede in der biomechanischen Stabilität der Osteosynthese mittels unikortikalem Fixateur intern im Vergleich zur konventionellen Plattenosteosynthese mit DCP und LCDCP.

Die quantitative Auswertung der Kallusfläche der lateralen, fixateurfernen Seite zeigt im Methodenvergleich (Fixateur intern vs. unaufgebohrter Marknagel) keinen signifikanten Unterschied ( $108,2\text{mm}^2 \pm 51,3\text{mm}^2$  vs.  $143,9\text{mm}^2 \pm 51,0\text{mm}^2$ ,  $p=0,34$ , Gesamtkallusfläche). Die Dichte der Mineralisation weist beim Fixateur intern einen Trend zu höheren Werten ( $62,7\% \pm 6,7\%$  vs.  $54,4\% \pm 7,4\%$ ,  $p=0,046$ ) auf.

Der Frakturspalt ist nach 6 Wochen bei den mit Marknagel stabilisierten Tibiae medial und lateral teilweise oder nicht durch Kallus überbrückt. Die Frakturenenden sind zum Teil völlig reaktionslos, ohne Anzeichen einer beginnenden Heilung, während nach Fixateur intern Osteosynthese innerhalb dieses Zeitraumes eine teilweise oder vollständige Frakturspaltüberbrückung, sowohl auf der Fixateur nahen als auch auf der Fixateur fernen Seite, stattgefunden hat. Bei vergleichbarer Stabilität des Knochen- Implantat Verbundes ist als Ursache der beschleunigten Frakturheilungsvorgänge die Weichteilschonung und verbesserte Durchblutungssituation nach Fixateur intern Osteosynthese anzunehmen. Diese Unterschiede lassen sich auch bei der dynamischen Darstellung der Mineralisationsaktivität der frühen Frakturheilungsstadien mittels polychromer Sequenzmarkierung deutlich nachvollziehen. So zeigt sich nach Xylenolorange - Markierung der 4. und 5. postoperativen Woche bei den mit unaufgebohrtem Marknagel stabilisierten Tibiae größtenteils keine Anreicherung im Frakturspalt oder im fraktur nahen Kortex. Über ähnliche Ergebnisse berichtete M. Runkel et al. [87] an Hand tierexperimenteller Untersuchungen an Querfrakturen der Schafstibia. Nach unaufgebohrter Marknagelosteosynthese zeigte die Auswertung der Fluoreszenzmarkierung bis zur 4. postoperativen Woche reichlich periostale Kallusbildung während sich interfragmentär keine oder nur geringe Aktivität

nachweisen lies. Erst in der 6. Woche zeigte sich hier eine deutliche Zunahme der interfragmentären Knochenneubildung. Die mit dem Fixateur intern stabilisierten Frakturen imponieren nach diesem Zeitraum mit guter Anreicherung im lateralen und medialen Frakturspalt. Die beginnende intrakortikale Anreicherung von Xylenolorange in der Frakturspaltumgebung wird als Ausdruck von "Remodeling"-Prozessen gewertet. Sie findet sich besonders lateralseitig und lässt eine fortgeschrittenere Frakturheilung vermuten. Ähnliche Erkenntnisse erbrachten tierexperimentelle Studien von Baumgaertel et al an Femurschaftfrakturen des Schafes [11]. Hier zeigte sich bereits in der 2.-3. postoperativen Woche eine Akkumulation des Fluoreszenzfarbstoffes im Bereich der Frakturspaltumgebung an der Fixateurunterseite. Nach 4 Wochen war die fixateurnahe Kallusfläche im Vergleich zur anatomischen und biologischen Plattenosteosynthese größer.

Radiologische Untersuchung des Frakturheilungsverlaufes an Tibiaschaftfrakturen des Schafes nach Fixateur intern Osteosynthese im Vergleich zur konventionellen Plattenosteosynthese mit LCDCP und DCP legen einen beschleunigten Frakturheilungsverlauf nahe, eine quantitative Analyse wurde nicht durchgeführt [12, 35]. Vergleichende tierexperimentelle Studien zur operativen Frakturbehandlung mittels Marknagelosteosynthese versus Osteosynthese mit dem Fixateur intern liegen bisher nicht vor.

12 Wochen postoperativ gleicht das histologische Stadium der Fakturheilung nach Fixateur intern Osteosynthese dem nach Marknagel Osteosynthese. Die Gesamtkallusfläche ist bei beiden Verfahren auf 50% vermindert, die Mineralisationsdichte des Kallus (Quotient aus mineralisierter/ Gesamtkallusfläche) um 23 % bzw. 25 % gestiegen. Die Dichte der Mineralisation ist medial bei beiden Verfahren vergleichbar, lateralseitig bei den mit Fixateur intern versorgten Frakturen tendenziell höher ( $85,6\% \pm 3,1\%$  vs.  $77,7\% \pm 5,0\%$ ,  $p=0.046$ ). Die qualitative Auswertung der dynamischen Heilungsvorgänge im Frakturspaltgebiet im Verlauf der 12. postoperativen Woche zeigt eine kontinuierliche peri- und endostale Kallusbildung mit vollständiger Frakturspaltüberbrückung der Fixateur intern Gruppe in 11 von 12 der untersuchten Tibiae. E. van Frank Haasnoot et al. konnte ebenfalls anhand radiologischer Untersuchungen von Querfraktur der Schafstibia nach 12 Wochen bei den mit PC- Fix stabilisierten Frakturen röntgenologisch konsolidierte Frakturverhältnisse nachweisen [35]. Tierexperimentelle Untersuchungen am Schafsmode von Tepic et al. zeigten 12 Wochen nach Fixateur intern Osteosynthese

von Tibiaquerfrakturen eine radiographisch komplette Frakturspaltüberbrückung, reichlich Umbauaktivität in der Frakturzone und im Schraubenlager bei nur sehr geringer Aktivität im angrenzenden und Fixateur fernen Knochen. Nach 12 Wochen zeigten sich die Fixateurunterschnitte mit neuem Knochen ausgefüllt [104].

Ähnliche Ergebnisse ließen sich in der Marknagel Gruppe nachweisen. Nur im Bereich des medialen Frakturspalt ist in 4 von 6 Tibiae lediglich eine partielle Frakturspaltüberbrückung festzustellen. Fluoreszenzmikroskopisch zeigen sich im periostalen Kallus vergleichbare Aktivitäten in beiden Gruppen. Im Frakturspalt der Marknagel Gruppe findet sich im Vergleich zur Fixateur intern Gruppe eine verminderte Xylenolorange Anreicherung und damit Mineralisationsaktivität in der 12. postoperativen Woche.

Die Flächenmessungen des Gesamtkortex und des mineralisiertem Kortex der Frakturumgebung zeigen nach 6 und nach 12 Wochen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der mit Fixateur intern und unaufgebohrtem Marknagel instrumentierten Tibiae. Die Mineralisationsdichte (Quotient des mineralisiertem Kortex/Gesamtkortex) zeigt sowohl im Methodenvergleich als auch im Frakturheilungsverlauf keine signifikanten Unterschiede. Mikroskopisch können die frakturnahen kortikalen Umbauvorgänge dargestellt werden, die aber vom computergestützten System kontrastbedingt nicht reproduzierbar erfasst werden konnten.

Die Ergebnisse der histologischen Charakterisierung der Frakturheilung an Querfrakturen der Schafstibia mit geschlossenem Weichteiltrauma (Grad II nach Tscherne) zeigen, dass das Konzept eines in minimal invasiver Technik implantierbaren Fixateur intern der heute als das Standardverfahren geltenden Frakturstabilisierung mit dem Verriegelungsmarknagel in unaufgebohrter Technik gleichwertig, in der frühen Phase der Frakturheilung sogar überlegen ist.

## **4.2. Stärken und Schwächen der Studie, Ausblick**

### **4.2.1. Das Tiermodell**

Grundlage dieser Studie ist ein hoch standardisiertes Frakturmodell der Schafstibia. Vorteile dieses Tiermodells sind eine gute funktionelle und anatomische Übereinstimmung mit der Tibia des Menschen.

Wie beim Menschen handelt es sich bei der Schafstibia um einen englumigen Röhrenknochen, der exakt in der Trageachse steht. Dieses erlaubt die Verwendung des selben Instrumentariums und Osteosynthesematerials und hat vergleichbare biomechanische Beanspruchung zur Folge [113]. Von Vorteil ist darüber hinaus die Jahrzehnte lange Erfahrung und Vergleichsmöglichkeit mit der Spezies Schaf in der experimentellen traumatologischen Forschung .

Die histologische Knochenfeinstruktur des ausgewachsenen Schafes zeigt ähnlich dem menschlichen Knochen überwiegend knöcherne Sekundärstrukturen. Histologische Studien von F. Eitel et al [25] konnten darüber hinaus ähnliche Verhältnisse der Frakturheilung (Mensch vs. ausgewachsenes Schaf) nach Tibiaschaftosteotomie mittels Mikroangiographie, fuchsingefärbter Knochendünnschliffe und polychromer Sequenzmarkierung mit Fluorochromen nachweisen. Die Geschwindigkeit des Ablaufs der Frakturheilungsprozesse ist auch am ehesten mit der menschlichen Knochenregeneration vergleichbar [113].

Die einzeitige Frakturstabilisierung beider Hinterläufe eines Schafes schließt die spontane Entlastung des operierten Beines bei einseitiger Frakturstabilisierung aus. Des weiteren erlaubt sie einen gepaarten Vergleich der Untersuchungsergebnisse, zeigt aber auch den Nachteil der unkontrollierbaren systemischen Beeinflussung der Frakturheilung. Mit einer Entlastungsvorrichtung konnten unkontrollierbare Belastungsspitzen vermieden werden und damit eine mit der klinischen, postoperativen Standardsituation vergleichbare minderbelastete Situation geschaffen werden.

Im Rahmen umfangreicher Voruntersuchungen wurde erstmalig ein standardisiertes Frakturmodell entwickelt, das die reproduzierbare Erzeugung einer einfachen Tibiaschaftfraktur mit Weichteilschaden (Grad II nach Tscherne) erlaubt. In mehr als 75% der Fälle konnten kurze Quer- bzw. Schrägfrakturen der AO Klassifikation 42-A2/ A3 erzeugt und gleichzeitig ein reproduzierbares Weichteiltrauma des lateralen Kompartments gesetzt werden [96]. Ein höhergradiges Weichteiltrauma wurde

aufgrund der Gefahr der Entwicklung eines Kompartmentsyndroms und aus Tierschutzgründen abgelehnt.

Die gute Reproduzierbarkeit des Modells und der bilaterale Versuchsaufbau erlaubt eine Versuchsdurchführung mit geringen Tierzahlen. Der gepaarte Vergleich der beiden Operationskonzepte, bei dem das Versuchstier auch gleichzeitig das Kontrolltier darstellt, garantiert gleiche Vorraussetzungen (systemische Faktoren).

Tierexperimentelle Untersuchungen am Frakturmodell des Schafsfemur zeigen eine beginnende Frakturheilung in der 6. postoperativen Woche nach anatomischer Reposition und DCP Osteosynthese. Nach Frakturstabilisierung mit einem Fixateur intern konnten erste Zeichen des Knochenheilungsprozesses in der 3. postoperativen Woche beobachtet werden [12], nach operativer Versorgung von Schafstibiafrakturen mit unaufgebohrtem Verriegelungsnagel wurde die Ausbildung einer stabilisierenden Kallusmanschette nach der 6. postoperativen Woche beobachtet [87]. Aus der Literatur ist bekannt, dass Tibiaschafffrakturen beim Schaf nach 12 Wochen vollständig geheilt sind und einen minimalen Unterschied in punkto Belastbarkeit im Vergleich zur nicht frakturierten Schafstibia aufweisen [4, 78]. Entsprechend dieser experimentellen Erfahrungen wurden die Untersuchungszeitpunkte nach 6 und 12 postoperativen Wochen gewählt.

#### **4.2.2. Auswahl der Messregionen und Datenerfassung**

Der Einfluss der Operationsmethode auf die Kallusbildung, Kallusmineralisation und die Frakturspaltüberbrückung als histologische Parameter der Frakturheilung sollte untersucht werden. Deshalb erfolgte die Einteilung der Messregionen der gefärbten Längsschnittpräparate in eine platten nahe und eine plattenferne periostale und endostale ROI (Region Of Interest) sowie eine platten nahe und eine plattenferne Frakturspaltregion. Eine weitere Unterteilung der Kallusregion in eine Region proximal und distal des Frakturspaltes wurde aus Gründen der computergestützten Bildverarbeitung notwendig. Die proximale und distale Ausdehnung der ROI wurde mit 2 cm begrenzt. Nach unseren Erfahrungen aus Vorversuchen sollten sich die Einflüsse der unterschiedlichen Operationstechnik und Stabilisierungsmethode in diesem Gebiet darstellen. Eine zumindest vergleichbar gute Kallusmineralisation und die Ausbildung einer kontinuierlichen Kallusmanschette unter dem gewebe- und perfusionsschonendem Fixateur intern wurde erwartet.

Zur Untersuchung der Umbauvorgänge im fraktur-nahen Kortex erfolgte die Einteilung der Messregionen in eine platten-nahe und eine platten-ferne und eine auf 1 cm proximal und distal des Fraktur-spaltes geteilte ROI. Wir erwarteten hier nach Osteosynthese mit dem Fixateur intern und Marknagel nach 6 Wochen ein verändertes Mineralisationsmuster im Sinne einsetzender Knochenumbauvorgänge. Tierexperimentelle Untersuchungen von Seibold et al. [99] an Querfrakturen der Schafstibia zeigten radiologisch und histologisch, dass nach Osteosynthese mit einem Fixateur intern bereits nach 6 Wochen fraktur-nahe kortikale Resorptionszonen als Ausdruck von "Remodeling" auftreten. In einer weiteren Studie an Querfrakturen der Schafstibia konnten M. Runkel et al. Umbauvorgänge im fraktur-nahen Kortex in der 6.- 8. postoperativen Woche nach unaufgebohrter Marknagelung mittels intravitale Fluorochrommarkierung nachweisen [88].

Um eine Aussage über den dynamischen Verlauf der Mineralisationsaktivität im Vergleich der beiden Operationsmethoden zu ermöglichen wurde eine Intravitalfärbung der Tibiae mit den Fluorochromen nach B. Rahn [79] durchgeführt. Wegen nur minimaler Überschneidung der Anregungskurven wurden die Fluorochrome Calceingrün und Xylenolorange zur Markierung gewählt. Diese minimale Überschneidung ist die Grundvoraussetzung für eine Unterscheidung der gefärbten Strukturen im Fluoreszenzmikroskop. Markiert wird mit dem Fluoreszenzfarbstoff die Mineralisationsaktivität in einem bestimmten Zeitraum (Menge pro Zeit). Der jeweilige Farbstoff wurde in einer Intervallmarkierung subkutan verabreicht. Durch die subkutane Applikation erhofft man sich einen relativ konstanten Serumspiegel mit flacher Serumkonzentrations- / Zeit Kurve. Die genaue Intervalllänge der Markierung ist nicht bekannt. Darüber hinaus kommt es auch nach Abschluss der Markierungsvorgänge infolge des dynamischen Knochenumbaus zu Umverteilung und Abbau der im Knochen fixierten Markersubstanz.

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung der Dünnschliffpräparate fiel auf, dass in Bereichen hoher Mineralisationsaktivität und Farbstoffeinlagerung nach Anregung im Amplitudenmaximum die Lichtintensitäten der Markersubstanz hoch waren. Hohe Lichtintensitäten führen zu einer Überstrahlung. Die Fläche der eigentlichen Fluoreszenzmarkierung erscheint in diesen Abschnitten mit hoher Mineralisationsaktivität vergrößert.

Nach Diskussion aller dieser systematischen Fehlerquellen entschlossen wir uns zu einer qualitativen Beurteilung des Verlaufes der Frakturheilung im Vergleich der

beiden Operationsmethoden. Die qualitative Beurteilung erfolgte an Hand eines in Zusammenarbeit mit H. Bail entwickelten Punkte- Scores [7].

Um eine interne Kontrolle der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten erfolgte sowohl in der 6 Wochen Gruppe als auch in der 12 Wochen Gruppe die Markierung der Mineralisationsaktivität durch Gabe von Calzeingrün 2 Tage vor Ende der fünften und sechsten Woche. In der Auswertung zeigt sich eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im Vergleich der beiden Operationsverfahren bei tendenziell etwas geringerer Fluoreszenzaktivität in der 12 Wochen Gruppe. Als Ursache ist vor allem der dynamische Knochenumbau mit Umverteilung und Abbau der im Knochen fixierten Markersubstanz anzunehmen.

#### **4.2.3. Ausblick**

In dieser Studie wurde der Verlauf der Frakturheilung einer Tibiaschaftfraktur mit geschlossenem Weichteiltrauma (Grad II nach Tscherne) nach operativer Stabilisierung mit einem Fixateur intern (PC- Fix II) gegenüber der Frakturheilung nach konventioneller Osteosynthese mit unaufgebohrtem Marknagel histologisch verglichen.

Das Design des Fixateur interns verkörpert die neuesten Erkenntnisse auf dem Gebiet der biologischen Osteosynthese:

- ▶ Form und Design des internen Fixateurs erlauben die Frakturstabilisierung über kleine Hautinzisionen in minimal invasiver Operationstechnik, ohne Freilegung der Frakturzone.
- ▶ Verankerung der Schrauben über eine winkelstabile Gewindeverbindung im Kraftträger sind Grundlage der Stabilität, Kompressions- und Reibungskräfte im frakturnahen Periost entfallen.
- ▶ Punktförmige Auflagefläche und unterschrittenes Fixateur Design erlauben die Ausbildung einer zirkulären Kallusmanschette, auch unter dem Fixateur intern.
- ▶ Winkelstabilität und verkürzter Kraftarm zwischen Platte und Knochen erlaubt monokortikale Verankerung des Fixateur intern unter bestmöglicher Schonung der Markraumperfusion.
- ▶ Monokortikale, stabile Verankerung mit selbstschneidenden Schrauben führt mit der Vereinfachung der Operationsabläufe zu kürzeren Operationszeiten,

gestattet die Anwendung minimal invasiver Operationstechnik und macht das Verfahren zur Versorgung von periprothetischen Frakturen attraktiv.

Von diesem konsequent weichteilschonenden Verfahren verspricht man sich, besonders bei Problemfrakturen, wie Frakturen mit starker Weichteilschädigung, bei denen die Anwendung der herkömmlich verwendeten Standardverfahren Schwierigkeiten bereitet, ein Alternativverfahren, gekennzeichnet durch gute biomechanische Stabilität bei geringstmöglicher Schädigung der biologischen Frakturheilungsprozesse.

Die Fixateur intern Osteosynthese hat sich in der vorliegenden experimentellen histologischen Charakterisierung der Frakturheilung gegenüber der Osteosynthese mit unaufgebohrtem Verriegelungsmarknagel zumindest als gleichwertig, in einigen Aspekten (frühe Stadien der Frakturheilung) sogar als überlegen erwiesen. Dementsprechend liegt nahe, dass insbesondere Mehrfragmentfrakturen mit schwerstem Weichteiltrauma besonders von diesem neuen Operationskonzept profitieren. Die Stabilisation von Frakturen im Metaphysenbereich, die aufgrund schlechter Verriegelungsmöglichkeit eine Grenzindikation für die Marknagelosteosynthese darstellen, könnten vom Einsatz der Fixateur intern Osteosynthese profitieren. Bei periprothetischen Frakturen nach Marknagelosteosynthese mit schwieriger bikortikaler Verankerungsmöglichkeit und hohem Komplikationsrisiko einer zusätzlichen Plattenosteosynthese stellt die Stabilisierung mit dem monokortikal applizierbaren Fixateur intern eine gewebeschonende Therapieoption dar.

Klinische Studien mit großen Fallzahlen werden zeigen müssen, ob sich der Fixateur intern als Alternativverfahren im Sinne der biologischen Frakturbehandlung bewährt und zur Vermeidung von Komplikationen wie Pseudarthrose, Osteitis, Refraktur und Implantatversagen, führt.

Als Limitation der vorliegenden Arbeit ist anzusehen, dass es sich hierbei um einen Heilungsverlauf einer Tibiaschaftfraktur an einem experimentellen Schafsmodell handelt. Von diesem Modell ist jedoch anzunehmen, dass es dem Heilungsverlauf beim Menschen sehr nahe kommt und somit als Grundlage zur wissenschaftlichen Aufarbeitung neuer Methoden der Frakturbehandlung dienen kann [25, 100, 101,113].

## 5. Zusammenfassung

Grundlegendes Ziel der operativen Frakturbehandlung ist Vermeidung von Rotations- und Achsenfehlstellung, Sekundärfehlstellung und sofortige schmerzfreie Übungs- bzw. Belastungsstabilität. Dem gegenüber stehen Komplikationen wie Infektion, verzögerte Frakturheilung und Pseudarthrose begünstigt durch zusätzliches Operationstrauma und Implantatmaterial. Unter diesen Gesichtspunkten wurde ein Fixateur intern entwickelt, der in minimal invasiver Technik unter Schonung der Frakturumgebung platziert wird. Das Funktionsprinzip des Fixateur intern basiert auf der winkelstabilen Implantat- Schraubenverbindung und erlaubt ausschließlich punktförmige Knochenauflagefläche bei monokortikaler Schraubenverankerung. Es wird eine Optimierung des Frakturheilungsverlaufes im Vergleich zur konventionellen, als Goldstandard geltenden, Marknagelosteosynthese mit dem unaufgebohrten Verriegelungsnagel erwartet.

Ziel dieser randomisierten, gepaarten Studie ist die histologische Charakterisierung des Frakturheilungsverlaufes nach Frakturstabilisierung mit einem Fixateur intern (PC- Fix) in minimal invasiver Operationstechnik im Vergleich zur Marknagelosteosynthese mit dem unaufgebohrten Verriegelungsmarknagel (UHN). Als Versuchstiere dienten 12 Schweizer Bergschafe. Zur Frakturstabilisierung wurde ein Fixateur intern (PC- Fix II Mathys, Schweiz) mit selbstbohrenden, winkelstabilen, monokortikalen Schrauben bzw. der unaufgebohrte Marknagel (UHN 7,5 mm/ 190 mm; Synthes) verwendet. Die Untersuchungen wurden an einer reproduzierbaren, einfachen Schafffraktur der Schafstibia mit standardisiertem, definiertem Weichteiltrauma (Grad II nach Tscherne) im lateralen Kompartiment durchgeführt. Jedes Schaf wurde an beiden Hinterläufen operiert und mit Fixateur intern bzw. unaufgebohrtem Verriegelungsmarknagel stabilisiert. Die Fluorochrome Calzeingrün (CG) und Xylenolorange (XO) wurden zur intravitalem polychromen Sequenzmarkierung der Frakturheilung subkutan appliziert. Die histologische Charakterisierung des Frakturheilungsverlaufes wurde nach 6 und 12 Wochen an Hand von gefärbten Schnittpräparaten (von Kossa/ Safranin O) und Dünnschliffpräparaten vorgenommen.

In der Untersuchung der histologischen Parameter zeigen sich beide Stabilisierungsverfahren grundsätzlich gleichwertig wobei nach Fixateur intern Osteosynthese die Frakturheilungsprozesse deutlich früher beginnen. Nach 6 Wochen stellte sich unter der punktförmig aufliegenden Fixateurplatte die Ausbildung

einer kontinuierlichen Kallusmanschette dar, die zwar an Gesamtkallusmenge der medialen Seite nach Marknagelosteosynthese unterlegen ist, jedoch signifikant dichter mineralisiert. Auch auf der lateralen, fixateurfernen Seite findet sich bei vergleichbarer Kallusgesamtmenge in der Fixateurgruppe signifikant dichter mineralisierter Kallus. Morphologisch ist bei allen Frakturen der Fixateurgruppe eine kontinuierliche peri- und endostale Kallusbrücke entstanden während dies nur in der Hälfte der Marknagelgruppe der Fall war. Die Fluorochrommarkierung stellt nach 4 Wochen in der Fixateurgruppe im Frakturspalt Mineralisationsaktivität dar, die nach 6 Wochen den gesamten Frakturspalt durchzieht. Ein Nachweis von Mineralisationsaktivität im Frakturspalt stellt nach Marknagelosteosynthese eher die Ausnahme dar. Nach 12 Wochen sind die Gesamtkallusmenge und mineralisierte Kallusmenge auf der lateralen, fixateurfernen Seite in beiden Gruppen gleich groß. Unter dem Fixateur findet sich signifikant weniger Gesamtkallus und mineralisierter Kallus. Die Dichte des Kallus hat signifikant zugenommen und unterscheidet sich in allen untersuchten Arealen nicht. Nach 12 Wochen sind die Frakturen in beiden Gruppen mit Kallus überbrückt. Doch auch nach diesem Zeitraum bleibt die Mineralisationsaktivität in allen untersuchten Arealen der Fixateur intern versorgten Frakturen höher.

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass im Vergleich zur heute als Standardverfahren geltenden Osteosynthese mit dem unaufgebohrten Verriegelungsnagel der Fixateur intern im Tiermodell zumindest als gleichwertiges Verfahren hinsichtlich des histologischen Frakturheilungsverlaufes von Tibiaschaftfrakturen mit Weichteiltrauma anzusehen ist. Der Fixateur intern könnte eine alternative Osteosynthese für Frakturen darstellen, wo die Marknagelosteosynthese aufgrund schlechter Verankerungsmöglichkeit nur unter Vorbehalt eingesetzt werden z.B. für die Frakturstabilisierung im Metaphysenbereich. Darüber hinaus könnte der Einsatz des Fixateur intern mit monokortikaler Verankerung eine alternatives Osteosyntheseverfahren zur Behandlung periprothetischer Frakturen werden.

## 6. Literaturverzeichnis

- [1] Arens S, Eijer H, Schlegel U, Printzen G, Perren SM, Hansis M. Influence of the design for fixation implants on local infection: experimental study of dynamic compression plates versus point contact fixators in rabbits. J Orthop Trauma 1999 Sep-Oct;13(7):470-6
- [2] Ahrens W. Muss und soll die frische Fraktur für die Künscher- Nagelung aufgebohrt werden? Unfallheilkunde 1976; 129: 57- 60
- [3] Allgöwer M, Müller ME, Schenk R, Willenegger H. Biochemische Prinzipien bei der Metallverwendung am Knochen. Langenbecks Arch Klin Chir 1963; 305: 1
- [4] Augat P, Merk J, Wolf S, Claes L. Mechanical stimulation by external application of cyclic tensile strains does effectively enhance bone healing. J Orthop Trauma 2001; 15(1): 54- 60
- [5] Bagby GW, Janes JM. An impacting bone plate. Staff meeting, Mayo Clinic 1957; 32: 55- 57
- [6] Bail HJ: Score zu den Stadien der Mineralisationsaktivität  
persönliche Mitteilung
- [7] Bail HJ: Score zu den Stadien der Frakturheilung  
persönliche Mitteilung
- [8] Battner FT, Ganz R. Mehrfachfraktur der Tibia. Unfallchirurg 1990; 93: 473
- [9] Baumgaertel F. Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zur biologischen Plattenosteosynthese von Mehrfragmentfrakturen des Femurs. Habilitationsschrift 1993; Marburg

- [10] Baumgaertel F, Buhl M, Rahn BA. Fracture healing in biological Osteosynthesis. Injury (Suppl 3) 1998; 29: S-C3 - S-C6
- [11] Baumgaertel F, Gotzen L. Die biologische Plattenosteosynthese bei Mehrfachfrakturen des gelenknahen Femurs. Unfallchirurg 1994; 97: 19- 27
- [12] Baumgaertel F, Gotzen L. Die biologische Osteosynthese bei Mehrfragmentfrakturen des Femurs. Unfallchirurg 1994; 97: 78- 84
- [13] Borgeaud M, Cordey J, Leyvraz PF, Perren SM. Mechanical analysis of the bone to plate interface of the LC DCP and of the PC- Fix on human Femora. Injury 2000; 31, SC 29- 36
- [14] Brooks M. The blood supply of bone. Butterworth 1971
- [15] Brunner CF, Weber BJ. Besondere Osteosynthesetechniken. Berlin, Heidelberg, New York Springer 1981
- [16] Claudi BF, Oedekoven G. Biologische Osteosynthesen. Chirurg 1991;62(5): 367- 377
- [17] Claes L, Braun H, Heydmeier U, Hierholzer G. Bone healing of cominuted fractures under various types of stabilisation. J Bone J Surg (Suppl 1) 1997; 79 B: 9
- [18] Danckwardt-Lillieström G. Reaming of the medullary cavity and its effekt on diaphyseal bone. Acta Orthop Scand (Supp) 1969; 128: 1- 153
- [19] Danckwardt-Lillieström G, Lorenzi GL, Olerud S. Intramedullary nailing after reaming.

Acta Orthop Scand (Supp) 1970; 134: 1- 78

[20] Danis R. The operative treatment of bone fractures.

J Internat de Chir 1947;7 : 318- 320

[21] Debrunner AM. Orthopädie, Orthopädische Chirurgie.

Verlag Hans Huber 1994 Bern, Göttingen, Toronto, Seattle

[22] Deluca PA, Lindsey RW, Ruwe PA. Refracture of bones of the forearm after the removal of compression plates.

J Bone J Surg 1988; Am 70:1372- 1376

[23] Duda GN, Mandruzzato F, Heller M, Goldhahn J, Moser R, Hehli M, Claes L, Haas NP. Mechanical boundary conditions of fracture healing: borderline indications in the treatment of unreamed tibial nailing.

J Biomech 2001; 34(5): 639-50

[24] Eijer H, Hauke C, Arens S, Printzen G, Schlegel U, Perren SM. PC-Fix and local infection resistance - Influence of implant design on postoperative infection development, clinical and experimental results.

Injury 2001; 32: S-B 38- 43

[25] Eitel F, Klapp F, Jacobson W, Schweiberer L. Bone Regeneration in Animals and in Man.

Arch Orthop Traumat Surg 1981; 99: 59- 64

[26] Fernandez Dell'Oca AA, Tepic S, Frigg R, Meisser A, Haas N, Perren SM. Treating forearm fractures using an internal fixator: a prospective study.

Clin Orthop 2001 Aug;(389):196-205

[27] Galeazzi G. Experimentelle Untersuchungen zur Druckveränderung bei der Plattenosteosynthese.

AO Bulletin 1972

- [28] Gardner TN, Hardy J, Evans M, Kenwright J. Temporal changes in dynamic interfragmentary motion and callus formation in fractures.  
J Biomech 1997; 30(4): 315-21
- [29] Gautier E, Rahn BA, Perren SM. Vascular remodeling.  
Injury (Suppl.2) 1995; 26: S-B11- S-B19
- [30] Gautier E, Cordey J, Luethi U, Mathys R, Rahn B, Perren S. Knochenumbau nach Verplattung: Biologische oder mechanische Ursache?  
Hefte Unfallheilkunde 1983; 165: 13- 15
- [31] Goldship AE, Kenwright J. The influence of induced micromovement upon the healing of experimental tibial fractures.  
J Bone J Surg 1985; 67B: 650- 655
- [32] Gunst MA, Suter C, Rahn BA. Die Knochendurchblutung nach Plattenosteosynthese.  
Helv Chir Acta 1979; 46: 171- 175
- [33] Haas NP, Schütz M, Stöckle U. Die Bedeutung der Biologie in der Traumatologie.  
Langenbecks Arch Chir 1993; Supp1: 877- 888
- [34] Haas N, Hauke C, Schütz M, Kääb M, Perren SM. Treatment of diaphyseal fractures of the forearm using the Point Contact Fixator (PC-Fix): Results of 387 fractures of a prospective multicentric study (PC-Fix II).  
Injury 2001; 32: S-B 51-62
- [35] Haasnoot EvF, Münch TWH, Matter P, Perren SM. Radiological sequences of healing in internal plates and splints of different contact surface to bone.  
Injury (Suppl.2) 1995; 26: S-B 28- 36
- [36] Hertel R, Eijer H, Meisser A, Hauke C, Perren SM. Biomechanical and biological considerations relating to the clinical use of the Point Contact-Fixator -

Evaluation of the device handling test in the treatment of diaphyseal fractures of the radius and/or ulna.

Injury 2001; 32: S-B 10- 14

[37] Hente R, Cheal EJ, Perren SM. Die Dehnungstherapie als Erklärungsgrundlage des Erfolges der biologischen Osteosynthese.

Injury (Suppl 3) 1998; 29: S-C6- 8

[38] Heitemeyer U, Claes L, Hierholzer G. Die Bedeutung der postoperativen Stabilität für die ossäre Reparatur einer Mehrfragmentfraktur.

Unfallchirurg 1990, 93: 49- 55

[39] Hidoka S, Gustilo RB. Refracture of bones of the forearm after plate removal.

J Bone J Surg 1984; Am 66: 1241- 1243

[40] Hildebrandt G. Significance of periosteal and intramedullary perfusion for the development of posttraumatic osteomyelitis and for the choice of osteosynthesis procedure.

Orthop Traumatol 1979; 26(4): 181- 199

[41] Holbrock JL, Swiontkowski MF, Sanders R. Treatment of open fractures of the tibial shaft. Ender nailing vs external fixation.

J Bone J Surg (Am) 1989; 71: 1231

[42] Johansson A, Lindgren JU, Nord CE, Svensson O. Material and design in haematogenous implant-associated infections in a rabbit model.

Injury 1999 Dec; 30(10): 651-7

[43] Käb MJ, Hauke C, Schütz M, Südkamp NP, Haas NP. Prinzip des Fixateurs intern bei Unterarmschaftfrakturen unter Verwendung des PC- Fix

Trauma Berufskrankh 1999; 1: 407- 410

[44] Kessler SB et al. The effects of reaming and intramedullary nailing on fracture healing.

Clin Orthop 1986; 212: 18

- [45] Kimura T. Mechanical characteristics of human lower leg bones.  
J Faculty Science. 1974; 4: Univ. of Tokyo
- [46] Kinast C, et al. Subtrochanteric fractures of the femur. Results of treatment with the 95° condylar blade plate.  
Clin Orthop. 1989; 238: 122- 130
- [47] Klein MPM, Rahn BA, Frigg R, Kessler S, Perren SM. Reaming vs. non-reaming in intramedullary nailing.  
Arch Orthop Trauma Surg 1990; 109: 314- 316
- [48] Klemm K, Schellmann WD. Dynamische und statische Verriegelung des Marknagels.  
Monatszeitschr Unfallheilkd 1972; 75: 568- 575
- [49] Knopp W, Schmidtman U, Stürmer KM. Bridging plate osteosynthesis in simple femoral fractures - a minimally invasive method in polytrauma.  
Langenbecks Arch Chir 1996; 13: 951- 95
- [50] Kolodziej P, Lee FS, Patel A, Mast JW. Biomechanical evaluation of the schuhli nut.  
Clin Orthop 1989; 347: 79- 85
- [51] König F: Die operative Behandlung der Knochenbrüche.  
Verh Dtsch Ges Chir 1924; 48: 380.
- [52] Krettek C, Schandelmaier P, Miclau T, Tscherne H. Minimally invasive percutaneous plate osteosynthesis (MIPPO) using the DCS in proximal and distal femoral fractures.  
Injury 1997; 28 Suppl 1: A20-30
- [53] Krettek C, Haas N, Tscherne H. Behandlungsergebnisse von 202 frischen

Unterschenkelschaftfrakturen mit schwerem Weichteilschaden  
Unfallchirurg 1989; 92: 440- 452

[54] Krompecher S. Die Knochenbildung.  
Fischer 1933; Jena

[55] Künscher G. Die Praxis der Marknagelung.  
1962; Schattauer Verlag

[56] Künscher G. Die Marknagelung des Trümmerbruches.  
Arch Klini Chir 1968; 200: 1063- 1069

[57] Lane W.A.: The operative treatment of fractures.  
1914; Medical Publishing, London

[58] Lanz P, Wachsmuth W. Praktisch Anatomie I/IV, Bein und Statik.  
1972; Springer, Berlin, Heidelberg, New York

[59] Lederer M, Tepic S, Perren SM. Experimentelle Frakturbehandlung mit dem  
Point Contact Fixateur (PC- Fix) - Eine in vivo Studie an der Schafstibia.  
Hefte zu Unfallchirurg 1996; Springer; Berlin, Heidelberg: 353- 354

[60] Lottes JO. Medullary nailing of the tibia with the triflange nail.  
Clin Orthop 1974; 105: 253

[61] Macnab I, De Haas WG The role of periosteal blood supply in the healing of  
fractures of the tibia.  
Clin Orthop 1974; 105: 27- 332

[62] Miclau T, Reminger A, Tepic S, Lindsey R, McIlff T. A mechanical comparison of  
the dynamic Kompression plate, limited contact- dynamic compression plate  
and point contact fixator.  
J Orthop Trauma 1995; 9(1): 17- 22

- [63] Mueller CA, Schavan R, Frigg R, Haas NP. Intramedulläre Druckentwicklung verschiedener kommerzieller Bohrsysteme.  
Hefte Unfallchir 1995; 249: 244- 248
- [64] Müller ME, Allgöwer M, Willenegger H. Technik der operativen Frakturbehandlung.  
Berlin 1963; Springer Verlag
- [65] Müller ME, Allgöwer M, Schneider R, Willenegger H. Manual der Osteosynthese.  
Berlin 1992; Springer Verlag, Heidelberg, New York
- [66] Müller CA et al. Klinische Ergebnisse der primären Marknagelosteosynthese mit dem unaufgebohrten AO/ ASIF Tibiamarknagel von offenen Tibiaschaftfrakturen  
Unfallchirurg 1998; 101: 830- 837
- [67] Nelson G, Kelly PJ, Petersen LFA, Janes JM. Blood supply of the human tibia.  
J Bone J Surg 1960; 42-A: 625
- [68] Neudeck F et al. Pathophysiological consequences of various osteosyntheses procedures in polytrauma patients. Part I.  
Aktuelle Traumat 1994; 24: 114- 120
- [69] Paar O, et al. Beeinträchtigung der Arteria nutricia tibiae durch die aufgebohrte und die unaufgebohrte Marknagelung. Untersuchungen zur Gefäßarchitektur der humanen Tibiamarkhöhle  
Z Orthop 2000; 138: 79- 84
- [70] Pauwels F. Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe.  
Z Anat Entwickl Gesch 1960; 121: 478
- [71] Perren SM, Huggler A, Russenberger A, Allgöwer M, Müller ME, Schenk R, Willenegger H. The Reaktion of cotical bone to compression.

Acta Orthop. Skand 1969 (Suppl.); 125: 17

[72] Perren SM, Buchanan JS. Basic concepts relevant to the design and development of the point contact fixator.

Injury 1995 (Suppl.2); 26: S-B 1- 4

[73] Perren SM, Cordey J. Die Gewebedifferenzierung in der Frakturheilung.

Unfallheilkunde 1977; 80: 161- 164

[74] Perren SM. Biomechanische Grundlagen der Frakturbehandlung.

Orthopäde 1992; 21: 3-10

[75] Perren SM. Biomechanische Reaktion des Knochens auf intra und extramedulläre Kraftträger: Die Bedeutung des Implantatkontakts.

Orthopäde 1995; 24: 402- 408

[76] Perren SM et al. Biological plating using the LC- DCP.

Injury 1991 (Suppl.1); 25

[77] Perren S, Cordey J, Rohn B, Gautier E, Schneider E. Early temporary porosis of bone induced by internal fixation implants. A reaction to necrosis not to stress protection.

Clin Orthop 1988; 232: 139- 151

[78] Pfister U, Rahn BA, Perren SM, Weller S. Vaskularität und Knochenumbau nach Marknagelung langer Röhrenknochen.

Akt Traumatol 1979; 9: 191- 195

[79] Rahn B A. Die polychrome Sequenzmarkierung.

Habilitationsschrift 1976; Freiburg i. Br.

[80] Regel G. Frakturversorgung beim Polytrauma.

Unfallchirurg 1997; 100: 234- 248

- [81] Remotowski W, Granowski R, Bielawski J. ZESPOL - Osteosynthesis and clinical practice.  
1988; Panstwowy Zaklad Wydawnictw Lekarskich, Warszawa,
- [82] Rhinelander FW. Effects of medullary nailing on the normal blood supply of diaphyseal cortex.  
Clin Orthop 1973; 105: 5- 17
- [83] Rhinelander FW. Some aspects of the microcirculation of the healing bone.  
Clin Orthop 1965; 40: 12
- [84] Rhinelander FW. Tibial blood supply in relation to fracture healing.  
Clin Orthop 1974; 105(0): 34- 81
- [85] Rommens PM, Broos PL. The significance of soft tissue trauma for fracture healing.  
Unfallchirurg 1992; 95: 133- 141
- [86] Rüedi TP, Murphy WM. Principles of Fracture Management.  
2001; Thieme, Stuttgart, New York: 45-57
- [87] Runkel M, Wenda K, Stelzig A, Rahn BA, Störkel S, Ritter G. Knochenumbau nach aufgebohrter und unaufgebohrter Marknagelung  
Unfallchirurg 1994; 97: 385- 390
- [88] Runkel M, Wenda K, Ritter G, Rahn B, Perren SM. Knochenheilung nach unaufgebohrter Marknagelung  
Unfallchirurg 1994; 97: 1-7
- [89] Runkel M, Wenda K, Degreif J, Bluhm J. Ergebnisse nach primärer ungebohrter Tibianagelung von Unterschenkelfrakturen mit schwerem offenen oder geschlossenem Weichteilschaden.  
Unfallchirurg 1996; 99: 771- 777

- [90] Sandelmeier P, Krettek C, Rudolph J, Tscherne H. Outcome of Tibial Shaft Fractures with Severe Soft Tissue Injury by Unreamed Nailing versus External Fixation.  
J of Trauma 1995; 39: 707- 711
- [91] Sandelmeier P, Krettek C, Haas N. Biomechanik des neuen nichtaufgebohrten massiven AO-Unterschenkel-Verriegelungsnagels und des konventionellen Universalverriegelungsnagels im Vergleich. Chirurgisches Forum 1991 für experimentelle und klinische Forschung, hg. von W. Hartel et al.; Springer-Verlag 1991, Berlin/Heidelberg
- [92] Schatzker J, Tile M. The rational of operativ frakture care.  
Springer Verlag 1996; Berlin, Heidelberg, New York
- [93] Schemitsch EH, Kowalski MJ, Swiontkowski MF, Senf D. Cortical blood flow in reamed and unreamed locked intramedullary nailing.  
J Orthop Trauma 1994; 8: 373- 382
- [94] Schemitsch EH et al. Quantitative Assesment of Bone Injury and Repair after Reamed and Unreamed Locked Intramedullary Nailing.  
J of Trauma 1998; 45: 250- 255
- [95] Schenk R, Willenegger H. Zum histologischen Bild der sog. Primärheilung der Knochenkompakta nach experimentellen Osteotomien am Hund.  
Experintia 1963;19: 593
- [96] Schmeling A, S Rupp, K Schaser, K Ito, M Schütz. A new model for standardized in-vivo production of severe soft tissue trauma and shaft fracture in the sheep tibia.  
Abstract; OTA/ ORS 2000
- [97] Schweiberer L, Dambe LT, Eitel F, Klapp F. Revascularisation of the Tibia after conservative and surgical fracture fixation.  
Unfallheilkunde 1974; 119: 18- 26

- [98] Schweiberer L et al. Die Mehrfachverletzung: Schweregrad und therapeutische Richtlinien.  
Chirurg 1978; 10: 608- 614
- [99] Seibold R, Betz A, Eitel F. Anwendung des Fixateur intern an Femur und Tibia.  
Unfallchirurg 1990; 93: 251- 256
- [100] Stürmer KM, Suchard W. Neue Aspekte der gedeckten Marknagelung und des Aufbohrens der Markhöhle im Tierexperiment.  
Unfallheilkunde 1980; 83: 433- 445
- [101] Stürmer KM, Suchard W. Neue Aspekte der gedeckten Marknagelung und des Aufbohrens der Markhöhle im Tierexperiment.  
Unfallheilkunde 1980; 83: 341- 346
- [102] Stürmer KM, Rock T, Kauer F. Neue Aspekte der Frakturheilung bei innerer und äußerer Fixation. In : Biomechanik des Bewegungsapparates.  
Springer 1997; Berlin, Heidelberg: 215- 228
- [103] Sturzenegger M, Farnaro E, Jakob RP. Results of surgical treatment of multifragmented fractures of the humeral head.  
Arch Orthop Trauma Surg 1982; 100: 249- 259
- [104] Tepic S, Remiger AR, Morikawa K, Predieri M, Perren SM Strength recovery in fractured sheep tibia treated with a plate or an internal fixator: An experimental study with a Two-Year-Follow-up.  
J Orthop Trauma 1997; 11(1): 14- 23
- [105] Thielemann FW et al. Die Plattenosteosynthese der Femurschaftfraktur unter Beachtung biologischer Gesichtspunkte.  
Unfallchirurg 1988; 91: 389- 394

- [106] Trias A, Fery A. Cortical circulation of long bones.  
J Bone J Surg 1979; 61-A: 1052-1060
- [107] Uthhoff HK, Boisvert D, Finnegan M. Cortical porosis under plates. Reaction to unloading or to necrosis.  
J Bone J Surg Am 1994; 76: 1507- 1512
- [108] Voigtländer H. Marknagelung geschlossener und offener Unterschenkelbrüche.  
Unfallheilkunde 1974; 77: 20
- [109] Von Kossa J. Zieglers Beitr. 1901; 29: 163
- [110] Wenda K, et al. Minimal invasiv plate fixation in femoral shaft fractures.  
Injury (Supp 1) 1997; 28: S-A13- 19
- [111] Willians SM, Mc Carthy LD. Distributed Model of blood- bone exchange.  
J Biomed Eng 1986; 8: 235- 243
- [112] Wiss DA. Flexible medullary nailing of acute tibial shaft fractures.  
Clin Orthop 1986; 212: 122
- [113] Wissing H, Stürmer KM, Breidenstein G. Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspezies für experimentelle Untersuchungen am Knochen.  
Hefte Unfallheilkunde 1990; 212
- [114] Wolf JW et al Comparison of Cyclic Loading vs. Constant Compression in the Treatment of Long - Bone Fractures in Rabbits.  
J of Bone J Surg 1981; 63A(12): 805- 810
- [115] Wolf S, Janousek A, Pfeil J, Veith W, Haas F, Duda G, Claes L. The effects of external mechanical stimulation on the healing of diaphyseal osteotomies fixed by flexible external fixation.  
Clin Biomech Bristol, Avon 1998;13(4-5): 359-364

## 7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### 1. Einführung

Abb.1.1. Indirekte Frakturheilung	9
Abb.1.2. Knochenumbau der Frakturzone	10
Abb.1.3. Direkte Frakturheilung	11
Abb.1.4. Vaskularisation und Frakturheilung	13
Abb.1.5. R. Danis Entwickler des Coaptateur	15
Abb.1.6. DCP - Gleitlochprinzip	16
Abb.1.7. Gefäßversorgung nach Kompressionsplatten- osteosynthese	17
Abb.1.8. LCDCP	19
Abb.1.9. Fixateur intern (PC Fix II)	19
Abb.1.10. Entwicklung der Marknagelosteosynthese	20
Abb.1.11. Gefäßversorgung nach aufgebohrter Marknagel- osteosynthese	22
Abb.1.12. Tibiadünnschnittpräparat	30
Abb.1.13. Frakturspaltüberbrückung	31
Abb.1.14. Darstellung der Fluoreszenzmarkierung	32

### 2. Material und Methoden

Abb.2.1. Fixateur intern – PC Fix	34
Abb.2.2. Trokarsystem zum Einbringen der Schrauben	35
Abb.2.3. Implantationssystem - UHN	35
Abb.2.4. Erzeugen des Weichteiltraumas, Setzen der Fraktur	36
Abb.2.5. Tierhaltung	37
Abb.2.6. Weichteiltrauma und Fraktur	39
Abb.2.7. Minimal invasives Verfahren	40
Abb.2.8. Schematischer Zeitplan der Fluorochromapplikation	43
Abb.2.9. Tibia Explantat a) vor b) nach PC Fix Entfernung	44
Abb.2.10. Sägen des Präparat	46
Abb.2.11. Schaf Nr. 950 Untersuchung der Schnittebene	47
Abb.2.12. Schaf Nr. 950 Kortexabstand	47
Abb.2.13. Herstellung der Schnitte	49

Abb.2.14. Präparat 954 Li 6µm	49
Abb.2.15. Herstellung der Schliffe	51
Abb.2.16. Schaf 957 Schnitte	53
Abb.2.17. Skizze zur Darstellung der Messregionen Kallusparameter	53
Abb.2.18. Skizze zur Darstellung der Messregionen Kortexp Parameter	54
Abb.2.19. Funktionsskizze der Auflichtmikroskopie	55

### **3. Ergebnisse**

Abb.3.1. Gesamtkallusfläche nach 6 Wochen	60
Abb.3.2. Gesamtkallusfläche nach 12 Wochen	60
Abb.3.3. Mineralisierter Kallus medialen Frakturspalt nach 6 Wochen	61
Abb.3.4. Mineralisierter Kallus medialen Frakturspalt nach 12 Wochen	61
Abb.3.5. Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus nach 6 Wochen am lateralen Frakturspalt	62
Abb.3.6. Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus nach 12 Wochen am lateralen Frakturspalt	62
Abb.3.7. Stadium der Frakturheilung nach 6 Wochen	67
Abb.3.8. Stadium der Frakturheilung nach 12 Wochen	68
Abb.3.9. Mineralisationsaktivität nach Xylenolorange Markierung 6 Wochen Gruppe	69
Abb.3.10. Mineralisationsaktivität nach Calzeingrün Markierung 6 Wochen Gruppe	70
Abb.3.11. Mineralisationsaktivität nach Calzeingrün Markierung 12 Wochen Gruppe	71
Abb.3.12. Mineralisationsaktivität nach Xylenolorange Markierung 12 Wochen Gruppe	72
Abb.3.13. Postoperativer Verlauf der Mineralisationsaktivität im Vergleich Fixateur intern vs. Marknagel	72

### **2. Material und Methoden**

Tab.2.1. Verteilung der Frakturstabilisierungsmethoden auf die Versuchstiere	37
Tab.2.2. Schematischer Zeitplan 6-Wochen-Gruppe	42
Tab.2.3. Schematischer Zeitplan 12-Wochen-Gruppe	43

Tab.2.4. Zeitplan-Polychrome Sequenzmarkierung 6-Wochen-Gruppe	43
Tab.2.5. Zeitplan-Polychrome Sequenzmarkierung 12-Wochen-Gruppe	43
Tab.2.6. Alkoholreihe	47
Tab.2.7. Infiltration und Einbettung	48
Tab.2.8. Komponenten des Polymerisationssystems	48
Tab.2.9. Bestimmung der Schliffdicke	51
Tab.2.10. Messareale Kallus	53
Tab.2.11. Messareale Kortex	54
Tab.2.12. Stadien der Frakturheilung	54
Tab.2.13. Filterblöcke	55
Tab.2.14. Score zu den Stadien der Mineralisationsaktivität	56

### **3. Ergebnisse**

Tab.3.1. AO Klassifikation der erzeugten Frakturen	58
Tab.3.2. Winkel in [°] : anteriore Tibiavorderkante – Schnittebene	58
Tab.3.3. Kortex-Distanz	59
Tab.3.4. Gesamtkallus Gruppe II 6. & 12. Woche	60
Tab.3.5. Mineralisierter Kallus Gruppe II 6. & 12. Woche	61
Tab.3.6. Quotient: Mineralisierter Kallus/ Gesamtkallus Gruppe II 6. & 12. Woche	62
Tab.3.7. Periostaler Kallus nach 6 Wochen	63
Tab.3.8. Periostaler Kallus nach 12 Wochen	64
Tab.3.9. Gesamtkortex Gruppe II 6. & 12. Woche	65
Tab.3.10. Mineralisierter Kortex Gruppe II 6. & 12. Woche	65
Tab.3.11. Quotient: Mineralisierter Kortex/ Gesamtkortex Gruppe II 6. & 12. Woche	66
Tab.3.12. Stadium der Frakturheilung Score nach Bail	66
Tab.3.13. 6 Wochen Gruppe Frakturheilung	67
Tab.3.14. 12 Wochen Gruppe Frakturheilung	67
Tab.3.15. Score zu den Stadien der Mineralisationsaktivität nach Bail	68
Tab.3.16. Mineralisationsaktivität 6 Wochen Gruppe	69
Tab.3.17. Mineralisationsaktivität 12 Wochen Gruppe	71

## **8. Lebenslauf**

Steffi Teschner

**Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.**

## 9. Publikationsliste

Late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits: A dose related or an all- or- non phenomenon?

S Teschner, Y Qiu, XL Tang, C Maldonado, A Rizvi, R Bolli  
American Heart Association Meeting 1996, New Orleans

Is late preconditioning against myocardial stunning mediated by adenosin A1 and A3 receptors?

C Maldonado, H Bagri, Y Qiu, XL Tang, S Teschner, R Bolli  
American Heart Association Meeting 1996, New Orleans

Protein kinase C mediates late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits.

Y Qiu, XL Tang, A Rizvi, S Manchikalapudi, C Maldonadi, S Teschner, R Bolli  
American Heart Association Meeting 1996, New Orleans

## **10. Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Steffi Teschner, an Eides statt, dass die Dissertationsschrift mit dem Thema:

Histologische Untersuchung der Frakturheilung Ein Vergleich von unaufgebohrter Marknagelung und Fixateur intern Stabilisierung in einer tierexperimentellen Studie an der Schafstibia

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die Hilfe unzulässiger Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt.